

## V. 炭素および窒素濃度の分析

### V-1. 概要

「II.」および「IV.」で調整された風乾細土や「I.」で調整された堆積有機物試料の炭素および窒素濃度を以下の作業により分析する。

#### 1) 分析用試料の微粉碎

乾式燃焼法による炭素および窒素濃度の分析装置では、分析に使用する試料が微量であることに加え、土壌試料や堆積有機物試料では試料中の炭素分布が不均一であることから、分析のバラツキが大きくなりやすい。そこで、分析のバラツキを小さくするために、調整した分析用試料をさらに粉碎して粒径を細かくする。

#### 2) 水分量の測定

試料中の炭素濃度は絶乾重を基準とするので、分析用試料中の水分量を測定し、絶乾重を算出する必要がある。試料の水分量は保存状態や部屋の湿度で変動するので、測定は炭素および窒素濃度の分析の際に行う。

#### 3) 炭素および窒素濃度の分析

乾式燃焼法により炭素および窒素濃度の分析を行う。なお、窒素濃度は炭素濃度と窒素濃度の比率 (C/N 比) を用いた分析の信頼性評価に利用され、森林の二酸化炭素吸収に関係の深いバイオマス生産力の指標にもなるので、窒素濃度の結果も報告する。

### V-2. 試料の微粉碎

#### 1) 必要な器具など

- 乳鉢・乳棒 (メノウ製が望ましいが磁製でも可)、あるいは、擂潰機 (ライカイキ) やボールミル等の電動粉碎機
- 洗びん、ワイプ

#### 2) 作業手順

- (1) 分析用試料 (土壌試料の場合は風乾細土、堆積有機物試料の場合は粉碎試料) の全量を、乳鉢 (または粉碎機) に移し、粗い粒子が細くなるように粉碎して粒径が均質な微粉末試料にする。
- (2) 1つの試料の粉碎が終了したら、乳鉢と乳棒、あるいは粉碎容器に付着した試料を、水を入れた洗びんやワイプを使いきれいにする。

### 【注意】

粉碎後の試料の粒径は繰り返し分析のばらつきを検討し決める。少なくとも土壌試料の場合は 0.5mm 以下、堆積有機物試料の場合には 1mm 以下の粒径にする。より細かい粒径にした方が繰り返し分析の精度は向上する。粉碎途中で粗い粒子を取り除いてはならず、必ず分析用試料全量を微粉末試料とする。

### V-3. 水分量の測定

#### 1) 必要な器具など

- 秤量ビン（直径 3～5cm、高さ 3cm 程度のものが良い）
- 分析用電子天秤（0.1mg (=0.0001g) 単位で測定できるもの）
- 恒温乾燥器（105℃または 70℃に設定して使用する）
- デシケーター（シリカゲル等の乾燥剤を使用）
- 秤量ビン用のトレー（大型のシャーレなど）
- 薬さじ
- 手袋（軍手など布製が使いやすい）
- 含水比データ入力ファイル(Y含水比\_mmdd、S含水比\_mmdd、Microsoft Excel)
- パーソナルコンピューター、タブレット等（Excel が使用できるもの）

#### 2) 測定手順

以下の作業は手袋を必ず着用しておこなう。

（〔 〕の数字は図 11 の数字に対応している。）

- (1) 秤量ビン No. 〔②〕を記録し、秤量ビンの蓋をずらして恒温乾燥器（105℃）で 1 時間乾燥した後、恒温乾燥器内で蓋をしてデシケーターに移し、1 時間冷ます。
- (2) 秤量ビンの重量（蓋も含む）〔⑤〕を 0.1mg (=0.0001g) まで測定する。
- (3) 分析用の微粉末試料（土壌試料の場合は 2～3g、堆積有機物試料の場合は 0.4～0.6g）を薬さじで秤量ビンに分取し、ただちに蓋をして重量〔③〕を測定する。
- (4) 試料の入った秤量ビンの蓋をずらして恒温乾燥器に入れ（写真）、土壌試料の場合は 105℃、堆積有機物試料の場合は 70℃で、24 時間乾燥する。



- (5) 乾燥後、恒温乾燥器内で蓋をしてから秤量ビンを取り出し、デシケーター内に移す。
- (6) デシケーター内で1時間冷まし、重量〔④〕を測定する。
- (7) 各測定データおよび受付番号〔①〕など必要な情報を含水比データ入力ファイルに入力する(図11)。含水比データ入力ファイルは、堆積有機物試料の場合はY含水比\_mmdd、土壌試料の場合はS含水比\_mmddを使用する。
- (8) すべての項目を入力し終わったら、含水比を計算式から求め、ファイル名のmmddの部分を変更した日付の月日4桁に変えて保存する。

