

肥料研究報告

第8号

2015年

Research Report of Fertilizer

Vol. 8
2015



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

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)は肥料取締法に定められている肥料の登録及び仮登録の申請に関する業務、肥料事業者等への立入検査に関する業務、肥料公定規格の設定等に関する業務と、地力増進法に定められている土壌改良資材の立入検査業務等を行っております。

肥料は肥料取締法で定められた保証成分の適正な管理のため一定水準の分析の正確さが求められています。特に近年は肥料原料の高騰から汚泥など未利用資源の肥料への利用拡大が進んでおります。しかしながら、汚泥肥料には有害な重金属を含有する恐れがあるため、安全な肥料としての流通を確保するために検査・分析の比重がより高まっております。

「肥料研究報告」は、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と妥当性の検証、既存の方法の性能調査、肥料由来の有害成分の土壌中での挙動や作物への吸収、全国肥料品質保全協議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たものです。今般、平成26年度に得られた成果を中心に収録した第8号を発行いたしましたので、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。

2015年12月

独立行政法人農林水産消費安全技術センター
理事長 木村 真人

肥料研究報告 第8号

- 2015 -

目次

<試験法等の検討及び妥当性確認>

- 1 ICP 発光分光分析(ICP-OES)法による液状肥料中の水溶性主成分の測定
..... 青山恵介 1
- 2 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中の水溶性りん酸の測定 -適用範囲拡大-
..... 阿部文浩, 佐々木徳幸, 平原稔夫 10
- 3 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中の水溶性りん酸の測定 -亜りん酸の酸化方法の改良-
..... 阿部文浩, 佐々木徳幸, 平原稔夫 17
- 4 ICP 質量分析計(ICP-MS)及び還元気化原子吸光光度計(CV-AAS)による液状汚泥肥料中の重金属等の測定
..... 八木寿治 26
- 5 液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)による肥料中のスルファミン酸の測定
..... 伊藤浩平, 藤田真理子, 橋本良美, 白井裕治 38
- 6 イオンクロマトグラフ(IC)法による肥料中の塩素の測定
..... 坂井田里子, 藤田真理子, 白井裕治 50
- 7 原子吸光分析法による肥料中のナトリウムの測定
..... 加藤公栄, 千田正樹, 藤田敏文 61
- 8 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の亜硝酸及びチオシアン酸アンモニウム(硫青酸化物)の測定 -共同試験成績-
..... 長谷川正憲, 木村康晴 70

<調査・試験業務>

- 9 カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報) -2013年冬作・2014年夏作-
..... 廣井利明, 五十嵐総一, 鈴木時也, 橋本良美, 田中雄大,
阿部文浩, 加島信一 79

<試験成績の信頼性確保関連>

10	2014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 伊藤浩平, 千田正樹, 船水悦子, 平原稔夫, 筒井久司, 惠智正宏, 豊留夏紀, 白井裕治, 今川俊明	114
11	2014年度 肥料認証標準物質の開発 - 普通化成肥料 FAMIC-B-14 の調製- 阿部 進, 秋元里乃, 坂井田里子, 八木寿治, 伊藤浩平, 田中雄大, 加島信一, 廣井利明, 鈴木時也, 佐久間健太, 橋本良美, 白井裕治	140
12	2014年度 肥料認証標準物質の開発 - 高度化成肥料 FAMIC-A-10, 普通化成肥料 FAMIC-B-10, 汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12 及び高度化成肥料 FAMIC-A-13 の長期安定性評価- 稲葉茂幸, 木村康晴, 伊藤 潤, 藤田 卓, 青山恵介, 惠智正宏, 長谷川正憲, 白井裕治	153
<ノート>		
13	水溶性けい酸試験法の性能調査 - ふっ化カリウム法- 川口伸司	174
14	コマツナの生理障害試験 - 加里- 藤田 卓	182
15	化学反応による定性試験 - 尿素及びアンモニア性窒素- 五十嵐総一, 八木啓二, 添田英雄, 豊留夏紀, 有隅孝子, 石崎和宏	201

Research Report of Fertilizer Volume 8

– 2015–

Index

<Development and Validation for Determination Methods>

- 1 Simultaneous Determination of Water-Soluble Principal Ingredients (W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃) in Liquid Fertilizer using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)
..... Keisuke AOYAMA 1
- 2 Determination of Water-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry
..... Fumihiko ABE, Noriyuki SASAKI and Toshio HIRABARA 10
- 3 Determination of Citric Acid-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry
..... Fumihiko ABE, Noriyuki SASAKI and Toshio HIRABARA 17
- 4 Determination of Heavy Metals in Fluid Sludge Fertilizers by ICP-MS and CV-AAS
..... Toshiharu YAGI 26
- 5 Determination of Sulfamic Acid in Fertilizer by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC-MS)
..... Kohei ITO, Mariko FUJITA, Yoshimi HASHIMOTO and Yuji SHIRAI 38
- 6 Determination of Chloride in Fertilizers by Ion Chromatography (IC)
..... Satoko SAKAIDA, Mariko FUJITA and Yuji SHIRAI 50
- 7 Method Validation for Determination of Sodium in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry
..... Kimie KATO, Masaki CHIDA and Toshifumi FUJITA 61
- 8 Determination of Nitrous Acid and Ammonium Thiocyanate in Fertilizer by High Performance Liquid Chromatography (HPLC): A Collaborative Study
..... Masanori HASEGAWA and Yasuharu KIMURA 70

<Investigation and Research>

- 9 Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report) - Winter 2013 and Summer 2014 -
... Toshiaki HIROI, Souichi IGARASHI, Tokiya SUZUKI, Yoshimi HASHIMOTO,
Yudai TANAKA, Fumihiko ABE and Shinichi KASHIMA 79

<Assurance Practices for Reliable Analytical Data>

- 10 Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements of Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2014
..... Kohei ITO, Masaki CHIDA, Etsuko FUNAMIZU, Toshio HIRABARA,
Hisashi TSUTSUI, Masahiro ECHI, Natsuki TOYODOME, Yuji SHIRAI
and Toshiaki IMAGAWA 114
- 11 Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components and Harmful Elements: Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-14)
... Shin ABE, Satono AKIMOTO, Satoko SAKAIDA, Toshiharu YAGI, Kohei ITO,
Yudai TANAKA, Shinichi KASHIMA, Toshiaki HIROI, Tokiya SUZUKI,
Kenta SAKUMA, Yoshimi HASHIMOTO and Yuji SHIRAI 140
- 12 Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements: High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-10), Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-10), Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12) and High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-13)
..... Shigeyuki INABA, Yasuharu KIMURA, Jun ITO, Taku FUJITA,
Keisuke AOYAMA, Masahiro ECHI, Masanori HASEGAWA and Yuji SHIRAI 153

<Note>

- 13 Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Water-Soluble Silicic Acid in Fertilizer by Potassium Fluoride Method
..... Shinji KAWAGUCHI 174
- 14 Physiological disorder of Komatsuna - Potassium -
..... Taku FUJITA 182
- 15 The Qualitative Test by Means of Chemical Reaction - Urea Nitrogen and Ammonium Nitrogen -
..... Souichi IGARASHI, Keiji YAGI, Hideo SOETA, Natsuki TOYODOME,
Takako ARISUMI and Kazuhiro ISHIZAKI 201

1 ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による液状肥料中の水溶性主成分の測定

青山恵介¹

キーワード ICP-OES, 液状肥料, 水溶性主成分

1. はじめに

現在, 肥料等試験法¹⁾に掲載されている肥料の主成分分析は, 吸光光度法及びフレイム原子吸光光度法等であり, 誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-OES 法) については掲載されていない. ICP-OES 法を用いた肥料の分析法については, 2011 年に汚泥肥料中の有害成分の分析法について報告されており, 汚泥肥料のように共存物質の多い試料についても ICP-OES 法の適用が可能であると報告されている²⁾.

肥料等試験法¹⁾に掲載されている水溶性りん酸 (W-P₂O₅), 水溶性加里 (W-K₂O), 水溶性苦土 (W-MgO), 水溶性マンガン (W-MnO) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) の分析法は, 試料を水で抽出した溶液を用いて分析することから, 汚泥肥料を王水分解した溶液を用いる分析法と比較して, 共存物質が少ない試料溶液を用いている. このことから, 肥料中の水溶性主成分の分析についても ICP-OES 法による分析が可能と考え, その適用性を検討した.

今回は, 液状肥料中の水溶性主成分 (W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃) を対象として ICP 発光分光分析法への適用を検討したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料

試料として, いずれも流通している液状複合肥料, 家庭園芸用複合肥料 (液状肥料) 及び液体微量元素複合肥料を用いた.

2) 試薬等の調製

- (1) りん標準液 (P 10 mg/mL): りん標準液 (P: 10 mg/mL) (SIGMA-ALDRICH; TraceCERT)
- (2) カリウム標準液 (K 1 mg/mL): カリウム標準液 (K: 1000 µg/mL) (和光純薬工業; JCSS)
- (3) マグネシウム標準液 (Mg 1 mg/mL): マグネシウム標準液 (Mg: 1000 µg/mL) (和光純薬工業; JCSS)
- (4) マンガン標準液 (Mn 1 mg/mL): マンガン標準液 (Mn: 1000 µg/mL) (和光純薬工業; JCSS)
- (5) ほう素標準液 (B 1 mg/mL): ほう素標準液 (B: 1000 µg/mL) (和光純薬工業; JCSS)
- (6) 混合標準液: (1)~(5) の標準液を標準原液とし, 各標準原液を混合・希釈して混合標準 (P 200 µg/mL, K 200 µg/mL, Mg 20 µg/mL, Mn 10 µg/mL 及び B 10 µg/mL) を調製した. また, この混合標準液を希釈し, 塩酸濃度が (1+23) となるように適宜塩酸 (1+5) を加えて検量線用混合標準液を調製した.
- (7) 水: 超純水 (比抵抗値 18 MΩcm 以上)
- (8) 塩酸: 精密分析用

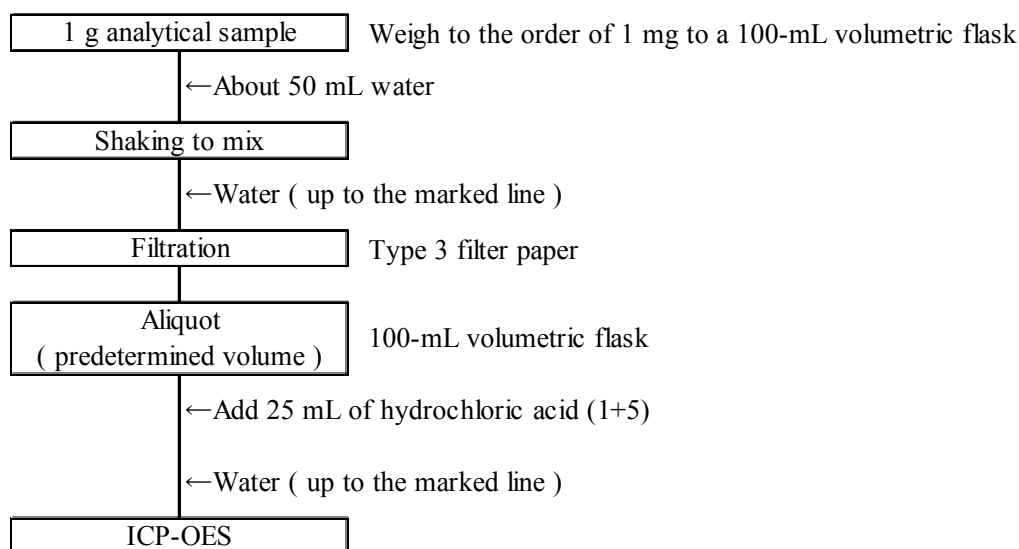
¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

3) 装置及び器具

- (1) ICP 発光分光分析装置 (ICP-OES) : 島津製作所 ICPS-8100 (横方向観測方式, シーケンシャル形分光器)
- (2) 超純水製造装置: Millipore Elix UV5
- (3) マイクロピペット: Eppendorf
- (4) 全量フラスコ
- (5) 全量ピペット
- (6) ろ紙 3 種

4) 分析方法

試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり, 全量フラスコ 100 mL に入れ, 水約 50 mL を加えて振り混ぜた後水で定容し, ろ紙 3 種でろ過した. ろ液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり, 塩酸 (1+5) 25 mL を加えて水で定容したものを試料溶液とし, ICP-OES を用いて定量した. 分析フローシートは Scheme 1 のとおり.



Scheme 1 Method flow sheet of W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃ in liquid fertilizer

3. 結果及び考察

1) 分光干渉の確認

液状肥料は主要成分の元素である P, K, Mg, Mn 及び B の他に, 効果発現促進材として Fe, Cu, Zn, Mo 及び Ca が添加されることから, これらの元素の分光干渉を確認した. 各元素 100 µg/mL の標準液について, Table 1 に示した波長を用いて ICP-OES で分析した結果を Table 2 に示す. P, K, Mg 及び Mn については, 他の元素による干渉は確認できなかったが, B については 100 µg/mL の Fe 標準液から B として 1.2 µg/mL の相当量のプラスの干渉が認められた. そこで, 家庭園芸用複合肥料に Fe として質量分率 0.01 %~0.5 %相当量 (W-B₂O₃ に対して約 0.8~40 倍相当量) の Fe 標準液を添加した試料を分析し, W-B₂O₃ の分析における Fe の分光干渉の影響を確認した. 結果は Table 3 のとおり, Fe の濃度が高いほど, W-B₂O₃ の相対標準偏差 (RSD) は低くなり, 分析精度が向上したが, W-B₂O₃ の分析値は同程度であったことから, Fe による分光干渉は無視で

きることがわかった。

したがって、ICP-OES の分析波長は Table 1 のとおりとした。

Table 1 Analysis wavelength

Element	Wavelength (nm)
P	178.287
K	766.491
Mg	279.553
Mn	257.610
B	249.773

Table 2 Investigation of spectral interference

Standard solution ($\mu\text{g/mL}$)	Spectral interference ($\mu\text{g/mL}$)				
	P ^{a)}	K ^{a)}	Mg ^{a)}	Mn ^{a)}	B ^{a)}
P (100)	—	<0.2	<0.02	<0.002	<0.04
K (100)	<0.04	—	<0.02	<0.002	<0.04
Mg (100)	<0.04	<0.2	—	<0.002	<0.04
Mn (100)	<0.04	<0.2	<0.02	—	<0.04
B (100)	<0.04	<0.2	<0.02	<0.002	—
Fe (100)	<0.04	<0.2	<0.02	<0.002	1.2
Cu (100)	<0.04	<0.2	<0.02	<0.002	<0.04
Zn (100)	<0.04	<0.2	<0.02	<0.002	<0.04
Mo (100)	<0.04	<0.2	<0.02	<0.002	<0.04
Ca (100)	<0.04	<0.2	<0.02	<0.002	<0.04

a) $n=1$

Table 3 Investigation of spectral interference of Fe to analyze W-B₂O₃

Sample	Spiked level of Fe (%) ^{a)}	Fe/B ₂ O ₃	W-B ₂ O ₃	
			Mean (%) ^{a)b)}	RSD (%) ^{c)}
Liquid fertilizer	0	0	0.013	5.3
	0.01	0.8	0.013	4.6
	0.1	8	0.012	0.4
	0.5	40	0.013	0.1

a) Mass fraction

b) $n=3$

c) Relative standard deviation

2) ほう素のメモリー効果の検証

ICP-OES 法の干渉について、ほう素のメモリー効果が報告されている^{3, 4)}。そこで本検討で使用した ICP-OES について、メモリー効果の影響及び試料導入部の洗浄方法について確認した。

1 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 及び 100 $\mu\text{g/mL}$ の各 B 標準液を ICP-OES で分析した直後にブランク溶液を分析した。試料導入部の洗浄は、分析直後に水で 30 秒間、次に分析する試料溶液で 30 秒間洗浄するようにオートサンプル

ラーの設定を行った。結果、100 µg/mL の B 標準液を分析した直後に分析したブランク溶液からは 0.15 µg/mL の B が検出され、メモリー効果が認められた。しかし、1 µg/mL 及び 10 µg/mL の B 標準液を分析した直後のブランク溶液からほう素は検出されなかった。

よって、W-B₂O₃ を分析する場合、ほう素濃度が 10 µg/mL 以下になるように標準液及び試料溶液を調製し、試料導入部の洗浄は、分析直後に水で 30 秒間、次の試料溶液で 30 秒間行うこととした。

3) 検量線の直線性

2.2) に従って調製した混合標準液を ICP-OES で分析し、絶対検量線法により検量線を作成した。P 及び K は 1 µg/mL ~ 200 µg/mL, Mg は 0.1 µg/mL ~ 20 µg/mL, Mn 及び B は 0.05 µg/mL ~ 10 µg/mL の範囲で直線性 (決定係数 $r^2 = 0.999$ 以上) を示した。

4) 添加回収試験による真度の評価

液状肥料に W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ として濃度が質量分率 1 % ~ 10 %, 0.4 % ~ 5 %, 0.15 % ~ 1 %, 0.005 % ~ 0.2 % 及び 0.01 % ~ 0.2 % 相当量の各元素標準液を添加した試料を用いて、本法に従って 3 点併行で添加回収試験を行った。結果は Table 4 のとおり、W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の回収率は 98 % ~ 102 %, 102 % ~ 104 %, 99 % ~ 103 %, 96 % ~ 107 % 及び 96 % ~ 99 % で、いずれも肥料等試験法¹⁾ に示されている添加濃度における真度 (回収率) の目標以内であり、満足な結果が得られた。

Table 4 Spiking and recovery tests

Principal ingredients	Sample	Spike level (%) ^{a)}	Recovery ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
P ₂ O ₅	Fertilizer-1	1	102	3.1	96 ~ 104
	Fertilizer-2	10	98	5.8	97 ~ 103
K ₂ O	Fertilizer-1	0.4	104	4.0	94 ~ 106
	Fertilizer-2	5	102	5.2	96 ~ 104
MgO	Fertilizer-1	0.2	102	4.7	94 ~ 106
	Fertilizer-2	1	103	3.4	96 ~ 104
	Fertilizer-3	1	99	2.1	96 ~ 104
MnO	Fertilizer-1	0.005	107	0.7	90 ~ 110
	Fertilizer-2	0.15	96	1.5	94 ~ 106
	Fertilizer-3	0.2	96	4.0	94 ~ 106
B ₂ O ₃	Fertilizer-1	0.01	97	1.8	92 ~ 108
	Fertilizer-2	0.15	99	3.4	94 ~ 106
	Fertilizer-3	0.2	96	1.8	94 ~ 106

a) Mass fraction

b) Mean Value ($n=3$)

c) Relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) show in Testing Methods for Fertilizers

5) 方法間比較による真度の評価

試料 12 点を用いて、肥料等試験法と本法の分析値を比較した。肥料等試験法の分析法は、W-P₂O₅ はバナ

ドモリブデン酸アンモニウム吸光度法, W-K₂O, W-MgO 及び W-MnO はフレイム原子吸光法, W-B₂O₃ はアズメチン H 法により分析した。

結果は Fig 1 に示したとおり, いずれの成分においても相関係数は $r = 0.999$ を示し, 肥料等試験法と本法の分析値に強い相関が認められた。

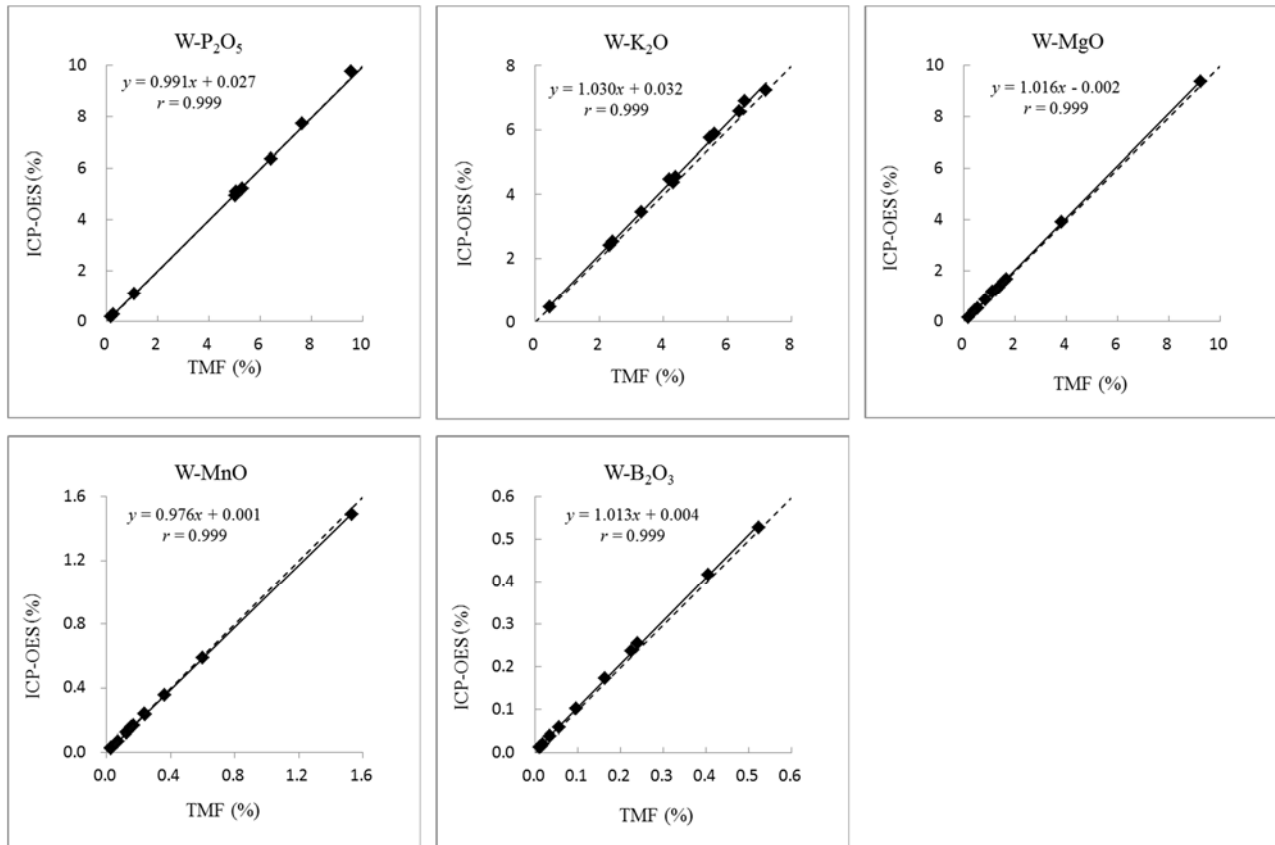


Fig 1 Comparison between ICP-OES method and Testing Methods for Fertilizers (TMF)
(%) : Mass fraction

6) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため, 液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料について, W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ を 2 点併行で日を変えて 7 回試験を実施して得られた結果を Table 5 に示した。また, この結果から一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 6 に示した。液状複合肥料の W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の平均値は質量分率 10.8 %, 5.69 %, 1.18 %, 0.155 % 及び 0.166 %, 併行相対標準偏差は 0.9 %, 0.4 %, 0.3 %, 0.5 % 及び 0.7 %, 中間相対標準偏差は 1.3 %, 1.1 %, 1.2 %, 1.0 % 及び 1.2 % であった。また, 家庭園芸用複合肥料の W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の平均値は質量分率 0.829 %, 2.29 %, 0.392 %, 0.0174 % 及び 0.0134 %, 併行相対標準偏差は 0.9 %, 0.8 %, 0.5 %, 0.6 % 及び 1.0 %, 中間相対標準偏差は 1.8 %, 1.6 %, 2.2 %, 1.5 % 及び 1.0 % であった。

この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法¹⁾に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安以内であったことから, 液状肥料の W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の保証成分量の評価をするのに十分な精度を有していることが確認された。

Table 5 Repeatability test results on different days (mass fraction(%))

Sample	Principal ingredients	Test day (factor)						
		1	2	3	4	5	6	7
Fertilizer-1	W-P ₂ O ₅	0.817	0.833	0.826	0.827	0.804	0.858	0.831
		0.836	0.825	0.838	0.826	0.806	0.845	0.839
	W-K ₂ O	2.29	2.31	2.28	2.29	2.26	2.36	2.29
		2.28	2.27	2.30	2.27	2.25	2.37	2.33
	W-MgO	0.379	0.385	0.391	0.390	0.395	0.404	0.398
		0.382	0.387	0.390	0.386	0.394	0.405	0.402
	W-MnO	0.017	0.017	0.018	0.018	0.017	0.018	0.017
		0.017	0.017	0.018	0.018	0.017	0.018	0.018
	W-B ₂ O ₃	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.014	0.013
		0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013
Fertilizer-2	W-P ₂ O ₅	10.7	10.8	11.0	10.8	10.6	10.8	10.8
		10.8	10.8	10.9	11.0	10.6	11.1	10.8
	W-K ₂ O	5.66	5.69	5.66	5.70	5.60	5.77	5.72
		5.68	5.75	5.64	5.68	5.60	5.82	5.73
	W-MgO	1.16	1.17	1.18	1.19	1.18	1.19	1.20
		1.16	1.18	1.19	1.19	1.18	1.20	1.21
	W-MnO	0.154	0.154	0.154	0.156	0.152	0.157	0.154
		0.155	0.155	0.154	0.155	0.153	0.157	0.156
	W-B ₂ O ₃	0.166	0.164	0.169	0.167	0.165	0.166	0.166
		0.167	0.165	0.167	0.167	0.163	0.169	0.166

Table 6 Repeatability and intermediate precision

Sample	Total mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate precision			
		s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)	
Fertilizer-1	W-P ₂ O ₅	0.829	0.008	0.9	3	0.015	1.8	4.5
	W-K ₂ O	2.29	0.02	0.8	2	0.04	1.6	3.5
	W-MgO	0.392	0.002	0.5	3	0.008	2.2	4.5
	W-MnO	0.0174	0.0001	0.6	4	0.0003	1.5	6.5
	W-B ₂ O ₃	0.0134	0.0001	1.0	4	0.0001	1.0	6.5
Fertilizer-2	W-P ₂ O ₅	10.8	0.1	0.9	1.5	0.1	1.3	2.5
	W-K ₂ O	5.69	0.02	0.4	2	0.06	1.1	3.5
	W-MgO	1.18	0.004	0.3	2	0.015	1.2	3.5
	W-MnO	0.155	0.001	0.5	3	0.002	1.0	4.5
	W-B ₂ O ₃	0.166	0.001	0.7	3	0.002	1.2	3.5

a) $n=14$ (2 repetition \times 7 days)

