

森林土壌における亜硝酸の濃度、同位体比測定のための抽出法の検討 Measurement of concentrations and isotope ratios of nitrite in acidic forest soils

松嶋 修一郎^{1*}, 木庭 啓介¹, 眞壁明子¹, 牧田朋子¹, 高橋千恵子¹, 林貴広¹, 穂刈梓¹, 稲垣善之², 中西麻美³, 楊宗興¹
Shuichiro Matsushima^{1*}, Keisuke Koba¹, Akiko Makabe¹, Tomoko Makita¹, Chieko Takahashi¹, Takahiro Hayashi¹, Azusa Hokari¹, Yoshiyuki Inagaki², Asami Nakanishi³, Muneoki Yoh¹

¹ 東京農工大学, ² 森林総合研究所, ³ 京都大学フィールド科学教育研究センター

¹Tokyo University of Agriculture and Technology, ²Forestry and Forest Products Research Institute, ³Field Science Education and Research Center, Kyoto University

森林生態系における窒素の挙動を考えると、亜硝酸は土壌中において硝化や脱窒などの中間生成物であり、多くの無機態窒素の変換反応に関わりを持つことがわかる。この無機態窒素は植物や微生物にとって利用可能な窒素であるため、亜硝酸の挙動は植物や微生物の窒素利用、そして森林生態系からの窒素の消失・保持機構の解明において注目を集めている (Bohlke et al., 2007; Su et al., 2011)。亜硝酸は化学的に不安定で酸性土壌では抽出時に硝酸に酸化されてしまうが、抽出液をアルカリ性に保つことで亜硝酸酸化を抑えられることが知られている (Stevens and Laughlin, 1995)。また近年、亜硝酸を N₂O に変換し測定するアザイド法の開発により亜硝酸の窒素 (¹⁵N) 酸素 (¹⁸O) 同位体比測定が可能になった (McIlvin and Altabet, 2005)。このように亜硝酸の濃度及び ¹⁵N・¹⁸O 測定手法は既に確立されているものの、実際には森林土壌における亜硝酸の濃度測定はあまり行われておらず、さらに ¹⁵N・¹⁸O についての測定例は未だ報告されていない。その理由としてアルカリ性溶液での土壌抽出 (アルカリ抽出) では森林土壌中に多量に含まれる腐植物質も抽出され、一般的な濃度測定法である比色測定法が利用できないからであると考えられる。そこで本研究ではアルカリ抽出とアザイド法を併用することで森林土壌の亜硝酸の濃度、さらに ¹⁵N・¹⁸O 測定を行えると考え研究を試みた。

【方法】

土壌は茨城県のヒノキ林 4 サイト (森林総合研究所筑波山, 八郷 2, 八郷 3, 桂試験地) から各々 3 深度 (A0 層, 0-10cm, 10-20cm 鉱質土壌層) を 3 繰り返し採取し, NaOH で pH 12 に調整した 0.5M NaCl 溶液を用いて抽出した。その後アザイド法を用い抽出液中亜硝酸の濃度と ¹⁵N・¹⁸O を GC-ECD, GC-および PT-GC-IRMS を用いて求めた。また硝酸については脱窒菌法 (Casciotti et al, 2002) を用い PT-GC-IRMS により濃度および ¹⁵N・¹⁸O を求めた。従来の抽出法との比較を行うために 0.5M K₂SO₄ と H₂O を用いた土壌抽出を行いそれぞれ亜硝酸濃度と、硝酸の濃度, 硝酸の ¹⁵N・¹⁸O を求めた。本発表では主に濃度についての結果を示す。

【結果・考察】

窒素量の多い筑波山, 八郷 2 での亜硝酸濃度はアルカリ抽出が K₂SO₄, H₂O 抽出と比べ有意に高かった (Fig 1)。一方で亜硝酸と硝酸の合計濃度は各抽出間で有意な差がなかった。つまり従来の抽出法で亜硝酸がなかった森林土壌では、亜硝酸が硝酸として測定されてしまっていたと示唆できる。亜硝酸と硝酸の ¹⁵N の関係は海洋における既存研究 (Casciotti and McIlvin, 2007) と一致し、常に硝酸が亜硝酸よりも高い ¹⁵N をとった。¹⁸O については硝酸と亜硝酸の関係は一定ではなく、土壌 pH, 硝化に関わる H₂O の ¹⁸O 値などの影響が考えられるが、今後の検討課題である。

本研究よりアルカリ抽出とアザイド法を併用することで森林土壌における亜硝酸の濃度、¹⁵N・¹⁸O の測定が可能であり、従来の抽出法では亜硝酸、硝酸を正確には測定できていないことも示唆された。