(参考 含水比の計算)

土壌試料および堆積有機物試料の含水比〔⑥〕や水分係数は次式により計算する。

$$\text{含水比}〔⑥〕 = (S_{\text{before}}〔③〕 - S_{\text{after}}〔④〕) / (S_{\text{after}}〔④〕 - \text{WB}〔⑤〕)$$

$$\text{水分係数} = (S_{\text{before}} - \text{WB}) / (S_{\text{after}} - \text{WB})$$

$S_{\text{before}}$  : [絶乾前の重量(g)\_秤量ビン+試料]

$S_{\text{after}}$  : [絶乾後の重量(g)\_秤量ビン+試料]

WB : [秤量ビン重量(g)]

#### 【注意】

土壌の乾燥が十分に行われていれば、風乾細土の含水比が0.200を超えることは少ない。含水比が0.200を超える場合は土壌試料の乾燥が十分でない可能性があるため、試料を室温でさらに数日乾燥させてから含水比を再測定して確認し、含水比が減少している場合は、炭素および窒素濃度についても再測定を行う。

受付番号	秤量ビンNo.	絶乾前	秤量ビン+試料土 (g)	絶乾後	秤量ビン+試料土 (g)	秤量ビンの重さ (g)	含水比
①	②		③		④	⑤	⑥

図 11 堆積有機物と土壌の含水比データ入力ファイル

①～⑤は本文中の①～⑤に対応している。  
濃い灰色のタイトルの列は必要な情報を入力する。  
「含水比」⑥は計算式 ( ③ - ④ ) / ( ④ - ⑤ ) から求める。

#### V-4. 炭素および窒素濃度の測定

##### 1) 必要な器具など

- 乾式燃焼法による分析装置 (NC アナライザー、CN コーダー、varioMAX 等)
- 分析用電子天秤 (0.1mg (=0.0001g) 単位で測定できるもの。標準試料については 0.01mg 単位で測定することが望ましい)
- 試料 ID 対応表ファイル (ID 作成システムで作成した Y 試料 ID 対応表、S 試料 ID 対応表)
- RCN 作成ファイル (RCN ファイル作成、Microsoft Excel)
- 含水比データ入力ファイル (V-3 で保存した Y 含水比\_mmdd、S 含水比\_mmdd)
- RCN\_input ファイル (RCN\_input、Microsoft Excel)
- RCN 振り分けシステムファイル (RCN 振り分けシステム、Microsoft Excel)
- パーソナルコンピューター、タブレット等 (Excel のマクロが使用できるもの)

##### 2) 分析方法

分析は同一試料について 2 回行う。2 回の測定は原則として別々の日に行う。

炭素および窒素濃度の分析が適切に行われていることを確認するために、下記の例のように 1 連の分析の途中で 50 試料につき 1 点の目安で、土壌試料分析の場合は標準土壌試料を、堆積有機物試料分析の場合は標準堆積有機物試料を割り込ませ、未知試料と同様に分析を行う<sup>\*10</sup>。

ただし、標準試料は絶対精度の検証に用いるので、2 回の繰り返し分析はしない。したがって、2 回目の分析では 1 回目と異なる標準試料を使用すること。

未知試料が 50 点に満たない場合でも、1 連の分析では途中で必ず標準試料を 1 点割り込ませて分析する。

例) 1 連のサンプルが 50 個の場合

サンプル 1、・・・サンプル 25、標準試料、サンプル 26、・・・サンプル 50

#### 【注意】

使用する分析装置の操作手順にそって分析を行うが、以下の点に注意する。

- (1) 供試する試料重量 ([分析試料重(mg)]) は、分析する試料の炭素濃度に応じて変更する。試料が有機物か土壌か、あるいは、表層土か下層土かなどの違いにより、炭素や窒素の濃度は最大で 100 倍以上の違いがある。乾式燃焼法による機器分析では、機械は CO<sub>2</sub> や N<sub>2</sub> の絶対量を測定しているので、試料の炭素窒素の予想濃度に応じて供試試料重量を調整する必要がある。

---

\*10 標準土壌試料および標準堆積有機物試料についても含水比のデータが必要なので、水分量を測定する。標準試料の水分量の測定は未知試料の水分量測定と同時に行うこと。