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability relative standard deviation

f) Intermediate standard

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate relative standard deviation

7) 定量下限等の確認

ブランク試料を ICP-OES で 10 回分析し、得られた分析値の標準偏差を 10 倍して定量下限を推定し、また、標準偏差を $2 \times t(n-1, 0.05)$ 倍として検出下限を推定したところ¹⁾、液状肥料の W-P₂O₅ で質量分率 0.02 % 及び 0.01 %, W-K₂O で質量分率 0.05 % 及び 0.02 %, W-MgO で質量分率 0.002 % 及び 0.001 %, W-MnO で質量分率 0.0002 % 及び 0.0001 %, W-B₂O₃ で質量分率 0.0005 % 及び 0.0002 % と推定された。

更に、推定された定量下限付近の濃度における回収率を確認するため、液状肥料に W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ として濃度が質量分率 0.02 %, 0.05 %, 0.002 %, 0.0002 % 及び 0.0005 % 相当量の各元素標準液を添加した試料を用いて、本法に従って 3 点併行で添加回収試験を行った。なお、試料採取量は 10 g、ろ液の分取量は 50 mL とした。結果は Table 7 のとおり、W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の回収率は 93 %, 107 %, 91 %, 110 % 及び 114 % で、いずれも肥料等試験法¹⁾に示されている添加濃度における真度(回収率)の目標以内であり、満足な結果が得られた。

Table 7 Spiking and recovery test (minimum limit of quantification)

Principal ingredients	Sample	Spike level (%) ^{a)}	Recovery ^{b)} (%)	RSD _r ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
P ₂ O ₅	Fertilizer-4	0.02	93	0.5	92 ~ 108
K ₂ O	Fertilizer-4	0.05	107	0.9	92 ~ 108
MgO	Fertilizer-5	0.002	91	0.9	90 ~ 110
MnO	Fertilizer-5	0.0002	110	0.3	85 ~ 115
B ₂ O ₃	Fertilizer-5	0.0005	114	2.4	85 ~ 115

a) Mass fraction

b) Mean Value ($n=3$)

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) show in Testing Methods for Fertilizers

4. まとめ

ICP-OES 法による液状肥料中の水溶性主成分の測定について検討したところ、次のとおりの結果が得られた。

(1) P, K, Mg, Mn, B, Fe, Cu, Zn, Mo 及び Ca について、分光干渉の確認を行ったが、液状肥料中の水溶性主成分を分析する上では、分光干渉は無視できるレベルであった。

(2) ほう素濃度が 10 µg/mL 以下の試料溶液を ICP-OES で分析した後、ICP-OES の試料溶液導入部の洗浄を水で 30 秒間、次に分析する試料溶液で 30 秒間行った場合、ほう素のメモリー効果の影響は認められなかった。

(3) ICP-OES で分析し、絶対検量線法により検量線を作成したところ、P 及び K は 1 µg/mL ~ 200 µg/mL, Mg は 0.1 µg/mL ~ 20 µg/mL, Mn 及び B は 0.05 µg/mL ~ 10 µg/mL の範囲で直線性を示した。

(4) 液状肥料に W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ として質量分率 1 % ~ 10 %, 0.4 % ~ 5 %, 0.15 % ~ 1 %, 0.005 % ~ 0.2 % 及び 0.01 % ~ 0.2 % 相当量の各元素標準液を添加した試料を用いて添加回収試験を行ったところ、回収率は 98 % ~ 102 %, 102 % ~ 104 %, 99 % ~ 103 %, 96 % ~ 107 % 及び 96 % ~ 99 % であり、いずれも肥料等試験法に示されている真度(回収率)の目標以内であった。

(5) 試料 12 点を用いて、本法と肥料等試験法の分析値を比較したところ、いずれの成分においても相関係

数は $r = 0.999$ を示し、強い相関が認められた。

(6) 液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料について 2 点併行で日を変えて 7 回試験を実施した。液状複合肥料の W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の平均値は質量分率 10.8 %, 5.69 %, 1.18 %, 0.155 % 及び 0.166 %, 併行相対標準偏差は 0.9 %, 0.4 %, 0.3 %, 0.5 % 及び 0.7 %, 中間相対標準偏差は 1.3 %, 1.1 %, 1.2 %, 1.0 % 及び 1.2 % であった。また、家庭園芸用複合肥料の W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の平均値は質量分率 0.829 %, 2.29 %, 0.392 %, 0.0174 % 及び 0.0134 %, 併行相対標準偏差は 0.9 %, 0.8 %, 0.5 %, 0.6 % 及び 1.0 %, 中間相対標準偏差は 1.8 %, 1.6 %, 2.2 %, 1.5 % 及び 1.0 % であった。

(7) 本法における W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃ の定量下限は、質量分率 0.02 %, 0.05 %, 0.002 %, 0.0002 % 及び 0.0005 % 程度と推定された。

文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) : 肥料等試験法 (2014)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2014.pdf>
- 2) 恵智正宏, 井上智江, 田淵恵, 野村哲也: 汚泥肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル, クロム, 銅及び亜鉛の同時測定—ICP 発光分光分析装置の適用—, 肥料研究報告, **4**, 30~35 (2011)
- 3) 後藤逸男, 村本穰司, 蜷木翠: ICP 発光分光分析法による土壌の熱水可溶性ホウ素の定量, 日本土壤肥料学雑誌, **63**, 53~57 (1992)
- 4) 藤田久雄, 六車満由美, 谷本めぐみ: ICP 発光分析法による廃棄物最終処分場浸出水等のほう素定量に関する検討, 香川県環境保健研究センター所報, **2**, 157~163 (2003)

Simultaneous Determination of Water-Soluble Principal Ingredients (W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃) in Liquid Fertilizer using Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)

Keisuke AOYAMA¹

¹Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

A single-laboratory validation study was conducted for the simultaneous determination of water-soluble principal ingredients (W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃) in liquid fertilizer products by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES). Water-soluble principal ingredients were diluted with water. A part of the diluted solution was added hydrochloric acid, and analyzed by ICP-OES. As a result of 3 replicate analysis of 3 fertilizer samples spiked with W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃ at 1 %~10 % (mass fraction), 0.4 %~5 %, 0.15 %~1 %, 0.005 %~0.2 % and 0.01 %~0.2 %, the mean recoveries were 98 %~102 %, 102 %~104 %, 99 %~103 %, 96 %~107 % and 96 %~99 %, respectively. Repeatability of W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃ were 0.9 %, 0.4 %~0.8 %, 0.3 %~0.5 %, 0.5 %~0.6 % and 0.7 %~1.0 % , intermediate precision of there were 1.3 %~1.8 %, 1.1 %~1.6 %, 1.2 %~2.2 %, 1.0 %~1.5 % and 1.0 %~1.2 %, respectively. Minimum limit of quantification of there were estimated 0.02 %, 0.05 %, 0.002 %, 0.0002 % and 0.0005 %, respectively. Those results indicated that the developed method was valid for the determination of these water-soluble principal ingredients.

Key words ICP-OES, liquid fertilizer, water-soluble principal ingredients

(Research Report of Fertilizer, **8**, 1~9, 2015)

2 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中の水溶性りん酸の測定

—適用範囲拡大—

阿部文浩¹, 佐々木徳幸², 平原稔夫²

キーワード 亜りん酸, 亜りん酸塩, 固形肥料, 水溶性りん酸, 分光光度法

1. はじめに

亜りん酸及び亜りん酸塩(以下, 亜りん酸等という.)を含む肥料の多くは液状であるが, 近年, 固形肥料についても少数ながら流通してきている. 液状肥料については「亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定」として検討¹⁾され「バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(亜りん酸又はその塩を含む液状肥料)」が肥料等試験法²⁾に記載されている. この試験法の適用範囲は液状肥料に限られているため, 化成肥料等固形肥料は適用範囲外となっている. このことから, 同様の方法で亜りん酸等を含む固形肥料中の水溶性りん酸が測定できるように単一試験室での妥当性確認を行ったので, その結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

試料の調製は Table 1 に示した 3 種類の材料を使用した. 亜りん酸カリウム(KH_2PO_3)は JIS 規格に規定されている試薬がないことから肥料登録見本品を使用し, そのほかの材料は JIS 規格に規定されている特級試薬を使用した. 亜りん酸カリウムは非常に吸湿性が高い物質であるため, 予め約 80 °C で乾燥した後, 乳鉢を用いて目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉砕し, ポリエチレン袋に入れてよく混合したのち, 密封してデシケーター中で保管した. その他の材料については乳鉢を用いて目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉砕した.

配合設計の作成に当たっては, 亜りん酸カリウムの量が質量分率 100 %, 60 %, 50 %, 35 %, 30 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 2 % 及び 0.4 % となるように Table 2 のとおり各材料の量を決定し, 水溶性りん酸(W- P_2O_5)として質量分率 59.10 % ~ 0.236 % 含有する試験品 1~11 を調製した. 試験品は材料をポリエチレン袋に入れてよく混合し調製した. 調製した試験品の全てはデシケーター中で保管した.

	Material	W- P_2O_5 ^{a)}
A	Potassium phosphonate (KH_2PO_3)	59.10
B	Ammonium sulfate	0.00
C	Potassium sulfate	0.00

a) Theoretical value of water-soluble phosphorus (W- P_2O_5)

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 (現) 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

Number of analytical sample	The mixing ratio of the materials			Content of W-P ₂ O ₅ ^{b)}
	A ^{a)}	B ^{a)}	C ^{a)}	
1	100	0	0	59.10
2	60	20	20	35.46
3	50	25	25	29.55
4	35	32.5	32.5	20.69
5	30	35	35	17.73
6	20	40	40	11.82
7	15	42.5	42.5	8.87
8	10	45	45	5.91
9	5	47.5	47.5	2.96
10	2	49	49	1.18
11	0.4	49.8	49.8	0.236

a) These are substances which are shown in Table 1.

b) All content of water-soluble phosphorus (P₂O₅) is derived from phosphonate-group.

2) 試薬

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水.
- (2) 塩酸: JIS K 8180 に規定する試薬.
- (3) 硝酸: JIS K 8541 に規定する試薬.
- (4) フェノールフタレイン溶液: JIS K 8799 に規定するフェノールフタレイン 1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かした.
- (5) アンモニア水: JIS K 8085 に規定する試薬.
- (6) りん酸標準液(P₂O₅ 10 mg/mL): JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウムを 105 °C ± 2 °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った. 少量の水で溶かし, 全量フラスコ 1000 mL に移し入れ, 硝酸 2 mL ~ 3 mL を加え, 標線まで水を加えた.
- (7) りん酸標準液(P₂O₅ 0.5 mg/mL): りん酸標準液(P₂O₅ 10 mg/mL) 50 mL を全量フラスコ 1000 mL にとり, 硝酸 2 mL ~ 3 mL を加え, 標線まで水を加えた.
- (8) 発色試薬溶液: JIS K 8747 に規定するバナジン(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, JIS K 8905 に規定する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 1000 mL とした.

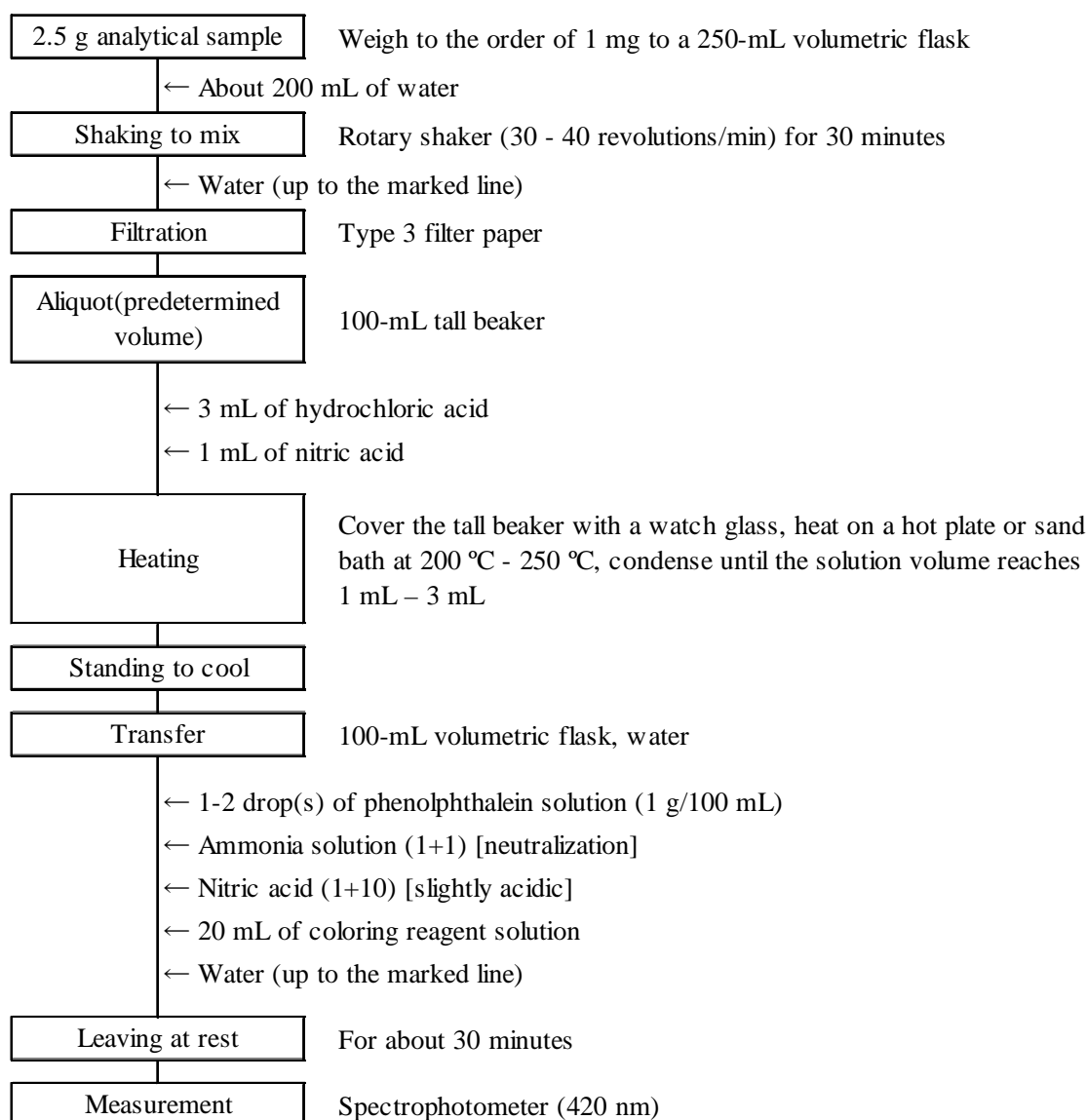
3) 器具及び装置

- (1) 電子天びん: METTLER TOLEDO MS403S
- (2) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC THM062FA
- (3) ホットプレート: アサヒ理化製作所 APS-500
- (4) 分光光度計: 島津製作所 UV-1800

4) 試験方法

分析試料 2.5 g を (1 mg の桁まで) はかりとり、全量フラスコ 250 mL に入れ水約 200 mL を加え、30～40 回転／分で 30 分間振り混ぜ、標線まで水を加えた。ろ紙 3 種でろ過して試料溶液とした。

試料溶液の一定量をトールビーカー 100 mL に入れ、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加え混合した後、時計皿で覆い、約 250 °C のホットプレートで加熱した。液量が約 1 mL～3 mL になるまで濃縮した。放冷後、全量フラスコ 100 mL に水で移し、フェノールフタレイン溶液を 1～2 滴加え、溶液の色が薄い赤紫色になるまでアンモニア水 (1+1) を加えた。その後、溶液の薄い赤紫色が消失するまで硝酸 (1+10) を加えて微酸性とし、適量の水を入れた後、発色試薬溶液 20 mL を加えて標線まで水を加えた。約 30 分間放置し分光光度計で波長 420 nm の吸光度を測定した。測定方法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 The flow sheet for water-soluble phosphorous (W-P₂O₅) in solid fertilizers containing phosphonic acid, etc.

3. 結果及び考察

1) 調製試料測定による真度の評価

本法の真度を確認するため、試験品 1～試験品 10 を用いて水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験を 3 点併行で実施した結果を Table 3 に示した。水溶性りん酸の設計値については亜りん酸カリウムは理論値を用いた。

水溶性りん酸含有量が質量分率 1.18 %～59.10 %で、回収率は 96.9 %～100.4 %であり、いずれの回収率もこれらの濃度範囲における肥料等試験法が示している真度(回収率)の目標以内であった。

Table 3 Result of trueness confirmation test for water-soluble phosphorus (W-P₂O₅)

Number of analytical sample	Content of W-P ₂ O ₅ (%) ^{a)}	Mean value ^{b)} (%) ^{a)}	Mean recovery (%)	RSD _r ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
1	59.10	59.33	100.4	0.2	98~102
2	35.46	35.28	99.5	0.2	98~102
3	29.55	29.57	100.1	0.2	98~102
4	20.69	20.75	100.3	0.8	97~103
5	17.73	17.60	99.3	0.5	97~103
6	11.82	11.80	99.8	1.0	97~103
7	8.87	8.91	100.4	0.5	96~104
8	5.91	5.88	99.5	3.5	96~104
9	2.96	2.94	99.3	1.0	96~104
10	1.18	1.14	96.9	2.8	96~104

a) Mass fraction

b) Mean value of parallel test ($n = 3$)

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

2) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するため、試験品 1 及び試験品 8 を用いて、水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験を 2 点併行で日を変えて 7 回実施して得られた結果を Table 4 に示した。また、この結果から一元配置の分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 5 に示した。

試験品 1 の平均値は質量分率で 59.36 %で、併行相対標準偏差は 0.1 %、中間相対標準偏差は 0.2 %であった。また、試験品 8 の平均値は質量分率で 5.90 %で、併行相対標準偏差は 1.2 %、中間相対標準偏差は 1.2 %であった。

これらの濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安内であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 4 Individual result of repetition test of changing the date
for the precision confirmation (% (Mass fraction))

Test day	Analytical sample 1		Analytical sample 4	
1	59.24	59.38	5.93	5.75
2	59.48	59.42	5.80	6.00
3	59.54	59.52	5.95	5.94
4	59.44	59.20	5.87	5.89
5	59.22	59.14	5.92	5.96
6	59.28	59.40	5.92	5.91
7	59.38	59.34	5.90	5.91

Table 5 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

Number of analytical sample	Mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate precision		
		s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
1	59.36	0.09	0.1	1	0.13	0.2	2
8	5.90	0.07	1.2	2	0.07	1.2	3.5

a) Mean value ($n =$ Sample number of parallel test (2) \times Number of Test days (7))

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation)

shown in Testing Methods for Fertilizers

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation)

shown in Testing Methods for Fertilizers

3) 定量下限等の確認

本法の定量下限を確認するため、試験品 11 を用いて水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験を 7 点併行で実施した結果を Table 6 に示した。その結果、水溶性りん酸(W-P₂O₅)の平均値は質量分率 0.229 % であり、その標準偏差は質量分率 0.004 % であった。定量下限は標準偏差 \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³⁾ので、本法の水溶性りん酸(W-P₂O₅)の定量下限は質量分率 0.04 %、検出下限は質量分率 0.02 % 程度と推定された。

Table 6 Estimation of the lower limit of quantitation (*LOQ*) of water-soluble phosphorus (W-P₂O₅) (% (mass fraction))

Number of analytical sample	Content	Mean ^{a)}	<i>s_r</i> ^{b)}	<i>LOQ</i> ^{c)}	<i>LOD</i> ^{d)}
11	0.236	0.229	0.004	0.04	0.02

a) Mean value of the parallel test ($n=7$)

b) Repeatability Standard deviation

c) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

d) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$)

4. まとめ

亜りん酸塩を含む固形肥料中の水溶性りん酸の定量法の単一試験室における妥当性確認を実施したところ次の結果を得た。

(1) 真度を確認するため、試験品 10 点を用いて水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験を 3 点併行で実施したところ、水溶性りん酸の平均値が質量分率 1.18 %～59.10 %の範囲で、回収率は 96.9 %～100.4 %であり、いずれの回収率もこれらの濃度範囲における肥料等試験法が示している真度(回収率)の目標以内であった。

(2) 併行精度及び中間精度を確認するため、試験品 2 点を用いて、水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験を 2 点併行で日を変えて 7 回実施したところ、水溶性りん酸平均値は質量分率で 59.36 %及び 5.90 %で、併行相対標準偏差は 0.1 %及び 1.2 %、中間相対標準偏差は 0.2 %及び 1.2 %であった。この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安内であった。

(3) 定量下限は質量分率 0.04 %程度と推定された。

文 献

- 1) 廣井利明, 齋木雅一, 加藤公栄: 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定, 肥料研究報告, **1**, 25～33 (2008)
- 2) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC): 肥料等試験法(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>
- 3) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)

Determination of Water-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry

Fumihiro ABE¹, Noriyuki SASAKI² and Toshio HIRABARA²

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

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

We validated a spectrophotometry for determination of water-soluble phosphorus (as phosphorus oxide; $W-P_2O_5$) in solid fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate (phosphite). Phosphonate ion and phosphate ion in fertilizer were extracted with water. Oxidation of phosphonate ion with aqua regia (nitric acid-hydrochloric acid (1+3)) was used to formation of phosphate ion. After phosphate ion colored with an ammonium vanadomolybdate reagent according to Testing Methods for Fertilizers, $W-P_2O_5$ was determined using a spectrophotometer. As a result of 3 replicate analysis in 10 fertilizer samples prepared to contain 1.18 % ~ 59.10 % mass fraction as $W-P_2O_5$, the mean recoveries ranged from 94.9 % to 100.4 %. As a result of repetition test on 7 different days using two samples, the mean values were 59.36 % and 5.90 % mass fraction, repeatability relative standard deviation (RSD_r) were 0.1 % and 1.2 % and intermediate relative standard deviation ($RSD_{I(T)}$) were 0.2 % and 1.2 %, respectively. On the basis of 7 replicate analysis of $W-P_2O_5$, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.04 % mass fraction. Satisfying the criteria shown in Testing Methods for Fertilizers, these results indicated that the method is valid in determining $W-P_2O_5$ in solid fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate.

Key words phosphonic acid, phosphonate, solid fertilizer, water-soluble phosphoric acid, spectrophotometry

(Research Report of Fertilizer, **8**, 10~16, 2015)

3 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のく溶性りん酸の測定

—亜りん酸の酸化方法の改良—

阿部文浩¹, 佐々木徳幸², 平原稔夫²

キーワード 亜りん酸, 亜りん酸塩, 固形肥料, く溶性りん酸, 分光光度法

1. はじめに

亜りん酸及び亜りん酸塩(以下, 亜りん酸等という.)を含む肥料の多くは従来液状であり, 葉面散布用の肥料として流通している. 近年, 亜りん酸等を含む固形肥料で液状では成分とならない, く溶性りん酸を保証した肥料が肥料登録され流通している. しかし, 現状では, 亜りん酸等を含んだ肥料中のく溶性りん酸の試験法が定まっていない.

すでに, 液状肥料の水溶性りん酸については「亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定として検討¹⁾され「バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(亜りん酸又はその塩を含む液状肥料)」が肥料等試験法²⁾に記載されている. 亜りん酸等を含む肥料中のく溶性りん酸の測定をこの試験法に準じて, 抽出液中の亜りん酸等を塩酸及び硝酸で加熱酸化した場合, 抽出液に含まれるくえん酸を完全には分解することができず, 定量値に影響を与える³⁾ことがある. 亜りん酸等を含む固形肥料中のく溶性りん酸の定量に際しては, 定量値に影響を与えないまでにくえん酸を分解する必要がある. このことから, 試料液に硝酸及び硫酸を加えて加熱して亜りん酸の酸化とくえん酸の分解を同時に行い, 水溶性りん酸等の定量で使用する発色試薬溶液により発色定量する方法を検討し, 単一試験室での妥当性確認を行ったので, その結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

試料の調製にあたっては Table 1 に示した, JIS 規格に規定されている試薬特級及び FAMIC 肥料認証標準物質 A-10 並びに A-13 を用いた. 亜りん酸カルシウム一水和物($\text{CaHPO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)は肥料等試験法に掲載の水溶性りん酸の抽出方法ではほとんど溶解しないが, くえん酸溶液には溶解する物質である. 認証標準物質についてはいずれもく溶性りん酸の認証値が設定されている. 亜りん酸カルシウム一水和物, 硫酸アンモニウム及び硫酸カリウムは, 混合前に乳鉢を用いて目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎した.

配合設計の作成にあたっては, 亜りん酸カルシウム一水和物の量が質量分率 100 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 5 %, 2 % 及び 0.4 % となるように Table 2 のとおり各試薬等の量を決定し, く溶性りん酸($\text{C-P}_2\text{O}_5$)として質量分率 51.40 % ~ 0.206 % 含有する試験品 1 ~ 11 を調製した. 試験品は材料をポリエチレン袋に入れてよく混合したのち密封し常温で保管した.

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 (現) 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

Material		C-P ₂ O ₅ ^{a)}
A	Calassium phosphonate (CaHPO ₃)	51.40 ^{b)}
B	Fertilizer certificated reference material A-10	10.05 ^{c)}
C	Fertilizer certificated reference material A-13	10.79 ^{c)}
D	Ammonium sulfate	0.00
E	Potassium sulfate	0.00

a) Content of citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)

b) Theoretical value

c) Certified value

Number of analytical sample	The mixing ratio of the materials					Content of C-P ₂ O ₅ ^{b)}	PO ₃ ³⁻ -drived ^{c)}
	A ^{a)}	B ^{a)}	C ^{a)}	D ^{a)}	E ^{a)}		
1	100	0	0	0	0	51.40	51.40
2	60	40	0	0	0	34.86	30.84
3	50	50	0	0	0	30.73	25.70
4	40	0	60	0	0	27.03	20.56
5	30	40	30	0	0	22.68	15.42
6	20	40	40	0	0	18.62	10.28
7	20	0	0	40	40	10.28	10.28
8	10	0	0	45	45	5.14	5.14
9	5	0	0	47.5	47.5	2.57	2.57
10	2	0	0	49	49	1.03	1.03
11	0.4	0	0	49.8	49.8	0.206	0.206

a) These are substances which are shown in Table 1.

b) Citric acid-soluble phosphorus (P₂O₅) derived from phosphate-group and phosphonate-group

c) Phosphorus (P₂O₅) derived from phosphonate-group

2) 試薬

(1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水.

