

肥料研究報告

第1号

—2008—



独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
Food and Agricultural Materials Inspection Center
(Incorporated Administrative Agency)

Saitama, Japan

はじめに

理事長 吉羽 雅昭

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)は平成19年4月1日に(独)農林水産消費技術センター、(独)肥飼料検査所、(独)農薬検査所の旧3法人が統合して発足致しました。当センターは農場から食卓までのフードチェーン全体を通じての食の安全と消費者の信頼の確保に技術で貢献することを目的として、食品や生産資材の検査・分析を法令に基づいて実施しています。

FAMIC 肥飼料安全検査部の前進である農林水産省肥飼料検査所には「肥検回報」という機関誌が刊行されていましたが、平成13年独立行政法人化の時にその役割を終え廃刊となりました。統合したFAMICが肥料取締法・地力増進法に基づく調査分析を実施することになったのを機会に、肥料分野を担当する職員が中心となって「肥料研究報告」を刊行することに致しました。

「肥料研究報告」は、独立行政法人の研究機関が刊行する研究報告に比べると物足りなさがありますが、日進月歩する分析機器を導入して迅速・効率的な分析法の開発、有害成分の抽出効率の向上、新たな肥料の肥効や有害成分の土壤中での挙動、肥料品質保全協議会肥料分析部会と共同での精度管理試験など、日頃の業務の中から見いだされた課題に検討を加え、得られた知見を取り纏める事を目的としています。特に肥料取締法に規定されている分析法の改良版として、関係分野の皆様方の分析業務に活用していただき、肥料の品質向上に役立てていただきたいと思います。

本号はその記念すべき第1号として、今まで取り組んで来た課題の中から①分析に要する時間の短縮や成分抽出効率の改善などを目的とした試験法の検討とその妥当性確認、②調査・試験業務として、特殊肥料の「木の实油かす及びその粉末」の土壤中での挙動、③信頼性確保の関連で実施した全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析、④技術レポートとして、窒素含有量を高く見せるために添加されるメラミン類の簡易鑑定法の開発、の4分野の結果を纏めました。関係各位の業務の参考にしていただくと共に、お気付きの点がありましたらご指摘いただければ幸いです。

2008年12月

肥料研究報告 第1号

- 2008 -

目次

<試験法等の検討及び妥当性確認>

1-1 汚泥肥料中の水分測定 -加熱乾燥式水分計の適用-	内山 丈, 酒瀬川智代	1
1-2 汚泥肥料中の水分測定 -共同試験成績-	内山 丈, 白井裕治	6
2-1 燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定 -燃焼法全窒素測定装置の適用-	相澤真理子, 杉村 靖, 高橋雄一, 大木 純, 福地幸夫, 白井裕治, 引地典雄	12
2-2 燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定 -共同試験成績-	相澤真理子, 白井裕治	18
3-1 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定 -発色方法の改良-	廣井利明, 齊木雅一, 加藤公栄	25
3-2 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定 -共同試験成績-	廣井利明, 齊木雅一, 加藤公栄	34
4-1 汚泥肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル及びクロムの測定 -分解方法の改良-	榊原良成, 松崎 学, 天野忠雄	41
4-2 汚泥肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル及びクロムの測定 -共同試験成績-	榊原良成, 松崎 学	50
5-1 汚泥肥料中の水銀測定 -分解方法の改良-	阿部文浩, 橋本健志, 杉村 靖	60
5-2 汚泥肥料中の水銀測定 -共同試験成績-	阿部文浩, 橋本健志, 引地典雄	67
6-1 汚泥肥料中のひ素測定 -分解方法の改良-	浅尾直紀, 石田有希恵, 井塚進次郎, 齊木雅一	74

6-2	汚泥肥料中のひ素測定 ー共同試験成績ー 浅尾直紀, 井塚進次郎, 引地典雄	82
7	高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計法(HR-GC/MS)法による汚泥肥料及びたい肥中のダイ オキシン類測定 ー高速溶媒抽出法の適用ー 大木 純, 白井裕治, 相澤真理子	90
8	ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測 定 白井裕治, 大木 純	114
9	汚泥肥料の予備乾燥方法の評価 相澤真理子, 白井裕治, 杉村 靖, 高橋雄一, 大木 純, 福地幸夫, 引地典雄	122
<調査・試験業務>		
10	木の実油かす施用土壌における無機化窒素の推移 阿部文浩, 添田英雄, 福地幸夫, 白井裕治	129
<試験成績の信頼性確保関連>		
11-1	2006年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析 杉村 靖, 加藤公栄, 齊木雅一, 阿部文浩, 伊藤 潤, 内山 丈, 白井裕治, 引地典雄, 杉原 進	138
11-2	2007年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析 ... 高橋雄一, 加藤公栄, 井塚進次郎, 清水 昭, 松崎 学, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 杉原 進	152
<技術レポート>		
12	副産植物質肥料等中のメラミン及びシアヌル酸の定性試験法 田村 勉, 水野和俊, 秋元里乃, 高橋佐貴子, 白井裕治	168

Research Report of Fertilizer Volume 1

– 2008 –

Index

<Development and Validation for Determination Methods>

1-1	Validation of a Heating Method Using a Moisture Analyzer for Moisture Content in Sludge Fertilizer Takeshi UCHIYAMA and Chiyo SAKASEGAWA	1
1-2	Determination of Moisture Content in Sludge Fertilizer by a Heating Method Using a Moisture Analyzer: A Collaborative Study Takeshi UCHIYAMA and Yuji SHIRAI	6
2-1	Validation of a Combustion Method for Determination of Total Nitrogen Content in Sludge Fertilizer Mariko AIZAWA, Yasushi SUGIMURA, Yuichi TAKAHASHI, Jun OKI, Yukio FUKUCHI, Yuji SHIRAI and Norio HIKICHI	12
2-2	Determination of Total Nitrogen content in Sludge Fertilizer by a Combustion Method: A Collaborative Study Mariko AIZAWA and Yuji SHIRAI	18
3-1	Development and Validation of Spectrophotometry for Determination of Water-Soluble Phosphoric acid in Liquid Mixed Fertilizer Containing Phosphonic Acid Toshiaki HIROI, Masakazu SAIKI and Kimie KATO	25
3-2	Determination of Water-Soluble Phosphoric Acid in Liquid Mixed Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry: A Collaborative Study Toshiaki HIROI, Masakazu SAIKI and Kimie KATO	34
4-1	Validation of Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Cadmium, Lead, Nickel and Chromium in Sludge Fertilizer Yoshinari SAKAKIBARA, Manabu MATSUZAKI and Tadao AMANO	41
4-2	Determination of Cadmium, Lead, Nickel and Chromium in Sludge Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry: A Collaborative Study Yoshinari SAKAKIBARA and Manabu MATSUZAKI	50

5-1	Development and Validation of a Rapid Digestion Procedure and Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Mercury in Sludge Fertilizer Fumihiko ABE, Takeshi HASHIMOTO and Yasushi SUGIMURA	60
5-2	Determination of Mercury in Sludge Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry: A Collaborative Study Fumihiko ABE, Takeshi HASHIMOTO and Norio HIKICHI	67
6-1	Validation of Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Arsenic in Sludge Fertilizer Naoki ASAO, Yukie ISHIDA, Shinjiro IDUKA and Masakazu SAIKI	74
6-2	Determination of Arsenic in Sludge Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry: A Collaborative Study Naoki ASAO, Shinjiro IDUKA and Norio HIKICHI	82
7	Evaluation of an Accelerated Solvent Extraction Procedure for Determination of Dioxins in Sludge Fertilizer and Compost Using a High Resolution Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (HR-GC/MS) Jun OKI, Yuji SHIRAI and Mariko AIZAWA	90
8	Validation of Gas Chromatography/Mass Spectrometry for Determination of Melamine and Its Degradation Products in Fertilizer Yuji SHIRAI and Jun OKI	114
9	Evaluation of a Pre-drying Procedure to Prepare Test Samples from Sludge Fertilizer ... Mariko AIZAWA, Yuji SHIRAI, Yasushi SUGIMURA, Yuichi TAKAHASHI, Jun OKI, Yukio FUKUCHI and Norio HIKICHI	122
< Investigation and Research >		
10	Mineralization of Organic Nitrogen Derived from Nut-Meal-Applied Soil Fumihiko ABE, Hideo SOETA, Yukio FUKUCHI and Yuji SHIRAI	129
< Assurance Practices for Reliable Analytical Data >		
11-1	Proficiency Testing for Determination of Chief Ingredients and Harmful Elements of Ground Fertilizers (2006) Yasushi SUGIMURA, Kimie KATO, Masakadzu SAIKI, Fumihiko ABE, Jun ITO, Takeshi UCHIYAMA, Yuji SHIRAI, Norio HIKICHI and Susumu SUGIHARA	138

11-2 Proficiency Testing for Determination of Chief Ingredients and Harmful Elements of Ground Fertilizers (2007)

..... Yuichi TAKAHASHI, Kimie KATO, Shinjiro IDUKA, Akira SHIMIZU,
Manabu MATSUZAKI, Tomoe INOUE, Takeshi UCHIYAMA,
Yuji SHIRAI and Susumu SUGIHARA 152

< Technical Report >

12 A Qualitative method for Detection of Melamine and Cyanuric acid in Byproduct Organic Fertilizer of vegetable

..... Tsutomu TAMURA, Kazutoshi MIZUNO, Satono AKIMOTO,
Sakiko TAKAHASHI and Yuji SHIRAI 168

1-1 汚泥肥料中の水分測定

—加熱乾燥式水分計の適用—

内山 丈¹, 酒瀬川智代^{1,(2)}

キーワード 汚泥肥料, 水分, 加熱乾燥式水分計

1. はじめに

畑地に対するたい肥等有機物の施用は、土壌中の各種養分含量を高めるとともに、土壌団粒の形成、土壌の通気性、保水性、CEC の賦与など土壌の物理性及び化学性の改善に寄与することが知られている¹⁾。また、たい肥、汚泥肥料等の生産量は増加傾向を示している²⁾。平成 11 年に農業の自然循環機能の発揮と持続的発展を図ることを目的としたいわゆる環境 3 法^{3~5)}が成立し、また、肥料取締法の改正により、汚泥肥料等有害物質を含むおそれのある一部の肥料が特殊肥料から普通肥料へ移行することとなり、品質保全の強化措置がとられることとなった。これに伴い、普通肥料の公定規格⁶⁾において汚泥肥料等に含有が許される有害成分の最大量が定められた。この有害成分含有量は 100°C における乾燥試料に対する割合と規定されていることから、有害成分の測定において水分の測定は重要な要因となっている。

汚泥肥料中の水分の公定法として「肥料分析法」^{7, 8)}に加熱減量法が収載されている。しかしながら、この方法は、分析試料の乾燥に 5 時間および放冷後恒量に達するまでの時間を必要とし、更にはかり瓶の恒量を求めるために別途加熱放冷の時間を要する。一方、加熱乾燥式水分計(以下、「水分計」という。)は、加熱しながら継時的かつ自動的に乾燥重量を短時間に測定することができる。水分計を使用することで水分測定 of 迅速化および労力の効率化が期待できることから、汚泥肥料を対象として水分計による水分測定法の妥当性の確認を実施したので、その概要を報告する。

2. 材料および方法

1) 試料の採取および調製

下水汚泥肥料, し尿汚泥肥料, 工業汚泥肥料及び汚泥発酵肥料を収集し、ビニール袋に入れて密封し、分析時まで冷蔵庫に保存した。ペレットおよび塊のある試験品はラボミキサーを用いて粉碎した。また、水分含有量 70% 以上の試験品は薬さじ等で十分に混ぜた。

2) 装置

- (1) 定温乾燥器: TABAI 製, HPS-212
- (2) 水分計: METTLER TOREDO 製, HG63 ハロゲン水分計

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

² (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター門司事務所

3) 水分の測定

(1) 肥料公定法

分析試料約 5 g を予め重量を量った平形はかり瓶にとり、厚さが 10 mm 以下になるように拡げ、0.1 mg の桁まで質量を測定した。定温乾燥器を用いて 100°C で 5 時間加熱して乾燥した後、デシケーター中で放冷し 0.1 mg 以下の桁まで質量を測定し、その減量を水分とした。

(2) 水分計を用いた方法(図 1)

分析試料約 5 g をひょう量皿にとり、厚さが 10 mm 以下になるように拡げ、1 mg の桁まで質量を測定した。100°C で加熱して乾燥し、継続的に質量をモニターし、恒量になった時点で乾燥を終了、1 mg の桁まで質量を測定し、その減量を水分とした。なお、恒量の判定は、単位時間の質量損失 1 mg/90 秒(条件 1)又は 1 mg/140 秒(条件 2)の 2 条件を用いた。

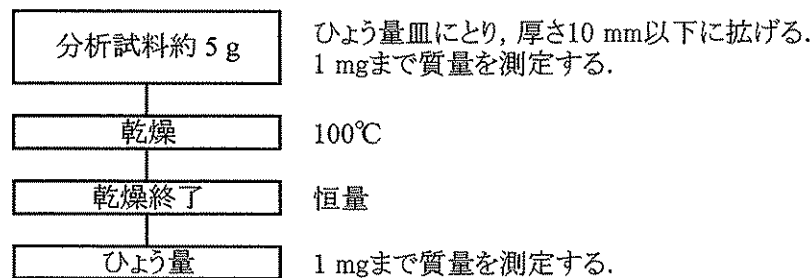


図1 汚泥肥料中の水分試験法フローシート

3. 結果および考察

1) 肥料公定法および水分計による水分測定値の比較

肥料公定法並びに水分計(条件 1 及び 2)による汚泥肥料 26 点(下水汚泥肥料 1 点, し尿汚泥肥料 6 点, 工業汚泥肥料 2 点, 汚泥発酵肥料 17 点)の水分測定値を図 2 及び 3 に示した。肥料公定法—水分計による水分の測定値の一次回帰式の回帰係数は条件 1 及び 2 で 0.992 及び 0.998 で、切片は -0.139 及び 0.188 であり、その相関係数(r)はいずれも 1.000 であった。4~90%の試料を用いて公定法と水分計の測定値を比較したところ、水分計のいずれの測定条件においても両測定法間の測定値が一致した。次に、水分計の測定時間は条件 1 で 23.1~75.4 分間、条件 2 で 22.3~73.5 分間であり、いずれも公定法の測定時間を大幅に下回った。

2) 繰り返し試験

下水汚泥肥料(1 点), し尿汚泥肥料(2 点), 工業汚泥肥料(2 点)および汚泥発酵肥料(2 点)を用いて、水分計の条件 2 で繰り返し 3 回水分を測定して得られた試験結果を表 1 に示した。標準偏差は 0.03~0.29%であり、相対標準偏差は 0.15~1.19%であった。水分含有量が 5.50~90.61%(平均値($n=3$))と広い範囲で、良好な繰り返し精度(相対標準偏差)が得られた。

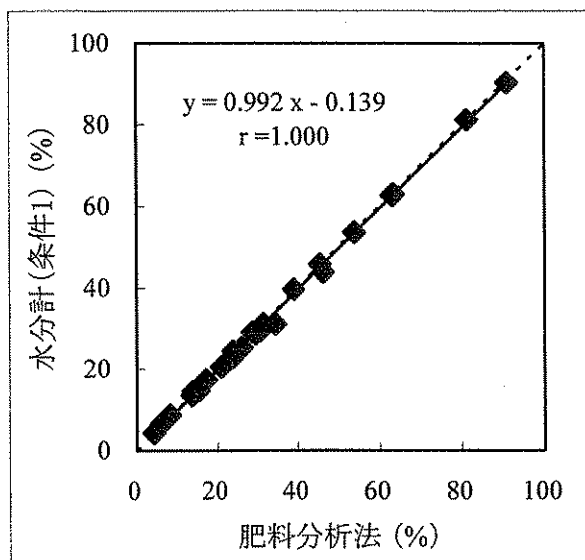


図2 肥料分析法及び水分計(条件1)による肥料中の水分定量値の比較 (n=26)

実線: 双方の定量値による回帰直線
波線: $y=x$ の直線

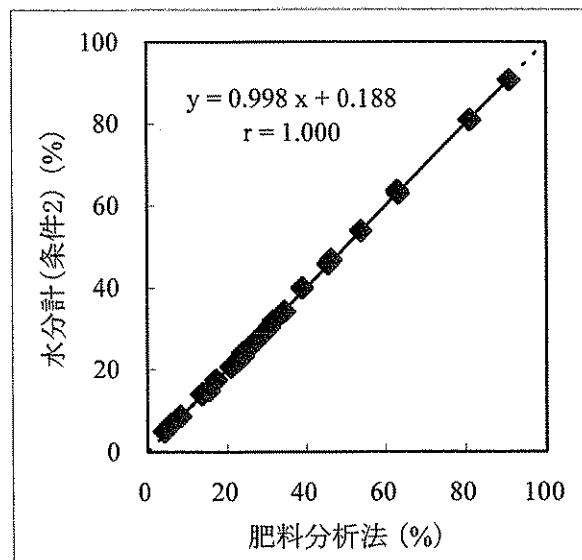


図3 肥料分析法及び水分計(条件2)による肥料中の水分定量値の比較 (n=26)

実線: 双方の定量値による回帰直線
波線: $y=x$ の直線

表1 水分計による汚泥肥料中の水分の繰り返し試験

肥料の名称	平均値 ^{a)} (%)	標準偏差 (%)	相対標準偏差 (%)
下水汚泥肥料	24.40	0.29	1.2
し尿汚泥肥料A	5.50	0.03	0.6
し尿汚泥肥料B	13.63	0.09	0.7
工業汚泥肥料A	13.39	0.11	0.8
工業汚泥肥料B	90.61	0.14	0.2
汚泥発酵肥料A	33.92	0.20	0.6
汚泥発酵肥料B	63.14	0.21	0.3

a) 繰り返し3回測定の平均値

4. まとめ

水分含有量 4~90%の範囲の試料で水分計による水分を測定したところ、肥料公定法の測定値と一致した。その繰り返し精度は、標準偏差及び相対標準偏差が 0.03~0.29%及び 0.15~1.19%であり、水分含有量が 5.50~90.61%(平均値)と広い範囲で良好な成績が得られた。

肥料分析法の乾燥減量法では、分析試料の乾燥に5時間および放冷後恒量に達するまでの時間を必要とし、更にはかり瓶の恒量を求めるために加熱放冷の時間を要する。一方、加熱乾燥式水分計を用いた方法は、分析試料を秤量した後の測定時間は 22.3~73.5 分間であり、測定に要する時間を大幅に短縮することができた。

文 献

- 1) 上沢正志:化学肥料・有機物の連用が土壌・作物収量に与える影響の全国的解析, 農業技術, 46, 393~397 (1981)
- 2) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課:ポケット肥料要覧-2007-, p.7~9, 農林統計協会, 東京 (2008)
- 3) 持続性の高い農業生産方式の導入の促進に関する法律:平成 11 年 7 月 28 日法律第 110 号 (1999)
- 4) 家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律:平成 11 年 7 月 28 日法律第 112 号 (1999)
- 5) 肥料取締法:改正平成 11 年 7 月 28 日法律第 111 号 (1999)
- 6) 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件:改正平成 12 年 8 月 31 日農林水産省告示第 1161 号 (2000)
- 7) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.7~8, 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 8) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, p.20~23, 養賢堂, 東京 (1988)

Validation of a Heating Method Using a Moisture Analyzer for Moisture Content in Sludge Fertilizer

Takeshi UCHIYAMA¹ and Chiyo SAKASEGAWA^{1, (2)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center Moji Office

We validated a rapid method for determination of moisture content in sludge fertilizer using a moisture analyzer. Samples were placed in a pan of a moisture analyzer, and heated at 100°C on a built-in electric balance. The samples before and after the heating were weighed to determine the moisture loss. The moisture of 26 samples of sludge fertilizer was determined by the rapid method and the oven-drying method described in the Official Methods of Analysis of Fertilizers published in December 1992. The values of moisture obtained by the rapid method agreed with those obtained by the official method. Seven sludge fertilizer samples were used to determine the repeatability by applying the rapid method three times. The mean values, the standard deviation (SD) and relative standard deviation (RSD) were in the range of 5.50~90.61%, 0.03~0.29% and 0.15~1.19%, respectively. The results indicated that this method (a heating method using moisture analyzer) is applicable to measure moisture in sludge fertilizer.

Key words sludge fertilizer, moisture, moisture analyzer

(Research Report of Fertilizer, 1, 1~5, 2008)

1-2 汚泥肥料中の水分測定

—共同試験成績—

内山 丈¹, 白井裕治²

キーワード 汚泥肥料, 水分, 加熱乾燥式水分計, 共同試験

1. はじめに

汚水処理には流入汚水の水質と量により各種の処理方法があり, 我が国においてはし尿, 下水, 食品工場等の排水処理施設で用いられている. 発生する余剰汚泥中には有機物のほか, 各種の無機成分が含まれている¹⁾. このため, 農業への利用が試みられ, 汚泥肥料の生産量が増加し続けている^{2, 3)}. 平成 11 年 7 月の肥料取締法⁴⁾の改正により, 汚泥肥料等有害物質を含むおそれのある一部の肥料が特殊肥料から普通肥料へ移行し, 公定規格⁵⁾において含有の許される有害成分の最大量を定め, 品質保全の強化措置がとられることとなった. この有害成分含有量は 100°C における乾燥試料に対する割合と規定されていることから, 有害成分の測定において水分の測定は重要な要因となっている.

汚泥肥料中の水分測定の迅速化のため, 加熱乾燥式水分計(以下, 「水分計」という.)を用いた試験法について試験室内の妥当性確認の試験を実施し, 満足する成績が得られた⁶⁾. 加熱乾燥式の水分計の熱源にはハロゲンランプ, 赤外線ランプ及びセラミックヒーターの 3 種類があることから, これらの水分計による測定値に差がないことを確かめる必要がある. このため, 汚泥肥料中の水分試験法について機種間も含む試験室間の再現精度を調査するため, IUPAC のプロトコル⁷⁾を参考に共同試験を実施したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の採取, 調製等

流通している下水汚泥肥料, し尿汚泥肥料, 工業汚泥肥料, 焼成汚泥肥料及び汚泥発酵肥料各 2~3 kg を採取し, ビニール袋に入れて密封し, 試験品として冷蔵庫に保管した. ペレット及び塊のある試験品はラボミキサーを用いて粉碎し, よく混合し, それぞれ約 10 g をスクリュウキャップ付きガラスびんに入れて密封し, 更にキャップの接合部分をビニールテープでシールして分析用試料とした. 一対のブラインド試料を提供するため, それぞれの分析用試料の容器に 2 系列の番号のラベルを付けた. 分析用試料(10 点)を参加試験室に送付した.

2) 装置

水分計は各試験室に設置している加熱乾燥式水分計を使用した.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

3) 水分の測定

分析試料約 5 g をひょう量皿にとり、厚さが 10 mm 以下になるように拡げ、1 mg の桁まで質量を測定した。100℃で加熱し、恒量になるまで乾燥した。乾燥終了後、1 mg の桁まで質量を測定した。(図 1)

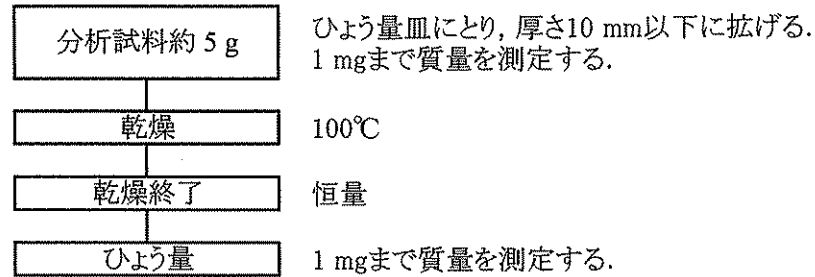


図1 汚泥肥料中の水分試験法フローシート

4) 均質性の確認

各銘柄の分析用試料の均質性試験は IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁸⁾に基づいて実施した。小分けした各銘柄の分析用試料から、それぞれ 10 試料をランダムに抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3) に従って測定した。

5) 共同試験

試験に参加した 9 試験室と使用した水分計の型式及び熱源は以下のとおりであり、それぞれの試験室において送付した 10 試料について 3) に従って試験を実施した。

- ・ 株式会社エーアンドデイ 設計開発本部第一開発グループ (MS-70, ハロゲンランプ) 及び営業本部販売促進部 (MX-50, ハロゲンランプ)
 - ・ 株式会社ケット科学研究所 技術部基礎研究室 (FD-720, 赤外線ランプ) 及びテクニカルセンター (FD-240, 赤外線ランプ)
 - ・ ザルトリウス株式会社 (MA150C, セラミックヒーター)
 - ・ 株式会社シービーシー (MB-30C, 赤外線ランプ)
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部肥飼料安全検査部 (MOC-120H, 赤外線ランプ) 及び福岡センター (HG63, ハロゲンランプ)
 - ・ メトラー・トレド株式会社 (HR83P, ハロゲンランプ)
- (50 音順)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰り返し 2 回×10 試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表 1 に示した。いずれの試料においても、F 値が $F(9,10;0.05)$ を下回ったことから、有意水準 5% において試料間に有意な差は認められなかった⁸⁾。また、試料間の相対標準偏差は 0.5~1.1% であり、全ての分析用試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した。

表1 水分の均質性確認試験の結果

試料名	平均定量値 ^{a)} (%)	標準偏差 ^{b)} (%)	相対標準偏差 ^{c)} (%)	F値 ^{d)}	F値限界 ^{e)}
下水汚泥肥料	22.31	0.19	0.8	0.20	3.02
し尿汚泥肥料	13.21	0.19	1.1	0.11	3.02
工業汚泥肥料	34.28	0.15	0.5	0.48	3.02
焼成汚泥肥料	38.86	0.31	0.8	0.67	3.02
汚泥発酵肥料	26.90	0.18	0.7	0.41	3.02

a) 10試料2点併行分析の総平均定量値 ($n=20$)

b) 試料間の標準偏差

c) 試料間の相対標準偏差

d) 一元分散分析により算出された分散比

e) $F(9,10;0.05)$

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を表 2 に示した。各系列の分析試料の試験成績を AOAC INTERNATIONAL のガイドライン⁹⁾に従って統計処理した。試験成績の外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施したところ、9 試験室の試験成績のうちし尿汚泥肥料で 1 試験室の試験成績が外れ値と判別された。

3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値、室内繰り返しの標準偏差 (SD_r)、相対標準偏差 (RSD_r) 及び HorRat 値 (Ho_r) 並びに室間再現の標準偏差 (SD_R)、相対標準偏差 (RSD_R) 及び HorRat 値 (Ho_R) を表 3 に示した。HorRat 値は分析方法の精度の評価をするために用いられており、 Ho_r は $RSD_r/RSD_r(P)$ 及び Ho_R は $RSD_R/RSD_R(P)$ により求められる。なお、 $RSD_R(P)$ は平均定量値から Horwitz 修正式¹⁰⁾により求め、 $RSD_r(P)$ は Horwitz 式に係数 (1/2) を乗じて求めた^{11, 12)}。外れ値を除外した試験成績の平均値は 13.36~38.75% であり、その SD_r 及び SD_R は 0.14~0.59% 及び 0.37~0.60% であり、 RSD_r 及び RSD_R は 0.6~1.5% 及び 1.5~2.8% であった。また、 RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる Ho_r 及び Ho_R は 0.53~1.33 及び 0.86~1.15 であり、いずれも 2 以下であった¹³⁾。

4. まとめ

9 試験室において 5 種類 (各 2 点) の汚泥肥料を用いて水分の共同試験を実施し、本分析法の評価を行った。その結果、室間再現精度 (相対標準偏差) は 1.5~2.8% であった。また、参考としてその評価に用いる HorRat 値は 0.86~1.15 であり、2 を下回っていた。このことから、試験所間の比較による本分析法の室間再現精度は満足する成績であった。

既報により測定範囲、公定法との整合性等が検討されており、本試験法は汚泥肥料中の水分の測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された。このことから、2007 年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は肥料等試験法 (2008) に記載された¹⁴⁾。

表2 汚泥肥料中の水分の共同試験成績 (%)

試験室 ^{a)}	下水汚泥肥料		し尿汚泥肥料		工業汚泥肥料	
A	21.09	21.84	13.53	13.15	34.44	34.77
B	22.37	21.99	13.65	13.57	34.31	34.69
C	21.58	21.60	13.18	12.88	33.85	34.29
D	21.70	21.01	11.49 ^{b)}	11.12 ^{b)}	33.57	33.04
E	22.22	22.40	13.33	13.44	34.66	34.80
F	21.74	22.24	13.61	13.41	34.34	34.34
G	22.58	22.19	13.93	13.98	34.84	34.91
H	21.61	21.75	12.80	12.74	33.96	33.96
I	22.59	22.19	13.33	13.15	34.30	34.03
試験室	焼成汚泥肥料		汚泥発酵肥料			
A	37.57	39.06	27.45	27.56		
B	38.19	38.30	27.69	27.48		
C	39.29	38.66	27.02	26.53		
D	38.57	38.58	25.93	25.87		
E	39.09	39.17	27.35	27.18		
F	39.59	38.22	27.78	26.90		
G	38.81	38.31	27.85	27.70		
H	39.76	38.51	26.94	26.69		
I	38.87	38.91	26.95	26.89		

a) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

b) Grubbsテストによる外れ値

表3 共同試験成績の解析結果

試料名	試験室数 ^{a)}	平均値 ^{b)} (%)	SD _r ^{c)} (%)	RSD _r ^{d)} (%)	Ho _r ^{e)}	SD _R ^{f)} (%)	RSD _R ^{g)} (%)	Ho _R ^{h)}
下水汚泥肥料	9	21.93	0.32	1.4	1.15	0.47	2.1	1.00
し尿汚泥肥料	8	13.36	0.14	1.1	0.80	0.37	2.8	1.04
工業汚泥肥料	9	34.28	0.21	0.6	0.53	0.50	1.5	0.86
焼成汚泥肥料	9	38.75	0.59	1.5	1.33	0.59	1.5	0.95
汚泥発酵肥料	9	27.10	0.26	0.9	0.78	0.60	2.2	1.15

a) 解析に用いた試験室数

b) 平均値 (n=試験室数×試料数(2))

c) 室内標準偏差

d) 室内相対標準偏差

e) 室内繰り返しHorRat値

f) 室間標準偏差

g) 室間相対標準偏差

h) 室間再現HorRat値

謝 辞

共同試験にご協力頂いた株式会社エーアンドデイ設計開発本部第一開発グループ及び営業本部販売促進部, 株式会社ケット科学研究所技術部基礎研究室及びテクニカルセンター, ザルトリウス株式会社, 株式会社シービーシー並びにメラー・トレド株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 橋元秀教, 松崎敏秀: 土づくり講座Ⅴ 有機物の利用, p.174~182, 農山漁村文化協会, 東京 (1976)
- 2) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課: ポケット肥料要覧-2007-, p.7~9, 農林統計協会, 東京 (2008)
- 3) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課: ポケット肥料要覧-2004-, p.7~9, 農林統計協会, 東京 (2005)
- 4) 肥料取締法: 改正平成 11 年 7 月 28 日法律第 111 号 (1999)
- 5) 農林水産省告示: 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件: 改正平成 12 年 8 月 31 日, 農林水産省告示第 1161 号 (2000)
- 6) 内山 丈, 酒瀬川智代: 汚泥肥料中の水分測定 —加熱乾燥式水分計の適用—, 肥料研究報告, **1**, 1~5 (2008)
- 7) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 8) Thompson, M., R.Ellison, S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 10) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 11) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 12) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 13) Codex Alimentarius: "Recommendation for a checklist of information required to evaluate method of analysis and submitted to the Codex Committee on Method of Analysis and Sampling for endorsement", Vol.13, p.129 (1994)
- 14) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Determination of Moisture Content in Sludge Fertilizer by a Heating Method Using a Moisture Analyzer: A Collaborative Study

Takeshi UCHIYAMA¹ and Yuji SHIRAI²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

A collaborative study was performed to evaluate a heating method using a moisture analyzer for determining moisture content in fertilizer. Samples were placed in a pan of a moisture analyzer, and heated at 100°C on a built-in electric balance. The samples before and after the heating were weighed to determine the moisture loss. Ten samples of 5 kinds of sludge fertilizer were analyzed as blind duplicates by 9 laboratories. After removing the outlying data with Cochran and Grubbs outlier test, the mean values reported ranged from 13.36 to 38.75% for each kind of sludge fertilizer. The standard deviations of repeatability (SD_r) and reproducibility (SD_R) ranged from 0.14 to 0.59% and from 0.37 to 0.60%, respectively. The relative standard deviations of repeatability (RSD_r) and reproducibility (RSD_R) ranged from 0.6 to 1.5% and from 1.5 to 2.8%, respectively. The HorRat values ($RSD_R/\text{predicted } RSD_R$) ranged from 0.86 to 1.15. These results indicated that this method has acceptable precision.

Key words sludge fertilizer, moisture, moisture analyzer, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 1, 6~11, 2008)

2-1 燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定

—燃焼法全窒素測定装置の適用—

相澤真理子¹, 杉村靖^{1,(2)}, 高橋雄一¹, 大木純^{1,(3)},
福地幸夫¹, 白井裕治¹, 引地典雄^{1,(4)}

キーワード 窒素全量, 汚泥肥料, 燃焼法, ケルダール法

1. はじめに

食料・農業・農村基本法の制定を契機として、平成 11 年に農業の自然循環機能の維持・増進を図ることを目的とした「持続性の高い農業生産方式の導入の促進に関する法律」、「家畜排せつ物管理の適正化及び利用の促進に関する法律」及び「肥料取締法の一部を改正する法律」のいわゆる農業環境 3 法が制定された。肥料取締法の一部改正により、たい肥等特殊肥料に品質表示制度が創設され¹⁾、農業者に対して適切な施肥の推進のため窒素全量、りん酸全量、加里全量及び腐熟度を表す炭素窒素比が必須表示事項とされた²⁾。また、有害物質を含有するおそれのある汚泥肥料等一部の特殊肥料が普通肥料に移行され、肥料登録を受けることとされ、主要な成分の含有量(窒素全量、りん酸全量、加里全量)等の表示が義務づけられた³⁾。肥料の使用者は主要な成分の含有量等の表示に基づいて施肥設計するため、表示には正確さが求められる。さらに、特殊肥料では表示する主要な成分の含有量等について、表示値の許容誤差の範囲が定められている²⁾。

これらの汚泥肥料について主要な成分の含有量の定量法は農林水産省の告示により制定されており、窒素全量の公定法はケルダール法と定められている^{4, 5)}。しかしながら、ケルダール法では試料の分解及び分解液の蒸留時に濃い酸及びアルカリ溶液を用いることから、専用施設が必要とされ、試薬、排ガス及び廃液の管理が求められる。近年報告されている燃焼法は、純粋な酸素ガス中にて試料を高温で燃焼させ、遊離する窒素ガスを熱伝導度検出器(TCD)で測定する方法である⁶⁾。燃焼法はケルダール法と比較し、濃い酸及びアルカリ溶液を必要とせず、測定時間が短いことに特徴がある。

今回、窒素全量の分析時間の迅速化及び簡素化を目的とし、燃焼法とケルダール法により測定された汚泥肥料中の窒素全量の定量値を比較し、妥当性のある測定法の検討を行ったのでその概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料の調製

流通している汚泥発酵肥料 45 点, し尿汚泥肥料 24 点, 焼成汚泥肥料 2 点, 工業汚泥肥料 8 点及び下

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター消費安全情報部

⁴ (現)農林水産省消費・安全局農産安全管理課

水汚泥肥料 2 点 (計 81 点) 各 2~3 kg を試験品として採取し、ビニール袋に入れて密封し、冷暗所で保存した。試験品を密封状態で室温まで戻し、必要に応じて定温乾燥機により 40℃で 60~70 時間または 65℃で 5~24 時間乾燥し、超遠心粉砕機で粉砕し、目開き 500 μm のふるいを全通するように分析用試料を調製しよく混合した。

2) 装置及び器具

- (1) 定温乾燥機: ヤマト科学 DF62
- (2) 超遠心粉砕機: Retsch ZM100, Retsch ZM1
- (3) 燃焼法全窒素測定装置: 住化分析センター製 SUMIGRAPH NC-220F

試料を反応管 (酸化触媒充填) 内の高純度酸素気流中で加熱及び循環し、発生した燃焼ガスをキャリアガス (高純度ヘリウム) で還元管 (還元銅) に送って酸素の除去及び窒素酸化物を窒素に還元し、更にガス吸収管で水分を除去し、精製された窒素と二酸化炭素をガスクロマトグラフに導入する。ガスクロマトグラフの分離カラム (シリカゲル) で窒素と二酸化炭素を分離した後、熱伝導度検出器 (TCD) でそれぞれ検出する。

3) 燃焼法による窒素全量の測定

(1) 検量線の作成

DL-アスパラギン酸標準品 (純度 99.0%以上) を用い、以下の条件で窒素全量を測定して関係線を作成した。

表 1 燃焼法全窒素測定装置の測定条件

燃焼ガス	高純度酸素, 純度 99.99995%以上, 流量 200 mL/min
キャリアガス	高純度ヘリウム, 純度 99.9999%以上, 流量 80 mL/min
分離カラム	シリカゲル系ステンレスカラム
検出部	熱伝導度検出器 (TCD)
測定サイクル	ページ時間 60 秒, 循環燃焼時間 300 秒, 計測時間 180 秒
温度条件	反応炉温度: 870℃, 還元炉温度: 600℃, カラム槽温度: 70℃, 検出器温度: 100℃

(2) 試料の測定

分析試料 0.2~0.5 g を 0.1 mg の桁まで量り、表 1 の条件に設定した装置を用いて分析試料中の窒素全量を測定した。

4) ケルダール法による窒素全量の測定

肥料公定法 (ケルダール法) に従って分析試料中の窒素全量を測定した⁵⁾。

3. 結果及び考察

1) 燃焼法とケルダール法の比較

燃焼法による分析試料中の窒素全量の定量値の範囲は 0.31~8.35% であり、ケルダール法による定量値に対する割合及び定量値との差は 80~111% (平均値 101%) 及び -0.19~0.24% (平均値 0.06%) であった。

両方法間の窒素全量の定量値に高い相関($r = 0.999$, $y = 1.018x - 0.006$)が認められた(図1).

2) 燃焼法による窒素全量測定 of 繰返し試験

2.1)の汚泥肥料のうち汚泥発酵肥料, し尿汚泥肥料, 焼成汚泥肥料, 工業汚泥肥料及び下水汚泥肥料各1点について, 窒素全量を3回繰返し測定して得られた試験結果を表2に示した. 窒素全量が0.61~8.09%(平均値)で, 標準偏差は0.00~0.05%, 相対標準偏差は0.11~3.08%と, 良好な繰返し精度が得られた.

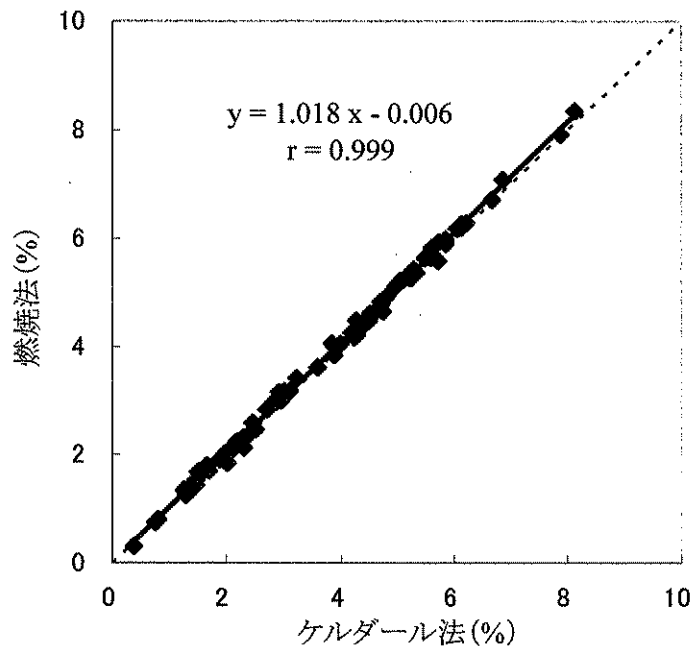


図1 燃焼法とケルダール法による窒素全量定量値の比較($n=81$)

表2 燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量の繰返し試験

試料名	平均値 ¹⁾ (%)	標準偏差 (%)	相対標準偏差 (%)
汚泥発酵肥料	1.67	0.05	3.1
し尿汚泥肥料	6.07	0.01	0.1
焼成汚泥肥料	0.61	0.01	1.3
工業汚泥肥料	8.09	0.02	0.2
下水汚泥肥料	3.78	0.00	0.1

1) 繰返し3回測定し得られた値の平均値

3) 定量下限の確認

焼成汚泥肥料について, 燃焼法により窒素全量を繰返し10回測定して得られた定量下限の確認試験結果を表3に示した. 平均定量値は0.163%であり, その標準偏差は0.005%であった. 定量下限値は(標準偏差) $\times 10$, また, 検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ として示される⁷⁾ので, 本法の定量下限値及び検出下限は0.05%程度及び0.02%程度と推定された.

表3 定量下限確認試験の結果

試料名	平均定量値 ¹⁾ (%)	標準偏差 (%)	定量下限の 推定 ²⁾ (%)	検出下限の 推定 ³⁾ (%)
焼成汚泥肥料	0.163	0.005	0.05	0.02

1) 繰返し10回測定し得られた値の平均値

2) 標準偏差×10

3) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4) 試料量の検討

推奨される試料量は燃焼法全窒素測定装置により異なる。また、試料により比重が異なるために装置に供する試料量が物理的に制限されることがある。そこで、燃焼法により汚泥肥料の窒素全量を測定する上で、最適な試料量の検討を行った。

工業汚泥肥料を用いて、0.02～0.5 g の間で段階的に試料量を決定し、窒素全量を繰返し 3 回分析した結果を表 4 に示した。0.05～0.5 g の間で測定したときの標準偏差は 0.03～0.08% であったが、試料量 0.02 g ではその標準偏差が 0.15% と大きくなった。よって、本装置での試料量は 0.05～0.5 g とするが、0.05 g での標準偏差が若干大きくなることから、可能な限り 0.1 g 以上にすることが望ましい。

表4 異なる試料量による窒素全量測定結果

試料量(g)	平均測定値 ¹⁾ (%)	標準偏差 (%)	相対標準偏差 (%)
0.02	2.560	0.150	5.8
0.05	2.569	0.080	3.1
0.1	2.662	0.044	1.7
0.2	2.641	0.029	1.1
0.5	2.644	0.034	1.3

1) 繰返し3回測定した値の平均値

4. まとめ

燃焼法及び公定法であるケルダール法により汚泥肥料中の窒素全量を測定した。得られた測定値を比較した結果、両方法間に高い相関関係 ($r = 0.999$) があり、燃焼法はケルダール法と同等の窒素全量測定値を得られることが確認された。また、定量下限は 0.05%、適切な試料量は 0.05～0.5 g (可能な限り 0.1 g 以上) ということが確認された。

ケルダール法は分析試料の分解に 4～6 時間程度、更に窒素の蒸留・滴定に数時間必要とする。一方、燃焼法は、試料量の分取操作を行った後は燃焼法全窒素測定装置により自動的に測定されることから、関係線の作成を含めた装置の調整に 1～1.5 時間程度必要とするが、1 分析試料につき数分で窒素全量の測定ができる。

また、ケルダール法は 1 分析試料の分解に濃硫酸を約 40 mL、窒素の蒸留に濃い水酸化ナトリウム水溶液を約 30～50 mL 必要とし、分解促進剤として硫酸銅を使用する。このため、劇物であるこれらの試薬、その排ガス・廃液等を管理するドラフト等の設備や廃液の処理が必要となる。一方、燃焼法では酸化窒素を還元する還元銅などの廃棄物は発生するが少量であり、多量の濃い酸・アルカリ等の試薬を必要としない。

測定時間の短さや濃い酸・アルカリ溶液を扱うための設備・廃液処理等が不要という点から、燃焼法は窒

素全量測定の迅速化及び簡素化に有用な手法と考えられる。

謝 辞

この試験の実施において独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所安井明美博士にはご指導頂きまして感謝いたします。

文 献

- 1) 肥料取締法:改正平成 11 年 7 月 28 日, 法律第 111 号 (1999)
- 2) 農林水産省告示:特殊肥料の品質表示基準, 平成 12 年 8 月 31 日, 農林水産省告示第 1163 号 (2000)
- 3) 農林水産省告示:肥料取締法第十七条第一項第三号の規定に基づき, 肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件, 平成 12 年 1 月 27 日, 農林水産省告示第 96 号 (2000)
- 4) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 改正平成 12 年 8 月 31 日, 農林水産省告示第 1161 号 (2000)
- 5) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法, p.11~13, 財団法人日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 6) 日本食品分析センター編集:分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表 分析マニュアルの解説 p.271 (2001)
- 7) 環境省水・大気環境局水環境課:要調査項目等調査マニュアル(水質, 底質, 水生生物), p.8~11, (2008)

Validation of a Combustion Method for Determination of Total Nitrogen Content in Sludge Fertilizer

Mariko AIZAWA¹, Yasushi SUGIMURA^{1,(2)}, Yuichi TAKAHASHI¹, Jun OKI^{1,(3)}, Yukio FUKUCHI¹,
Yuji SHIRAI¹ and Norio HIKICHI^{1,(4)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

³ (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Food Safety and Consumer Affairs Information Department

⁴ (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Food Safety and Consumer Affairs Bureau, Plant Product Safety Division

We validated a combustion method for determination of total nitrogen content in sludge fertilizer. The samples of sludge fertilizer were combusted at 870°C under high-purity oxygen. The nitrogen released from the samples was measured as weight/weight percent nitrogen in the sample by thermal conductivity detection. The values of total nitrogen content obtained by the combustion method agreed with those obtained by the Kjeldahl method over the range of 0.31~8.35%. Standard deviations (SD) of 0.00 to 0.05% and relative standard deviations (RSD) of 0.11 to 3.08% were obtained from 3 replicate analysis of 5 samples of different sludge fertilizers over the range of 0.61~8.09%. On the basis of 10 replicate measurements of sludge fertilizer sample the limit of quantitative (LOQ) value were assessed at 0.05%. The combustion method was validated to be applicable to determination of total nitrogen content in sludge fertilizer, with an advantage of requiring shorter analysis time and being gentler to the operators and environment.

Key words total nitrogen, sludge fertilizer, combustion method, Kjeldahl method

(Research Report of Fertilizer, 1, 12~17, 2008)

2-2 燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定

—共同試験成績—

相澤真理子¹, 白井裕治¹

キーワード 窒素全量, 汚泥肥料, 燃焼法, 共同試験

1. はじめに

近年, 有機質資材の施用を基本とした土づくりへの関心が高まるなか, 汚泥発酵肥料を中心とした汚泥肥料の国内の生産量は増加傾向を示している¹⁾. 使用する原料及び製造工程により, 汚泥肥料中の各化学成分は極めて広い含有量の範囲となっている. このため, 施用に当たっては肥料成分の評価や成分表示が極めて重要となる²⁾.

汚泥肥料中の窒素全量測定の迅速化及び簡便化のため, 燃焼法による窒素全量試験法について, 公定法(肥料分析法(1992年版))³⁾との比較, 繰返し精度, 定量下限の確認等の ISO/IEC 17025⁴⁾で要求されている試験室内の妥当性確認の試験を実施し, 満足する結果が得られた⁵⁾. 燃焼法全窒素測定装置は, 純粋な酸素ガス中にて試料を高温で燃焼させ, 遊離する窒素酸化物及び窒素を還元銅を通して窒素ガスとし, 熱伝導度検出器(TCD)で測定する. 窒素とその他ガスの分離方法として, クロマトグラフを用いる方式と吸着管を用いる方式がある. このこと, これらの燃焼法全窒素測定装置による測定値に差がないことを確かめる必要がある. このため, ISO/IEC 17025 の要求事項である試験所間の比較試験について, IUPAC の共同試験プロトコル⁶⁾を参考に燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量試験法の共同試験を実施し, 機種間も含む試験室間の再現精度を調査したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料の調製

流通している汚泥発酵肥料 2 点, 焼成汚泥肥料, し尿汚泥肥料, 工業汚泥肥料各 1 点(計 5 点)各 2~3 kg を試験品として採取し, ビニール袋に入れて密封し, 共同試験用試料の調製時まで冷暗所で保存した. 試験品を密封状態で室温まで戻し, 必要に応じて定温乾燥機(ヤマト科学社製 DF62)により 40°C で 60~70 時間または 65°C で 5~24 時間乾燥した後, 超遠心粉砕機(Retsch ZM100, Retsch ZM1)で目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉砕し, よく混合して共同試験用試料を調製した.

共同試験用試料約 0.8 g をポリプロピレン製容器に入れ, パラフィルムで封じた. 一対のブラインド試料を提供するため, それぞれの汚泥肥料の共同試験用試料の容器に 2 系列の番号のラベルを付けた. 共同試験用試料(10 点)を参加試験室に送付した.

2) 装置

各試験室に設置している燃焼法全窒素測定装置を使用した.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

3) 窒素全量の測定

分析試料 0.05～0.5 g を 0.1 mg の桁まで燃焼用容器に量りとり、燃焼法全窒素測定装置を用いて分析試料中の窒素全量を算出した。(図 1)

測定にあたって、試料量、プログラム及びパラメータの設定は、各試験室燃焼法全窒素測定装置の仕様及び操作方法に従った。

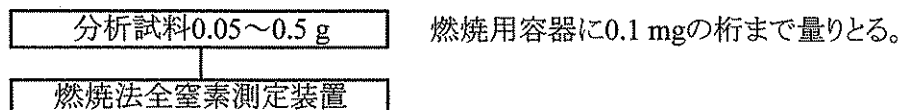


図1 燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量試験法のフローシート

4) 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁷⁾の均質性試験に従い、各系列の共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3) に従って分析した。

5) 共同試験

試験に参加した 13 試験室と使用した燃焼法全窒素分析装置の型式、窒素・その他ガス分離方式及び使用した標準物質は以下のとおりであり、それぞれの試験室において送付した 10 試料について 3) に従って試験を実施した。

- ・株式会社アクタック (デュマサーム, 吸着管, EDTA)
- ・株式会社アムコ 科学機器部 (FlashEA1112, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
- ・株式会社ジェイ・サイエンス・ラボ (PROTEIN CORDER JM3000N, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
- ・株式会社住化分析センター 大阪事業所 (SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
- ・株式会社住化分析センター 営業本部科学機器営業部 (SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
- ・株式会社 LECO ジャパン 東京営業部 (TruSpec N 型, 吸着管, EDTA)
- ・財団法人日本肥糧検定協会 (SUMIGRAPH NC-90A, クロマトグラフ, アセトアニリド)
- ・独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所 食品分析研究領域分析ユニット (LECO 製 FP-528 型, 吸着管, EDTA)
- ・独立行政法人農林水産消費安全技術センター
 - 神戸センター 消費技術部表示指導課 (SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
 - 本部 肥飼料安全検査部肥料鑑定課 (SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
 - 本部 肥飼料安全検査部 飼料鑑定第一課 (PROTEIN CORDER JM3000N, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
 - 本部 表示監視部表示指導課 (SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ, アスパラギン酸)
- ・日本シイベルヘグナー株式会社 テクノロジー事業部門科学機器部 (varioMAX CN, 吸着管, アスパラギン酸)

(50 音順)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績から IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁷⁾の新たな統計手法に記述されている判定基準(次式)に用いる統計量⁸⁾を表 1 に示した. 算出した各共同試験用試料の統計量がこの判断基準を満たし, 更に, 試料間の相対標準偏差は 0.1~2.0%であることから, 全ての共同試験用試料が共同試験に用いるための均質性を有することを確認した.

$$s_{\text{sam}}^2 \leq F_1 \sigma_{\text{all}}^2 + F_2 s_{\text{an}}^2$$

s_{sam}^2 : 試料間の純分散 (負の値の場合は, 0 とする)

s_{an}^2 : 繰返しの分散

σ_{all}^2 : 許容可能な試料間の分散 ($\sigma_{\text{all}}^2 = (0.3 \times \sigma_p)^2$; σ_p は Horwitz の式⁹⁾により算出)

F_1, F_2 : 10 試料を 2 点併行で測定した場合のファクター

($F_1=1.88, F_2=1.01$; critical values for homogeneity testing(Appendix 1))

表1 窒素全量の均質性確認試験の結果

試料名	平均定量値 ¹⁾ (%)	標準偏差 ²⁾ (%)	相対標準偏差 ³⁾ (%)	s_{sam}^2	$F_1 \sigma_{\text{all}}^2 + F_2 s_{\text{an}}^2$
汚泥発酵肥料A	6.14	0.01	0.2	1.01E-04	5.94E-03
汚泥発酵肥料B	2.32	0.01	0.3	0 ⁴⁾	1.19E-03
し尿汚泥肥料	4.43	0.01	0.2	1.68E-05	3.45E-03
工業汚泥肥料	7.99	0.01	0.1	4.59E-05	9.31E-03
焼成汚泥肥料	0.79	0.02	2.0	0 ⁴⁾	5.19E-04

1) 10試料2点併行分析の総平均定量値

2) 試料間の標準偏差

3) 試料間の相対標準偏差

4) s_{sam}^2 の算出値が負の値であったので0とした。

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を表 2 に示した. 各系列の分析試料の試験結果を IUPAC の共同試験プロトコル^{6, 9)}に従って統計処理した. 試験成績の外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施したところ, 13 試験室の試験成績のうち汚泥発酵肥料 B で 1 試験室, し尿汚泥肥料で 2 試験室, 工業汚泥肥料で 2 試験室, 焼成汚泥肥料で 1 試験室の試験成績が外れ値と判別された.

3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値, 室内繰返しの標準偏差 (SD_I), 相対標準偏差 (RSD_I) 及び HorRat 値 (Ho_I) 並びに室間再現の標準偏差 (SD_R), 相対標準偏差 (RSD_R) 及び HorRat 値 (Ho_R) を表 3 に示した. HorRat 値は分析方法の精度の評価をするために用いられており, Ho_I は $RSD_I/RSD_I(P)$ 及び Ho_R は $RSD_R/RSD_R(P)$ により求められる¹⁰⁾. なお, $RSD_R(P)$ は平均定量値から Horwitz 式⁹⁾により求め,

RSD_r(P)は Horwitz 式に係数(1/2)を乗じて求めた^{1), 12)}. 外れ値を除外した試験成績の平均値は 0.80~8.06%であり, その SD_r及び SD_Rは 0.01~0.03%及び 0.03~0.09%であり, RSD_r及び RSD_Rは 0.3~2.8%及び 0.9~4.3%であった. また, RSD_r及び RSD_Rの評価に用いる Ho_r及び Ho_Rは 0.20~1.37 及び 0.31~1.04 であり, いずれも 2 以下であった¹³⁾.

表2 汚泥肥料中の窒素全量の共同試験成績 (%)

試験室 ¹⁾	汚泥発酵肥料A		汚泥発酵肥料B		し尿汚泥肥料	
A	6.21	6.20	2.36	2.39	4.43	4.44
B	6.03	6.05	2.61	2.28 ²⁾	4.49	4.52
C	6.13	6.13	2.32	2.34	4.26	4.32
D	6.24	6.29	2.36	2.39	4.48	4.47
E	6.26	6.23	2.40	2.43	4.41	4.42
F	6.14	6.15	2.34	2.31	4.42	4.43
G	6.13	6.13	2.33	2.32	4.43	4.44
H	6.27	6.23	2.35	2.36	4.38	4.16 ²⁾
I	6.26	6.22	2.44	2.43	4.48	4.46
J	6.38	6.40	2.41	2.40	4.70	4.69 ³⁾
K	6.17	6.15	2.32	2.32	4.44	4.44
L	6.23	6.22	2.33	2.31	4.47	4.43
M	6.13	6.10	2.32	2.32	4.46	4.47
試験室	工業汚泥肥料		焼成汚泥肥料			
A	8.08	8.09	0.80	0.82		
B	7.65	7.42 ²⁾	0.78	0.71		
C	7.98	7.98	0.80	0.80 ²⁾		
D	8.17	8.16	0.85	0.83		
E	8.16	8.20	0.83	0.81		
F	8.03	8.05	0.78	0.78		
G	8.02	8.02	0.80	0.81		
H	8.01	8.15	0.76	0.74		
I	8.06	8.07	0.87	0.83		
J	8.38	8.39 ³⁾	0.78	0.84		
K	8.08	8.05	0.80	0.82		
L	7.96	7.97	0.80	0.76		
M	8.03	7.99	0.81	0.81		

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) Cochranテストによる外れ値

3) Grubbsテストによる外れ値

表3 共同試験成績の解析結果

試料名	試験 室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%)	SD _r ³⁾ (%)	RSD _r ⁴⁾ (%)	Ho _r ⁵⁾	SD _R ⁶⁾ (%)	RSD _R ⁷⁾ (%)	Ho _R ⁸⁾
汚泥発酵肥料A	13	6.20	0.02	0.3	0.20	0.09	1.4	0.48
汚泥発酵肥料B	12	2.36	0.01	0.6	0.34	0.04	1.8	0.52
し尿汚泥肥料	11	4.44	0.02	0.4	0.25	0.06	1.3	0.40
工業汚泥肥料	11	8.06	0.03	0.4	0.28	0.07	0.9	0.31
焼成汚泥肥料	13	0.80	0.02	2.8	1.37	0.03	4.3	1.04

- 1) 解析に用いた試験室数
- 2) 平均値 ($n = \text{試験室数} \times \text{試料数}(2)$)
- 3) 室内標準偏差
- 4) 室内相対標準偏差
- 5) 室内繰り返しHorRat値
- 6) 室間標準偏差
- 7) 室間相対標準偏差
- 8) 室間再現HorRat値

4. まとめ

13 試験室において 5 銘柄(10 点)の汚泥肥料を用いて窒素全量の共同試験を実施し、燃焼法による窒素全量試験法の評価を行った。その結果、室間再現精度(相対標準偏差)は 0.9~4.3%であり、その評価に用いる HorRat 値は 0.31~1.04 であり、2 を下回っていた。このことから、試験所間の比較による本試験法の室間再現精度は満足する成績であった。

既報により測定範囲、公定法との整合性等が検討されており、本試験法は汚泥肥料中の窒素全量測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された。このことから、2007 年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は肥料等試験法(2008)に収載された¹⁴⁾。

謝 辞

この試験の実施において独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所安井明美博士にはご指導頂きまして感謝いたします。また、共同試験にご協力頂いた株式会社アクタック、株式会社アムコ、株式会社ジェイ・サイエンス・ラボ、株式会社住化分析センター、株式会社 LECO ジャパン、財団法人肥糧検定協会、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所及び日本シイベルヘグナー株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課:ポケット肥料要覧-2007-, p.7~9, 農林統計協会, 東京, (2008)
- 2) 原田靖生:都市廃棄物及び家畜ふん堆肥の腐熟過程と品質に関する研究, 日本土壌肥料学雑誌, **71**, 307~310, (2000)
- 3) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.11~13, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)

- 4) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (2005)
- 5) 相澤真理子, 杉村靖, 高橋雄一, 大木純, 福地幸夫, 白井裕治, 引地典雄: 燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定 —燃焼法全窒素測定装置の適用—, 肥料研究報告, **1**, 12~17, (2008)
- 6) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 7) Thompson, M., R.Ellison, S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 8) Fearn, T., Thompson, M., A new test for 'sufficient homogeneity', *Analyst*, **126**, 1414~1417 (2001)
- 9) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 10) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 11) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 12) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 13) Codex Alimentarius: "Recommendation for a checklist of information required to evaluate method of analysis and submitted to the Codex Committee on Method of Analysis and Sampling for endorsement", Vol.13, p.129 (1994)
- 14) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Determination of Total Nitrogen content in Sludge Fertilizer by a Combustion Method: A Collaborative Study

Mariko AIZAWA¹ and Yuji SHIRAI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

Thirteen laboratories participated in a collaborative study to evaluate a combustion method to analyze the total nitrogen content of sludge fertilizer. The samples of sludge fertilizer were combusted at high temperature under high-purity oxygen. The nitrogen released from the sample was measured by thermal conductivity detection, and reported as proportion in weight of nitrogen in the sample. Ten samples of five kinds of sludge fertilizer were analyzed as blind duplicates. After removing the outlying data using Cochran and Grubbs outlier test, the mean values, standard deviations of repeatability (SD_r) and reproducibility (SD_R) ranged from 0.80 to 8.06%, from 0.01 to 0.03% and from 0.03 to 0.09%, respectively. The relative standard deviations of repeatability (RSD_r) and reproducibility (RSD_R) ranged from 0.3 to 2.8% and from 0.9 to 4.3%, respectively. The HorRat values ($RSD_R/\text{predicted } RSD_R$) ranged from 0.31 to 1.04. These results indicate that the combustion method has acceptable within-laboratory and between-laboratory precision for determination of total nitrogen in sludge fertilizer.