- (2) 供試する試料重量（[分析試料重(mg)]）は、使用する分析装置の性状も考慮して適切な量にする。分析装置によっては、分析値は炭素、窒素量以外の要因（例えば水分）にも影響を受けることがあるので注意する必要がある。
- (3) 試料重量は多すぎても少なすぎても、測定誤差が大きくなる。検量線法で測定する場合には、検量線を作成した標準物質の炭素と窒素の絶対量の範囲内で測定するのが原則である。

### 3) 炭素および窒素濃度の計算

土壌試料および堆積有機物試料の炭素および窒素濃度は次式で計算する。

絶乾土あたりの炭素濃度 = 炭素濃度の測定値(g/kg)<sup>\*11</sup> × 試料の水分係数

絶乾土あたりの窒素濃度 = 窒素濃度の測定値(g/kg) × 試料の水分係数

RCN 作成ファイルを開きマクロを実行すると、「CN 分析」シート、「含水比」シート、「試料 ID 対応表」シートが含まれる RCN ファイルが生成される。指導取りまとめ業務担当機関に提出すると標準試料の精度確認後に試料 ID が入った C\_RCIN ファイルが送付されるので RCN 振り分けシステムファイルを開きマクロを実行し DCN ファイルを生成する（図 12）。

### 4) 分析精度の保証

分析の精度管理は、以下の 2 つの方法で行う。

#### (1) 絶対精度

測定した標準土壌試料または標準堆積有機物試料の測定結果が、確定されている既知の分析値と著しく相違すると判断された場合には、当該標準試料と同時に分析した未知試料は、原則としてすべて再測定する。

#### (2) 繰り返し精度

2 回の分析値のばらつきが、以下の繰り返し精度管理基準を満たしていることを確認する。これを満たしていない場合は、再測定を行う。

---

\*11 分析値の報告は g/kg 単位で行う。分析装置によっては、測定結果がパーセント表示されることがあるので、十分に注意する。パーセント表示の値は、1%=10 g/kg で換算できる。

絶乾土あたりの炭素濃度\*12

- a) 2つの値の平均が 10g/kg 未満の場合、それら 2つの値の差が 1.13g/kg 以下であること。
- b) 2つの値の平均が 10g/kg 以上 50g/kg 未満の場合、変動係数（標本標準偏差÷平均×100）が 8%以下であること。
- c) 2つの値の平均が 50g/kg 以上 600g/kg 以下の場合、変動係数が 4%以下であること。

絶乾土あたりの窒素濃度\*13

- a) 2つの値の平均が 5g/kg 未満の場合、それら 2つの値の差が 1.41g/kg 以下であること。
- b) 2つの値の平均が 5g/kg 以上 10g/kg 未満の場合、変動係数（標本標準偏差÷平均×100）が 20%以下であること。
- c) 2つの値の平均が 10g/kg 以上 30g/kg 以下の場合、変動係数が 10%以下であること。

## 5) 分析精度のチェック

絶対精度については、標準試料を提供した指導取りまとめ業務担当機関によりチェックと判定が行われる。

繰り返し精度については、DCN ファイルの「コントロール」シートにある「精度分析」のマクロを実行すると「CN 分析精度管理」シートの分析値について精度検証が行われ、精度を満たすか判定する（図 13）。

## 6) 報告用様式の作成

精度管理により分析精度を満たしていると判定された測定データについては、DCN ファイルの「コントロール」シートにある「分析報告書作成」のマクロを実行すると「CN 分析報告書」シートが作成される（図 14）。

---

\*12 土壌および堆積有機物の炭素濃度は通常 600g/kg を超えないので、DCN ファイルでは炭素濃度の計算結果が 600g/kg を超えた場合に警告が出る。警告が出たら、測定値の入力の間違いや機械の不調が考えられるので、データ入力や測定が正しく行われているか確認し、600g/kg を超えた原因を明らかにする。