(2) くえん酸溶液(20 mg/mL): JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1000 mL とした.

(3) 硝酸: JIS K 8541 に規定する試薬.

(4) 硫酸: JIS K 8951 に規定する試薬.

(5) フェノールフタレイン溶液: JIS K 8799 に規定するフェノールフタレイン 1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かした.

(6) アンモニア水: JIS K 8085 に規定する試薬.

(7) りん酸標準液(P₂O₅ 10 mg/mL): JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウムを 105 °C ± 2 °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った. 少量の水で溶かし, 全量フラ

スコ 1000 mL に移し入れ, 硝酸 2 mL~3 mL を加え, 標線まで水を加えた.

(8) りん酸標準液(P_2O_5 0.5 mg/mL): りん酸標準液(P_2O_5 10 mg/mL) 50 mL を全量フラスコ 1000 mL にとり, 硝酸 2 mL~3 mL を加え, 標線まで水を加えた.

(9) 発色試薬溶液 a: JIS K 8747 に規定するバナジン(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, JIS K 8905 に規定するセ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 1000 mL とした.

3) 器具及び装置

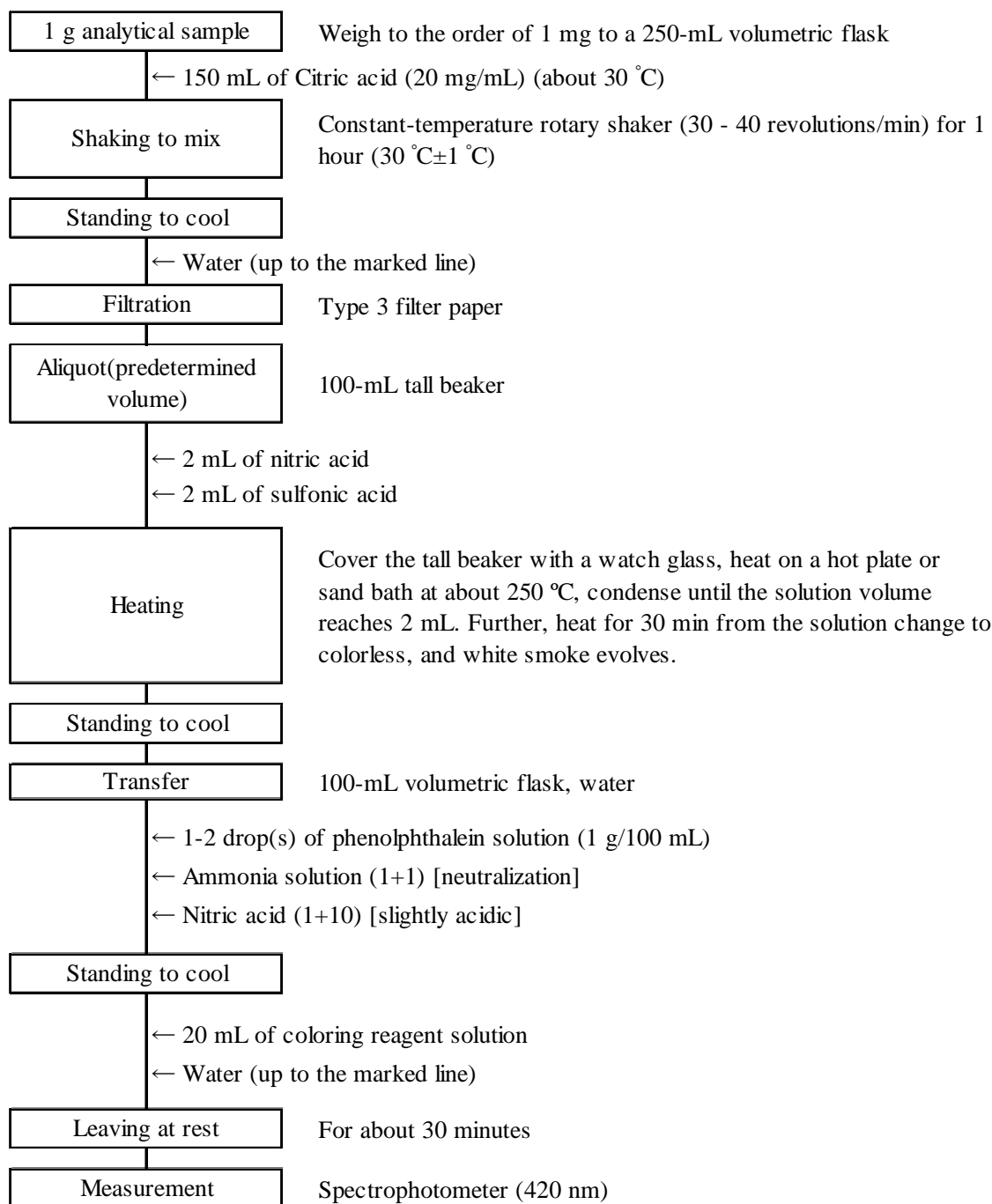
- (1) 電子天びん: METTLER TOLEDO MS403S
- (2) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC THM062FA
- (3) ホットプレート: アサヒ理化製作所 APS-500
- (4) 分光光度計: 島津製作所 UV-1800

4) 試験方法

分析試料 1 g を (1 mg の桁まで) はかりとり, 全量フラスコ 250 mL に入れ約 30 °C に加温したくえん酸溶液 150 mL を加え, 30~40 回転/分, 30 °C ± 1 °C で 1 時間振り混ぜ, 放冷した後, 標線まで水を加えた. ろ紙 3 種でろ過して試料液とした.

試料液の一定量をトールビーカー 100 mL に入れ, 硝酸 2 mL 及び硫酸 2 mL を加え混合した後, 時計皿で覆い, 約 250 °C のホットプレートで加熱して, 液量が約 2 mL になるまで濃縮した. 無色となり白煙が生じてから更に約 30 分間加熱した. 放冷後, 全量フラスコ 100 mL に水で移して冷却し, フェノールフタレイン溶液を 1~2 滴加え, 溶液の色が淡い赤紫色になるまでアンモニア水(1+1)を加えた. その後, 溶液の淡い赤紫色が消失するまで硝酸(1+10)を加えて微酸性とし室温まで放冷した.

発色試薬溶液 20 mL を加え, 標線まで水を加えた後, 約 30 分間放置し分光光度計で波長 420 nm の吸光度を測定した. (Scheme 1 参照)



Scheme 1 The flow sheet for citric acid-soluble phosphorus (P_2O_5) in solid fertilizers containing phosphonic acid, etc.

3. 結果及び考察

1) くえん酸濃度がく溶性りん酸への測定値に及ぼす影響及び硝酸・硫酸処理の効果

亜りん酸等を含む肥料中のく溶性りん酸測定を水溶性りん酸の試験法に準じて、抽出液中の亜りん酸等を塩酸-硝酸(3+1)で加熱酸化したところ、設計値より下回る測定値が認められた。このことから、抽出液に含まれるくえん酸が影響するものと考え、トールビーカー100 mL にりん酸標準液(1 mg 相当量)を入れ、くえん酸一水和物(以下、くえん酸という。) (0 g~0.4 g 相当量)を段階的に加え、それぞれに水 10 mL 程度、塩酸 3 mL、硝酸 1

mLを加えて約 250 °Cのホットプレート上で加熱し、液量が 2 mL～3 mL まで濃縮し、以下本法に従ってりん酸測定した結果を Fig. 1 に示した。その結果、くえん酸量 0.3 g 及び 0.4 g でりん酸の測定値は下がった。このことから、く溶性りん酸の含有量が低く、発色に供する抽出液の分取量が多くなる場合、それに伴ってくえん酸量が多くなり、く溶性りん酸測定値が低くなるおそれが認められた。

よって、くえん酸を硝酸及び硫酸により加熱分解することを検討することとした。トールビーカー 100 mL にくえん酸 0 g～0.36 gを段階的に入れ、それぞれにりん酸標準液をりん酸として 1 mg 相当量、水約 5 mL、硝酸 2 mL 及び硫酸 2 mLを加えて約 250 °Cのホットプレート上で加熱した。加熱は液量が 2 mL で無色となり白煙が生じてから 30 分以上とした。結果を Fig. 1 に示した。この処理により、くえん酸の量が 0.36 g までりん酸の測定値に影響を与えなかった。

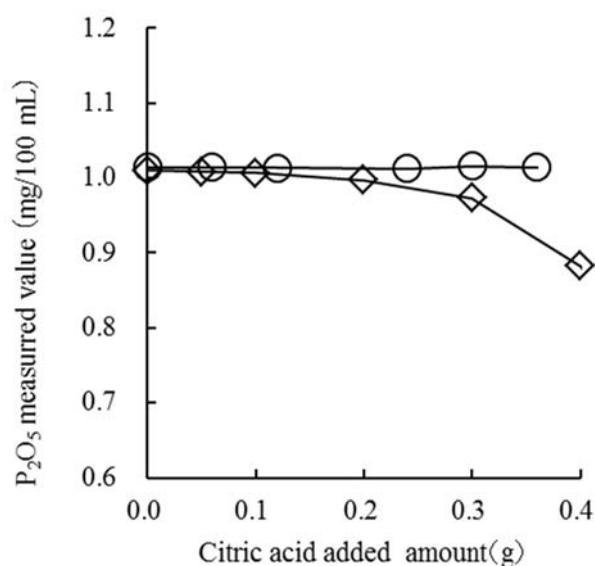


Fig.1 Effect of citric acid added amount on phosphorus (P₂O₅) measured value

- ◇: P₂O₅ measured value in the measurement solution obtained by treating with aqua regia
- : P₂O₅ measured value in the measurement solution obtained by treating nitric acid and sulfonic acid

2) 調製試料測定による真度の評価

本法の真度を確認するため、試験品 1～試験品 10 を用いてく溶性りん酸(C-P₂O₅)の試験を 3 点併行で実施した結果を Table 3 に示した。く溶性りん酸の設計値について、亜りん酸カルシウム一水和物は理論値を、肥料認証標準物質は認証値を用いた。

く溶性りん酸が質量分率 1.03 %～51.40 %で、回収率は 98.3 %～101.0 %であり、いずれの回収率もこれらの濃度範囲における肥料等試験法が示している真度(回収率)の目標以内であった。

Table 3 Result of trueness confirmation test for citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)

Number of analytical sample	Content of C-P ₂ O ₅ (%) ^{a)}	Mean value ^{b)} (%) ^{a)}	Mean recovery (%)	RSD _r ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
1	51.40	51.91	101.0	0.1	98~102
2	34.86	34.70	99.5	0.4	98~102
3	30.73	30.70	99.9	0.3	98~102
4	27.03	26.94	99.7	0.4	97~103
5	22.68	22.38	98.7	1.3	97~103
6	18.62	18.62	100.0	0.4	97~103
7	10.28	10.11	98.3	1.5	96~104
8	5.14	5.15	100.1	0.9	96~104
9	2.57	2.56	99.5	0.8	96~104
10	1.03	1.03	100.0	1.9	96~104

a) Mass fraction

b) Mean value of parallel test ($n = 3$)

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

3) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するため、試験品 1 及び試験品 8 を用いて、く溶性りん酸(C-P₂O₅)の試験を 2 点併行で日を変えて 7 回実施して得られた結果を Table 4 に示した。また、この結果から一元配置の分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 5 に示した。

試験品 1 の平均値は質量分率で 51.68 % で、併行相対標準偏差は 0.5 %、中間相対標準偏差は 0.7 % であった。また、試験品 8 の平均値は質量分率で 5.16 % で、併行相対標準偏差は 1.2 %、中間相対標準偏差は 1.2 % であった。

これらの濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安内であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 4 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation (% (Mass fraction))

Test days	Analytical sample			
	Analytical sample 1		Analytical sample 8	
1	50.66	51.51	5.20	5.17
2	51.97	51.88	5.19	5.14
3	51.83	51.83	5.15	5.17
4	51.90	51.88	5.01	5.13
5	51.79	51.38	5.13	5.25
6	51.65	51.76	5.09	5.22
7	51.70	51.77	5.24	5.18

Table 5 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

Number of analytical sample	Mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate precision		
		s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
1	51.68	0.26	0.5	1	0.34	0.7	2
8	5.16	0.06	1.2	2	0.06	1.2	3.5

a) Mean value ($n =$ Sample number of parallel test (2) \times Number of Test days (7))

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

4) 定量下限等の確認

本法の定量下限を確認するため、試験品 11 を用いてく溶性りん酸(C-P₂O₅)の試験を7点併行で実施した結果を Table 6 に示した。平均定量値は、質量分率 0.203 % であり、その標準偏差は質量分率 0.011 % であった。定量下限は標準偏差 \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⁴⁾ので、本法の定量下限は質量分率 0.1 % 程度、検出下限は質量分率 0.04 % 程度と推定された。

Table 6 Estimation of the lower limit of quantitation (LOQ) of citric acid phosphorus (C-P₂O₅) (% (mass fraction))

Number of analytical sample	Content	Mean ^{a)}	s_r ^{b)}	LOQ ^{c)}	LOD ^{d)}
11	0.206	0.203	0.011	0.11	0.04

a) Mean value of the parallel test ($n=7$)

b) Repeatability Standard deviation

c) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

d) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$)

4. まとめ

亜りん酸等を含む固形肥料中のく溶性りん酸の定量法の単一試験室における妥当性確認を実施したところ次の結果を得た。

(1) くえん酸の分解について、くえん酸の量が 0.36 g までは硝酸 2 mL 及び硫酸 2 mL を加えて 250 °C で加熱することで、測定値に影響を与えなかった。

(2) 真度を確認するため、試験品 10 点を用いてく溶性りん酸 ($C-P_2O_5$) の試験を 3 点併行で実施したところ、く溶性りん酸が質量分率 1.03 % ~ 51.40 % で、回収率は 98.3 % ~ 101.0 % であり、いずれの回収率もこれらの濃度範囲における肥料等試験法が示している真度(回収率)の目標以内であった。

(3) 併行精度及び中間精度を確認するため、試験品 2 点を用いて、く溶性りん酸 ($C-P_2O_5$) の試験を 2 点併行で日を変えて 7 回実施したところ、平均値は質量分率で 51.68 % 及び 5.16 % で、併行相対標準偏差は 0.5 % 及び 1.2 %、中間相対標準偏差は 0.7 % 及び 1.2 % であった。この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている中間精度(中間相対標準偏差)及び併行精度(併行相対標準偏差)の目安内であった。

(4) 本法のく溶性りん酸定量下限は質量分率 0.1 % 程度と推定された。

文 献

- 1) 廣井利明, 齋木雅一, 加藤公栄: 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定, 肥料研究報告, **1**, 25~33 (2008)
- 2) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>
- 3) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.108~114, 養賢堂, 東京(1988)
- 4) Codex: "Guideline on Analytical Terminology", CAC/GL 72-2009 (2009)

Determination of Citric Acid-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry

Fumihiro ABE¹, Noriyuki SASAKI² and Toshio HIRABARA²

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

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

This spectrophotometry was developed for determination of citric acid-soluble phosphorus (as phosphorus oxide; C-P₂O₅) in solid fertilizer containing phosphonate (phosphite). Phosphonate ion and phosphate ion in fertilizer were extracted with 2 % citric acid solution. Phosphonate ion was oxidized to phosphate ion with nitric acid and sulfuric acid. C-P₂O₅ was spectrophotometrically determined by measuring phosphoric ion colored with an ammonium vanadomolybdate reagent according to Testing Methods for Fertilizers. As a result of 3 replicate analysis in 10 fertilizer samples prepared to contain 1.03 % ~ 51.68 % mass fraction as C-P₂O₅, the mean recoveries ranged from 98.3 % to 101.0 %. As a result of repetition test on 7 different days using two samples, the mean values were 51.68 % and 5.16 % mass fraction, repeatability relative standard deviation (*RSD_r*) were 0.5 % and 1.2 % and intermediate relative standard deviation (*RSD_{I(T)}*) were 0.7 % and 1.2 %, respectively. On the basis of 7 replicate analysis of W-P₂O₅, the limit of quantitative value (*LOQ*) was estimated at 0.1 % mass fraction. These results satisfying the criteria shown in Testing Methods for Fertilizers showed that the method is useful for the determination of C-P₂O₅ in solid fertilizer containing phosphonate.

Key words phosphonic acid, phosphonate, solid fertilizer, citric acid-soluble phosphoric acid,
spectrophotometry

(Research Report of Fertilizer, **8**, 17~25, 2015)

4 ICP 質量分析計(ICP-MS)及び還元気化原子吸光光度計(CV-AAS)

による液状汚泥肥料中の重金属等の測定

八木寿治¹

キーワード 液状汚泥肥料, マイクロ波分解, 一斉分析法, ICP-MS, CV-AAS

1. はじめに

汚泥肥料には公定規格¹⁾において含有を許される有害成分(カドミウム, 鉛, ニッケル, クロム, ひ素, 水銀)の最大量が設定されており, 当該有害成分試験法は公定法である肥料分析法²⁾や妥当性が確認された方法が収載されている肥料等試験法³⁾に記載されている. しかしながら両分析法は固形試料の分析を想定して作成されており, 液状試料における適用・妥当性は確認されていない. また, 公定規格では現物試料を 100℃で 5 時間乾燥させた乾物試料あたりの有害成分許容量として基準が設定されているが, 液状の汚泥肥料(以下, 液状汚泥肥料という.)は水分含有量が非常に高いため, 既存の分析法を用いる場合には予備乾燥が必要となり非常に多量の供試試料を必要とする. 肥料立入検査において収去できる肥料は検査のため必要な最小量に限る⁴⁾こととされており, 供試可能な試料量には限りがある.

このため少ない試料量でより低濃度まで測定できるよう, マイクロ波分解装置による試料分解の後, カドミウム(Cd), 鉛(Pb), ニッケル(Ni), クロム(Cr), ひ素(As)の分析には誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)による測定を, 水銀(Hg)の分析には還元気化原子吸光光度計(CV-AAS)による測定を行い, 液状汚泥肥料中の重金属等分析法の単一試験室による妥当性確認を行ったので概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している液状汚泥肥料をそのまま分析用試料とした. また, マイクロ波分解装置による試料分解性を確認するため, 真度確認用試料として Table 1 に示す混合比率で肥料認証標準物質(FAMIC-C-12)と水を加え液状汚泥肥料と組成が類似した試料を調製した.

2) 試薬等の調製

- (1) カドミウム標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 JCSS
- (2) 鉛標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 JCSS
- (3) ニッケル標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 JCSS
- (4) クロム標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 JCSS
- (5) ひ素標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 JCSS

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

Table 1 The combination percentages of the sample used for the test

Used raw material	Content (Certified value) (mg/kg)	Amount (g)	Combination percentage (%)	The content (mg/kg) of heavy metals in the preparation sample ^{e)}					
				Cd	Pb	Ni	Cr	As	Hg
Composted sludge fertilizer ^{a)}	Cd:1.81, Pb:35.4, Ni: 73 ,Cr:82, As:21.4, Hg:0.481	0.3	1.5	0.0272	0.531	1.1	1.2	0.321	0.00722
Water ^{b)}		19.7	98.5						
Total		20.0	100						
Content (mg/kg)				0.0272	0.531	1.1	1.2	0.321	0.00722

a) Fertilizer certified reference material (FAMIC-C-12)

b) The density of the water is calculated as 1 g/mL.

c) The moisture content of the preparation sample, 98.5 % (mass fraction)

(6) 水銀標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 JCSS

上記標準液をそれぞれの標準原液として用いた。各標準原液を混合・希釈して混合標準原液(Cd: 0.5 µg/mL, Pb: 10 µg/mL, Ni: 30 µg/mL, Cr: 50 µg/mL, As: 5 µg/mL, Hg: 0.2 µg/mL)を調製した。また、混合標準原液を希釈し、硝酸濃度が5%(体積分率)になるように適宜硝酸を加え混合標準液を調製した。

(7) ロジウム標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 原子吸光分析用

(8) レニウム標準液(0.1 mg/mL): AccuStandard ICP-MS 用

上記標準液をそれぞれの標準原液として用いた。各標準原液を硝酸濃度が5%(体積分率)になるように適宜硝酸を加え混合・希釈して混合内標準液(Rh: 0.1 µg/mL, Re: 0.1 µg/mL)を調製した。

(9) 硝酸(68%): 多摩化学工業 TAMAPURE-AA100

(10) 過酸化水素(30%): 和光純薬工業 原子吸光分析用

(11) 水: 水精製装置(Elix Advantage5 及び Milli-Q Academic A-10, Millipore)で精製した JIS K 0557 に規定する A4 相当の水を用いた。

特記している以外の試薬については特級を用いた。

3) 器具及び装置

(1) 誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)

: 島津製作所 ICPM-8500 (四重極型質量分析計, チャンネル型二次電子増倍管検出器)

(2) ICP 用自動希釈装置: 島津製作所 ADU-1

(3) 還元気化原子吸光度計(CV-AAS): 日本インスツルメンツ RA-3

(4) マイクロ波分解装置: Anton-Paar Multiwave 3000

(5) 遠心分離機: コクサン H-26F

(6) ポリプロピレン製ねじ口容器: ジーエルサイエンス DigiTUBEs 50mL

(7) 水分計: METTLER TOREDO HG53 ハロゲン水分計

4) 試験操作

(1) 液状汚泥肥料中の水分量及び密度の測定

液状汚泥肥料の水分含有量を確認するため、肥料分析法 3.1.1 C 4) 及び水分計による測定を行った。また、参考として密度を算出するため、分析試料を 10 mL 全量フラスコにはかりとり、重量を電子天秤にて秤量し求め

た.

(2) 試料溶液の調製

テフロン TFM 製の高压分解容器に分析試料 20.0 g(ただし, 固形物換算で 0.5 g 程度以下)をはかりとり, 硝酸 2.5 mL 及び過酸化水素 2 mL を加えた. 発泡がおさまったのち(発泡が著しい試料は消泡剤としてエタノールを数滴滴下), マイクロ波分解装置により Table 2 の分解プログラムに従い分解した. なお, 分解が不十分と認められる場合はさらに硝酸 2.5 mL 及び過酸化水素 2 mL を添加し同条件で再度分解を行った. 放冷後, 分解液をポリプロピレン製ねじ口容器に水で移し込み, 50 mL の標線まで水を加えて 3000 回転/分(約 1700 ×g)で 5 分間遠心分離した後, 上澄み液を試料溶液とした. 測定する成分濃度が検量線濃度範囲を超える場合には, 適宜希釈し, 溶液中の硝酸濃度が 5%(体積分率)⁵⁾となるように硝酸を加え定容した.

Table 2 Operating condition of microwave digestion equipment

	Electric power (W)	Time (min)	Temperature (°C)	State
step 1	0→1400	10	Room temperature→240	Heating
step 2	1400	10	240	Fixed temperature
step 3	0	20	240→Room temperature	Residual heat

(3) 重金属等の測定

(a) ICP-MS による試料溶液の測定

試料溶液及び混合内標準溶液を自動希釈装置でそれぞれ 9:1 の割合で混合した後 ICP-MS に導入し, ¹¹¹Cd, ²⁰⁸Pb, ⁶⁰Ni, ⁵²Cr, ⁷⁵As, ¹⁰³Rh, ¹⁸⁷Re を測定し Cd, Ni, Cr, As, は Rh で, Pb は Re で内標準補正した.

同時に, 混合標準液を測定し, 検量線を作成して分析試料中のカドミウム, 鉛, ニッケル, クロム, ひ素濃度を算出した. 混合標準液は硝酸濃度が 5%(体積分率)⁵⁾となるように調製した.

ICP-MS の測定条件は以下のとおり.

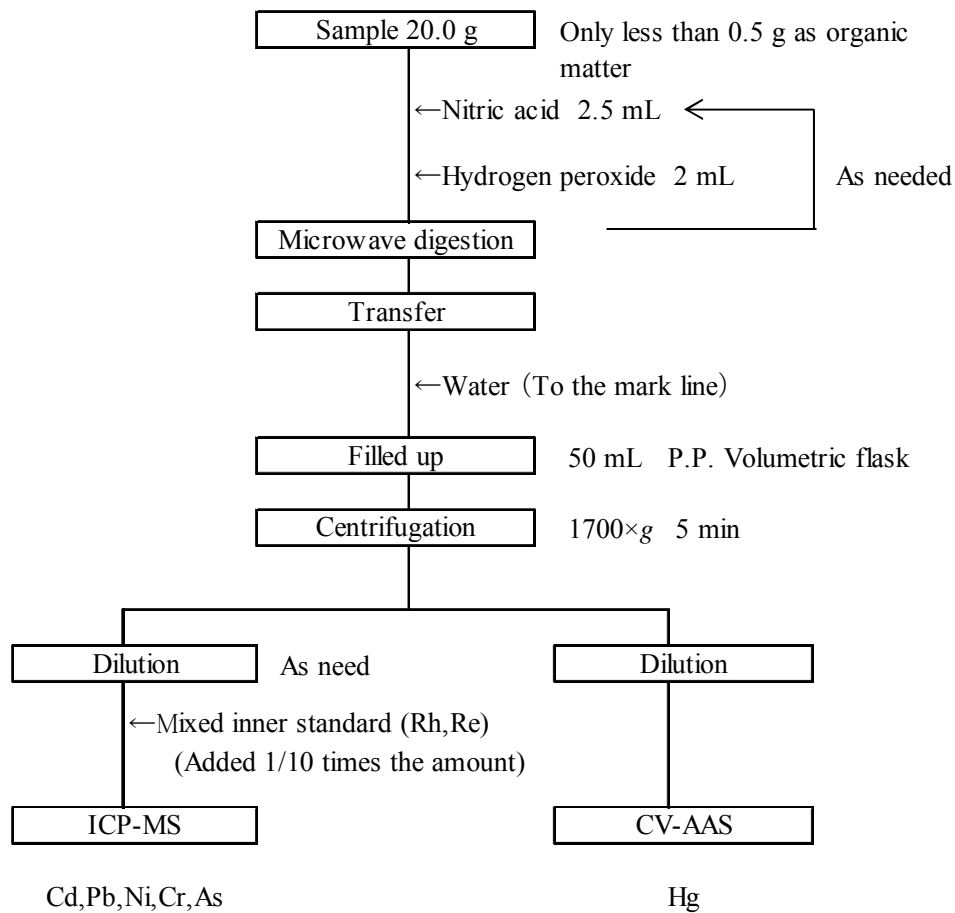
高周波出力	1.2 kW
サンプリング深さ	3.5 mm
クーラントガス流量	7.0 L/分
プラズマガス流量	1.50 L/分
キャリアガス流量	0.70 L/分

(b) CV-AAS による試料溶液の測定

肥料等試験法 5.1.a 還元気化原子吸光法 (4) 試験操作 (4.2) 測定によった.