Key words total nitrogen, sludge fertilizer, combustion method, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 1, 18~24, 2008)

3-1 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定

—発色方法の改良—

廣井利明^{1,(2)}, 齊木雅一¹, 加藤公栄¹

キーワード ホスホン酸, 亜りん酸, 水溶性りん酸, 液状複合肥料, 分光光度法

1. はじめに

亜りん酸(ホスホン酸: H_2PHO_3)はオルトリン酸(H_3PO_4)に比較して、水への溶解度が高く、根や葉からオルトリン酸よりもすばやく吸収され、亜りん酸及び亜りん酸塩入りの肥料を使用して作物に葉面散布した場合や養液栽培した場合、従来のオルトリン酸塩入り肥料に比べて着果や収量が増加したことなどが報告されており、亜りん酸を用いた葉面散布用の肥料が日本各地で流通するようになってきている¹⁾。

肥料分析法(1992年)²⁾には肥料中の水溶性りん酸測定の公定法として、水溶性成分を抽出(4.2.1.C.b)した後、バナドモリブデン酸アンモニウム法(4.2.3.E.a)により発色し、吸光度を測定する方法が記載されている。この方法では、含有する非オルトリン酸をオルトリン酸に酸化するために硝酸(1+1)を加えて煮沸する方法がとられているが、亜りん酸又は亜りん酸塩入り肥料の場合では充分酸化されず、定量値が低くなる傾向がある。

水溶液中の亜りん酸イオンは強い還元剤であることから³⁾、酸化方法を変更して比較検討を行ったところ「王水で煮沸及び濃縮する方法(以下、王水酸化法)」により、亜りん酸がオルトリン酸に酸化され、良好な結果が得られた。そこで、この方法について妥当性の確認を実施したのでその概要を報告する。

2. 材料および方法

1) 材料

亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした市販の液状複合肥料14点を収集した。試験に用いるまで密封容器で室温暗所に保存した。

亜りん酸、尿素、水酸化カリウム、ほう酸(以上、特級試薬を使用)及び水を原料として用い、亜りん酸の含有量を P_2O_5 としてそれぞれ、0.2, 4, 10, 20, 30, 40及び50%となるように作成した調製試料7点をそれぞれ密封容器に入れ室温暗所に保存した。なお、この調製試料はNとして約2.9~5.4%, K_2O として約2.9~4.3%, B_2O_3 として約0.3%含有する。

2) 装置および器具

- (1) 分光光度計 : 島津製作所製 UV-1200
- (2) 上下転倒式回転振り混ぜ機 : 池田理化製

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

² (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

(3) ホットプレート : アズワン製 EC-1200N

3) 試薬

(1) 発色試薬溶液: バナジン(V)酸アンモニウム 1.12 g を水に溶かし、硝酸 250 mL を加えた後、七モリブデン酸六アンモニウム四水和物 27 g を水に溶かして加え、更に水を加えて 1,000 mL とした。

(2) フェノールフタレイン溶液: フェノールフタレイン 1 g をエタノール(95) 100 mL に溶かした。

(3) リン酸標準液: リン酸二水素カリウムを $105 \pm 2^\circ\text{C}$ で約 2 時間加熱し、デシケーター中で放冷した後、19.17 g をひょう量皿にはかりとり、少量の水で溶かし、全量フラスコ 1,000 mL に移し入れ、硝酸 2~3 mL を加え、水を標線まで加えてリン酸標準液 (10 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) を調製した。リン酸標準液 (10 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) 50 mL を全量フラスコ 1,000 mL にとり、硝酸 2~3 mL を加え、水を標線まで加えてリン酸標準液 (0.5 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) を調製した。

(4) 塩酸、硝酸、硫酸及びアンモニア水は特級試薬を用いた。

4) 定量方法 (図 1 参照)

(1) バナドモリブデン酸アンモニウム法水溶性りん酸分析法(肥料分析法 4.2.3) (以下、「公定法」という) 分析試料 5 g を全量フラスコ 500 mL に正確にとり、水約 400 mL を加え 1 分間 30~40 回転の回転振り混ぜ機で 30 分間振り混ぜたのち、標線まで水を加えて直ちにろ紙 3 種でろ過して試料溶液とした。

試料溶液の一定量 (P_2O_5 として 0.5~6 mg) を全量フラスコ 100 mL に正確にとり、硝酸 (1+1) 4 mL を加えて煮沸し、フェノールフタレイン溶液を指示薬としてアンモニア水 (1+1) で中和し、硝酸 (1+2) を加えて微酸性とし、適量の水で希釈して発色試薬溶液 20 mL を加え、標線まで水を加えて振り混ぜ、約 30 分間放置後、測定波長 420 nm の吸光度を測定した。

同時に、りん酸標準液 (0.5 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) 1~12 mL を別の全量フラスコ 100 mL に段階的にとり、以下「適量の水で希釈して～」と同様に操作して検量線を作成した。

(2) バナドモリブデン酸アンモニウム法りん酸全量分析法(肥料分析法 4.2.3 で硫酸分解液を使用する方法)による水溶性りん酸分析法(以下、「硫酸分解法」という)

(1) で調製した試料溶液 40~70 mL を分解フラスコに正確にとり、分解促進剤(硫酸銅 1 部と硫酸カリウム 9 部とを混合したもの約 10 g) を加え、次に硫酸 30 mL を加えよく振り混ぜて分解台に移し、硫酸の白煙が発生するまで加熱し、溶液の色が変化しなくなってから、更に 2 時間加熱したのち放冷した。この試料液を 250 mL の全量フラスコに水で移し込み、標線まで水を加えて直ちに乾燥ろ紙でろ過して試料溶液とした。

試料溶液の一定量 (P_2O_5 として 0.5~6 mg) を全量フラスコ 100 mL に正確にとり、フェノールフタレイン溶液を指示薬としてアンモニア水 (1+1) で中和し、硝酸 (1+2) を加えて微酸性とし、適量の水で希釈して発色試薬溶液 20 mL を加え、標線まで水を加えて振り混ぜ、約 30 分間放置後、測定波長 420 nm の吸光度を測定した。

同時に、りん酸標準液について(1)と同様に操作して検量線を作成した。

(3) 王水酸化法

(1) で調製した試料溶液の一定量 (P_2O_5 として 0.5~6 mg) をトールビーカー 100~200 mL に正確にとり、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加え、時計皿で覆い、200~250°C のホットプレート上で加熱し、液量が 1~3 mL になるまで濃縮した。放冷後、水で全量フラスコ 100 mL に移し込み、フェノールフタレイン溶液を指示

薬としてアンモニア水(1+1)で中和し、硝酸(1+2)を加えて微酸性とし、発色試薬溶液 20mL を加え、標線まで水を加えて振り混ぜ、約 30 分間放置後、測定波長 420 nm の吸光度を測定した。

同時に、りん酸標準液について(1)と同様に操作して検量線を作成した。

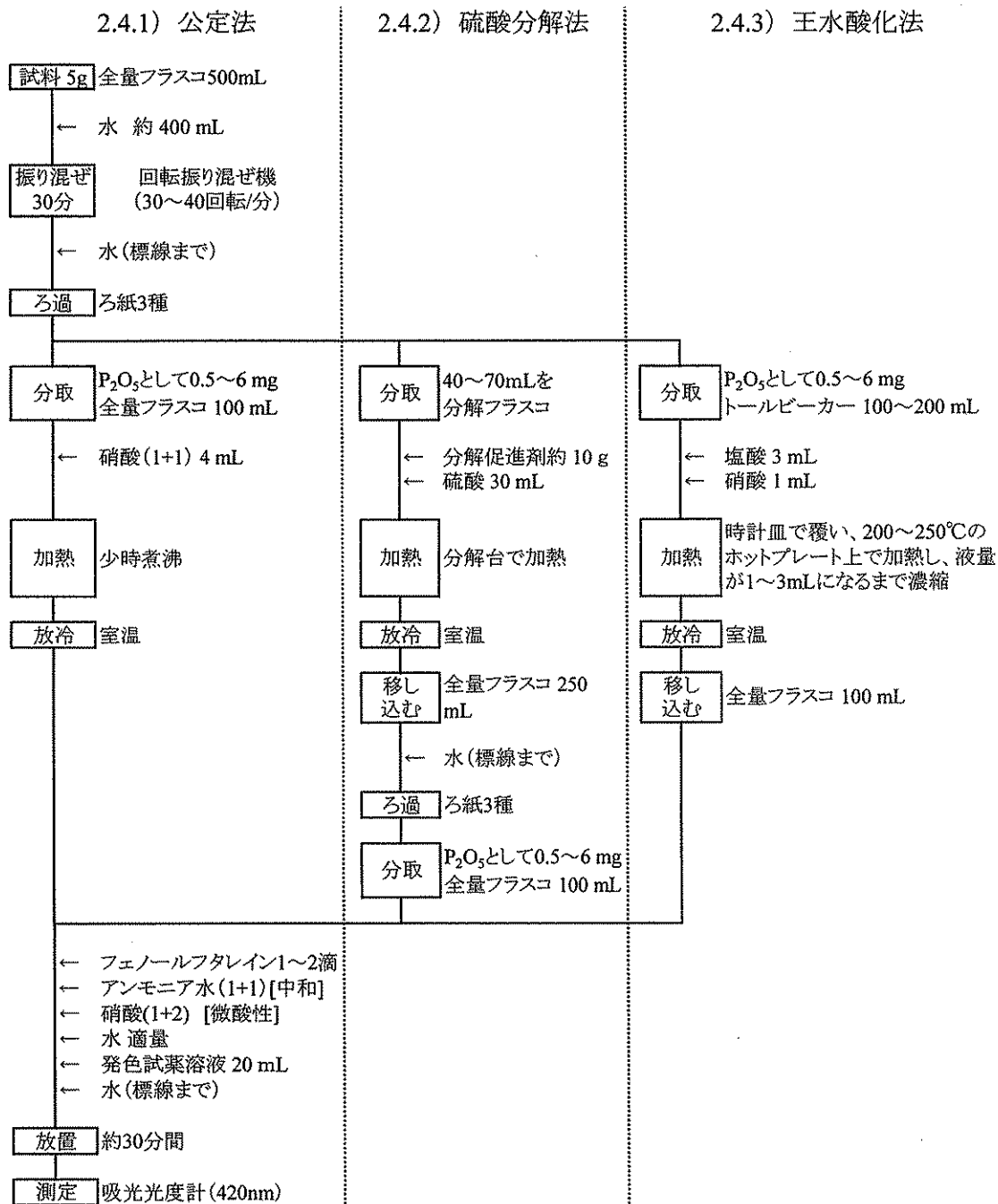


図 1 公定法、硫酸分解法及び王水酸化法の定量方法

2. 結果および考察

1) 酸化方法の比較

亜りん酸をオルトリン酸に酸化させるため、公定法の「硝酸(1+1)4 mLで煮沸する方法」を、酸化力の強い酸を用いる方法に変えることによって定量が可能かどうかについて、以下のとおり検討した。

市販の液状複合肥料 3 点及び亜りん酸含有量を P_2O_5 として 4 及び 0.2% に調製した試料を用いて、現行分析法による操作のうち、試料液を 100 mL の全量フラスコを使用し硝酸 (1+1) 4 mL で煮沸するところを、100~200 mL のトルビーカーを使用し硝酸、王水又は硫酸-硝酸 (1+1) を加え、それぞれ煮沸濃縮して調製した試料溶液により定量値を比較した。また、既存の分析方法として、肥料分析法のりん酸全量の定量に採用されており亜りん酸の定量も可能と考えられる硫酸分解法 (上記 2.4.2)) による水溶性りん酸定量値についても比較した。

その結果、表 1 のとおり、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加えて煮沸濃縮する方法が、0.2% の低濃度の亜りん酸も定量可能であり、加える酸が最も少量な方法となった。この方法により以下の検討を行うこととした。

表 1 各種の酸化方法による定量結果

試料 番号	WP 設計 成分量 (%)	酸化方法					
		硝酸(1+1) 4mL 5分間煮沸 (公定法)	硝酸10mL 煮沸濃縮	塩酸30mL+ 硝酸10mL 煮沸濃縮	塩酸3mL+ 硝酸1mL 煮沸濃縮	硫酸1mL+ 硝酸1mL 煮沸濃縮	硫酸30mL
				(王水酸化法)		(硫酸分解法)	
1	38.32	0.09 ^{a)} (0) ^{b)}	4.52 (12)	39.55 (103)	39.42 (103)	39.30 (103)	39.66 (103)
2	34.37 ^{c)}	6.93 (20)	11.57 (34)	34.57 (101)	34.71 (101)	34.44 (100)	34.62 (101)
3	28.77	0.05 (0)	5.40 (19)	29.11 (101)	29.32 (102)	28.95 (101)	29.03 (101)
4	4	0.01 (0)	0.26 (6)	4.05 (101)	4.04 (101)	4.06 (102)	4.06 (101)
5	0.2	0.00 0	0.02 (9)	0.20 (102)	0.21 (103)	0.04 (22)	0.21 (106)

a) 定量値(%)

b) ()内の数値は設計成分量を100%としたときのそれぞれの酸による定量値の割合(%)

c) 試料番号2は亜りん酸以外から由来(りん酸水素二カリウム由来)の水溶性りん酸設計成分量が6.66%ある。

2) 加熱終了条件について

塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL で試料液を煮沸濃縮する際に、亜りん酸を完全にオルトリン酸化するための加熱終了条件を検討するため、亜りん酸含有量を P_2O_5 として 30, 20 及び 0.2% に調製した試料を用い、加熱濃縮による試料液残量を数段階に変えた試料液を調製し定量値を比較した。加熱温度は、試料液の濃縮時間の短縮と市販の加熱器具で設定が可能であることなどを考慮して 250°C で行った。

その結果、表 2 のとおり、試料液残量が約 0.5 mL~5 mL の場合に、設計成分量と同等程度の定量値となった。試料液を 5 mL 以下まで濃縮したことで、液温が上昇し、酸化力が強くなり、亜りん酸を全てオルトリン酸化できたと考えられる。また、乾固させた場合に低い定量値となったことから、本法では加熱濃縮による試料液残量を 1~3 mL とすることとした。

表 2 加熱終了時の試料液残量 0~20 mL における定量結果

試料 番号	WP 設計 成分 量 (%)	分 取 量 (mL)	加熱 開始 試料 液量 (mL)	加熱終了時の試料液残量							
				約 20 mL	約 10 mL	約 5 mL	約 3 mL	約 2 mL	約 1 mL	約 0.5 mL	0 mL (乾固)
1	30	2.5	6.5	—	—	30.32 ^{a)} (101) ^{b)}	30.32 (101)	30.09 (100)	30.32 (101)	30.09 (100)	26.98 (90)
2	20	10	14	—	4.5 (22)	20.07 (100)	20.17 (101)	20.07 (100)	20.07 (100)	20.07 (100)	19.43 (97)
3	20	5	9	—	—	19.90 (100)	20.20 (101)	20.29 (101)	20.29 (101)	20.12 (101)	17.39 (87)
4	0.2	60	64	0.09 (46)	0.20 (99)	0.20 (102)	0.20 (102)	0.20 (101)	0.20 (101)	0.20 (101)	0.20 (100)

a) 定量値(%)

b) ()内の数値は設計成分量を100%としたときのそれぞれの液量による定量値の割合(%)

3) 加熱温度について

亜りん酸を酸化させるにあたり、加熱温度が高い方が酸化力も強まるが、突沸の危険性も高まる。逆に低温であると酸化力が弱まり亜りん酸を十分に酸化できない可能性がある。そのため、最適となる加熱温度について、以下のとおり検討した。

亜りん酸含有量を P₂O₅として 30 及び 0.2%に調製した試料を用い、煮沸時の加熱温度を数段階に変えた試料液を調製し定量値を比較した。

その結果、表 3 のとおり、150~270℃では定量値に差はみられなかった。しかし、試料液を 1~3 mL まで濃縮する際にはより高温である方が加熱時間の短縮につながること、また、270℃では突沸が見られ安全性の問題などがあるので、本法では加熱温度を 200~250℃とした。

表 3 加熱温度 150~270℃における定量結果

試料 番号	WP設計 成分量 (%)	分取量 (mL)	加熱温度						
			150℃	170℃	190℃	210℃	230℃	250℃	270℃
1	30	10	30.32 ^{a)} (101) ^{b)}	30.09 (100)	30.32 (101)	30.09 (100)	30.32 (101)	30.32 (101)	30.09 (100)
			加熱時間 ^{c)}	60	50	45	40	25	20
2	0.2	60	0.21 (103)	0.21 (103)	0.20 (102)	0.20 (102)	0.21 (103)	0.21 (103)	0.21 (103)
			加熱時間	600	400	310	260	90	85

a) 定量値(%)

b) ()内の数値は設計成分量を100%としたときのそれぞれの加熱温度による定量値の割合(%)

c) 加熱時間は、試料液を液量が1~3 mLとなるまで加熱濃縮するのに要したおよその時間(分)

4) 王水酸化操作の発色への影響について

詳解肥料分析法(1973)⁴⁾では、王水分解液に塩化ニトロシル(NOCL)が残存するとその還元性によってりん酸の発色が妨げられるおそれがあるとの記述がある。このため、王水酸化法で分析を実施する際、検量線用のりん酸標準液についても発色試薬溶液添加前に試料液と同様に王水酸化操作を行う必要がある可

能性がある。そのため、数段階の濃度のりん酸標準液を用いて、王水酸化操作の有無による発色後の吸光度を比較した。

その結果、表 4 のとおり、王水酸化操作の有無による吸光度の有意な差は認められなかった。このことから、王水酸化法による酸化操作では、酸化に用いる王水の量が 4 mLと少量であり、更に濃縮し揮発させているため、塩化ニトロシルの残存が少なく、りん酸の発色を妨げるような影響はないものと考えられる。

表 4 王水酸化操作の有無によるりん酸標準液吸光度の比較

りん酸標準液濃度 (mg/100mL)	王水酸化操作の有無	
	有 ^{a)}	無 ^{b)}
0	0.000 ^{c)}	0.000
2	0.458	0.457
4	0.909	0.908
6	1.346	1.346

a) 2.4) (3) の「100~200mLのトールピーカーに～」以下と同様の操作を行った

b) 2.4) (1) の「適量の水で希釈して～」以下と同様の操作を行った。

c) 3点併行分析成績の平均吸光度

5) 適用範囲の確認

王水酸化法が、各種の原料を使用した亜りん酸等入り肥料の定量に適用可能かどうか確認するため、市販の液状複合肥料 14 点を用いて王水酸化法及び硫酸分解法により、水溶性りん酸を測定して定量値を比較した。

その結果は図 2 であり、定量値の一次回帰式の回帰係数は 1.012 及び切片は -0.561 であった。また、その相関係数 (r) は 0.999 であり、王水酸化法での測定値 (11.1~39.2%) は硫酸分解法での測定値とほぼ一致した。いずれの分析法の分析値も、供試試料について水溶性りん酸設計成分量と近似していた。このことから、市販の液状複合肥料に含有する成分が、亜りん酸を含む水溶性りん酸の定量を阻害する状況は認められなかった。

6) 試験成績の精確さの確認

(1) 添加回収試験

王水酸化法による分析値の精確さを確認するため、添加回収試験を行った。2).(1)の調製試料を用いて繰り返し3回分析して得られた回収結果を表5に示した。各濃度の定量値の標準偏差(SD)は0.00~0.04%であり、平均回収率は100.8%~102.5%、その相対標準偏差(RSD)は0.1~1.7%であった。平成18年5月時点で農林水産大臣登録されている亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料の水溶性りん酸最大保証成分量(50%)及び最小保証成分量(0.5%)を下回る0.2%において、良好な正確さ(平均回収率)及び繰返し精度(相対標準偏差)が得られた。

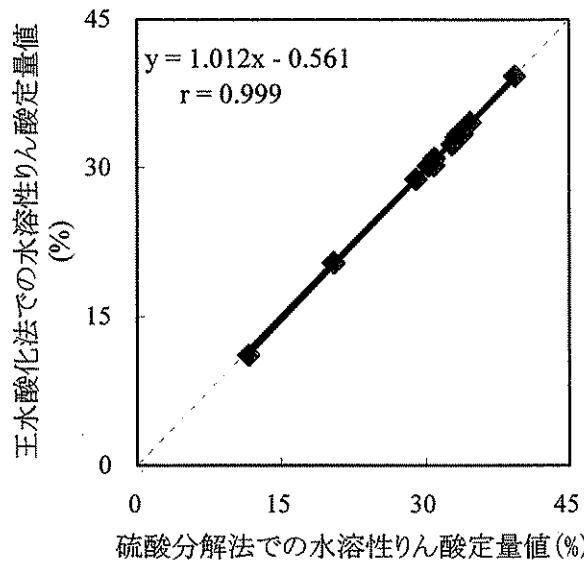


図2 硫酸分解法と王水酸化法による試料中の水溶性りん酸定量値の相関
 実線:双方の定量値による回帰直線(n=14) 破線:y=xの直線

表5 添加回収試験結果

添加濃度 (%)	平均定量値 ^{a)} (%)	標準偏差 (%)	平均回収率 ^{b)} (%)	相対標準偏差 (%)
0.2	0.21	0.00	102.5	1.7
4	4.03	0.01	100.8	0.2
10	10.11	0.01	101.1	0.1
20	20.30	0.04	101.5	0.2
30	30.36	0.02	101.2	0.1
40	40.73	0.03	101.8	0.1
50	50.54	0.04	101.1	0.1

a) 3点併行分析成績の平均定量値

b) 3点併行分析成績の平均回収率

(2) 定量下限確認試験

亜りん酸含有量をP₂O₅として0.2%とした調製試料を用い、分析法の定量下限を検討した。7点併行分析を実施した結果、表6を得た。定量下限は標準偏差×10、また、検出下限は標準偏差×2×t(n-1,0.05)として示されるので、本法の定量下限及び検出下限は0.01%程度及び0.005%程度と推定された。

表 6 定量下限確認試験の結果

平均定量値 ^{a)}	標準偏差	定量下限の推定 ^{b)}	検出下限の推定 ^{c)}
(%)	(%)	(%)	(%)
0.206	0.001	0.01	0.005

a) 7点併行分析成績の平均定量値

b) 標準偏差×10

c) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

3. まとめ

肥料分析法による水溶性りん酸分析法であるバナドモリブデン酸アンモニウム法では、亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした肥料については、亜りん酸由来のりん酸が水溶性りん酸として定量できなかった。そのため、発色操作中の「硝酸(1+1)で煮沸する方法」を、他の酸化方法に変更することにより、亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の定量方法を検討した結果、「試料液に塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加え 200~250°C で煮沸し、1~3 mL まで濃縮する方法」(王水酸化法)により亜りん酸をオルトリン酸に酸化させ定量することができた。

この王水酸化法により、5種類の原料を使用し、亜りん酸含有量を P_2O_5 として0.2~50%となるように作成した調製試料7点を使用して添加回収試験を実施した結果、各濃度の定量値の標準偏差(SD)は0.00~0.04%であり、平均回収率は100.8%~102.5%、その相対標準偏差(RSD)は0.1~1.7%の成績が得られ、また、定量下限は0.01%程度と推定された。

文 献

- 1) 渡辺和彦:季刊 肥料, 通巻 101 号, 平成 17 年 6 月, p.91~93, 肥料協会新聞部 (1992)
- 2) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.28~37, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 3) 柴田雄次, 木村健二郎:無機化学全書 IV-6 リン P, p.145, 丸善株式会社, 東京 (1965)
- 4) 山添文雄, 越野正義, 藤井国博, 三輪睿太郎:改訂詳解肥料分析法, p.93, 養賢堂, 東京 (1973)

Development and Validation of Spectrophotometry for Determination of Water-Soluble Phosphoric acid in Liquid Mixed Fertilizer Containing Phosphonic Acid

Toshiaki HIROI^{1, (2)}, Masakazu SAIKI¹ and Kimie KATO¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

Simple spectrophotometry was developed and validated for determination of water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate. Fertilizer was extracted with water. The extract was digested with aqua regia (nitric acid-hydrochloric acid (1+3)) to oxidize phosphonic ion, after simple filtration. Water-soluble phosphoric acid was spectrophotometrically determined by measuring the color developed with an ammonium vanadomolybdate reagent according to the Official Method of Analysis of Fertilizers published in December 1992. The mean recoveries ranged from 100.8 to 102.5% to measure the phosphonic acid added to fertilizer as 0.2~50% P₂O₅. The standard deviation (SD) and the relative standard deviation (RSD) ranged from 0.00 to 0.04% and from 0.1 to 1.7%, respectively. The result of a quantification test indicated that the method was capable of measuring approximately 0.01% of phosphonic acid or phosphonate as P₂O₅ in a sample. These results show that the developed method has satisfactory sensitivity, precision and accuracy and is useful for the determination of water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate.

Key words phosphonic acid, phosphorous acid, water-soluble phosphoric acid, liquid mixed fertilizer, spectrophotometry

(Research Report of Fertilizer, 1, 25~33, 2008)

3-2 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定

— 共同試験成績 —

廣井利明^{1,(2)}, 齊木雅一¹, 加藤公栄¹

キーワード ホスホン酸, 亜りん酸, 水溶性りん酸, 液状複合肥料, 分光光度法, 共同試験

1. はじめに

亜りん酸(ホスホン酸: H_2PHO_3)はオルトリン酸(H_3PO_4)に比較して、水への溶解度が高く、根や葉からオルトリン酸よりもすばやく吸収され、亜りん酸及び亜りん酸塩入りの肥料を使用して作物に葉面散布した場合や養液栽培した場合、従来のオルトリン酸塩入り肥料に比べて着果や収量が増加したことなどが報告されており、亜りん酸を用いた葉面散布用の肥料が日本各地で流通するようになってきている¹⁾。

肥料分析法(1992年)²⁾には肥料中の水溶性りん酸測定の公定法として、水溶性成分を抽出(4.2.1.C.b)した後、バナドモリブデン酸アンモニウム法(4.2.3.E.a)により発色し、吸光度を測定する方法が記載されている。この方法では、含有する非オルトリン酸をオルトリン酸に酸化するために硝酸(1+1)を加えて煮沸する方法がとられているが、亜りん酸又は亜りん酸塩入り肥料の場合では充分酸化されず、定量値が低くなる傾向がある。

この酸化方法を「王水で煮沸及び濃縮する方法」に変更することにより、亜りん酸がオルトリン酸に酸化され、良好な結果が得られたため、この方法により液状複合肥料を分析対象として繰返し性、定量下限の確認等のISO/IEC 17025³⁾で要求されている試験室内の妥当性確認の試験を実施し、満足する結果が得られた⁴⁾。更に同基準の要求事項である試験所間の比較試験について、IUPACの共同試験プロトコル⁵⁾を参考に亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸試験法の共同試験を実施し、試験室間の再現精度を調査したので、その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の採取, 調製等

市販の亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした液状複合肥料(計5点)を収集し、試験品として室温暗所に保管した。それぞれの試験品をよく振り混ぜた後、ただちに試料約10gをポリ容器に入れ、共同試験用試料とした。一対のブラインド試料を提供するため、それぞれの液状複合肥料の共同試験用試料の容器に2シリーズの番号のラベルを付けた。共同試験用試料(10点)を参加試験室に送付した。

2) 装置

分解装置はガスバーナーにより加熱する砂浴又はホットプレートを用いた。砂浴の温度は放射温度計で測

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

² (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

定し、規定の温度範囲になるようガス量及びけい砂の量を調整した。

分光光度計は各試験室に設置されている装置を使用した。

3) 試料溶液の調製

(1) 抽出

分析試料 5 g を全量フラスコ 500 mL にとり、水約 400 mL を加え 1 分間 30~40 回転の振り混ぜ機で 30 分間振り混ぜ、標線まで水を加え直ちにろ紙 3 種でろ過した。ろ液 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加え、試料溶液とした。(図 1)

(2) 発色

試料溶液 10mL (P_2O_5 として 0.5~6 mg) をトールビーカー 200 mL にとり、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加え、時計皿で覆い、200~250°C の砂浴又はホットプレート上で加熱し、液量が 1~3 mL になるまで濃縮した。放冷後、水で全量フラスコ 100 mL に移し、フェノールフタレイン溶液 (1 g/100 mL) 1~2 滴を加え、溶液の色が淡い赤紫色になるまでアンモニア水 (1+1) を加えて中和後、溶液の淡い赤紫色が消失するまで硝酸 (1+2) を加えて微酸性とし、適量の水を加えて希釈し、発色試薬溶液 20 mL を加え、更に標線まで水を加えた後、約 30 分間放置した。(図 1)

4) 水溶性りん酸の測定

発色操作により生じたりんバナドモリブデン酸塩の吸光度 (波長 420 nm) を測定した。測定にあたっては、各試験室の分光光度計の操作方法に従った。

5) 均質性の確認

共同試験用試料の均質性を確認するため、IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁶⁾に従い、各系列の共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3)~4) に従って分析した。

6) 共同試験

次の 12 試験室において、送付した 10 試料を 3)~4) に従って共同試験を実施した。

- ・ 朝日工業株式会社 関東工場
- ・ 大塚化学株式会社
- ・ 晃栄化学工業株式会社
- ・ 財団法人日本肥糧検定協会 本部
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部肥飼料安全検査部、札幌センター、仙台センター、名古屋センター、神戸センター大阪事務所及び福岡センター
- ・ 北海三共株式会社
- ・ 米山化学工業株式会社 大阪工場

(50 音順)

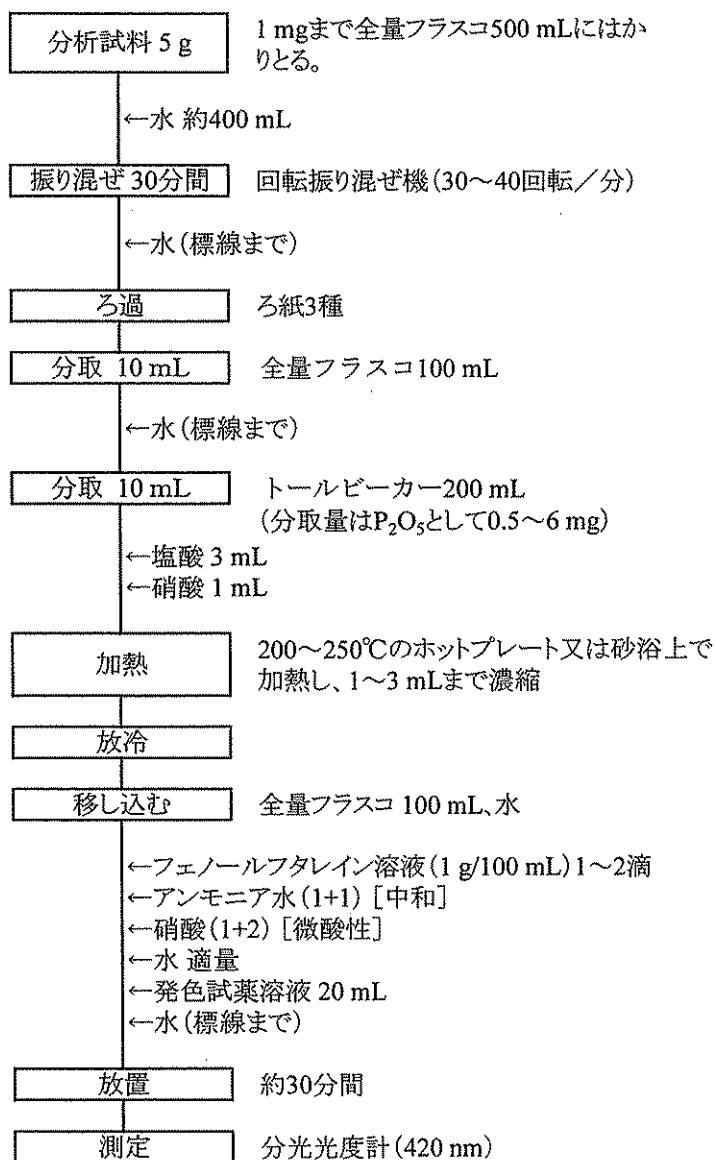


図1 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸試験操作手順

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰り返し2回×10試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表1に示した。いずれの試料においても、F値が $F(9,10;0.05)$ を下回ったことから、有意水準5%において試料間に有意な差は認められなかった⁶⁾。また、試料間の相対標準偏差は0.2~0.3%であり、全ての分析用試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した。

表1 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の均質性確認試験の結果

試料名	平均定量値 ¹⁾ (%)	相対標準偏差 ²⁾ (%)	F値 ³⁾	F値限界 ⁴⁾
液状複合肥料 1	33.35	0.2	2.42	3.02
液状複合肥料 2	17.89	0.2	1.67	3.02
液状複合肥料 3	7.96	0.3	2.53	3.02
液状複合肥料 4	11.84	0.3	2.18	3.02
液状複合肥料 5	23.77	0.3	1.51	3.02

- 1) 10試料2点併行分析の総平均定量値
- 2) 試料間の相対標準偏差
- 3) 一元分散分析値により算出された分散比
- 4) F(9,10;0.05)

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を表2に示した。各系列の分析試料の試験結果をIUPACの共同試験プロトコル^{5, 7)}に従って統計処理した。Cochran テスト及び Grubbs テストを用いて試験成績の外れ値の検定をしたところ、12 試験室の試験成績のうち液状複合肥料 4 及び 5 で各 1 試験室の試験成績が外れ値と判別された。

3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値、室内繰返しの標準偏差(SD_T)、相対標準偏差(RSD_T)及び HorRat 値(Ho_T)並びに室間再現の標準偏差(SD_R)、相対標準偏差(RSD_R)及び HorRat 値(Ho_R)を表3に示した。HorRat 値は分析方法の精度の評価をするために用いられており、Ho_Tは RSD_T/RSD_T(P)及び Ho_Rは RSD_R/RSD_R(P)により求められる。なお、RSD_R(P)は平均定量値から Horwitz 修正式⁸⁾により求め、RSD_T(P)は Horwitz 式に係数(1/2)を乗じて求めた^{9, 10)}。外れ値を除外した試験成績の SD_T、RSD_T、SD_R及び RSD_Rは 0.08~0.25%、0.3~1.5%、0.30~0.59%及び 1.7~3.8%であった。また、Ho_T及び Ho_Rは 0.27~1.05 及び 0.70~1.31 であり、いずれも 2 を下回っていた¹¹⁾。

4. まとめ

12 試験室において5銘柄(10点)の液状複合肥料を用いて亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の共同試験を実施し、本分析法の評価を行った。その結果、室間再現精度(相対標準偏差)は 1.7~3.8%であった。また、その評価に用いる HorRat 値は 0.70~1.31 であり、2 を下回っていた。このことから、試験室間の比較による本分析法の室間再現精度は満足する成績であった。

既報により測定範囲、繰返し精度等が検討されており、本試験法は亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された。このことから、2007 年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は肥料等試験法(2008)に記載された¹²⁾。

表2 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の共同試験成績 (%)

試験室 ¹⁾	液状複合肥料 1		液状複合肥料 2		液状複合肥料 3	
A	32.36	32.64	17.48	17.19	7.52	7.83
B	34.40	34.89	18.60	18.51	8.39	8.85
C	34.07	34.11	17.95	18.06	7.45	7.46
D	33.42	33.54	17.91	17.93	8.12	8.10
E	33.82	34.01	18.07	18.03	7.69	7.73
F	33.21	32.53	17.72	17.74	8.01	7.80
G	32.99	33.21	17.76	17.68	8.00	8.01
H	33.88	33.39	17.85	17.70	7.96	7.93
I	33.46	33.46	17.87	17.93	8.11	8.15
J	33.74	33.44	18.15	18.05	8.18	8.16
K	33.40	33.87	18.05	18.10	8.07	8.03
L	33.67	33.89	17.92	18.03	8.08	8.08
試験室	液状複合肥料 4		液状複合肥料 5		使用した分光光度計	
A	11.40	11.69	23.34	23.48	HITACHI U-2800	
B	12.50	12.91	25.23	25.10	SHIMADZU UV-mini1240	
C	11.76	11.62	24.42	24.55	SHIMADZU UV-160A	
D	11.95 ²⁾	12.82 ²⁾	24.08	24.06	SHIMADZU UV-160A	
E	11.85	11.90	24.31	24.42	SHIMADZU ASC-5	
F	11.39	11.70	23.58	23.68	SHIMADZU UV-2400PC	
G	11.98	11.91	23.89	23.91	SHIMADZU UV-1200	
H	11.83	11.87	23.84	23.78	HITACHI U-2000A	
I	12.01	12.01	23.99	24.11	SHIMADZU UV-mini1240	
J	12.13	12.13	24.05	24.26	SHIMADZU UV-mini1240	
K	11.96	12.02	24.05	24.01	SHIMADZU UV-1600	
L	11.92	11.96	40.26 ²⁾	24.06 ²⁾	SHIMADZU UV-mini1240	

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) Cochranテストによる外れ値

表3 共同試験成績の解析結果

試料の種類	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%)	SD _r ³⁾ (%)	RSD _r ⁴⁾ (%)	Ho _r ⁵⁾	SD _R ⁶⁾ (%)	RSD _R ⁷⁾ (%)	Ho _R ⁸⁾
液状複合肥料 1	12	33.56	0.25	0.7	0.63	0.59	1.8	1.02
液状複合肥料 2	12	17.93	0.08	0.5	0.36	0.30	1.7	0.70
液状複合肥料 3	12	7.99	0.12	1.5	1.05	0.31	3.8	1.31
液状複合肥料 4	11	11.93	0.13	1.1	0.80	0.33	2.8	1.01
液状複合肥料 5	11	24.10	0.08	0.3	0.27	0.47	2.0	0.96

1) 解析に用いた試験室数

2) 総平均値(n =試験室数×繰り返し数(2))

3) 室内標準偏差

4) 室内相対標準偏差

5) 室内繰返しHorRat値

6) 室間標準偏差

7) 室間相対標準偏差

8) 室間再現HorRat値

謝 辞

共同試験にご協力頂いた朝日工業株式会社関東工場, 大塚化学株式会社, 晃栄化学工業株式会社, 財団法人日本肥糧検定協会, 北海三共株式会社及び米山化学工業株式会社大阪工場の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 渡辺和彦: 季刊 肥料, 通巻 101 号, 平成 17 年 6 月, p.91~93, 肥料協会新聞部 (1995)
- 2) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法 (1992 年版), 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 3) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (1999)
- 4) 廣井利明, 齊木雅一, 加藤公栄: 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定 ー発色方法の改良ー, 肥料研究報告, **1**, 25~33 (2008)
- 5) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 6) Thompson, M., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **65** (9), 2123~2144 (1993)
- 7) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 8) Thompson, M. : Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 10) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 11) Codex Alimentarius: "Recommendation for a checklist of information required to evaluate method of analysis and submitted to the Codex Committee on Method of Analysis and Sampling for endorsement", Vol.13, p.129 (1994)
- 12) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Determination of Water-Soluble Phosphoric Acid in Liquid Mixed Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry: A Collaborative Study

Toshiaki HIROI^{1,(2)}, Masakazu SAIKI¹ and Kimie KATO¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

A collaborative study was performed to evaluate the method for determining water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate by spectrophotometry. Fertilizer was extracted with water. The extract was digested with aqua regia (nitric acid-hydrochloric acid (1+3)) to oxidize phosphonic ion, after simple filtration. Water-soluble phosphoric acid was spectrophotometrically determined using the color development with an ammonium vanadomolybdate reagent according to the Official Method of Analysis of Fertilizers published in December 1992. Ten samples of commercial liquid mixed fertilizer were sent to 12 collaborators. The samples were analyzed as blind duplicates. The standard deviation (SD_r) and the relative standard deviation (RSD_r) for repeatability in analyses ranged from 0.08 to 0.25% and from 0.3 to 1.5%, respectively. The standard deviation (SD_R) and the relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility in analyses ranged from 0.30 to 0.59% and from 1.7 to 3.8%, respectively. The HorRat values ($RSD_R/\text{predicted } RSD_R$) ranged from 0.70 to 1.31. These results demonstrate that the spectrophotometry has acceptable precision and is suitable for determination of water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer including phosphonic acid or phosphonate.

Key words phosphonic acid, phosphorous acid, water-soluble phosphoric acid, liquid mixed fertilizer, spectrophotometry, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 1, 34~40, 2008)

4-1 汚泥肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル及びクロムの測定

一分解方法の改良

榊原良成¹, 松崎学¹, 天野忠雄^{1,(2)}

キーワード カドミウム, 鉛, ニッケル, クロム, 汚泥肥料, 原子吸光光度法

1. はじめに

未利用資源の肥料化の進展等を背景として, 平成 11 年に肥料取締法が改正¹⁾され, 汚泥肥料等有害物質を含有するおそれのある一部の特殊肥料を普通肥料に移行させ, 都道府県知事への届出から農林水産大臣の登録制度の対象とした。これにより, 肥料の安全性を確保する観点から, 汚泥肥料等の検査が増加しており, 重金属の検査点数も増加している。

現在, 公定法(肥料分析法 1992 年版)²⁾では, 汚泥肥料等有機物を含有する肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル, クロムの定量に用いる試料液の調製には, 灰化後一硝酸で分解する方法が記載されている。その他, 王水で繰り返し分解する方法及び硝酸一過塩素酸で分解する方法が記載されているが, クロムの測定には適用できない。肥料分析の迅速化の観点から汚泥肥料等の統一した分解法について検討が必要である。

中野らによる汚泥肥料中の重金属の迅速分析法³⁾で, 下水汚泥等中の重金属等各種元素の分解は, 王水による分解が比較的安定しているとされている。そこで, 汚泥肥料について, その原料由来の有機物を灰化した後, 王水による加熱分解を行い, その後温塩酸を加えて重金属を溶解する方法を検討し, 公定法による方法²⁾と比較を行った。更に妥当性の確認を実施したので, その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の採取及び調製

流通している汚泥肥料 34 点(汚泥発酵肥料 17 点, し尿汚泥肥料 7 点, 下水汚泥肥料 1 点, 焼成汚泥肥料 8 点, 工業汚泥肥料 1 点)を試験品として収集し, 冷蔵庫に保管した。試験品を 65°C で 24 時間乾燥し, 目開き 500 µm のふるいを全通するように粉砕して分析用試料を調製し, 試験に供した。

2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日立ハイテクノロジーズ製 Z-5010 形 偏光ゼーマン原子吸光光度計
- (2) 電気炉: ヤマト科学製 FO 610
- (3) 砂浴

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター大阪事務所

²(現)農林水産省東海農政局消費安全部

3) 試薬

(1) カドミウム, 鉛, ニッケル及びクロム標準液: Merck 製カドミウム標準液 (1 mg/mL, JCSS), 鉛標準液 (1 mg/mL, JCSS), ニッケル標準液 (1 mg/mL, JCSS) 及びクロム標準液 (1 mg/mL, JCSS) をそれぞれの標準原液として用いた. 各標準原液を混合し, 塩酸 (1+23) で希釈して混合標準液 (0.05~0.5 mg Cd/mL, 0.5~5 mg Pb, Ni, Cr/mL) を調製した.

(2) 塩酸 (含量 35%) 及び硝酸 (含量 60%) は精密分析用試薬を用いた.

4) 試料溶液の調製

分析試料 5.00 g をトールビーカー 100~200 mL にはかりとり, 電気炉に入れ, 煙が出なくなるまで約 250°C で加熱した後, 更に約 450°C で 8~16 時間加熱して灰化させた. 放冷後, 硝酸約 5 mL (灰化-硝酸分解法: 従来法) 若しくは塩酸約 30 mL 及び硝酸約 10 mL (灰化-王水分解法: 改良法) を加え, 砂浴上で加熱して分解し, 更に加熱を続けて酸をほとんど蒸発させた. 放冷後, 温塩酸 (1+5) 約 25~50 mL を分解物に加え, 加熱して溶かした. 放冷後, 溶解液を水で全量フラスコ 100~200 mL に移し, 更に標線まで水を加え, ろ紙 3 種でろ過して試料溶液とした.

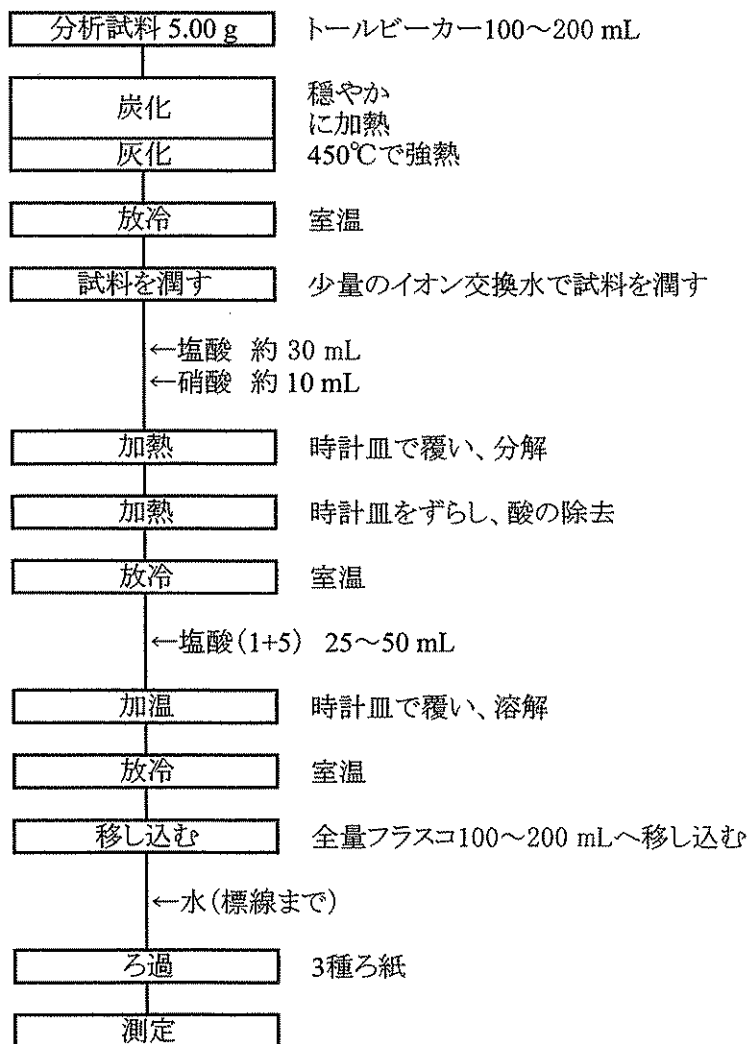


図1 汚泥肥料中のカドミウム、鉛、ニッケル、クロム試験操作手順

5) カドミウム、鉛、ニッケル及びクロムの測定

試料溶液及び標準液を原子吸光分析装置に導入し、カドミウム、鉛、ニッケル及びクロムについて波長 228.8, 283.3, 232.0 及び 359.3 nm の各吸光度を測定し、分析試料中のそれぞれの重金属の濃度を求めた。

3. 結果および考察

1) 試料液の調製方法間の比較

灰化ー硝酸分解法及び灰化ー王水分解法の前処理方法による汚泥肥料(34 点)中の各重金属の測定値の比較を図 2-1~2-4 に示した。

カドミウムの測定値の一次回帰式の回帰係数及び切片は 1.022 及び-0.029 であった。その相関係数(r)は 0.988 であり、高い相関が認められた。

鉛の測定値の一次回帰式の回帰係数及び切片は 1.034 及び-0.077 であった。その相関係数(r)は 0.998 であり、双方の試験成績はほぼ一致した。

ニッケルの測定値の一次回帰式の回帰係数及び切片は 1.344 及び-3.817 であった。その相関係数(r)は 0.955 であり、灰化ー硝酸分解法による測定値より灰化ー王水分解法の前処理方法による測定値の方が高くなる傾向を示した。特に、焼成汚泥肥料(8 点)において、その傾向が顕著であり、灰化ー硝酸分解法に比べて灰化ー王水分解法の測定値が 2 倍以上を示す試料があった。なお、焼成汚泥肥料の試験成績を除いて、同様にニッケルの測定値の比較を図 3-1 に示した。その測定値の一次回帰式の回帰係数及び切片は 1.140 及び-2.270 であった。その相関係数(r)は 0.988 であり、高い相関が認められた。

クロムの測定値の一次回帰式の回帰係数及び切片は 1.793 及び-14.228 であった。その相関係数(r)は 0.868 であり、灰化ー硝酸分解法による測定値より灰化ー王水分解法の前処理方法による測定値の方が高くなる傾向を示した。特に、焼成汚泥肥料(8 点)において、その傾向が顕著であり、半数以上の試料で従来法に比べて灰化ー王水分解法の測定値が 2 倍以上を示した。なお、焼成汚泥肥料の試験成績を除いて、同様にニッケルの測定値の比較を図 3-2 に示した。その測定値の一次回帰式の回帰係数及び切片は 0.997 及び 0.372 であった。その相関係数(r)は 0.975 であり、相関が認められた。

2 種類の焼成汚泥肥料を用いて、灰化ー硝酸分解法の硝酸添加量を 5~20 mL と段階的に変えて前処理したニッケル及びクロムの測定値及び灰化ー王水分解法の同測定値を表 1 に示した。硝酸 5~15 mL 添加量ではニッケル及びクロムの測定値は増加傾向を示し、従来法の 5 mL 添加では分解時の硝酸の量が不十分であると考えられた。しかしながら、硝酸 15 及び 20 mL 添加量では、ニッケル及びクロムの測定値は変わらず、王水で前処理した測定値に比べていずれも低い値であった。灰化処理した分解法は、主に有機物を含む肥料に適した方法である。しかしながら、高温で処理された焼成汚泥肥料には有機物を含まないことから、灰化処理した分解法の適用は難しいと考えられた。このため、焼成汚泥肥料は無機質肥料の分解方法を適用した方が良いと考え、今後の検討から除外することとした。

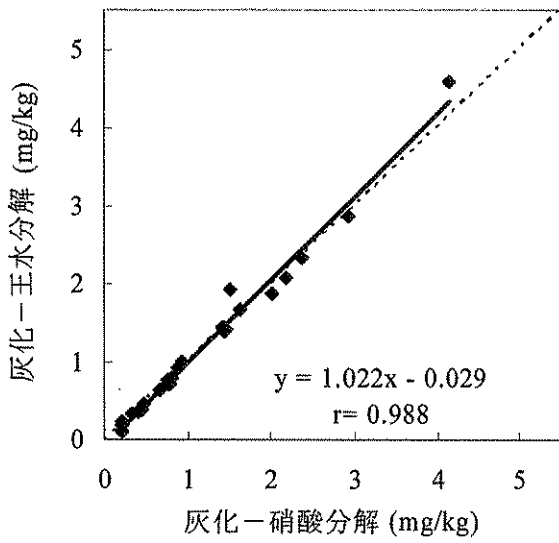


図 2-1 灰化-硝酸分解及び灰化-王水分解によるカドミウムの測定値の比較

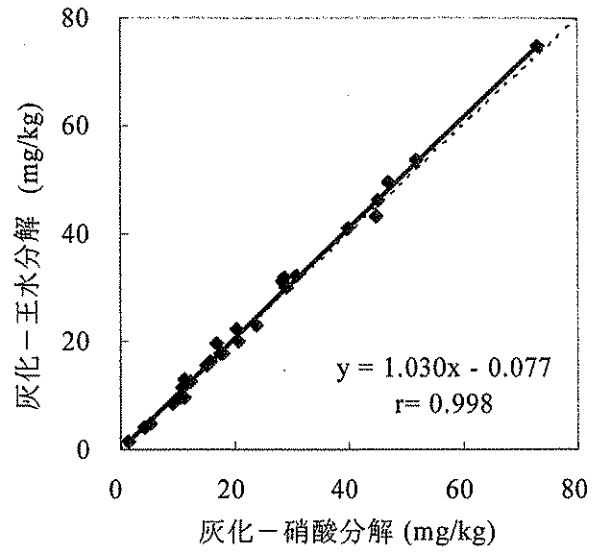


図 2-2 灰化-硝酸分解及び灰化-王水分解による鉛の測定値の比較

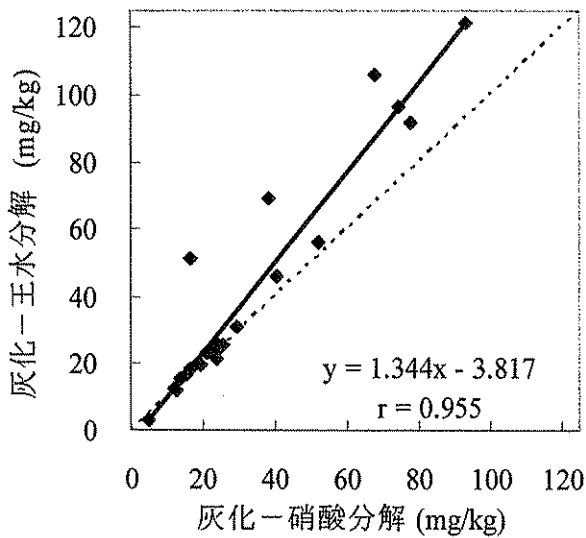


図 2-3 灰化-硝酸分解及び灰化-王水分解によるニッケルの測定値の比較

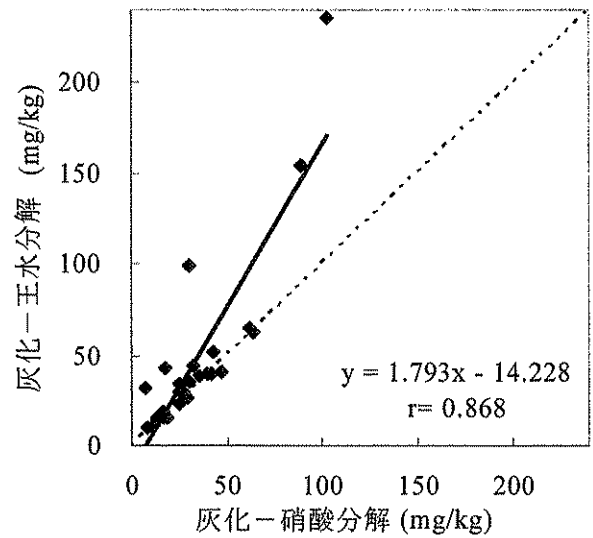


図 2-4 灰化-硝酸分解及び灰化-王水分解によるクロムの測定値の比較

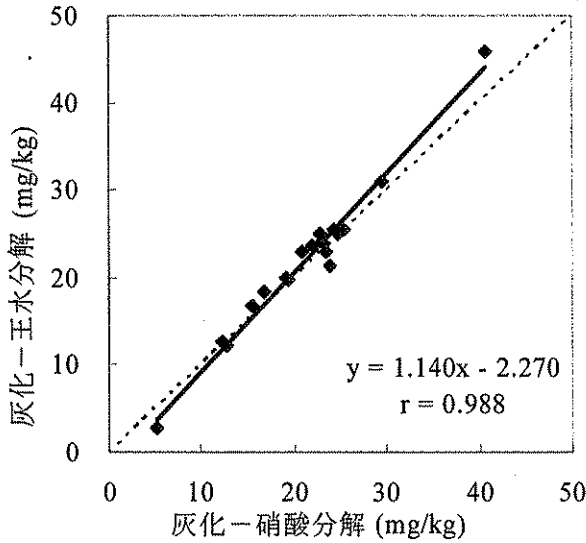


図 3-1 灰化-硝酸分解及び灰化-王水分解による焼成汚泥肥料を除いたニッケルの測定値の比較

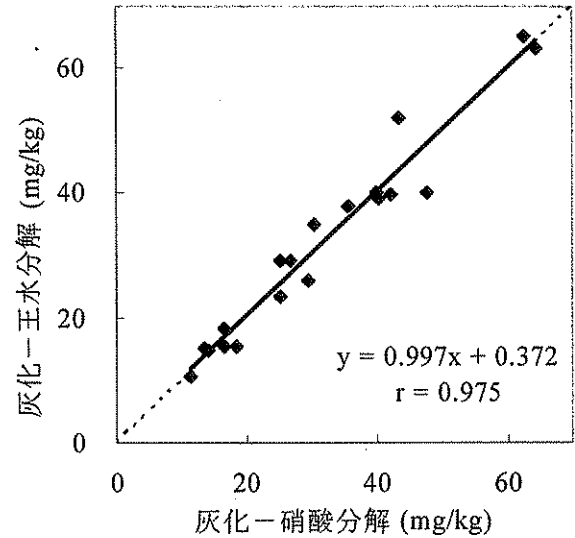


図 3-2 灰化-硝酸分解及び灰化-王水分解による焼成汚泥肥料を除いたクロムの測定値の比較

表1 焼成汚泥肥料の灰化物における硝酸添加量の差による比較

	分解用の酸の種類及び量	ニッケル定量値 (mg/kg)	クロム定量値 (mg/kg)
焼成汚泥1	硝酸 5mL	69.6	58.2
	硝酸 10mL	73.4	66.1
	硝酸 15mL	79.0	72.3
	硝酸 20mL	79.1	75.4
	王水 40 mL	111.1	123.4
焼成汚泥2	硝酸 5mL	35.4	24.3
	硝酸 10mL	43.3	27.5
	硝酸 15mL	48.5	31.6
	硝酸 20mL	45.3	29.9
	王水 40 mL	56.0	43.8

2) 添加回収試験成績

汚泥発酵肥料(5点)、工業汚泥肥料(1点)に、汚泥肥料の公定規格における含有を許される有害成分の最大量¹⁾(カドミウムとして0.0005%(5 mg/kg)、鉛として0.01%(100 mg/kg)、ニッケルとして0.03%(300 mg/kg)、クロムとして0.05%(500 mg/kg))を添加した試料(以下 規制値相当量添加した試料)及び、その1/10相当量(カドミウムとして0.00005%(0.5 mg/kg)、鉛として0.001%(10 mg/kg)、ニッケルとして0.003%(30 mg/kg)、クロムとして0.005%(50 mg/kg))を添加した試料(以下 規制値の1/10相当量添加した試料)について、灰化-王水分解法により、繰り返し3回分析して得られた回収試験結果を表2に示した。

平均回収率及び相対標準偏差は、規制値相当量添加した試料ではカドミウムでは97.5~99.2%及び0.3~1.9%、鉛では99.1~100.6%及び0.3~1.4%、ニッケルでは98.5~100.3%及び1.3~3.3%、クロムでは

97.5~100.0%及び0.6~2.7%であり、規制値の1/10相当量添加した試料ではカドミウムでは96.7~99.7%及び1.1~2.5%, 鉛では97.5~99.6%及び0.4~3.0%, ニッケルでは97.1~99.9%及び2.1~9.4%, クロムでは95.9~101.9%及び1.0~6.7%であった。

以上のことから、規制値相当量及び規制値の1/10相当量添加した試料における回収試験において、いずれも良好な正確さ(平均回収率)及び繰り返し精度(相対標準偏差)が得られた。

表2 添加回収試験成績

測定成分	添加濃度 (mg/kg)	汚泥発酵 肥料A	汚泥発酵 肥料B	汚泥発酵 肥料C	汚泥発酵 肥料D	汚泥発酵 肥料E	工業汚泥 肥料
		Mean ¹⁾ (RSD ²⁾)	Mean (RSD)	Mean (RSD)	Mean (RSD)	Mean (RSD)	Mean (RSD)
カドミウム	5	99.2 (0.8)	98.6 (0.3)	98.0 (1.9)	98.5 (0.7)	98.5 (0.5)	97.5 (1.9)
	0.5	99.7 (2.3)	97.9 (1.7)	98.3 (2.2)	98.0 (1.1)	98.4 (2.2)	96.7 (2.5)
鉛	100	100.4 (1.4)	100.1 (0.3)	100.0 (0.8)	100.6 (1.3)	99.1 (1.2)	99.9 (1.4)
	10	99.2 (0.4)	97.5 (3.0)	99.6 (1.8)	98.3 (0.6)	99.3 (2.1)	98.8 (0.4)
ニッケル	300	99.4 (3.3)	100.3 (1.3)	100.3 (2.1)	99.5 (2.8)	98.5 (2.0)	99.4 (1.6)
	30	97.1 (3.3)	99.9 (9.4)	98.4 (3.4)	98.0 (2.7)	97.9 (2.1)	97.5 (2.1)
クロム	500	100.0 (2.7)	99.0 (1.6)	98.6 (1.5)	98.8 (2.4)	97.5 (2.2)	97.7 (0.6)
	50	98.1 (2.9)	101.9 (6.7)	95.9 (1.8)	96.9 (1.0)	96.8 (1.1)	97.0 (2.3)

1) 3点併行分析成績の平均回収率(%)

2) 相対標準偏差(%)

3) 定量下限の確認

汚泥発酵肥料, し尿汚泥肥料及び工業汚泥肥料について、灰化-王水分解法により繰り返し7回分析して得られた定量下限の確認試験結果を表3に示した。

カドミウムの平均測定値はそれぞれ0.126, 0.222及び0.109 mg/kgであり、その標準偏差はそれぞれ0.008, 0.007及び0.009 mg/kgであった。定量下限は標準偏差に10を乗じて求められることから、それぞれ0.08, 0.07及び0.09 mg/kgとなり、本法の定量下限は0.1 mg/kg程度と推定された。また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ として示される⁴⁾ので、それぞれ0.03, 0.03及び0.04 mg/kgとなり、本法の検出下限は0.05 mg/kg程度と推定された。

鉛の平均測定値はそれぞれ1.133, 1.324及び0.909 mg/kgであり、その標準偏差はそれぞれ0.082, 0.079及び0.077 mg/kgであった。それぞれに10を乗じると0.82, 0.79及び0.77 mg/kgとなり、本法の定量下限は1.0 mg/kg程度と推定された。また、それぞれに $2 \times t(n-1, 0.05)$ を乗じると0.32, 0.31及び0.30 mg/kgとなり、本法の検出下限は0.5 mg/kg程度と推定された。

ニッケルの平均測定値はそれぞれ 1.883, 2.511 及び 1.354 mg/kg であり, その標準偏差はそれぞれ 0.094, 0.097 及び 0.086 mg/kg であった. それぞれに 10 を乗じると 0.94, 0.97 及び 0.86 mg/kg となり, 本法の定量下限は 1.0 mg/kg 程度と推定された. また, それぞれに $2 \times t(n-1, 0.05)$ を乗じると 0.37, 0.38 及び 0.33 mg/kg となり, 本法の検出下限は 0.5 mg/kg 程度と推定された.