\*13 同様に窒素濃度の計算結果が 30g/kg を超えた場合にも警告が出るので、確認を行い、原因を明らかにする。

分析No.	分析年月日	試料ID	層位	風乾土			絶対土			C/N	異常値	精度分析	備考
				分析試料重 (mg)	炭素濃度 (g/kg)	窒素濃度 (g/kg)	含水比 (kg/kg)	炭素濃度 (g/kg)	窒素濃度 (g/kg)				
Y1438	04.11.21	080470M01	T層	200.00	482.05	6.51	0.063	512.53	6.93	74.01	*	C_RCN_20211104165200.xlsm	
Y1442	04.11.21	080470M02	K層	200.20	449.03	13.58	0.047	469.97	14.22	33.06	*	C_RCN_20211104165200.xlsm	
Y1438	05.11.21	080470M01	T層	200.60	479.51	6.35	0.063	509.84	6.75	75.56	*	C_RCN_20211105160900.xlsm	
Y1442	05.11.21	080470M02	K層	200.10	448.40	13.82	0.047	469.32	14.47	32.44	*	C_RCN_20211105160900.xlsm	
S0616	2021/11/13	080470C11	0-5cm	250.50	82.02	5.59	0.038	85.17	5.81	14.67	*	C_RCN_20211113114200.xlsm	
S0617	2021/11/13	080470C12	5-15cm	500.00	44.47	2.80	0.031	45.83	2.88	15.90	*	C_RCN_20211113114200.xlsm	
S0618	2021/11/13	080470C13	15-30cm	499.60	43.39	2.45	0.040	45.13	2.55	17.69	*	C_RCN_20211113114200.xlsm	
S0616	2021/11/14	080470C11	0-5cm	251.30	83.17	5.63	0.038	86.36	5.84	14.78	*	C_RCN_20211114123500.xlsm	
S0617	2021/11/14	080470C12	5-15cm	503.60	43.92	2.72	0.031	45.26	2.81	16.13	*	C_RCN_20211114123500.xlsm	
S0618	2021/11/14	080470C13	15-30cm	503.10	42.61	2.34	0.040	44.31	2.43	18.23	*	C_RCN_20211114123500.xlsm	

図12 DCN ファイルの「CN分析」シート

このシートはRCN振り分けシステムファイルのマクロを実行すると自動的に作成される。

試料ID	採取位置	層位	試料の種類	含水比	総乾土あたり炭素濃度				総乾土あたり窒素濃度				C/N							
					サンプル1 (g/kg)	サンプル2 (g/kg)	平均 (g/kg)	標準偏差 (g/kg)	変動係数 (%)	精度分析 結果	サンプル1 (g/kg)	サンプル2 (g/kg)	平均 (g/kg)	標準偏差 (g/kg)	変動係数 (%)	精度分析 結果	サンプル1	サンプル2	平均	標準偏差
080470M01	4地点混合	1層	堆積有機物試料	0.063	512.5	509.8	511.2	1.9	0.37		6.93	6.75	6.84	0.13	1.84	74.01	75.56	74.79	1.10	1.47
080470M02	4地点混合	2層	堆積有機物試料	0.047	470.0	469.3	469.6	0.5	0.10		14.22	14.47	14.34	0.18	1.23	33.06	32.44	32.75	0.44	1.33
080470C11	土壌混合	0-5cm	土壌試料	0.038	85.2	86.4	85.8	0.8	0.98		5.81	5.84	5.82	0.03	0.44	14.67	14.78	14.73	0.08	0.54
080470C12	土壌混合	5-15cm	土壌試料	0.031	45.8	45.3	45.5	0.4	0.89		2.88	2.81	2.84	0.05	1.89	15.90	16.13	16.01	0.16	1.00
080470C13	土壌混合	15-30cm	土壌試料	0.040	45.1	44.3	44.7	0.6	1.29		2.55	2.43	2.49	0.09	3.42	17.69	18.23	17.96	0.38	2.13

図13 DCN ファイルの「CN 分析精度管理」シート

このシートはDCN ファイルのマクロを実行すると自動的に作成される。

試料ID	採取位置	層位	試料の種類	含水比	絶乾土あたり炭素濃度		絶乾土あたり窒素濃度		C/N			備考		
					サンプル1 (g/kg)	サンプル2 (g/kg)	サンプル1 (g/kg)	サンプル2 (g/kg)	平均	サンプル1	サンプル2		平均	
080470M01	4地点混合	T層	堆積有機物試料	0.063	512.5	509.8	511.2	6.93	6.75	6.84	74.01	75.56	74.79	
080470M02	4地点混合	K層	堆積有機物試料	0.047	470.0	469.3	469.6	14.22	14.47	14.34	33.06	32.44	32.75	
080470C11	土壌混合	0-5cm	土壌試料	0.038	85.2	86.4	85.8	5.81	5.84	5.82	14.67	14.78	14.73	
080470C12	土壌混合	5-15cm	土壌試料	0.031	45.8	45.3	45.5	2.88	2.81	2.84	15.90	16.13	16.01	
080470C13	土壌混合	15-30cm	土壌試料	0.040	45.1	44.3	44.7	2.55	2.43	2.49	17.69	18.23	17.96	

図14 DCN ファイルの「CN 分析報告書」シート

このシートはDCNファイルのマクロを実行すると自動的に作成される。