なお, 混合標準液(Hg :0.4 ng/mL~10 ng/mL)を測定し, 検量線を作成して分析試料中の水銀濃度を算出した.

定量法の概要を Scheme 1 に示した.



Scheme 1 Analytical procedure for heavy metals in fluid sludge fertilizers

3. 結果及び考察

1) 液状汚泥肥料中の水分量及び密度の測定

汚泥肥料の有害成分の含有許容値は乾物換算あたりで評価することになる。このため現物中の当該含有量を確認した後は乾物中の含有量に換算する必要があるため、試料中の水分含有量を求めた。8種類の液状汚泥肥料の水分含有量について肥料分析法により求めた(Table 3)。水分含有量は最大で99.93%(質量分率)、最小で95.05%(質量分率)であった。また、固形の汚泥肥料における水分計による水分測定の妥当性確認結果が報告^{6,7)}されているが、液状汚泥肥料にも同測定計が適用できるかを確認するため、水分計を用いた水分の測定値も求めた(Table 3)。得られた結果に対して一対の標本による平均値の検定を行ったところ、有意水準5%で方法間に有意な差は認められなかった。

その他、物理特性の参考として、密度を測定した結果をFig. 1に示した。

Table 3 Comparison of the determination values of moisture by Methods of Analysis of Fertilizers or moisture meter

Sample	Methods of Analysis of		The difference in		The comparison of the measure (A/B)×100 %
	Fertilizers 3.1.1 C 4)	Moisture meter	the measure		
	A ^{a)} % ^{b)}	B ^{a)} % ^{b)}	A-B	% ^{b)}	
Industrial sludge fertilizer1	96.74	96.89	-0.15		99.8
Industrial sludge fertilizer2	95.05	95.41	-0.36		99.6
Composted sludge fertilizer1	97.12	96.92	0.20		100.2
Composted sludge fertilizer2	96.06	96.22	-0.16		99.8
Composted sludge fertilizer3	99.31	99.32	-0.01		100.0
Composted sludge fertilizer4	99.55	99.60	-0.05		99.9
Composted sludge fertilizer5	99.29	99.26	0.03		100.0
Composted sludge fertilizer6	99.93	99.98	-0.05		99.9

a) $n=1$

b) Mass fraction

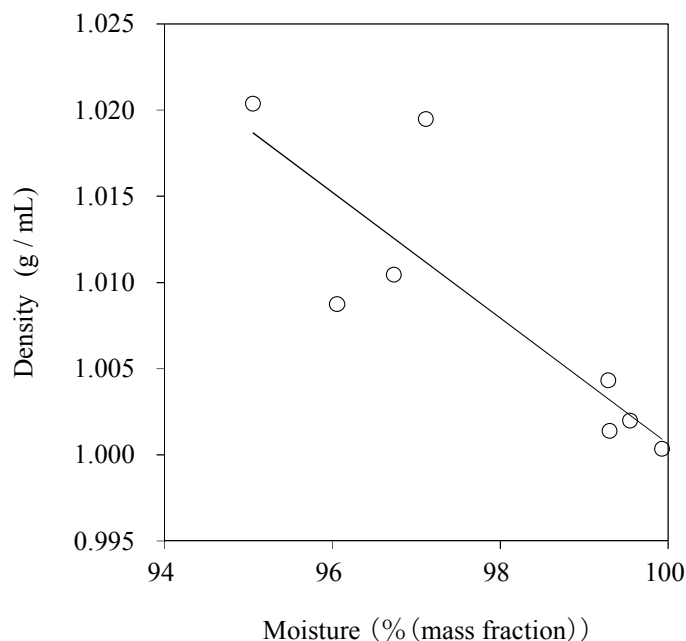


Fig. 1 The relation between moisture and density in fluid sludge fertilizers

2) 試料の分解及び測定方法の検討

妥当性が確認された方法である肥料等試験法による汚泥肥料中の重金属等の分析法の概要を Table 4 に示した。当該分析法は固形試料を想定して作成され、また、元素により分解及び測定方法が異なり、三系統に分けて分析する必要がある。液状汚泥肥料は水分を多量に含んでいるため、水銀を除く重金属等は既存の原子吸光光度計では感度が足りず定量が困難であると考えられた。このため、簡易、迅速性等を考慮し既報⁸⁾を基にマイクロ波分解装置を用いた ICP-MS による重金属等の分析方法を検討した (Table 5)。なお、既報⁸⁾は内標準法を用いていないが、汚泥肥料は高いマトリックスが予想されたことから内標準法を採用することとし、内標準として同種の汚泥肥料の分析⁹⁾や一斉分析^{10,11)}、底質分析¹²⁾に使用実績のあるロジウムやレニウムを使用した。また、水銀は ICP-MS を用いて測定されている報告¹³⁾もあるが、メモリー効果の影響により検量線を作成す

ることができず測定が困難であったため、CV-AASを用いることとした。

Table 4 Test method of each ingredient by Testing Methods for Fertilizers

Ingredient	The outline of methods	
	Sample liquid preparative procedure	Measurement method
Cd,Pb,Ni,Cr	Aqua regia digestion	Flame atomic absorption spectrometry
As	Sulfuric acid - nitric acid - perchloric acid digestion	Hydride generation atomic absorption spectrometry
Hg	Nitric acid - perchloric acid digestion	Cold vapor-atomic absorption spectrometry

Table 5 Test method of each ingredient by this consideration

Ingredient	The outline of methods	
	Sample liquid preparative procedure	Measurement method
Cd,Pb,Ni,Cr,As	Nitric acid - hydrogen peroxide digestion (Microwave use)	Inductively coupled plasma - mass spectrometry
Hg		Cold vapor-atomic absorption spectrometry

3) 検量線の直線性

2.2)に従って調製した混合標準液をICP-MSまたはCV-AASで測定し検量線を作成した。得られた検量線の傾き、切片、決定係数の数値をTable 6に示す。結果、カドミウム、鉛、ニッケル、クロム及びひ素は0.1 ng/mL～100 ng/mL、水銀は0.4 ng/mL～10 ng/mLの範囲で直線性(決定係数 $r^2=0.999$ 以上)を示した。

Table 6 Numerical values in standard curve

Ingredient	$y = ax + b$		
	a (Slope)	b (Intercept)	r^2 (Decision coefficient)
Cd	0.9972	-0.09279	1.0000
Pb	0.1218	-1.00897	0.9999
Ni	0.9561	-0.02275	0.9999
Cr	0.2363	-0.26694	1.0000
As	0.9431	0.30534	0.9999
Hg	3.1615	-0.05200	0.9998

4) 試料採取量の検討

水分含有量が最も少ない液状汚泥肥料(工業汚泥肥料)を20.0 g採取し、各重金属等として乾物換算における許容値相当量の1/2倍量を添加し、平均回収率を求めたところ、ひ素が低回収率となることが確認された。溶解しているひ素は有機物が残存すると、吸着されやすいことが報告されている¹⁴⁾。このため、分解が不十分で残存した有機物にひ素が再吸着し、低回収率を引き起こしたと考え、試料採取量を10.0 gに減らし、本法に従い回収率の確認を行った。結果をTable 7に示す。ひ素の回収率が40%以上向上したことから、試料採取量の減少は有効であると考えられた。本検討に供与した肥料の水分含有量は約95%(質量分率)であり、試料20.0 gを供与すると固形物換算で約1.0 g、試料10.0 gを供与すると固形物換算で約0.5 gを供与したことになる。このことから、固形物換算で0.5 g程度の試料供与量が本法における分解上限と考えられた。

Table 7 Influence of weighting amount

Sample	Ingredient	Moisture (%) ^{a)}	Spiked amount (dry weight) ^{b)} (mg/kg)	Recovery at the time of weighting 20.0 g ^{c)} (%)	Recovery at the time of weighting 10.0 g ^{c)} (%)
Industrial sludge fertilizer	As	95.05	25	59.4	100.4

a) Mass fraction

b) The spiked amount (actual weight) is 1.24 mg/kg.

c) Mean value ($n=3$)

5) 調製試料測定による真度の評価

液状汚泥肥料の認証標準物質は販売されていないため、自己で調製した水分含有量 98.5 % (質量分率) の真度評価用試料を用いて 2 点併行で重金属等の試験を実施した結果を Table 8 に示した。設計値に対する回収率は 92.5 % ~ 133.3 % であり、有機物が十分分解され重金属等の測定が可能であることが確認された。なお、AOAC¹⁵⁾における濃度レベルに対する回収率の許容範囲は濃度 0.01 mg/kg ~ 1 mg/kg で 70 % ~ 125 % であり、参考として比較したところクロムを除いたいずれの重金属等もこれらの許容範囲内であった。

Table 8 Test result of heavy metals in the sample

Ingredient	Design value	Measured value	Difference to the design value	Percentage of the difference	Recovery	Standard deviation	Relative standard deviation
	A ^{a)} (mg/kg)	B ^{b)} (mg/kg)	C ^{c)} (mg/kg)	D ^{d)} (%)	E ^{e)} (%)	F ^{b)} (mg/kg)	G ^{f)} (%)
Cd	0.0272	0.0296	0.0024	8.8	108.8	0.0002	0.7
Pb	0.531	0.569	0.038	7.2	107.2	0.015	2.6
Ni	1.1	1.2	0.1	9.1	109.1	0.03	2.5
Cr	1.2	1.6	0.4	33	133.3	0.1	6.3
As	0.321	0.297	-0.024	-7.5	92.5	0.003	1.0
Hg	0.00722	0.00774	0.00052	7.2	107.2	0.0005	6.5

a) Test result of heavy metals in the sample (design value)

b) $n=2$ c) $C=B-A$ d) $D=(C/A) \times 100$ e) $E=(B/A) \times 100$ f) $G=(F/B) \times 100$

Table 9 Results of spike and recovery test

		Industrial sludge fertilizer1	Industrial sludge fertilizer2	Composted sludge fertilizer1	Composted sludge fertilizer2	Composted sludge fertilizer3	Composted sludge fertilizer4	Composted sludge fertilizer5	Composted sludge fertilizer6
Moisture (%) (A)		96.74	95.05	97.12	96.06	99.31	99.55	99.29	99.93
Conversion factor (dry matter) ^{a)} (B)		30.64	20.22	34.69	25.37	144.3	222.1	140.5	1408.7
Ingredient	Spiked amount (dry matter conversion) (C) (mg/kg)	Spiked amount (actual matter conversion) ^{b)} (D)		Spiked amount (actual matter conversion) ^{b)}		Spiked amount (actual matter conversion) ^{b)}		Spiked amount (actual matter conversion) ^{b)}	
		Mean ^{c)} RSD ^{d)}	Mean ^{c)} RSD ^{d)}	Mean ^{c)} RSD ^{d)}	Mean ^{c)} RSD ^{d)}	Mean ^{c)} RSD ^{d)}	Mean ^{c)} RSD ^{d)}	Mean ^{c)} RSD ^{d)}	Mean ^{c)} RSD ^{d)}
Cd	2.5	0.0816	0.124	0.0721	0.0985	0.0173	0.0113	0.0178	0.00177
		95.0	107.0	91.0	101.2	97.5	96.6	98.9	96.3
		4.9	5.5	4.7	4.1	0.7	3.1	3.0	4.4
	5	0.163	0.247	0.144	0.197	0.0346	0.0225	0.0356	0.00355
		108.5	104.7	98.6	91.4	108.8	103.9	112.0	108.5
		3.2	5.0	6.2	5.2	8.5	5.4	3.7	4.2
20	0.653	0.989	0.577	0.788	0.139	0.0900	0.142	0.0142	
	91.8	97.7	94.2	89.4	101.4	94.5	91.2	103.9	
	3.2	0.9	1.0	6.0	2.0	2.6	6.4	3.1	
Pb	50	1.63	2.47	1.44	1.97	0.346	0.225	0.356	0.0355
		100.7	111.1	85.0	98.5	103.3	105.4	104.7	106.1
		3.4	1.5	2.7	4.2	1.0	1.5	2.6	2.0
	100	3.26	4.95	2.88	3.94	0.693	0.450	0.712	0.0710
		110.6	107.2	113.9	95.8	95.9	93.2	101.7	109.8
		1.6	3.9	3.1	5.8	5.7	2.7	2.4	2.7
400	13.1	19.8	11.5	15.8	2.77	1.80	2.85	0.284	
	91.2	103.1	95.5	99.7	107.5	106.9	92.8	108.1	
	0.9	0.7	2.1	4.4	2.3	3.4	5.6	1.0	
Ni	150	4.90	7.42	4.32	5.91	1.04	0.675	1.07	0.106
		92.9	95.4	100.8	96.8	95.3	94.3	94.4	98.6
		1.8	4.6	2.3	4.2	1.1	0.8	1.5	0.5
	300	9.79	14.8	8.65	11.8	2.08	1.35	2.14	0.213
		114.7	96.1	106.6	99.2	107.6	110.2	107.9	103.7
		0.6	0.8	2.1	4.2	1.8	2.6	1.0	4.9
1200	39.2	59.3	34.6	47.3	8.31	5.40	8.54	0.852	
	93.0	95.9	94.2	89.6	91.5	108.3	98.6	96.1	
	0.8	2.3	0.6	5.1	0.7	1.3	3.7	0.9	
Cr	250	8.16	12.4	7.21	9.85	1.73	1.13	1.78	0.177
		94.3	97.2	101.1	98.3	98.7	98.7	97.9	106.8
		1.7	4.6	1.7	3.4	0.9	0.9	1.0	0.7
	500	16.3	24.7	14.4	19.7	3.46	2.25	3.56	0.355
		108.8	97.9	106.1	99.8	115.4	109.6	108.3	105.8
		1.2	0.5	2.4	2.1	6.1	2.5	1.0	3.8
2000	65.3	98.9	57.7	78.8	13.9	9.00	14.2	1.42	
	92.4	96.1	94.5	96.7	93.5	112.2	98.8	98.8	
	0.6	2.7	0.5	1.8	1.0	1.1	3.2	0.8	
As	25	0.816	1.24	0.721	0.985	0.173	0.113	0.178	0.0177
		90.6	100.4	97.8	96.9	96.3	93.4	96.1	95.0
		1.4	8.4	2.3	1.6	0.4	1.3	1.6	2.1
	50	1.63	2.47	1.44	1.97	0.346	0.225	0.356	0.0355
		105.9	95.9	96.6	91.0	110.7	105.1	108.5	95.0
		2.3	0.1	5.3	3.9	4.7	4.3	0.9	7.8
200	6.53	9.89	5.77	7.88	1.39	0.900	1.42	0.142	
	85.0	86.3	94.5	96.2	93.1	90.7	98.8	98.5	
	1.7	2.4	0.6	1.1	1.0	0.7	2.6	0.5	
Hg	1	0.0326	0.0495	0.0288	0.0394	0.00693	0.00450	0.00712	0.000710
		99.0	103.0	102.9	108.0	100.4	103.9	110.2	105.8
		1.2	0.7	0.3	0.1	0.3	0.2	1.0	1.5
	2	0.0653	0.0989	0.0577	0.0788	0.0139	0.00900	0.0142	0.00142
		114.5	101.7	105.2	107.5	114.6	113.4	113.6	102.2
		0.7	1.0	0.4	0.1	1.2	0.8	2.2	2.5
8	0.261	0.396	0.231	0.315	0.0554	0.0360	0.0570	0.00568	
	106.6	100.0	108.5	109.1	104.3	105.0	102.6	95.2	
	1.4	0.8	0.1	3.9	0.8	1.1	0.4	2.4	

a) $B=100/(100-A)$ b) $D=C/B$ c) Average recovery ($n=3$)

d) Relative standard deviation

6) 添加回収試験による真度の評価

液状汚泥肥料(工業汚泥肥料(2種類)及び汚泥発酵肥料(6種類))に、各重金属等として乾物換算における許容値、許容値の1/2倍及び許容値の4倍相当量を添加し、本法に従って3点併行分析を行い、得られたその平均回収率、併行相対標準偏差をTable 9に示した。8種類の液状汚泥肥料における各重金属等の平均回収率は85.0%~115.4%、それらの併行相対標準偏差(RSD)は0.1%~8.5%であり、いずれの回収率も肥料等試験法³⁾が示している真度(回収率)の目標以内であった。

7) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するため、2種類の液状汚泥肥料を用いて、2点併行で日を変えて5回分析を行った結果を基に、一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度をTable 10に示した。いずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安以内であったことから³⁾、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 10 Statistical analysis result of repeatability test

Sample	Ingredient	Mean ^{a)} (mg/kg)	Repeatability precision			Intermediate precision		
			s_r ^{b)} (mg/kg)	RSD_r ^{c)} (%)	$CRSD_r$ ^{d)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{e)} (mg/kg)	$RSD_{I(T)}$ ^{f)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)
Composted sludge fertilizer 1	Cd	0.139	0.007	5.1	11	0.010	7.0	18
	Pb	2.80	0.09	3.1	8	0.27	9.7	13
	Ni	8.60	0.44	5.1	8	0.61	7.0	13
	Cr	14.3	0.58	4.0	6	0.68	4.7	9
	As	1.43	0.07	4.6	8	0.07	4.8	13
	Hg	0.058	0.001	1.5	11	0.001	2.5	18
Composted sludge fertilizer 2	Cd	0.036	0.001	3.2	11	0.002	5.6	18
	Pb	0.74	0.01	1.9	11	0.02	2.7	18
	Ni	2.04	0.13	6.1	8	0.13	6.4	13
	Cr	3.47	0.20	5.8	8	0.20	5.8	13
	As	0.34	0.02	5.0	11	0.02	5.0	18
	Hg	0.0142	0.0002	1.7	11	0.0003	2.2	18

a) Total average (test-days (5) × parallel analysis (2))

b) Repeatability standard deviation

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of Repeatability precision (Repeatability relative standard deviation)

e) Intermediate standard deviation

f) Intermediate relative standard deviation

g) Criteria of Intermediate precision (Intermediate relative standard deviation)

8) 定量下限等の確認

水分含有量が最も多い液状汚泥肥料(汚泥発酵肥料(1種類)、水分含有量99.93%(質量分率))を用い、本法に従って7点併行試験を実施し定量下限及び検出下限の確認を行った。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^{3,16)}ので、本法の定量下限はカドミウム 0.2 µg/kg、鉛 4 µg/kg、ニッケル 6 µg/kg、クロム 1 µg/kg、ひ素 3 µg/kg、水銀 0.2 µg/kgとそれぞれ推定された(Table 11)。

有害成分、制限成分等の定量下限は含有許容量が1000 µg/kg以上の場合ではその1/5以下であることが要求される³⁾。汚泥肥料においては乾物換算あたりの許容値が設定されているため、試料の水分含有量によって

必要とされる定量下限は異なるが、水分含有量 99.93 % (質量分率) で必要とされる現物あたりの定量下限はカドミウム 0.7 µg/kg, 鉛 14 µg/kg, ニッケル 43 µg/kg, クロム 71 µg/kg, ひ素 7 µg/kg, 水銀 0.3 µg/kg であることから、この試験法は液状汚泥肥料中の重金属等の含有量評価を得るのに十分な定量範囲を有していることが確認された。

Sample	Ingredient	Mean ^{a)}	<i>s_r</i>	<i>LOQ</i> ^{b)}	<i>LOD</i> ^{c)}
Composted sludge fertilizer	Cd	1.4	0.02	0.2	0.1
	Pb	18	0.4	4	1
	Ni	18	0.6	6	2
	Cr	11	0.1	1	0.4
	As	31	0.3	3	1
	Hg	0.5	0.02	0.2	0.06

a) Mean value ($n=7$)

b) Standard deviation $\times 10$

c) Standard deviation $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$

4. まとめ

マイクロ波分解を用いた ICP-MS 及び CV-AAS による液状汚泥肥料中の重金属等の測定について妥当性確認のための試験を実施したところ、次の結果を得た。

(1) 8 種類の液状汚泥肥料の水分含有量について肥料分析法により求めたところ、水分含有量は最大で 99.93 % (質量分率), 最小で 95.05 % (質量分率) であった。また、水分計による測定の適否を確認したところ公定法と有意水準 5 % で方法間に有意な差は認められなかった。

(2) マイクロ波による硝酸、過酸化水素分解・抽出後、重金属等 (水銀を除く) は ICP-MS, 水銀は CV-AAS を用いて測定を行った。試料採取量を検討したところ基本採取量としては 20.0 g であり、固形物換算で 0.5 g 程度の試料供与量が本法における分解上限と考えられた。

(3) 自己で調製した水分含有量 98.5 % (質量分率) の真度評価用試料を用いて 2 点併行で重金属等の試験を実施した結果、設計値に対する回収率は 92.5 % ~ 133.3 % であり、有機物が十分分解され重金属等の測定が可能であることが確認された。

(4) 検量線を作成したところ、カドミウム、鉛、ニッケル、クロム等は 0.1 ng/mL ~ 100 ng/mL, 水銀は 0.4 ng/mL ~ 10 ng/mL の範囲で直線性 (決定係数 $r^2=0.999$ 以上) を示した。

(5) 液状汚泥肥料 (工業汚泥肥料 (2 種類) 及び汚泥発酵肥料 (6 種類)) に、本法に従って添加回収試験として 3 濃度において 3 点併行分析を行った結果、各重金属等の平均回収率は 85.0 % ~ 115.4 % であり、それらの併行相対標準偏差 (*RSD*) は 0.1 % ~ 8.5 % であった。また、いずれの回収率も肥料等試験法に示されている真度 (回収率) の目標以内であった。

(6) 本法の併行精度及び中間精度を確認したところ、肥料等試験法に示されている併行精度 (併行相対標準偏差) 及び中間精度 (中間相対標準偏差) の目安以内であった。

(7) 本法における定量下限はカドミウム 0.2 µg/kg, 鉛 4 µg/kg, ニッケル 6 µg/kg, クロム 1 µg/kg, ひ素 3 µg/kg, 水銀 0.2 µg/kg とそれぞれ推定された。

謝 辞

本検討の実施にあたり、試料の収集にご協力いただいた肥料生産業者の皆様には謝意を表します。

文 献

- 1) 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, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 27 年 1 月 9 日, 農林水産省告示第 52 号 (2015)
- 2) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), 財団法人日本肥糧検定協会, (1992)
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2014)
< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2014.pdf >
- 4) 肥料取締法:昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改正平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号 (2011)
- 5) 環境省:無機元素の多元素同時測定法(酸分解/ICP-MS 法)
- 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) 内山 丈, 白井裕治:汚泥肥料中の水分測定—共同試験成績—, 肥料研究報告, **1**, 6~11 (2008)
- 8) 戸塚由紀, 岡本華菜, 山本重一, 中川礼子:マイクロウェーブ分解装置を用いた重金属の迅速分析法の検討, 福岡県保健環境研究所年報, **36**, 61~66 (2009)
- 9) 井塚進次郎, 及川裕美, 白井裕治, 阿部文浩, 藤田卓:汚泥肥料施用土壌におけるカドミウムの溶出形態の推移—抽出法の検討—, 肥料研究報告, **7**, 60~72 (2010)
- 10) 萩原輝彦, 雨宮敬, 山野辺秀夫:東京都搬入玄米中のカドミウム及び重金属について, 東京都健康安全研究センター研究年報, **61**, 185~190 (2010)
- 11) 鈴木康弘, 鈴木真一:ICP-MS によるたばこ及びたばこ吸殻中微量元素の分析と法科学的異同識別への応用, 分析化学, **61**(11), 911~916 (2012)
- 12) 環境省 水・大気環境局:底質調査方法について, 平成 24 年 8 月 8 日 環水大水発 120725002 号
- 13) 伊藤喜代志:ICP 質量分析法を用いた水銀測定の可能性について, 東京都下水道局技術調査年報, 1~7 (2008)
- 14) 土木研究所:建設工事における自然由来重金属等含有岩石・土壌への対応マニュアル(暫定版), p.10 (2010)
- 15) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
- 16) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)

Determination of Heavy Metals in Fluid Sludge Fertilizers by ICP-MS and CV-AAS

Toshiharu YAGI¹

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

An analytical method for determination of cadmium, lead, nickel, chromium, arsenic and mercury in fluid sludge fertilizers by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometer (ICP-MS) and Cold Vapor- Atomic Absorption Spectrometer (CV-AAS) with microwave digestion was developed. The fluid sludge fertilizer that contains heavy metals was digested by microwave, after nitric acid and hydrogen peroxide was added to sample. Heavy metals except mercury were measured by ICP-MS, using rhodium and rhenium as an inner standard element. Mercury was measured by CV-AAS. As a result of 3 replicate analysis of 8 fertilizer samples (6 kinds of fluid composted sludge fertilizer and 2 kinds of fluid industrial sludge fertilizer) spiked with heavy metals at the permissible values, the 1/2 of the permissible values and the quadruple permissible values, the mean recoveries and the relative standard deviations (*RSD*) were 85.0 %~115.4 % and 0.1 %~8.5 %, respectively. As a result of 5 tests on different days using two samples, repeatability relative standard deviation (*RSD_r*) were 1.5 % ~6.1 % and intermediate relative standard deviation (*RSD_{I(T)}*) were 2.2 % ~9.7 %, respectively. As a result, they were within the criteria of repeatability and intermediate precision of Testing Methods for Fertilizers. On the basis of 7 replicate measurements of naturally contained samples, the *LOQ* values were 0.2 µg/kg for cadmium, 4 µg/kg for lead, 6 µg/kg for nickel, 1 µg/kg for chromium, 3 µg/kg for arsenic, 0.2 µg/kg for mercury in the fluid sludge fertilizer at actual matter. Those results indicated that the developed method was valid for the determination of heavy metals.