クロムの平均測定値はそれぞれ 2.646, 3.381 及び 1.303 mg/kg であり, その標準偏差はそれぞれ 0.099, 0.095 及び 0.083 mg/kg 程度であった. それぞれに 10 を乗じると 0.99, 0.95 及び 0.83 mg/kg となり, 本法の定量下限は 1.0 mg/kg と推定された. また, それぞれに $2 \times t(n-1, 0.05)$ を乗じると 0.38, 0.37 及び 0.32 mg/kg となり, 本法の検出下限は 0.5 mg/kg 程度と推定された.

表3 定量下限確認試験の結果

元素	肥料の種類	平均定量値 ¹⁾ (mg/kg)	標準偏差 (mg/kg)	定量下限の推定 ²⁾ (mg/kg)	検出下限の推定 ³⁾ (mg/kg)
カドミウム	汚泥発酵肥料	0.126	0.008	0.08	0.03
	し尿汚泥肥料	0.222	0.007	0.07	0.03
	工業汚泥肥料	0.109	0.009	0.09	0.04
鉛	汚泥発酵肥料	1.133	0.082	0.82	0.32
	し尿汚泥肥料	1.324	0.079	0.79	0.31
	工業汚泥肥料	0.909	0.077	0.77	0.30
ニッケル	汚泥発酵肥料	1.883	0.094	0.94	0.37
	し尿汚泥肥料	2.511	0.097	0.97	0.38
	工業汚泥肥料	1.354	0.086	0.86	0.33
クロム	汚泥発酵肥料	2.646	0.099	0.99	0.38
	し尿汚泥肥料	3.381	0.095	0.95	0.37
	工業汚泥肥料	1.303	0.083	0.83	0.32

1) 7点併行分析成績の平均値

2) 標準偏差×10

3) 標準偏差× $2 \times t(n-1, 0.05)$

表4 標準液の安定性試験

保存期間	カドミウム (0.3 mg/L) ¹⁾		鉛 (2 mg/L)		ニッケル (3 mg/L)		クロム (4 mg/L)	
	測定値 (mg/L)	割合 ²⁾ (%)	測定値 (mg/L)	割合 (%)	測定値 (mg/L)	割合 (%)	測定値 (mg/L)	割合 (%)
1ヶ月	0.298	99	1.97	99	2.99	100	4.11	103
2ヶ月	0.302	101	1.99	100	2.96	99	3.99	100
3ヶ月	0.299	100	1.96	98	3.01	100	4.04	101
4ヶ月	0.299	100	1.94	97	3.00	100	4.03	101
5ヶ月	0.297	99	2.01	100	2.96	99	4.03	101
6ヶ月	0.296	99	2.01	100	2.99	100	4.08	102

1) 調製した濃度

2) 調製した濃度に対する測定値の濃度

4) 標準液の安定性

室温(25℃以下)で保管したカドミウム標準液(0.3 mg/L), 鉛標準液(2 mg/L), ニッケル標準液(3 mg/L), クロム標準液(4 mg/L)の1月毎の経時変化を表4に示した. 各月毎に新しく各種標準原液から調製した検量線用標準液より作成した検量線を用いて各標準液の濃度を測定し, 調製した濃度に対する測定濃度の割合(%)を算出した. その結果, 各標準液の測定濃度の割合は97~103%であった. このことから, いずれの標準液においても塩酸(1+23)で希釈し, 室温(25℃以下)に保管した場合, 6ヶ月間安定であることが認められた.

4. まとめ

灰化-王水分解法(改良法)を用いて分解した方法と灰化-硝酸分解法(従来法)により汚泥肥料(34点)中のカドミウム, ニッケル, クロム及び鉛を測定した. 得られた測定値を比較したところ, 焼成汚泥肥料を除いた測定値において両方法間に高い相関が認められたが, 焼成汚泥肥料中のニッケル及びクロムは, 従来法では改良法に比較して低い測定値を示した.

汚泥発酵肥料(5点)及び工業汚泥肥料(1点)に, カドミウム, 鉛, ニッケル, クロムの規制値相当量を添加した試料及び規制値の1/10相当量を添加した試料を用いて改良法により添加回収試験を実施したところ, 平均回収率及びその標準偏差は, カドミウムでは96.7~99.7%及び0.3~2.5%, 鉛では97.5~100.6%及び0.3~3.0%, ニッケルでは97.1~100.3%及び1.3~9.4%, クロムでは95.9~101.9%及び0.6~6.7%といずれも良好な成績であった. 改良法により3種類の自然汚染試料をそれぞれ7点併行分析して得られた測定値の標準偏差より算出したところ, 本法の定量下限値はカドミウムでは0.1 mg/kg, 鉛, ニッケル, クロムでは1 mg/kgと推定された. なお, 室温(25℃以下)で保管したカドミウム標準液(0.3 mg/L), 鉛標準液(2 mg/L), ニッケル標準液(3 mg/L), クロム標準液(4 mg/L)は6ヶ月間安定であることが認められた.

以上の結果から, 改良法は, 試験法として試験室内の妥当性が確認され, 肥料分析法と同等の成績を得られることが確認された.

謝 辞

この試験の実施においてご指導頂きました社団法人新潟県環境衛生中央研究所の矢島和幸氏に感謝いたします.

文 献

- 1) 肥料取締法:改正平成11年7月28日法律第111号(1999)
- 2) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法, p.72~118, 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 3) 中野秀治, 越野正義:農技研肥料化学科資料第252号「汚泥肥料中の各種元素の迅速定量法, p.2~43 農林水産省農業環境技術研究所肥料化学科(1983)
- 4) 環境省水・大気環境局水環境課:要調査項目等調査マニュアル(水質, 底質, 水生生物), p.8~11(2008)

Validation of Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Cadmium, Lead, Nickel and Chromium in Sludge Fertilizer

Yoshinari SAKAKIBARA¹, Manabu MATSUZAKI¹ and Tadao AMANO^{1,(2)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center Osaka Office

² (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tokai Agricultural Administration Office, Food Safety and Consumer Affairs Department

We developed and validated a method using atomic absorption spectrometry for determination of cadmium, lead, nickel and chromium in sludge fertilizer. The sample was ashed in a furnace at 450°C. The ash was digested with hydrochloric acid—nitric acid (3+1). After the excess acid was evaporated, the residue was dissolved with diluted hydrochloric acid to prepare sample solution. Cadmium, lead, nickel and chromium were measured by an atomic absorption spectrometer at the wavelengths of 228.8, 283.3, 232.0 and 359.3 nm, respectively. The results obtained by procedure digested with hydrochloric acid—nitric acid (3+1) agreed with those obtained by procedure digested with nitric acid except nickel and chromium in calcined sludge fertilizer. The accuracy and the precision were assessed from 3 replicate determinations of 6 samples spiked with cadmium, lead, nickel and chromium at 2 different concentrations (maximum allowable level and 1/10 of MAL). The recoveries and relative standard deviations (RSD) ranged from 95.9 to 101.9% and from 0.3 to 9.4%, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of 3 naturally contaminated samples, the LOQ values were 0.1 mg/kg for cadmium and 1 mg/kg for lead, nickel and chromium. Those results indicated that the method we developed was valid for the determination of heavy metals in sludge fertilizer.

Key words cadmium, lead, nickel, chromium, sludge fertilizer, digestion, atomic spectrometry

(Research Report of Fertilizer, 1, 41~49, 2008)

4-2 汚泥肥料中のカドミウム、鉛、ニッケル及びクロムの測定

—共同試験成績—

榑原良成¹, 松崎学¹

キーワード カドミウム, 鉛, ニッケル, クロム, 汚泥肥料, 原子吸光光度法, 共同試験

1. はじめに

平成 11 年7月の肥料取締法¹⁾の改正により, 汚泥肥料等有害物質を含むおそれのある一部の肥料が特殊肥料から普通肥料へ移行し, 公定規格²⁾において含有の許される有害成分の最大量を定め, 品質保全の強化措置がとられることとなった. このことにより, 肥料の品質を保全し, その公正な取引と安全な施用の確保に期すため, 汚泥肥料中の重金属(カドミウム, 鉛, ニッケル及びクロム)の検査はより重要な役割を担うようになった.

汚泥肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル及び鉛の測定の迅速化のため, 灰化した後王水で加熱する試料溶液の調製法(改良法)による重金属試験法について, 公定法(肥料分析法 1992 年版)^{3, 4)}との比較試験, 繰返し性試験, 定量下限の確認等の ISO/IEC 17025⁵⁾で要求されている試験室内の妥当性確認の試験を実施し, 満足する結果が得られた⁶⁾. 更に同基準の要求事項である試験所間の比較試験について, IUPAC の共同試験プロトコル⁷⁾を参考に汚泥肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル及びクロムの試験法の共同試験を実施し, 試験室間の再現精度を調査したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の採取, 調製等

市販の下水汚泥肥料 2 銘柄, 汚泥発酵肥料 3 銘柄(計 5 銘柄)を試験品として収集し, 冷蔵庫に保管した. それぞれ試験品を 65°C で 24 時間乾燥し, 目開き 500 μm のふるいを全通するように粉碎し, よく混合した. 混合された試料約 12 g をビニール袋に入れ, ヒートシールして分析用試料とした. 一対のブラインド試料を提供するため, それぞれの汚泥肥料の分析用試料の容器に 2 系列の番号のラベルを付けた. 分析用試料(10 点)を参加試験室に送付した.

2) 装置

分解装置は砂浴又はホットプレートを用いた.

原子吸光分析装置及び電気炉は各試験室に設置されている装置を使用した.

3) 試料溶液の調製

分析試料 5.00 g をトールビーカー 100~200 mL にとり, 電気炉で緩やかに加熱して炭化させた後, 約

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター大阪事務所

450°Cで強熱して灰化させた。放冷後、少量の水で残留物を潤し、塩酸 30 mL 及び硝酸 10 mL を加えて時計皿で覆い、ホットプレート又は砂浴上で加熱分解した。分解が終了したら、時計皿をずらし、酸をほとんど蒸発させた。放冷後、塩酸(1+5) 25~50 mL を残留物に加え、トールビーカーを時計皿で覆い、静かに加熱して溶かした。放冷後、水で全量フラスコ 100~200 mL に移し、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。

なお、試料溶液の調製にあたり、空のトールビーカーを用いて同様の操作を実施し、空試験溶液を調製した。(図 1)

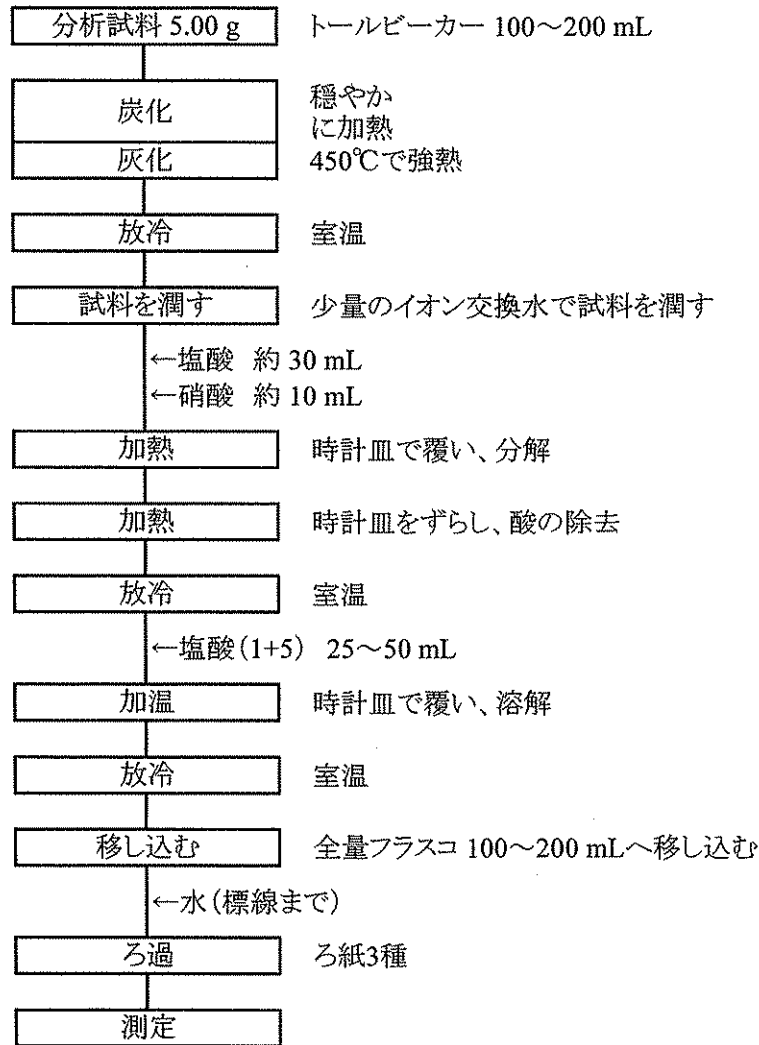


図1 汚泥肥料中のカドミウム、鉛、ニッケル、クロム試験操作手順

4) カドミウム、鉛、ニッケル及びクロムの測定

カドミウム、鉛、ニッケル、クロムの測定にあたっては、各試験室の原子吸光分析装置の操作方法に従った。

なお、日立ゼーマン原子吸光分析装置(Z-5010)を用いた場合の測定の一例を次に示した。塩酸(1+23)で調製した試料溶液を、空気-アセチレンフレームに噴霧し、各溶液のカドミウム(波長 228.8 nm)、鉛(波長 217.0 nm 又は 283.3 nm)、ニッケル(波長 232.0 nm)、クロム(波長 357.9 nm 又は 359.3 nm)の各吸光度を測定した。

5) 均質性の確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁸⁾の均質性試験に従い、各系列の分析用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3)～4)に従って分析した。

6) 共同試験

次の 12 試験室において、送付した 10 試料を 3)～4)に従って共同試験を実施した。

- ・ 株式会社環境技研
 - ・ 株式会社クレハ分析センター
 - ・ 株式会社サイエンス
 - ・ 内藤環境管理株式会社
 - ・ 株式会社那須環境技術センター
 - ・ 日本総研株式会社
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部肥飼料安全検査部、札幌センター、仙台センター、名古屋センター、神戸センター大阪事務所及び福岡センター
- (50 音順)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰り返し 2 回×10 試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表 1 に示した。いずれの試料においても、F 値が $F(9,10;0.05)$ を下回ったことから、有意水準 5%において試料間に有意な差は認められなかった⁸⁾。また、試料間の相対標準偏差は 0.3～2.8%であり、全ての分析用試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した。

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を表 2 に示した。各系列の分析試料の試験結果を IUPAC の共同試験プロトコル^{7,9)}に従って統計処理した。試験成績の外れ値を検出するために Cochran テスト及び Grubbs テストを実施したところ、カドミウムにおいては 12 試験室の試験成績のうち下水汚泥肥料 a で 2 試験室、下水汚泥肥料 b で 2 試験室、汚泥発酵肥料 a で 2 試験室、汚泥発酵肥料 b で 1 試験室及び汚泥発酵肥料 c で 2 試験室の試験成績が外れ値と判別された。鉛においては 12 試験室の試験成績のうち下水汚泥肥料 a で 2 試験室、下水汚泥肥料 b で 1 試験室、汚泥発酵肥料 a で 2 試験室、汚泥発酵肥料 b で 2 試験室及び汚泥発酵肥料 c で 1 試験室の試験成績が外れ値と判別された。ニッケルにおいては 12 試験室の試験成績のうち下水汚泥肥料 a で 1 試験室、下水汚泥肥料 b で 1 試験室、汚泥発酵肥料 a で 1 試験室及び汚泥発酵肥料 b で 1 試験室の試験成績が外れ値と判別された。クロムにおいては 12 試験室の試験成績のうち汚泥発酵肥料 a で 1 試験室の試験成績が外れ値と判別された。

なお、参考のため、各試験室で共同試験に使用した原子吸光分析装置のメーカーと型式を表 3 に示した。

表1 均質性確認試験の結果

測定成分	試料名	平均定量値 ¹⁾ (mg/kg)	相対標準偏差 ²⁾ (%)	F値 ³⁾	F値限界 ⁴⁾
カドミウム	下水汚泥肥料a	1.51	2.4	1.33	3.02
	下水汚泥肥料b	3.45	0.6	0.38	3.02
	汚泥発酵肥料a	1.88	1.9	2.08	3.02
	汚泥発酵肥料b	3.91	0.9	1.91	3.02
	汚泥発酵肥料c	1.80	0.5	0.90	3.02
鉛	下水汚泥肥料a	24.4	1.4	2.00	3.02
	下水汚泥肥料b	28.7	1.7	2.01	3.02
	汚泥発酵肥料a	19.3	0.9	1.75	3.02
	汚泥発酵肥料b	23.7	1.2	2.16	3.02
	汚泥発酵肥料c	89.4	0.5	1.30	3.02
ニッケル	下水汚泥肥料a	55.5	0.9	2.38	3.02
	下水汚泥肥料b	21.3	1.8	1.08	3.02
	汚泥発酵肥料a	29.6	0.3	0.38	3.02
	汚泥発酵肥料b	29.2	0.8	1.61	3.02
	汚泥発酵肥料c	58.2	0.9	1.13	3.02
クロム	下水汚泥肥料a	30.6	1.1	0.83	3.02
	下水汚泥肥料b	23.4	1.9	0.58	3.02
	汚泥発酵肥料a	37.8	0.9	0.47	3.02
	汚泥発酵肥料b	31.4	1.2	0.77	3.02
	汚泥発酵肥料c	86.4	2.8	2.35	3.02

- 1) 10試料2点併行分析の総平均定量値
- 2) 試料間の相対標準偏差
- 3) 一元分散分析値により算出された分散比
- 4) F(9,10;0.05)

3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値、室内繰返しの精度(相対標準偏差(RSD_f))及びその HorRat 値(Ho_f)並びに室間再現の精度(相対標準偏差(RSD_R))及びその HorRat 値(Ho_R)を表4に示した。HorRat 値は分析方法の精度の評価をするために用いられており、 Ho_f は $RSD_f/RSD_f(P)$ 及び Ho_R は $RSD_R/RSD_R(P)$ により求められる。なお、 $RSD_R(P)$ は平均定量値から Horwitz 式¹⁰⁾より求め、 $RSD_f(P)$ は Horwitz 式に係数(5/8)を乗じて求めた^{11, 12)}。

外れ値を除外したカドミウムの試験結果の RSD_f 及び RSD_R は 1.0~5.5%及び 3.2~6.4%であった。また、 RSD_f 及び RSD_R の評価に用いる Ho_f 及び Ho_R は 0.11~0.59 及び 0.25~0.42 であり、いずれも 2 以下であった¹³⁾。外れ値を除外した鉛の試験結果の RSD_f 及び RSD_R は 1.3~4.6%及び 3.9~7.0%であった。また、 RSD_f 及び RSD_R の評価に用いる Ho_f 及び Ho_R は 0.26~0.74 及び 0.40~0.70 であり、いずれも 2 以下であった¹³⁾。外れ値を除外したニッケルの試験結果の RSD_f 及び RSD_R は 1.1~2.2%及び 3.9~6.4%であった。また、 RSD_f 及び RSD_R の評価に用いる Ho_f 及び Ho_R は 0.19~0.35 及び 0.39~0.66 であり、いずれも 2 以下であった¹²⁾。外れ値を除外したクロムの試験結果の RSD_f 及び RSD_R は 2.1~6.4%及び 11.0~18.7%であった。また、 RSD_f 及び RSD_R の評価に用いる Ho_f 及び Ho_R は 0.37~1.24 及び 1.20~1.92 であり、いずれも 2 以下であった¹³⁾。

表2-1 汚泥肥料中のカドミウムの共同試験成績

(mg/kg)

試験室 ¹⁾	下水汚泥肥料a		下水汚泥肥料b		汚泥発酵肥料a	
A	1.59	1.56	3.50	3.47	2.02	1.99
B	1.31	1.65	1.39 ³⁾	1.43 ³⁾	2.04	2.02
C	1.60 ²⁾	1.05 ²⁾	3.15	3.08	1.58 ³⁾	1.47 ³⁾
D	1.41	1.45	3.29	3.30	1.81	1.81
E	1.59	1.53	3.51	3.53	1.97	1.98
F	1.18 ³⁾	1.03 ³⁾	3.01 ²⁾	3.30 ²⁾	1.49 ²⁾	1.78 ²⁾
G	1.47	1.45	3.31	3.31	1.91	1.91
H	1.40	1.41	3.31	3.20	1.91	1.85
I	1.42	1.48	3.18	3.23	2.13	2.11
J	1.48	1.50	3.36	3.32	1.96	1.92
K	1.49	1.54	3.54	3.54	1.97	1.95
L	1.70	1.61	3.43	3.34	2.00	2.01
試験室	汚泥発酵肥料b		汚泥発酵肥料c			
A	3.81	4.02	1.78	1.99		
B	3.99	3.94	1.86	1.85		
C	3.64	3.75	1.34 ³⁾	1.40 ³⁾		
D	3.69	3.67	1.69	1.66		
E	3.84	3.92	1.83	1.98		
F	3.68 ²⁾	3.10 ²⁾	1.30 ³⁾	1.50 ³⁾		
G	3.72	3.69	1.74	1.74		
H	3.71	3.73	1.72	1.68		
I	3.65	3.86	1.79	1.89		
J	3.77	3.80	1.79	1.78		
K	3.91	3.89	1.81	1.81		
L	3.93	3.99	1.81	1.82		

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) Cochranテストによる外れ値

3) Grubbsテストによる外れ値

表2-2 汚泥肥料中の鉛の共同試験成績

(mg/kg)

試験室 ¹⁾	下水汚泥肥料a		下水汚泥肥料b		汚泥発酵肥料a	
A	25.9	25.8	30.7	29.8	18.9	19.4
B	24.7	25.3	29.3	28.9	19.3	19.2
C	25.6	24.9	27.9	29.0	18.7	18.1
D	23.4 ³⁾	21.5 ³⁾	28.5	26.4	16.4	18.6
E	23.8	25.8	30.3	31.1	19.1	20.2
F	23.5	27.5	28.4	30.6	16.4 ²⁾	19.8 ²⁾
G	24.7	24.3	29.1	29.4	18.7	18.4
H	25.0	25.8	29.7	29.0	19.1	18.9
I	27.2	25.1	29.0	32.6	23.6 ³⁾	22.6 ³⁾
J	24.0	24.8	28.8	28.5	19.0	18.7
K	25.4	25.4	30.3	29.9	18.9	19.1
L	22.8 ³⁾	21.2 ³⁾	24.3 ³⁾	24.0 ³⁾	17.1	16.8

脚注1)~3)は表2-1を参照

表2-2 汚泥肥料中の鉛の共同試験成績(続き)

(mg/kg)

試験室	汚泥発酵肥料b		汚泥発酵肥料c	
A	22.4	22.7	87.2	87.9
B	22.5	22.1	95.0	95.0
C	21.9	22.5	89.8	87.4
D	20.7	22.0	81.8	83.3
E	23.1	22.3	86.8	89.9
F	23.1 ²⁾	18.1 ²⁾	84.7	86.1
G	21.3	21.1	85.7	84.2
H	22.8	23.0	83.8	82.4
I	25.4 ³⁾	25.4 ³⁾	87.4	87.0
J	21.7	22.2	86.1	87.3
K	22.8	22.6	84.0	85.7
L	19.1	18.9	74.8 ³⁾	73.2 ³⁾

脚注1)～3)は表2-1を参照

表2-3 汚泥肥料中のニッケルの共同試験成績

(mg/kg)

試験室 ¹⁾	下水汚泥肥料a		下水汚泥肥料b		汚泥発酵肥料a	
A	57.8	56.7	21.8	22.8	29.9	29.0
B	60.9	62.2	23.4	22.9	32.2	31.7
C	59.2	60.2	21.9	22.2	29.1	29.8
D	57.5	57.9	22.3	22.2	29.5	29.3
E	56.2	55.7	21.1	21.7	29.1	28.2
F	53.2	53.2	15.1 ²⁾	18.5 ²⁾	24.5	24.7
G	53.1	53.2	20.1	20.4	28.2	27.5
H	57.3	56.0	21.7	21.6	27.4	27.6
I	54.8	54.9	20.1	21.3	29.9	30.0
J	57.0	58.2	21.7	21.7	29.5	29.3
K	58.5	57.8	22.0	21.6	29.4	29.6
L	57.5 ²⁾	60.9 ²⁾	22.7	21.4	25.9 ²⁾	28.6 ²⁾

試験室	汚泥発酵肥料b		汚泥発酵肥料c	
A	29.0	28.7	58.8	58.0
B	30.4	31.7	62.7	63.5
C	28.4	29.1	60.7	60.2
D	27.7	27.8	59.9	60.3
E	28.5	27.8	58.0	57.5
F	24.0 ³⁾	22.4 ³⁾	53.3	51.9
G	26.6	26.5	56.1	59.6
H	27.1	27.6	57.0	56.4
I	29.0	29.3	57.4	58.6
J	29.3	28.9	59.8	58.1
K	29.2	28.9	58.1	57.6
L	26.9	28.5	57.2	56.8

脚注1)～3)は表2-1を参照

表2-4 汚泥肥料中のクロムの共同試験成績

(mg/kg)

試験室 ¹⁾	下水汚泥肥料a		下水汚泥肥料b		汚泥発酵肥料a	
	A	38.7	36.4	30.9	29.3	43.0
B	34.8	34.7	31.5	27.4	40.9 ²⁾	35.0 ²⁾
C	44.3	38.1	32.0	33.2	44.5	46.1
D	30.5	32.6	25.9	27.3	40.4	40.2
E	29.3	28.1	22.9	22.2	36.3	35.0
F	33.3	36.0	23.8	25.9	39.8	39.8
G	32.3	32.0	24.5	24.7	38.8	40.1
H	41.4	41.9	35.4	32.6	49.5	49.8
I	33.0	29.1	22.8	22.8	45.0	42.0
J	27.1	27.0	20.4	20.2	34.4	34.4
K	28.7	30.3	21.1	21.0	38.2	37.8
L	40.9	40.8	31.7	33.9	44.8	44.0

試験室	汚泥発酵肥料b		汚泥発酵肥料c	
A	32.0	33.3	95.9	91.6
B	34.7	29.1	95.9	80.7
C	38.5	35.0	101	95.9
D	27.8	28.0	85.0	91.0
E	27.8	27.5	71.3	78.2
F	28.9	27.3	85.6	86.4
G	30.1	29.6	81.2	90.0
H	35.9	38.4	90.9	106
I	28.5	29.9	81.0	78.5
J	24.8	24.3	65.4	68.9
K	26.4	27.1	74.1	75.7
L	35.6	32.7	95.4	91.3

脚注1)～3)は表2-1を参照

表3 共同試験に使用した原子吸光分析装置

試験室 ¹⁾	メーカー名(型式)	試験室	メーカー名(型式)
A	日立製作所(Z-8000)	G	日立製作所(Z-5010)
B	日立製作所(Z-5010)	H	日本ジャーレル・アッシュ(SOLAAR M5)
C	バリアン(SpectrAA 220)	I	島津製作所(AA-6800)
D	日立製作所(Z-5300)	J	日立製作所(Z-5310)
E	日立製作所(Z-8200)	K	日立製作所(Z-5010)
F	島津製作所(AA-6700F)	L	日本ジャーレル・アッシュ(SOLAAR M5)

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

表4 共同試験成績の解析結果

測定成分	試料名	試験 室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (mg/kg)	RSD _r ³⁾ (%)	RSD _R ⁴⁾ (%)	Ho _r ⁵⁾	Ho _R ⁶⁾
カドミウム	下水汚泥肥料a	10	1.50	5.5	6.4	0.59	0.42
	下水汚泥肥料b	10	3.35	1.2	4.2	0.14	0.32
	汚泥発酵肥料a	10	1.96	1.0	4.4	0.11	0.31
	汚泥発酵肥料b	11	3.81	1.9	3.2	0.23	0.25
	汚泥発酵肥料c	10	1.80	3.5	4.9	0.38	0.34
鉛	下水汚泥肥料a	10	25.2	4.6	3.9	0.74	0.40
	下水汚泥肥料b	11	29.4	3.7	4.3	0.61	0.45
	汚泥発酵肥料a	10	18.6	3.2	5.0	0.49	0.48
	汚泥発酵肥料b	10	22.2	1.8	7.0	0.28	0.70
	汚泥発酵肥料c	11	86.8	1.3	4.0	0.26	0.49
ニッケル	下水汚泥肥料a	11	56.9	1.1	4.6	0.19	0.52
	下水汚泥肥料b	11	21.8	2.2	3.9	0.35	0.39
	汚泥発酵肥料a	11	28.9	1.3	6.4	0.21	0.66
	汚泥発酵肥料b	11	28.5	1.8	4.4	0.30	0.45
	汚泥発酵肥料c	12	58.3	1.6	4.4	0.30	0.51
クロム	下水汚泥肥料a	12	33.6	5.3	15.6	0.89	1.65
	下水汚泥肥料b	12	26.3	4.9	18.7	0.81	1.92
	汚泥発酵肥料a	11	41.3	2.1	11.0	0.37	1.20
	汚泥発酵肥料b	12	30.2	5.5	13.8	0.91	1.44
	汚泥発酵肥料c	12	85.0	6.4	12.5	1.24	1.52

- 1) 解析に用いた試験室数
- 2) 総平均値 ($n = \text{試験室数} \times \text{繰り返し数}$)
- 3) 室内繰り返し精度 (相対標準偏差)
- 4) 室間再現精度 (相対標準偏差)
- 5) 室内繰り返しHorRat値
- 6) 室間再現HorRat値

4. まとめ

12 試験室において 5 銘柄 (10 点) の汚泥肥料を用いてカドミウム、鉛、ニッケル、クロムの共同試験を実施し、本分析法の評価を行った。その結果、カドミウムについては室間再現精度 (相対標準偏差) が 3.2～6.4%、その評価に用いる HorRat 値は 0.25～0.42、鉛については室間再現精度 (相対標準偏差) が 3.9～7.0%、その評価に用いる HorRat 値は 0.40～0.70、ニッケルについては室間再現精度 (相対標準偏差) が 3.9～6.4%、その評価に用いる HorRat 値は 0.39～0.66、クロムについては室間再現精度 (相対標準偏差) が 11.0～18.7%、その評価に用いる HorRat 値は 1.20～1.92 であり、いずれも 2 を下回った。このことから、試験所間の比較による本分析法の室間再現精度は満足する成績であった。

既報により測定範囲、公定法との整合性等が検討されており、本試験法は汚泥肥料中のカドミウム、鉛、ニッケル及びクロムの測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された。このことから、2007 年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は肥料等試験法 (2008) に記載された¹⁴⁾。

謝 辞

共同試験にご協力頂いた株式会社環境技研, 株式会社クレハ分析センター, 株式会社サイエンス, 内藤環境管理株式会社, 株式会社那須環境技術センター及び日本総研株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 肥料取締法:改正平成 11 年 7 月 28 日, 法律第 111 号 (1999)
- 2) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件:改正平成 12 年 8 月 31 日, 農林水産省告示第 1161 号 (2000)
- 3) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.81~85, p.88~93, p.119~120, p.123~126, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 4) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, p.202~207, p.213~216, p.256~258, p.265~266, 養賢堂, 東京 (2005)
- 5) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (1999)
- 6) 榊原良成, 松崎学, 天野忠雄:汚泥肥料中の重金属測定 -分解方法の改良-, 肥料研究報告, **1**, 41~49 (2008)
- 7) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 8) Thompson, M., Rellison, S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 10) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 11) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 12) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 13) Codex Alimentarius: "Recommendation for a checklist of information required to evaluate method of analysis and submitted to the Codex Committee on Method of Analysis and Sampling for endorsement", Vol.13, p.129 (1994)
- 14) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Determination of Cadmium, Lead, Nickel and Chromium in Sludge Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry: A Collaborative Study

Yoshinari SAKAKIBARA¹, and Manabu MATSUZAKI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center Osaka Office

A collaborative trial was conducted to evaluate an atomic absorption spectrometry method for determination of cadmium, lead, nickel and chromium in sludge fertilizer. The samples were ashed in a furnace at 450°C, and the ash was digested with hydrochloric acid—nitric acid (3+1). After the excess acid was evaporated, the residue was dissolved with diluted hydrochloric acid to prepare sample solution. Cadmium, lead, nickel and chromium were measured using an atomic absorption spectrometer at the wavelengths of 228.8, 283.3 (or 217.0), 232.0 and 359.3 (or 357.9) nm, respectively. The study involved 12 participants representing official control and research institutes. Five kinds of sludge fertilizer which was contaminated naturally by cadmium, lead, nickel and chromium were used as test samples. The samples were analyzed as blind duplicates. Mean values, the repeatability relative standard deviation (RSD_r), the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) and the HorRat values (RSD_R/predicted RSD_R) of determination of cadmium reported range from 1.50 to 3.81 mg/kg, 1.0 to 5.5%, 3.2 to 6.4% and 0.25 to 0.42, respectively. Those of determination of lead reported range from 18.6 to 86.8 mg/kg, 1.3 to 4.6%, 3.9 to 7.0% and 0.40 to 0.70, respectively. Those of determination of nickel reported range from 21.8 to 58.3 mg/kg, 1.1 to 2.2%, 3.9 to 6.4% and 0.39 to 0.66, respectively. Those of determination of chromium reported range from 26.3 to 85.0 mg/kg, 2.1 to 6.4%, 11.0 to 18.7% and 1.20 to 1.92, respectively. These results indicated that this method has acceptable precision.

Key words cadmium, lead, nickel, chromium, sludge fertilizer, digestion, atomic spectrometry, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 1, 50~59, 2008)

5-1 汚泥肥料中の水銀測定

— 分解方法の改良 —

阿部文浩^{1,(2)}, 橋本健志¹, 杉村 靖^{2,(3)}

キーワード 水銀, 汚泥肥料, 還元気化方式原子吸光光度法

1. はじめに

平成 11 年に農業の自然循環機能の発揮と持続的発展を図ることを目的とした環境 3 法^{1~3)}が成立した。うち肥料取締法及びその関連法令の改正により、従来、特殊肥料であった汚泥を原料とする肥料(汚泥肥料)が普通肥料となり、その公定規格において含有を許される有害成分の最大量が定められた。汚泥肥料の生産量は、平成 11 年の 50 万トン強から平成 15 年の 100 万トン強と 5 年間で倍増した⁴⁾。このことから、肥料の安全な施用を確保するため、汚泥肥料の重金属の検査はより重要な役割を担うようになった。

水銀の前処理方法として、還流冷却器を用いて加熱する方法(還流法)⁵⁾と長首の分解フラスコを用いて加熱する方法(簡易法)⁶⁾が肥料分析法^{6, 7)}に記載されている。しかしながら、還流法は、専用の還流装置を必要し、更に試料溶液の調製に長時間かかることから、多数の検体を一斉に分析することができない。一方、硝酸-硫酸を用いて熱して抽出する簡易法は一部の汚泥肥料中の水銀について十分な抽出効率が得られなかった。そこで、硝酸-過塩素酸を用いて高温で加熱して抽出する飼料分析基準^{8, 9)}を汚泥肥料中の水銀の測定に適用できるか検討することとした。なお、飼料分析基準は特定化学物質の五酸化バナジウムを分解促進剤として使用しているが、この物質は労働安全衛生法関連法令¹⁰⁾に定める特定化学物質に指定されている。このため、分解促進剤を使用せずに汚泥肥料中の水銀を抽出できる条件を確認し、その改良した試験法の妥当性を確認したので、その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の採取及び調製

市販のし尿汚泥肥料, 工業汚泥肥料, 汚泥発酵肥料及び水産副産物発酵肥料を試験品として収集し, ビニール袋に入れて密封し, 冷暗所で保存した。試験品を室温まで戻し, 65°C で 24 時間乾燥し, 目開き 500 µm のふるいを全通するように粉碎して分析用試料を調製し, 試験に供した。

2) 装置

分解装置はガスバーナーにより加熱する砂浴を用いた。砂浴の温度は放射温度計で測定し, 180~200°C になるようガス量及びけい砂の量を調整した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター

² (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

³ (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

水銀用原子吸光分析装置は日本インスツルメンツ製、還元気化水銀分析装置 RA-3 を使用した。

3) 試料溶液の調製

(1) 還流法

分析試料 2.00 g を還流冷却管付分解フラスコにとり、硝酸(1+1) 50 mL を加えて加熱し、穏やかに煮沸した。放冷後、過マンガン酸カリウム溶液(30 g/L) 20 mL を加え、3 時間加熱した。過マンガン酸カリウムの色が消える場合は、放冷後、更に過マンガン酸カリウム溶液(30 g/L) 10 mL を加え、再び加熱した。溶液温度を 40℃ に保ち、尿素溶液(100 g/L) 10 mL を加え、塩化ヒドロキシルアンモニウム液(200 g/L) 10 mL を滴下し、過剰の過マンガン酸カリウムを還元後、ガラス繊維ろ紙でろ過した。ろ液を全量フラスコに入れ、水を標線まで加えた。

(2) 飼料分析基準

分析試料 1.00 g を分解フラスコ(全量フラスコ 100 mL)にとり、五酸化バナジウム 50 mg 及び硝酸 10 mL を加えて、時々振り混ぜながら泡の発生が少なくなるまで少時加熱した。放冷後、過塩素酸 10 mL を加え 180~200℃ で 1 時間加熱分解した。放冷後、水を標線まで加えた。

(3) 改良法

分析試料 1.00 g を分解フラスコ(全量フラスコ 100 mL)にとり、硝酸 10 mL を加え、時々振り混ぜながら泡の発生が少なくなるまで少時加熱した。放冷後、過塩素酸 10 mL を加え、180~200℃ で 30 分~1 時間加熱して分解した。放冷後、水を標線まで加えた。(図 1)

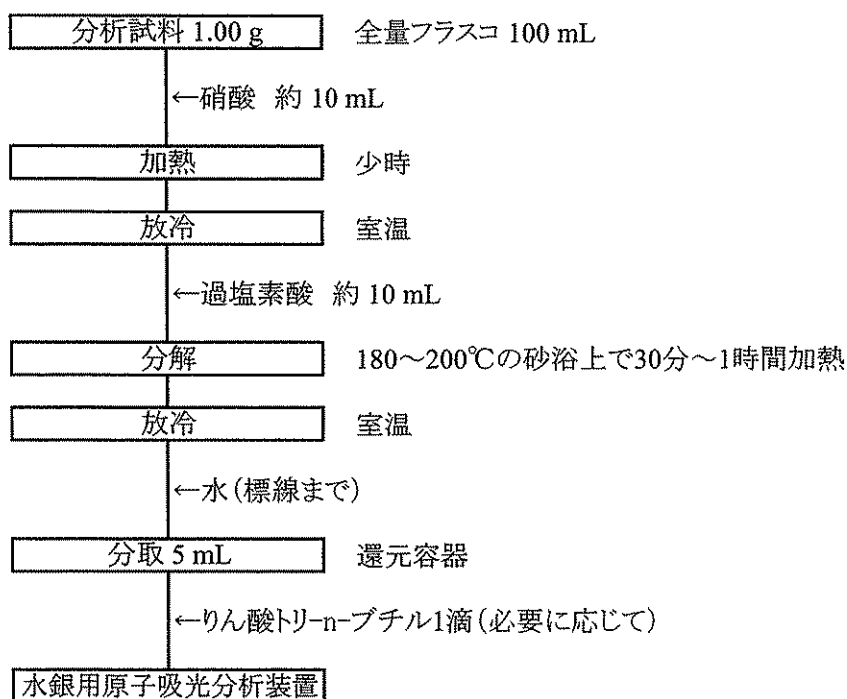


図1 汚泥肥料中の水銀分析改良法の手順

4) 水銀の測定

試料溶液 5 mL を還元容器に入れ、必要に応じてりん酸トリ-n-ブチル 1 滴を加え、水銀用原子吸光分析装置に連結し、硫酸(1+1)及び塩化すず(II)溶液を添加した後、空気を循環させ、波長 253.7 nm の吸光度を測定した。

3. 結果及び考察

1) 試料溶液の調製(分解方法)

(1) 還流法及び飼料分析基準の分解方法の比較

水銀の前処理方法として、還流法⁵⁾は操作が複雑であることから、その処理時間に 2 日間を必要とする。また、還流法は還流冷却管、分解フラスコ及びそれを加熱するヒーター等の設備を必要とすることから、多検体の前処理を同時に実施することが困難である。一方、簡易法⁵⁾は、前処理時間が短く、また、長首の分解フラスコ(全量フラスコ 100 mL)を用いることから、十数検体の前処理を同時に行うことができる。しかしながら、簡易法では水銀を十分に抽出できない汚泥肥料があったことから、同様に操作が簡便な飼料分析基準^{8, 9)}の前処理の適用を検討することとした。

還流法及び飼料分析基準による汚泥肥料(し尿汚泥肥料(6点), 工業汚泥肥料(1点), 汚泥発酵肥料(12点)及び水産副産物発酵肥料(1点))中の水銀の定量値の比較を図 2 に示した。それらの定量値の一次回帰式の回帰係数及び切片は 1.013 及び 0.037 であった。その相関係数(r)は 0.991 であり、高い相関が認められた。飼料分析基準の加熱温度は簡易法に比べ高温(180~200℃)であり、この際の液温を棒状温度計で測定したところ約 123℃であった。硝酸の沸点が約 123℃であることから、分解を促進するためには適した溶液温度と考えられた。

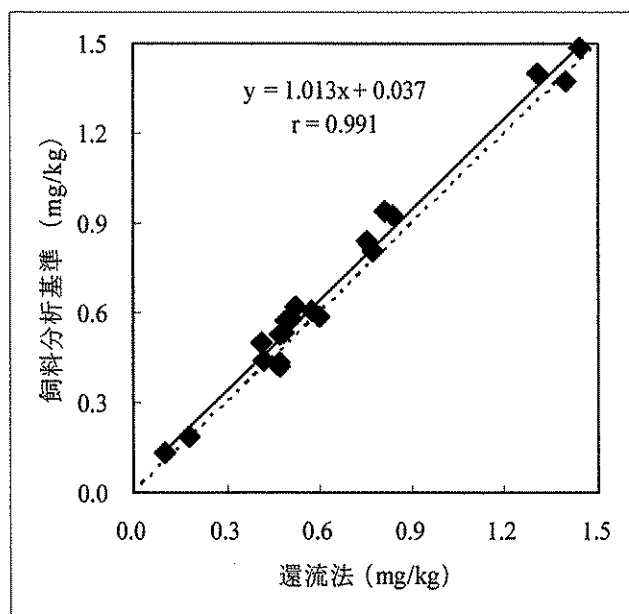


図 2 還流法及び飼料分析基準による汚泥肥料中の水銀定量値の比較

実線: 双方の定量値による回帰直線 ($n=20$)

破線: $y=x$ の直線

(2) 分解条件の改良

還流法と改良法の水銀の定量値の比較を図3に示した。還流法に対する定量値の一次回帰式の回帰係数及び切片は0.992及び0.041であり、その相関係数(r)は0.993であった。五酸化バナジウムを添加しない前処理操作による定量値が還流法と高い相関が認められたことから、加熱温度を180~200℃にすることにより、分解促進剤としての五酸化バナジウムの添加の有無が水銀の定量値に与える影響はないと考えられた。なお、五酸化バナジウムは、労働安全衛生法関連法令¹⁰⁾に定める特定化学物質に指定されており、環境関連の水銀分析法^{11, 12)}では用いられていない。

また、改良法における分解時間を1時間から30分間に短縮した場合の汚泥肥料中の水銀の定量値を図4に示した。還流法に対する定量値の一次回帰式の回帰係数及び切片は1.010及び0.042であり、その相関係数(r)は0.992であった。分解時間30分間の定量値に高い相関が認められたことから、砂浴温度が180~200℃になった後30分~1時間加熱することにより、安定した定量値が得られると考えられた。

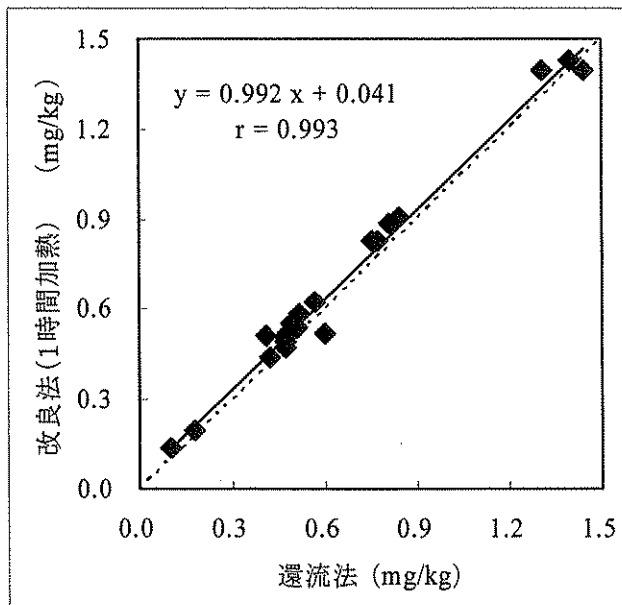


図3 改良法(1時間加熱)及び還流法による汚泥肥料中の水銀定量値の比較

実線:双方の定量値による回帰直線(n=20)
破線:y=xの直線

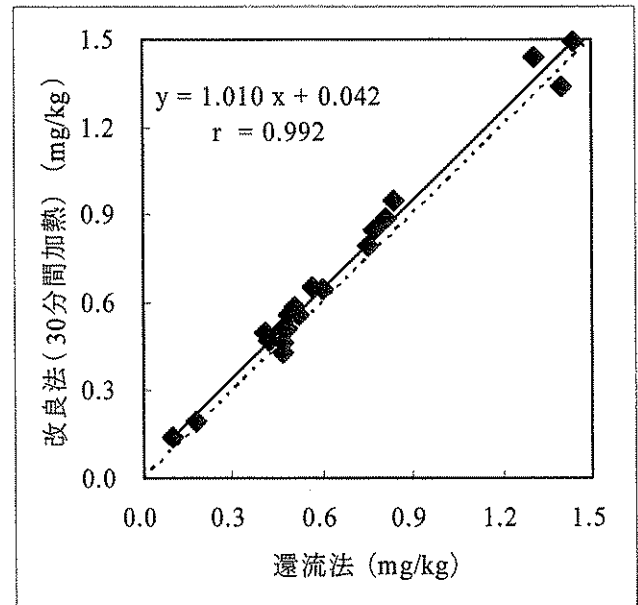


図4 改良法(30分加熱)及び還流法による汚泥肥料中の水銀定量値の比較

実線:双方の定量値による回帰直線(n=20)
破線:y=xの直線

2) 添加回収試験

工業汚泥肥料(1点)、汚泥発酵肥料(3点)及び下水汚泥肥料(1点)に水銀として2及び0.2 mg/kg相当量を添加した試料について、繰り返し3回分析して得られた回収試験結果を表1に示した。平均回収率及び相対標準偏差は、水銀2 mg/kg添加区では98.7~101.6%及び0.3~1.4%であり、水銀0.2 mg/kg添加区では100.7~105.4%及び1.4~2.5%であった。肥料の公定規格の有害成分の制限事項に定められている汚泥肥料中の水銀の上限値は0.0002%(2 mg/kg)であり、この濃度及び1/10の濃度において、水銀の気散等による損失は認められず良好な正確さ(平均回収率)及び繰り返し精度(相対標準偏差)が得られた。

表1 添加回収試験の結果

試料名	添加濃度 (mg/kg)	平均回収率 ¹⁾ (%)	相対標準偏差 (%)
工業汚泥肥料	2	99.5	1.3
	0.2	102.4	1.9
汚泥発酵肥料A	2	98.7	0.8
	0.2	100.8	1.6
汚泥発酵肥料B	2	101.6	1.4
	0.2	105.4	2.5
汚泥発酵肥料C	2	100.1	0.3
	0.2	105.3	1.4
下水汚泥肥料	2	100.5	0.9
	0.2	100.7	2.4

1) 3点併行分析成績の平均回収率

3) 定量下限の確認

し尿汚泥肥料及び汚泥発酵肥料について、繰り返し 7 回分析して得られた定量下限の確認試験結果を表 2 に示した。平均定量値は 0.094 mg/kg 及び 0.041mg/kg であり、その標準偏差はいずれも 0.001 mg/kg であった。定量下限は標準偏差×10、また、検出下限は標準偏差×2×t(n-1,0.05)として示されるので、本法の定量下限及び検出下限は 0.01 mg/kg 程度及び 0.005 mg/kg 程度と推定された。

表2 定量下限確認試験の結果

肥料の種類	平均定量値 ¹⁾ (mg/kg)	標準偏差 (mg/kg)	定量下限の推定 ²⁾ (mg/kg)	検出下限の推定 ³⁾ (mg/kg)
し尿汚泥肥料	0.094	0.001	0.01	0.005
汚泥発酵肥料	0.041	0.001	0.01	0.005

1) 7点併行分析成績の平均値

2) 標準偏差×10

3) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

表3 水銀標準液の安定性試験

標準液の水銀濃度	保管期間	定量値(μg/mL)
10 μg/mL	1 ヶ月	9.94
	2 ヶ月	9.88
	3 ヶ月	9.91
	4 ヶ月	9.98
	5 ヶ月	9.64
	6 ヶ月	8.02
0.1 μg/mL	10 日	0.101
	20 日	0.100
	30 日	0.100

4) 標準液の安定性

冷蔵庫(4℃)に保管された水銀標準液(10及び0.1 μg/mL)の経時変化を表 3 に示した。水銀標準液(10

μg/mL)の1~4ヶ月後の定量値は9.88~9.98 μg/mLであった。しかしながら、5ヶ月後の定量値は9.64 μg/mLと若干低値を示し、6ヶ月後の定量値は8.02 μg/mLと8割程度になった。また、水銀標準液(0.1 μg/mL)の10~30日後の定量値は0.100~0.101 μg/mLであった。

このことから、L-システイン(10 mg/L)一硝酸(0.2%)溶液で希釈し、冷蔵庫(4℃)に保管した場合、水銀標準液(10 μg/mL)については4ヶ月間、水銀標準液(0.1 μg/mL)については30日間安定であることが認められた。

4. まとめ

汚泥肥料中の水銀の分析の改良法について検討を行った。

- (1) 改良法による定量値は、還流法による定量値との間に高い相関関係が認められた。
- (2) 5種類の汚泥肥料に2及び0.2 mg/kg相当量の水銀を添加した試料を用いて添加回収試験を実施したところ、平均回収率及びその標準偏差は98.7~105.4%及び0.3~2.5%と良好な成績であった。
- (3) 2種類の汚泥肥料をそれぞれ7回分析して得られた定量値の標準偏差より算出したところ、改良法の定量下限は0.01 mg/kgと推定された。
- (4) 特定化学物質の五酸化バナジウムを使用せずに迅速に前処理することが可能となった。

文 献

- 1) 持続性の高い農業生産方式の導入の促進に関する法律:平成11年7月28日,法律第110号(1999)
- 2) 家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律:平成11年7月28日,法律第112号(1999)
- 3) 肥料取締法:改正平成11年7月28日,法律第111号(1999)
- 4) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課:2005年ポケット肥料要覧, p. 8~9, 農林統計協会, 東京(2005)
- 5) 豊田友子, 伊沢清美, 富岡 昇:無炎原子吸光測光法による肥料中の全水銀の定量について, 肥検回報, 27(2), 19~30(1974)
- 6) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992年版), p.102~105, 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 7) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, p.226~234, 養賢堂, 東京(2005)
- 8) 農林水産省畜産局長通知:飼料分析基準の制定について, 平成7年11月15日, 7畜B第1660号(1995)
- 9) 飼料分析基準研究会:飼料分析法・解説—2004—, p.4-45~4-47, 日本科学飼料協会, 東京(2004)
- 10) 労働安全衛生法:法律第66条, 施行令第22条, 別表第3特定化学物質二, 第2類物質
- 11) 環境省環境管理局水環境部水環境管理課:底質調査方法, p.197~201(2001)
<<http://w-chemdb.nies.go.jp/bunseki-asp/pdfs/water/teisitutyousa/0103>>
- 12) 労働安全衛生法施行令別表3環境省:水銀分析マニュアル(平成16年3月), p.10~27(2004)
<<http://www.env.go.jp/chemi/report/h15-04/index.html>>

Development and Validation of a Rapid Digestion Procedure and Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Mercury in Sludge Fertilizer

Fumihiko ABE^{1,(2)}, Takeshi HASHIMOTO¹ and Yasushi SUGIMURA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

A study was conducted to evaluate the applicability of atomic absorption spectrometry for determination of mercury in sludge fertilizer. A rapid open digestion method with nitric acid and perchloric acid was used to solubilize mercury in a sample. The samples were then subjected to a atomic absorption spectrometer connected with a reduced atomic vapor producing device. A good linear correlation was observed over the range of 0.1~1.5 mg/kg between the data obtained by rapid open digestion and those obtained by reflux digestion according to the Official Method of Analysis of Fertilizers published in December 1992. The accuracy and the precision were assessed from 3 replicate determinations of 5 samples spiked with mercury at 2 different concentrations (2 and 0.2 mg/kg). The recoveries from samples of concentration at 0.2 and 2 mg/kg mercury ranged from 100.7 to 105.4% and from 98.7 to 101.6%, respectively. The relative standard deviations (RSD) were from 1.4 to 2.5% and from 0.3 to 1.4%, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of 2 naturally contaminated samples, the LOQ values were 0.01 mg/kg. The rapid method was evaluated for accuracy, precision, and sensitivity and proved to be a simple and time saving method particularly in simultaneously preparing a large number of samples.

Key words mercury, sludge fertilizer, rapid digestion, producing the atomic vapor by reduction, atomic spectrometry

(Research Report of Fertilizer, 1, 60~66, 2008)

5-2 汚泥肥料中の水銀測定

— 共同試験成績 —

阿部文浩^{1,2)}, 橋本健志¹, 引地典雄^{2,3)}

キーワード 水銀, 汚泥肥料, 還元気化方式原子吸光光度法, 共同試験

1. はじめに

近年、環境問題への関心が高まり、排水がもたらす環境負荷の低減のための方法として、活性汚泥による廃水の浄化がある。また、それに伴って排出される汚泥については、脱水・乾燥、更には発酵させて各種の汚泥肥料として農耕地土壌へ還元されている。汚泥肥料の施肥は、農産物の生産増進や地力維持を目的に行われているが、長期間連用すると重金属等の蓄積が懸念されるようになった^{1, 2)}。このことにたいして、肥料取締法³⁾においては、平成 11 年 7 月より、汚泥肥料等有害物質を含むおそれのある一部の肥料が特殊肥料から普通肥料へ移行することとなり、品質保全の強化措置がとられることとなった。これに伴い、普通肥料の公定規格⁴⁾において、汚泥肥料(乾物)中に含有が許される水銀の最大量は 0.0002%と規定された。

汚泥肥料中の水銀測定の迅速化及び簡便化のため、長首の分解フラスコを用いて加熱する方法(改良法)による水銀全量試験法について、還流法⁵⁾との比較、繰返し性、定量下限の確認等の ISO/IEC 17025⁶⁾で要求されている試験室内の妥当性確認の試験を実施し、満足する結果が得られた⁷⁾。更に同基準の要求事項である試験所間の比較試験について、IUPAC の共同試験プロトコル⁸⁾を参考に汚泥肥料中の水銀全量試験法の共同試験を実施し、試験室間再現精度を調査したので、その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の採取、調製等

市販のし尿汚泥肥料(2 点)及び汚泥発酵肥料(3 点)を収集し、ビニール袋に入れて密封し、分析時まで冷暗所で保存した。分析の際、密封状態で採取した肥料を室温まで戻し、65°Cで 24 時間乾燥し、目開き 500 µm のふるいを全通するように粉碎し、よく混合した。混合された試料約 2 g をビニール袋に入れ、ヒートシールして分析用試料とした。一対のブラインド試料を提供するため、それぞれの汚泥肥料の分析用試料の容器に 2 シリーズの番号のラベルを付けた。分析用試料(10 点)を参加試験室に送付した。

2) 装置

分解装置はガスバーナーにより加熱する砂浴又はホットプレートを用いた。砂浴の温度は放射温度計で測定し、規定の温度範囲になるようガス量及びけい砂の量を調整した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター

² (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

³ (現) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課

各試験室に設置されている水銀用原子吸光分析装置を使用した。

3) 試料溶液の調製

分析試料 1.00 g を分解フラスコ(全量フラスコ) 100 mL にとり、硝酸 10 mL 加え、時々振り混ぜながら泡の発生が少なくなるまで少時加熱した。放冷後、過塩素酸 10 mL を加え、180~200°C で 30 分~1 時間加熱して分解した。放冷後、水を標線まで加えて試料溶液を調製した。なお、試料溶液の調製にあたり、空の全量フラスコ 100 mL を用いて同様の操作を実施し、空試験溶液を調製した。(図 1)

4) 水銀の測定

水銀の測定にあたっては、各試験室の水銀用原子吸光分析装置の操作方法に従った。

なお、日本インスツルメンツ製の還元気化水銀分析装置 RA-3 を用いた場合の測定の一例を次に示した。試料溶液 5 mL を還元容器に入れ、必要に応じてりん酸トリ-n-ブチル 1 滴を加え、水銀用原子吸光分析装置に連結し、硫酸(1+1)及び塩化すず(II)溶液を導入し、空気を循環させ、波長 253.7 nm の吸光度を測定した。

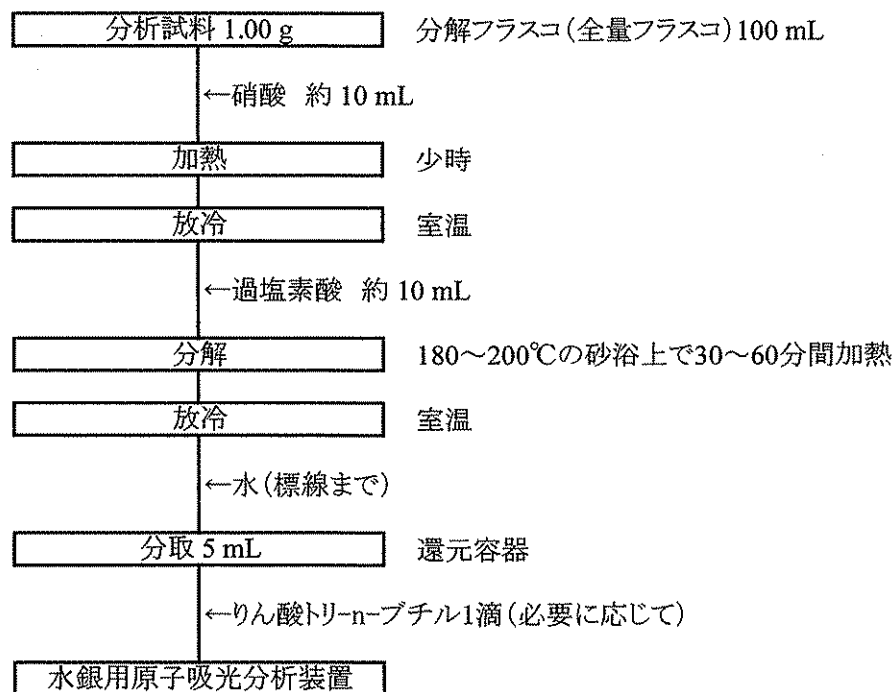


図1 汚泥肥料中の水銀全量試験法の手順

5) 均質性の確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁹⁾の均質性試験に従い、各系列の分析用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3)~4)に従って分析した。

6) 共同試験

次の 11 試験室において、郵送した 10 試料を 3)~4)に従って共同試験を実施した。

- ・ 千葉県農業総合研究センター

- ・ 社団法人新潟県環境衛生中央研究所
- ・ 財団法人日本食品分析センター
- ・ 財団法人日本肥糧検定協会 本部及び関西支部
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部肥飼料安全検査部, 札幌センター, 仙台センター, 名古屋センター, 神戸センター大阪事務所及び福岡センター
(50音順)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰り返し2回×10試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表1に示した。いずれの試料においても、F値がF(9,10;0.05)を下回ったことから、有意水準5%において試料間に有意な差は認められなかった⁹⁾。また、試料間の相対標準偏差は3.0~7.8%であり、全ての分析用試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した。

表1 水銀の均質性確認試験の結果

肥料の種類	平均定量値 ¹⁾ (mg/kg)	相対標準偏差 ²⁾ (%)	F値 ³⁾	F値限界 ⁴⁾
し尿汚泥肥料A	0.687	7.8	1.93	3.02
し尿汚泥肥料B	1.19	5.3	0.80	3.02
汚泥発酵肥料C	0.453	4.7	1.29	3.02
汚泥発酵肥料D	0.810	5.0	0.84	3.02
汚泥発酵肥料E	0.196	3.0	1.77	3.02

- 1) 10試料2点併行分析の総平均定量値
- 2) 試料間の相対標準偏差
- 3) 一元分散分析値により算出された分散比
- 4) F(9,10;0.05)

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を表2に示した。各系列の分析試料の試験結果をIUPACの共同試験プロトコル^{8, 10)}に従って統計処理した。試験成績の外れ値を検出するためにCochranの検定及びGrubbsの検定を実施したところ、11試験室の試験成績のうち汚泥発酵肥料Cで2試験室の試験成績が外れ値と判別された。

3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値、室内繰り返しの相対標準偏差(RSD_r)及びHorRat値(Ho_r)並びに室間再現の相対標準偏差(RSD_R)及びHorRat値(Ho_R)を表3に示した。HorRat値は分析方法の精度の評価をするために用いられており、Ho_rはRSD_r/RSD_r(P)及びHo_RはRSD_R/RSD_R(P)により求められる。なお、RSD_R(P)は平均定量値からHorwitz式¹¹⁾により求め、RSD_r(P)はHorwitz式に係数(5/8)を乗じて求めた^{12, 13)}。外れ値を除外した試験成績の平均値は0.182~1.10 mg/kgであり、そのRSD_r及びRSD_Rは5.3~10.6%及び10.2~13.1%であった。また、RSD_r及びRSD_Rの評価に用いるHo_r及びHo_Rは0.50~0.82及び0.51~0.80であり、いずれも2以下であった¹⁴⁾。

表2 汚泥肥料中の水銀の共同試験成績

(mg/kg)

試験室 ¹⁾	し尿汚泥肥料A		し尿汚泥肥料B		汚泥発酵肥料A	
A	0.493	0.612	1.00	1.11	0.448	0.514
B	0.710	0.672	1.10	1.13	0.487	0.512
C	0.578	0.569	1.07	1.12	0.484	0.572
D	0.584	0.571	0.976	0.902	0.414	0.382
E	0.625	0.602	1.06	1.10	0.462	0.447
F	0.680	0.700	1.18	1.36	0.508	0.576
G	0.670	0.694	1.00	1.05	0.493	0.538
H	0.801	0.778	1.26	1.26	0.519	0.546
I	0.705	0.734	1.11	1.25	0.532	0.489
J	0.686	0.606	0.972	1.11	0.468	0.440
K	0.642	0.612	1.09	1.00	0.464	0.453
試験室	汚泥発酵肥料B		汚泥発酵肥料C			
A	0.775	0.690	0.194 ³⁾	0.286 ³⁾		
B	0.885	0.820	0.176 ²⁾	0.567 ²⁾		
C	0.686	0.703	0.176	0.174		
D	0.902	0.742	0.171	0.184		
E	0.750	0.848	0.220	0.167		
F	0.872	0.874	0.164	0.192		
G	0.817	0.722	0.159	0.179		
H	0.854	0.914	0.188	0.209		
I	0.980	1.13	0.201	0.179		
J	0.863	0.742	0.177	0.167		
K	0.733	0.773	0.203	0.165		

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) Cochranテストによる外れ値

3) Grubbsテストによる外れ値

表3 共同試験成績の解析結果

試料の種類	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (mg/kg)	RSD _r ³⁾ (%)	RSD _R ⁴⁾ (%)	Ho _r ⁵⁾	Ho _R ⁶⁾
し尿汚泥肥料A	11	0.651	5.3	11.6	0.50	0.68
し尿汚泥肥料B	11	1.10	6.3	10.2	0.63	0.65
汚泥発酵肥料A	11	0.489	6.8	10.2	0.61	0.57
汚泥発酵肥料B	11	0.822	8.1	13.1	0.79	0.80
汚泥発酵肥料C	9	0.182	10.6	10.6	0.82	0.51

1) 解析に用いた試験室数

2) 総平均値(n =試験室数×繰り返し数(2))

3) 室内繰返し精度(相対標準偏差)

4) 室間再現精度(相対標準偏差)

5) 室内繰返しHorRat値

6) 室間再現HorRat値

4. まとめ

11 試験室において 5 銘柄(10 点)の汚泥肥料を用いて水銀全量試験法の共同試験を実施し, 本分析法の評価を行った. その結果, 室間再現精度(相対標準偏差)は 10.2~13.1%であった. また, その評価に用いる HorRat 値は 0.51~0.80 であり, 2 を下回っていた. このことから, 試験所間の比較による本試験法の室間再現精度は満足する成績であった.

既報により測定範囲, 公定法との整合性等が検討されており, 本試験法は汚泥肥料中の水銀測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された. このことから, 2007 年度肥料等技術検討会の審議を受け, 本試験法は肥料等試験法(2008)に記載された¹⁵⁾.

謝 辞

共同試験にご協力頂いた千葉県農業総合研究センター, 社団法人新潟県環境衛生中央研究所, 財団法人日本食品分析センター並びに財団法人日本肥糧検定協会本部及び関西支部の各位に謝意を表します.

文 献

- 1) 三島慎一郎, 川崎 晃, 駒田充生: 下水汚泥コンポストの重金属含有率の傾向と利用における問題点の評価, 日本土壌肥料学雑誌, **77**, 83~86, (2006)
- 2) 後藤茂子, 茅野充男, 山岸順子, 熊澤喜久雄: 下水汚泥コンポストの長期連用に伴う重金属の土壌への蓄積, 日本土壌肥料学雑誌, **68**, 156~161, (1997)
- 3) 肥料取締法: 改正平成 11 年 7 月 28 日, 法律第 111 号 (1999)
- 4) 農林水産省告示: 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件: 改正平成 12 年 8 月 31 日, 農林水産省告示第 1161 号 (2000)
- 5) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法(1992 年版), p.102~104, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 6) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (2005)
- 7) 阿部文浩, 橋本健志, 杉村靖: 汚泥肥料中の水銀測定 — 分解方法の改良 —, 肥料研究報告, **1**, 60~66, (2008)
- 8) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 9) Thompson, M., R.Ellison, S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 10) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 11) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 12) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC

INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)

- 13) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 14) Codex Alimentarius: "Recommendation for a checklist of information required to evaluate method of analysis and submitted to the Codex Committee on Method of Analysis and Sampling for endorsement", Vol.13, p.129 (1994)
- 15) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Determination of Mercury in Sludge Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry: A Collaborative Study

Fumihiro ABE^{1,(2)}, Takeshi HASHIMOTO¹ and Norio HIKICHI^{2,(3)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Food Safety and Consumer Affairs Bureau, Plant Product Safety Division

A collaborative trial was conducted to evaluate an atomic absorption spectrometry method for determination of mercury in fertilizer. A rapid open digestion with nitric acid and perchloric acid were used to solubilize mercury in a sample. The samples were then subjected to an atomic absorption spectrometer connected with reduced atomic vapor producing device. The study involved 11 participants representing official control and research institutes. 5 kinds of sludge fertilizer contaminated naturally by mercury were used as samples. The samples were analyzed as blind duplicates. Mean values reported ranged from 0.182 to 1.10 mg/kg for each kind of sludge fertilizer. The relative standard deviation (RSD_r) for repeatability ranged from 5.3 to 10.6%. The relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility ranged from 10.2 to 13.1%. The HorRat values (RSD_R/predicted RSD_R) ranged from 0.51 to 0.80. These HorRat values indicated that this method had an acceptable precision for determination of mercury.

Key words mercury, sludge fertilizer, rapid digestion, producing the atomic vapor by reduction, atomic spectrometry, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **1**, 67~73, 2008)

6-1 汚泥肥料中のひ素測定

— 分解方法の改良 —

浅尾直紀^{1,(2)}, 石田有希恵^{1,(2)}, 井塚進次郎¹, 齊木雅一^{1,(3)}

キーワード ひ素, 汚泥肥料, 原子吸光光度法, 水素化物発生装置

1. はじめに

平成 11 年に肥料取締法が改正¹⁾され, 特殊肥料であった汚泥肥料が普通肥料となり, 国の登録を受けることとなった。また, 同時に制定された環境 2 法^{2, 3)}により, 家畜排泄物の適正管理及び有効利用が促進されることとなった。さらに近年, 食品リサイクル法⁴⁾及びリサイクル法⁵⁾により, 下水, し尿及び食品工場の廃水などの汚泥のリサイクルの気運が進み, 汚泥肥料が普通肥料として登録される件数が増大している。そのため, 当所においては汚泥肥料の検査点数が増加することとなった。肥料公定法⁶⁾においてひ素を定量する際には, 試料の分解に要する時間が 6 時間と規定されているため, 設備に限りがあり, 多検体を同時に分解することは困難であった。そのため, 分解時間の短縮を目的とし, 以下の検討を実施した。

ひ素の公定法が記載されている飼料分析基準⁷⁾及び底質調査方法⁸⁾の分解方法に従って汚泥肥料を分析したところ肥料分析法の定量値と高い相関があることを確認した。また, 底質調査方法では肥料公定法の分解方法と同程度の時間を必要としたが, 飼料分析基準に従って汚泥肥料の分解時間を検討した結果, 肥料公定法より約 3 時間短縮することができた。そこで, 飼料分析基準の方法による汚泥肥料中のひ素試験法の妥当性確認を実施したので, その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の採取及び調製

汚泥発酵肥料 13 点, し尿汚泥肥料 6 点, 工業汚泥肥料 2 点, 下水汚泥肥料 1 点, 焼成汚泥肥料 1 点及び分解に時間がかかる甲殻類質肥料 2 点 (計 25 点) を次のとおり収集して分析に供した。

汚泥肥料等 2~3 kg を採取し, ビニール袋に入れて密封し, 分析時まで冷暗所で保存した。分析の際, 採取した肥料を室温まで戻し, 必要に応じて 60 °C で 40~70 時間予備乾燥し, 目開き 500 µm のふるいを全通するまで粉碎して分析用試料を調製した。

2) 装置

- (1) 原子吸光分析装置: Thermo Electron 製 SOLAAR S Series
- (2) 水素化物発生装置: Thermo Electron 製 HYD10U
- (3) 水素化物原子化装置: Thermo Electron 製 HYD20U
- (4) 砂浴

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

² (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

³ (現) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

3) 試料溶液の調製

(1) 肥料公定法による試料溶液の調製(以下、「肥料分析法」という)

分析試料 2 g を正確に量ってトルビーカー 100~300 mL に入れ, 少量の水, 硫酸 2 mL, 硝酸 5 mL 及び過塩素酸 20 mL を加え, 時計皿で覆い砂浴上で加熱した. 更に, 時計皿をはずして液量が 2 mL 以下になるまで加熱し, 放冷後, 硝酸 5 mL 及び過塩素酸 5 mL を加え, 加熱を続けて 6 時間分解し, その後液量が 2 mL 以下になるまで濃縮した. 放冷後塩酸 (1+5) 25 mL を加え, 加温して溶かし, 冷却後水を用いて全量フラスコ 100 mL に移し, 標線まで水を加えた後, ろ紙 3 種を用いてろ過し, 試料溶液とした.

(2) 飼料分析基準による試料溶液の調製(以下、「飼料分析基準」という)

分析試料 2 g を正確に量ってトルビーカー 100~300 mL に入れ, 硫酸 5 mL, 硝酸 10 mL を加え, 時計皿で覆い一夜放置し, 砂浴上で穏やかに約 30 分間加熱後, 強熱し褐色の硝酸由来のガスが発生しなくなってから砂浴から下ろし, 放冷後, 過塩素酸 5 mL を加え, 再び時計皿で覆い 300°C 以上で加熱し, 更に, 時計皿をはずして液量が 2 mL 以下になるまで加熱して濃縮した. 放冷後塩酸 (1+10) 5 mL, 水 20 mL を加え, 加温して溶かし, 冷却後水を用いて全量フラスコ 100 mL に移し, 標線まで水を加えた後, ろ紙 3 種を用いてろ過し, 試料溶液とした.

(3) 底質調査方法による試料溶液の調製(以下、「底質調査法」という)

分析試料 2 g を正確に量ってトルビーカー 100~300 mL に入れ, 硫酸 (1+1) 15 mL, 硝酸 15 mL を加え, 時計皿で覆い砂浴上で穏やかに加熱し, 液量が 15 mL になったら強熱し液量を 5 mL 以下にした. 放冷後硝酸 10 mL を加え褐色の硝酸由来のガスが発生しなくなってから砂浴から下ろし, 放冷後, 硝酸 5 mL, 過塩素酸 3 mL を加え, 再び時計皿で覆い強熱し, 更に, 時計皿をはずして液量が 5 mL 以下になるまで加熱して濃縮した. 放冷後水 50 mL を加え, 加温して溶かし, 冷却後水を用いて全量フラスコ 100 mL に移し, 標線まで水を加えた後, ろ紙 3 種を用いてろ過し, 試料溶液とした.

4) ひ素の測定

水素化ほう素ナトリウム試液, 40 (w/v) % よう化カリウム溶液, 塩酸 (1+1) 及び試料溶液を原子吸光光度計に連結した水素化物発生装置に一定量入れ, 混合, 反応させた. 発生した水素化ひ素を赤熱した石英セルにアルゴンで導き, 波長 193.7 nm の吸光度を測定した.

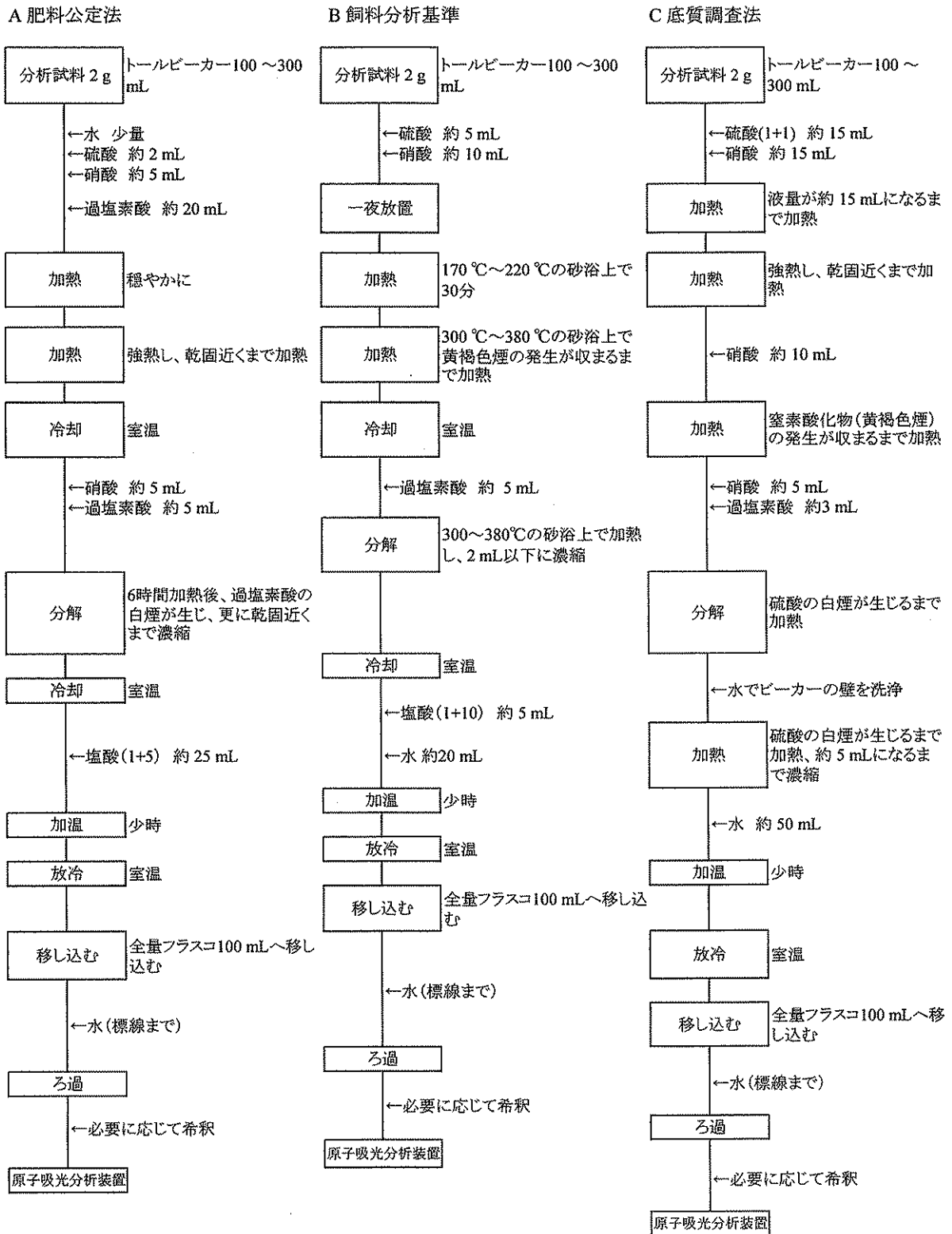


図 1 肥料公定法, 飼料分析基準及び底質調査法による分析方法

3. 結果および考察

1) 試料溶液の調製(分解方法)

(1) 分解方法の選定

全ひ素の定量には試料中の有機ひ素等を As^{5+} に酸化する必要がある。その際に分解液中に有機物や硝酸が残留すると定量の際、ひ素の水素化を阻害することが一般に知られている⁹⁾。そのため十分な温度、時間で酸分解し、有機物及び硝酸を除去する必要がある。硫酸-硝酸による分解では硫酸白煙状態(沸点(338℃)近傍での加熱状態)に加熱すると、炭化物などの分解に効果が高く、硫酸は沸点が高いので硫酸より沸点の低い硝酸(121℃)、過塩素酸(203℃)などを加熱蒸発により除去できる。過塩素酸は高温で強い酸化力を示し、Asイオンの高い価数への酸化に有効だが、単独での有機物との加熱は爆発の危険がある^{10, 11)}。これらのことから硫酸-硝酸-過塩素酸を用いた湿式分解がひ素の分析に適すと考えられる。2.3)に示した飼料分析基準及び底質調査法を選定し、それぞれの分解方法と肥料分析法について得られた定量値を比較することとした。

(2) 肥料公定法, 飼料分析基準, 底質調査法の分解方法の比較

飼料分析基準による分析試料中のひ素の定量値の範囲は 0.7~28.6 mg/kg であり、肥料公定法に対する割合及びその差は 80~117%(平均値 97%)であった。両者の定量値の間に高い相関($r = 0.999$, $Y = 0.989X - 0.120$)が認められた(図 2)。底質調査法による分析試料中のひ素の定量値の範囲は 0.8~29.8 mg/kg であり、肥料公定法に対する割合及びその差は 91~155%(平均値 108%)であった。両者の定量値の間に高い相関($r = 0.999$, $Y = 1.014X + 0.085$)が認められた(図 3)。

これら 3 方法間に分解操作上の違いによる定量値の差は認められなかった。

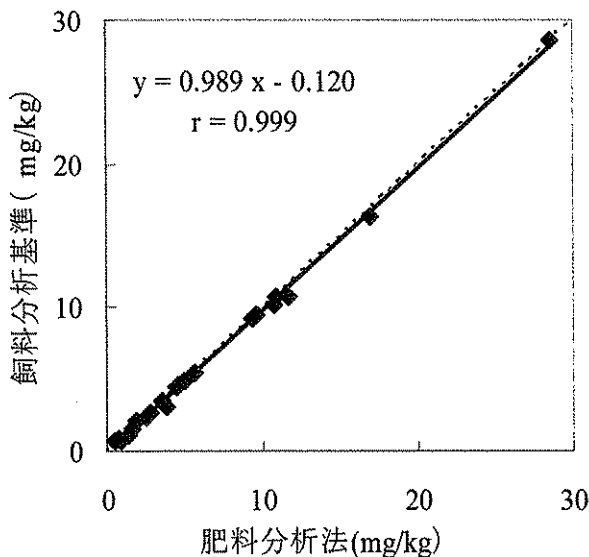


図2 肥料分析法と飼料分析基準の相関図

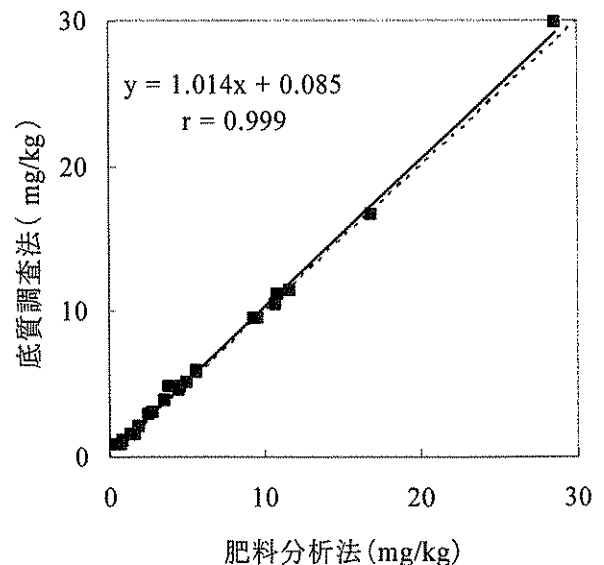


図3 肥料分析法と底質調査法の相関図

(3) 飼料分析基準における分解時間の検討

肥料公定法における 6 時間分解する過程を飼料分析基準での分解により、どの程度短縮できるか検討し

た。底質調査法では上記検討により、液量が多いため濃縮に時間を要し、肥料公定法と同程度の時間が必要であったため、除外することとした。4種類の試料を用いて、分解時間を1～6時間に設定し、定量した。その結果、表1及び図4に示すとおり、いずれの試料においても2～3時間で肥料公定法の定量値に対し96%以上の回収率が得られた。このことから完全に分解するまで2～3時間で十分と考えられ、飼料分析基準に従った方法により分解時間が約3時間短縮できることを確認した。

表1 飼料分析基準による分解時間別分析結果

肥料の種類	肥料分析法	飼料分析基準の分解時間 (時間)						(mg/kg)
		1	2	3	4	5	6	
汚泥発酵肥料	4.88	4.95	5.12	5.04	5.25	5.11	5.11	
工業汚泥肥料	1.75	1.56	1.68	1.72	1.77	1.71	1.72	
し尿汚泥肥料	17.8	17.2	17.6	17.8	17.9	17.7	18.2	
甲殻類質肥料	30.4	28.2	30.3	30.9	31.9	31.8	32.5	

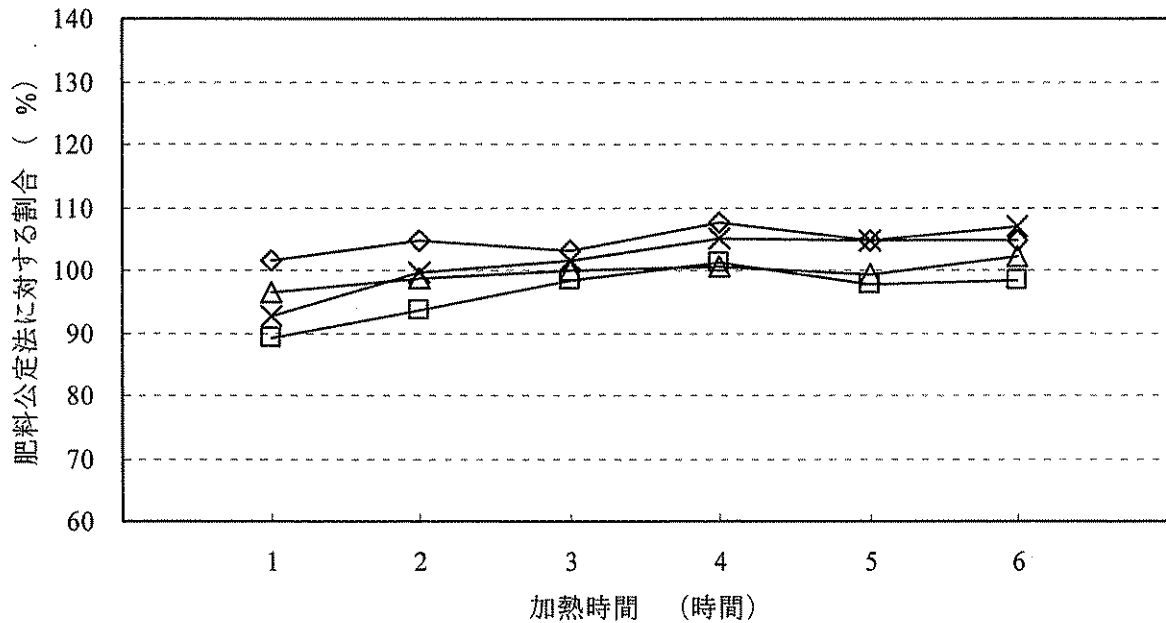


図4 飼料分析基準における加熱時間のひ素定量値への影響

—◇— 汚泥発酵肥料 —□— 工業汚泥肥料 —△— し尿汚泥肥料 —×— 甲殻類質肥料

2) 添加回収試験

飼料分析基準による回収率及び室内繰返し精度を確認するため、添加回収試験を実施した結果を表2に示した。供試試料として0.1 mg/kg相当量を含む5点の試料について、ひ素として5 mg/kg及び50 mg/kg相当量添加し、試験した結果、回収率は94.6%～103.3%、その繰返し精度は相対標準偏差(RSD)として0.3～5.1%であった。

表2 添加回収試験結果

試料名	添加濃度 (mg/g)	平均回収率 ^{a)} (%)	相対標準偏差 (%)
汚泥発酵肥料A	5	102.7	0.4
	50	99.4	2.0
汚泥発酵肥料B	5	99.9	1.8
	50	98.6	5.1
汚泥発酵肥料C	5	102.5	0.6
	50	99.0	1.5
工業汚泥肥料	5	103.3	0.8
	50	94.6	2.7
し尿汚泥肥料	5	103.3	4.0
	50	100.6	0.3

a) 3点併行分析成績の平均回収率

3) 定量下限の確認

飼料分析基準の定量下限を確認するため、汚泥発酵肥料および工業汚泥肥料について、繰返し7回分析して得られた結果を表3に示した。平均定量値は0.127 mg/kg 及び0.121mg/kgであり、その標準偏差は0.012 mg/kg 及び0.005mg/kgであった。定量下限は標準偏差×10、また、検出下限は標準偏差×2×t(n-1,0.05)として示されるので、本法の定量下限及び検出下限は0.1 mg/kg程度及び0.05 mg/kg程度と推定された。

表3 定量下限確認試験の結果

肥料の種類	平均定量値 ^{a)} (mg/kg)	標準偏差 (mg/kg)	定量下限の推定 ^{b)} (mg/kg)	検出下限の推定 ^{c)} (mg/kg)
汚泥発酵肥料	0.127	0.012	0.12	0.048
工業汚泥肥料	0.121	0.005	0.05	0.018

a) 7点併行分析成績の平均値

b) 標準偏差×10

c) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4) 標準液の安定性

冷蔵庫(4℃)に保管されたひ素標準液(1及び0.1 µg/mL)の経時変化を表4に示した。ひ素標準液(1 µg/mL)の1~6ヶ月後の定量値は0.98~1.04 µg/mLであった。また、ひ素標準液(0.1 µg/mL)の10~30日後の定量値は0.101~0.103 µg/mLであった。

このことから、塩酸(1+100)で希釈し、冷蔵庫(4℃)に保管した場合、ひ素標準液(1 µg/mL)については6ヶ月間、ひ素標準液(0.1 µg/mL)については30日間安定であることが認められた。

表4 ひ素標準液の安定性試験

標準液のひ素濃度	保管期間	定量値(μg/mL)
1 μg/mL	1 ヶ月	1.04
	2 ヶ月	0.99
	3 ヶ月	0.99
	4 ヶ月	0.98
	5 ヶ月	1.03
	6 ヶ月	1.00
0.1 μg/mL	10 日	0.102
	20 日	0.101
	30 日	0.103

4. まとめ

肥料分析法, 飼料分析基準及び底質調査法の3法により25点の汚泥肥料等を分析した結果, 肥料分析法の定量値に対して, 他の2法の定量値はそれぞれ高い相関が認められた. また, 飼料分析基準では肥料分析法と比較して, 分解時間を約3時間短縮できることが確認された.

飼料分析基準の妥当性を確認するため, 汚泥肥料3種類にひ素として5 mg/kg 及び50 mg/kg 相当量添加し, 添加回収試験を実施した結果, 回収率は94.6%~103.3%, その繰返し精度は相対標準偏差(RSD)として0.3~5.1%の成績が得られた. また定量下限は0.1 mg/kgと推定された. 以上のことから飼料分析基準は汚泥肥料中のひ素分析において, 試験室内の妥当性が確認され, 肥料分析法と同等の成績を得られることが確認された.

文 献

- 1) 肥料取締法:改正平成11年7月28日, 法律第111号(1999)
- 2) 持続性の高い農業生産方式の導入の促進に関する法律:平成11年7月28日, 法律第110号(1999)
- 3) 家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律:平成11年7月28日, 法律第112号(1999)
- 4) 食品循環資源の再生利用等の促進に関する法律:平成12年6月7日, 法律第116号(2000)
- 5) 資源の有効な利用の促進に関する法律:平成3年4月26日, 法律第48号(1991)
- 6) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992年版), p.132~136, 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 7) 農林水産省畜産局長通知:飼料分析基準の制定について, 平成7年11月15日, 7畜B第1660号(1995)
- 8) 環境省環境管理局水環境部水環境管理課:底質調査方法, p.140~144(2001)
<<http://db-out.nies.go.jp/emdb/pdfs/water/teisitutyousa/0103teisitutyousahouhou.pdf>>
- 9) 日本環境測定分析協会編:新明解 環境分析技術手法, p.111~113, しらかば出版, 埼玉(2001)
- 10) 稲本 勇:鉄鋼の分析, ぶんせき, 2005(7), 357~363(2005)
- 11) 妹尾健吾:試料分解・調製法 金属, ぶんせき, 2006(5), 213~214(2006)

Validation of Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Arsenic in Sludge Fertilizer

Naoki ASAO^{1, (2)}, Yukie ISHIDA^{1, (2)}, Shinjiro IDUKA¹ and Masakadzu SAIKI^{1, (3)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

We validated a method using an atomic absorption spectrometer for determination of arsenic in sludge fertilizer. An open digestion with nitric acid-sulfuric acid at 170~220°C and perchloric acid at 300°C were used to solubilize arsenic in a sample, followed by procedures using an atomic absorption spectrometer connected with reduced arsenic hydride vapor producing device. A good linear correlation was observed between the data obtained by this method and the data by an open digestion according to the Official Method of Analysis of Fertilizers published in December 1992 over the range of 0.7~28.6 mg/kg. The accuracy and the precision were assessed from 3 replicate determinations of 5 samples spiked with arsenic at 2 different concentrations (5 and 50 mg/kg). The recoveries from samples of concentration at 5 and 50 mg/kg arsenic ranged from 99.9 to 103.3% and from 94.6 to 100.6%, respectively. The relative standard deviations (RSD) were from 0.4 to 4.0 and from 0.3 to 5.1%, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of 2 naturally contaminated samples, the LOQ value was estimated at 0.1 mg/kg. These results indicated that the method is valid in determining arsenic in sludge fertilizer.

Key words arsenic, sludge fertilizer, producing the arsenic hydride vapor by reduction, atomic absorption spectrometry

(Research Report of Fertilizer, 1, 74~81, 2008)

6-2 汚泥肥料中のひ素測定

— 共同試験成績 —

浅尾直紀^{1,(2)}, 井塚進次郎¹, 引地典雄^{1,(3)}

キーワード ひ素, 汚泥肥料, 原子吸光光度法, 水素化物発生装置, 共同試験

1. はじめに

平成 11 年に肥料取締法¹⁾が改正され, 特殊肥料であった汚泥肥料及び汚泥発酵肥料が普通肥料となり, 国の登録を受けることとなった。また, 同時に制定された環境 2 法^{2, 3)}により, 家畜排泄物の適正管理及び有効利用が促進されることとなった。さらに近年, 食品リサイクル法⁴⁾及びリサイクル法⁵⁾により, 下水, し尿及び食品工場の廃水などの汚泥のリサイクルの気運が進み, 汚泥肥料が普通肥料として登録される件数が増大している。そのため, 当所においては汚泥肥料の検査点数が増加することとなった。肥料分析法⁶⁾においてひ素を定量する際には, 試料の分解に要する時間が 6 時間と規定されているため, 設備に限りがあり, 多検体を同時に分解することは困難であった。

汚泥肥料中のひ素測定の迅速化のため, 肥料分析法, 飼料分析基準⁷⁾及び底質調査方法⁸⁾による汚泥肥料中のひ素定量値及び分解時間の比較を行った結果, 飼料分析基準は肥料分析法の定量値と相関が高く, 分解時間を約 3 時間短縮できることが確認できた⁹⁾。この飼料分析基準によるひ素全量試験法について, 繰返し性, 定量下限の確認等の ISO/IEC 17025¹⁰⁾で要求されている試験室内の妥当性確認の試験を実施し, 満足する結果が得られた⁹⁾。更に同基準の要求事項である試験所間の比較試験について, IUPAC の共同試験プロトコル¹¹⁾を参考に汚泥肥料中のひ素試験法の共同試験を実施し, 試験室間再現精度を調査したので, その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の採取, 調製等

市販の下水汚泥肥料, し尿汚泥肥料, 工業汚泥肥料, 焼成汚泥肥料及び汚泥発酵肥料(計 5 点)を試験品として収集し, 冷蔵庫に保管した。試験品を 65°C で 24 時間乾燥し, 目開き 500 µm のふるいを全通するように粉碎し, よく混合した。混合された試料約 10 g をビニール袋に入れ, ヒートシールして分析試料とした。一対のブラインド試料を提供するため, それぞれの汚泥肥料の分析用試料の容器に 2 系列の番号のラベルを付けた。分析用試料(10 点)を参加試験室に送付した。

2) 装置

分解装置はガスバーナーにより加熱する砂浴を用いた。砂浴の温度は放射温度計で測定し, 規定の温度範囲になるようガス量及びけい砂の量を調整した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

² (現)独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

³ (現)農林水産省消費・安全局農産安全管理課

水素化物発生装置付原子吸光分析装置は各試験室に設置されている装置を使用した。

3) 試料溶液の調製

分析試料 2.00 g をトルビーカー100~300 mL にとり、硝酸約 10 mL 及び硫酸 5 mL を加え、時計皿で覆い、一夜放置した。砂浴上で穏やかに 30 分加熱(170~220°C)し、泡が生じなくなつてから強熱した(300~380°C)。放冷後、過塩素酸約 5 mL を加え、砂浴上で2~3 時間加熱(300~380°C)し、更に時計皿をはずすか又はずらして液量が 2 mL 以下になるまで加熱して濃縮した。放冷後、塩酸(1+10)5 mL 及び水 20 mL を加え、加温して溶かし、水で全量フラスコ 100 mL に移し、標線まで水を加え、ろ紙3種でろ過して試料溶液とした。

なお、試料溶液の調製にあたり、空のトルビーカーを用いて同様の操作を実施し、空試験溶液を調製した。(図 1)

4) ひ素の測定

ひ素の測定にあたっては、各試験室の水素化物発生装置付原子吸光分析装置の操作方法に従った。

なお、サーモエレクトロン製水素化物発生装置(HYD-10U)付き原子吸光分析装置(SOLAAR S2)を用いた場合の測定の一例を次に示した。原子吸光分析装置に連結した水素化物発生装置に水素化ほう素ナトリウム試液、40(w/v)%よう化カリウム溶液、塩酸(1+1)及び試料溶液を設置し、各溶液を混合、反応させ、発生した水素化ひ素の吸光度(波長 193.7 nm)を測定した。

5) 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル¹²⁾の均質性試験に従い、各系列の分析用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3)~4)に従って分析した。

6) 共同試験

次の 12 試験室において、送付した 10 試料を 3)~4)に従って共同試験を実施した。

- ・ 株式会社イズミテック
- ・ 株式会社環境衛生科学研究所
- ・ 東レテクノ株式会社 環境科学技術部
- ・ 日本重化学工業株式会社 高岡事業所
- ・ 財団法人日本肥糧検定協会
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部肥飼料安全検査部、札幌センター、仙台センター、名古屋センター、神戸センター大阪事務所及び福岡センター
- ・ 北海道三井化学株式会社 分析センター

(50 音順)

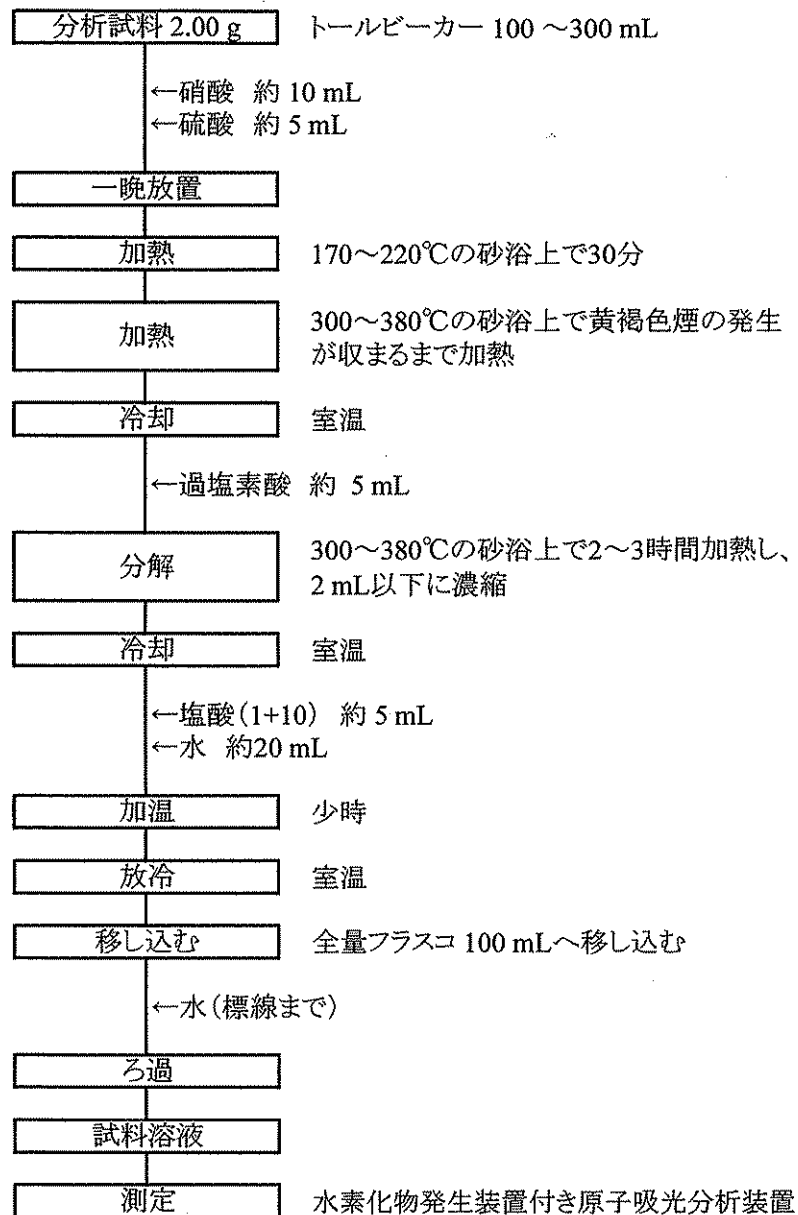


図1 汚泥肥料中のひ素法のフローシート

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰り返し2回×10試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表1に示した。いずれの試料においても、F値が $F(9,10;0.05)$ を下回ったことから、有意水準5%において試料間に有意な差は認められなかった¹²⁾。また、試料間の相対標準偏差は0.9~7.9%であり、全ての分析用試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した。

表1 ひ素の均質性確認試験の結果

肥料の種類	平均定量値 ¹⁾ (mg/kg)	相対標準偏差 ²⁾ (%)	F値 ³⁾	F値限界 ⁴⁾
下水汚泥肥料	7.67	0.9	1.99	3.02
し尿汚泥肥料	4.73	3.2	0.40	3.02
工業汚泥肥料	0.621	7.9	1.67	3.02
焼成汚泥肥料	5.31	4.3	0.28	3.02
汚泥発酵肥料	1.24	2.4	1.14	3.02

1) 10試料2点併行分析の総平均定量値

2) 試料間の相対標準偏差

3) 一元配置分散分析により算出された分散比

4) F(9,10;0.05)

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績並びに使用された水素化物発生装置及び原子吸光分析装置を表2及び表3に示した。各系列の分析試料の試験結果をIUPACの共同試験プロトコル^{11, 13)}に従って統計処理した。試験成績の外れ値を検出するためにCochranの検定及びGrubbsの検定を実施したところ、12試験室の試験成績のうち下水汚泥肥料で1試験室、し尿汚泥肥料で2試験室及び汚泥発酵肥料で2試験室の試験成績が外れ値と判別された。

3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値、室内繰返しの精度(相対標準偏差(RSD_r))及びHorRat値(Ho_r)並びに室間再現の精度(相対標準偏差(RSD_R))及びHorRat値(Ho_R)を表4に示した。HorRat値は分析方法の精度の評価をするために用いられており、 Ho_r は $RSD_r/RSD_r(P)$ 及び Ho_R は $RSD_R/RSD_R(P)$ により求められる。なお、 $RSD_R(P)$ は平均定量値からHorwitz式¹⁴⁾により求め、 $RSD_r(P)$ はHorwitz式に係数(5/8)を乗じて求めた^{15, 16)}。外れ値を除外した試験結果の RSD_r 及び RSD_R は3.5~6.1%及び7.0~19.7%であり、 Ho_r 及び Ho_R は0.46~0.63及び0.55~1.15であであり、いずれも2を下回っていた¹⁷⁾。

4. まとめ

12試験室において5銘柄(10点)の汚泥肥料を用いてひ素の共同試験を実施し、本分析法の評価を行った。その結果、室間再現精度(相対標準偏差)は7.0~19.7%であった。また、その評価に用いるHorRat値は0.55~1.15であり、2を下回っていた。このことから、試験所間の比較による本分析法の室間再現精度は満足する成績であった。

既報により測定範囲、公定法との整合性等が検討されており、本試験法は汚泥肥料中のひ素測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された。このことから、2007年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は肥料等試験法(2008)に収載された¹⁸⁾。

表2 汚泥肥料中のひ素の共同試験成績

(mg/kg)

試験室 ¹⁾	下水汚泥肥料		し尿汚泥肥料		工業汚泥肥料	
	A	7.57	7.53	4.73	4.60	0.646
B	6.85	6.34	3.65	4.41	0.667	0.654
C	6.83	6.83	4.63	4.87	0.605	0.670
D	6.51	7.02	4.79	4.59	0.796	0.796
E	6.41	6.57	3.72	4.18	0.401	0.489
F	6.94	6.89	4.36	4.49	0.694	0.777
G	5.32	5.60	3.55 ³⁾	3.24 ³⁾	0.779	0.705
H	5.92	6.05	4.21	4.08	0.618	0.631
I	6.85	6.61	4.17	4.32	0.642	0.695
J	5.38	5.32	4.38	4.31	0.790	0.790
K	5.59	6.21	3.08 ³⁾	2.52 ³⁾	0.432	0.375
L	6.97 ²⁾	5.60 ²⁾	4.45	4.17	0.595	0.593

試験室	焼成汚泥肥料		汚泥発酵肥料	
A	5.96	5.71	1.26	1.25
B	5.33	4.84	1.33	1.23
C	5.81	5.12	1.29	1.33
D	4.72	4.66	1.88 ²⁾	1.38 ²⁾
E	4.59	4.98	1.02	0.99
F	5.42	5.26	1.26	1.30
G	5.62	5.69	1.03	1.00
H	4.87	5.00	1.12	1.38
I	4.66	4.87	1.29	1.20
J	4.87	4.81	1.50	1.36
K	4.24	4.23	0.552 ³⁾	0.576 ³⁾
L	5.44	5.31	1.21	1.18

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) Cochranテストによる外れ値

3) Grubbsテストによる外れ値

表3 共同試験に用いた水素化物発生装置付き原子吸光分析装置

試験室 ¹⁾	水素化物発生装置型式	原子吸光分析装置型式	製造メーカー
A	HYD-10U	SOLAAR S2	サーモエレクトロン
B	HYD-10	SOLAAR M5	日本ジャーレル・アッシュ
C	HFS-3型	Z-5300	日立製作所
D	HFS-3型	Z-5010	日立製作所
E	HYD-10U	SOLAAR M5	日本ジャーレル・アッシュ
F	HVG-1	AA-6800	島津製作所
G	HFS-2型	Z-8100	日立製作所
H	HYD-10	AA855	日本ジャーレル・アッシュ
I	HVG-1	AA-6700F	島津製作所
J	HVG-1	AA-6800	島津製作所
K	HVG-1	AA-6800	島津製作所
L		Optima 4300DV ²⁾	パーキンエルマー

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) ICP-AES

表4 共同試験成績の解析結果

試料の種類	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (mg/kg)	RSD _r ³⁾ (%)	RSD _R ⁴⁾ (%)	Ho _r ⁵⁾	Ho _R ⁶⁾
下水汚泥肥料	11	6.42	3.5	10.7	0.46	0.89
し尿汚泥肥料	10	4.62	4.9	7.0	0.62	0.55
工業汚泥肥料	12	0.632	5.7	19.7	0.53	1.15
焼成汚泥肥料	12	5.08	4.1	9.5	0.52	0.76
汚泥発酵肥料	10	1.23	6.1	11.4	0.63	0.74

- 1) 解析に用いた試験室数
- 2) 総平均値 (n =試験室数×繰返し数(2))
- 3) 室内繰返し精度(標準偏差)
- 4) 室間再現精度(標準偏差)
- 5) 室内繰返しHorRat値
- 6) 室間再現繰返しHorRat値

謝 辞

共同試験にご協力頂いた株式会社イズミテック, 株式会社環境衛生科学研究所, 東レテクノ株式会社環境科学技術部, 日本重化学工業株式会社高岡事業所及び財団法人日本肥糧検定協会本部の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 肥料取締法:改正平成 11 年 7 月 28 日, 法律第 111 号 (1999)
- 2) 持続性の高い農業生産方式の導入の促進に関する法律:平成 11 年 7 月 28 日, 法律第 110 号 (1999)
- 3) 家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律:平成 11 年 7 月 28 日, 法律第 112 号 (1999)
- 4) 食品循環資源の再生利用等の促進に関する法律:平成 12 年 6 月 7 日, 法律第 116 号 (2000)
- 5) 資源の有効な利用の促進に関する法律:平成 3 年 4 月 26 日, 法律第 48 号 (1991)
- 6) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.132~136, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 7) 農林水産省畜産局長通知:飼料分析基準の制定について, 平成 7 年 11 月 15 日, 7 畜 B 第 1660 号 (1995)
- 8) 環境省環境管理局水環境部水環境管理課:底質調査方法, p.140~144 (2001)
<<http://db-out.nies.go.jp/emdb/pdfs/water/teisitutyousa/0103teisitutyousahouhou.pdf>>
- 9) 浅尾直紀, 井塚進次郎, 齊木雅一:汚泥肥料中のひ素測定 ー分解方法の改良ー, 肥料研究報告, **1**, 74~81, (2008)
- 10) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (2005)
- 11) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, Pure & Appl. Chem., **67** (2), 331~343 (1995)
- 12) Thompson, M., Rellison, S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, Pure & Appl. Chem., **78** (1), 145~196 (2006)
- 13) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study

Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)

- 14) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385-386 (2000)
- 15) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 16) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344-1354 (1980)
- 17) Codex Alimentarius: "Recommendation for a checklist of information required to evaluate method of analysis and submitted to the Codex Committee on Method of Analysis and Sampling for endorsement", Vol.13, p.129 (1994)
- 18) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Determination of Arsenic in Sludge Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry: A Collaborative Study

Naoki ASAO^{1, (2)}, Shinjiro IDUKA¹ and Norio HIKICHI^{2, (3)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Food Safety and Consumer Affairs Bureau, Plant Product Safety Division

A collaborative study was conducted on the atomic absorption spectrometry method for determination of arsenic in sludge fertilizer in order to obtain interlaboratory validation data. An open digestion with nitric acid-sulfuric acid at 170~220°C and perchloric acid at 300°C were used to solubilize arsenic in a sample, followed by procedures using an atomic absorption spectrometer connected with a reduced arsenic hydride vapor producing device. The study involved 12 participants representing official control and research institutes. 5 kinds of sludge fertilizer which was contaminated naturally by arsenic were used as test samples. The samples were analyzed as blind duplicates. Mean values reported range from 0.632 to 6.42 mg/kg for each kind of sludge fertilizer. The relative standard deviation (RSD_r) for repeatability in analyses ranged from 3.5 to 6.1%. The relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility in analyses ranged from 7.0 to 19.7%. The HorRat values ($RSD_R/\text{predicted } RSD_R$) ranged from 0.55 to 1.15. These results indicated that this method has acceptable precision.

Key words arsenic, sludge fertilizer, producing the arsenic hydride vapor by reduction,
atomic absorption spectrometry, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 1, 82~89, 2008)

7 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HR-GC/MS)法による

汚泥肥料及びたい肥中のダイオキシン類測定

—高速溶媒抽出法の適用—

大木純^{1,(2)}, 白井裕治¹, 相澤真理子¹

キーワード ダイオキシン類, 汚泥肥料, たい肥, 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法, 高速溶媒抽出法

1. はじめに

ダイオキシン類は、主に廃棄物の燃焼・焼却等の過程で非意図的に産生される残留性有機汚染物質であり、また、過去に水田除草剤として使用されたPCP及びCNP製剤中に不純物として含まれていたもので、ダイオキシン類対策特別措置法(平成11年法律第105号)において、ポリ塩化ジベンゾフラン(以下、「PCDF」という。), ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(以下、「PCDD」という。)及びコプラナーポリ塩化ビフェニル(以下、「Co-PCB」という。)と定義されている¹⁾。生体中に摂取されたダイオキシン類は、DNAに対して種々の作用を引き起こすことにより、極めて低用量においても毒性を示すと考えられている²⁾ため、食品及び土壌、大気等の環境試料中のダイオキシン類の調査が行われている。

これらの食品や環境試料中のダイオキシン類分析法としては、「排ガス中のダイオキシン類の測定方法」(JIS規格)³⁾、「工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法」(JIS規格)⁴⁾、「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」(厚生労働省)⁵⁾、「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法」(厚生労働省)⁶⁾、「ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル」(環境省)⁷⁾、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」(農林水産省)⁸⁾等が定められているが、肥料中のダイオキシン類の分析法は定められていない。これらの分析法は、測定対象とする試料の種類に応じて前処理過程の一部に違いが見られるものの、同位体標識化した内標準物質を添加し、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(以下、「GC/MS」という。)を用いて微量分析を行う点で原理的に相違はない。また、試料からのダイオキシン類の抽出は、従来からトルエンを溶媒とし、ソックスレー抽出を行う方法によっていた。しかし、従来法ではトルエンを16時間以上加熱することから、引火の危険性や抽出時間の長さ等が問題となっていた。そのため、最近では従来法に加え、新たに開発された抽出方法の適用も認められてきており、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」においても、高速溶媒抽出(ASE)装置による抽出方法が採用・収載された⁹⁾。そこで筆者らは、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」及び「特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法」に基づき、高速溶媒抽出(ASE)装置を用いて汚泥肥料及びたい肥中からダイオキシン類を抽出する方法をソックスレー抽出と比較し、適用性の可否を検討した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² (現)独立行政法人農林水産消費安全技術センター消費安全情報部

2. 材料及び方法

1) 試料

流通しているし尿汚泥肥料, 下水汚泥肥料, 工業汚泥肥料, 汚泥発酵肥料及びたい肥を採取し, 試験品として冷蔵庫に保管した. 試験品を 65°C で 24 時間以上乾燥し, 目開き 500 μm のふるいを全通するように粉砕して分析用試料を調製し, 試験に供した.

2) 試薬

(1) ヘキサン, トルエン, アセトン, ジクロロメタン, ノナン及び硫酸ナトリウム(無水)はダイオキシン類分析用試薬を用いた. 硫酸は精密分析用試薬を用いた. 塩化ナトリウム, 硫酸ナトリウム(無水)は残留農薬試験・PCB 試験用試薬を用いた.

(2) シリカゲルは洗浄済みシリカゲル(ダイオキシン類分析用, SUPELCO 製)を用いた.

(3) ヘキサン洗浄水: Auto Pure WQ501 及び Milli-Q II で精製した後, ヘキサンで洗浄した.

(4) PCDD・PCDF 標準液: NK-CVS-B20 (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(1)のとおり.) の 5 種類の標準原液(表中 CS1~CS5)をそれぞれノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種 ^{13}C 標識内標準物質として各 5 ng を含有する各 PCDD・PCDF 標準液を調製した.

(5) PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液: NK-LCS-H (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(1)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種 ^{13}C 標識内標準物質として各 10 ng (八塩化物については各 20 ng) を含有する PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液を調製した.

(6) PCDD・PCDF シリンジスパイク用内標準液: NK-IS-D (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(1)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種 ^{13}C 標識内標準物質として各 10 ng を含有する PCDD・PCDF シリンジスパイク用内標準液を調製した.

(7) Co-PCB 標準液: PCB-CVS-JQ (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(2)のとおり.) の 5 種類の標準原液(表中 CS1~CS5)をそれぞれノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種 ^{13}C 標識内標準物質として各 5 ng を含有する各 Co-PCB 標準液を調製した.