Key words fluid sludge fertilizer, microwave digestion, simultaneous analysis, inductively coupled plasma - mass spectrometer (ICP-MS), cold vapor- atomic absorption spectrometer (CV-AAS)

(Research Report of Fertilizer, **8**, 26~37, 2015)

5 液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)による肥料中の

スルファミン酸の測定

伊藤浩平¹, 藤田真理子², 橋本良美¹, 白井裕治¹

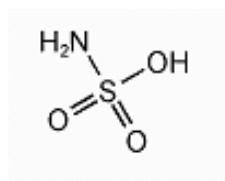
キーワード スルファミン酸, 肥料, LC-MS 法

1. はじめに

肥料中の有害成分であるスルファミン酸(別名, アミド硫酸(Fig.1))の定量については, 肥料分析法において亜硝酸ナトリウム法が定められている^{1, 2)}が, 外部指示薬による滴定操作において終点の判定に高度な修練が必要である。また, 肥料の種類によっては, 共存物質の影響により終点の判定が困難となり精確な測定が行えないという問題がある。

平成 23 年度及び平成 24 年度において, イオンクロマトグラフ法により肥料中のスルファミン酸の測定の検討を行った。当初は, スルファミン酸及び硫酸化物の含有許容値が設定されている肥料に適応可能な同時測定について検討した。しかし, 有機酸等を多く含む肥料ではスルファミン酸定量の妨害となる共存物質が多く存在し, 妨害物質の除去や分離が困難であるという課題があったため, 平成 23 年度は硫酸アンモニアのみを対象とした 2 成分同時測定について検討を行った³⁾。平成 24 年度は, 他の肥料の種類については, 2 成分の含有許容量がより低いこと, また, 定量の妨害となる共存物質も多様であることから, 2 成分を個別に検討することとした。2 成分のうちスルファミン酸は紫外外部吸収を持たないことから, 電気伝導度検出器を用いたイオンクロマトグラフ法により検討を行った⁴⁾。まず, 有機酸等の妨害物質について前処理時の除去方法を検討したが, 完全に除去はできなかった。また, サプレッサー法及びノンサプレッサー法により, 妨害ピークとスルファミン酸ピークとの分離可能な測定条件を検討したが, 完全に分離可能な測定条件は確立できなかった。以上より, イオンクロマトグラフ法による有機酸等を多く含む肥料中のスルファミン酸の測定は困難であることが明らかとなった。

このため, 高速液体クロマトグラフィー質量分析計(以下「LC-MS」という。)により有機酸等を多く含む肥料中のスルファミン酸を迅速かつ精確に定量することを目的に測定条件の確認等の検討を行った。



Sulfamic acid [HOSO₂NH₂]

Fig.1 Chemical structures of sulfamic acid

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肥飼料安全検査部 (現)福岡センター

2. 材料及び方法

1) 供試試料

供試試料は硫酸アンモニウムや、有機酸を多量に含むアミノ酸発酵廃液を原材料とした肥料を対象とし、硫酸アンモニア 1 点、副産窒素肥料 1 点、副産複合肥料 1 点、化成肥料 1 点、液状複合肥料 1 点、家庭園芸用複合肥料 1 点の計 6 点を用いた。固形の試料は、それぞれ目開き 500 μm のスクリーンを通過するまで粉砕したものを分析用試料とし、使用時までポリエチレン製の袋に密封して常温保管した。

2) 試薬等の調製

(1) 水:水精製装置 (Elix Advantage5 及び Milli-Q Academic A-10,Millipore) で精製した JIS K 0557 に規定する A4 の水を用いた。

(2) アセトニトリル: LC-MS 用試薬。

(3) ぎ酸: LC-MS 用試薬。

(4) ぎ酸アンモニウム緩衝液 (pH 3.2): 純度 95 % (質量分率) 以上のぎ酸アンモニウム 3.153 g を水に溶かして 500 mL とし、ぎ酸により pH 3.2 となるよう調整した。

(5) スルファミン酸標準液 (1 mg/mL): JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質アミド硫酸 0.1 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水を加えて溶かし、全量フラスコ 100 mL に移し入れ、標線まで水を加えた。

(6) スルファミン酸標準液 (10 $\mu\text{g/mL}$): 使用時に、標準液 (1 mg/mL) 2.5 mL を全量フラスコ 250 mL にとり、標線まで水を加えた。

(7) スルファミン酸標準液 (200 ng/mL): 使用時に、標準液 (10 $\mu\text{g/mL}$) 5 mL を全量フラスコ 250 mL にとり、標線まで水を加えた。

(8) 検量線用スルファミン酸標準液 (10 ng/mL~600 ng/mL): 使用時にスルファミン酸標準液 (10 $\mu\text{g/mL}$) の 2.5 mL~6 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり、標線まで水を加えた。同様に、スルファミン酸標準液 (200 ng/mL) の 5 mL~50 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり、標線まで水を加えた。

3) 器具及び装置

(1) 高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS): 島津製作所 LCMS-2010EV
カラム: phenomenex Luna HILIC (内径 2.0 mm, 長さ 100 mm, 粒径 5 μm , 架橋型ジオールを化学結合したシリカゲルカラム)

(2) メンブレンフィルター: ADVANTEC DISMIC-13HP (孔径 0.45 μm)

(3) 高速遠心分離機: HSIANGTAI MCD-2000

(4) 遠心分離機: コクサン H-26F

(5) マグネチックスターラー: ADVANTEC SRS261PA

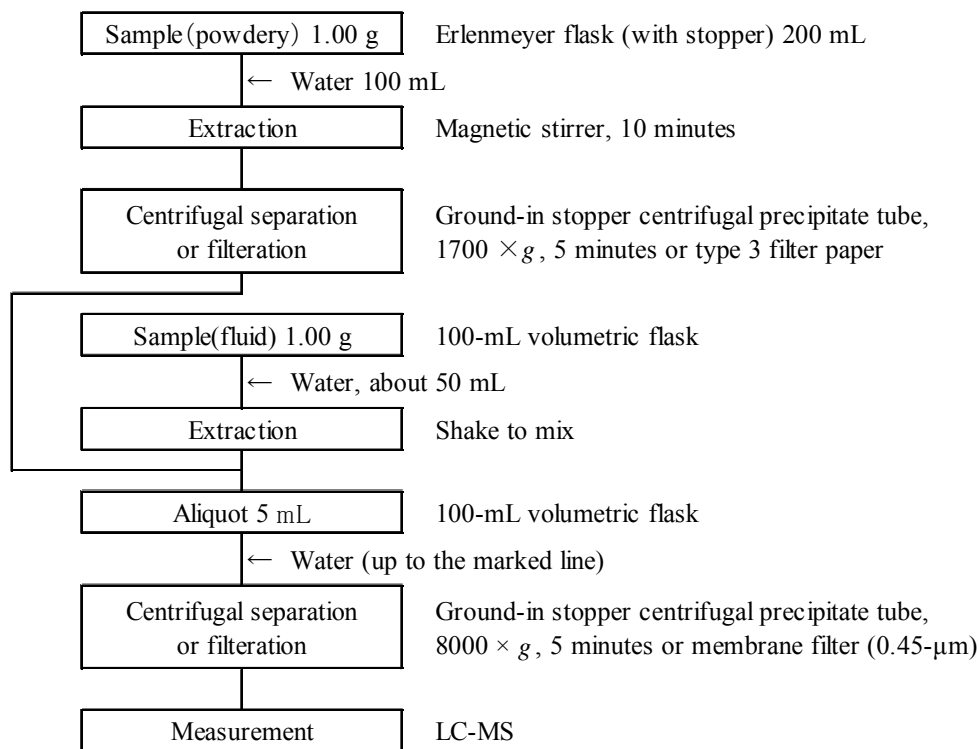
4) 試験操作

(1) 試料溶液の調製

粉状の分析用試料の場合、分析試料 1.00 g を共栓三角フラスコ 200 mL にはかりとり、水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜた後、遠心力 1700 $\times g$ で約 5 分間遠心分離した上澄み液、またはろ紙 3 種でろ過したろ液を抽出液とした。

液状の分析用試料の場合、分析試料 1.00 gをはかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れ、水約 50 mL を加えて振り混ぜ、更に標線まで水を加えて抽出液とした。

抽出液は 5 mL 分取し、全量フラスコ 100 mL に入れ、標線まで水を加え 20 倍に希釈した。この希釈液をポリプロピレン製の共栓遠心沈殿管 1.5 mL にとり、遠心力 $8000 \times g$ で約 5 分間遠心分離した上澄み液、またはメンブレンフィルター(孔径 0.45 μm) でろ過したろ液を測定用試料溶液とした (Scheme 1)。



Scheme 1 Flow sheet for sulfamic acid in fertilizers

(2) 測定

試料溶液 1 μL を LC-MS に注入し、Table 1 の測定条件に従って、選択イオン検出(以下「SIM」という。)クロマトグラムを得た。得られた SIM クロマトグラムからピーク面積を求めた。

Table 1 LC-MS Conditions

Column	Phenomenex, LUNA HILIC (2.0 mm i.d. \times 100 mm L, 5 μm particle size)
Mobile phase	Ammonium formate buffer - acetonitrile (1+9)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 $^{\circ}\text{C}$
Injection volume	1 μL
Measurement time	20 minutes
Ionization method	Electrospray ionization (ESI) negative ion mode
Capillary voltage	- 3.5 kv
Ion source temperature	300 $^{\circ}\text{C}$
Nebulizer gas flow rate	1.5 L/min
Desolvation gas temperature	250 $^{\circ}\text{C}$
Monitor ion	m/z 95.9

3. 結果及び考察

1) 測定条件

スルファミン酸検量線用標準液(600 ng/mL 相当量)のSIMクロマトグラムをFig. 2及びFig. 3に示した. 株式会社島津製作所のカラムのアプリケーション⁵⁾を参考にLC-MS測定条件(Table 1)を設定したところ, 10 ng/mL~600 ng/mLの範囲でスルファミン酸のピークが確認できた.

2) 検量線の直線性

検量線用標準液(10 ng/mL~600 ng/mL)を本法に従ってLC-MSに注入し, 得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を作成した(Fig.4). その結果, 検量線用標準液は10 ng/mL~600 ng/mLの範囲で直線性が高く, 原点付近をとる検量線が得られた.

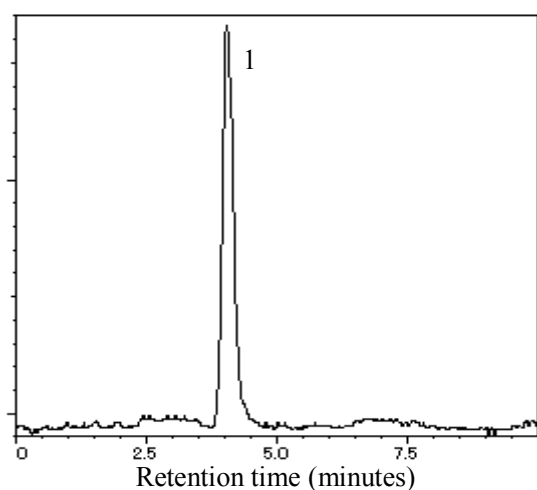


Fig.2 SIM chromatogram of standard mixture
Peak1 (Concentration): Sulfamic acid (600 ng/mL)

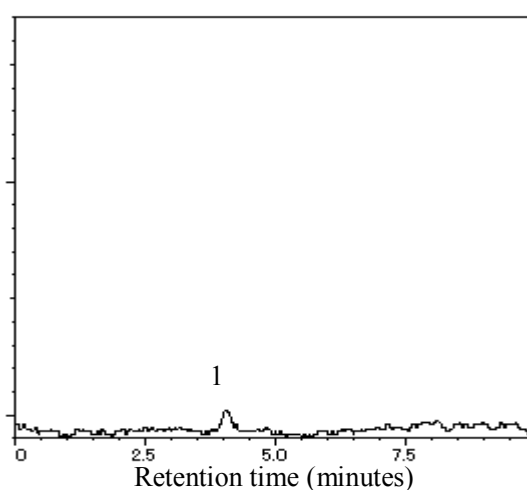


Fig.3 SIM chromatogram of standard mixture
Peak1 (Concentration): Sulfamic acid (25 ng/mL)

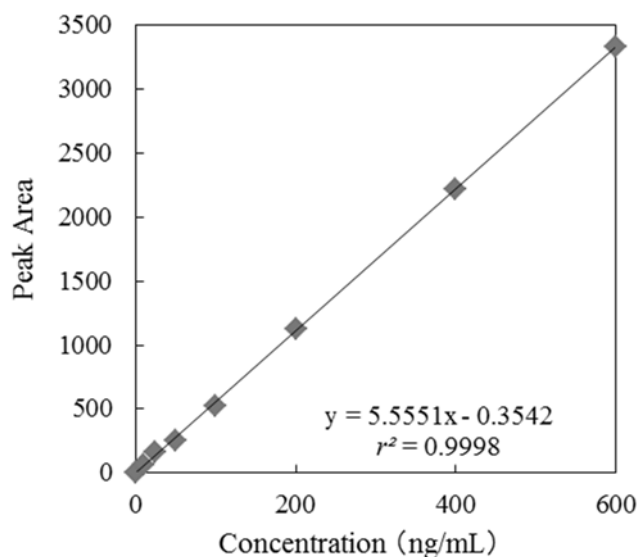


Fig.4 Calibration curve of sulfamic acid

3) 共存物質除去方法の検討

供試試料には共存物質が多量に含まれ、特にアミノ酸発酵廃液を原料とした肥料では、たんぱく質や核酸を多く含む可能性がある。これらの共存物質は測定妨害物質となることがあるため、試料溶液を LC-MS に注入する前に可能な限り除去を行う必要がある。そこで、たんぱく質や核酸の除去が可能な限外ろ過フィルター(孔径 0.2 μm , ポリエーテルスルホン(PES)製)とメンブレンフィルター(孔径 0.45 μm , 親水性ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)製)の使用が可能か検討した。

2 濃度のスルファミン酸標準液(10 ng/mL 及び 100 ng/mL)を限外ろ過フィルターまたはメンブレンフィルターでろ過した溶液とろ過未実施のスルファミン酸標準液を調製し、本法に従って測定した。得られたピーク面積から、ろ過未実施の溶液を 100 %とした場合の各フィルターろ過溶液の回収率を算出するとともに、ろ過未実施の溶液と各フィルターろ過溶液の平均値の差による検定を行い、これらの結果を Table 2 に示した。

限外ろ過フィルターでろ過した場合、回収率は 10 ng/mL で 75.1 %及び 100 ng/mL で 79.6 %であり、ピーク面積はろ過未実施の標準液と比較すると有意に小さくなった(有意水準 5 %)。また、メンブレンフィルターでろ過した場合の回収率は 10 ng/mL で 97.0 %及び 100 ng/mL で 94.9 %であり、有意な差は認められなかった。

このことから、本検討で使用した PES 製の限外ろ過フィルターはろ液のスルファミン酸量が低下するため使用できないことが確認された。また、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルターはろ液と未ろ過のスルファミン酸量に差がある証拠は見つからなかった。

Table 2 Influence of filtration process on recovery rate of sulfamic acid

Sample	Filtration process	Concentration (ng/mL)	Recovery rate ^{a)} (%)
Standard solution of sulfamic acid	Ultrafiltration ^{b)}	10	75.1
	Ultrafiltration	100	79.6
	Membrane filter ^{c)}	10	97.0
	Membrane filter	100	94.9

a) $n=3$

b) Polyether sulfone (PES) membrane

c) Hydrophilic polytetrafluoroethylene (PTFE) membrane

次に、供試試料のうちアミノ酸発酵廃液を主な原料としている副産窒素肥料を用いて、夾雑物質の除去方法の違いが測定値に及ぼす影響を確認した。試料にスルファミン酸標準液を 0.1 %含有するよう添加し、メンブレンフィルターでろ過して得られた測定溶液と、8000×g で 5 分間の遠心分離を行って得られた測定溶液を測定し、得られたスルファミン酸量から添加回収率を算出し比較した。また、標準液を添加しない試料についても同時に測定を行った。

結果は Table 3 のとおりで、回収率はろ過が 98.5 %, 遠心分離が 101.2 %となり、いずれの回収率もこの濃度範囲における肥料等試験法⁶⁾が示している真度(回収率)の目標以内であり、ろ過と遠心分離のどちらの方法を用いても測定値に影響はないことが確認された。また、標準液を添加しない試料にはスルファミン酸の含有は認められなかった。なお、これ以降の検討では多検体調製時の操作簡便化を考慮し、遠心分離により試験を実施した。

Table 3 Influence of separation method on recovery rate of sulfamic acid

Sample	Separation method	Content (%) ^{a)}	Recovery rate ^{b)} (%)
Byproduct nitrogen fertilizer	Centrifugal separation	0.1	101.2
	Filterlation ^{c)}	0.1	98.5

a) Mass fraction

b) $n=3$ c) Membrane filter (0.45 μm)

4) マトリックスの影響

硫酸アンモニア, 副産窒素肥料, 副産複合肥料, 化成肥料, 液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料の6種類の肥料を本法に従って測定したところ, 定量を直接妨害するような夾雑ピークは認められなかった. また, 連続分析の安定性を確認するため, 供試試料3検体につき1点の割合でスルファミン酸標準液(100 ng/mL)の分析を行った. 連続15時間で供試試料30検体と標準液15検体を分析し, 標準液の保持時間とピーク面積を確認した. その結果, Fig.5 のとおり, 標準液ピークの保持時間とピーク面積は前の測定試料の影響を受けることなく一定の値を示しており, 長時間・多検体分析の安定性が確認された.

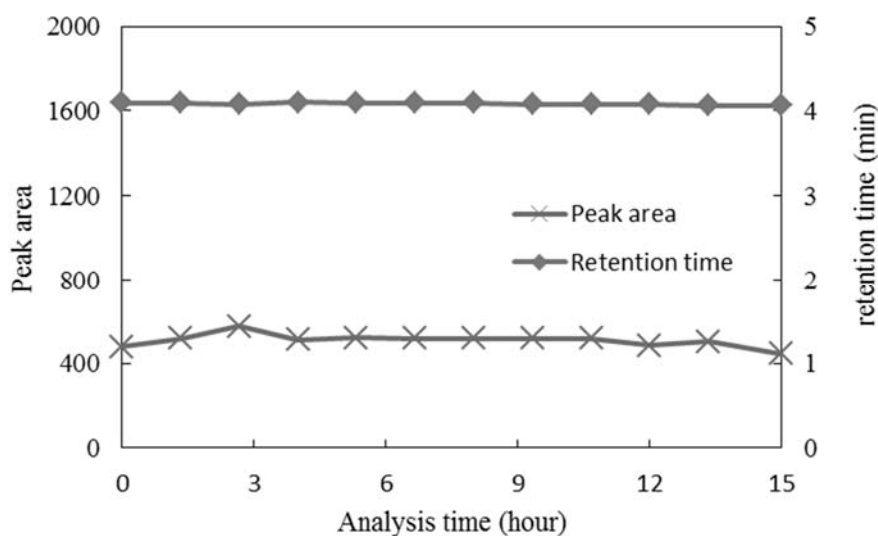


Fig.5 Peak area and retention time of standard mixture prepared 100 ng/mL sulfamic acid in continuous analysis

5) 添加回収試験による真度の評価

硫酸アンモニア, 副産窒素肥料, 副産複合肥料, 化成肥料及び液状複合肥料の5種類の肥料に, Table 4に示した含有量に相当するスルファミン酸標準液を加え,十分に溶媒を揮散させた試料を調製し,3点併行で本法に従って添加回収試験を行った.スルファミン酸の含有を許される最大量(含有許容量)は,主成分の合計量の含有率1%につき質量分率0.005%~0.01%と普通肥料の公定規格で規定されており,含有すべき主成分の最小量からスルファミン酸の最小含有許容量を算出すると家庭園芸用複合肥料を除いて副産複合肥料が質量分率0.025%であった.添加濃度は,この質量分率0.025%を基準とし,その1/5,1及び4倍の含有量とした.

最も低い含有許容量である、家庭園芸用複合肥料の最小含有許容量は質量分率 0.001 %をとるが、この場合測定溶液中のスルファミン酸濃度は 5 ng/mL となり、本法では検量線の範囲外でピークの検出が困難となるため今回は除外した。

添加回収試験の結果は Table 4 のとおり、回収率は 95.2 %~111.2 %で、その相対標準偏差は 0.7 %~4.8 %であった。いずれの回収率もこの濃度範囲における肥料等試験法⁵⁾ が示している真度(回収率)の目安以内であり、肥料中のスルファミン酸の測定値を得るのに十分な正確さを有していることが確認された。なお、参考のため添加回収試験における試料溶液の SIM クロマトグラムの一例を Fig.6 及び Fig.7 に示した。

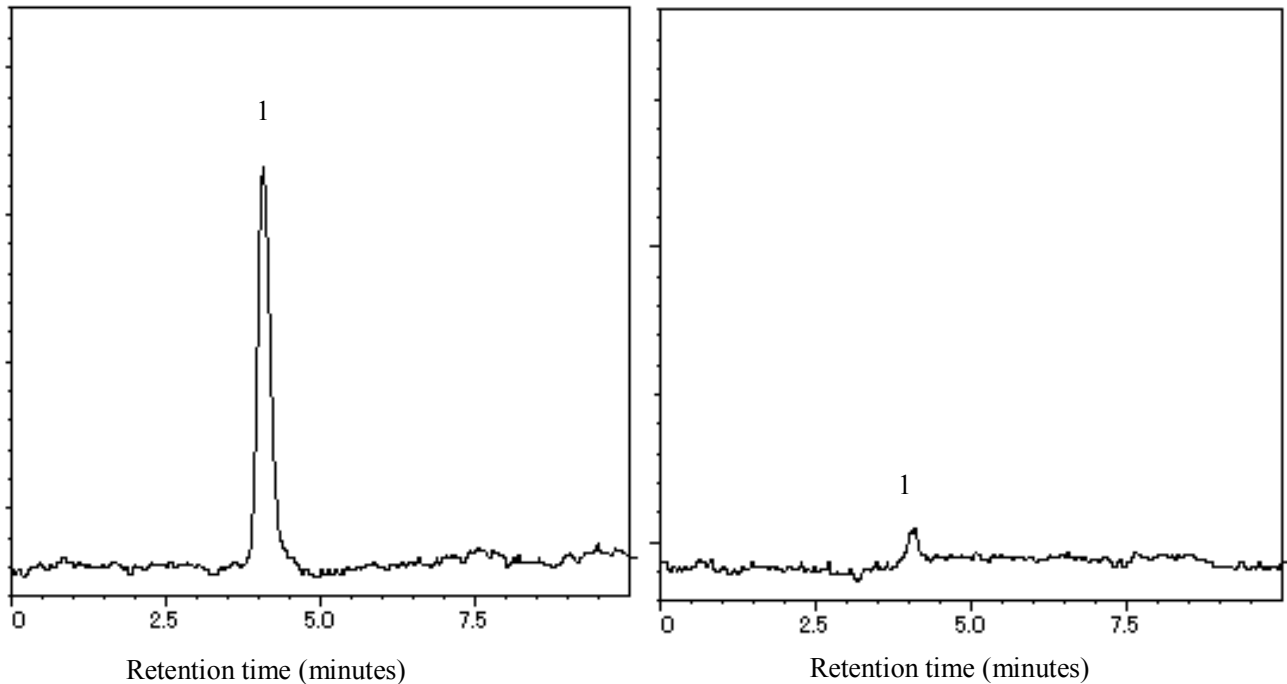


Fig.6 SIM chromatogram of ammonium sulfate

Fig.7 SIM chromatogram of byproduct nitrogen fertilizer

Peak1 (content): Sulfamic acid (0.1 % mass fraction)

Peak1(content): Sulfamic acid (0.005 % mass fraction)

Table 4 Result of recovery test

Sample	Sulfamic acid			Criteria of the trueness (%)
	Content (%) ^{a)}	Recovery rate ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	
Ammonium sulfate	0.005	102.6	2.0	70 ~ 120
	0.025	99.3	1.1	80 ~ 115
	0.1	98.7	1.6	85 ~ 110
Byproduct nitrogen fertilizer	0.005	111.2	4.8	70 ~ 120
	0.025	107.0	0.7	80 ~ 115
	0.1	104.2	0.7	85 ~ 110
Byproduct mixed fertilizer	0.005	100.1	2.8	70 ~ 120
	0.025	99.1	3.8	80 ~ 115
	0.1	99.2	1.4	85 ~ 110
Compound fertilizer	0.005	96.4	2.9	70 ~ 120
	0.025	95.2	2.5	80 ~ 115
	0.1	99.3	0.8	85 ~ 110
Fluid mixed fertilizer	0.005	99.6	3.6	70 ~ 120
	0.025	101.8	1.4	80 ~ 115
	0.1	97.6	1.5	85 ~ 110

a) Mass fraction

b) Average recovery rate ($n=3$)

c) Relative standard deviation

6) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため、硫酸アンモニア、副産窒素肥料及び化成肥料にスルファミン酸としてそれぞれ質量分率 0.1 %、0.07 %及び 0.005 %となるように調製した試料について、2点併行で日を変えて5回試験を実施して得られた結果を Table 5 に示した。また、この結果から一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 6 に示した。硫酸アンモニアは平均値が質量分率 0.097 %、併行相対標準偏差が 1.1 %、中間相対標準偏差が 2.7 %であった。副産窒素肥料は平均値が質量分率 0.066 %、併行相対標準偏差が 2.1 %、中間相対標準偏差 2.6 %であった。また、化成肥料は平均値が質量分率 0.0051 %、併行相対標準偏差が 2.4 %、中間相対標準偏差は 5.8 %であった。

これらの濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法⁵⁾に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安内であったことから、肥料中のスルファミン酸の測定値を得るのに十分な精度を有していることが確認された。

Table 5 Result of repeated test on 5 different days (% Mass fraction)

Test day	Ammonium sulfate		Byproduct nitrogen fertilizer		Compound fertilizer	
1	0.098	0.099	0.068	0.067	0.0048	0.0050
2	0.093	0.095	0.064	0.065	0.0053	0.0050
3	0.096	0.096	0.066	0.068	0.0053	0.0054
4	0.101	0.099	0.064	0.066	0.0053	0.0054
5	0.098	0.098	0.063	0.065	0.0047	0.0047

Table 6 Statistical analysis result of repeated test on 5 different days

Sample	Total Mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate percision		
		s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
Ammonium sulfate	0.097	0.0011	1.1	4	0.0027	2.7	6.5
Byproduct nitrogen fertilizer	0.066	0.0014	2.1	4	0.0017	2.6	6.5
Compound fertilizer	0.0051	0.00012	2.4	6	0.00029	5.8	9

a) $n=10$ (5 test days \times 2 replicate measurement)

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation)

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate percision (intermediate relative standard deviation)

7) 定量下限等の確認

スルファミン酸として質量分率 0.005 % 相当量を含有する副産窒素肥料を調製し、7 点併行でスルファミン酸の試験を実施した結果を Table 7 に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ を用いて算出したところ、定量下限は質量分率 0.002 % 及び検出下限は質量分率 0.0007 % 程度と推定された。なお、肥料等試験法⁵⁾に示されているこの濃度における回収率の目標は 70 %~120 % であり、調製した試料の回収率 106 % は許容範囲内であった。

スルファミン酸の最小含有許容量は、家庭園芸用複合肥料を除いて質量分率 0.025 % であり、推定した定量下限値(質量分率 0.002 %)はこの含有許容量(質量分率 0.025 %)の 1/5 以下であった。このことから本法は、公定規格における規格適合性の評価をし得るのに十分な定量下限を有していることが確認された。ただし、一部の家庭園芸用複合肥料は推定定量下限を下回る基準値となるため、さらなる低濃度での測定についての検討も必要と考えられた。

Table 7 Lower limit of quantitation (LOQ) and Lower limit of detection (LOD) of this method

Sample	Content (%) ^{f)}	Mean ^{a)} (%) ^{f)}	Recovery rate ^{b)} (%)	s_r ^{c)} (%) ^{f)}	LOQ ^{d)} (%) ^{f)}	LOD ^{e)} (%) ^{f)}
Byproduct nitrogen fertilizer	0.005	0.0053	106	0.00019	0.0019	0.0007

a) $n=7$

b) $(\text{Mean} / \text{Content}) \times 100$

c) Standard deviation

d) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

e) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1, 0.05)$)

f) Mass fraction

8) 低濃度の家庭園芸用複合肥料における定量下限等の確認

本法における、推定定量下限を下回る基準値をとるような家庭園芸用複合肥料は、主成分の合計量の含有率が1%未満となる夾雑物質の少ない液状の肥料であることが多い。そこで、本法から抽出液の希釈操作を省略した方法の検出下限及び定量下限を確認し、家庭園芸用複合肥料の最小含有許容量である質量分率0.001%のスルファミン酸を含有する試料において測定が可能か検討した。

主成分の合計量の含有率が0.4%(含有許容量が質量分率0.002%)の家庭園芸用複合肥料にスルファミン酸として質量分率0.001%相当量を含有するよう調製し、本法から抽出液の希釈を省略した方法を用いて7点併行でスルファミン酸の試験を実施した結果をTable 8に示した。その結果、定量下限は質量分率0.0002%及び検出下限は質量分率0.00007%程度と推定された。なお、肥料等試験法⁵⁾に示されているこの濃度における回収率の目標は70%~120%であり、調製した試料の回収率97%は許容範囲内であった。

推定した定量下限値(質量分率0.0002%)は家庭園芸用複合肥料の最小含有許容量である質量分率0.001%の1/5以下であった。このことから、含有許容量が質量分率0.002%未満となる家庭園芸用複合肥料の場合、希釈操作を省略した方法は公定規格における規格適合性の評価をし得るのに十分な定量下限を有していることが確認された。

Table 8 *LOQ* and *LOD* which was calculated using the low density sample^{a)}

Sample	Content (%) ^{g)}	Mean ^{b)} (%) ^{g)}	Recovery rate ^{c)} (%)	s_r ^{d)} (%) ^{g)}	<i>LOQ</i> ^{e)} (%) ^{g)}	<i>LOD</i> ^{f)} (%) ^{g)}
Home gardenuse mixed fertilizer	0.001	0.00097	97	0.000018	0.00018	0.00007

a) It omits the dilution operation of extract

b) $n=7$

c) $(\text{Mean} / \text{Content}) \times 100$

d) Standard deviation

e) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

f) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1, 0.05)$)

g) Mass fraction

4. まとめ

LC-MS法を用いて肥料中のスルファミン酸の分析について検討を行ったところ、次のような結果が得られた。

(1) 架橋型ジオールを化学結合したシリカゲルカラムに移動相としてギ酸アンモニウム緩衝液-アセトニトリル(1+9)を用いて夾雑成分より分離し、エレクトロスプレーイオン化法によりイオン化したスルファミン酸を m/z 95.9で測定することにより、ピーク形状及び分離度を満足するピークが得られた。

(2) 硫酸アンモニア、副産窒素肥料、副産複合肥料、化成肥料、液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料の6種類の肥料の分析において、測定を直接妨害する夾雑ピークの検出やベースラインの変動は認められなかった。

(3) 5種類の肥料に副産複合肥料の最小含有許容量である質量分率0.025%の1/5~4倍相当量のスルファミン酸を添加した試料を用いて回収試験を行った結果、質量分率0.005%~0.1%の濃度レベルで平均回収率

は 95.2%~111.2%であり、その相対標準偏差は 0.7%~4.8%であった。

(4) 硫酸アンモニア、副産窒素肥料及び化成肥料について、スルファミン酸を 2 点併行で日を変えて 5 回試験を実施したところ、それぞれの試料の平均値は質量分率 0.097%、0.066%及び 0.0051%で、併行相対標準偏差は 1.1%、2.1%及び 2.4%、中間相対標準偏差は 2.7%、2.6%及び 5.8%であった。

(5) 低濃度試料を用いた定量下限の確認の結果、定量下限は質量分率 0.002%程度と推定された。また、推定定量下限以下の含有許容量をとる家庭園芸用複合肥料を想定し、本法から希釈操作を省略した方法の定量下限を確認した結果、定量下限は質量分率 0.0002%程度と推定された。

以上のとおり本法は、肥料中のスルファミン酸を測定するに十分な性能を有していた。

文 献

- 1) 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, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 27 年 1 月 9 日, 農林水産省告示第 52 号(2015)
- 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) 廣井利明, 白井裕治: イオンクロマトグラフ法による硫酸アンモニア中の硫青酸化物及びスルファミン酸同時測定, 肥料研究報告, **5**, 1~23 (2012)
- 4) 藤田真理子, 白井裕治: イオンクロマトグラフ法による肥料中のスルファミン酸測定, 平成 24 年度肥料等技術検討会資料
- 5) (株)島津製作所:アプリケーションニュース No.C105 LC/MS を用いた肥料中スルファミン酸の分析
<<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnnavi/n/search/a-lcms.htm>>
- 6) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2015.pdf>

Determination of Sulfamic Acid in Fertilizer by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC-MS)

Kohei ITO¹, Mariko FUJITA², Yoshimi HASHIMOTO¹ and Yuji SHIRAI¹

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

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

Titrimetric determination is used for determination of sulfamic acid in fertilizer. However, the method is difficult to measure because of using external indicator and is unable to use some type of fertilizer such as contained much organic material. Then we have developed Liquid chromatography/mass spectrometry (LC-MS) method. Sample extracted with water was centrifuged or filtered, and it was analyzed by LC-MS. Separation was carried out on a silicagel column bound chemically to cross-linked diol using mixed solution of ammonium formate buffer and acetonitrile in the ratio of 1:9 as mobile phase. Sulfamic acid was ionized by electrospray ionization method, and it was detected by selected ion monitoring (SIM) mode.

As a result of 3 replicate analysis of 5 fertilizer samples prepared to contain 0.005 %, 0.025 % and 0.1 % mass fraction of sulfamic acid, the mean recovery rates were ranged from 95.2 % to 111.2 %. As a result of repeated test of 3 fertilizer samples on 5 different days, mean values were 0.0051 %, 0.066 % and 0.097 % mass fraction, repeatability relative standard deviation (RSD_r) were 2.4 %, 2.1 % and 1.1 %, intermediate relative standard deviation ($RSD_{I(T)}$) were 5.8 %, 2.6 % and 2.7 %, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of fertilizer samples added sulfamic acid, the lower limit of quantitation (LOQ) was estimated to approximately 0.002 %. These results satisfy the criteria shown in Testing Methods for Fertilizers. In conclusion, this method is available for determination of sulfamic acid in fertilizer.

Key words Sulfamic acid, Fertilizer, LC-MS

(Research Report of Fertilizer, **8**, 38~49, 2015)

6 イオンクロマトグラフ(IC)法による肥料中の塩素の測定

坂井田里子¹, 藤田真理子², 白井裕治¹

キーワード 塩素, 硫酸加里, 魚かす, 堆肥, イオンクロマトグラフ法

1. はじめに

塩素は植物の生長の上で微量元素として必須であるが, 必要な量は微量であり, 土壌等に含まれている量で十分な場合が多く, タバコ等の作物では塩素が少ない条件が好ましい¹⁾. このため, 普通肥料の公定規格において, 加里質肥料のうち生産工程から塩素が含まれる可能性のある硫酸加里, 硫酸加里苦土, 重炭酸加里について, その他の制限事項として塩素は 5.0 %以下であることが定められている²⁾. また, 家畜ふん堆肥は「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 102 号)の施行以降, 堆肥の野積みが禁止され雨水による塩類の流亡が抑えられたことや, 戻し堆肥の増加などにより塩類濃度が増加し, 特に施設園芸において施用が避けられる傾向にある.

塩素の測定法として, 硝酸銀法が肥料分析法に採用されており³⁾, この測定法は特殊な装置を必要とせずに試料中の塩素量を測定できる. しかしながら, この測定法において使用されるクロム酸カリウム及び硝酸銀は毒物及び劇物取締法において劇物に指定されている⁴⁾. また, 滴定操作において終点の判定による試験者間のばらつきがあるといった問題がある.

一方, イオンクロマトグラフ法は塩化物イオンなどの無機陰イオンを簡便に分離, 定量できる方法であり, すでに肥料分析法に陰イオン測定法の参考法として掲載されているほか³⁾, 日本工業規格(JIS)や上水試験方法, 下水試験方法などにおいて測定法として採用されている. また, イオンクロマトグラフ法にはサプレッサー法とノンサプレッサー法がある. 陰イオンを測定する場合, 前者はバックグラウンドの要因である陽イオンをサプレッサーで除去して低濃度の陰イオンまで測定する方法である. 後者は, 前者に比べて定量下限に劣るが, 電気伝導度検出器を連結した高速液体クロマトグラフを用いることができるため汎用性がある.

今回, 電気伝導度検出器を連結したイオンクロマトグラフを用いて, サプレッサー法及びノンサプレッサー法について, 肥料中の塩素を塩化物イオンとして迅速かつ精確に定量することを目的に単一試験室における妥当性の確認等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

硫酸加里, 硫酸加里苦土, 重炭酸加里, 牛ふん堆肥, 魚かす粉末, 豚ふん堆肥, 鶏ふん堆肥, 馬ふん堆肥, 食品残渣堆肥及び建築廃材堆肥について, 必要に応じ定温乾燥器により 40 °Cで 60~70 時間乾燥し, 目開き 500 μm のスクリーンを通過するまで粉碎して分析用試料とした. 分析用試料は使用時までポリエチレン袋に密封して常温保管した.

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 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 (現)福岡センター

2) 試薬等の調製

- (1) 水：水道水を日本ミリポア Elix Advantage5 及び Milli-Q Academic A-10 により精製したもの。
- (2) 1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液：イオンクロマトグラフィー用試薬。
- (3) 塩化ナトリウム：容量分析用標準物質。
- (4) 塩化物イオン標準液(1000 mg/L)：和光純薬工業 JCSS。
- (5) 塩化物イオン標準液(100 mg/L)：標準液(1000 mg/L)の一定量を全量フラスコにとり、混合後、標線まで水を加えた。
- (6) 塩化物イオン検量線用標準液(5 mg/L～50 mg/L)：(5)の標準液(100 mg/L) 5 mL～50 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加えた。
- (7) 塩化物イオン検量線用標準液(1 mg/L～2 mg/L)：(6)の標準液(20 mg/L)の 5 mL～10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加えた。
- (8) その他の試薬は、特級又は同等の品質の試薬を用いた。

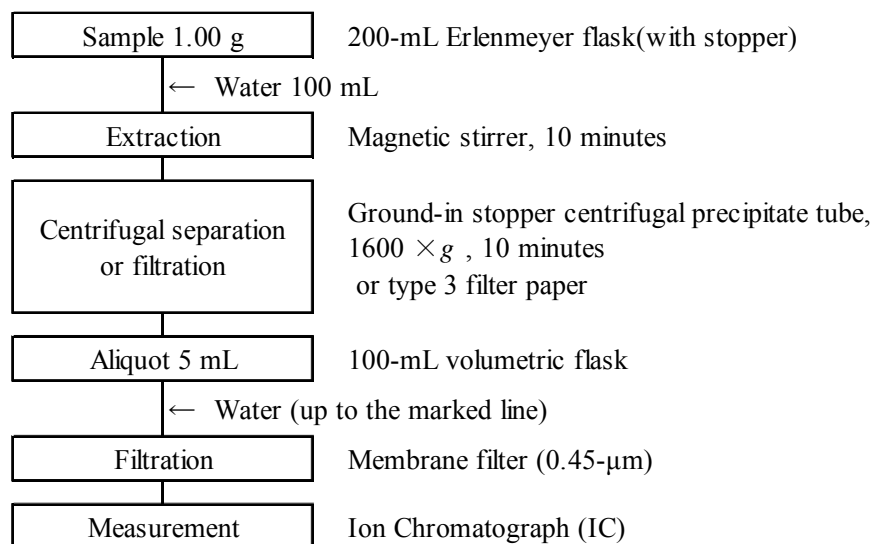
3) 器具及び装置

- (1) マグネチックスターラー：ADVANTEC SRS261PA
- (2) 遠心分離機：コクサン H-26F
- (3) イオンクロマトグラフ：メトローム 850 Professional IC ケミカルサプレッサー方式
- (4) サプレッサー法用カラム：Shodex IC SI-52 4E(内径 4.0 mm, 長さ 250 mm, 粒径 5 μm , 充填剤 第4級アンモニウム基を結合したポリビニルアルコール系多孔質粒子)
- (5) ノンサプレッサー法用カラム：Shodex IC NI-424(内径 4.6 mm, 長さ 100 mm, 充填剤 第4級アンモニウム基を結合した親水性ポリメタクリレート系ゲル)
- (6) メンブレンフィルター：ADVANTEC DISMIC-13HP(孔径 0.45 μm)

4) 試験操作

(1) 試料溶液の調製

分析試料 1.00 g を共栓三角フラスコ 200 mL にはかりとり、水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜた後、ろ紙 3 種でろ過を行うか、もしくは共栓遠心沈殿管 50 mL に内容量を移し、1600×g で 10 分間遠心分離し、上澄み液を抽出液とした。抽出液 5 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加え、メンブレンフィルター(孔径 0.45 μm)でろ過し、試料溶液とした(Scheme 1)。



Scheme 1 Flow sheet for chlorine in fertilizers

(2) 測定

各検量線用標準液 20 μ L をイオンクロマトグラフに注入し、得られたピーク面積から検量線を作成した。試料溶液 20 μ L をイオンクロマトグラフに注入し、ピーク面積から検量線により試料溶液中の塩化物イオン濃度を求め、分析試料中の濃度を算出した。

なお、イオンクロマトグラフの測定条件は Table 1-1 及び Table 1-2 に示した。

Table 1-1 Analytical conditions for suppressed ion chromatography

Detection	Suppressed conductivity
Suppressor	Chemical suppressor (Column type)
Column	Shodex IC SI-52 4E (4.0 mmI.D., 250 mmL, 5 μ m particle size, polyvinyl alcohol gel bonded quaternary ammonium group)
Mobile phase	6.4 mmol/L sodium carbonate aq.
Flow rate	0.8 mL/min
Injection volume	20 μ L
Column temp.	40 $^{\circ}$ C

Table 1-2 Analytical conditions for non-suppressed ion chromatography

Detection	Non-suppressed conductivity
Column	Shodex IC NI-242 (4.6 mmI.D., 250 mmL, 5 μ m particle size, polyhydroxymethacrylate gel bonded quaternary ammonium group)
Mobile phase	2.1 mmol/L phthalic acid + 2.9 mmol/L 6-aminohexane + 6 mmol/L Phenylboronic acid aq.
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 μ L
Column temp.	40 $^{\circ}$ C

3. 結果及び考察

1) イオンクロマトグラフ条件の検討

Shodex のカラムのテクニカルレポート^{5, 6)}を参考に測定条件を設定し、測定したところ塩化物イオンのピーク形状及び分離度は満足するものであった (Fig. 1-1, Fig. 1-2). サプレッサー法では当初測定時間が 35 分かかっていたため、1 試料液あたりの測定時間の短縮を目的として、溶離液の濃度を 3.6 mmol/L から 6.4 mmol/L に変更し溶離液の溶出力を高め、カラム温度を 45 °C から 40 °C とすることにより⁷⁾、ノンサプレッサー法と同様に測定時間を 20 分に短縮することができた。

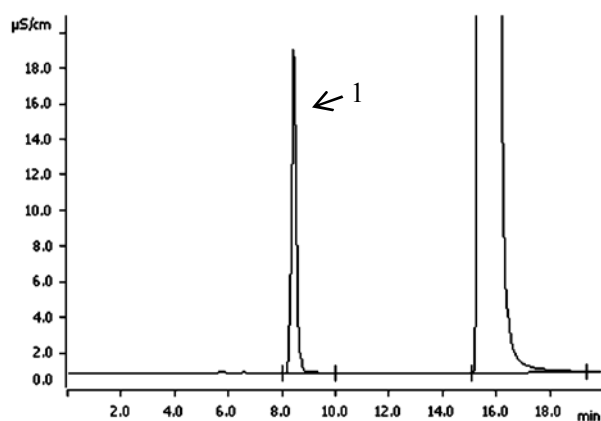


Fig. 1-1 IC chromatogram of potassium magnesium sulphate (Suppressed ion chromatography)
(Peak: 1=Chloride ion)

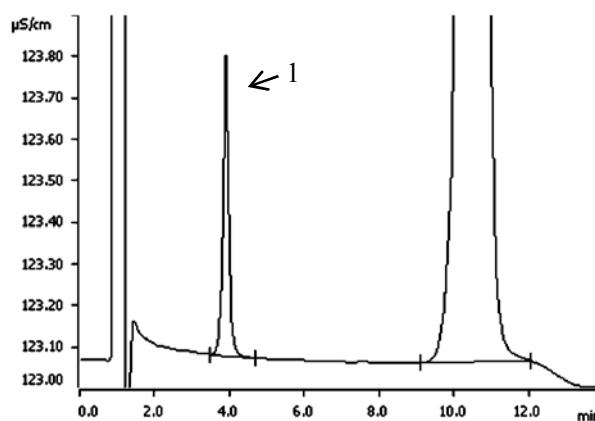


Fig. 1-2 IC chromatogram of potassium magnesium sulphate (Non-suppressed ion chromatography)
(Peak: 1=Chloride ion)

2) 検量線の検討

1 mg/L ~ 50 mg/L 相当量の塩化物イオン検量線用標準液を調製し、上記 2. 4) (2) の条件で測定して得られた面積を用いて検量線を作成した。両測定方法ともに 1 mg/L ~ 50 mg/L 相当量の範囲で高い決定係数が得られた (Fig. 2-1, Fig. 2-2)。なお、サプレッサー法において炭酸溶離液を用いたときに陰イオンでは検量線が二次曲線になることが知られている⁸⁾が、Fig. 2-1 の検量線を二次曲線で求めた場合、20 mg/L 相当量におけるピーク面積を直線と二次曲線の検量線で算出した場合の濃度の差が試料濃度換算で 0.094 % (質量分率) と定量下限値相当であり、検量線を直線で評価しても測定結果に影響を及ぼさないことから、サプレッサー法の検量線においても直線で算出することにした。

サプレッサー法はカラム通過後サプレッサーが陽イオンと水素イオンを置換することにより、溶離液である炭酸ナトリウムを解離の少ない炭酸に変えるほか、試料の対イオンも電気伝導度の高い水素イオンに置換するため、ノンサプレッサー法と比較し感度が高いことが知られている⁹⁾。本法においてもサプレッサー法はノンサプレッサー法に比べ検量線の傾きが 7.3 倍高い結果となった。

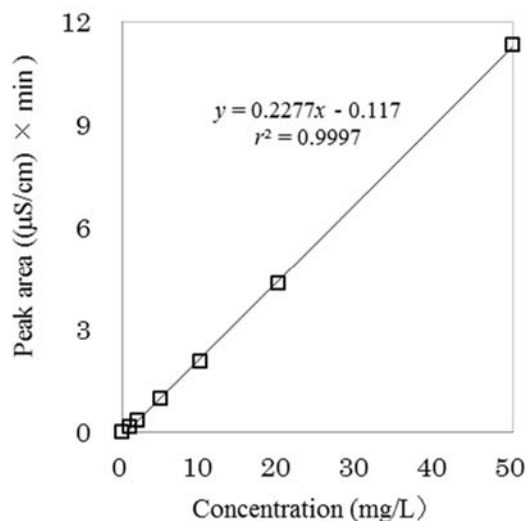


Fig.2-1 Calibration curves of chloride ion
(Suppressor method)

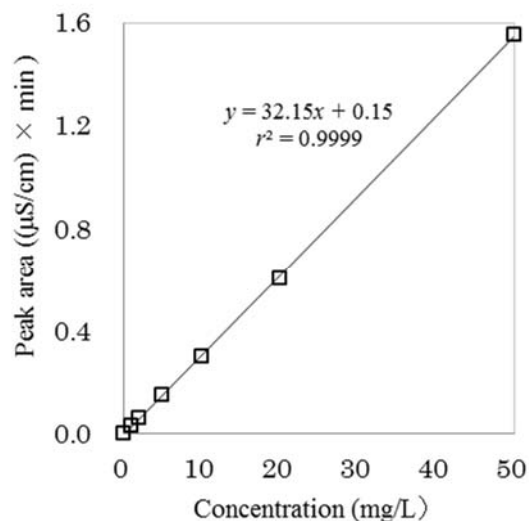


Fig.2-2 Calibration curves of chloride ion
(Non-suppressor method)

3) 前処理条件の検討

(1) 灰化の検討

牛ふん堆肥及び魚かす粉末については有機物が多量に含まれることから、分析試料を灰化することを検討することとした。分析試料 1 g を 250 °C で 1 時間以上加熱して炭化し、更に 450 °C で 8 時間以上強熱して灰化し、以下本法に従って塩化物イオンを分析した。灰化処理を実施した分析値と無処理の測定値を Table 2 に示した。その結果、灰化処理を実施した測定値は灰化処理を実施していない測定値に比べ低くなる傾向を示した。そのため、牛ふん堆肥及び魚かす粉末においても灰化させず、そのまま抽出して測定することとした。

Table 2 Influence of incineration in the pretreatment of cattle manure compost

	Chloride ion in the sample (%) ^{b)}		Incineration/Non-incineration (%)
	Incineration ^{a)}	Non-incineration	
Cattle manure compost 1	0.49	0.90	54.4
Cattle manure compost 2	1.45	1.63	89.3

a) After sample 1.00 g was incinerated by heating at 250 °C for not less than an hour and at 450 °C for not less than 8 hours, the ash was prepared in following to scheme 1.

b) Mass fraction

(2) 試料抽出に使用する水量の検討

有機物を多く含む牛ふん堆肥及び魚かす粉末について、抽出に使用する水の量を変えた場合、抽出に影響を及ぼすか検討した。その結果 (Table 3), 抽出水量 70 mL ~ 200 mL では影響を及ぼさなかったことから、抽出水量 100 mL で行うこととした。

Table 3 Influence of water volume as extraction solvent on extraction of chloride ion

Water volume (mL)	Chloride ion in the sample (%) ^{a)}	
	Cattle manure compost	Fish meal
70	1.50	1.40
150	1.49	1.45
200	1.49	1.39

a) Mass fraction

4) 希釈倍率の検討

イオンクロマトグラフ法においては、試料中の硫酸イオンなどのマトリックスが高濃度に存在すると測定対象イオンの溶出バンドの収束性が低下する「ミクログラジエント溶出作用」という特殊な分離条件をカラム内で作り出すことが知られている¹⁰⁾。また、硫酸イオンが測定用試料溶液中に高濃度に存在すると、ベースラインが不安定となる場合もある。そこで、マトリックスの影響を確認するため、上記 2. 4) 試験操作 (1) における抽出液の希釈倍率について検討した。希釈倍率を 5 倍、10 倍、20 倍、40 倍、50 倍、100 倍と変え、希釈後の濃度がそれぞれ 10 mg/L となるように塩化物イオン標準液を添加した硫酸加里の試料溶液を測定し、回収率を比較した結果を Table 4 に示した。

その結果、5～100 倍のいずれの希釈倍率においても、塩化物イオンの添加回収率は良好であった。また、いずれの希釈倍率においても塩化物イオンの保持時間周辺においてベースラインは安定していた。肥料の公定規格において硫酸加里、硫酸加里苦土、重炭酸加里は、塩素は 5 %以下と制限しているのに対し、検量線用混合標準液の濃度 1 mg/L～50 mg/L において、希釈倍率 20 倍のとき、肥料中塩素濃度は 0.2 % (質量分率)～10 % (質量分率)まで測定することが可能である。このため希釈倍率は 20 倍とし、検量線を越える可能性がある場合はそれ以上の倍率で希釈することとした。

Table 4 Effect of dilution rate on recovery of chloride ion

Dilution rate	Content ^{a)}	Mean
	(mg/L)	recovery ^{b)}
		(%)
5	10	99.5
10	10	99.5
20	10	101.4
40	10	100.7
50	10	101.3
100	10	100.4

a) Concentrations in measuring solution after dilution

b) $n=3$

5) マトリックスの確認

硫酸加里 (4 点)、硫酸加里苦土 (4 点)、重炭酸加里 (4 点)、牛ふん堆肥及び魚かす粉末 (4 点)、豚ふん堆肥 (2 点)、鶏ふん堆肥 (1 点)、馬ふん堆肥 (1 点)、食品残渣堆肥 (1 点) 及び建築廃材堆肥 (1 点) を測定したと

ころ、サプレッサー法及びノンサプレッサー法ともに定量を妨害する夾雑ピークは認められなかった。

6) 添加回収試験による真度の評価

硫酸加里, 硫酸加里苦土, 重炭酸加里, 牛ふん堆肥及び魚かす粉末を 3 点併行で添加回収試験を実施した結果を Table 5 に示した. 硫酸加里, 重炭酸加里については塩化物イオンとして 10 % (質量分率), 5 % (質量分率) 及び 2 % (質量分率) 相当量の塩化ナトリウムを添加し, 硫酸加里苦土, 牛ふん堆肥, 魚かす粉末については, 用いた分析用試料中にある程度塩素を含有することから, 硫酸加里苦土については塩化物イオンとして 10 % (質量分率), 5 % (質量分率) 及び 2 % (質量分率) となるように, 牛ふん堆肥は塩化物イオンとして 33.4 % (質量分率), 13.4 % (質量分率) 及び 6.7 % (質量分率) となるように, 魚かす粉末については塩化物イオンとして 9.1 % (質量分率), 3.0 % (質量分率) 及び 1.8 % (質量分率) となるように塩化ナトリウムを添加し 3 点併行で添加回収試験を実施した. その結果, いずれも肥料等試験法に示されている真度 (回収率) の目標以内であったことから¹¹⁾, 十分な真度を有していることが確認された.