(8) Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液: MBP-MXS (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(2)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に各種 ^{13}C 標識内標準物質として各 10 ng を含有する Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液を調製した.

(9) Co-PCB シリンジスパイク用内標準液: MBP-79-100 (Wellington Laboratories 製, 組成は表 1 の(2)のとおり.) をノナンで正確に希釈し, 1 mL 中に ^{13}C 標識内標準物質として 10 ng を含有する Co-PCB シリンジスパイク用内標準液を調製した.

(10) 質量校正用標準物質: ペルフルオロクロセン (Lancaster Synthesis 製, 以下「PFK」という.) を 50°C で揮発させ GC/MS のイオン化室に直接導入した.

(11) 窒素は高純度窒素ガス(99.999%以上)を用いた. ヘリウムは高純度ヘリウムガス(99.999%以上)を用いた.

表 1 ダイオキシン類の標準液及び内標準液の調製に用いた各標準原液の組成
(1) NK-CVS-B20, NK-LCS-H 及び NK-IS-D

Compound	Isotope	(ng/mL)						
		NK-CVS-B20					NK-LCS-H	NK-IS-D
		CS1	CS2	CS3	CS4	CS5		
2,3,7,8-TeCDD	native	0.5	2	10	40	200		
1,2,3,7,8-PeCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,7,8-HxCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,7,8,9-HxCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	native	2.5	10	50	200	1,000		
OCDD	native	5.0	20	100	400	2,000		
2,3,7,8-TeCDF	native	0.5	2	10	40	200		
1,2,3,7,8-PeCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
2,3,4,7,8-PeCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,7,8-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,6,7,8-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,7,8,9-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
2,3,4,6,7,8-HxCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	native	2.5	10	50	200	1,000		
OCDF	native	5.0	20	100	400	2,000		
2,3,7,8-TeCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,7,8-PeCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,7,8,9-HxCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
OCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	2,000	
2,3,7,8-TeCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
2,3,4,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		
1,2,3,4,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		
1,2,3,7,8,9-HxCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		
2,3,4,6,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	1,000	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		1,000
OCDF	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20	2,000	
1,2,3,4-TeCDD	¹³ C ₁₂	20	20	20	20	20		1,000
2,3,7,8-TeCDD	³⁷ Cl ₄	0.5	2	10	40	200		

(2) PCB-CVS-JQ, MBP-MXS 及び MBP-79-100

Compound (IUPAC No.)	Isotope	PCB-CVS-JQ					(ng/mL)	
		CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	MBP-MXS	MBP-79-100
3,3',4,4'-TeCB (77)	native	0.5	2.0	10	50	250		
3,4,4',5'-TeCB (81)	native	0.5	2.0	10	50	250		
3,3',4,4',5'-PeCB (126)	native	0.5	2.0	10	50	250		
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4'-PeCB (105)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,4,4',5'-PeCB (114)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3',4,4',5'-PeCB (118)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2',3,4,4',5'-PeCB (123)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4',5'-HxCB (156)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4',5',5'-HxCB (157)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,2',3,3',4,4',5'-HpCB (170)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180)	native	0.5	2.0	10	50	250		
2,3',4',5'-TeCB (70)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10		
3,3',4,5'-TeCB (79)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10		100
3,3',4,4'-TeCB (77)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
3,4,4',5'-TeCB (81)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
3,3',4,4',5'-PeCB (126)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4'-PeCB (105)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,3,4,4',5'-PeCB (114)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,3',4,4',5'-PeCB (118)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2',3,4,4',5'-PeCB (123)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4',5'-HxCB (156)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4',5',5'-HxCB (157)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,2',3,3',4,4',5'-HpCB (170)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	
2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (180)	¹³ C ₁₂	10	10	10	10	10	200	

2) 装置及び器具

(1) 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計

ガスクロマトグラフ: Hewlett Packard 製 HP6980 Series

質量分析計: 日本電子製 JMS-700D, 二重収束型

(2) 高速溶媒抽出(ASE)装置: Dionex 製 ASE 300

(3) ソックスレー抽出装置:千葉理化ガラス製. 円筒ろ紙に適した大きさのもので, 水分を捕集するための Dean-Stark アダプタ(捕集容量:約 25 mL)を備えたもの. 受器容量 500 mL.

(4) 円筒ろ紙: ADVANTEC 製 No.88R(シリカ繊維製)外径 45 mm, 高さ 150 mm

(5) KD 管窒素濃縮装置: MORITEX 製 EVAN-k

(6) ロータリーエバポレーター: BÜCHI 製 Rotavapor R-114

(7) 振とう機: タイテック製 レシプロシユーカー SR-2w

(8) 多層シリカゲルカラム: SUPELCO 製多層シリカゲルカラム(カラム管(内径 15 mm)にシリカゲル 0.9 g, 2%水酸化カリウム被覆シリカゲル 3 g, シリカゲル 0.9 g, 44%硫酸被覆シリカゲル 4.5 g, 22%硫酸被覆シリカゲル 6 g, シリカゲル 0.9 g 及び 10%硝酸銀被覆シリカゲル 3 g を順次乾式で充てんされたもの.)にシリカゲル 2 g 及び硫酸ナトリウム(無水) 6 g を順次乾式で充てんした.

(9) 活性炭シリカゲルリバーカラム: 関東化学製活性炭分散シリカゲルリバーカラム

3) 定量方法

(1) 抽出及びクリーンアップスパイク添加

A) 高速溶媒抽出

分析試料 10.0g を量って抽出セル 34 mL に入れ, 高速溶媒抽出装置に接続し, 次の条件で抽出し, 抽出液を捕集ボトルに受けた.

マイクロシリンジを用いて PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液 20 μ L 及び Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液 20 μ L を抽出液に加えた.

抽出液をあらかじめ 2%塩化ナトリウム水溶液約 100 mL を入れた 500mL の分液漏斗に移した. 捕集ボトルをヘキサン約 10 mL ずつで 3 回洗浄し, 洗液を分液漏斗に加えた. この分液漏斗を振とう数 240 min^{-1} で 10 分間振とうした後静置し, 水層を流下した. 更にヘキサン層に水約 100 mL を加え, 緩やかに振とうし, 水層を流下した.

抽出条件 例

抽出セル容量: 34 mL

捕集ボトル容量: 250 mL

抽出溶媒: ヘキサン-アセトン(1+1)

抽出槽温度: 100°C

抽出圧力: 10.3 MPa

静置時間: 5 分

溶媒置換量: 抽出容器の 60%

窒素ガスパージ時間: 120 秒

静置回数: 3

B) ソックスレー抽出

分析試料 10.0 g を量って円筒ろ紙に入れ, その上にガラスウールを軽く押さえるようにして入れた. これをソックスレー抽出管に入れ, トルエン約 350 mL を入れた受器に連結し, 16 時間ソックスレー抽出した.

マイクロシリンジを用いて PCDD・PCDF クリーンアップスパイク用内標準液 20 μ L 及び Co-PCB クリーンアップスパイク用内標準液 20 μ L を抽出液に加えた.

受器に得られた抽出液を 50°C 以下の水浴上でほとんど乾固するまで濃縮した後、残留物にヘキサン約 10 mL を加えて溶かし、分液漏斗 300 mL に移した。受器をヘキサン約 10 mL ずつで 5 回洗浄し、洗液を分液漏斗に合わせた。

(2) 硫酸処理

硫酸約 30 mL を分液漏斗に静かに滴下した後、ヘキサン層と硫酸層との境界が明瞭になるまで静置し、硫酸層を静かに流下し、更に硫酸約 15 mL を分液漏斗に加え同様に処理した。次に、硫酸約 10 mL を分液漏斗に加え、数分間振とうした後静置し、硫酸層を流下し、更に硫酸約 10 mL を分液漏斗に加え同様に処理した。更に、硫酸約 10 mL を分液漏斗に加え、振とう数 240 min^{-1} で 10~30 分間振とうした後静置し、硫酸層を流下した。硫酸層がほとんど着色しなくなるまでこの操作を繰り返した。

ヘキサン洗浄水約 100 mL を分液漏斗に加え、振り混ぜた後静置し、水層を流下した。更にこの操作を 2 回繰り返した。

少量のガラスウールを詰めた漏斗に硫酸ナトリウム(無水)約 50 g を入れ、ヘキサンで洗浄して脱水用漏斗を調製した。脱水用漏斗をなす形フラスコ 500 mL に載せ、ヘキサン層を漏斗に加えて脱水した。更に、ヘキサン約 50 mL で分液漏斗を洗浄し、洗液を漏斗に加えて脱水し、ヘキサン層に合わせた。ヘキサン層を 40°C 以下の水浴上で約 5 mL まで減圧濃縮し、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

(3) 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ヘキサン 150 mL を多層シリカゲルカラムに加え、ヘキサンの液面が充てん剤の上面に達するまで流下させて多層シリカゲルカラムを調製した。

なす形フラスコ 300 mL を多層シリカゲルカラムの下に置き、試料溶液を多層シリカゲルカラムに加え、液面が充てん剤の上面に達するまで流下させた。容器をヘキサン 2 mL ずつで 5 回洗浄し、洗液を多層シリカゲルカラムに加え、液面が充てん剤の上面に達するまで流下させた。更にヘキサン約 200 mL を多層シリカゲルカラムに加え、ダイオキシン類を毎秒 1 滴程度の流速で溶出させた。溶出液を 40°C 以下の水浴上で 0.5 mL 程度まで減圧濃縮し、活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

(4) 活性炭シリカゲルリバーサカラムクロマトグラフィー

試料溶液を活性炭シリカゲルリバーサカラムに加えた。容器をヘキサン 0.5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を同カラムに加えた。15 分間放置した後、ヘキサン 60 mL を同カラムに加え、毎秒 1 滴程度の流速で流下させた。

液面が充てん剤の上端に達した時に、なす形フラスコ 100 mL を活性炭シリカゲルリバーサカラムの下に置き、ヘキサン—ジクロロメタン(75+25) 50 mL を同カラムに加え、毎秒 1 滴程度の流速でモノオルト Co-PCBs を溶出し、第 2 画分の試料溶液とした。

液面が充てん剤の上端に達した時に、活性炭シリカゲルリバーサカラムを反転し、新たに 100 mL のなす形フラスコを同カラムの下に置き、トルエン 50 mL を同カラムに加え、毎秒 1 滴程度の流速でノンオルト Co-PCBs, PCDDs 及び PCDFs を溶出し、第 3 画分の試料溶液とした。

(5) 濃縮及びシリンジスパイク添加

第 2 画分及び第 3 画分の試料溶液を 1 mL 以下に減圧濃縮し、それぞれのケデルナ・ダニッシュ (以下

「KD」とする)濃縮器に移し、容器をヘキサン1~2 mLで数回洗浄し、洗液をKD濃縮器に合わせた。更にノナン30~50 μ Lを加えた後、窒素気流下で20 μ Lまで濃縮した。

Co-PCB シリンジスパイク用内標準液 20 μ Lを第2画分及び第3画分の濃縮液に、また、PCDD・PCDF シリンジスパイク用内標準液 20 μ Lを第3画分の濃縮液にそれぞれマイクロシリンジで加えた。ヘキサン0.2~0.3 mLでそれぞれのKD濃縮器の壁を洗い、窒素気流下で20 μ Lまで濃縮した。ノナン80 μ Lを第2画分の濃縮液に、また、ノナン20 μ Lを第3画分の濃縮液にそれぞれ加え、GC/MSに供する各試料溶液とした。

(6) ガスクロマトグラフ質量分析

PCDD・PCDF測定用試料溶液については、測定条件1及び2を、ノンオルトCo-PCB測定用試料溶液及びモノオルトCo-PCB測定用試料溶液については、測定条件3を適用した。質量分析計を選択イオンモニタリング(以下、「SIM」という。)法によるイオン検出に設定し、表2に示す分析対象物質と内標準物質の各塩化物毎のモニターイオン及びロックマス用の質量数を設定した。質量校正用標準物質PFKをGC/MSのイオン化室に導入しながら、ロックマスの応答が安定したら、各標準液及び試料溶液1~2 μ LをGC/MSに注入して測定を行い、設定した各塩化物の質量数について各SIMクロマトグラムを得た。

各分析対象物質の二つのモニターイオンのピーク面積の強度比を求め、表3に示す天然存在比とほぼ一致することを確認した。個々の測定毎に、ロックマスのモニターチャンネルの確認を行った。

質量分析条件

測定方法:ロックマス方式によるSIM法

分解能:10,000以上

イオン化法:電子衝撃イオン化法(EI)

イオン化エネルギー:40 eV

イオン化電流:600 μ A

イオン化室温度:280°C

イオン加速電圧:最大 10 kV

SIM周期:1 s以下(100~120 ms/ch.)

測定条件 1

分析対象物質:PCDD各異性体, 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, OCDF, PCDDs各同族体, HxCDFs同族体及びHpCDFs同族体

カラム:キャピラリーカラム(J&W製DB-5MS, 内径0.25 mm, 長さ60 m, 膜厚0.25 μ m)

キャリアーガス:He 1.3 mL/min

カラム槽温度:初期温度130°C(2分保持), 昇温30°C/min, 200°C, 昇温5°C/min, 220°C(16分保持), 昇温6°C/min, 300°C(18分保持)

試料導入方法:スプリットレス(90s)

試料導入部温度:280°C

SIMグループ化:

- 1 (20.0~32.0 min) : TeCDF (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCDF (M+2) , TeCDD (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCDD (M+2) , Lockmass (330.9792)
- 2 (32.0~36.5 min) : PeCDF (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCDF (M+2) , PeCDD (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCDD (M+2) , Lockmass (380.9760)
- 3 (36.5~40.5 min) : HxCDF (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCDF (M+2) , HxCDD (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCDD (M+2) , Lockmass (380.9760)
- 4 (40.5~45.0 min) : HpCDF (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -HpCDF (M+2) , HpCDD (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -HpCDD (M+2) , Lockmass (430.9728)
- 5 (45.0~50.0 min) : OCDF (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF (M+4) , OCDD (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD (M+4) , Lockmass (442.9729)

測定条件 2

分析対象物質: 2,3,7,8-TeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, TeCDFs 同族体及び PeCDFs 同族体

カラム: キャピラリーカラム (J&W 製 DB-17, 内径 0.25 mm, 長さ 60 m, 膜厚 0.25 μm)

キャリアーガス: He 1.3 mL/min

カラム槽温度: 初期温度 130°C (2分保持), 昇温 30°C/min, 200°C, 昇温 3°C/min, 280°C (36分保持)

試料導入方法: スプリットレス (90 s)

試料導入部温度: 280°C

SIM グループ化:

- 1 (20.0~35.0 min) : TeCDF (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCDF (M+2) , PeCDF (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCDF (M+2) , Lockmass (318.9792)
- 2 (35.0~50.0 min) : HxCDF (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCDF (M+2) , Lockmass (380.9760)

測定条件 3

分析対象物質: Co-PCB 各異性体

カラム: キャピラリーカラム (J&W 製 DB-5MS, 内径 0.25 mm, 長さ 60 m, 膜厚 0.25 μm)

キャリアーガス: He 1.3 mL/min

カラム槽温度: 初期温度 130°C (2分保持), 昇温 30°C/min, 200°C, 昇温 5°C/min, 220°C (25分保持), 昇温 6°C/min, 300°C (20分保持)

試料導入方法: スプリットレス (90 s)

試料導入部温度: 280°C

SIM グループ化:

- 1 (18.0~26.5 min) : TeCB (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -TeCB (M+2) , PeCB (M, M+2) , HxCB (M+2, M+4) , Lockmass (330.9792)
- 2 (26.5~37.5 min) : PeCB (M, M+2) , $^{13}\text{C}_{12}$ -PeCB (M+2) , HxCB (M+2, M+4) , HpCB (M+2, M+4) , Lockmass (380.9760)

- 3 (36.5~40.5 min) :HxCB (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -HxCB (M+2) , HpCB (M+2, M+4) , OCB (M+2, M+4) , Lockmass (430.9729)
- 4 (40.5~45.0 min) :HpCB (M+2, M+4) , $^{13}\text{C}_{12}$ -HpCB (M+2) , OCB (M+2, M+4) , NnCB (M+2, M+4) , Lockmass (442.9729)

表 2 モニターイオンの設定質量数

同族体	分析対象物質 (native)			内標準物質 ($^{13}\text{C}_{12}$)		
	M^+	$(\text{M}+2)^+$	$(\text{M}+4)^+$	M^+	$(\text{M}+2)^+$	$(\text{M}+4)^+$
TeCDDs	319.8965	321.8936		331.9368	333.9338	
PeCDDs		355.8546	357.8516		367.8949	369.8919
HxCDDs		389.8157	391.8127		401.8559	403.8530
HpCDDs		423.7766	425.7737		435.8169	437.8140
OCDD		457.7377	459.7348		469.7780	471.7750
TeCDFs	303.9016	305.8987		315.9419	317.9389	
PeCDFs		339.8597	341.8567		351.9000	353.8970
HxCDFs		373.8208	375.8178		385.8610	387.8580
HpCDFs		407.7818	409.7789		419.8220	421.8191
OCDF		441.7428	443.7399		453.7830	455.7801
TeCBs	289.9224	291.9194		301.9626	303.9597	
PeCBs		325.8804	327.8776		337.9207	339.9178
HxCBs		359.8415	361.8385		371.8817	373.8788
HpCBs		393.8025	395.7995		405.8428	407.8398
質量校正用標準物質 (PFK)						
	318.9792	330.9792	380.9760	430.9728	442.9728	

表 3 ダイオキシン類の天然同位体存在比

同族体	分析対象物質 (native)		
	(%)		
	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+4) ⁺
TeCDDs	77.43	100.00	
PeCDDs		100.00	64.69
HxCDDs		100.00	80.66
HpCDDs		100.00	96.64
OCDD		88.80	100.00
TeCDFs	77.55	100.00	
PeCDFs		100.00	64.57
HxCDFs		100.00	80.54
HpCDFs		100.00	96.52
OCDF		88.89	100.00
TeCBs	77.68	100.00	
PeCBs		100.00	64.45
HxCBs		100.00	80.43
HpCBs		100.00	96.40

(7) データ解析

A) 検量線の作成

標準液の測定により得られたクロマトグラムについて、各分析対象物質 (s) の対応するクリーンアップスパイク用内標準物質 (CS) に対するピーク面積 (A) の比及び標準液中の各分析対象物質とクリーンアップスパイク用内標準物質の濃度 (C) の比を用いて、下式により相対感度係数 (RRF) を算出した。5 段階の各標準液について繰り返し 3 回測定し、算出した RRF を平均した。

$$RRF^k = \frac{C_{CS}^k}{C_s^k} \times \frac{A_s^k}{A_{CS}^k}$$

- RRF^k : 分析対象物質 k (以下同様) の相対感度係数
 C_{CS} : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質の濃度
 C_s : 標準液中の分析対象物質の濃度
 A_s : 標準液中の分析対象物質のピーク面積
 A_{CS} : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積

同様にクリーンアップスパイク用内標準物質のシリンジスパイク用内標準物質 (SS) に対する相対感度係数 (RRF_{SS}^k) を次式により算出した。

$$RRF_{SS}^k = \frac{C_{SS}^k}{C_{CS}^k} \times \frac{A_{CS}^k}{A_{SS}^k}$$

- RRF_{SS}^k : クリーンアップスパイク用内標準物質 k (以下同様) の相対感度係数

- C_{SS} : 標準液中のシリンジスパイク用内標準物質の濃度
 C_{CS} : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質の濃度
 A_{CS} : 標準液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積
 A_{SS} : 標準液中のシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積

B) 回収率の確認

試料溶液の測定により得られたクロマトグラムにおけるクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積とシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積の比及び対応する相対感度係数を用いて、次式によりクリーンアップスパイク用内標準物質の回収率(rec)を計算し、前処理操作における回収率を求めた。

$$\text{rec}^k = \frac{A_{CS}^k}{A_{SS}} \times \frac{Q_{SS}}{Q_{CS}^k} \times \frac{1}{\text{RRF}_{SS}^k} \times 100$$

- rec^k : クリーンアップスパイク用内標準物質 k (以下同様) の回収率 (%)
 A_{CS} : 試料溶液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積
 A_{SS} : 試料溶液中のシリンジスパイク用内標準物質のピーク面積
 Q_{SS} : 試料溶液中のシリンジスパイク用内標準物質の添加量 (pg)
 Q_{CS} : 試料溶液中のクリーンアップスパイク用内標準物質の添加量 (pg)
 RRF_{SS} : 検量線作成時に求めたクリーンアップスパイク用内標準物質のシリンジスパイク用内標準物質に対する相対感度係数

C) 定量

試料溶液の測定により得られたクロマトグラム上で各分析対象物質及び対応するクリーンアップスパイク用内標準物質のピークを帰属させ、その面積比及び対応する相対感度係数を用いて、次式により試料中の各分析対象物質の濃度を算出した。2つのモニターイオンそれぞれについて得られた各濃度を平均した。

$$C^k = \frac{A_s^k}{A_{CS}^k} \times \frac{Q_{CS}^k}{\text{RRF}^k} \times \frac{1}{W}$$

- C^k : 分析対象物質 k (以下同様) の試料中濃度 (pg/g)
 A_s : 試料溶液中の分析対象物質のピーク面積
 A_{CS} : 試料溶液中のクリーンアップスパイク用内標準物質のピーク面積
 Q_{CS} : 試料抽出液に添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の量 (pg)
 RRF : 検量線作成時に求めた分析対象物質のクリーンアップスパイク用内標準物質に対する相対感度係数
 W : 試料採取量 (g)

D) 毒性等量への換算

次式を用いて、試料中のダイオキシン類の毒性等量 (TEQ) を求めた。なお、毒性等価係数 (TEF) は 2005 年に WHO が提唱した値 (表 4) を用いた。

$$TEQ = \sum_k C^k \times TEF^k$$

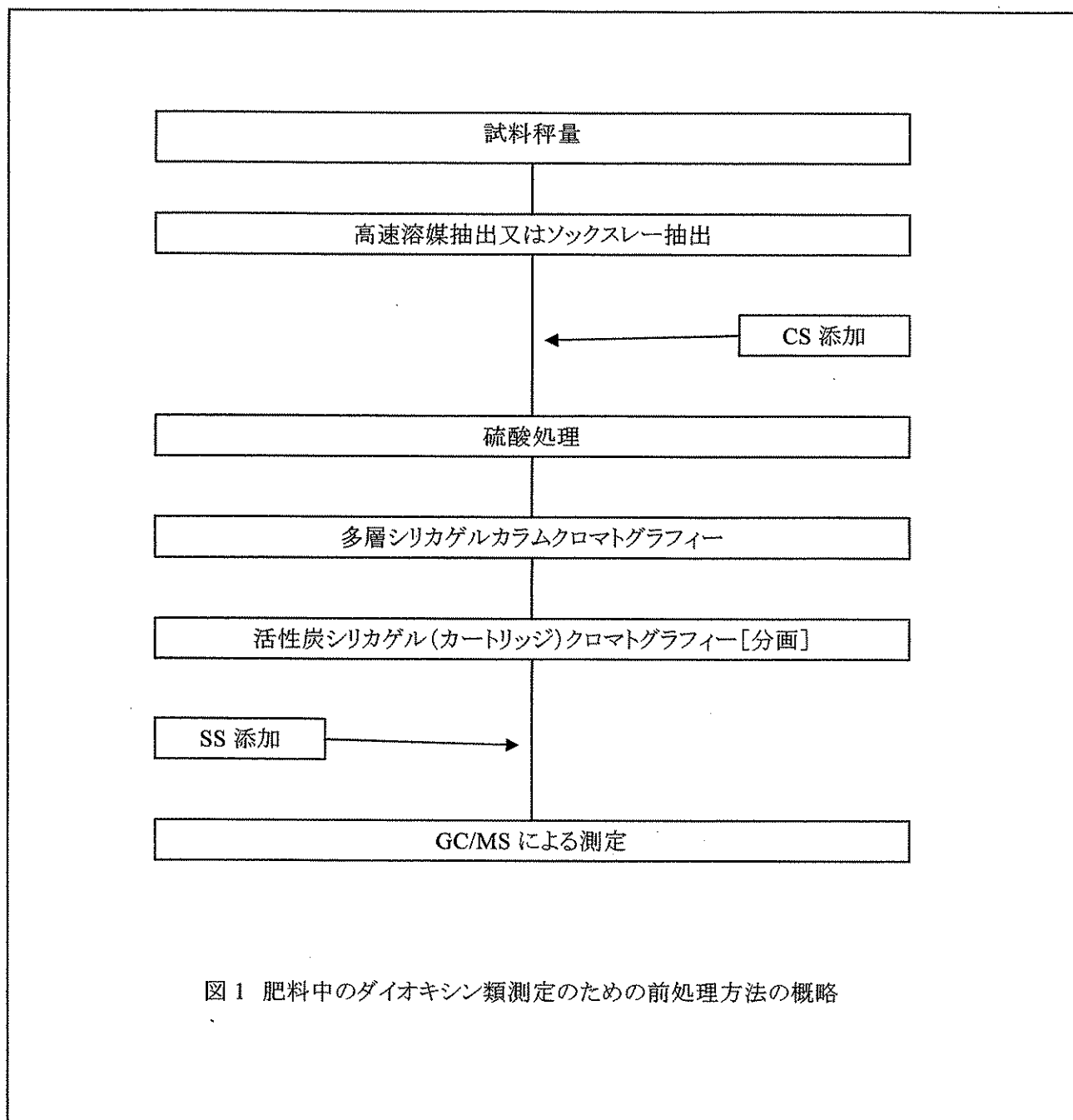
TEQ : 試料中のダイオキシン類の 2,3,7,8-TeCDD 毒性等量 (pg-TEQ/g)

C^k : 分析対象物質 k (以下同様) の試料中濃度 (pg/g)

TEF : 各分析対象物質の 2,3,7,8-TeCDD 毒性等価係数

表 4 各分析対象物質の毒性等価係数 (WHO, 2005)

分析対象物質		TEF	分析対象物質(IUPAC No.)		TEF
PCDD	2,3,7,8-TeCDD	1	ハノルト Co-PCB	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.0001
	1,2,3,7,8-PeCDD	1		3,4,4',5-TeCB(#81)	0.0003
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1		3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1		3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.03
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	モノルト Co-PCB	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.00003
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01		2,3,4,4',5-PeCB(#114)	0.00003
	OCDD	0.0003		2,3',4,4',5-PeCB(#118)	0.00003
PCDF	2,3,7,8-TeCDF	0.1		2',3,4,4',5-PeCB(#123)	0.00003
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.03		2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.00003
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.00003	
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.00003	
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.00003	
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1			
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1			
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01			
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01			
	OCDF	0.0003			



3. 結果及び考察

1) 抽出条件の検討

従来の方法では、試料をソックスレー抽出／硫酸処理後、多層シリカゲルカラムクロマトグラフ及び活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフにより精製及び分画して試料溶液を調製することになっている。^{9~11)} (図 1 参照)

しかし、ソックスレー抽出では 16 時間と長い抽出時間を要し、円筒ろ紙の予備洗浄時間を含めると 3 日間以上の期間を要する。そこで、高速溶媒抽出装置を用いて抽出時間の短縮を検討した。また、高速溶媒抽出装置は抽出を密閉状態で完了できるため、分析者が溶媒に接触する機会も少なくなり、本装置が適用されることによって、より安全な抽出法を選択できるようになる。

EPA Method¹²⁾では、土壌等中のPCDDs/PCDFsの抽出にはトルエン等を、また、PCBsの抽出にはヘキサン-アセトン(1+1)等を用いている。また、「飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン」では、高速溶媒抽出装置を用いた抽出方法を適用しており、抽出溶媒はヘキサン-アセトン(1+1)である。同ガイドラインの試料の適用範囲の一例として「畜産動物用配合飼料、乾牧草、植物質性原料等、脂質含有量が比較的少ない試料」と記載されている⁹⁾。汚泥肥料及びたい肥は、汚水処理によって発生した余剰汚泥を乾燥させたものや、動物の排泄物に植物質原料を加え堆積・発酵させたものであり、この適用範囲の形態に類似していると考えられる。よって、汚泥肥料及びたい肥からダイオキシン類を抽出する方法として、高速溶媒抽出装置を用いたヘキサン-アセトン(1+1)及びトルエンによる抽出の適否について次のとおり検討した。

肥料中のダイオキシン類を2.3(1)A)高速溶媒抽出によりヘキサン-アセトン(1+1)で抽出した。また、同様に2.3(1)B)ソックスレー抽出によりトルエン抽出した。ヘキサン-アセトン(1+1)による抽出液は2%塩化ナトリウム水溶液で液々抽出によりアセトンを除去し、トルエンによる抽出液は減圧濃縮により溶媒を除去し、以下本法によって肥料中のダイオキシン各異性体濃度、同族体濃度及び毒性等量を求めた。

その結果、表5のとおり、従来のソックスレー抽出法の定量値に比較してヘキサン-アセトン(1+1)による高速溶媒抽出法の定量値は78~128%であり、抽出方法間による差はみられなかった。なお、クリーンアップスパイク用内標準液の回収率は80~118%であった。

なお、トルエンによる抽出も試みたが、抽出液に多量の夾雑物が溶出し、粘性が高くなってしまふことから、抽出中に装置が圧力過剰で停止する場合があった。また、抽出が正常に行われた試料でも精製が極めて困難であった。このため、トルエンは抽出溶媒には適さないものと判断し、ヘキサン-アセトン(1+1)についてのみ検討することとした。

表5 抽出方法による汚泥肥料中のダイオキシン類の定量値等への影響

異性体等	目標 定量下限 (pg/g)	ソックスレー抽出		高速溶媒抽出	
		トルエン 定量値 (pg/g)	ヘキサン-アセトン(1+1) 定量値 (pg/g)	割合 ¹⁾ (%)	
PCDDs	2,3,7,8- TeCDD	1	0.6 ²⁾	0.5 ²⁾	—
	1,2,3,7,8- PeCDD	1	2.5	3.2	128
	1,2,3,4,7,8- HxCDD	2	2.8	2.8	100
	1,2,3,6,7,8- HxCDD	2	10.4	9.5	91
	1,2,3,7,8,9- HxCDD	2	6.6	6.2	94
	1,2,3,4,6,7,8- HpCDD	2	171	140	82
	1,2,3,4,6,7,8,9- OCDD	5	3340	2970	89
	TeCDDs		619	563	91
	PeCDDs		129	122	95
	HxCDDs		82.4	84.4	102
HpCDDs		349	272	78	
PCDFs	2,3,7,8- TeCDF	1	4.0	3.4	86
	1,2,3,7,8- PeCDF	1	2.9	2.6	92
	2,3,4,7,8- PeCDF	1	4.2	4.6	108
	1,2,3,4,7,8- HxCDF	2	6.0	6.2	104
	1,2,3,6,7,8- HxCDF	2	6.0	5.8	96
	1,2,3,7,8,9- HxCDF	2	0.6 ²⁾	0.5 ²⁾	—
	2,3,4,6,7,8- HxCDF	2	8.5	7.5	88
	1,2,3,4,6,7,8- HpCDF	2	56.1	56.9	101
	1,2,3,4,7,8,9- HpCDF	2	5.6	5.1	91
	1,2,3,4,6,7,8,9- OCDF	5	138	126	91
	TeCDFs		81.4	68.6	84
	PeCDFs		65.0	66.9	103
	HxCDFs		69.3	70.0	101
HpCDFs		126	126	100	
ノンオルト	3,3',4,4'- TeCB (#77)	2	225	200	89
Co-PCBs	3,4,4',5- TeCB (#81)	2	14.0	11.7	84
	3,3',4,4',5- PeCB (#126)	2	23.6	21.5	91
	3,3',4,4',5,5'- HxCB (#169)	2	4.6	4.0	87
モノオルト	2,3,3',4,4'- PeCB (#105)	2	753	751	100
Co-PCBs	2,3,4,4',5- PeCB (#114)	2	96.4	109	113
	2,3',4,4',5- PeCB (#118)	2	1720	1910	111
	2',3,4,4',5- PeCB (#123)	2	45.9	44.2	96
	2,3,3',4,4',5- HxCB (#156)	2	478	412	86
	2,3,3',4,4',5'- HxCB (#157)	2	122	105	86
	2,3',4,4',5,5'- HxCB (#167)	2	133	123	92
	2,3,3',4,4',5,5'- HpCB (#189)	2	34.3	32.3	94
	毒性等量	PCDDs+PCDFs (TEQ)		12.3	12.3
	Co-PCBs (TEQ)		2.6	2.4	91
	総計 (TEQ)		14.9	14.7	98

1) ソックスレー抽出の定量値等に対する割合

2) 目標定量下限未満、検出下限以上の測定値

2) 汚泥肥料及びたい肥を用いた2方法間の測定値及び毒性等量の比較

汚泥肥料及びたい肥における高速溶媒抽出法と従来のソックスレー抽出法の2方法を比較するため、汚泥肥料(12検体)及びたい肥(1検体)について、それぞれの方法で前処理し、GC/MSでダイオキシン類を測定し、PCDD+PCDF毒性等量、Co-PCB毒性等量及び総毒性等量を算出した。

いずれも目標定量下限値以上の分析対象物質の各測定値及び各毒性等量について、次のとおり解析した。まず、高速溶媒抽出法及び従来のソックスレー抽出法の定量値及び毒性等量について、回帰直線(図2及び3)を作成して相関係数を求めた。その結果、表6及び7のとおり、各異性体の測定値ではいずれも0.945以上であり、毒性等量においてはPCDDs+PCDFsで0.984、Co-PCBsでは0.966、総計では0.987であり、ソックスレー抽出法と高速溶媒抽出法から得られた毒性等量の間には高い正の相関が見られた。なお、各試料に添加したクリーンアップスパイク用内標準物質の各回収率は72~118%であり、環境関連の測定法に規定されている回収率の範囲内であった。また、いずれの試料においてもヘキサン-アセトン(1+1)による抽出液は硫酸処理を十分に行うことによって、GC/MSにおけるロックマスモニターは乱れず、ダイオキシン類の測定は妨害されなかった。

以上のことから、高速溶媒抽出法においても、ソックスレー抽出法と同等なレベルで汚泥肥料とたい肥からダイオキシン類を抽出できることがわかった。また、高速溶媒抽出法を用いることにより、従来のソックスレー抽出法ではこの操作に3日必要であったが、作業時間は半日に短縮され、試験時間の迅速化が図れた。

表6 高速溶媒抽出及びソックスレー抽出による肥料中のダイオキシン類異性体の定量値の比較

異性体	データ数 ¹⁾	回帰直線 ²⁾		
		相関係数	傾きa	切片b
(PCDD)				
2,3,7,8-TeCDD	0	—	—	—
1,2,3,7,8-PeCDD	26	0.951	0.991	-0.049
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0	—	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDD	24	0.978	0.958	-0.590
1,2,3,7,8,9-HxCDD	16	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	26	0.978	0.972	-2.599
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	26	0.976	0.905	25.56
(PCDF)				
2,3,7,8-TeCDF	26	0.975	0.895	-0.221
1,2,3,7,8-PeCDF	18	0.990	0.942	-0.076
2,3,4,7,8-PeCDF	26	0.945	0.934	-0.007
1,2,3,4,7,8-HxCDF	10	—	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0	—	—	—
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0	—	—	—
2,3,4,6,7,8-HxCDF	16	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	26	0.990	1.018	-1.268
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	10	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	24	0.990	0.975	-0.735
(ノンオルト Co-PCB)				
3,3',4,4'-TeCB(#77)	26	0.999	0.989	-10.60
3,4',4',5'-TeCB(#81)	24	0.999	0.858	0.659
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	26	0.980	0.886	0.826
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	12	—	—	—
(モノオルト Co-PCB)				
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	24	0.997	1.024	-17.60
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	26	0.993	1.115	-1.098
2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	26	0.993	0.930	40.22
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	26	0.991	0.948	0.782
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	26	0.982	0.881	15.54
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	26	0.981	0.849	4.698
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	26	0.978	0.903	0.945
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	24	0.967	0.828	1.928

1) 汚泥肥料(12検体)及びたい肥(1検体)を定量し、目標定量下限以上の定量値を比較した。

2) 20以上の比較データ数について回帰直線及び相関係数を求めた。

表7 高速溶媒抽出及びソックスレー抽出による飼料中のダイオキシン類毒性等量の比較

異性体	データ数 ¹⁾	回帰直線 ²⁾		
		相関係数	傾きa	切片b
PCDDs+PCDFs	26	0.984	0.992	-0.587
Co-PCBs	26	0.966	0.904	0.045
総計	26	0.987	0.991	-0.642

1) 汚泥肥料(12検体)及びたい肥(1検体)を定量し、目標定量下限以上の定量値から毒性等量を算出して回帰直線及び相関係数を求めた。

2) 20以上の比較データ数について回帰直線及び相関係数を求めた。

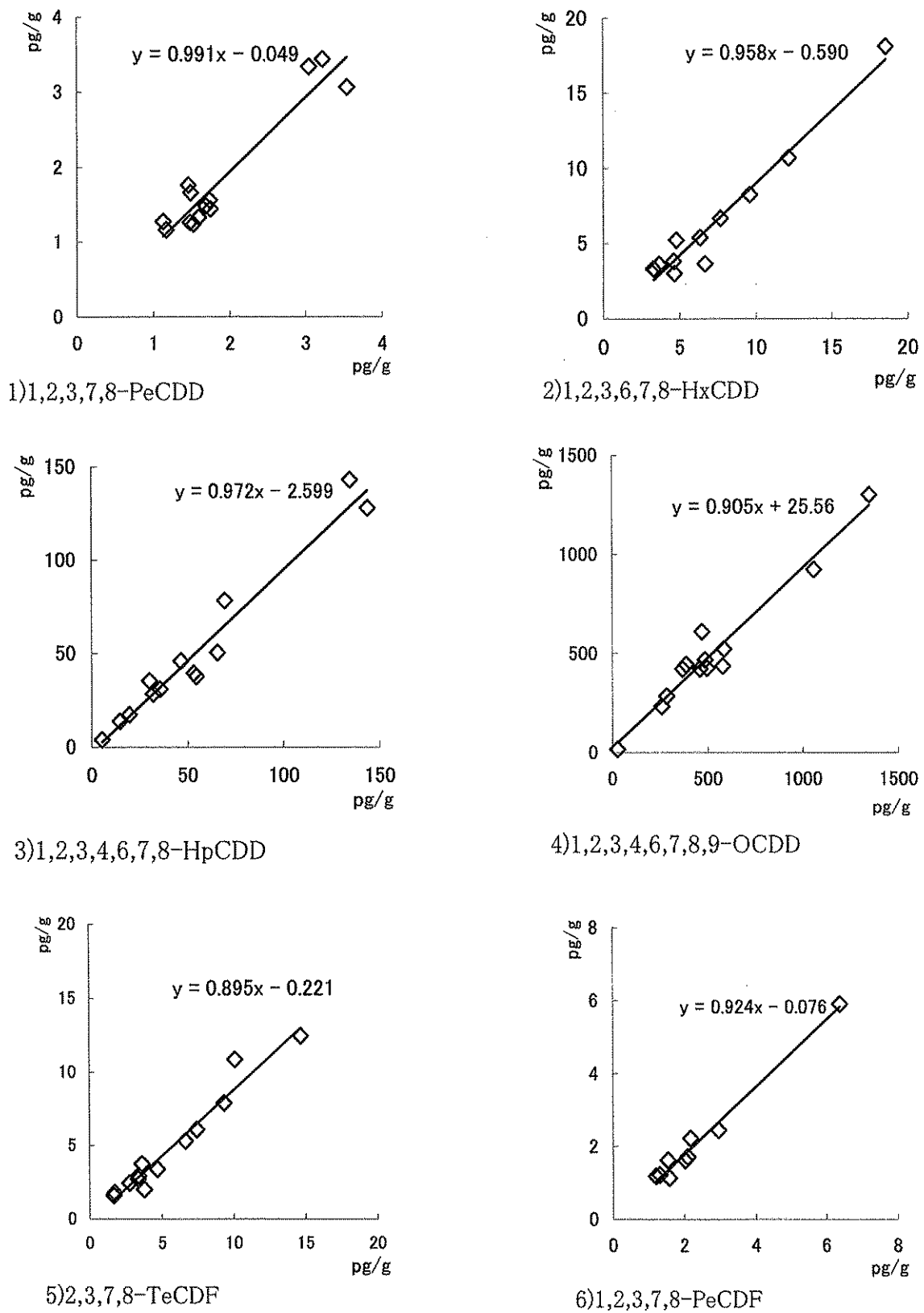


図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較

横軸: ソックスレー抽出による定量値

縦軸: 高速溶媒抽出による定量値

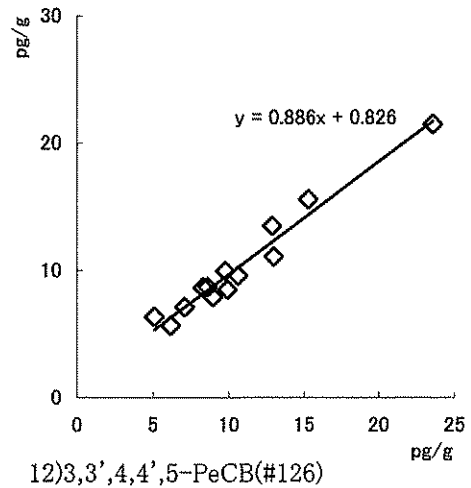
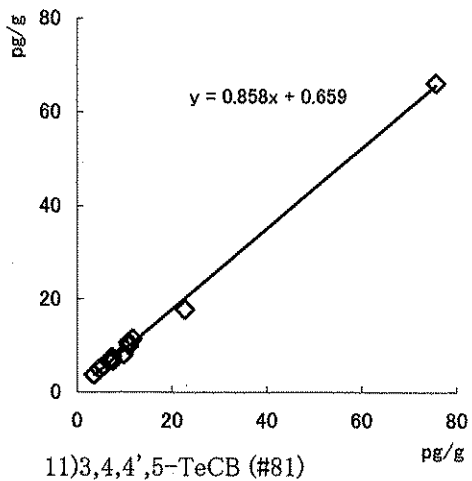
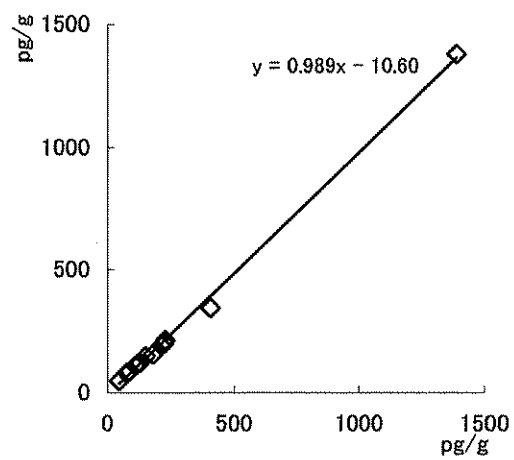
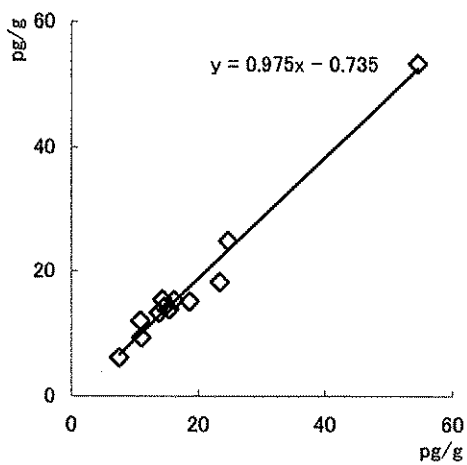
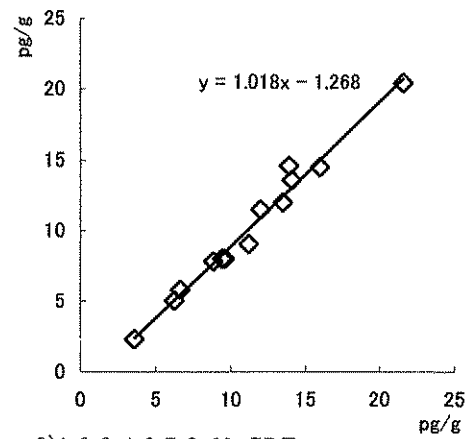
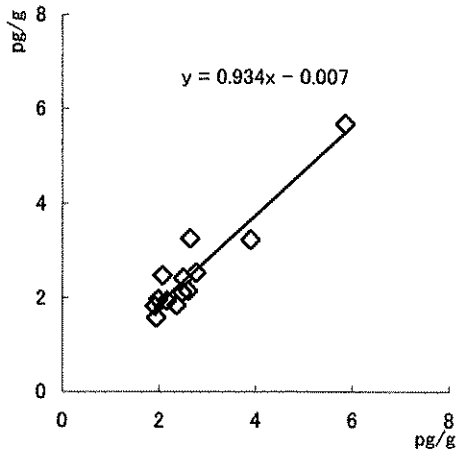


図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較(続き)

横軸: ソックスレー抽出による定量値

縦軸: 高速溶媒抽出による定量値

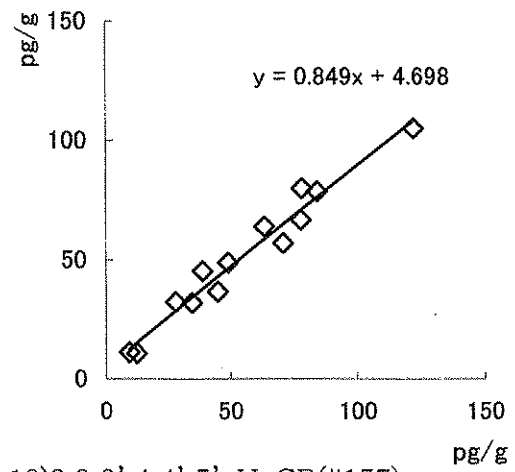
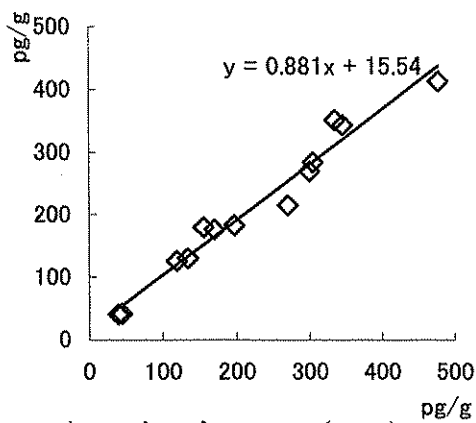
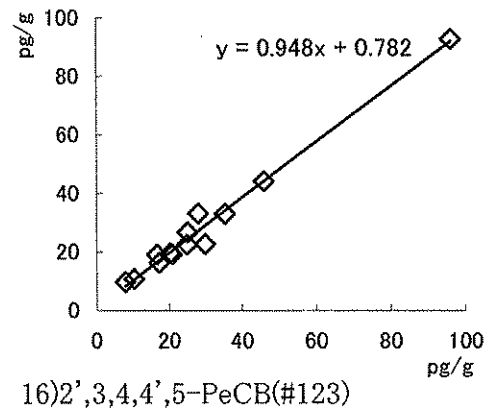
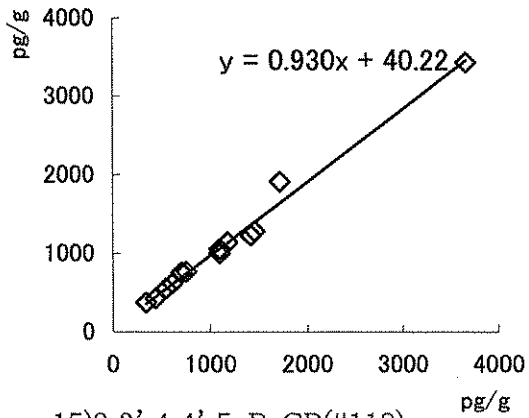
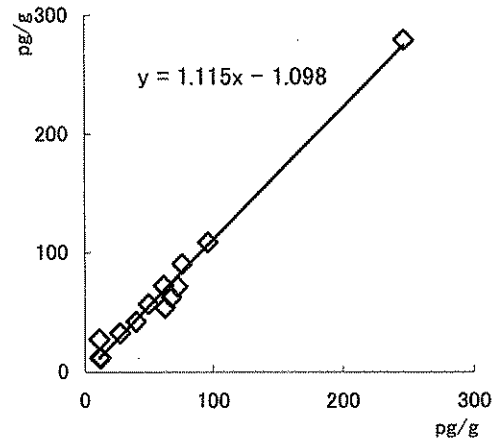
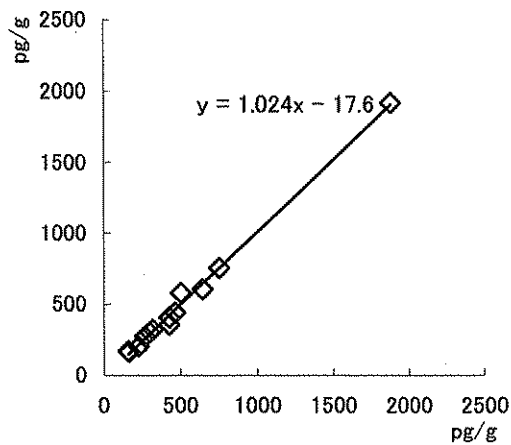
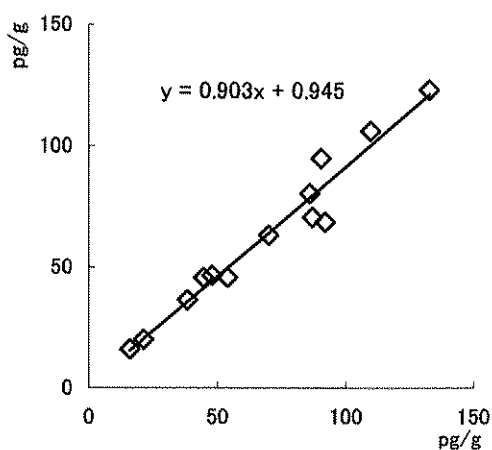


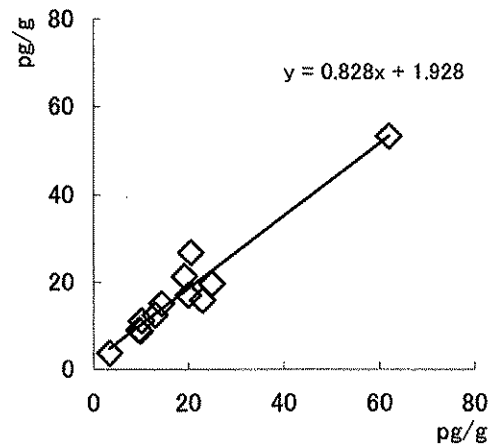
図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較(続き)

横軸: ソックスレー抽出による定量値

縦軸: 高速溶媒抽出による定量値



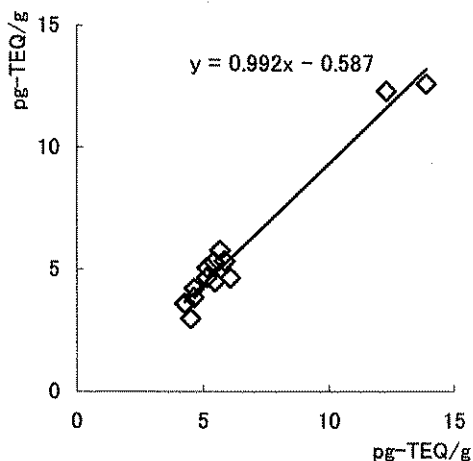
19) 2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)



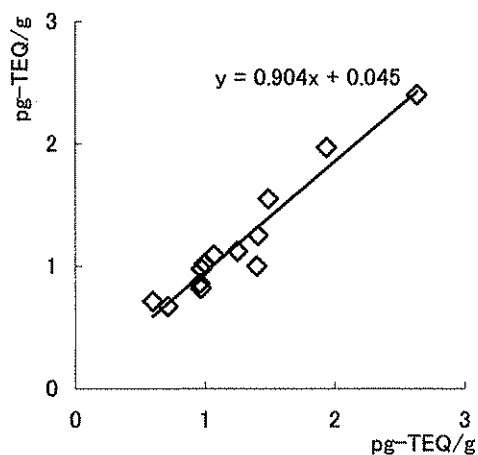
20) 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)

図2 抽出方法によるダイオキシン類異性体の定量値の比較(続き)

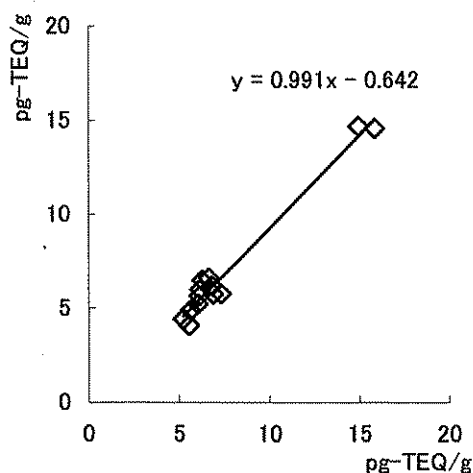
横軸: ソックスレー抽出による定量値
縦軸: 高速溶媒抽出による定量値



1) PCDDs+PCDFs



2) Co-PCBs



3) 総計

図3 抽出方法によるダイオキシン類
毒性等量の比較

横軸: ソックスレー抽出による定量値
縦軸: 高速溶媒抽出による定量値

3) 併行試験

高速溶媒抽出法による繰り返し精度を確認するために、汚泥肥料 5 検体を用いて、それぞれの試料について 3 回繰り返し分析を行った結果から相対標準偏差を求めた。その結果を表 8 及び 9 に示す。異性体毎の定量値から求めた相対標準偏差は、0.7~24.7%であり、毒性等量から求めた相対標準偏差は PCDDs+PCDFs で 0.9~4.9%、Co-PCBs で 1.9~4.7%、総計で 0.5~4.6%であった。

表8 高速溶媒抽出法による繰り返し試験の定量値の平均値と相対標準偏差

異性体	1		2		3		4		5	
	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差 ¹⁾ (%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)	平均値 (pg/g)	相対標準 偏差(%)
(PCDD)										
2,3,7,8-TeCDD	—	—	—	—	—	—	1.6	8.3	—	—
1,2,3,7,8-PeCDD	1.6	18.9	—	—	3.6	5.1	3.7	11.4	3.5	16.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	—	—	—	—	3.2	15.3	—	—	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDD	—	—	2.8	11.3	8.8	8.1	10.7	6.1	17.9	6.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	—	—	—	—	5.5	8.7	6.4	2.1	9.1	6.5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	3.7	4.5	35.4	10.1	135	6.7	79.9	2.4	150	5.1
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	—	—	501	18.4	1020	5.8	460	6.8	1410	5.5
(PCDF)										
2,3,7,8-TeCDF	8.0	1.9	1.7	9.7	2.6	9.4	13.2	6.1	9.3	6.8
1,2,3,7,8-PeCDF	2.5	24.7	—	—	1.4	18.7	5.3	12.7	—	—
2,3,4,7,8-PeCDF	3.4	13.4	1.9	7.5	2.3	8.2	5.9	5.6	1.8	12.8
1,2,3,4,7,8-HxCDF	—	—	—	—	—	—	5.2	4.2	—	—
1,2,3,6,7,8-HxCDF	—	—	—	—	—	—	4.8	12.2	—	—
1,2,3,7,8,9-HxCDF	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,3,4,6,7,8-HxCDF	—	—	3.3	3.9	2.8	3.4	5.8	6.0	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.4	4.2	13.4	8.0	11.0	8.6	20.6	0.7	10.2	6.8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	—	—	14.4	7.3	13.2	8.7	55.5	5.3	14.2	10.2
(ノンオルト Co-PCB)										
3,3',4,4'-TeCB(#77)	77.5	3.4	112	1.4	132	2.2	1370	5.8	1420	4.1
3,4,4',5'-TeCB(#81)	10.9	4.0	6.5	4.4	8.5	8.0	69.9	4.7	67.6	5.4
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	8.3	3.6	8.5	4.7	20.5	4.7	16.0	2.5	35.1	3.7
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	—	—	—	—	4.1	8.2	2.0	5.2	4.5	7.0
(モノオルト Co-PCB)										
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	167	2.2	305	4.4	591	7.3	203	10.0	1640	3.7
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	11.4	9.3	28.0	5.5	74.5	3.2	283	7.5	193	10.8
2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	420	4.3	750	3.1	1590	2.0	3550	4.3	3000	9.8
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	9.0	17.2	16.9	11.3	40.4	1.8	96.5	9.5	88.0	7.1
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	44.5	5.5	132	10.3	287	10.1	293	3.6	602	4.4
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	11.0	1.4	31.2	1.8	79.7	2.7	64.6	2.3	139	3.1
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	20.4	2.5	45.3	2.7	108	9.8	105	1.5	181	9.7
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	3.4	9.0	7.9	9.5	23.6	4.7	20.5	5.7	55.5	9.2

1) 汚泥肥料(5検体)を3回繰り返し測定し、目標定量下限以上の定量値について平均値及び相対標準偏差を求めた。

表9 高速溶媒抽出法による繰り返し試験の毒性等量の平均値と相対標準偏差

異性体	1		2		3		4		5	
	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差 ¹⁾ (%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)	毒性等量 (pg/g-TEQ)	相対標準 偏差(%)
PCDDs+PCDFs	5.2	3.0	4.4	4.9	9.6	0.9	13.3	4.2	11.1	4.5
Co-PCBs	0.9	3.1	1.0	4.3	2.3	4.7	2.0	1.9	4.0	3.4
総計	6.1	2.2	5.4	4.6	11.8	0.5	15.3	3.9	15.1	4.0

1) 汚泥肥料(5検体)を3回繰り返し測定し、目標定量下限以上の定量値から毒性等量を算出して平均値及び相対標準偏差を求めた。

4. まとめ

汚泥肥料及びたい肥中のダイオキシン類の測定方法として、「飼料中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン」が適用可能であるか検討したところ、以下の結果が得られた。

(1) ヘキサン-アセトン (1+1)による高速溶媒抽出法とトルエンによるソックスレー抽出法について比較したところ、抽出方法間による差はなかった。

(2) 高速溶媒抽出法及び従来のソックスレー抽出法の定量値及び毒性等量について、回帰直線を作成して相関係数を求めたところ、いずれも 0.945 以上であった。

(3) また、高速溶媒抽出法による併行試験の結果、異性体毎の定量値では相対標準偏差として 0.7~24.7%であり、同様に PCDDs+PCDFs 及び Co-PCBs, 総計の各毒性等量では 0.5~4.9%であった。

(4) 以上の結果から、汚泥肥料及びたい肥中からダイオキシン類を抽出する方法として、高速溶媒抽出法が適用可能であることがわかった。

文 献

- 1) ダイオキシン類対策特別措置法施行令:平成 11 年 12 月 27 日, 政令第 433 号 (1999)
- 2) 黒川雄二, 井上達: ダイオキシン類のリスクアセスメント 特に国内外の規制状況及び内分泌障害性物質としての作用, 国立衛研報告, **116**, 1~12 (1998)
- 3) JIS K 0311, 排ガス中のダイオキシン類の測定方法 (2005)
- 4) JIS K 0312 工業用水・工場排水中のダイオキシン類の測定方法 (2005)
- 5) 厚生省生活衛生局食品保健課:食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン, 平成 20 年 2 月 (2008)
- 6) 厚生労働省:特別管理一般廃棄物及び特別管理産業廃棄物に係る基準の検定方法, 厚生省告示第 192 号, 平成 4 年 7 月 (1992)
- 7) 環境庁水質保全局土壌農薬課:ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル, 平成 12 年 1 月 (2000)
- 8) 農林水産省生産局畜産部飼料課長通知:飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドライン, 平成 15 年 6 月 26 日, 15 生畜第 1725 号 (2003)
- 9) 農林水産省生産局畜産部飼料課長通知:飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドラインの全面改定について, 平成 16 年 11 月 24 日, 16 消安第 5299 号 (2004). (一部改定), 17 消安第 12544 号, 平成 18 年 3 月 24 日 (2005)
- 10) 山多利秋, 加島信一, 白井裕治:飼料研究報告, **29**, 84~113 (2004)
- 11) 白井裕治, 森藤 香:飼料研究報告, **29**, 150~159 (2004)
- 12) U.S. EPA Method 3545A (2000)

Evaluation of an Accelerated Solvent Extraction Procedure for Determination of Dioxins in Sludge Fertilizer and Compost Using a High Resolution Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (HR-GC/MS)

Jun OKI^{1, (2)}, Yuji SHIRAI¹ and Mariko AIZAWA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Food Safety and Consumer Affairs Information Department

A simple and rapid method for extraction of dioxins (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs)) from sludge fertilizer and compost was developed using an accelerated solvent extraction (ASE) procedure and a high resolution gas chromatograph/mass spectrometer (HR-GC/MS). Dioxins in samples were extracted by the ASE procedure, pressurizing samples at 1500 psi with acetone-hexane (1+1) at 100°C using ASE-300 instrument. These extracts were treated with concentrated sulfuric acid, and were cleaned up with a multi-layer silica gel column. The effluents were cleaned up with an active carbon-dispersed silica gel reversible column to obtain mono-ortho PCBs fraction and PCDDs+PCDFs+non-ortho PCBs fraction. The dioxins in each fraction were analyzed using a HR-GC/MS, and then toxic equivalents (TEQ) of PCDDs+PCDFs, Co-PCBs and the total value were calculated. The developed method produced concentrations of each isomer and TEQ values almost identical to those produced by the conventional soxhlet extraction method in a wide concentration range. The relative standard deviations (RSD) of each isomer and TEQ values, which were obtained from 3 replicate analysis of 5 samples of different sludge fertilizers and compost, were 0.7~24.7% and 0.5~4.9%, respectively. The ASE procedure was evaluated and successfully applied for determination of dioxins in sludge fertilizer and compost. The evaluated procedure is a simple and time-saving procedure and consumes less solvent in preparing samples.

Key words dioxin, sludge fertilizer, compost, accelerated solvent extraction (ASE), high resolution gas chromatography/mass spectrometry (HR-GC/MS)

(Research Report of Fertilizer, 1, 90~113, 2008)

8 ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)法による肥料中の メラミン及びその関連物質の同時測定

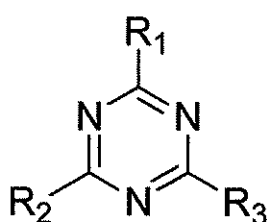
白井裕治¹, 大木 純^{1,2)}

キーワード メラミン, 肥料, ガスクロマトグラフ質量分析法

1. はじめに

メラミンは、尿素の化学合成から得られる化合物であり、主に樹脂の原材料として用いられている。また、メラミンの製造過程において R₁~R₃ の-NH₂ が-OH に置き換わった副産物(図 1)が生ずることがある。メラミン由来の窒素は、土壤中において無機化しないか又は遅く、肥効が期待できない。ケルダール法又は燃焼法を用いてメラミンが混入した肥料を分析した場合、窒素全量として加味されて評価されるものの、表示された窒素分に応じた肥料効果が望めない。よって、メラミン等(メラミン及びその関連物質)の混入は肥料の品質を低下させることから、メラミンを定量する試験法が必要となった。

乾燥たん白原料、ペットフード及び畜産用飼料中のメラミンのガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)によるスクリーニング法が FDA 法(Version 2.1)¹⁾に収載されており、メラミン等がそれぞれ 10 及び 50 mg/kg 添加された試料を用いた回収試験結果が記載されている。しかしながら、数%のメラミン等が混入された肥料に適用するには、メラミン等の抽出効率、肥料の原料に使用された他の塩類等による測定値への影響等を確認する必要がある。よって、定量範囲、頑健性等の試験方法の妥当性の確認を実施したのでその概要を報告する。



	R ₁	R ₂	R ₃	MW	N含有率(%)
メラミン	NH ₂	NH ₂	NH ₂	126.12	67
アンメリン	OH	NH ₂	NH ₂	127.10	55
アンメリド	OH	OH	NH ₂	128.09	44
シアヌル酸	OH	OH	OH	129.07	33

図1 メラミン及びその関連物質の構造式

2. 材料及び方法

1) 分析試料の調製

植物油かす, 魚かす粉末, 魚廃物加工肥料, 混合有機質肥料, 配合肥料及び化成肥料を目開き 500

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² (現)独立行政法人農林水産消費安全技術センター消費安全情報部

µmのふるいを全通するまで超遠心粉碎機で粉碎し、混合して分析試料とした。分析試料はビニール袋に入れ、常温で保存した。

2) 試薬等の調製

- (1) 水: MILLIPORE Milli-Q Academi A10 で精製した水。
- (2) アセトニトリル: JIS K 8039 に規定する残留農薬・PCB 試験用(濃縮 300)試薬。
- (3) ジエチルアミン: 特級試薬。
- (4) ピリジン(脱水): 純度 99.5%以上及び水分 0.05 mg/mL 以下の有機合成用試薬。なお、開封後は硫酸ナトリウム(無水)適量を加えて密栓して保管した。
- (5) 誘導体化試薬: ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド-トリメチルクロロシラン(99+1)は、SUPELCO から販売されている BSTFA-TMCS(99+1)を用いた。
- (6) メラミン等標準液(0.5 mg/mL): メラミン[C₃H₆N₆] (和光純薬工業), アンメルン[C₃H₅N₅O] (東京化成工業), アンメリド[C₃H₄N₄O₂] (東京化成工業)及びシアヌル酸[C₃H₃N₃O₃] (関東化学)各約 0.05 g をそれぞれひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定した。少量のジエチルアミン-水(1+4)で溶かし、それぞれ全量フラスコ 100 mL に移し入れ、標線まで同溶媒を加えた。
- (7) 混合標準液(50 µg/mL): 各メラミン等標準液(0.5 mg/mL) 5 mL を全量フラスコ 50 mL にとり、標線までジエチルアミン-水-アセトニトリル(1+4+5)を加えた。

3) 器具及び装置

- (1) ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)
ガスクロマトグラフ: Shimadzu GC-2010
質量分析計: Shimadzu GCMS-QP2010 Plus
カラム: Restek Rtx-5ms(内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 µm)
- (2) 超音波発生器: AS ONE US-4R(超音波洗浄機: 発信周波数 40 kHz, 出力 160 W)
- (3) 高速遠心分離器: AS ONE MCD-2000
- (4) 遠心エバポレーター: EYELA CVE-3100
- (5) 水浴: BÜCHI B-490

4) 試験操作

(1) 抽出

分析試料 0.50 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200~300 mL に入れた。ジエチルアミン-水-アセトニトリル(1+4+5) 160~200 mL を加え、超音波発生器を用いて 30 分間超音波処理し、約 1.5 mL をポリプロピレン製遠心沈殿管 1.5 mL にとり、10,000 rpm で 5 分間遠心分離した。上澄み液 1 mL を全量フラスコ 5~50 mL にとり、ジエチルアミン-水-アセトニトリル(1+4+5)を標線まで加えて抽出液とした。

(2) 誘導体化

抽出液 0.2 mL をスクリュ-栓付き試験管 5~10 mL にとり、70°Cの濃縮器で減圧濃縮し、完全に溶媒を揮散させた。ピリジン(脱水)0.3 mL 及び誘導体化試薬 0.2 mL を残留物に加えて混合し、栓をして密封した。70°C水浴中で 45 分間加熱した後、放冷して試料溶液を調製した。

同時に、混合標準液(50 µg/mL) 5 mL を全量フラスコ 50 mL にとり、標線までジエチルアミン-水-アセト

ニトリル(1+4+5)を加えて混合標準液(5 µg/mL)とした。混合標準液(5 µg/mL)1~20 mLを全量フラスコ 50 mLに段階的にとり、標線までジエチルアミン-水-アセトニトリル(1+4+5)を加え、混合標準液(0.1~5 µg/mL)とした。混合標準液(0.1~5 µg/mL)を抽出液と同様の誘導体化操作を行い、0.04~2 µg/mL相当量の検量線用混合標準液を調製した。

(3) 測定

各検量線用混合標準液 1 µLをGC/MSに注入し、表 1-1 及び 1-2 の条件で測定対象物質の定量用イオン(m/z)を測定し、得られたピーク面積又は高さから検量線を作成した。試料溶液 1 µLをGC/MSに注入し、ピーク面積又は高さから試料溶液中の各測定対象物質量を求め、分析試料中の各測定対象物質濃度を算出した。

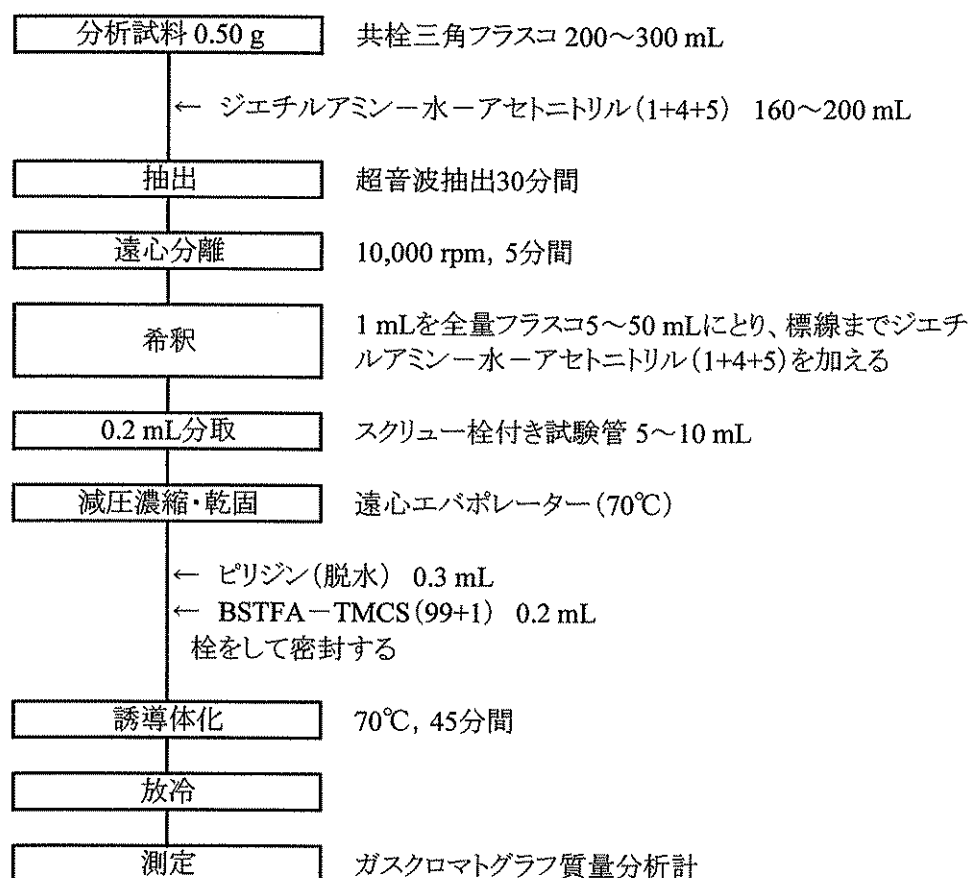


図2 肥料中のメラミン及びその関連物質の試験法フローシート

表1-1 GC/MS条件

(GC部)	
装置	Shimadzu GC-2010
カラム	Rtx-5ms(内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 μ m)
昇温条件	100°C (1 min) – 15°C/min – 320°C (3 min)
試料導入方法	スプリットレス(1 min)
試料導入部温度	280°C
キャリアガス	ヘリウム 1.5 mL/min
インターフェース温度	250°C
(MS部)	
装置	Shimadzu GCMS-QP2010Plus
イオン化モード	電子衝撃イオン化法(EI)
イオン化電圧	70 V
イオン源温度	230°C
イオン検出方式	選択イオン検出法(SIM)

表1-2 測定対象物質のフラグメントイオン

測定対象物質	測定フラグメントイオン(m/z)				
	定量用	確認用	確認用	確認用	確認用
メラミン	342	344	327	285	213
アンメリン	328	345	343	285	214
アンメリド	344	346	329	214	198
シアヌル酸	345	347	330	215	188

3. 結果及び考察

1) 測定条件

メラミン等検量線用混合標準液(各 2 μ g/mL 相当量)の GC/MS の定量用イオンのクロマトグラムを図 3 に示した。メラミン、アンメリン、アンメリド及びシアヌル酸の各ピーク形状及び分離度は満足するものであった。0.01~5 μ g/mL 相当量の検量線用混合標準液を調製し、本法に従って検量線を作成した。その結果、0.04~2 μ g/mL 相当量の範囲で直線性のある検量線が得られた。

2) 抽出方法

FDA 法では分析試料 0.5 g を抽出溶媒 20 mL を加えて抽出し、希釈せずに誘導体化の操作を行って試料溶液を調製している。この場合、分析試料中のメラミン等の含有量が 0.25%を超えると検量線の範囲を逸脱することになる。また、ジエチルアミン-水(1+4)をアンメリン 0.1 g に加えて超音波処理したところ、アンメリンの不溶物が残存していた。

これらのことから、抽出溶媒 20 mL を 160~200 mL とし、更に希釈操作(5~50 倍)を追加することとした。50 倍に希釈した場合、分析試料中のメラミン等の定量範囲は 0.2~10%となり、その定量範囲未満のメラミン等を測定する場合は希釈倍率を下げた。なお、メラミン等の含有量がそれぞれ 10%を超える場合は分析試料の採取量を更に減らす必要が生じた。

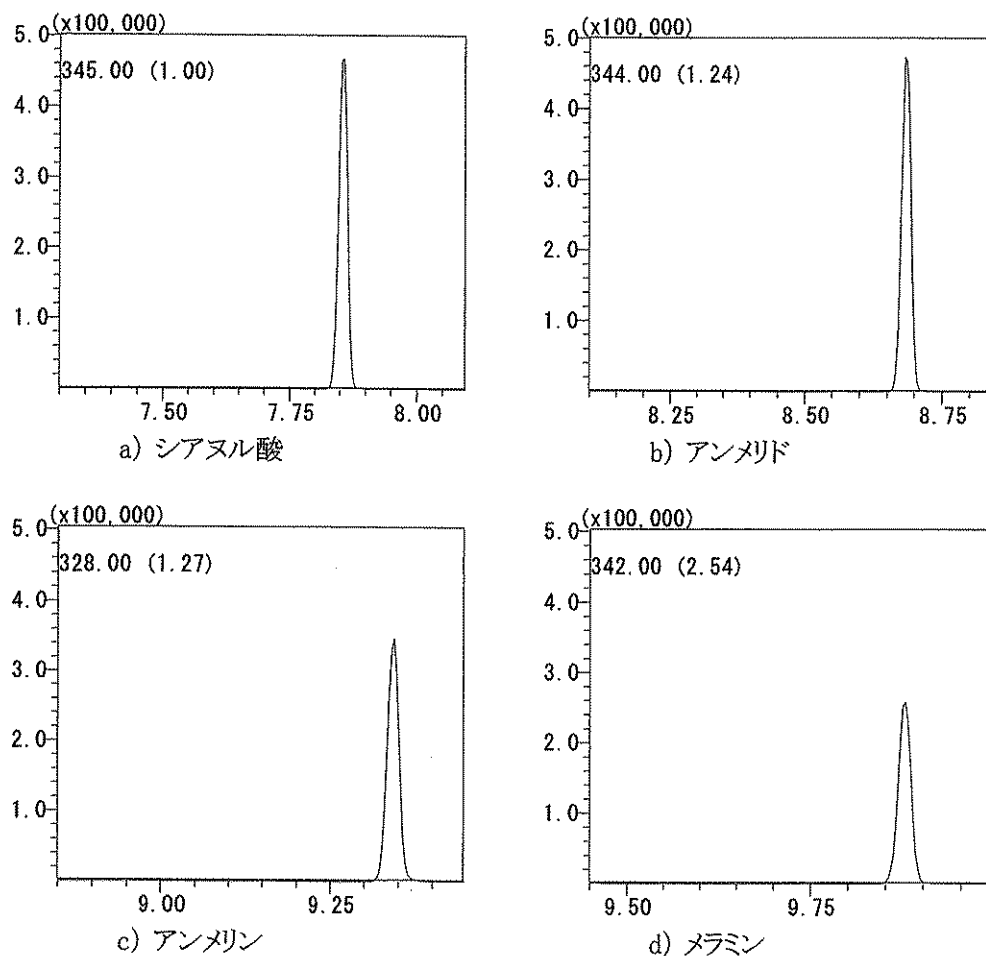


図3 メラミン及びその関連物質のGC/MSの定量用イオン(SIM)のクロマトグラム
 メラミン及びその関連物質各2 ng相当量
 GC/MSの測定条件 表1-1及び1-2を参照のとおり

3) マトリックスの影響

市販の大豆油かす、米ぬか油かす、魚かす粉末(3点)、魚廃物加工肥料(2点)、混合有機質肥料(3点)、配合肥料(2点)及び化成肥料(3点)を本法に従って測定したところ、定量を妨害する夾雑ピークはなかった。

4) 添加回収試験

大豆油かす、魚かす粉末、魚廃物加工肥料、混合有機質肥料、配合肥料及び化成肥料に添加したメラミン等の回収試験結果を表2に示した。各分析試料中のメラミン等の含有量として10%及び0.2%になるようにそれぞれ添加し、3点併行試験を実施したところ、平均回収率は92.1~102.9%及び90.3~102.2%で、それら繰り返し精度は相対標準偏差0.9~10.5%及び0.9~9.1%であった。

表2 メラミン及びその関連物質の回収試験結果 (%)

	含有量 ¹⁾	メラミン		アンメリン		アンメリド		シアヌル酸	
		Mean ²⁾	RSD ³⁾	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
大豆油かす	10	101.6	5.3	93.6	3.1	98.1	3.6	98.6	3.2
	0.2	101.0	2.6	96.3	4.4	96.7	6.0	100.1	4.0
魚かす粉末	10	100.6	3.6	94.8	4.0	98.1	1.9	97.2	2.7
	0.2	97.5	9.1	99.7	2.6	98.4	1.4	100.3	0.6
魚廃物加工肥料	10	96.3	3.2	97.1	2.1	95.4	2.6	92.1	0.9
	0.2	101.5	7.9	102.2	3.8	99.8	1.1	98.5	2.3
混合有機質肥料	10	99.0	10.5	98.2	4.0	96.0	7.2	95.4	5.4
	0.2	99.8	7.9	99.2	2.0	96.4	5.1	98.9	2.9
配合肥料	10	100.7	2.5	94.5	4.5	94.6	1.4	96.0	1.1
	0.2	92.7	6.6	98.2	5.1	94.0	4.6	91.5	2.4
化成肥料	10	102.9	5.9	97.4	5.3	93.9	1.7	94.0	3.0
	0.2	96.2	5.8	95.7	3.2	94.0	3.4	90.3	2.6

1) メラミン等の含有量

2) 3点併行試験の平均値

3) 相対標準偏差

5) 定量下限の確認

配合肥料を用いてメラミン等の定量下限確認の試験結果を表3に示した。分析試料中のメラミン等の含有量として0.02%になるようにそれぞれ添加して8点併行試験を実施したところ、平均定量値は0.0199~0.0203%で、それら繰り返し精度は標準偏差0.0009~0.0013%であった。定量下限値は(標準偏差)×10、また、検出下限は(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)として示される⁵⁾ので、本法の定量下限値及び検出下限は0.01%程度及び0.005%程度と推定された。

表3 メラミン及びその関連物質の定量下限の確認 (%)

	含有量 ¹⁾	配合肥料		定量下限 推定値 ⁴⁾	検出下限 推定値 ⁵⁾
		Mean ²⁾	SD ³⁾		
メラミン	0.02	0.0203	0.0009	0.009	0.003
アンメリン	0.02	0.0200	0.0010	0.010	0.004
アンメリド	0.02	0.0201	0.0013	0.013	0.005
シアヌル酸	0.02	0.0199	0.0011	0.011	0.004

1) メラミン等の含有量

2) 8点併行試験の平均値

3) 標準偏差

4) 標準偏差×10

5) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4. まとめ

肥料中のメラミン及びその関連物質の試験法の妥当性確認のための試験を実施したところ、つぎのとおり満足する成績を得た。

- 1) 分析試料の採取量及び抽出溶媒量を変更し、更に希釈操作を追加することにより、肥料中のメラミン等の含有量 10%まで定量することが可能となった。
- 2) 市販の肥料についてメラミン等の測定を実施した結果、定量を妨害する夾雑ピークはなかった。
- 3) メラミン等の含有量が 10%及び 0.2%になるように添加した 6 種類の肥料を用いて回収試験を実施した結果、平均回収率は 92.1~102.9%及び 90.3~102.2%で、それらの相対標準偏差は 0.9~10.5%及び 0.6~9.1%であった。
- 4) 本法のメラミン等の定量下限はそれぞれ 0.01%程度と推定された。
なお、参考のため、試験方法を FAMIC ホームページに掲載した^{2, 3)}。

文 献

- 1) U.S. Food and Drug Administration (FDA), GC-MS Screen for the Presence of Melamine, Ammeline, Ammelide and Cyanuric Acid (Version 2.1) (2007)
- 2) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): メラミンの試験法
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub5_4/LI_1.htm>
- 3) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Validation of Gas Chromatography/Mass Spectrometry for Determination of Melamine and Its Degradation Products in Fertilizer

Yuji SHIRAI¹ and Jun OKI^{1, (2)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Food Safety and Consumer Affairs Information Department

Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS method) for determination of melamine was validated. Melamine was extracted with diethylamide-water-acetonitrile. The extract was centrifuged and a portion of the supernatant was removed and dried using a centrifuge-evaporator. After pyridine and BSTFA-TMCS (99+1) was added, the solution was heated at 70°C for derivatization. The melamine derivations were analyzed by a GC/MS connecting Rtx-5ms (0.25 mm internal diameter, 30 m length, 0.25 µm thick). As a result of 3 replicate analysis of 5 fertilizer samples, the mean recoveries and the relative standard deviations (RSD) were 90.3~102.2% and 0.6~10.5%, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of melamine added samples the LOQ values were 0.01% for all melamine samples. The results demonstrated the validity of the GC/MS method for determination of melamine in fertilizer.

Key words melamine, melamine degradation products, fertilizer, gas chromatograph/mass spectrography

(Research Report of Fertilizer, 1, 114~121, 2008)

9 汚泥肥料の予備乾燥方法の評価

相澤真理子¹, 白井裕治¹, 杉村靖^{1,(2)}, 高橋雄一¹,
大木純^{1,(3)}, 福地幸夫¹, 引地典雄^{1,(4)}

キーワード 汚泥肥料, 予備乾燥, 窒素全量, 炭素全量, 燃焼法, 水分計

1. はじめに

近年, その流通量が増大している¹⁾汚泥肥料は, その原料がし尿汚泥, 下水汚泥など多様であり, たい肥化や乾燥を行い製品化しているものもあるが乾燥工程をもたないものも多く, その品質にばらつきがあり, 比較的水分が高いものが多い。

汚泥肥料は主要な成分の含有量を現物当たりの数値で保証票に記載することが義務づけられている²⁾。また, 公定規格において, 汚泥肥料中の含有を許される有害成分は乾物当たりの量と規定されている³⁾。

肥料分析法においては, 分析用試料の調製法は一部の種類の肥料を除き, 目開き500 μmの網ふるいを全通するまで粉砕することとなっている⁴⁾。また, 水分の含有量が高く粉砕が困難な肥料については, 風乾試料を粉砕することとしており, 天日乾燥又は低温で十分に乾燥し, さらに室内に一昼夜放置して乾燥状態とすることとされているが, 乾燥の際の温度及び時間の詳細は記されていない。水分以外の成分が変化しないように, なるべく低温又は常温での予備乾燥を行うことが望ましい⁵⁾と考えられるが, 検査結果を迅速に判定することが求められているため, 予備乾燥に必要以上に時間をかけることを避け, ある程度の温度を加える必要がある。製造事業場, 保管施設等で採取した試験品(現物)を予備乾燥及び粉砕することにより, 試料内の均質性が高まり, 分析時における操作も容易となり, 未乾燥品の再発酵等による試験品の含有成分量の変化や腐敗が防止される。しかしながら, 加温により揮発成分の発散や発酵による含有成分量の変化等も懸念される。

このことから, 予備乾燥を実施せずに調製した分析用試料と予備乾燥を含めて調製した分析用試料を用い, 炭素全量及び窒素全量を測定し, 炭素全量の乾物換算値及び現物換算値の比較により, 不揮発成分分析値の乾物及び現物あたりの定量値への換算における予備乾燥の影響を調査した。さらに, 窒素全量の現物換算値の比較により揮発成分の定量に対する予備乾燥の影響を調査し, 予備乾燥の条件を検討したので報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料の調製

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター消費安全情報部

⁴ (現)農林水産省消費・安全局農産安全管理課

予備乾燥の温度及び時間の条件には、40℃で60~70時間(条件Lとする)、65℃で5~24時間(条件Hとする)の2条件を設定した。同銘柄肥料の試験品について、各条件で予備乾燥した試料と未乾燥の試料を準備し、それぞれを粉砕して分析用試料とした。

なお、以下の試験報告では、条件L及び条件Hにて予備乾燥・粉砕し調製した分析用試料をそれぞれ試料L及び試料H、乾燥を行わずに粉砕し調製した分析用試料を試料Wと記すこととする。

(1) 装置及び器具

秤量容器:ポリプロピレン製, フィラー入ディスプレイ(300 mm×210 mm×37 mm)

定温乾燥器:ヤマト科学製 DF62

超遠心粉砕機:Retsch 製 ZM100, Retsch 製 ZM1

ミキサー:Oster 製 Blender

ふるい:JIS Z 8801⁶⁾に規定されている目開き500 µm及び1 mmの網ふるい

(2) 試験品の採取及び保管

汚泥発酵肥料22点, し尿汚泥肥料10点, 及び工業汚泥肥料2点(計34点)を試験品として分析に供した。試験品は2~3 kgを採取し, ビニール袋に入れて密封し, 分析用試料の調製時まで冷暗所で保存した。

(3) 予備乾燥及びその乾燥減量の測定

よく混合した試験品0.3~0.5 kgを予め質量を0.1 gの桁まで測定した秤量容器に拡げ, 0.1 gの桁まで測定した。定温乾燥器を用いて条件L又は条件Hで予備乾燥させ, 放冷して室温に戻した後, 0.1 gの桁までその質量を測定した。

(4) 粉砕

条件L及び条件Hで予備乾燥を行った試料は, 目開き500 µmの網ふるいを全通するまで超遠心粉砕機で粉砕し, よく混合して分析用試料を調製した。乾燥を行わなかった試験品はミキサーで粉砕した後1 mmの網ふるいを通し, 網ふるい上の試料を目開き1 mmの網ふるいを全通するまで超遠心粉砕機で粉砕し, 網ふるい下の試料と均一に混合して分析用試料を調製した。

2) 分析試料中の測定

(1) 装置及び器具

加熱乾燥式水分計: METTLER TOREDO 製 HG53

燃焼法全炭素全窒素測定装置:住化分析センター製 SUMIGRAPH NC-220F

(2) 加熱乾燥式水分計による乾燥減量の測定⁷⁾

分析試料約5 gをひょう量皿にとり, 厚さが10 mm以下になるように拡げ, 0.001 gの桁まで質量を測定した。100℃で加熱して乾燥し, 継続的に重量をモニターし, 加熱終了のパラメーター(単位時間の重量損失)により乾燥終了させ, 0.001 gの桁までその質量を測定した。

(3) 燃焼法全炭素全窒素測定装置による炭素全量及び窒素全量の測定⁸⁾

DL-アスパラギン酸標準品(純度99.0%以上)を用い, 以下の条件で炭素全量及び窒素全量を測定して関係線を作成した後, 分析試料0.2~0.5 gを量り, 同様に分析試料中の炭素全量及び窒素全量を測定した。

表 1 燃焼法全炭素全窒素測定装置の測定条件

燃焼ガス	高純度酸素, 純度 99.99995%以上, 流量 200 mL/min
キャリアガス	高純度ヘリウム, 純度 99.9999%以上, 流量 80 mL/min
分離カラム	シリカゲル系ステンレスカラム
検出部	熱伝導度検出器 (TCD)
測定サイクル	ページ時間 60 秒, 循環燃焼時間 300 秒, 計測時間 180 秒
温度条件	反応炉: 870°C, 還元炉温度: 600°C, カラム槽温度: 70°C, 検出器温度: 100°C

3) 現物及び乾物中の定量値の算出

(1) 測定値の現物当たり含有量への換算

1) (3)で得られた測定値から(a)式より, 現物換算係数を算出した. 試料 L 及び試料 H 中の炭素全量及び窒素全量測定値に現物換算係数を乗じて試験品(現物)中の窒素全量及び炭素全量の定量値を算出した.

$$\text{現物換算係数} = \text{予備乾燥後の質量} / \text{予備乾燥前の質量} \quad \dots (a)$$

(2) 測定値の乾物当たり含有量への換算

2) (2)で得られた測定値から(b)式より, 乾物換算係数を算出した. 試料 L, 試料 H 及び試料 W の炭素全量測定値に乾物換算係数を乗じて試験品(乾物)中の炭素全量の定量値を算出した.

$$\text{乾物換算係数} = \text{乾燥前の質量} / \text{乾燥後の質量} \quad \dots (b)$$

3. 結果及び考察

1) 炭素全量の乾物及び現物換算値の比較

試料 W に対する試料 L 及び H の乾物中の炭素全量の定量値の関係を図 1(a), (b)に示した. 試料 W の炭素全量乾物換算値に対する試料 L 及び試料 H の炭素全量乾物換算値の一次回帰式の回帰係数は 0.975 及び 0.982 であり, 切片は 0.817 及び 0.582 であった. その相関係数(r)は 0.993 及び 0.994 で, これらの定量値に高い相関が認められた. このことから, 条件 L 又は条件 H のいずれの予備乾燥を実施しても, 不揮発成分の試験品(乾物)中の定量値へ影響を及ぼさないと考えられる.

また, 試料 W に対する試料 L 及び試料 H の試験品(現物)中における炭素全量の比較を図 2(a), (b)に示した. 試料 W の炭素全量現物換算値に対する試料 L 及び試料 H の炭素全量現物換算値の一次回帰式の回帰係数は 0.986 及び 0.981 で, 切片は -0.170 及び 0.209 であった. その相関係数(r)は 0.995 及び 0.996 で, これらの定量値に高い相関が認められた. このことから, 条件 L 又は条件 H のいずれの予備乾燥を実施しても, 不揮発成分の試験品(現物)中の定量値へ影響を及ぼさないと考えられる.

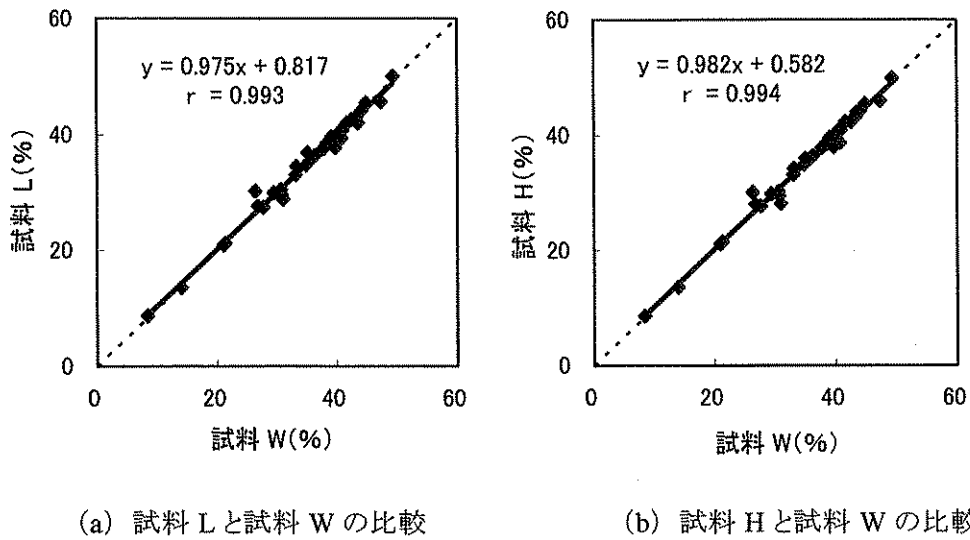


図1 炭素全量乾物換算値の比較

※注 試料 L: 40°Cで 60~70 時間(条件 L) 予備乾燥後調製した分析用試料
 試料 H: 65°Cで 5~24 時間(条件 H) 予備乾燥後調製した分析用試料
 試料 W: 予備乾燥を行わずに調製した分析用試料

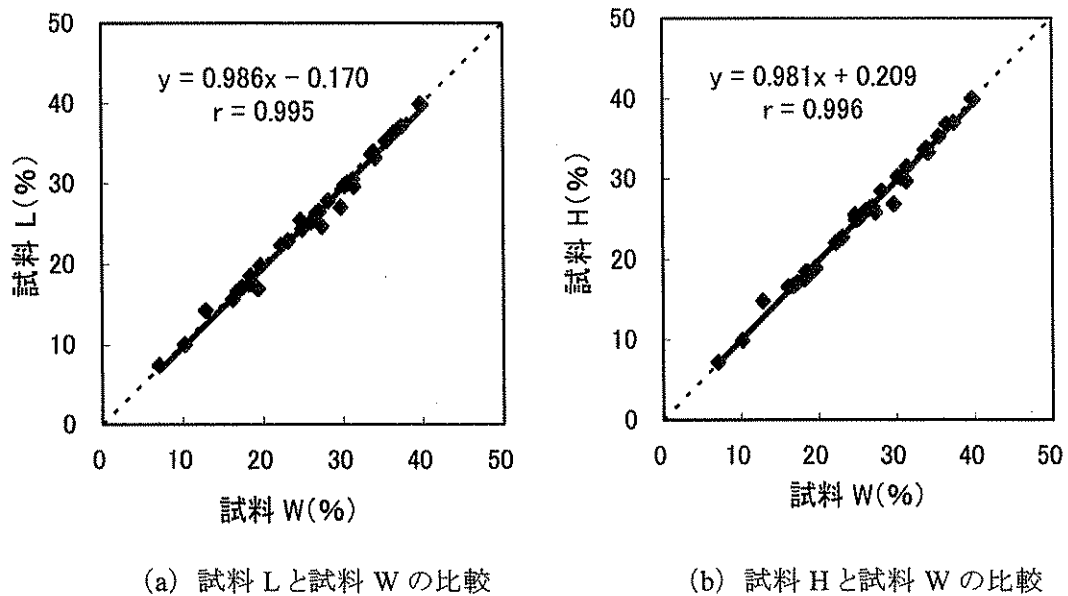


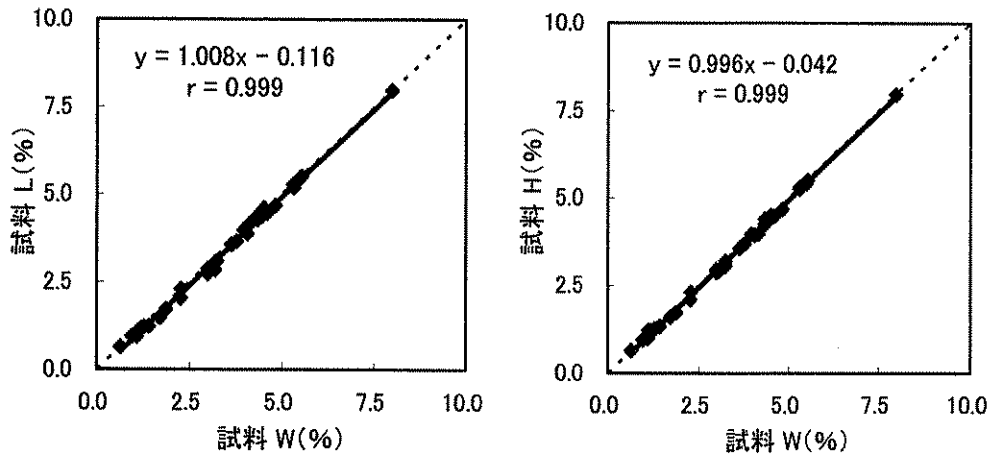
図2 炭素全量現物換算値の比較

※注 試料 L, 試料 H, 試料 W の内容は図1を参照

2) 窒素全量の現物換算値との比較

試料 W に対する試料 L 及び H の試験品(現物)中における窒素全量の比較を図3(a), (b)に示した. 試料 W の窒素全量現物換算値に対する試料 L 及び試料 H の窒素全量現物換算値の一次回帰式の回帰係

数は 1.008 及び 0.996, 切片は -0.116 及び -0.042 であった. その相関係数 (r) は 0.999 及び 0.999 で, これらの定量値に高い相関が認められた. このことから, 条件 L 又は条件 H のいずれの予備乾燥を実施しても, 揮発成分の試験品 (現物) 中の定量値へ影響を及ぼさないと考えられる.



(a) 試料 L と試料 W の比較

(b) 試料 H と試料 W の比較

図 3 窒素全量現物換算値の比較

※注 試料 L, 試料 H, 試料 W の内容は図 1 を参照

4. まとめ

40°C で 60~70 時間及び 65°C で 5~24 時間の 2 条件の予備乾燥方法について, 不揮発物質の指標として汚泥肥料中の炭素全量の定量値への影響を調査したところ, いずれの条件の乾燥を実施しても試験品 (現物) 中及び乾物中の炭素全量の定量値は, 乾燥を行わずに調製した分析用試料の定量値と高い相関関係があった. また, 揮発物質の指標として汚泥肥料中の窒素全量について同様の調査を実施したところ, いずれの条件の乾燥を実施しても試験品 (現物) 中の窒素全量の定量値は, 乾燥を行わずに調製した分析用試料の定量値と高い相関関係があった.

これらの結果, 本予備乾燥方法は汚泥肥料の予備乾燥に十分に適用できることが確認された. このことから, 2007 年度肥料等技術検討会の審議を受け, 本予備乾燥方法は肥料等試験法 (2008) に収載された⁹⁾.

文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課: ポケット肥料要覧-2007-, p.7~9, 農林統計協会, 東京 (2008)
- 2) 農林水産省告示: 肥料取締法第十七条第一項第三号の規定に基づき, 肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件, 平成 12 年 1 月 27 日, 農林水産省告示第 96 号 (2000)
- 3) 農林水産省告示: 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件: 改正平成 12 年 8 月 31

日, 農林水産省告示第 1161 号 (2000)

- 4) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法, p. 5~6, 財団法人日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, p. 17~19, 養賢堂, 東京 (2005)
- 6) JIS Z 8808-1, 試験用ふるい 第 1 部:金属製ふるい (2000)
- 7) 内山 丈, 酒瀬川智代:汚泥肥料中の水分測定 ー加熱乾燥型水分計の適用ー, 肥料研究報告, **1**, 1~5 (2008)
- 8) 相澤真理子, 杉村靖, 高橋雄一, 大木純, 福地幸夫, 白井裕治, 引地典雄:燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定 ー燃焼法全窒素測定装置の適用ー, 肥料研究報告, **1**, 12~17 (2008)
- 9) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Evaluation of a Pre-drying Procedure to Prepare Test Samples from Sludge Fertilizer

Mariko AIZAWA¹, Yuji SHIRAI¹, Yasushi SUGIMURA^{1,(2)}, Yuichi TAKAHASHI¹, Jun OKI^{1,(3)},
Yukio FUKUCHI¹, and Norio HIKICHI^{1,(4)}

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

³ (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Food Safety and Consumer Affairs Information Department

⁴ (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Food Safety and Consumer Affairs Bureau, Plant Products Safety Division

The sludge fertilizer samples are usually dried and ground before being tested. However, no detailed drying procedures are available in the Analysis of Fertilizers published in December 1992. In this report, the authors evaluated two pre-drying procedures by comparing the total carbon and nitrogen contents obtained from original samples and those obtained from samples pre-dried at high and low temperatures. The pre-drying conditions at 65°C for 5~24 hours and at 40°C for 60~70 hours were used. The samples pre-dried at high and low temperatures and samples that were dried without using these pre-drying procedures were ground to prepare the test samples. Moisture contents in the test samples were measured by a rapid heating method using moisture analyzer. Total carbon and total nitrogen contents in the test samples were measured by a combustion method. The total carbon contents and total nitrogen contents obtained from test samples prepared using the pre-drying procedures at high and low temperatures were compared with those obtained from test samples prepared without using pre-drying procedures. A good correlation was observed between these procedures over the range from approximately 8~50% of total carbon content in pre-dried samples, 7~40% of total carbon content in original samples, and 1~8% total nitrogen contents in original samples. The slopes of regression lines ranged from 0.975~1.008. The correlation coefficients ranged from 0.993~0.999. These results indicated that the pre-drying procedures were valid in preparing test samples.

Key words pre-drying procedure, total nitrogen, total carbon, sludge fertilizer, combustion method, moisture analyzer

(Research Report of Fertilizer, 1, 122~128, 2008)

10 木の実油かす施用土壌における無機化窒素の推移

阿部文浩¹, 添田英雄¹, 福地幸夫¹, 白井裕治¹

キーワード 椿油かす, 茶の実油かす, ニーム油かす, 米ぬか油かす, 無機化, 有機化

1. はじめに

有機質肥料の利用の歴史は古く、奈良・平安時代の史料にもきゅう肥等の利用をうかがえる記述がある。江戸・明治・大正時代にかけて魚かす、植物油かす等の多種類の動植物性有機質肥料が利用されるようになり、昭和初期まで有機質肥料の生産量は化学肥料を上回っていた。昭和30年前後から成分含有量が高く取り扱いやすい化学肥料の生産が急増し、有機質肥料の施用量はしだいに減少したが、近年、有機栽培に関心が高まり有機質肥料の施用が回復しつつある^{1, 2)}。有機質肥料は土壌中の微生物作用によって無機物に変化する。通常有機物が土壌に施肥されると分解が生じるが、微生物菌体の増殖によって無機態窒素はその菌体内に取り込まれて、窒素の有機化が起こる。炭素窒素比(CN比)が大きい有機物を施すと、窒素の有機化が優先して、作物が窒素飢餓状態に陥ることが知られている^{3~5)}。

最近では、特殊肥料の「木の実油かす及びその粉末(カボック油かす及びその粉末を除く、以下同じ)」の輸入量が1998年の1,352トンに比べて2006年度では5,370トンと約4倍になっている^{6, 7)}。しかしながら、木の実油かすは、椿等の木本性植物の種子から搾油したかすの総称であり⁸⁾、その原料の種子によって窒素全量の含有量等の品質が大きく異なる⁹⁾。「木の実油かす及びその粉末」に該当するもののうちCN比が比較的高い椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末並びにCN比が比較的低いニーム油かす粉末の肥効を確認するため、指標として米ぬか油かす粉末を対照に無機化試験を実施したので、その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 供試試料及び土壌

流通している木の実油かす(椿油かす, 茶の実油かす及びニーム油かす)を目開き500 µmのふるいを全通するまで遠心粉碎機でそれぞれ粉碎し、供試試料を調製し、ビニール袋に入れて密封し、試験開始まで常温で保存した。流通している米ぬか油かすを対照試料とし、また、硫酸アンモニアをCN比の調整材として供試試料と同様に調製及び保管した。

供試土壌は、黒ボク土を15 kg採取し、それらをよく混合し、目開き2 mmのふるいを通して調製した。

2) 供試試料及び供試土壌の理化学性の測定

供試試料及び対照試料について、肥料分析法^{10, 11)}によって水分、窒素全量(T-N), リン酸全量(T-P₂O₅), 加里全量(T-K₂O), 有機炭素(O-C)を測定した。更に、飼料分析基準¹²⁾によって粗脂肪を、また、堆きゅう肥等有機物分析法¹³⁾によってヘミセルロース, セルロース及びリグニンを測定した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

硫酸アンモニアについて、肥料分析法¹⁰⁾によってアンモニア性窒素(A-N)を測定した。加熱乾燥式水分計(METTLER TOLED HG53)の乾燥温度を100°Cに設定して、供試土壌の水分を測定した¹¹⁾。

3) 培養試験(A)

(1) CN比無調整区

表1のとおり、T-Nとして25.0 mg相当量の供試試料及び対照試料をそれぞれはかりとり、乾土として50 g相当量の供試土壌にそれぞれ加えてよく混合し、供試試料及び対照試料の試験区を調製した。それぞれ別のトールビーカー100mLに移し、これに最大容水量の60%に相当する水を加え、各ビーカーの上部をアルミ箔で覆った後30°Cの恒温器内に入れて1, 3, 6, 9, 14, 28, 61及び120日間培養した。培養期間中、蒸散により水分が不足した試験区は最大容水量の60%相当になるように水を加えた。なお、1試験区2連で試験した。

また、表1のとおり、A-Nとして25.0 mg相当量の硫酸アンモニアをはかりとり、以下同様に硫酸アンモニア試験区を調製した。硫酸アンモニア試験区及び供試土壌(無添加区)についてと同様に培養した。

(2) 測定

培養した各試験区の無機態窒素を10%塩化カリウム水溶液で浸出し、デバルダ合金-蒸留法によって測定した¹⁴⁾。

表1 培養試験(A)の設計

試験区名	試料			硫酸アンモニア	
	添加量 ¹⁾ (g)	T-N ²⁾ (mg)	O-C ³⁾ (mg)	添加量 ⁴⁾ (mg)	A-N ⁵⁾ (mg)
供試試料 椿油かす粉末試験区	2.25	25.0	1.01	—	—
茶の実油かす粉末試験区	1.85	25.0	0.79	—	—
ニーム油かす粉末試験区	0.56	25.0	0.23	—	—
対照試料 米ぬか油かす粉末試験区	0.83	25.0	0.28	—	—
参考 硫酸アンモニア試験区	—	—	—	118	25.0
無添加区	—	—	—	—	—

1) 試験区に添加した供試試料又は対照試料の添加量

2) 試験区に添加した試料由来の窒素全量(T-N)

3) 試験区に添加した試料由来の有機炭素量(O-C)

4) 試験区に添加した硫酸アンモニアの添加量

5) 試験区に添加した硫酸アンモニア由来の窒素全量(A-N)

4) 培養試験(B)

(1) CN比調整区

供試試料を3)(1)と同様に供試土壌に加え、更にA-Nとして表2に示した量に相当する硫酸アンモニアをそれぞれ加えて、CN比10, 15及び20調整区を調製した。以下、3)(1)と同様に培養した。

また、供試土壌(無添加区)についてと同様に培養した。

(2) 無添加区

培養した各試験区の無機態窒素を3)(2)と同様に測定した。なお、無機化窒素量は次式により算出し

た.

$$N(S) = N(T) - N(C) - N(A)$$

N(S): 無機化窒素量 (mg)

N(T): 供試試料又は対照試料の試験区の土壌中の無機態全窒素量 (mg)

N(C): 無添加区の土壌中無機態窒素量 (mg)

N(A): 添加した硫酸アンモニアの窒素量 (mg)

表2 培養試験(B)の設計

試験区名	試料			硫酸アンモニア		試験区	
	添加量 ¹⁾ (g)	T-N ²⁾ (mg)	O-C ³⁾ (mg)	添加量 ⁴⁾ (mg)	A-N ⁵⁾ (mg)	N含量 ⁶⁾ (mg)	CN比 ⁷⁾
供試試料 椿油かす粉末CN比10調整区	2.25	25.0	1.01	358	75.5	100.5	10.0
椿油かす粉末CN比15調整区	2.25	25.0	1.01	199	42.0	67.0	15.0
椿油かす粉末CN比20調整区	2.25	25.0	1.01	120	25.3	50.3	20.0
茶の実油かす粉末CN比10調整区	1.85	25.0	0.79	254	53.7	78.7	10.0
茶の実油かす粉末CN比15調整区	1.85	25.0	0.79	130	27.4	52.4	15.0
茶の実油かす粉末CN比20調整区	1.85	25.0	0.79	68	14.3	39.3	20.0
無添加区	—	—	—	—	—	—	—

- 1) 試験区に添加した供試試料又は対照試料の添加量
- 2) 試験区に添加した試料由来の窒素全量 (T-N)
- 3) 試験区に添加した試料由来の有機炭素量 (O-C)
- 4) 試験区に添加した硫酸アンモニアの添加量
- 5) 試験区に添加した硫酸アンモニア由来の窒素全量 (A-N)
- 6) T-N及びA-Nの窒素含量 (N含量)
- 7) N含量及びO-Cより算出したCN比

3. 結 果

1) 供試試料及び供試土壌の理化学性の測定結果

供試試料の椿油かす粉末、茶の実油かす粉末及びニーム油かす粉末並びに対照試料の米ぬか油かす粉末の T-N, T-P₂O₅, T-K₂O, O-C 及び水分の定量値並びに CN 比の算出値を表 3 に示した。椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末の T-N は 1.11%及び 1.35%であり、ニーム油かす粉末及び米ぬか油かす粉末の T-N の 4.48%及び 3.03%に比べて低かった。また、椿油かす粉末、茶の実油かす粉末及びニーム油かす粉末の O-C は 40.3~44.7%と大きな差はなかったが、米ぬか油かすの O-C は 34.3%と低い値であった。これらの定量値から椿油かす粉末、茶の実油かす粉末、ニーム油かす粉末及び米ぬか油かす粉末の CN 比を算出したところ、40.2, 31.5, 9.0 及び 11.3 であり、椿油かす粉末、茶の実油かす粉末が比較的高い値であった。以上の結果及び硫酸アンモニウムの A-N 定量値 21.10%から、CN 比 10, 15 及び 20 調整区の調製するための硫酸アンモニウムの添加量を算出した(表 2)。

供試試料及び対照試料中の粗脂肪、ヘミセルロース、セルロース及びリグニンの定量値を表 4 に示した。椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末のセルロースの定量値は 8.28%及び 9.91%であり、また、リグニンの定量値は 34.1%及び 29.8%であり、ニーム油かす粉末及び米ぬか油かす粉末の 4.06%及び 5.06%並びに

18.1%及び 9.1%に比べて高い値であった。なお、T-P₂O₅、T-K₂O、水分、粗脂肪及びヘミセルロースの定量値は、供試試料と対照試料の間に系統的な差は認められなかった。

表3 供試試料及び対照試料の理化学試験結果(その1)

試料名	T-N (%)	T-P ₂ O ₅ (%)	T-K ₂ O (%)	O-C (%)	CN比	水分 (%)
椿油かす粉末	1.11	0.38	1.08	44.7	40.2	9.91
茶の実油かす粉末	1.35	0.38	1.02	42.5	31.5	9.42
ニーム油かす粉末	4.48	1.04	1.10	40.3	9.0	7.28
米ぬか油かす粉末	3.03	6.79	1.08	34.3	11.3	10.66

表4 供試試料及び対照試料の理化学試験結果(その2)

試料名	粗脂肪 (%)	ヘミセルロース (%)	セルロース (%)	リグニン (%)
椿油かす粉末	7.64	27.6	8.28	34.1
茶の実油かす粉末	1.96	28.6	9.91	29.8
ニーム油かす粉末	8.49	17.2	4.06	18.1
米ぬか油かす粉末	0.68	33.6	5.06	9.1

2) 培養試験(A)の無機態窒素量の推移

供試試料、対照試料等の試験区における無機態窒素量の推移を図 1-1 及び 1-2 に示した。対照試料の米ぬか油かす粉末試験区及びニーム油かす粉末試験区の無機態窒素量は、培養 1 日目で若干減少したが、3~9 日に急激に増加し、2 週間目以降は緩やかに増加した。また、米ぬか油かす粉末及びニーム油かす粉末の無機化率は、約 1 ヶ月後には 31%及び 42%、約 2 か月後には 40%及び 45%、約 4 か月後には 44%及び 50%と徐々に増加した。供試試料の椿油かす粉末試験区及び茶の実油かす粉末試験区の無機態窒素量は、培養初期から減少し、3 日後から 4 か月後の期間ではほとんど存在していなかった。なお、無添加区の土壌中の無機態窒素量は 4.2~5.5 mg であり、培養期間を通じてほとんど変化していなかった。また、硫酸アンモニア試験区の無機態窒素量は 28.5~30.5 mg であり、脱窒等の現象は認められなかった。

3) 培養試験(B)の無機化窒素量の推移

椿油かす粉末 CN 比調整区の無機化窒素量の推移を図 2 に示した。椿油かす粉末 CN 比調整区では、9 日目まで窒素の有機化がほぼ優先的に進み、有機化した窒素量は 12~18 mg であった。その後、窒素の無機化が僅かながら優先的傾向を示したが、4 か月後までの期間で無機化窒素量が有機化した窒素量を上回ることにはなかった。

茶の実油かす粉末 CN 比調整区の無機化窒素量の推移を図 3 に示した。茶の実油かす粉末 CN 比調整区では、9 日目まで窒素の有機化がほぼ優先的に進み、有機化した窒素量は 10~12 mg であった。その後、窒素の無機化が僅かながら優先的傾向を示したが、120 日目までの期間で無機化窒素量が有機化した窒素量を上回ることにはなかった。

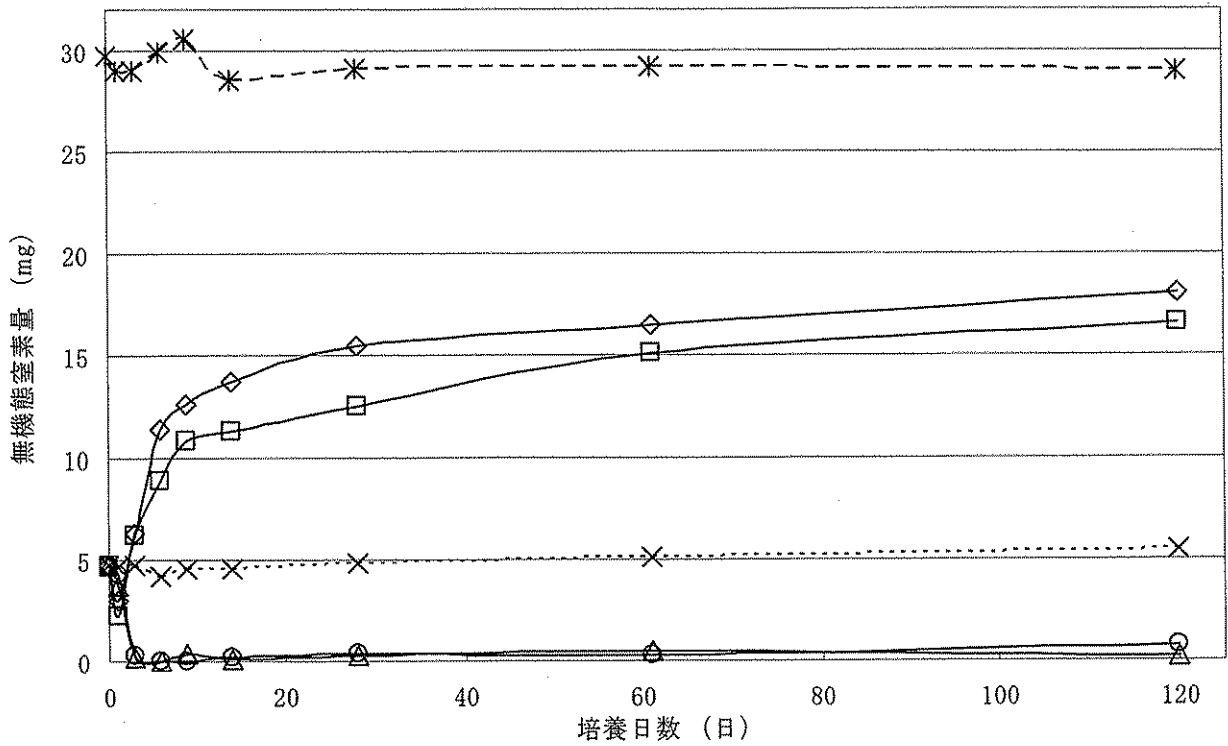


図1-1 供試試料, 対照試料等の試験区における無機態窒素量の推移

—△— 椿油かす試験区 —○— 茶の実油かす試験区 —◇— ニーム油かす試験区
 —□— 米ぬか油かす試験区 -*- 硫酸アンモニア試験区 …×… 無添加区

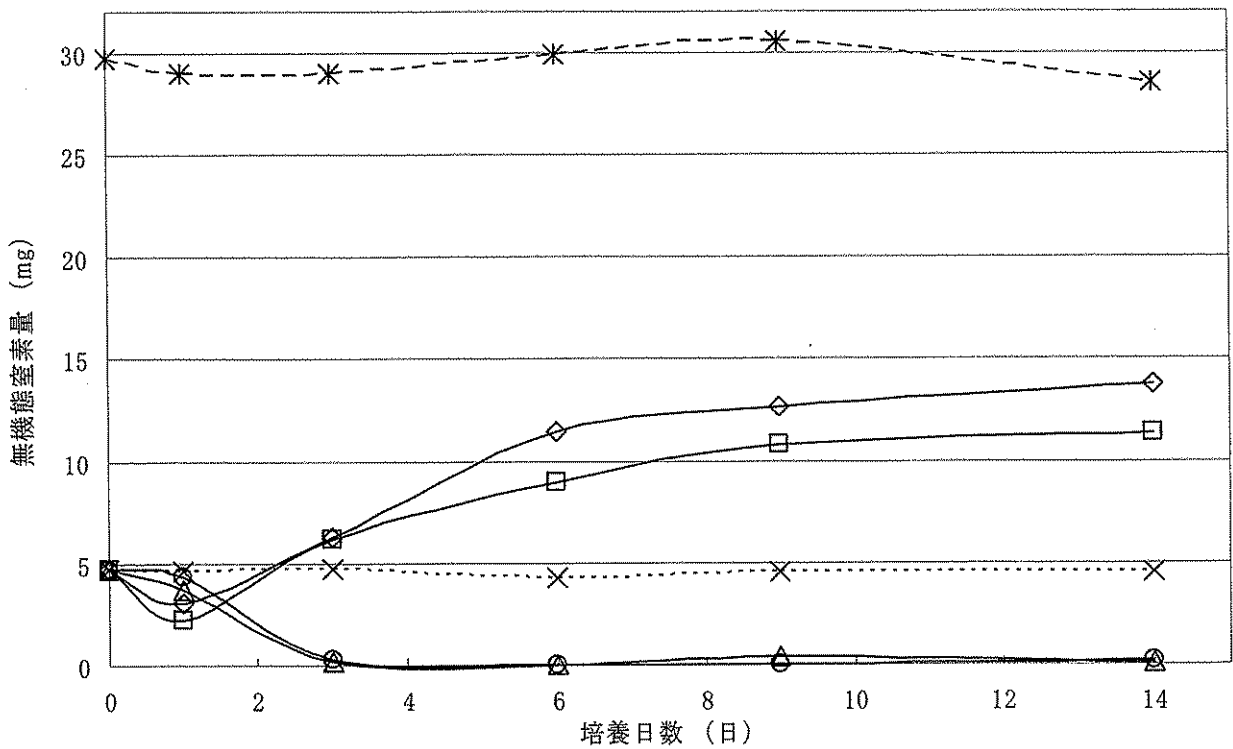


図1-2 供試試料, 対照試料等の試験区における無機態窒素量の推移 (0~14日)