Table 5 Result of recovery test of chloride ion

Sample	Content (%) ^{a)}	Suppressor method		Non-suppressor method		The criteria of the trueness ^{d)} (%)
		Mean recovery ^{b)} (%)	<i>RSD_r</i> ^{c)} (%)	Mean recovery ^{b)} (%)	<i>RSD_r</i> ^{c)} (%)	
Potassium sulphate	10	98.6	0.6	96.9	0.4	90~108
	5	100.0	0.2	99.8	0.4	85~110
	2	99.4	1.1	96.2	0.8	85~110
Potassium magnesium sulphate	10	99.5	0.4	97.4	0.4	90~108
	5	100.6	0.8	95.7	0.5	85~110
	2	98.4	0.7	94.8	1.8	85~110
Potassium bicarbonate	10	101.0	0.5	96.4	0.3	90~108
	5	103.2	0.3	96.6	0.3	85~110
	2	101.7	1.7	101.4	1.9	85~110
Cattle manure compost	33.4	100.8	0.3	100.2	0.5	90~108
	13.4	100.3	0.2	97.2	0.3	90~108
	6.7	101.6	0.7	97.6	0.3	85~110
Fish meal	9.1	98.9	0.4	96.7	0.3	85~110
	3.0	100.6	0.1	100.6	0.9	85~110
	1.8	96.2	0.5	93.3	1.1	85~110

a) Mass fraction

b) $n=3$

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) shown in Testing methods of fertilizers

7) 併行精度及び中間精度の評価

2 点併行で日を変えて 5 回分析を行った結果を基に, 一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 6 に示した. いずれも肥料等試験法に示されている併行精度 (併行相対標準偏差) 及び中間精

度(中間相対標準偏差)の目安以内であったことから¹¹⁾, 十分な精度を有していることが確認された。

Table 6 Evaluation of repeatability and intermediate precision

<Measuring method> Sample	Repeatability				Intermediate precision		
	Mean ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
<Suppressor method>							
Potassium sulphate ⁱ⁾	9.9	0.01	0.1	4	0.03	0.3	6.5
Fish meal ^{j)}	6.1	0.03	0.5	4	0.07	1.1	6.5
<Non-suppressor method>							
Potassium sulphate ^{k)}	4.9	0.01	0.2	4	0.08	1.7	6.5
Potassium magnesium sulphate ^{k)}	4.9	0.02	0.4	4	0.06	1.2	6.5
Potassium bicarbonate ^{k)}	4.9	0.02	0.4	4	0.06	1.3	6.5
Cattle manure compost ^{l)}	13.2	0.04	0.3	4	0.16	1.2	6.5

a) Mean value ($n =$ Sample number of parallel test (2) \times Number of Test days (5))

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation)

shown in Testing Methods for Fertilizers

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation)

shown in Testing Methods for Fertilizers

i) Addition of sodium chloride at 10 % (mass fraction) as chloride ion

j) Addition of sodium chloride at 6.1 % (mass fraction) as chloride ion

k) Addition of sodium chloride at 5 % (mass fraction) as chloride ion

l) Addition of sodium chloride at 13.4 % (mass fraction) as chloride ion

8) 定量下限等の確認

硫酸加里 1 点を用いた塩化物イオンの定量下限確認の試験結果を Table 7 に示した。硫酸加里に塩化ナトリウムを塩化物イオン含有量として 0.5 % (質量分率) となるように添加して 7 点併行試験を実施した。定量下限は (標準偏差) $\times 10$, また検出下限は (標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ として示されるので¹¹⁾, 本法の定量下限及び検出下限は両測定方式ともに 0.1 % (質量分率) 程度及び 0.03 % (質量分率) 程度と推定された。

Table 7 Estimation of the lower limit of quantitation (*LOQ*) of chloride ion

Sample	Measuring method	Content (%) ^{a)}	Mean ^{b)} (%) ^{a)}	<i>s_r</i> ^{c)} (%) ^{a)}	<i>LOQ</i> ^{d)} (%) ^{a)}	<i>LOD</i> ^{e)} (%) ^{a)}
Potassium	Suppressor method	0.5	0.487	0.008	0.08	0.03
sulphate	Non-suppressor method	0.5	0.526	0.006	0.06	0.03

a) Mass fraction

b) Mean value of the parallel test ($n=7$)

c) Repeatability Standard deviation

d) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

e) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$)

4. まとめ

イオンクロマトグラフ法により肥料中の塩素を塩化物イオンとして測定する試験法の検討を行ったところ、次のとおりの結果を得た。

(1) 硫酸加里(4点), 硫酸加里苦土(4点), 重炭酸加里(4点), 牛ふん堆肥及び魚かす粉末(4点), 豚ふん堆肥(2点), 鶏ふん堆肥(1点), 馬ふん堆肥(1点), 食品残渣堆肥(1点)及び建築廃材堆肥(1点)を測定したところ, サプレッサー法, ノンサプレッサー法ともに定量を妨害する夾雑ピークは認められなかった。

(2) 硫酸加里, 硫酸加里苦土, 重炭酸加里, 牛ふん堆肥及び魚かす粉末に塩化物イオンとして 1.8 % (質量分率) ~ 33.4 % (質量分率) となるように塩化ナトリウムを添加し, 3点併行で添加回収試験を実施した。その結果, 平均添加回収率は 93.3 % ~ 103.2 % であり, 肥料等試験法に示されている目標以内であった。

(3) 2点併行で日を変えて5回分析した結果, 併行相対標準偏差は 0.1 % ~ 0.5 % であり, 中間相対標準偏差は 0.3 % ~ 1.7 % といずれも肥料等試験法に示されている目安以内であった。

(4) 本法の定量下限は両測定方法ともに 0.1 % (質量分率) 程度, 検出下限は 0.03 % (質量分率) 程度と推定された。

(5) サプレッサー法及びノンサプレッサー法は感度が異なるがいずれも十分な性能を有していた。

文 献

- 1) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.199, 養賢堂, 東京 (1988)
- 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, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 平成 27 年 1 月 9 日, 農林水産省告示第 52 号 (2015)
- 3) 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)
- 4) 毒物及び劇物取締法: 昭和 25 年 12 月 28 日, 法律第 303 号, 最終改正平成 27 年 6 月 26 日, 法律第 50 号 (2011)
- 5) Shodex: テクニカルレポート SI-52 4E によるハロゲン酸化物の分析
<<http://www.shodex.com/ja/dc/07/05/23.html>>
- 6) Shodex: テクニカルレポート 陰イオン(16)(NI-424 フタル酸溶離液)
<<https://www.shodex.com/ja/dc/07/06/02.html>>
- 7) Shodex: テクニカルレポート 溶出時間の温度依存性(SI-52 4E)

<<http://www.shodex.com/ja/dc/07/05/24.html>>

- 8) 田中一彦:役にたつイオンクロマト分析, p.92~93, 株式会社みみずく舎, 東京 (2009)
- 9) 岡田哲夫ほか:クロマトグラフィーによるイオン性化学種の分離分析~イオンクロマトグラフィーの基礎理論から実践まで~, p.104, 株式会社エヌ・ティー・エス, 東京 (2010)
- 10) 古月文志:イオンクロマトグラフィー~マトリックスイオンによる妨害とその対策~, ぶんせき, No.3, p.153~154 (2004)
- 11) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>

Determination of Chloride in Fertilizers by Ion Chromatography (IC)

Satoko SAKAIDA¹, Mariko FUJITA² and Yuji SHIRAI¹

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

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

(Now) Fukuoka Regional Center

An analytical method for determination of chloride as chloride ion in potassium sulfate, potassium magnesium sulfate, potassium bicarbonate, compost and fish meal by ion chromatography was developed. Chloride ion in fertilizers was extracted with water, and extract was analyzed by suppressed or non-suppressed ion chromatography. As a result of 3 replicate analysis in 5 fertilizer samples (potassium sulfate, potassium magnesium sulfate, potassium bicarbonate, cattle manure compost and fish meal) added sodium chloride at 1.8 % ~33.4 % of chloride ion as a mass fraction, the mean recoveries were 93.3 %~103.2 %. As a result of 5 tests on different days, repeatability as repeatability relative standard deviation (RSD_r) were 0.1 %~0.5 %, intermediate precision as intermediate relative standard deviation ($RSD_{I(T)}$) were 0.3 %~1.7 %. On the basis of 7 replicate measurements of a potassium sulfate with 0.5 % of chloride ion as a mass fraction, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.1 % as a mass fraction. Those results, which had met condition of the criteria shown in Testing Methods for Fertilizers, indicated that the developed method was valid for the determination of chlorine in potassium sulfate, potassium magnesium sulfate, compost and fish meal.

Key words chloride, potassium sulfate, compost, fish meal, ion chromatography

(Research Report of Fertilizer, **8**, 50~60, 2015)

7 原子吸光分析法による肥料中のナトリウムの測定

加藤公栄¹, 千田正樹¹, 藤田敏文¹

キーワード ナトリウム, 有機質肥料, 堆肥, フレーム原子吸光法

1. はじめに

堆肥及び水産加工物中の塩化ナトリウム濃度の測定について要望はあるが, 肥料分析法¹⁾や詳解肥料分析法²⁾にはナトリウムの測定法が掲載されていない. 堆肥等有機物分析法, 下水汚泥等に関する試験法^{3)~6)}では原子吸光法が採用されているが, 前処理方法及び測定方法が若干異なっている. これらの方法を参考に有機質肥料, 汚泥肥料, 堆肥等を用いて肥料中のナトリウムの測定方法を検討し, 更に単一試験室での妥当性確認を行ったので, その結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

収集した有機質肥料, 汚泥肥料, 堆肥等を目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎して分析用試料とした. 分析用試料は直射日光を避けて常温で保管した.

2) 試薬等

(1) 水: 水精製装置 (MILLIPORE MILLI-QDIRECT8) を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した.

(2) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級試薬.

(3) 塩化ナトリウム: ナトリウム標準液の調製には JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質 (マナックより購入) を, 添加回収試験用の添加用には JIS K 8150 に規定する特級試薬を用いた.

(4) ナトリウム標準液 (Na 1 mg/mL): 塩化ナトリウムを 600 $^{\circ}\text{C} \pm 10$ $^{\circ}\text{C}$ で約 60 分間加熱し, デシケーター中で放冷した後, 2.542 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 1000 mL に移し入れ, 標線まで水を加えた.

(5) ナトリウム標準液 (Na 0.1 mg/mL): ナトリウム標準液 (Na 1 mg/mL) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり, 標線まで塩酸 (1+23) を加えた.

(6) 検量線用ナトリウム標準液 (Na 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$): ナトリウム標準液 (Na 1 mg/mL) 2.5 mL ~ 15 mL を全量フラスコ 500 mL に段階的にとり, 標線まで塩酸 (1+23) を加えた.

(7) 検量線用ナトリウム標準液 (Na 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$): ナトリウム標準液 (Na 0.1 mg/mL) 2.5 mL ~ 25 mL を全量フラスコ 500 mL に段階的にとり, 標線まで塩酸 (1+23) を加えた.

(8) 干渉抑制剤 (ストロンチウム) 溶液: JIS K 8132 に規定する塩化ストロンチウム六水和物 100 g をビーカー 2000 mL にはかりとり, 少量の水を加え, 塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし, 更に水を加えて 1000 mL とした.

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

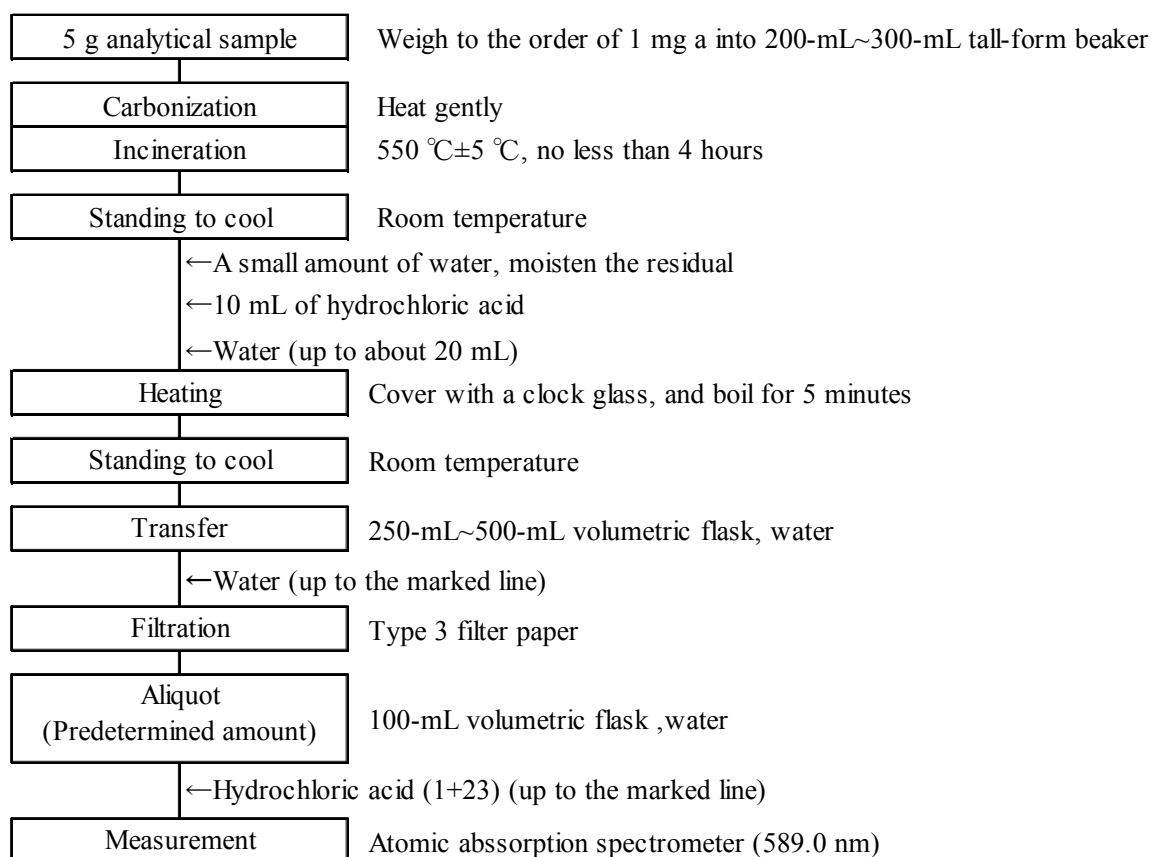
(8) 干渉抑制剤(ランタン)溶液: 原子吸光分析用酸化ランタン 29 g をビーカー200 mL にはかりとり, 少量の水を加え, 塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし, 更に水を加えて 1000 mL とした.

3) 器具及び装置

- (1) 原子吸光分析装置: サーマフィッシャー・サイエンテック iCE 3000SERIES
- (2) 電気炉: アドバンテック FUW242PA
- (3) ホットプレート: AS ONE EC-1200N

4) 試験方法

分析試料 5 g を 1 mg の桁まではかりとり, トールビーカー200 mL~300 mL に入れ, 電気炉に入れ穏やかに加熱して炭化させた後, 550 °C±5 °C で4時間以上強熱して灰化させた. 放冷後, 少量の水で潤し, 塩酸約 10 mL を徐々に加え, 更に水を加えて約 20 mL とし, トールビーカーを時計皿で覆い, ホットプレート上で加熱し, 5分間煮沸した. 放冷後, 水で全量フラスコ 250 mL~500 mL に移し, 更に水を標線まで加え, ろ紙 3 種でろ過し, 試料溶液とした. 試料溶液の一定量を全量フラスコ 100 mL にとり, 標線まで塩酸(1+23)を加え, Table 1 の原子吸光分析装置のフレーム中に噴霧し, 吸光度を読み取った. 同時に, 検量線用標準液をそれぞれ同様の操作を行い, 得られた吸光度から検量線を作成し, 分析試料中のナトリウム量を算出した. なお, 試験方法のフローシートを Scheme 1 に示した.



Scheme 1 Flow sheet of the determination for sodium in fertilizers

Table 1 Analysis conditions of atomic absorption spectrometer

Analytical wavelength (nm)	589.0
Slit width (nm)	0.2
Lamp current (mA)	75
Warming up (%)	75
Atomization equipment	Frame
Kind of frame	Air-acetylene
Angle of frame	90° to the optical axis
Fuel gas pressure (MPa)	ca. 0.084

3. 結果及び考察

1) 測定条件の検討

堆肥等有機物分析法³⁾では干渉抑制剤(ストロンチウム)溶液を, 下水汚泥分析方法⁴⁾では干渉抑制剤(ランタン)溶液を検量線用標準液及び測定用の試料溶液に添加してナトリウムを測定している. 一方, 下水試験方法⁵⁾及び飼料分析法・解説⁶⁾においてはいずれの干渉抑制剤溶液も用いられていない.

よって, 干渉抑制剤の必要性を調査するため, まず, それぞれの干渉抑制剤溶液を 1/10 容量添加した検量線用標準溶液及び干渉抑制剤溶液無添加の検量線用標準溶液(0.5 $\mu\text{g/mL}$ ~30 $\mu\text{g/mL}$)を測定し, 検量線を作成した. なお, それぞれの干渉抑制剤(ストロンチウム及びランタン)溶液の調製は, 肥料分析法¹⁾のカルシウムの試験法に準じた. その結果, Fig.1 のとおり, それぞれの干渉抑制剤(ストロンチウム及びランタン)溶液を添加した検量線用標準溶液の検量線の回帰式は $y=0.0174x+0.0038$ 及び $y=0.0177x+0.0019$ とほぼ一致していたが, 干渉抑制剤溶液無添加の検量線用標準溶液の検量線の回帰式は $y=0.0208x+0.0053$ と傾きが異なっていた.

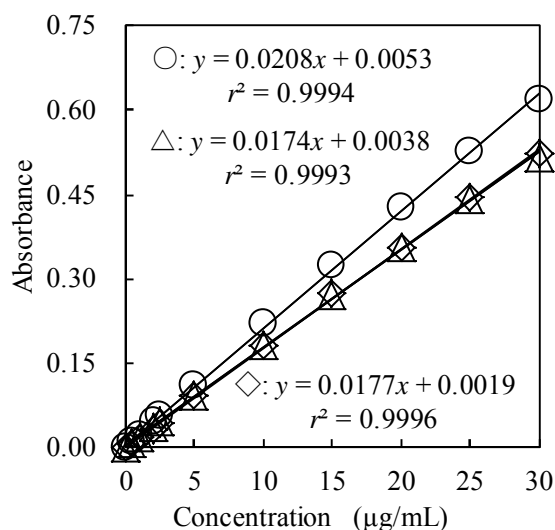


Fig.1 Effect on the calibration curve by the interference inhibitor additive

- Interference inhibitor additive free calibration curve for the standard solution
- △ Interference suppression agent (Strontium) addition calibration curve for standard solution
- ◇ Interference suppression agent (lanthanum) addition calibration curve for standard solution

次に、2.1)で調製した7種類の試料について本法に従って試料溶液を調製し、それぞれの干渉抑制剤溶液を1/10容量を添加した測定用の試料溶液及び干渉抑制剤溶液無添加の試料溶液を測定してそれぞれの検量線を用いて分析試料中のナトリウム量を算出した結果をTable 2に示した。その結果、ナトリウムの測定値が質量分率0.20%~6.87%の範囲で、それぞれの干渉抑制剤溶液を添加した測定値B又は測定値Cと干渉抑制剤溶液無添加の測定値Aとの差は干魚肥料粉末の測定値Bを除いて質量分率-0.01%~0.06%であり、それぞれの測定値はほぼ一致していた。また、干魚肥料粉末の測定値Bと測定値Aの差は質量分率0.13%であったが、測定値Aに対する測定値Bの割合(B/A×100)は102%であり、双方の測定値とはほぼ一致していた。いずれの干渉抑制剤溶液の効果が認められないこと、加えて干渉抑制剤溶液無添加の検量線用標準溶液の検量線の決定係数(r^2)が0.9996と直線性を示していることから、今後の検討には干渉抑制剤溶液を添加しないこととした。

Table 2 Results of sodium to the measured value in the sample solution

Sample name	added the interference inhibitor solution			(% (Mass fraction))	
	A ^{a)}	B ^{b)}	B-A	C ^{c)}	C-A
Fish meal	0.84	0.87	0.03	0.89	0.05
Dried fish meal	6.74	6.87	0.13	6.77	0.03
Compost	0.80	0.80	0.00	0.82	0.02
Animal excrement	0.35	0.36	0.01	0.36	0.01
Industrial sludge fertilizer	0.62	0.66	0.04	0.66	0.04
Calcined sludge fertilizer	0.56	0.62	0.06	0.62	0.06
Composted sludge fertilizer	0.21	0.21	0.00	0.20	-0.01

a) Sample solution not added interference suppressor solution

b) Sample solution added interference suppression agent (Strontium) solution

c) Sample solution added interference suppression agent (Lanthanum) solution

2) 灰化に使用する容器の検討

分析試料の前処理方法として灰化する場合、容器からのナトリウムの溶出を懸念することから白金皿が用いられている^{4~6)}。肥料等試験法⁸⁾において加熱操作を伴う場合にはJIS R 3503⁷⁾に規定するほうけい酸ガラス-1を用いることが規定されており、そのほうけい酸ガラス-1はアルカリ溶出率が31 µg/g以下と規定されている。また、肥料中の測定レベルが質量分率0.1%から数%程度の濃度であることから、灰化操作に使用する容器に、ほうけい酸ガラスのトールビーカーを使用することによるナトリウムの測定値への影響を調査することとした。

2.1)で調製した7種類の分析試料をそれぞれ白金皿に採取し、同様の条件で強熱し、放冷後、灰化物をトールビーカーに移しかえて以下本法に従って測定した結果と本法に従って測定した結果をTable 3に示した。その結果、ナトリウムの測定値が質量分率0.21%~6.74%の範囲で、トールビーカーを用いて灰化した測定値Bと白金皿を用いて灰化した測定値Aとの差は質量分率0.00%~0.03%であり、それぞれの測定値はほぼ一致していた。このことから、分析用試料として肥料を対象とする場合は灰化操作にもほうけい酸ガラスのトールビーカーを用い、移しかえる操作を略して迅速化することができた。

Table 3 Results on the measured value of sodium by the container to be used for the Incineration
(%(Mass fraction))

Sample name	Platinum dish (A)	Tall-form beaker (B)	B-A
Fish meal	0.83	0.84	0.01
Dried fish meal	6.72	6.74	0.02
Compost	0.77	0.80	0.03
Animal excrement	0.33	0.35	0.02
Industrial sludge fertilizer	0.62	0.62	0.00
Calcined sludge fertilizer	0.56	0.56	0.00
Composted sludge fertilizer	0.21	0.21	0.00

3) 添加回収試験による真度の評価

魚かす粉末, 魚廃物加工肥料, なたね油かす及びその粉末, 汚泥発酵肥料及び堆肥を用いて 3 点併行で添加回収試験を実施した結果を Table 4 に示した. その結果, ナトリウムの添加濃度が質量分率 1 %~10 %の範囲で平均回収率は 97 %~103 %であり, その相対標準偏差は 0 %~0.8 %であった. いずれの回収率も肥料等試験法¹⁾の妥当性確認の手順に示している各濃度のレベルにおける真度(回収率)の目標以内であることから, 本法の真度は肥料等試験法⁸⁾の性能評価規準の要求事項に適合していることを確認した.

4) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため, 魚かす粉末および堆肥について, ナトリウムを 2 点併行で日を変えて 5 回試験を実施して得られた結果を Table 5 に示した. なお, 魚かす粉末にはナトリウムとして 9 %相当量となるよう塩化ナトリウムを添加した. この結果から一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 6 に示した. 魚かす粉末及び堆肥のナトリウムの平均値は質量分率 9.08 %及び 0.097 %で, 併行相対標準偏差は 0.6 %及び 2.0 %で, 中間相対標準偏差は 1.0 %及び 3.8 %であった. いずれの併行相対標準偏差及び中間相対標準偏差も肥料等試験法の妥当性確認の手順に示している各濃度のレベルにおける精度(併行相対標準偏差及び中間相対標準偏差)の目安以内であることから, 本法の精度は肥料等試験法⁸⁾の性能評価規準の要求事項に適合していることを確認した.