—△— 椿油かす試験区 —○— 茶の実油かす試験区 —◇— ニーム油かす試験区
 —□— 米ぬか油かす試験区 -*- 硫酸アンモニア試験区 …×… 無添加区

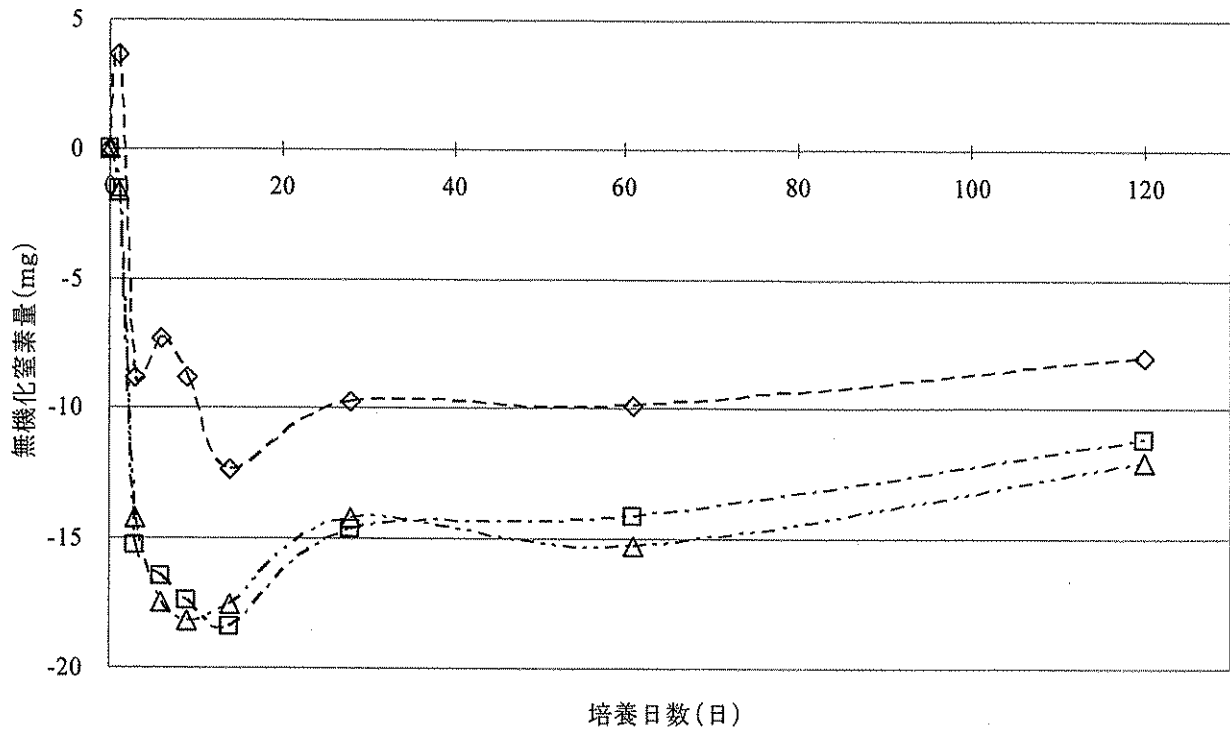


図2 椿油かす粉末CN比調整区における無機化窒素量の推移

--◇-- CN比10調整区 --■-- CN比15調整区 --△-- CN比20調整区

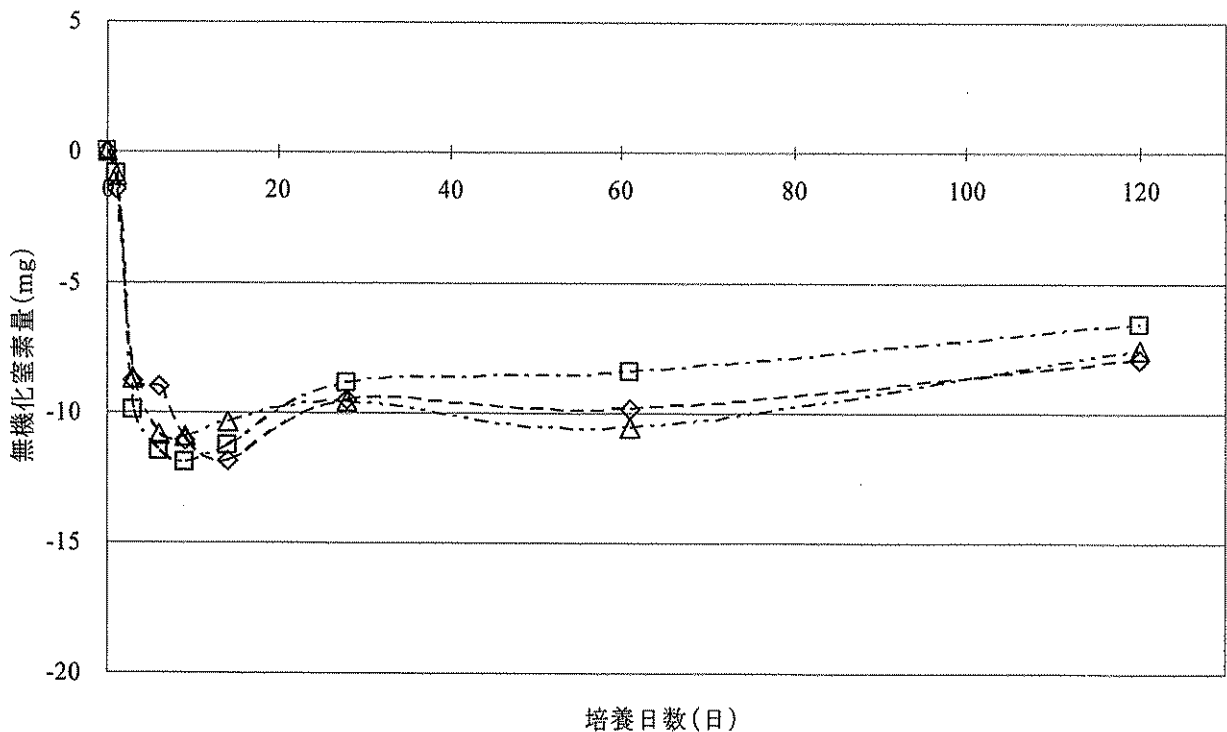


図3 茶の実油かす粉末CN比調整区における無機化窒素量の推移

--◇-- CN比10調整区 --■-- CN比15調整区 --△-- CN比20調整区

4. 考 察

木の実油かすは、カボック油かすを除いた木本性植物の種子を搾油したかすの総称であり⁷⁾、含有する成分は種子の種類によって異なる⁸⁾。本試験に用いたニーム油かす粉末は、対照試料の米ぬか油かす粉末の T-N と CN 比とほぼ一致していた。椿油かす粉末及び茶の実油かす中の T-N は対照肥料の中の T-N に比較して低く、供試試料の CN 比は対照肥料の CN 比に比較して大きい傾向が示された。

T-N として 25 mg を施用したニーム油かす粉末試験区を培養した無機化窒素量の推移は、図 1-1 及び 1-2 のとおり、同様に米ぬか油かす粉末試験区を培養した無機化窒素量の推移と類似した傾向を示した。ニーム油かす粉末は、リグニン及びセルロースの含有量が椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末より低く、CN 比が米ぬか油かす粉末とほぼ一致していたことから、土壌中の微生物が同じように窒素の無機化に関与したと考えられた。

一方、T-N として 25 mg の椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末をそれぞれ試験区に施用した場合、同時に有機炭素を 1.01 g 及び 0.79 g を施用することになる。同試験区では、土壌中の無機態窒素が微生物の増殖のために消費されてほぼ有機化してしまい、作物が窒素飢餓を起こすことが懸念された。このことから、椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末に硫酸アンモニアを加えて CN 比を対照試料の付近まで段階的に調整して同様に培養試験を実施することにした。その結果、2 週間目頃まで窒素の有機化が進み、微生物の増殖がうかがえた。その後の有機態窒素の無機化が進んだが緩慢であった。その原因として、椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末中のリグニン及びセルロースの含有量が多いこと、また、椿及び茶の種皮は木質化して堅く、種皮の CN 比は分析の結果それぞれ約 300, 120 であることから、この難分解性の有機物に対して微生物の活動が緩慢であったと考えられた。

椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末のような難分解性の木の実油かすを土壌に施用した場合、土壌中の無機態窒素を有機化することが考えられることから施用に当たっては注意が必要と考えられた^{4, 5)}。また、これらの木の実油かす粉末は窒素全量の含有量が 1% 程度であるため肥料的効果は極めて低いと考えられた。

5. まとめ

ニーム油かす粉末試験区を 120 日間培養したところ、ニーム油かす由来の窒素は 50% 無機化し、無機化窒素量の推移は培養期間を通じて米ぬか油かす粉末試験区と類似していた。

一方、椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末試験区を同様に培養したところ、培養初期から土壌中の無機態窒素をほとんど有機化した。このことから、硫酸アンモニアを添加して CN 比を調整した椿油かす粉末及び茶の実油かす粉末の CN 比調整区を培養した。その結果、いずれも 14 日目まで有機化が優先して進み、その後僅かに無機化が進んだが、4 か月後までの培養期間で無機化窒素量が有機化した窒素量を上回ることはなかった。

文 献

- 1) 尾和尚人, 木村真人, 越野正義, 三枝正彦, 但野利秋, 長谷川 功, 吉羽雅昭: 肥料の事典, p.157~159, 朝倉書店, 東京 (2006)

- 2) 橋元秀教, 松崎敏英:土づくり講座Ⅴ 有機物の利用, p.8~18, 農山漁村文化協会, 東京 (2008)
- 3) 田村有希博:化学肥料と堆肥の作物に対する効き方はどう違うのですか, 再生と利用, **30** (116), 34~35 (2007)
- 4) 野口弥吉, 川田信一郎:農学大事典, p.1503~1505, 養賢堂, 東京 (1991)
- 5) 農文協編: 環境保全型農業大事典① 施肥と土壌管理, p.249~255, 農山漁村文化協会, 東京 (2008)
- 6) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課:ポケット肥料要覧-2004-, p.7~9, 農林統計協会, 東京 (2005)
- 7) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課:ポケット肥料要覧-2007-, p.20~22, 農林統計協会, 東京 (2008)
- 8) 肥料用語事典編集委員会:改訂五版肥料用語事典, p.66, 肥料協会新聞部, 東京 (2001)
- 9) 農林省農政局肥料機械課, 農林省肥飼料検査所, 都道府県肥料検査機関:有機質肥料の成分表, 複合肥料, **8** (1), 39~70 (2001)
- 10) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法 (1992年版), p.7~8, 11~12, 28~45, 174~175, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 11) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC):肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>
- 12) 農林水産省畜産局長通知:飼料分析基準を定める件, 平成7年11月15日, 畜B第1660号 (1995)
- 13) 農林水産省農産園芸局農産課土壌保全対策資料 第56号 (昭和54年11月):堆きゅう肥等有機物分析法 (1979)
- 14) 農林省農蚕園芸局長通達:肥料取締法に基づく告示の改正に伴う措置等について (別紙1)「無機化試験法」, 50農蚕第7007号 昭和50年11月5日 (1975)

Mineralization of Organic Nitrogen Derived from Nut-Meal-Applied Soil

Fumihiko ABE¹, Hideo SOETA¹, Yukio FUKUCHI¹ and Yuji SHIRAI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

Estimating the mineralization of organic nitrogen from organic-fertilizer-applied soil is important to establish methods of fertilizer application. In this study, the nitrogen transforming capacities of three types of nut meal (camellia seed meal, tea seed meal and neem seed meal) were estimated in terms of the levels of inorganic nitrogen during incubation in soil. Six plots were set up: a neem-seed-meal-application plot (NSAP), a camellia-seed-meal-application plot (CSAP), a tea-seed-meal-application plot (TSAP), a rice-bran-meal-application plot (RBAP), a non-nut-meal-application plot, and an ammonium-sulfate-application plot. The amount of organic fertilizer and ammonium sulfate was 25 mg as nitrogen in soil of 50 g as dry mater. Each plot was incubated at 30°C in duplicate. The evolution of N-mineralization in the NSAP was similar to that in the RBAP over the incubation period. The rates of mineralization at the third and fourth months were 45% and 50%, respectively. Most of the nitrogen derived from soil in the CSAP and TSAP was immobilized. Then CSAPs and TSAPs, with 3 levels of CN ratio adjusted at 10, 15 and 20 with ammonium sulfate, were incubated following the procedure described above. Nitrogen derived from sulfate ammonium and soil in the CSAPs and TSAPs with adjusted CN ratio was immobilized until the second week after application. From the second week to the fourth month after application, the organic nitrogen was mineralized slowly, but the amount of N-mineralization didn't exceed the amount of N-immobilizations.

Key words camellia seed meal, tea seed meal, neem seed meal, rice bran meal, incubation, mineralization, immobilization

(Research Report of Fertilizer, 1, 129~137, 2008)

11-1 2006 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた

肥料の共同試験成績の解析

杉村 靖^{1,(2)}, 加藤公栄³, 齊木雅一^{2,(3)}, 阿部文浩^{4,(1)}, 伊藤 潤⁵,
内山 丈⁶, 白井裕治¹, 引地典雄¹⁽⁷⁾, 杉原 進⁸

キーワード 外部精度管理, 化成肥料, 鉍さいけい酸質肥料, 水分, 主成分, 有害成分,
ISO/IEC Guide 43-1, ISO/IEC 17025, zスコア

1. はじめに

肥料の品質等の保全及び公正な取引の確保のために行う検査において収去品の主成分および有害成分の分析は不可欠である。肥料生産事業場の品質管理室、肥料検査機関等の試験所では、試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質¹⁾による内部精度管理が日常的に行われている。近年国際的な適合性評価の動きが進む中、我が国においても ISO/IEC 17025 (JIS Q 17025)²⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている。その要求事項には、他機関との試験成績の整合性の確認及び外部機関による試験成績の信頼性の確保が必須となっている。このため、試験所は共通試料による試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施する等、試験の信頼性確保に努力している。

これまで外部精度管理としての共通試料による肥料の共同試験は、全国に 6 つある地域肥料品質保全協議会ごとに調製した試料を用いて実施されてきた。しかし、外部精度管理の解析精度は試験成績数が増加することにより向上することから、2006 年度からは、各地域肥料品質保全協議会傘下の試験所等の一斉参加のもと全国共通の試料を用いて共同試験を実施することとした。なお、2006 年度より、均質性試験及び共同試験成績について ISO/IEC Guide 43-1:1997 (JIS Q 0043-1:1998)³⁾を参考に解析することとした。2006 年度は、尿素ほう素入り高度化成肥料及び鉍さいけい酸質肥料について全国共通試料を調製し、共同試験を実施したので、その結果を報告する。

¹ (現)独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² (現)独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

³ (現)独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

⁴ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター

⁵ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター大阪事務所

⁶ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

⁷ (現)農林水産省消費・安全局農産安全管理課

⁸ 財団法人日本肥糧検定協会

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料調製

尿素ほう素入り高度化成肥料(以下、「化成肥料」という)は、粉碎して目開き 500 μm の網ふるいを全通させた。品質の安定を図るため約 3 ヶ月間常温で保管した後、試料をよく混合し、のし餅状に拓げて短冊状に 9 等分し、1~9 の区分番号を付して容器に移した。次に、試料を表 1-1 の混合操作表の組合せに従い 4 区分を抽出し、よく混合したのち 4 等分して元の容器に戻した。この操作を 7 回繰り返した後、1~9 の各区分からそれぞれ一定量ずつ採取し、1 袋当たり約 250 g 入りの試料約 300 個を調製し、よく混合した後ポリエチレン製袋で密封して配付まで常温保管した。

鉍さいけい酸質肥料は、粉碎して 212 μm の網ふるいを全通させたのち、試料をよく混合し、のし餅状に拓げて短冊状に 9 等分し、1~9 の区分番号を付して容器に移した。次に、試料を表 1-2 混合操作表の組合せに従い 4 区分を抽出し、よく混合したのち 4 等分して元の容器に戻した。この操作を 7 回繰り返した後、1~9 の各区分からそれぞれ一定量ずつ採取し、1 袋当たり約 170 g 入りの試料 200 個を調製し、よく混合した後、ポリエチレン製袋で密封し配付まで常温保管した。

表1-1 混合操作表(化成肥料)								表1-2 混合操作表(鉍さいけい酸質肥料)							
混合回数	1	2	3	4	5	6	7	混合回数	1	2	3	4	5	6	7
	1	2	6	4	5	9	8		6	4	7	1	2	8	8
区分番号	7	6	8	9	7	2	4	区分番号	5	3	2	9	1	2	4
	3	9	4	3	1	6	7		9	1	3	7	6	5	6
	8	5	1	5	2	4	3		4	8	5	4	3	7	9

2) 均質性確認試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁴⁾の均質性確認試験に従い、1) で調製した共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取って均質性確認用試料とし、化成肥料については水溶性りん酸(W-P₂O₅)及び水溶性ほう素(W-B₂O₃)を、また、鉍さいけい酸質肥料については可溶性苦土(C-MgO)を各均質性確認試験用試料につき 2 点併行で分析して均質性確認試験の成績とした。

3) 配付

試料番号を付した試料、実施要領及び分析成績報告書を参加試験室に送付した。

3. 試験項目及び試験方法

1) 試験項目

化成肥料については、水分(Mois)、窒素全量(T-N)、アンモニア性窒素(A-N)、可溶性りん酸(S-P₂O₅)、水溶性りん酸(W-P₂O₅)、水溶性加里(W-K₂O)、水溶性ほう素(W-B₂O₃)、ひ素全量(T-As)及びカドミウム全量(T-Cd)の 9 項目を試験項目とした。また、鉍さいけい酸質肥料については、可溶性けい酸(S-SiO₂)、アルカリ分(AL)及び可溶性苦土(C-MgO)の 3 項目を試験項目とした。

2) 試験方法

肥料分析法(1992 年版)⁵⁾を次のとおり例示した。なお、その他の試験方法を採用した試験室には、その

方法の概要の報告を求めた。

- (1) 水分(Mois)は、肥料分析法 3.1.1(加熱減量法).Cにより定量する。但し、揮発物の補正は行わないものとする。
- (2) 窒素全量(T-N)は、肥料分析法 4.1.1.1(硫酸法).Cにより試料液を調製し、同項 Dにより定量する。
- (3) アンモニア性窒素(A-N)は、肥料分析法 4.1.2.3(ホルムアルデヒド法)C.3)により試料液を調製し、同項 Dにより定量する。
- (4) 可溶性りん酸(S-P₂O₅)は、肥料分析法 4.2.1.C.cにより試料液を調製し、4.2.3(バナドモリブデン酸アンモニウム法).E.bにより定量する。
- (5) 水溶性りん酸(W-P₂O₅)は、肥料分析法 4.2.1.C.bにより試料液を調製し、4.2.3(バナドモリブデン酸アンモニウム法).E.aにより定量する。
- (6) 水溶性加里(W-K₂O)は、肥料分析法 4.3.1.C.b.2)により試料液を調製し、4.3.3(炎光光度法または原子吸光測光法).Eにより定量する。
- (7) 水溶性ほう素(W-B₂O₃)は、肥料分析法 4.8.1.C.a.3)により試料液を調製し、4.8.3(アゾメチン H法).Eにより定量する。
- (8) ひ素全量(T-As)は、肥料分析法 5.24.1(ジエチルジチオカルバミン酸銀法).D.a.2)により試料液を調製し、同項 Eにより定量する。又は、同様の方法で試料液を調製し、5.24.2(原子吸光測光法(水素化ヒ素発生装置と原子吸光分析装置)).Eにより定量する。
- (9) カドミウム全量(T-Cd)は、肥料分析法 5.1.2.D.a.2).i)(王水分解)により試料液を調製し、5.6.1(原子吸光測光法)E.aにより定量する。但し、定量の際の標準液にはカルシウム液を添加しないものとし、直接噴霧する場合はD₂ランプ等でBG補正すること。又は、同様の方法で試料液を調製し、同項(付記)2.(溶媒抽出)により定量する。
- (10) 可溶性けい酸(S-SiO₂)は、肥料分析法 4.4.1.B.bにより試料液を調製し、4.4.3(フッ化カリウム法).Dにより定量する。
- (11) アルカリ分(AL)は、肥料分析法 4.5.1.1.C.bにより試料液を調製し、4.5.2.2(エチレンジアミン四酢酸塩法(以下「EDTA法」という).Dにより定量する。
又は、同様の方法で試料液を調製し、可溶性石灰(肥料分析法 4.5.1.2.E)及び可溶性苦土(肥料分析法 4.6.2.E)を測定し、肥料分析法 4.5.2.3(原子吸光測光法).Eにより算出する。
- (12) 可溶性苦土(C-MgO)は、肥料分析法 4.2.1.C.dにより試料液を調製し、4.6.2(原子吸光測光法).Eにより定量する。

4. 統計解析方法及び試験成績の評価方法

1) 報告された試験成績の評価

(1) ロバスト法によるzスコアの求め方

まず、全体の値の中央値(Median)を求めた。

次に、上四分位数及び下四分位数を求め、(a)式により四分位範囲(IQR)を算出した。

$$\text{IQR} = \text{下四分位数} - \text{上四分位数} \quad \dots (a)$$

標準化された四分位範囲 (NIQR) を (b) 式により算出した。正規分布の場合、NIQR と標準偏差は一致する。

$$\text{NIQR} = \text{IQR} \times 0.7413 \quad \dots (b)$$

z スコア (z) を (c) 式により算出した。 z スコアは、各試験室の試験成績 (x_i) の Median からの隔たり度合いを示す指標である。

$$z = (x_i - \text{Median}) / \text{NIQR} \quad \dots (c)$$

(2) z スコアによる評価

データの解析手法として、ISO/IEC Guide 43-1 (JIS Q 0043-1)³⁾ を使い、各試験室の分析成績の z スコアより次のように評価を行った。

$ z \leq 2$	…満足
$2 < z < 3$	…疑わしい
$ z \geq 3$	…不満足

2) 試験成績全体を評価する統計量

各成分の報告された試験成績全体を評価するため、次の統計量を求めた。

- (1) 参加試験室数 (データ数: N) を求めた。
- (2) z スコアによる評価が満足 ($2 \geq |z|$) となった試験室数及びその割合 (%) を求めた。
- (3) z スコアによる評価が疑わしい ($3 > |z| > 2$) となった試験室数及びその割合 (%) を求めた。
- (4) z スコアによる評価が不満足 ($|z| \geq 3$) となった試験室数及びその割合 (%) を求めた。
- (5) 外れ値を棄却しない全データの平均値 (Mean) を求めた。
- (6) 全体の値の中央値 (Median) を求めた。
- (7) NIQR を標準偏差とみなした Median の不確かさ ($U_{95\%}$) を (d) 式により算出した。

$$U_{95\%} = 2 \times \text{NIQR} / \sqrt{N} \quad \dots (d)$$

- (8) 全データの標準偏差 (SD) を求めた。
- (9) 標準化された四分位範囲 (NIQR) を (b) 式により算出した。正規分布の場合、NIQR は SD と一致する。
- (10) Horwitz 修正式^{6~8)} ((e) ~ (g) 式) より、平均的な室間再現標準偏差 (Horwitz' SD: HSD) を算出した。なお、 C は各成分含有量の割合で 1% の場合は 0.01 という値になる。

$$\text{HSD} = 0.01 \times C^{0.5} \quad (0.138 < C) \quad \dots (e)$$

$$\text{HSD} = 0.02 \times C^{0.8495} \quad (1.2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0.138) \quad \dots (f)$$

$$\text{HSD} = 0.22 \times C \quad (C < 1.2 \times 10^{-7}) \quad \dots (g)$$

(11) RSD_{rob} は、ロバスト法から求めた相対標準偏差の表現であり、(h)式により算出した。

$$RSD_{rob} = NIQR / Median \quad \dots (h)$$

(12) Ho_{rob} は、ロバスト法から求めたHorRat値の表現であり、(i)式により算出した。HorRat値は、共同試験で得られた室間再現相対標準偏差が、過去の実験に基づく室間再現相対標準偏差の予測値に比べてどの程度かを確認する指標である。AOACのガイドラインでは、 $0.5 \leq HorRat \leq 2$ を許容範囲としている。

$$Ho_{rob} = NIQR / HSD \quad \dots (i)$$

5. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰り返し2回×10試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表1に示した。いずれの試料においても、F値が $F(9,10;0.05)$ を下回ったことから、有意水準5%において試料間に有意な差は認められなかった⁴⁾。また、試料間の相対標準偏差は0.3~1.7%であり、全ての種類の分析用試料は均質であることを確認した。

表2 均質性確認試験の結果

肥料の種類	分析成分	Mean ¹⁾ (%)	SD ²⁾ (%)	RSD ³⁾ (%)	F値 ⁴⁾⁵⁾
化成肥料	W-P ₂ O ₅	8.96	0.03	0.3	1.30
	W-B ₂ O ₃	0.41	0.01	1.7	1.73
鉍さいけい酸質肥料	C-MgO	6.08	0.02	0.4	2.09

- 1) 10試料2点併行分析の総平均定量値
- 2) 試料間の標準偏差
- 3) 試料間の相対標準偏差
- 4) 一元分散分析により算出された分散比
- 5) $F(9,10;0.05) : 3.02$

2) 試験成績の解析結果

4.2) (1)~(4)の試験室数及びスコアで評価された各試験室数及びその割合を表3に示した。化成肥料については165試験室で試験が実施され、各成分の試験成績は84~158試験室からの報告があった。また、鉍さいけい酸質肥料については80試験室で試験が実施され、各成分の試験成績は66~78試験室からの報告があった。各成分の試験成績で「満足」との評価を受けた試験室の割合は、鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)が77%と最も低く、アルカリ分(AL)が91%と最も高かった。一方、「不満足」との評価を受けた試験室は5~14%であり、鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)の14%が最も高く、化成肥料中のカドミウム全量(T-Cd)及び可溶性りん酸(S-P₂O₅)の13%、水溶性ほう素(W-B₂O₃)の11%、アンモニア性窒素(A-N)の10%の順であった。

4.2) (5)~(12)で求めた統計量を表4に示した。ほとんどの成分で全体の平均値 Mean は、中央値 Median とほぼ一致しており、外れ値の影響を受けていなかった。しかしながら、全体の標準偏差 SD は、ロバ

スト法によって得られた NIQR に比較して大きな値を示し、外れ値の影響を受けていた。このことから、NIQR を標準偏差とみなして Median との関係を図 1 に示し、Horwitz 修正式から得られた HSD, HSD×0.5 及び HSD×2 を同図に表示した。水分を除いた各成分の試験成績の NIQR は HSD×2 を下回っていた⁸⁾。

なお、これらを参考に「3) 成分別の試験成績の評価」で各成分別の試験成績を評価することとする。

表3 zスコアによる試験成績の評価

試験項目	参加 試験室数	$ z \leq 2$ ¹⁾		$2 < z < 3$ ²⁾		$3 \leq z $ ³⁾	
		試験室数	割合(%)	試験室数	割合(%)	試験室数	割合(%)
(化成肥料)							
Mois	147	127	86	7	5	13	9
T-N	158	139	88	7	4	12	8
A-N	150	124	83	11	7	15	10
S-P ₂ O ₅	144	115	80	11	8	18	13
W-P ₂ O ₅	157	139	89	8	5	10	6
W-K ₂ O	156	135	87	10	6	11	7
W-B ₂ O ₃	132	112	85	6	5	14	11
T-As	84	73	87	5	6	6	7
T-Cd	95	81	85	2	2	12	13
(鉱さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	66	51	77	6	9	9	14
AL	75	68	91	3	4	4	5
C-MgO	78	66	85	8	10	4	5

1) zスコアによる評価が満足 ($|z| \leq 2$) となった試験室数及びその割合(%)

2) zスコアによる評価が疑わしい ($2 < |z| < 3$) となった試験室数及びその割合(%)

3) zスコアによる評価が不満足 ($3 \leq |z|$) となった試験室数及びその割合(%)

表4 共同試験成績の統計量

試験項目	Mean ¹⁾ (%,mg/kg) ⁹⁾	Median ²⁾ (%,mg/kg)	$U_{95\%}$ ³⁾ (%,mg/kg)	SD ⁴⁾ (%,mg/kg)	NIQR ⁵⁾ (%,mg/kg)	HSD ⁶⁾ (%,mg/kg)	RSD _{rob} ⁷⁾ (%)	Ho _{rob} ⁸⁾
(化成肥料)								
Mois	1.89	1.70	0.05	0.80	0.30	0.06	17.7	4.78
T-N	14.58	14.60	0.02	0.48	0.13	0.38	0.9	0.33
A-N	11.42	11.46	0.02	0.36	0.10	0.32	0.9	0.33
S-P ₂ O ₅	10.87	10.88	0.02	0.32	0.11	0.30	1.0	0.37
W-P ₂ O ₅	9.02	9.02	0.02	0.23	0.12	0.26	1.3	0.46
W-K ₂ O	12.47	12.38	0.03	0.40	0.22	0.34	1.8	0.64
W-B ₂ O ₃	0.41	0.40	0.00	0.04	0.02	0.02	4.2	0.91
T-As	1.96	1.89	0.04	0.71	0.19	0.27	10.1	0.70
T-Cd	1.36	1.26	0.02	0.46	0.11	0.19	9.1	0.59
(鉱さいけい酸質肥料)								
S-SiO ₂	34.12	33.92	0.15	1.45	0.60	0.58	1.8	1.03
AL	50.43	50.56	0.15	0.82	0.64	0.71	1.3	0.91
C-MgO	6.21	6.18	0.03	0.26	0.13	0.19	2.0	0.67

1) 全体の平均値

2) 全体の中央値

3) 全体の中央値の不確かさ

4) 全体の標準偏差

5) 標準化された四分位範囲

6) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

7) ロバスト法から求めた相対標準偏差

8) ロバスト法から求めたHorRat値

9) T-As及びT-Cdはmg/kg, その他の成分は%

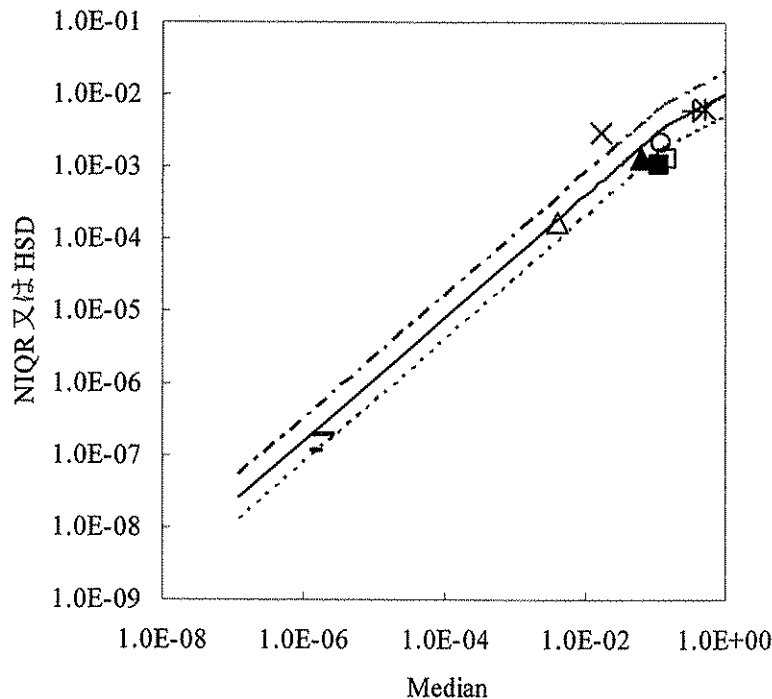


図1 共同試験のNIQRとHorwitz修正式との関係

×	Mois (化成肥料)	□	T-N (化成肥料)
■	A-N (化成肥料)	◇	S-P ₂ O ₅ (化成肥料)
◆	W-P ₂ O ₅ (化成肥料)	○	W-K ₂ O (化成肥料)
△	W-B ₂ O ₃ (化成肥料)	—	T-As (化成肥料)
-	T-Cd (化成肥料)	+	S-SiO ₂ (鉱さいけい酸質肥料)
✱	AL (鉱さいけい酸質肥料)	▲	C-MgO (鉱さいけい酸質肥料)
—	累乗 (Horwitz修正式)	·····	累乗 (Horwitz修正式×0.5)
----	累乗 (Horwitz修正式×2)		

3) 成分別の試験成績の評価

(1) 化成肥料中の水分 (Mois)

参加 147 試験室から報告があった水分 (Mois) の試験成績の度数分布を図 2-1 に示した。平均値 1.89% は Median 1.70% より若干高い値を示した。また、「満足」と評価された試験室は全体の 86% であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。なお、習熟していない試験室は高い値を示す傾向がみられた。試料の乾燥において乾燥器のファン等により試料が飛散したために高い値を示したと考えられる。

(2) 化成肥料中の窒素全量 (T-N)

参加 158 試験室から報告があった窒素全量 (T-N) の試験成績の度数分布を図 2-2 に示した。平均値 14.58% と Median 14.60% はほぼ一致し、NIQR 0.13% は HSD 0.38% より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 88% であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試

験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

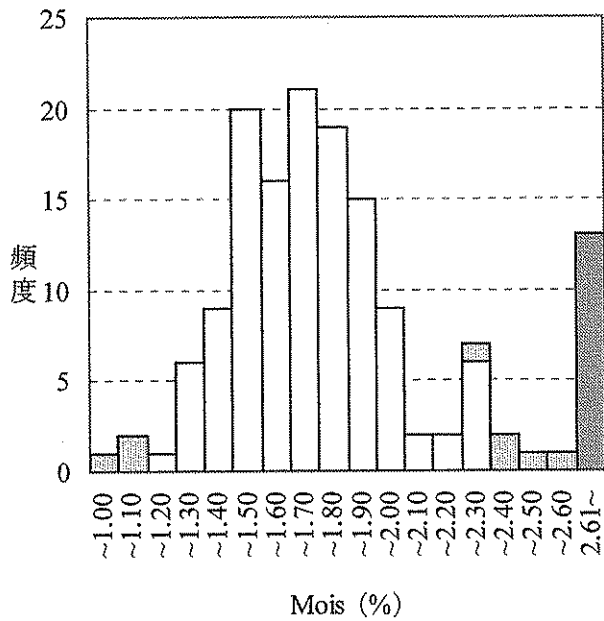


図2-1 化成肥料中のMoissの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

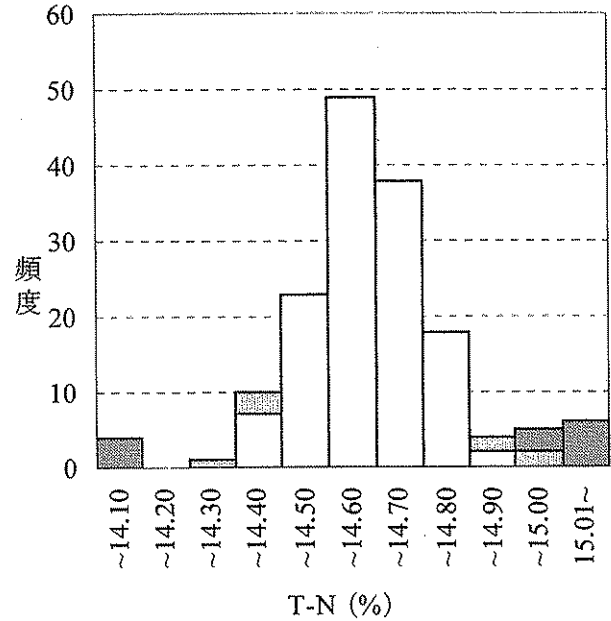


図2-2 化成肥料中のT-Nの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

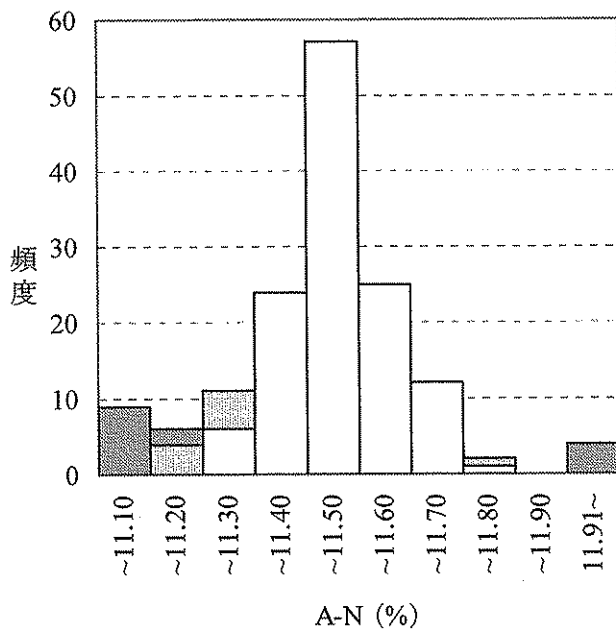


図2-3 化成肥料中のA-Nの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

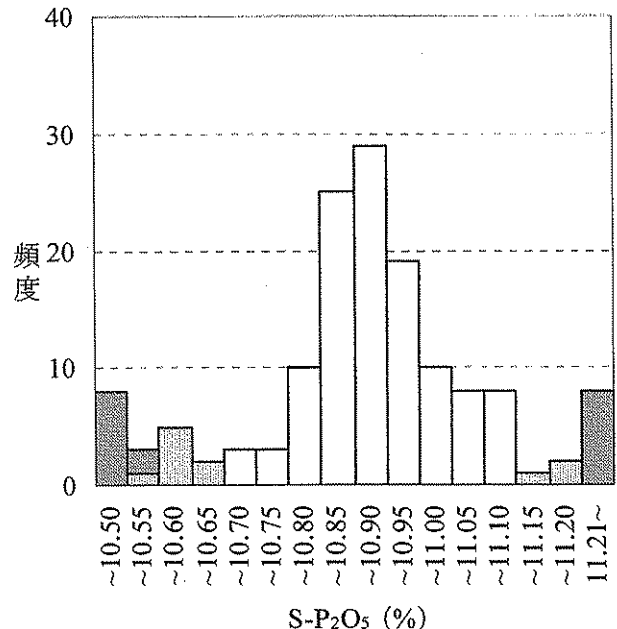


図2-4 化成肥料中のS-P₂O₅の試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

(3) 化成肥料中のアンモニア性窒素(A-N)

参加 150 試験室から報告があったアンモニア性窒素(A-N)の試験成績の度数分布を図 2-3 に示した。平

均値 11.42%と Median 11.46%はほぼ一致し、NIQR 0.10%は HSD 0.32%より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 83%であり、その分布はほぼ左右対称であった。なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 10%であり、比較的低い値を示す傾向がみられた。

(4) 化成肥料中の可溶性りん酸(S-P₂O₅)

参加 144 試験室から報告があった可溶性りん酸(S-P₂O₅)の試験成績の度数分布を図2-4に示した。平均値 10.87%と Median 10.88%はほぼ一致し、NIQR 0.11%は HSD 0.30%より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 80%であり、その分布はほぼ左右対称であった。なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 13%であり、高い値と低い値の試験室の割合がほぼ同等であった。

(5) 化成肥料中の水溶性りん酸(W-P₂O₅)

参加 157 試験室から報告があった水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験成績の度数分布を図 2-5 に示した。平均値 9.02%、Median 9.02%及び均質性確認試験における平均値 8.96%はほぼ一致した。NIQR 0.12%は均質性確認試験における標準偏差 0.03%より大きかったが、HSD 0.26%とほぼ同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 89%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

(6) 化成肥料中の水溶性加里(W-K₂O)

参加 156 試験室から報告があった水溶性加里(W-K₂O)の試験成績の度数分布を図 2-6 に示した。平均値 12.47%と Median 12.38%はほぼ一致し、NIQR 0.22%は HSD 0.34%より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 87%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

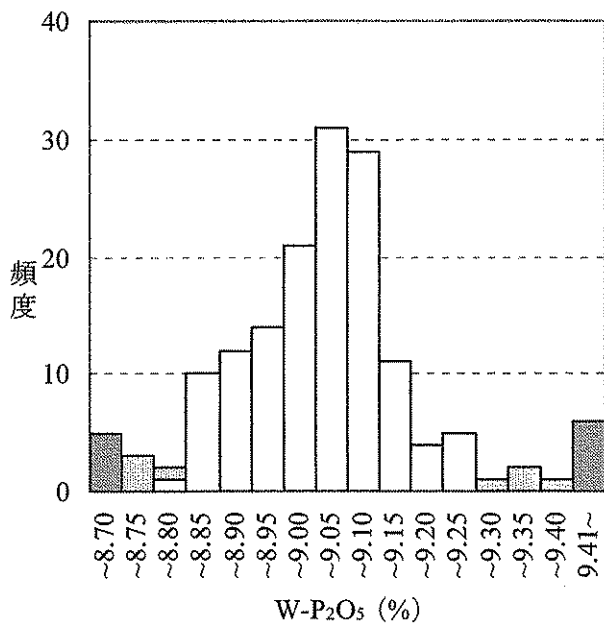


図2-5 化成肥料中のW-P₂O₅の試験成績

□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

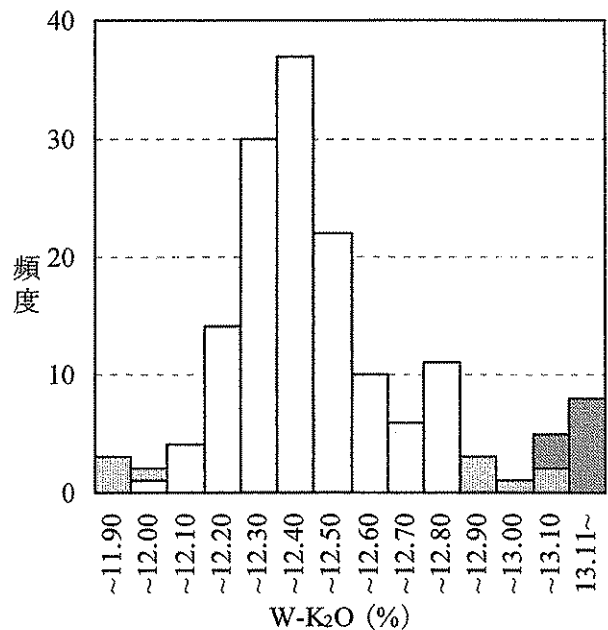


図2-6 化成肥料中のW-K₂Oの試験成績

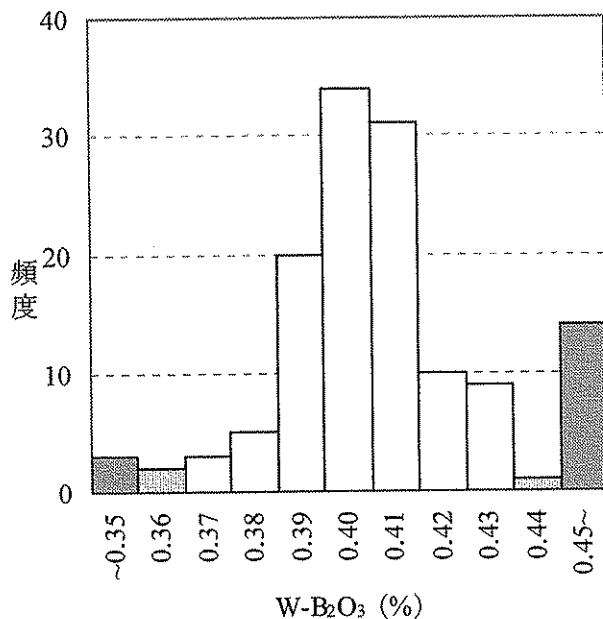
□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

(7) 化成肥料中の水溶性ほう素(W-B₂O₃)

参加 132 試験室から報告があった水溶性ほう素(W-B₂O₃)の試験成績の度数分布を図 2-7 に示した。平均値 0.41%、Median 0.40%及び均質性確認試験における平均値 0.41%はほぼ一致した。NIQR 0.02%は HSD 0.02%及び均質性確認試験における標準偏差 0.01%は同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 85%であり、その分布はほぼ左右対称であった。なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 11%であり、高い値を示す傾向がみられた。

(8) 化成肥料中のひ素全量(T-As)

参加 84 試験室から報告があったひ素全量(T-As)の試験成績の度数分布を図 2-8 に示した。平均値 1.96 mg/kg と Median 1.89 mg/kg はほぼ一致し、NIQR 0.19 mg/kg は HSD 0.27mg/kg より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 87%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

図2-7 化成肥料中のW-B₂O₃の試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

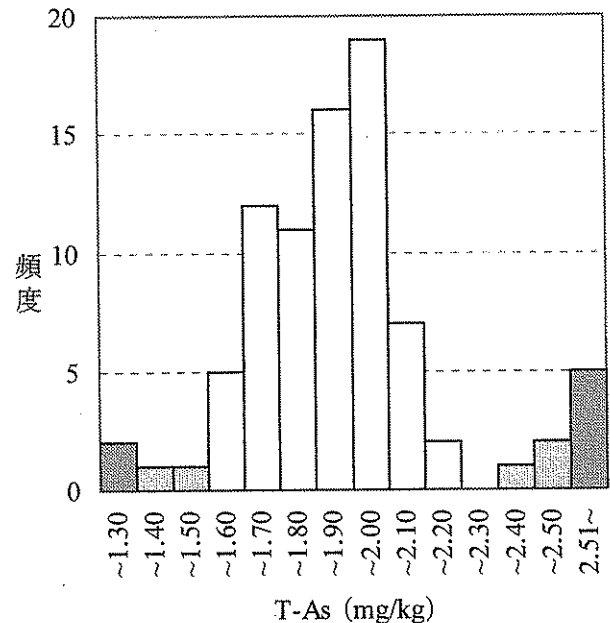


図2-8 化成肥料中のT-Asの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

(9) 化成肥料中のカドミウム全量(T-Cd)

参加 95 試験室から報告があったカドミウム全量(T-Cd)の試験成績の度数分布を図 2-9 に示した。平均値 1.36 mg/kg と Median 1.26 mg/kg はほぼ一致し、NIQR 0.11 mg/kg は HSD 0.19 mg/kg より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 85%であり、その分布はほぼ左右対称であった。なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 13%であり、高い値を示す傾向がみられた。測定機器による補正が不十分であったために高い値を示したと考えられる。

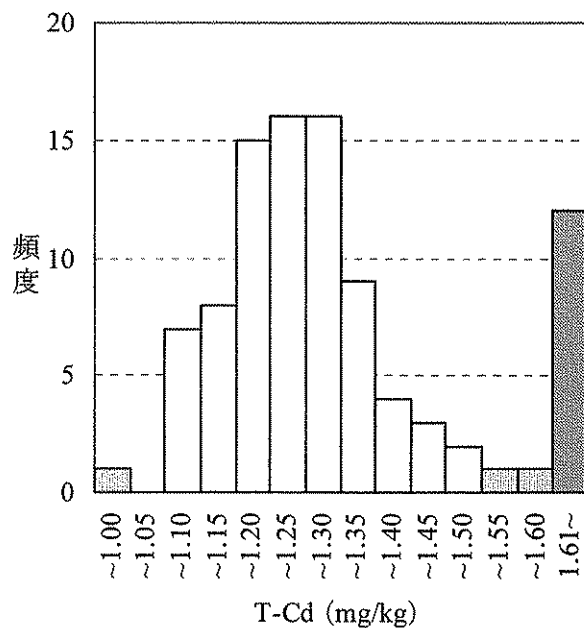


図2-9 化成肥料中のT-Cdの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

(10) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)

参加 66 試験室から報告があった可溶性けい酸(S-SiO₂)の試験成績の度数分布を図 3-1 に示した。平均値 34.12%は Median 33.92%より若干高い値を示した。NIQR 0.60%は HSD 0.58%と同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 77%であったが、その分布は Median より低い値に偏る傾向があった。この原因は、結晶の生成の際の冷却温度及び時間が不十分であったこと、その後のろ過及び洗浄操作における損失があったことが考えられた。

なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 14%であり、高い値と低い値の試験室の割合がほぼ同等であった。

(11) 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分(AL)

参加 75 試験室から報告があったアルカリ分(AL)の試験成績の度数分布を図 3-2 に示した。平均値 50.43%と Median 50.56%はほぼ一致し、NIQR 0.64%は HSD 0.71%と同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 91%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

(12) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性苦土(C-MgO)

参加 78 試験室から報告があった可溶性苦土(C-MgO)の試験成績の度数分布を図 3-3 に示した。平均値 6.21%と Median 6.18%及び均質性試験における平均値 6.08%はほぼ一致した。NIQR 0.13%は、均質性試験における標準偏差 0.02%より大きい、HSD 0.19%より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 85%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

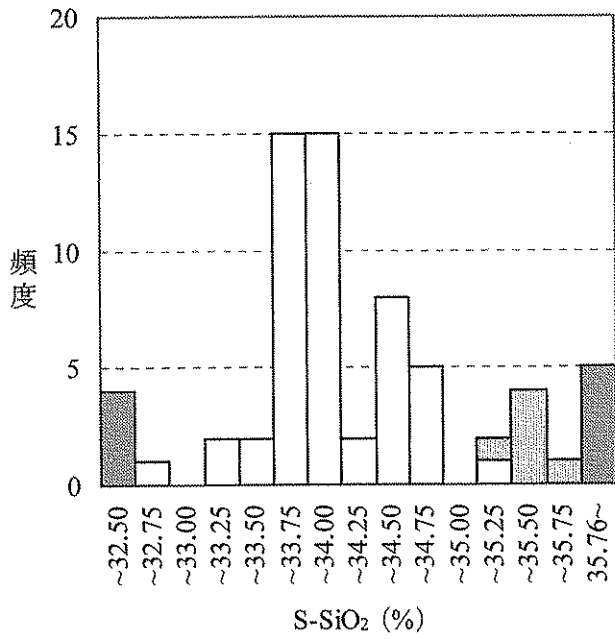


図3-1 鉍さいけい酸質肥料中のS-SiO₂試験成績

□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

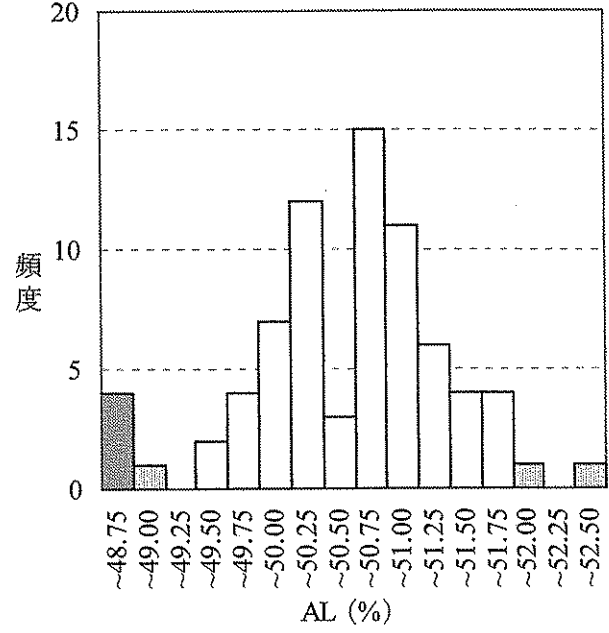


図3-2 鉍さいけい酸質肥料中のALの試験成績

□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

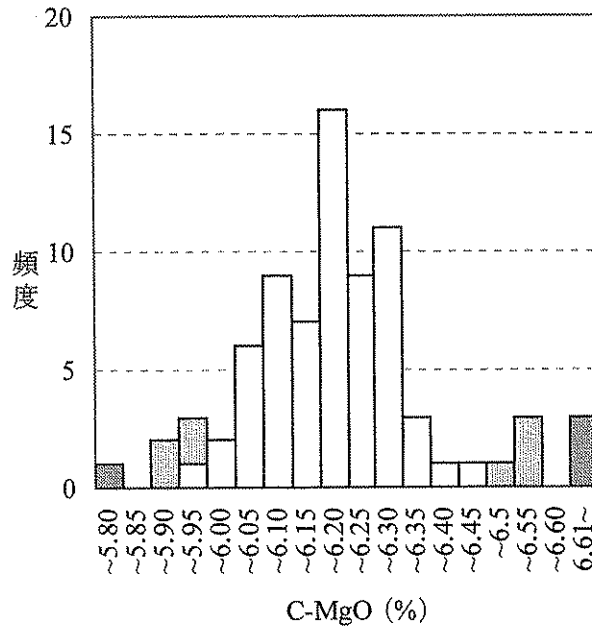


図3-3 鉍さいけい酸質肥料中のC-MgOの試験成績

□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

6. まとめ

化成肥料9成分及び鉍さいけい酸質肥料3成分について外部精度管理のための共同試験を実施した。

化成肥料については165試験室で、また、鉍さいけい酸質肥料については80試験室で試験が実施された。各試験成績はロバスト法による z スコアを用いて評価したところ、「満足」と評価された試験室の割合は77~91%であり、「不満足」と評価された試験室の割合は5~14%であった。「満足」と評価されたほとんどの試験成績は左右対称の分布であった。一方、「不満足」と評価されるひとつの要因として、その試験室の中には該当する成分を日常の分析業務としていないことから、試験者がその分析方法に熟練していないことがあげられた。ほとんどの成分で全体の平均値 Mean は、中央値 Median とほぼ一致していた。更に、Median-NIQR をプロットしたところ、Horwitz 修正式の近傍に分布していた。

謝 辞

この共同試験を実施するにあたり、試料の準備・調製、均質性試験等多大なご協力を賜りました関東電工株式会社倉賀野工場、日本肥糧株式会社新町工場及びいなほ化工株式会社富山工場の関係者各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料分析標準試料の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 2) ISO/IEC 17025 (2005): "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories" (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 3) ISO/IEC Guide 43-1 (1997): "Proficiency testing by interlaboratory comparisons—Part 1 : Development and operation of proficiency testing schemes" (JIS Q 0043-1 : 1998, 「試験所間比較による技能試験 第1部:技能試験の開発及び運営」)
- 4) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 5) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 6) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 7) Thompson, M.: Recent Trend in Interlaboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing, *Analyst*, **124**, 385~386 (2000)
- 8) Horwitz, W., Albert, R.: The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision, *J. AOAC Int.*, **89** (4), 1095~1109 (2006)

Proficiency Testing for Determination of Chief Ingredients and Harmful Elements of Ground Fertilizers (2006)

Yasushi SUGIMURA^{1,(2)}, Kimie KATO³, Masakadzu SAIKI^{2,(3)}, Fumihiko ABE^{4,(1)}, Jun ITO⁵, Takeshi UCHIYAMA⁶, Yuji SHIRAI¹, Norio HIKICHI^{1,(7)} and Susumu SUGIHARA⁸

¹ (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

³ (Now) Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

⁴ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

⁵ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center Osaka Office

⁶ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

⁷ (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Food Safety and Consumer Affairs Bureau, Plant Product Safety Division

⁸ Japan Fertilizer and Feed Inspection Association

Reference materials of ground compound fertilizer and silicate slug fertilizer were used for proficiency testing. This proficiency testing of analytical laboratories was based on ISO/IEC Guide 43-1, "Proficiency testing by interlaboratory comparisons". Compound fertilizer was used to analyze moisture, total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), neutral citrate-soluble phosphorus (S-P₂O₅), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), water-soluble boron (W-B₂O₃), total arsenic (T-As), and total cadmium (T-Cd). Silicate slug fertilizer was used to analyze acid-soluble silicon (S-SiO₂), alkalinity (AL) and citric acid-soluble magnesium (C-MgO). Two homogenized samples were sent to the participants. From the 165 laboratories which received compound fertilizer samples, 84~158 results were returned for each element. From the 80 participants which received silicate slug fertilizer samples, 66~78 results were returned for each element. Data analysis was conducted according to the harmonized protocol for proficiency testing, revised cooperatively by the international standardizing organizations IUPAC, ISO, and AOAC International (2006). The ratios of the number of *z* scores between -2 and +2 to that of all scores were 77~91% and the results from the participants with a satisfactory result were normally distributed. The mean and median obtained based on all data mostly agreed. The median-NIQR plots were distributed near Horwitz curve for each element, and the HorRat values were less than 2.0 for all elements except for moisture.

Key words proficiency testing, compound fertilizer, silicate slug fertilizer, moisture, chief ingredients, harmful element, ISO/IEC Guide 43-1, ISO/IEC 17025, *z* score

(Research Report of Fertilizer, 1, 138~151, 2008)

11-2 2007 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた

肥料の共同試験成績の解析

高橋雄一¹, 加藤公栄², 井塚進次郎³, 清水 昭⁴, 松崎 学⁵,
井上智江⁵, 内山 丈⁶, 白井裕治¹, 杉原 進⁷

キーワード 外部精度管理, 化成肥料, 鉍さいけい酸質肥料, 水分, 主成分, 有害成分,
ISO/IEC Guide 43-1, ISO/IEC 17025, zスコア

1. はじめに

肥料の品質等の保全及び公正な取引の確保のために行う検査において取去品の主成分および有害成分の分析は不可欠である。肥料生産事業場の品質管理室, 肥料検査機関等の試験所では, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質¹⁾による内部精度管理が日常的に行われている。近年国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025 (JIS Q 17025)²⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている。その要求事項には, 他機関との試験成績の整合性の確認及び外部機関による試験成績の信頼性の確保が必須となっている。このため, 試験所は共通試料による試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施する等, 試験の信頼性確保に努力している。

これまで外部精度管理としての共通試料による肥料の共同試験は, 全国に 6 つある地域肥料品質保全協議会ごとに調製した試料を用いて実施されてきた。しかし, 外部精度管理の解析精度は試験成績数が増加することにより向上することから, 2006 年度からは, 各地域肥料品質保全協議会傘下の試験所等の一斉参加のもと全国共通の試料を用いて共同試験を実施することとした。なお, 同年度より, 均質性試験及び共同試験成績について ISO/IEC Guide 43-1:1997 (JIS Q 0043-1:1998)³⁾を参考に解析することとした。本年度は, 有機入り化成肥料及び鉍さいけい酸質肥料について全国共通試料を調製し, 共同試験を実施したので, その結果を報告する。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

⁴ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター

⁵ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター大阪事務所

⁶ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

⁷ 財団法人日本肥糧検定協会

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料調製

有機入り化成肥料(以下、「化成肥料」という)は、粉碎して目開き 500 μm の網ふるいを全通させた。品質の安定を図るため約 3 ヶ月間常温で保管した後、試料をよく混合し、のし餅状に拡げて短冊状に 9 等分し、1~9 の区分番号を付して容器に移した。次に、試料を表 1 の混合操作表の組合せに従い 4 区分を抽出し、よく混合したのち 4 等分して元の容器に戻した。この操作を 7 回繰り返した後、1~9 の各区分からそれぞれ一定量ずつ採取し、1 袋当たり約 250 g 入りの試料約 300 個を調製し、よく混合した後ポリエチレン製袋で密封して配付時まで常温保管した。

鉍さいけい酸質肥料は、粉碎して 212 μm の網ふるいを全通させたのち、試料をよく混合し、のし餅状に拡げて短冊状に 9 等分し、1~9 の区分番号を付して容器に移した。次に、試料を表 1 の混合操作表の組合せに従い 4 区分を抽出し、よく混合したのち 4 等分して元の容器に戻した。この操作を 7 回繰り返した後、1~9 の各区分からそれぞれ一定量ずつ採取し、1 袋当たり約 170 g 入りの試料 200 個を調製し、よく混合した後、ポリエチレン製袋で密封し配付時まで常温保管した。

表1 混合操作表

混合回数	1	2	3	4	5	6	7
	3	7	9	4	3	9	2
区分番号	5	1	5	2	6	1	8
	2	4	6	7	1	2	3
	9	6	8	5	8	7	4

2) 均質性確認試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁴⁾の均質性試験に従い、1) で調製した共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取って均質性確認試験用試料とし、化成肥料についてはく溶性りん酸(C-P₂O₅)及びく溶性苦土(C-MgO)を、また、鉍さいけい酸質肥料についてはく溶性苦土(C-MgO)を各均質性確認試験用試料につき 2 点併行で試験して均質性確認試験の成績とした。

3) 配付

試料番号を付した試料、実施要領及び分析成績報告書を参加試験所に送付した。

3. 試験項目及び試験方法

1) 試験項目

化成肥料については、水分(Mois)、窒素全量(T-N)、アンモニア性窒素(A-N)、りん酸全量(T-P₂O₅)、く溶性りん酸(C-P₂O₅)、水溶性りん酸(W-P₂O₅)、水溶性加里(W-K₂O)、く溶性苦土(C-MgO)、ひ素全量(T-As)及びカドミウム全量(T-Cd)の 10 項目を試験項目とした。また、鉍さいけい酸質肥料については、可溶性けい酸(S-SiO₂)、アルカリ分(AL)及びく溶性苦土(C-MgO)の 3 項目を試験項目とした。

2) 試験方法

肥料分析法(1992 年版)⁵⁾を次のとおり例示した。なお、その他の試験方法を採用した試験室には、その

方法の概要の報告を求めた。

(1) 水分(Mois)は、肥料分析法 3.1.1(加熱減量法).Cにより定量する。但し、揮発物の補正は行わないものとする。

(2) 窒素全量(T-N)は、肥料分析法 4.1.1.1(硫酸法).Cにより試料液を調製し、同項 Dにより定量する。

(3) アンモニア性窒素(A-N)は、肥料分析法 4.1.2.1(蒸留法).Dにより定量する。但し、試料を蒸留フラスコに直接採り、適量の水と酸化マグネシウムとを加えて蒸留するものとする。

(4) リン酸全量(T-P₂O₅)は、肥料分析法 4.1.1.1.Cにより試料液を調製し、ろ過後、4.2.3(バナドモリブデン酸アンモニウム法).E.aにより定量する。

(5) く溶性りん酸(C-P₂O₅)は、肥料分析法 4.2.1.C.bにより試料液を調製し、4.2.3(バナドモリブデン酸アンモニウム法).E.cにより定量する。

(6) 水溶性りん酸(W-P₂O₅)は、肥料分析法 4.2.1.C.dにより試料液を調製し、4.2.3(バナドモリブデン酸アンモニウム法).E.aにより定量する。

(7) 水溶性加里(W-K₂O)は、肥料分析法 4.3.1.C.b.2)により試料液を調製し、4.3.3(炎光光度法または原子吸光測光法).Eにより定量する。

(8) く溶性苦土(C-MgO)は、肥料分析法 4.2.1.C.dにより試料液を調製し、4.6.2(原子吸光測光法).Eにより定量する。

(9) ひ素全量(T-As)は、肥料分析法 5.24.1(ジエチルジチオカルバミン酸銀法).D.a.2)により試料液を調製し、同項 Eにより定量する。又は、同様の方法で試料液を調製し、5.24.2(原子吸光測光法(水素化ヒ素発生装置と原子吸光分析装置)).Eにより定量する。

(10) カドミウム全量(T-Cd)は、肥料分析法 5.1.2.D.a.2).i) (王水分解)により試料液を調製し、5.6.1(原子吸光測光法).E.aにより定量する。但し、定量の際の標準液にはカルシウム液を添加しないものとし、直接噴霧する場合はD₂ランプ等でBG補正すること。又は、同様の方法で試料液を調製し、同項(付記)2.(溶媒抽出)により定量する。

(11) 可溶性けい酸(S-SiO₂)は、肥料分析法 4.4.1.B.bにより試料液を調製し、4.4.3(フッ化カリウム法).Dにより定量する。

(12) アルカリ分(AL)は、肥料分析法 4.5.1.1.C.bにより試料液を調製し、4.5.2.2(エチレンジアミン四酢酸塩法(以下「EDTA法」という).Dにより定量する。

又は、同様の方法で試料液を調製し、可溶性石灰(肥料分析法 4.5.1.2.E)及び可溶性苦土(肥料分析法 4.6.2.E)を測定し、肥料分析法 4.5.2.3(原子吸光測光法).Eにより算出する。

4. 統計解析方法及び試験成績の評価方法

1) 報告された試験成績の評価

(1) ロバスト法によるzスコアの求め方

まず、全体の値の中央値(Median)を求めた。

次に、上四分位数及び下四分位数を求め、(a)式により四分位範囲(IQR)を算出した。

$$IQR = \text{下四分位数} - \text{上四分位数} \quad \dots (a)$$

標準化された四分位範囲 (NIQR) を (b) 式により算出した。正規分布の場合、NIQR と標準偏差は一致する。

$$\text{NIQR} = \text{IQR} \times 0.7413 \quad \dots (b)$$

z スコア (z) を (c) 式により算出した。 z スコアは、各試験室の試験成績 (x_i) の Median からの隔たり度合いを示す指標である。

$$z = (x_i - \text{Median}) / \text{NIQR} \quad \dots (c)$$

(2) z スコアによる評価

データの解析手法として、ISO/IEC Guide 43-1 (JIS Q 0043-1)³⁾ を用い、各試験室の分析成績の z スコアより次のように評価を行った。

$ z \leq 2$	…満足
$2 < z < 3$	…疑わしい
$ z \geq 3$	…不満足

2) 試験成績全体を評価する統計量

各成分の報告された試験成績全体を評価するため、次の統計量を求めた。

- (1) 参加試験室数 (データ数: N) を求めた。
- (2) z スコアによる評価が満足 ($2 \geq |z|$) となった試験室数及びその割合 (%) を求めた。
- (3) z スコアによる評価が疑わしい ($3 > |z| > 2$) となった試験室数及びその割合 (%) を求めた。
- (4) z スコアによる評価が不満足 ($|z| \geq 3$) となった試験室数及びその割合 (%) を求めた。
- (5) 外れ値を棄却しない全データの平均値 (Mean) を求めた。
- (6) 全体の値の中央値 (Median) を求めた。
- (7) NIQR を標準偏差とみなした Median の不確かさ ($U_{95\%}$) を (d) 式により算出した。

$$U_{95\%} = 2 \times \text{NIQR} / \sqrt{N} \quad \dots (d)$$

- (8) 全データの標準偏差 (SD) を求めた。
- (9) 標準化された四分位範囲 (NIQR) を (b) 式により算出した。正規分布の場合、NIQR は SD と一致する。
- (10) Horwitz 修正式^{6~8)} ((e) ~ (g) 式) より、平均的な室間再現標準偏差 (Horwitz' SD: HSD) を算出した。なお、 C は各成分の含有量の割合で 1% の場合は 0.01 という値になる。

$$\text{HSD} = 0.01 \times C^{0.5} \quad (0.138 < C) \quad \dots (e)$$

$$\text{HSD} = 0.02 \times C^{0.8495} \quad (1.2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0.138) \quad \dots (f)$$

$$\text{HSD} = 0.22 \times C \quad (C < 1.2 \times 10^{-7}) \quad \dots (g)$$

(11) RSD_{rob} は、ロバスト法から求めた相対標準偏差の表現であり、(h)式により算出した。

$$RSD_{rob} = NIQR / \text{Median} \quad \dots (h)$$

(12) Ho_{rob} は、ロバスト法から求めた HorRat 値の表現であり、(i)式により算出した。HorRat 値は、共同試験で得られた室間再現相対標準偏差が、過去の実験に基づく室間再現相対標準偏差の予測値に比べてどの程度かを確認する指標である。AOAC のガイドラインでは、 $0.5 \leq \text{HorRat 値} \leq 2$ を許容範囲としている。

$$Ho_{rob} = NIQR / \text{HSD} \quad \dots (i)$$

5. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰返し 2 回 \times 10 試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表 1 に示した。いずれの試料においても、F 値が $F(9,10;0.05)$ を下回ったことから、有意水準 5% において試料間に有意な差は認められなかった⁴⁾。また、試料間の相対標準偏差は 0.7~2.5% であり、全ての種類の分析用試料は均質であることを確認した。

表2 均質性確認試験の結果

肥料の種類	分析成分	Mean ¹⁾ (%)	SD ²⁾ (%)	RSD ³⁾ (%)	F値 ⁴⁾⁵⁾
化成肥料	C-P ₂ O ₅	9.89	0.16	1.6	2.07
	C-MgO	3.57	0.09	2.5	0.59
鉱さいけい酸質肥料	C-MgO	3.05	0.02	0.7	2.51

- 1) 10試料2点併行分析の総平均定量値
- 2) 試料間の標準偏差
- 3) 試料間の相対標準偏差
- 4) 一元分散分析値により算出された分散比
- 5) $F(9,10;0.05) : 3.02$

2) 試験成績の解析結果

4.2) (1)~(4)の試験室数及びzスコアで評価された各試験室数及びその割合を表 3 に示した。各成分の試験成績で「満足」との評価を受けた試験室の割合は、化成肥料中のりん酸全量(T-P₂O₅)が 79%と最も低く、化成肥料中の水分(Mois)及び可溶性けい酸(S-SiO₂)が 93%と最も高かった。一方、「不満足」との評価を受けた試験室の割合は 3~15%であり、化成肥料中のりん酸全量(T-P₂O₅)の 15%が最も高く、カドミウム全量(T-Cd)の 11%、く溶性苦土(C-MgO)の 10%の順であった。

4.2) (5)~(12)で求めた統計量を表 4 に示した。ほとんどの成分で全体の平均値 Mean は、中央値 Median とほぼ一致しており、外れ値の影響を受けていなかった。しかしながら、全体の標準偏差 SD は、ロバスト法によって得られた NIQR に比較して大きな値を示し、外れ値の影響を受けていた。このことから、NIQR を標準偏差とみなして Median との関係を図 1 に示し、Horwitz 修正式から得られた HSD、HSD \times 0.5 及び HSD \times 2 を同図に表示した。水分を除いた各成分の試験成績の NIQR は HSD \times 2 を下回っていた⁸⁾。

なお、これらを参考に「3) 成分別の試験成績の評価」で各成分別の試験成績を評価することとする。

表3 zスコアによる試験成績の評価

試験項目	参加 試験室数	$ z \leq 2$ ¹⁾		$2 < z < 3$ ²⁾		$3 \leq z $ ³⁾	
		試験室数	割合(%)	試験室数	割合(%)	試験室数	割合(%)
(化成肥料)							
Mois	146	136	93	6	4	4	3
T-N	145	124	86	8	6	13	9
A-N	143	115	80	16	11	12	8
T-P ₂ O ₅	140	111	79	8	6	21	15
C-P ₂ O ₅	143	115	80	15	10	13	9
W-P ₂ O ₅	143	122	85	12	8	9	6
W-K ₂ O	145	126	87	9	6	10	7
C-MgO	137	113	82	10	7	14	10
T-As	68	57	84	5	7	6	9
T-Cd	85	72	85	4	5	9	11
(鉱さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	67	62	93	2	3	3	4
AL	83	70	84	6	7	7	8
C-MgO	86	71	83	11	13	4	5

1) zスコアによる評価が満足 ($|z| \leq 2$) となった試験室数及びその割合(%)

2) zスコアによる評価が疑わしい ($2 < |z| < 3$) となった試験室数及びその割合(%)

3) zスコアによる評価が不満足 ($3 \leq |z|$) となった試験室数及びその割合(%)

表4 共同試験成績の統計量

試験項目	Mean ¹⁾ (%,mg/kg) ⁹⁾	Median ²⁾ (%,mg/kg)	$U_{95\%}$ ³⁾ (%,mg/kg)	SD ⁴⁾ (%,mg/kg)	NIQR ⁵⁾ (%,mg/kg)	HSD ⁶⁾ (%,mg/kg)	RSD _{rob} ⁷⁾ (%)	Ho _{rob} ⁸⁾
(化成肥料)								
Mois	4.98	4.99	0.06	0.48	0.35	0.16	7.0	2.21
T-N	8.74	8.74	0.01	0.14	0.07	0.25	0.8	0.26
A-N	6.20	6.20	0.01	0.17	0.09	0.19	1.4	0.47
T-P ₂ O ₅	10.33	10.35	0.02	0.25	0.10	0.29	0.9	0.33
C-P ₂ O ₅	9.81	9.81	0.02	0.25	0.13	0.28	1.3	0.47
W-P ₂ O ₅	7.05	7.02	0.04	0.39	0.23	0.21	3.2	1.08
W-K ₂ O	8.44	8.43	0.02	0.28	0.15	0.24	1.8	0.61
C-MgO	3.39	3.41	0.01	0.19	0.07	0.11	2.2	0.65
T-As	3.75	3.84	0.09	0.67	0.38	0.50	9.8	0.75
T-Cd	1.29	1.24	0.03	0.22	0.12	0.19	9.6	0.62
(鉱さいけい酸質肥料)								
S-SiO ₂	28.42	28.25	0.21	1.20	0.87	0.53	3.1	1.63
AL	48.60	48.70	0.17	1.46	0.76	0.70	1.6	1.08
C-MgO	3.20	3.17	0.04	0.32	0.21	0.11	6.6	1.95

1) 全体の平均値

2) 全体の中央値

3) 全体の中央値の不確かさ

4) 全体の標準偏差

5) 標準化された四分位範囲

6) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

7) ロバスト法から求めた相対標準偏差

8) ロバスト法から求めたHorRat値

9) T-As及びT-Cdはmg/kg, その他の成分は%

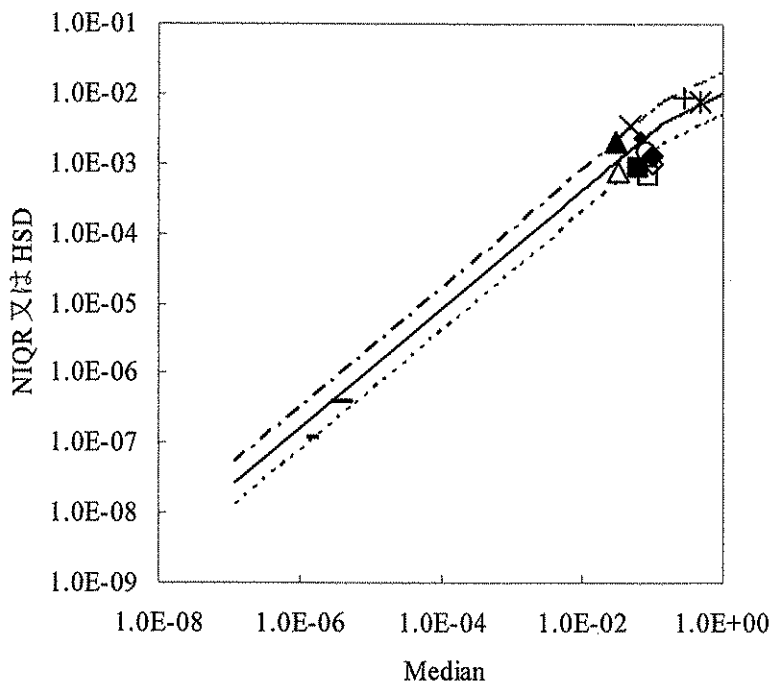


図1 共同試験のNIQRとHorwitz修正式との関係

×	Mois (化成肥料)	□	T-N (化成肥料)
■	A-N (化成肥料)	◇	T-P2O5 (化成肥料)
◆	C-P2O5 (化成肥料)	◆	W-P2O5 (化成肥料)
○	W-K2O (化成肥料)	△	C-MgO (化成肥料)
-	T-As (化成肥料)	-	T-Cd (化成肥料)
+	S-SiO2 (鉱さいけい酸質肥料)	✳	AL (鉱さいけい酸質肥料)
▲	C-MgO (鉱さいけい酸質肥料)	—	累乗 (Horwitz修正式)
		累乗 (Horwitz修正式×0.5)
		- - - -	累乗 (Horwitz修正式×2)

3) 成分別の試験成績の評価

(1) 化成肥料中の水分 (Mois)

参加 146 試験室から報告があった水分 (Mois) の試験成績の度数分布を図 2-1 に示した。平均値 4.98% と Median 4.99% はほぼ一致した。また、「満足」と評価された試験室は全体の 93% であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

(2) 化成肥料中の窒素全量 (T-N)

参加 145 試験室から報告があった窒素全量 (T-N) の試験成績の度数分布を図 2-2 に示した。平均値 8.74% と Median 8.74% は一致し、NIQR 0.07% は HSD 0.25% より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 86% であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

また、8 試験室からケルオート等の自動分析装置を用いた試験成績の報告があり、いずれも「満足」と評価される試験成績であった。

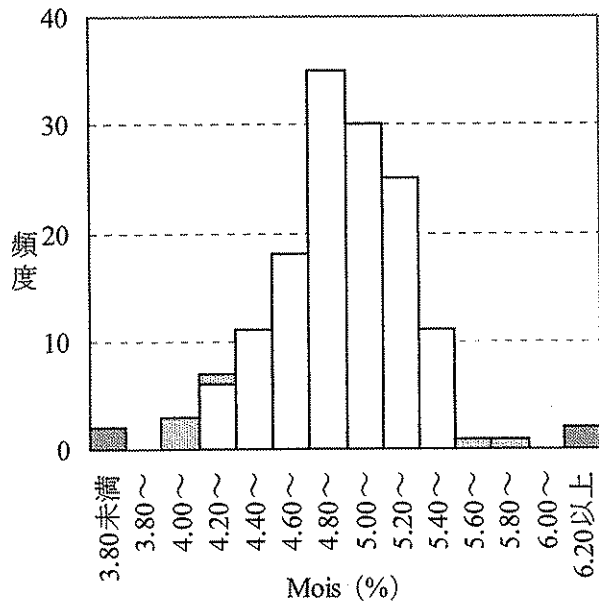


図2-1 化成肥料中のMoissの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

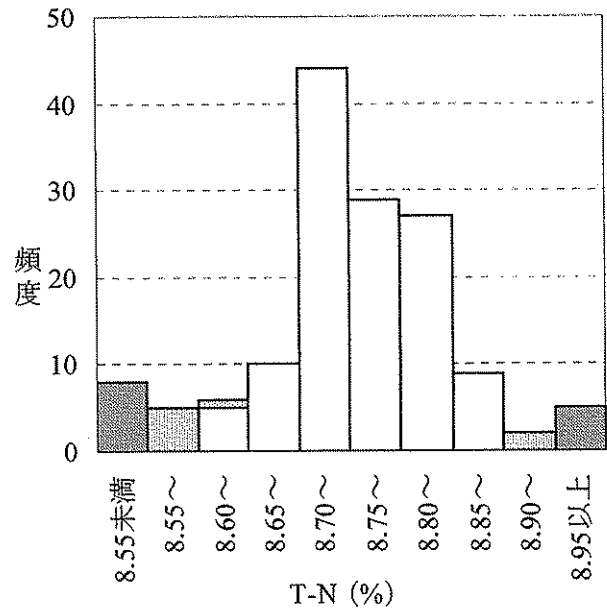


図2-2 化成肥料中のT-Nの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

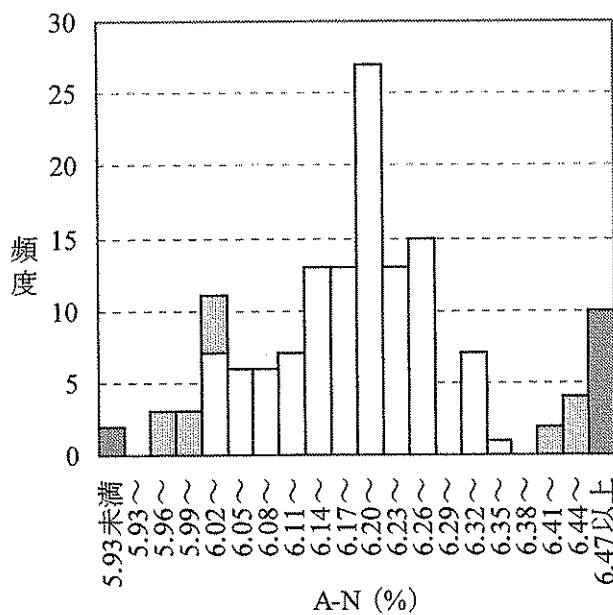


図2-3 化成肥料中のA-Nの試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

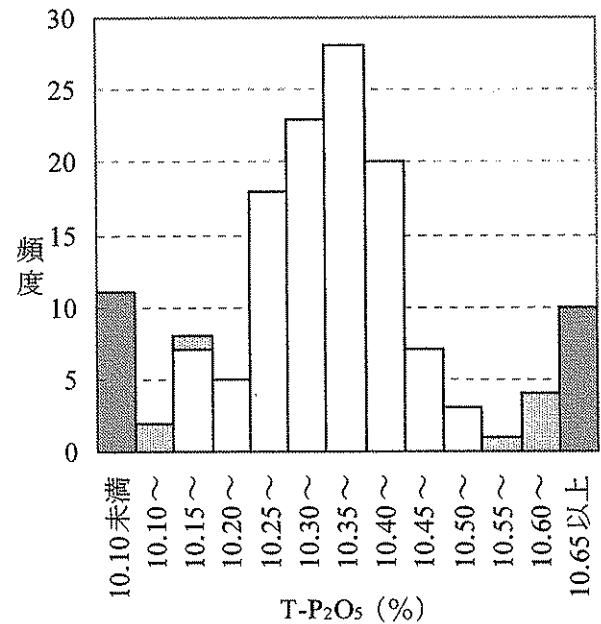


図2-4 化成肥料中のT-P₂O₅の試験成績

□ 満足 □ 疑わしい ■ 不満足

(3) 化成肥料中のアンモニア性窒素(A-N)

参加 143 試験室から報告があったアンモニア性窒素(A-N)の試験成績の度数分布を図 2-3 に示した. 平均値 6.20%と Median 6.20%は一致し, NIQR 0.09%は HSD 0.19%より小さい値であった. また,「満足」と

評価された試験室は全体の 80%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。なお、習熟していない試験室は高い値を示す傾向がみられた。蒸留の際、酸化マグネシウムに代えて水酸化ナトリウム液を用いた場合、試料液中の有機物が一部分解してアンモニア性窒素を生じるため、高い値を示すことがある。このため、有機物を含有する肥料中のアンモニア性窒素の蒸留では、有機物を分解させないように考慮する必要がある。

また、8 試験室からケルオート等の自動分析装置を用いた試験成績の報告があり、3 試験室は「満足」と評価される試験成績であったが、2 試験室は「不満足」と評価される試験成績であり、いずれも高い値であった。

(4) 化成肥料中のりん酸全量(T-P₂O₅)

参加 140 試験室から報告があったりん酸全量(T-P₂O₅)の試験成績の度数分布を図 2-4 に示した。平均値 10.33%と Median 10.35%はほぼ一致し、NIQR 0.10%は HSD 0.29%より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 79%であり、その分布はほぼ左右対称であった。なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 15%であり、高い値と低い値の試験室の割合がほぼ同等であった。

また、1 試験室から肥料分析法 4.2.1 キリン重量法による試験成績の報告があり、「満足」と評価される試験成績であった。

(5) 化成肥料中のく溶性りん酸(C-P₂O₅)

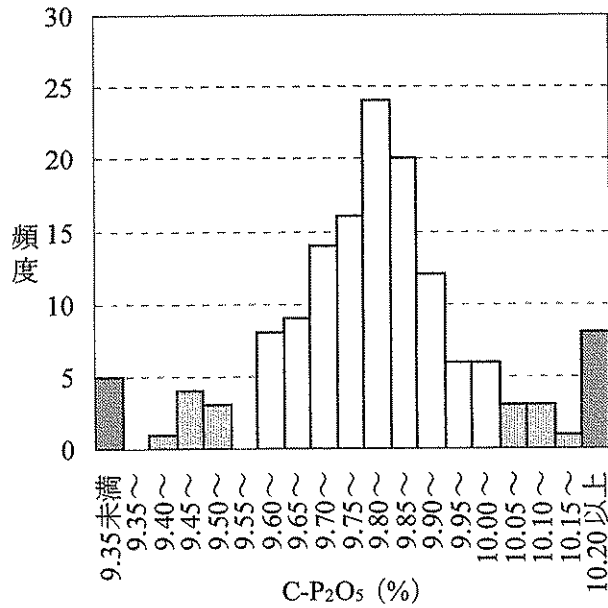
参加 143 試験室から報告があったく溶性りん酸(C-P₂O₅)の試験成績の度数分布を図 2-5 に示した。平均値 9.81%、Median 9.81%及び均質性確認試験における平均値 9.89%ともほぼ一致した。NIQR 0.13%は、HSD 0.28%より小さい値であり、均質性確認試験における標準偏差 0.16%とほぼ同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 80%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

また、1 試験室から肥料分析法 4.2.1 キリン重量法による試験成績の報告があり、「満足」と評価される試験成績であった。

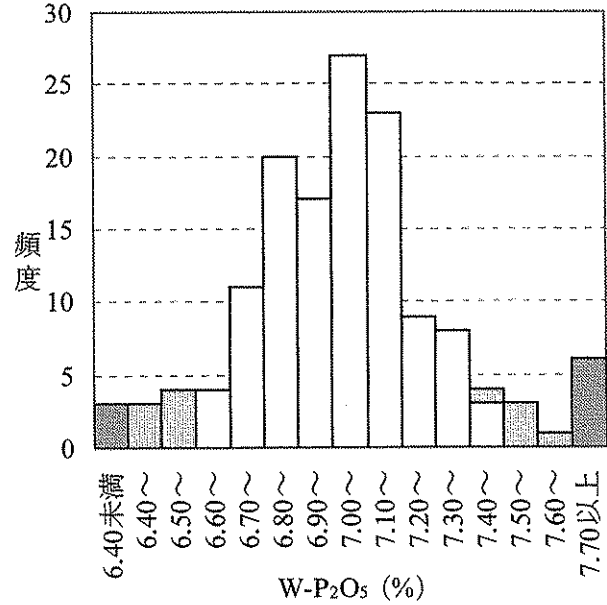
(6) 化成肥料中の水溶性りん酸(W-P₂O₅)

参加 143 試験室から報告があった水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験成績の度数分布を図 2-6 に示した。平均値 7.05%と Median 7.02%は一致し、NIQR 0.23%は HSD 0.21%と同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 85%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

また、1 試験室から肥料分析法 4.2.1 キリン重量法による試験成績の報告があり、「満足」と評価される試験成績であった。

図2-5 化成肥料中のC-P₂O₅の試験成績

□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

図2-6 化成肥料中のW-P₂O₅の試験成績

□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

(7) 化成肥料中の水溶性加里(W-K₂O)

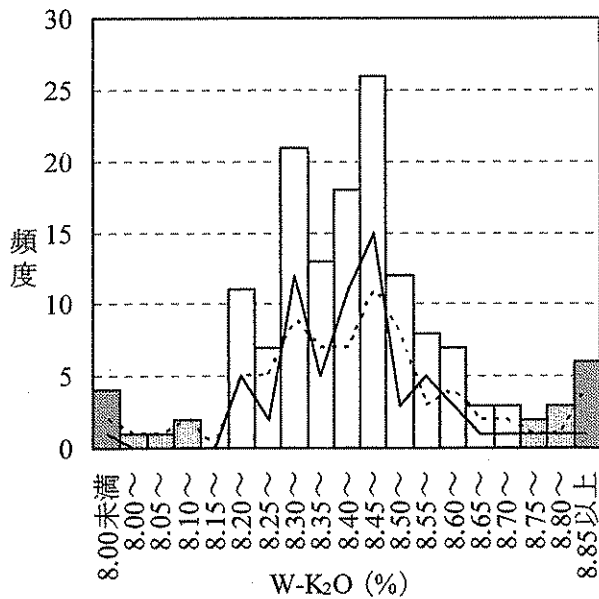
参加 145 試験室から報告があった水溶性加里(W-K₂O)の試験成績の度数分布を図 2-7 に示した。平均値 8.44%と Median 8.43%はほぼ一致し、NIQR 0.15%は HSD 0.24%より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 87%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

また、フレーム光度法(炎光光度法: 67 試験室)及び原子吸光測光法(75 試験室)による試験成績について、平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に 5%の水準で有意な差は認められなかった。3 試験室から ICP 発光法による試験成績の報告があり、1 試験室は「満足」と評価される試験成績であり、1 試験室から「不満足」と評価される高い値の試験成績であった。3 試験室から肥料分析法 4.3.2 テトラフェニルほう酸ナトリウム容量法による試験成績の報告があり、2 試験室は「満足」と評価される試験成績であり、1 試験室は「不満足」と評価される高い値の試験成績であった。

(8) 化成肥料中のく溶性苦土(C-MgO)

参加 137 試験室から報告があったく溶性苦土(C-MgO)の試験成績の度数分布を図 2-8 に示した。平均値 3.39%と Median 3.41%及び均質性確認試験における平均値 3.57%はほぼ一致した。NIQR 0.07%は HSD 0.11%より小さい値であり、均質性試験における標準偏差 0.09%とほぼ同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 82%であり、その分布はほぼ左右対称であった。なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 10%であり、高い値と低い値の試験室の割合がほぼ同等であった。

また、6 試験室から肥料分析法 4.6.1 エチレンジアミン四酢酸塩法(EDTA 法)による試験成績の報告があり、5 試験室は「満足」と評価される試験成績であった。7 試験室から ICP 発光法による試験成績の報告があり、5 試験室は「満足」と評価される試験成績であった。

図2-7 化成肥料中のW-K₂Oの試験成績

満足
 疑わしい
 不満足
 炎光光度法
 原子吸光法

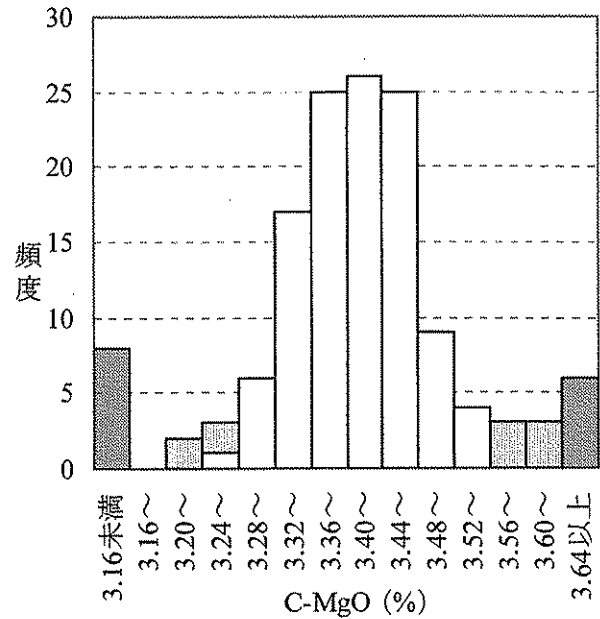


図2-8 化成肥料中のC-MgOの試験成績

満足 疑わしい 不満足

(9) 化成肥料中のひ素全量(T-As)

参加 68 試験室から報告があったひ素全量(T-As)の試験成績の度数分布を図2-9に示した。平均値 3.75 mg/kg と Median 3.84 mg/kg はほぼ一致し、NIQR 0.38 mg/kg は HSD 0.50mg/kg より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 84%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。なお、習熟していない試験室は低い値を示す傾向がみられた。試料液の調製における酸による分解が不十分であったために低い値を示したと考えられる。

また、ジエチルジチオカルバミン酸銀法(吸光光度法: 42 試験室)及び原子吸光測光法(22 試験室)による試験成績について、平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に 5%の水準で有意な差は認められなかった。4 試験室から ICP 発光法による試験成績の報告があり、3 試験室は「満足」と評価される試験成績であった。

(10) 化成肥料中のカドミウム全量(T-Cd)

参加 85 試験室から報告があったカドミウム全量(T-Cd)の試験成績の度数分布を図2-10に示した。平均値 1.29 mg/kg と Median 1.24 mg/kg はほぼ一致し、NIQR 0.12 mg/kg は HSD 0.19 mg/kg より小さい値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 85%であり、その分布はほぼ左右対称であった。なお、「不満足」と評価された試験室は全体の 11%であり、高い値を示す傾向がみられた。測定機器による補正が不十分であったために高い値を示したと考えられる。

また、D₂補正法(49 試験室)及び MIBK による溶媒抽出法(23 試験室)による試験成績について、平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に 5%の水準で有意な差は認められなかった。4 試験室からゼーeman補正法による試験成績の報告があり、いずれも「満足」と評価される試験成績であった。8 試験室から ICP 発光法による試験成績の報告があり、7 試験室は「満足」と評価される試験成績であり、1 試験

室は「不満足」と評価される高い値の試験成績であった。

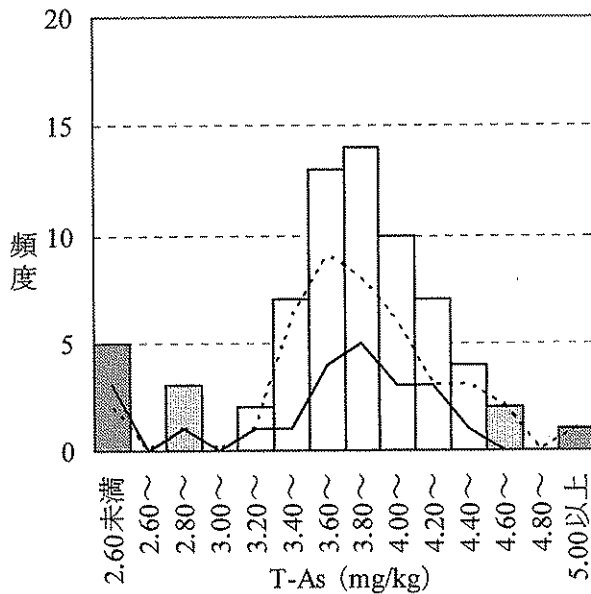


図2-9 化成肥料中のT-Asの試験成績

満足
 不満足
 原子吸光法
 疑わしい
 吸光光度法

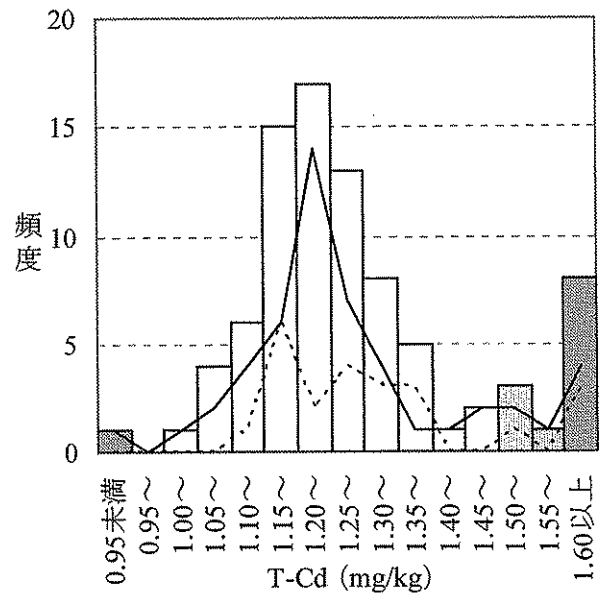


図2-10 化成肥料中のT-Cdの試験成績

満足
 不満足
 溶媒抽出法
 疑わしい
 分析装置の補正

(11) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)

参加 67 試験室から報告があった可溶性けい酸(S-SiO₂)の試験成績の度数分布を図 3-1 に示した。Median 28.25%は平均値 28.42%より若干低い値を示した。NIQR 0.87%は、HSD 0.53%の2倍^{6~8)}を超えていなかった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 93%であったが、その分布は Median より低い値に偏る傾向があった。この原因は、結晶の生成の際の冷却温度及び時間が不十分であったこと、その後のろ過及び洗浄操作における損失があったことが考えられた。

また、ふっ化カリウム法(54 試験室)及び肥料分析法 4.4.2 過塩素酸法(10 試験室)による試験成績について、平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に 5%の水準で有意な差は認められなかった。1 試験室から肥料分析法 4.4.1 塩酸法による試験成績の報告があり、「満足」と評価される試験成績であった。1 試験室から ICP 発光法による試験成績の報告があった。

(12) 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分(AL)

参加 83 試験室から報告があったアルカリ分(AL)の試験成績の度数分布を図 3-2 に示した。平均値 48.60%と Median 48.70%はほぼ一致し、NIQR 0.76%は HSD 0.70%と同等の値であった。また、「満足」と評価された試験室は全体の 84%であり、その分布はほぼ左右対称であった。このことから、参加した多くの試験室はこの試験方法に習熟していると考えられる。

また、原子吸光測光法(59 試験室)及び EDTA 法(22 試験室)による試験成績について、平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に 5%の水準で有意な差は認められなかった。2 試験室から ICP 発光法による試験成績の報告があり、1 試験室は「満足」と評価される試験成績であった。

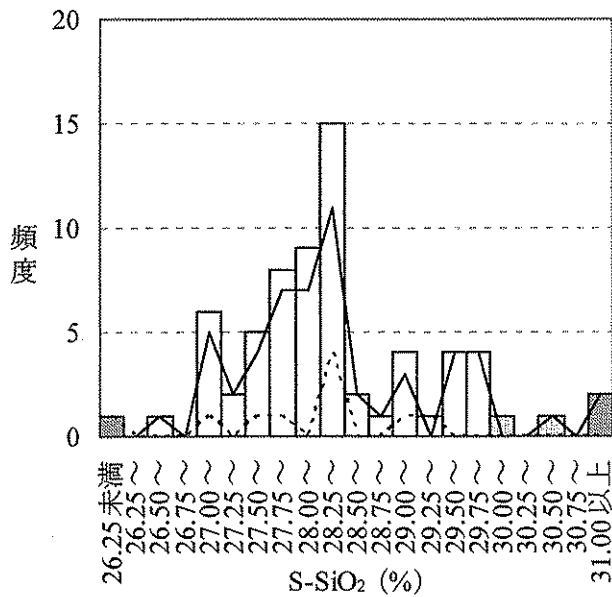


図3-1 鉍さいけい酸質肥料中のS-SiO₂試験成績

満足
 不満足
 疑わしい
 ふっ化カリウム法
 過塩素酸法

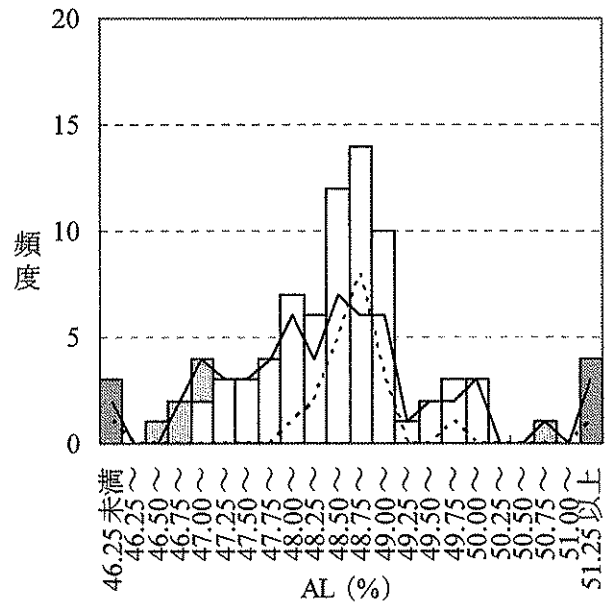


図3-2 鉍さいけい酸質肥料中のALの試験成績

満足
 不満足
 疑わしい
 原子吸光法
 EDTA法

(13) 鉍さいけい酸質肥料中のく溶性苦土(C-MgO)

参加 86 試験室から報告があったく溶性苦土(C-MgO)の試験成績の度数分布を図 3-3 に示した. 平均値 3.20%と Median 3.17%及び均質性確認試験における平均値 3.05%はほぼ一致した. NIQR 0.21%は, 均質性確認試験における標準偏差 0.02%より大きい, HSD 0.11%の 2 倍^{6~8)}を超えていなかった. また, 「満足」と評価された試験室は全体の 83%であり, その分布はほぼ左右対称であった.

また, 8 試験室から EDTA 法による試験成績の報告があり, いずれも「満足」と評価される試験成績であった. 3 試験室から ICP 発光法による試験成績の報告があり, 2 試験室は「満足」と評価される試験成績であった.

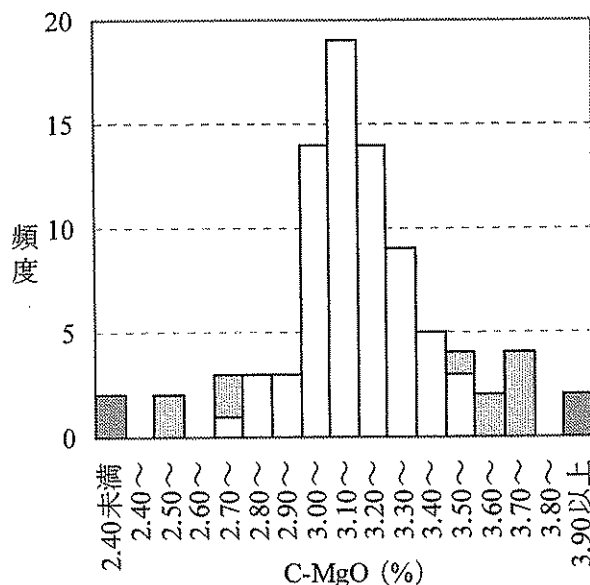


図3-3 鉍さいけい酸質肥料中のC-MgOの試験成績

□ 満足 ■ 疑わしい ■ 不満足

6. まとめ

化成肥料 10 成分及び鉍さいけい酸質肥料 3 成分について外部精度管理のための共同試験を実施した。各試験成績はロバスト法による z スコアを用いて評価した。「満足」と評価された試験室の割合は 79~93%であり、「不満足」と評価された試験室の割合は 3~15%であった。「満足」と評価されたほとんどの試験成績は左右対称の分布であった。一方、「不満足」と評価されるひとつの要因として、その試験室の中には該当する成分を日常の分析業務としていないことから、試験者がその分析方法に熟練していないことがあげられた。ほとんどの成分で全体の平均値 Mean は、中央値 Median とほぼ一致していた。更に、Median-NIQR をプロットしたところ、Horwitz 修正式の近傍に分布していた。

また、複数の試験法による報告 (10 試験室以上) があつた成分の試験成績について、方法間の平均値の差の検定を実施したところ、解析した全ての成分で方法間に有意な差は認められなかった。水溶性加里 (W-K₂O)、く溶性苦土 (C-MgO)、ひ素全量 (T-As)、カドミウム全量 (T-Cd)、可溶性けい酸 (S-SiO₂) 及びアルカリ分 (AL) において ICP 発光法による試験成績が報告されたが、いずれも 10 試験室未満であつたので方法間の比較の解析は行わなかった。

7. 謝 辞

この共同試験を実施するにあたり、試料の準備・調製、均質性試験等多大なご協力を賜りました、清和肥料工業株式会社和歌山工場及び株式会社テツゲン室蘭支店肥料工場の関係者各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料分析標準試料の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 2) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 3) ISO/IEC Guide 43-1 (1997): “Proficiency testing by interlaboratory comparisons—Part 1 : Development and operation of proficiency testing schemes” (JIS Q 0043-1 : 1998, 「試験所間比較による技能試験 第1部: 技能試験の開発及び運営」)
- 4) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 5) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法 (1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 6) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 7) Thompson, M.: Recent Trend in Interlaboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing, *Analyst*, **124**, 385~386 (2000)
- 8) Horwitz, W., Albert, R.: The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision, *J. AOAC Int.*, **89** (4), 1095~1109 (2006)

Proficiency Testing for Determination of Chief Ingredients and Harmful Elements of Ground Fertilizers (2007)

Yuichi TAKAHASHI¹, Kimie KATO², Shinjiro IDUKA³, Akira SHIMIZU⁴, Manabu MATSUZAKI⁵,
Tomoe INOUE⁵, Takeshi UCHIYAMA⁶, Yuji SHIRAI¹ and Susumu SUGIHARA⁷

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

⁴ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

⁵ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center Osaka Office

⁶ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

⁷ Japan Fertilizer and Feed Inspection Association

Reference materials of ground compound fertilizer and silicate slug fertilizer were used for proficiency testing. This proficiency testing of analytical laboratories was based on ISO/IEC Guide 43-1, "Proficiency testing by interlaboratory comparisons". Moisture, total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), total phosphorus (T-P₂O₅), citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), total arsenic (T-As), and total cadmium (T-Cd) were analyzed using a compound fertilizer sample. Acid-soluble silicon (S-SiO₂), alkalinity (AL) and citric acid-soluble magnesium (C-MgO) were analyzed using a silicate slug fertilizer sample. Two homogenized samples were sent to the participants. From the 156 participants which received a compound fertilizer sample, 68~148 results were returned for each element. From the 86 participants which received a silicate slug fertilizer sample, 67~86 results were returned for each element. Data analysis was conducted according to the harmonized protocol for proficiency testing, revised cooperatively by the international standardizing organizations IUPAC, ISO, and AOAC International (2006). The ratios of the number of *z* scores between -2 and +2 to that of all scores were 79~93% and the results from the satisfactory participants were normally distributed. The mean and median of all data mostly agreed. The of median-NIQR plots were distributed near Horwitz curve for each element, and the HorRat values were less than 2.0 for all elements except for moisture. Where more than ten results were returned, no significant distribution difference was observed between the different methods used.

Key words proficiency testing, compound fertilizer, silicate slug fertilizer, moisture, chief ingredients, harmful element, ISO/IEC Guide 43-1, ISO/IEC 17025, *z* score

(Research Report of Fertilizer, 1, 152~167 2008)

12 副産植物質肥料等中のメラミン及びシアヌル酸の定性試験法

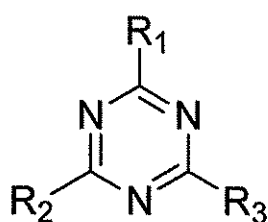
田村 勉¹, 水野和俊¹, 秋元里乃¹, 高橋佐貴子¹, 白井裕治¹

キーワード メラミン, シアヌル酸, 副産植物質肥料, 定性試験

1. はじめに

最近, 中国製の食品中からたん白質の欺瞞材としてメラミンが混入した事件が報道されている. 肥料においても, 主成分である有機質由来の窒素全量の含有量を多く見せかけるため, 窒素含有率が高く, その肥効が期待できないメラミンを混合したとする事例が発生した. ケルダール法又は燃焼法を用いてメラミンが混入した肥料を分析した場合, 窒素全量として加味されて評価される. メラミン等(メラミン及びその関連物質)の混入は肥料の品質を低下させることから, ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)¹⁾を用いた肥料中のメラミン等(メラミン及びその関連物質)を定量する試験法について定量範囲, 精確さ等の試験方法の妥当性の確認を実施し, 満足する結果が得られた²⁾.

一方, 測定に用いるGC/MSは高額であるため, 肥料倉庫, 生産現場等で保有している事業所はほとんどないことから, メラミンの混入の有無を確認できる簡易な定性試験法の開発が必要とされている. 水溶液中のメラミンはシアヌル酸の存在下でメラミンシアヌレート³⁾の沈殿を生成することが知られており, この反応を利用したメラミンの定量法が紹介されている^{3~6)}. 筆者らは, 副産植物質肥料等中のメラミンを検出する簡易的な定性試験として応用し, その適用範囲及び検出下限を検討した.



	R ₁	R ₂	R ₃	MW	N含有率(%)
メラミン	NH ₂	NH ₂	NH ₂	126.12	67
アンメリン	OH	NH ₂	NH ₂	127.10	55
アンメリド	OH	OH	NH ₂	128.09	44
シアヌル酸	OH	OH	OH	129.07	33

図1 メラミン及びその関連物質の構造式

2. 材料及び方法

1) 供試試料

市販の濃縮大豆たん白, 濃縮米たん白, コーングルテンミール, 小麦グルテン, 馬鈴しょたん白, 卵白粉末, 大豆油かす及びなたね油かすをビニール袋に入れ, 常温で保存した.

2) 試薬等の調製

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

- (1) 水：市販のペットボトル入りの飲料用の水を使用した。使用前にメラミン溶液及びシアヌル酸溶液を用いて白濁しないことを確認した。
- (2) シアヌル酸溶液：使用時に、シアヌル酸 0.1 g 以上を水 50 mL に加えて飽和させ、ろ過した。
- (3) メラミン溶液：使用時に、メラミン 0.2 g 以上を水 50 mL に加えて飽和させ、ろ過した。

3) 器具及び装置

- (1) 300 mL 程度の容器：密栓できるもの
- (2) ロート
- (3) 試験管：ガラス製等で透明なもの
- (4) ろ紙：JIS P 3801 に規定する定性分析用 3 種に相当のもの

4) 試験操作

(1) 抽出 (図 2)

分析試料 10~20 g をはかりとり、容器に入れた。約 10 倍量の水を加え、30 秒間振り混ぜ、少時静置した。上澄み液をろ紙でろ過した(ろ過が困難な場合は、遠心分離を実施した。)。ろ液の適量を試験管(A)、試験管(B)及び試験管(C)にそれぞれ入れた。

シアヌル酸溶液 1~2 mL を試験管(A)に加えて振り混ぜ、約 10 分間放置した。また、メラミン溶液 1~2 mL を試験管(C)に加えて振り混ぜ、約 10 分間放置した。

(2) 判定

メラミンの含有は、試験管(A)の溶液の白濁により確認した。シアヌル酸の含有は、試験管(C)の溶液の白濁により確認した(図 3)。なお、白濁がわずかな場合は、試験管(B)の溶液(対照液)を対照として比較した。

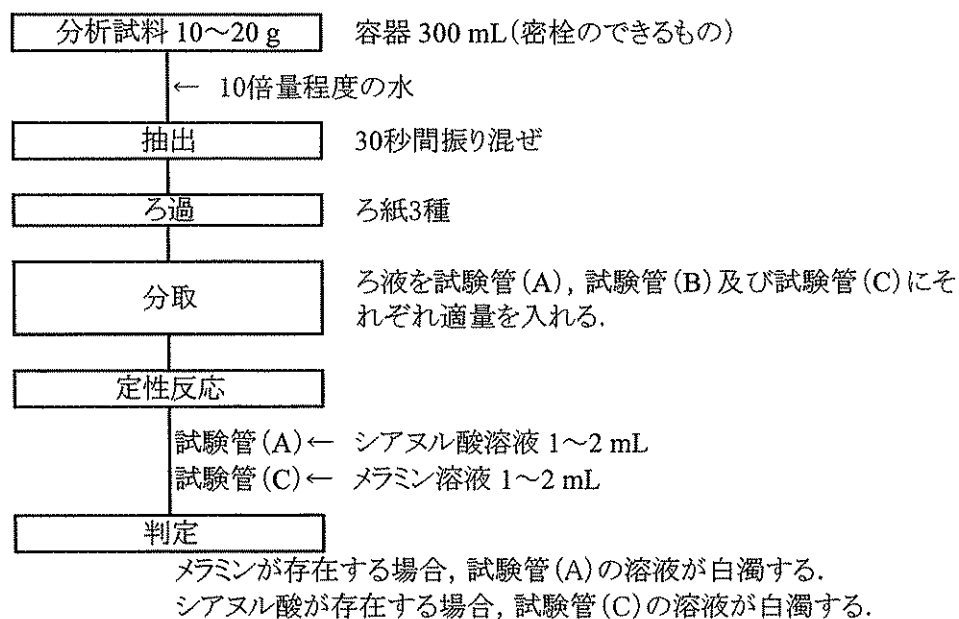


図2 副産植物質肥料等中のメラミン及びシアヌル酸の定性試験法フローシート

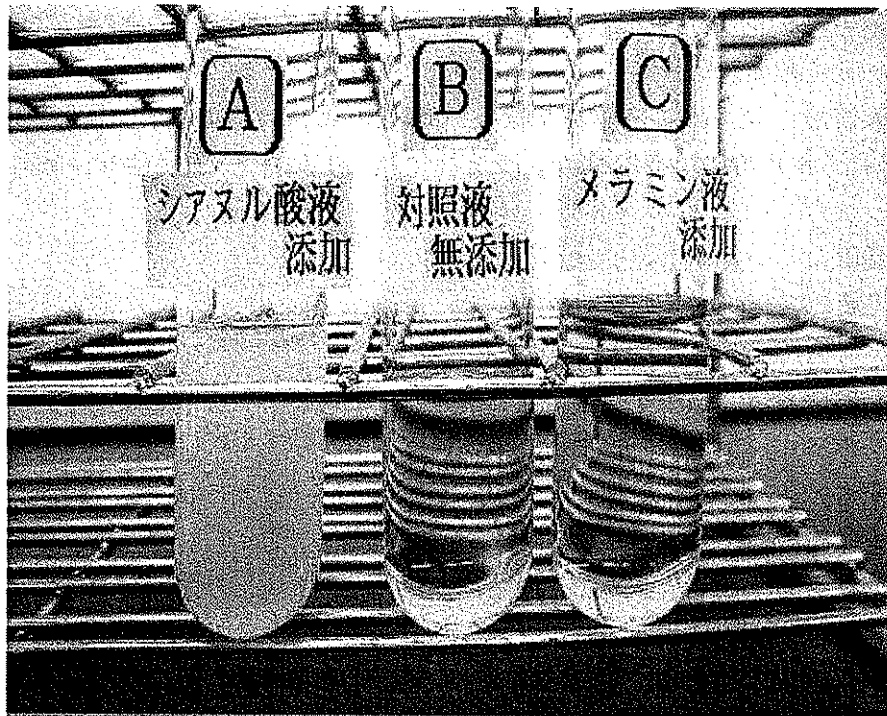


図3 試料溶液中に含有するメラミンの定性反応

3. 結果および考察

1) 適用範囲

濃縮大豆たん白、濃縮米たん白、コーングルテンミール、小麦グルテン、馬鈴しょたん白及び卵白粉末中にそれぞれ1%及び3%相当量添加されたメラミン及びシアヌル酸を本法により検出した結果を表1に示した。いずれの試料からもメラミン及びシアヌル酸は検出された。メラミンの窒素含有率は67%と高いことから、これらが肥料中に数%含有するとケルダール法で窒素全量として評価されてしまうおそれがある。本法では、副産植物質肥料等中にその濃度レベルで含有したメラミン及びシアヌル酸を検出できることを確認した。

2) 検出下限

大豆油かす及びなたね油かすに添加された微量のメラミン及びシアヌル酸を本法により検出した結果を表2に示した。メラミン又はシアヌル酸を含有量として0.02%~0.5%になるようにそれぞれ添加した試料を用いて定性試験を実施したところ、メラミンはいずれも0.05%まで検出された。また、シアヌル酸は、大豆油かす中で0.05%、また、なたね油かす中で0.1%まで検出された。

この結果から、本試験法の検出下限はメラミンで0.05%程度、シアヌル酸で0.1%程度と推定された。

3) 水温の影響

大豆油かす及びなたね油かすにそれぞれ1%相当量添加されたメラミン及びシアヌル酸を氷水及び40℃の水を用いて本法により検出した結果、いずれも定性反応を示した。肥料倉庫、生産現場等での水温は気温に影響されるが、本法は水温に影響されないことから、地域及び季節を問わずに肥料倉庫、生産現場等で適用可能と考えられた。

表1 メラミン及びシアヌル酸の定性試験結果

試料の種類	含有量 ¹⁾	メラミン	シアヌル酸
濃縮大豆たん白	3%	+ ²⁾	+
	1%	+	+
濃縮米たん白	3%	+	+
	1%	+	+
コーングルテンミール	3%	+	+
	1%	+	+
小麦グルテン	3%	+	+
	1%	+	+
馬鈴薯たん白	3%	+	+
	1%	+	+
卵白粉末	3%	+	+
	1%	+	+

1) メラミン又はシアヌル酸の添加濃度

2) 定性反応陽性

表2 低濃度のメラミン及びシアヌル酸の定性試験結果

試料の種類	含有量 ¹⁾	メラミン	シアヌル酸
大豆油かす	0.5%	+ ²⁾	+
	0.1%	+	+
	0.05%	+	+
	0.02%	+-	+-
なたね油かす	0.5%	+	+
	0.1%	+	+
	0.05%	+	-
	0.02%	-	-

1) メラミン又はシアヌル酸の添加濃度

2) 定性反応陽性

3) 定性反応陽性(微弱)

4) 定性反応陰性

4. まとめ

肥料中のメラミン及びシアヌル酸の定性試験法を検討したところ、つぎのとおり成績を得た。

- 1) 副産植物質肥料等中の1%及び3%相当量のメラミン及びシアヌル酸を検出できた。
- 2) 大豆油かす及びなたね油かすを用いて検出下限の試験を実施したところ、メラミン及びシアヌル酸の検出下限は0.05%~0.1%程度と推定された。
- 3) 本法は、水温に影響されないことから、地域及び季節を問わずに肥料倉庫、生産現場で適用可能と考えられた。

なお、参考のため、試験方法の詳細をFAMICホームページに掲載した⁷⁾。

文 献

- 1) U.S. Food and Drug Administration (FDA), GC-MS Screen for the Presence of Melamine, Ammeline, Ammelide and Cyanuric Acid (Version 2.1) (2007)
- 2) 白井裕治, 大木 純: ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) 法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測定, 肥料研究報告, **1**, 114~121 (2008)
- 3) JIS K 1531, メラミン (2003)
- 4) 山添文雄, 今井次郎: 石灰窒素含有肥料中のシアナミド誘導体の分別定量法, 分析化学, **9**, 877~883 (1960)
- 5) 山添文雄, 越野正義, 藤井国博, 三輪睿太郎: 改訂詳解肥料分析法, p.85~87, 養賢堂, 東京 (1973)
- 6) 日本分析化学会編: 改訂三版 分析化学便覧, p.839, 丸善, 東京 (1981)
- 7) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): メラミンの試験法
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub5_4/LI_1.htm>

肥料研究報告編集委員

委員長 杉浦 勝明 副委員長 片山 信浩

阿部 文浩	原 秀樹
坂上 光一	藤井 隆義
柴田 政人	水野 和俊
白井 裕治	吉岡 和之
田村 勉	

肥料研究報告 第1号

発行 独立行政法人農林水産消費安全技術センター
埼玉県さいたま市中央区新都心2番地1
さいたま新都心合同庁舎検査棟
TEL 048-601-1175
FAX 048-601-1179
<http://www.famic.go.jp/>

平成20年12月

編集 肥料研究報告編集委員会

印刷 株式会社 芝光社
東京都港区芝公園1-7-17
TEL 03-3438-3381