Table 4 Results of recovery test

Sample name	Addition concentration (%) ^{a)}	Recovery rate ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	Criteria for recovery rate ^{d)} (%)
Fish meal	10	101	0.2	97~103
	5	101	0.4	96~104
	1	97	0.4	96~104
Processed fish scrap	10	101	0.2	97~103
	5	102	0.2	96~104
	1	98	0.2	96~104
Rapeseed meal and its powder	10	101	0.3	97~103
	5	102	0.4	96~104
	1	100	0.4	96~104
Composted sludge fertilizer	10	100	0.6	97~103
	5	101	0.6	96~104
	1	98	0.8	96~104
Compost	10	102	0.0	97~103
	5	103	0.5	96~104
	1	103	0.4	96~104

a) Mass fraction

b) The average recovery rate of parallel test ($n=3$)

c) Relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery rate) Testing Methods for Fertilizers is to request

Table 5 Intermediate precision of confirmatory test results by the day

(% (Mass fraction))

Test day	Fish meal ^{a)}		Compost	
1	9.08	9.16	0.099	0.098
2	9.00	9.10	0.094	0.097
3	8.89	9.02	0.94	0.093
4	9.11	9.11	0.099	0.094
5	9.16	9.15	0.103	0.102

a) Addition for sodium chloride designed to contain the mass fraction of 9 % substantial amount as sodium

Table 6 Results of statistical analysis for the intermediate precision in the confirmation test results

Sample name	Mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate Precision		
		s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
Fish meal ⁱ⁾	9.08	0.06	0.6	2	0.09	1.0	3.5
Compost	0.097	0.002	2.0	4	0.004	3.8	6.5

a) Total mean (Test dates (5) × 2 Samples replicate analysis)

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation) of Testing Methods for Fertilizer requires

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria for intermediate precision (Intermediate relative standard deviation) of Testing Methods for Fertilizer requires

i) Addition for sodium chloride designed to contain the mass fraction of 9 % substantial amount as sodium

5) 定量下限等の確認

本法の定量下限を確認するため、堆肥を用いてナトリウムを7点併行で試験を実施した結果を Table 7 に示した。平均値はそれぞれ、質量分率 0.110 % であり、その標準偏差はそれぞれ質量分率 0.001 % 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^{8, 9)}ので、本法のナトリウムの定量下限は質量分率 0.02 %、検出下限は質量分率 0.005 % 程度と推定された。

Table 7 Performance of the lower limit of quantification in the confirmation test (% (Mass fraction))

Sample name	Mean ^{a)}	Standard deviation s_r	Estimated LOQ ^{b)}	Estimated LOD ^{c)}
Compost	0.110	0.0014	0.014	0.005

a) The average value of the parallel test ($n=7$)

b) Standard deviation × 10

c) Standard deviation × 2 × $t(n-1,0.05)$

4. まとめ

有機質肥料中のナトリウム試験法の検討を実施したところ、次の結果を得た。

- (1) 測定溶液に干渉抑制剤溶液を加える効果は認められなかった。
- (2) 検量線は 0.5 µg/mL ~ 30 µg/mL の濃度範囲で原点付近をとる直線性を示した。
- (3) 灰化操作にほうけい酸ガラス製のトルビーカーを用いても、ナトリウムの溶出による測定値への影響は認められなかった。
- (4) 真度を確認するため、5 種類の肥料を用いて 3 点併行で試験を実施したところ、添加濃度が質量分率

1 %～10 %の範囲で、平均回収率は 97 %～103 %であり、いずれの回収率もこの濃度範囲における肥料等試験法が示している真度(回収率)の目標以内であった。

(5) 併行精度及び中間精度を確認するため、魚かす粉末および堆肥を用いて、2 点併行で日を変えて 5 回試験を実施したところ、ナトリウムの平均値は質量分率で 9.08 %及び 0.097 %で、併行相対標準偏差は 0.6 %及び 2.0 %、中間相対標準偏差は 1.0 %及び 3.8 %であった。この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安内であった。

(6) 本法の定量下限及び検出下限は質量分率 0.02 %及び 0.005 %と推定された。

文 献

- 1) 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)
- 2) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, 養賢堂, 東京(1988)
- 3) 財団法人日本土壌協会:堆肥等有機物分析法(2010 年版), p.65~67 (2013)
- 4) 社団法人日本下水道協会:下水汚泥分析方法(2007 年版), p.121~122 (2007)
- 5) 社団法人日本下水道協会:下水試験方法下巻(1997 年版), p.292~294 (1997)
- 6) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):飼料分析法・解説, p.76~77 (2009)
- 7) JIS R 3503 : 1994, 「化学分析用ガラス器具」
- 8) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)

Method Validation for Determination of Sodium in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Kimie KATO¹, Masaki CHIDA¹ and Toshifumi FUJITA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

A method validation for determination of sodium in organic fertilizer by atomic absorption spectrometry was performed. After carbonization and incineration the sodium in organic fertilizer, and extracted with hydrochloric acid by heating and was diluted with distilled water to a final volume of 250 mL ~ 500 mL. The resulting solution was filtered and was measured by atomic absorption spectrometry. In considering the condition for measurement, the sodium elution from a borosilicate glass tall-form beakers could not had an effect on the measured results and the advantage adding interference suppressor solutions to the sample solutions could not be found. The calibration curve encompassed the concentration range 1 % ~10 % as a mass fraction crossed through the vicinity of origin and the plots showed linearity. In order to confirm trueness, 3 replicate analysis in 5 fertilizer samples (fish meal, processed fish scrap, rapeseed meal, composted sludge fertilizer and compost) added sodium chloride at 1 % ~ 10 % of substantial amount of sodium as a mass fraction were examined. As a result of examination, the average recoveries were 97 % ~ 103 % and were proper for the trueness (recovery) shown in the criteria of the Testing Methods for Fertilizers. For the sake of the evaluation for the intermediate precision and the repeatability, 2 replicate analyses were conducted with the fish meal added sodium chloride at 9 % of substantial amount of sodium as a mass fraction and the compost. As a result of 5 tests on different days, the average concentrations were 9.08 % and 0.097 % as a mass fraction, repeatability as repeatability relative standard deviation were 0.6 % and 2.0 %, intermediate precision as intermediate relative standard deviation were 1.0 % and 3.8 %, respectively. The results in these concentrations fell within the repeatability relative standard deviation and the intermediate relative standard deviation shown in the criteria of the Testing Methods for Fertilizers. On the basis of 7 replicate measurements, the LOQ and LOD value were estimated at 0.02 % and 0.005 % as a mass fraction, respectively. It is recommended that this method could be applied to determine sodium in organic fertilizers.

Key words sodium, organic fertilizer, compost, atomic absorption spectrometry

(Research Report of Fertilizer, **8**, 61~69, 2015)

8 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の亜硝酸及び

チオシアン酸アンモニウム(硫青酸化物)の測定

— 共同試験成績 —

長谷川正憲¹, 木村康晴²

キーワード 高速液体クロマトグラフィー, 硫青酸化物, チオシアン酸, 亜硝酸

1. はじめに

亜硝酸及び硫青酸化物は多量に含有すると植生を害することから普通肥料の公定規格¹⁾において含有を許される最大量が規定されている。肥料中の亜硝酸及び硫青酸化物の分析法として、高速液体クロマトグラフ(HPLC)法が検討され伊藤ら²⁾によって、真度, 併行精度, 定量下限等の検討が行われ, その結果, 単一試験室内における試験方法の妥当性が確認された。

今回, HPLC 法による肥料中の亜硝酸及び硫青酸化物の測定の性能評価のため, 共通試料を用いて, 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) 共同試験用添加溶液

JIS K 8019 に規定する亜硝酸ナトリウム及び JIS K 9000 に規定するチオシアン酸アンモニウムを用いて亜硝酸及び硫青酸化物の添加溶液を調製した。

2) 共同試験用試料

共同試験用試料を作製し, 均質性の確認を実施したところ, 試料中の亜硝酸及び硫青酸化物は一定時間放置すると濃度が低下することが確認された。そのため, 共同試験参加試験室において亜硝酸及び硫青酸化物を添加して共同試験を実施することとした。

ブランク試料は亜硝酸及び硫青酸化物を含まないことを確認した流通している化成肥料及び液状の家庭園芸用複合肥料とした。化成肥料は目開き 500 µm のふるいを通過するまで粉碎した。共同試験用試料は約 1.5 g の化成肥料をポリ袋に, 約 1.6 g の家庭園芸用複合肥料を 2 mL バイアルに入れ密封してそれぞれ 50 個を調製した。ブラインド試料を提供するため, 共同試験用試料及び亜硝酸及び硫青酸化物を一定量混合した添加溶液に乱数を付し, 参加試験室に配付した。

3) 装置及び器具

各試験室に設置している高速液体クロマトグラフ, 遠心分離機及び高速遠心分離機を使用した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター (現) 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神戸センター

4) 亜硝酸及び硫青酸化物の測定

(1) 化成肥料での抽出

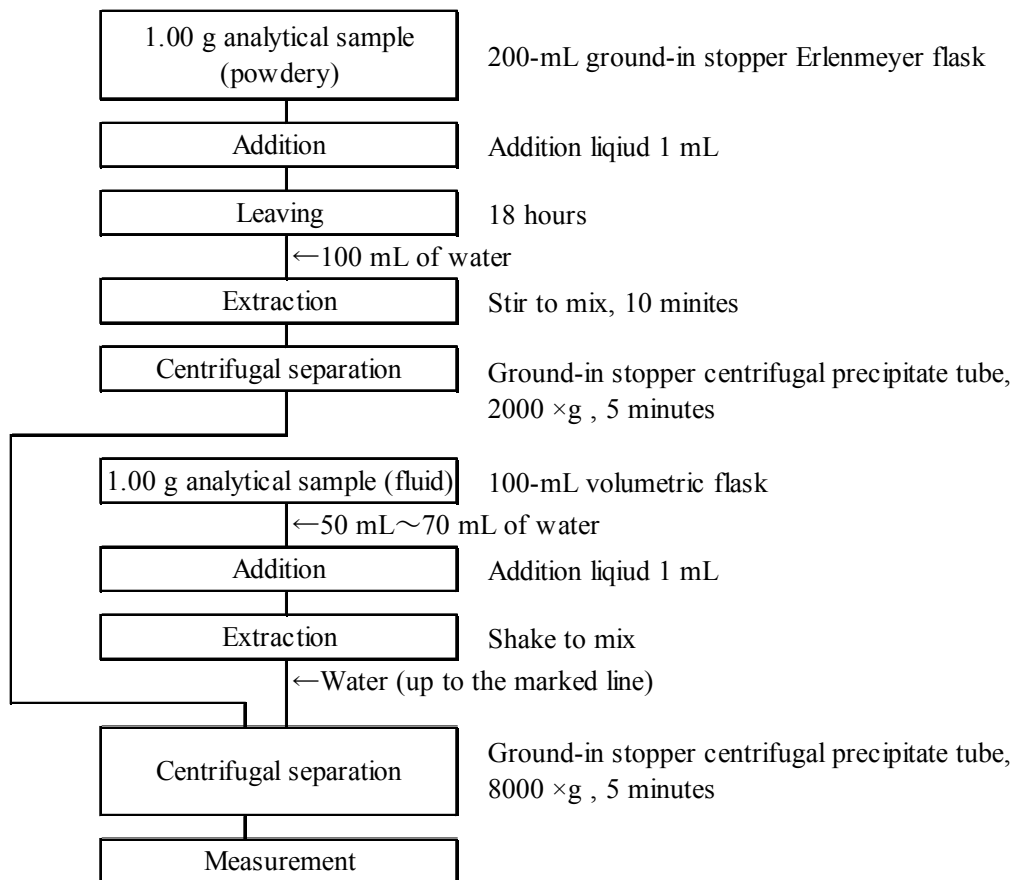
分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れ、添加溶液を加え 18 時間室温で放置し、水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜ、共栓遠心沈殿管 50 mL にとり、 $2000\times g$ で約 5 分間遠心分離し、上澄み液を抽出液とした。

(2) 家庭園芸用複合肥料での抽出

分析試料 1.00 g をはかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れ、添加溶液、水約 50 mL を加え、全量フラスコの蓋をして、振り混ぜて溶かし、標線まで水を加えて抽出液とした。

(3) 測定

各抽出液を 1.5 mL の共栓遠心沈殿管にとり、 $8000\times g$ で約 5 分間遠心分離した上澄み液または、親水性 PTFE メンブランフィルターを用いてろ過した溶液を HPLC 測定用試料溶液とした (Scheme 1)。その試料溶液を高速液体クロマトグラフに供し、Table 1 の測定条件で測定し、ピーク面積から試料溶液中の亜硝酸及び硫青酸化物の量を求め、分析試料中の濃度を算出した。測定に当たっては、各試験室の高速液体クロマトグラフの操作方法に従った。



Scheme 1 Flow sheet for nitrous acid and ammonium thiocyanate in fertilizers

Table 1 HPLC condition

Column	Shodex Asahipak NH2P-50 4E (4.6 mm i.d.×250 mm, 5 μm particle size) or SHISEIDO corporation CAPCELL PAK NH2 UG80 (4.6 mm i.d.×250 mm, 5 μm particle size)
Guard column	Shodex Asahipak NH2P-50G 4A (4.6 mm i.d.×10 mm, 5 μm particle size) or SHISEIDO corporation CAPCELL NH2 UC80 (4.0 mm i.d.×10 mm)
Column temperatures	40 °C±1 °C
Mobile phase	phosphate buffer
Injection volume	10 μL
Flow rate	1.0 mL/min
Detector system	UV detector at a wavelength of 210 nm

5) 共同試験用試料の均質性試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル³⁾の均質性試験に従い、6 種類の共同試験用添加溶液からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 4)に従って分析した。

6) 共同試験

試験に参加した 11 試験室と使用した高速液体クロマトグラフ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 12 試料について 4)に従って分析した。

- ・ 株式会社島津製作所(島津製作所 Prominence)
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会(島津製作所 LC-20AD, SPD-20A, CTO-20A)
- ・ 昭和電工株式会社(島津製作所 Nexera X2)
- ・ ジーエルサイエンス株式会社(ジーエルサイエンス GL7700)
- ・ 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(Waters 2695 Series)
- ・ 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(Agilent technologies 1100 Series)
- ・ 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(Agilent technologies 1100 Series)
- ・ 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(Waters 2487 デュアルス)
- ・ 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(Agilent technologies 1100 Series)
- ・ 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(島津製作所 Prominence Series)
- ・ 日本ウォーターズ株式会社(Waters Alliance e2695 セパレーションモジュール)

(50 音順)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の試験成績について、Cochran 検定による外れ値を除外し、一元配置分散分析から得られた統

計量を Table 2-1 及び 2-2 に示した. いずれの添加溶液においても, 併行相対標準偏差 (RSD_r) 及び併行精度を含む試料間相対標準偏差 (RSD_{b+r}) は肥料等試験法⁴⁾の妥当性確認の手順に示している各濃度のレベルにおける精度 (併行相対標準偏差及び中間相対標準偏差) の目安の 1.5 倍以内であり, F 値が F 限界値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³⁾. これらのことから, 添加溶液は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.

Table 2-1 Homogeneity test results of nitrous acid

Addition liquid	Sample ^{a)}	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	s_r ^{d)} (%) ^{c)}	RSD_r ^{e)} (%)	s_{bb} ^{f)} (%) ^{c)}	s_{b+r} ^{g)} (%) ^{c)}	RSD_{b+r} ^{h)} (%)	$CRSD_r$ ⁱ⁾ (%)	F Value ^{j)k)}
1	10 (0)	0.0501	0.0002	0.5	0	0.0002	0.5	4	0.18
2	10 (0)	0.0252	0.0003	1.0	0	0.0003	1.0	4	0.19
3	10 (0)	0.151	0.0006	0.4	0.0002	0.0006	0.4	4	1.22
4	9 (1)	0.201	0.0003	0.2	0.0002	0.0004	0.2	4	1.46
5	10 (0)	0.301	0.003	1.1	0	0.003	1.1	4	0.65
6	10 (0)	0.0501	0.0003	0.5	0	0.0003	0.5	4	0.34

a) The number of samples used for analysis; (): The number of outliers

b) Grand mean value (n =The number of samples used for analysis×The number of times of recetition(2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Relative standard deviation of repeatability

f) Standard deviation of sample to sample

g) Standard deviation of sample to sample include repeatability $s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$

h) Relative Standard deviation of sample to sample include repeatability

i) The aim of Relative standard deviation of repeatability for Testing Methods For Fertilizers

j) F value calculated based on analysis of variance (ANOVA)

k) F critical value; $F(9,10;0.05)=3.02$

F critical value; $F(8,9;0.05)=3.23$

Table 2-2 Homogeneity test results of ammonium thiocyanate

Addition liquid	Sample ^{a)}	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	s_r ^{d)} (%) ³⁾	RSD_r ^{e)} (%)	s_{bb} ^{f)} (%) ³⁾	s_{b+r} ^{g)} (%) ³⁾	RSD_{b+r} ^{h)} (%)	$CRSD_r$ ⁱ⁾ (%)	F Value ^{j)k)}
1	10 (0)	0.00604	0.0004	6.9	0	0.0004	6.9	6	0.12
2	10 (0)	0.0107	0.0007	6.4	0	0.0007	6.4	6	0.06
3	10 (0)	0.0487	0.0011	2.2	0	0.0011	2.2	4	0.39
4	10 (0)	0.0980	0.0014	1.4	0.0006	0.0015	1.5	4	1.40
5	10 (0)	0.200	0.004	1.9	0.0009	0.004	2.0	4	1.11
6	10 (0)	0.0110	0.0002	1.9	0.00005	0.0002	1.9	6	1.11

a)~k) Refer to the footnote of Table 2-1

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 Table 3-1 及び 3-2 に示した. 各系列の分析試料の結果を IUPAC

の共同試験プロトコル^{5, 6)}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。その結果, 11 試験室の試験成績のうち亜硝酸については 5 種類の試料で各 1 試験室, 硫青酸化物については 2 種類の試料で各 1 試験室及び 3 種類の試料で各 2 試験室が外れ値として判定された。

Lab ID ^{a)}	Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2		Compound fertilizer 3	
A	0.197	0.197	0.293	0.293	0.0515	0.0497
B	0.200	0.200	0.290	0.293	0.0493	0.0500
C	0.205	0.200	0.292	0.284	0.0505	0.0492
D	0.229 ^{b)}	0.202 ^{b)}	0.273 ^{c)}	0.268 ^{c)}	0.0470	0.0489
E	0.202	0.204	0.298	0.288	0.0506	0.0507
F	0.215	0.203	0.293	0.302	0.0510	0.0506
G	0.198	0.198	0.290	0.294	0.0494	0.0494
H	0.200	0.205	0.287	0.289	0.0495	0.0503
I	0.207	0.198	0.293	0.294	0.0489 ^{b)}	0.0798 ^{b)}
J	0.202	0.200	0.283	0.283	0.0492	0.0492
K	0.207	0.204	0.288	0.286	0.0504	0.0499

Lab ID ^{a)}	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	0.0492	0.0503	0.0280	0.0256	0.155	0.146
B	0.0483	0.0501	0.0252	0.0249	0.0747 ^{b)}	0.137 ^{b)}
C	0.0487	0.0494	0.0259	0.0243	0.149	0.136
D	0.0512	0.0512	0.0259	0.0258	0.154	0.153
E	0.0509	0.0502	0.0258	0.0256	0.154	0.153
F	0.0512	0.0510	0.0254	0.0257	0.153	0.152
G	0.0502	0.0509	0.0250	0.0252	0.151	0.153
H	0.0506	0.0505	0.0255	0.0251	0.151	0.161
I	0.0501 ^{b)}	0.0448 ^{b)}	0.0243	0.0235	0.146	0.151
J	0.0503	0.0505	0.0256	0.0263	0.151	0.151
K	0.0495	0.0493	0.0264	0.0260	0.144	0.143

a) Laboratory identification

b) Outlier of Cochran test

c) Outlier of Grubbs test

Table 3-2 Individual results of ammonium thiocyanate (%(mass fraction))

Lab ID ^{a)}	Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2		Compound fertilizer 3	
	A	0.0985	0.0987	0.201	0.201	0.00984
B	0.0995	0.0988	0.197	0.197	0.00965	0.00990
C	0.0990	0.103	0.197	0.191	0.00918	0.00896
D	0.119 ^{b)}	0.100 ^{b)}	0.202	0.199	0.00961	0.0100
E	0.100	0.101	0.211	0.202	0.00968	0.00952
F	0.106	0.0992	0.209	0.222	0.0104	0.00959
G	0.106	0.105	0.216	0.204	0.0114 ^{b)}	0.0151 ^{b)}
H	0.101	0.0978	0.195	0.210	0.00901	0.00953
I	0.102	0.0969	0.201	0.202	0.0101 ^{b)}	0.0164 ^{b)}
J	0.101	0.103	0.205	0.209	0.00989	0.0103
K	0.0992	0.100	0.211	0.211	0.0111	0.0110

Lab ID ^{a)}	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
	A	0.00503	0.00508	0.0114 ^{b)}	0.00981 ^{b)}	0.0517
B	0.00482	0.00503	0.00977	0.00953	0.0240 ^{b)}	0.0453 ^{b)}
C	0.00396	0.00431	0.00946	0.00892	0.0497	0.0448
D	0.00504	0.00529	0.0106	0.0104	0.0506	0.0511
E	0.00330	0.00364	0.00909	0.00928	0.0507	0.0488
F	0.00566	0.00561	0.00963	0.0103	0.0499	0.0518
G	0.00476	0.00494	0.00948	0.00965	0.0521	0.0490
H	0.00492	0.00487	0.00970	0.00983	0.0573 ^{c)}	0.0610 ^{c)}
I	0.00487	0.00450	0.0100	0.00962	0.0533	0.0551
J	0.00513 ^{b)}	0.200 ^{b)}	0.00994 ^{b)}	0.209 ^{b)}	0.0501	0.0496
K	0.00450	0.00498	0.0105	0.0100	0.0514	0.0523

a) Laboratory identification

b) Outlier of Cochran test

c) Outlier of Grubbs test

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^{5, 6)}した平均値, 併行標準偏差 (s_f) 及び併行相対標準偏差 (RSD_f) 値, 並びに室間再現標準偏差 (s_R) 及び室間再現相対標準偏差 (RSD_R) を Table 4-1 及び 4-2 に示した.

家庭園芸用複合肥料の亜硝酸の平均値は 0.0255 % (質量分率) ~ 0.150 % (質量分率) であり, その s_f は 0.0005 % (質量分率) ~ 0.004 % (質量分率), RSD_f は 1.1 % ~ 2.9 %, s_R は 0.0009 % (質量分率) ~ 0.005 % (質量分率), RSD_R は 1.7 % ~ 3.6 % であった. 化成肥料の亜硝酸の平均値は 0.0498 % (質量分率) ~ 0.291 % (質量分率) であり, その s_f は 0.0007 % (質量分率) ~ 0.004 % (質量分率), RSD_f は 1.3 % ~ 1.9 %, s_R は 0.0010 % (質量分率) ~ 0.005 % (質量分率), RSD_R は 1.7 % ~ 2.0 % であった.

家庭園芸用複合肥料の硫青酸化物の平均値は 0.00476 % (質量分率) ~ 0.0506 % (質量分率) であり, その s_f は 0.00019 % (質量分率) ~ 0.0019 % (質量分率), RSD_f は 3.7 % ~ 4.1 %, s_R は 0.0005 % (質量分率) ~ 0.0022 % (質量分率), RSD_R は 4.3 % ~ 12.7 % であった. 化成肥料の硫青酸化物の平均値は 0.00989 % (質量

分率)~0.204 % (質量分率)であり, その s_r は 0.00037% (質量分率)~0.006 % (質量分率), RSD_r は 2.3 %~3.8 %, s_R は 0.0006 % (質量分率)~0.008 % (質量分率), RSD_R は 2.6 %~6.5 %であった。

いずれの併行相対標準偏差及び室間再現相対標準偏差も肥料等試験法⁴⁾の妥当性確認の手順に示している各濃度のレベルにおける精度(併行相対標準偏差及び室間再現相対標準偏差)の目安の 1.5 倍以内であることから, 本法の精度は同試験法の性能評価規準の要求事項に適合していることを確認した。

Table 4-1 Statistical analysis of collaborative study results for nitrous acid

Sample	No. of labs	Mean ^{b)}	s_r ^{d)}	RSD_r ^{e)}	$CRSD_r$ ^{f)}	s_R ^{g)}	RSD_R ^{h)}	$CRSD_R$ ⁱ⁾
	$p(q)$ ^{a)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%)	(%)	(%) ^{c)}	(%)	(%)
Compound fertilizer 1	10(1)	0.202	0.004	1.9	4	0.004	2.2	8
Compound fertilizer 2	10(1)	0.291	0.004	1.3	4	0.005	1.7	8
Compound fertilizer 3	10(1)	0.0498	0.0007	1.4	4	0.0010	2.0	8
Home garden-use mixed fertilizer 1	10(1)	0.0502	0.0005	1.1	4	0.0009	1.7	8
Home garden-use mixed fertilizer 2	11(0)	0.0255	0.0007	2.6	4	0.0009	3.5	8
Home garden-use mixed fertilizer 3	10(1)	0.150	0.004	2.9	4	0.005	3.6	8

a) Number of laboratories, where p =number of laboratories retained after outlier nad (q)=number of outliers.

b) Grand mean value (n =The number of participating testing laboratoried(p) \times The number of times of recetition(2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Relative standard deviation of repeatability

f) The aim of Relative standard deviation of repeatability for Testing Methods For Fertilizers

g) Standard deviation of reproducibility

h) Relative standard deviation of reproducibility

i) The aim of Relative standard deviation of reproducibility for Testing Methods For Fertilizers

Table 4-2 Statistical analysis of collaborative study results for ammonium thiocyanate

Sample	No. of labs	Mean ^{b)}	s_r ^{d)}	RSD_r ^{e)}	$CRSD_r$ ^{f)}	s_R ^{g)}	RSD_R ^{h)}	$CRSD_R$ ⁱ⁾
	$p(q)$ ^{a)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%)	(%)	(%) ^{c)}	(%)	(%)
Compound fertilizer 1	10(1)	0.101	0.002	2.3	4	0.003	2.6	8
Compound fertilizer 2	11(0)	0.204	0.006	2.7	4	0.008	3.7	8
Compound fertilizer 3	9(2)	0.00989	0.00037	3.8	6	0.0006	6.5	11
Home garden-use mixed fertilizer 1	10(1)	0.00476	0.00019	4.1	6	0.0006	12.7	11
Home garden-use mixed fertilizer 2	9(2)	0.00976	0.00029	2.9	6	0.0005	4.7	11
Home garden-use mixed fertilizer 3	9(2)	0.0506	0.0019	3.7	4	0.0022	4.3	8

a)~i) Refer to the footnote of Table 4-1

4. まとめ

11 試験室において 6 種類(12 点)の家庭園芸用複合肥料及び化成肥料を用いて共同試験を実施し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の亜硝酸及び硫青酸化物測定の評価を行った。その結果、亜硝酸の平均値 0.0255 % (質量分率) ~ 0.291 % (質量分率) の範囲でその室間再現精度 (RSD_R) は 1.7 % ~ 3.6 % であり、硫青酸化物の平均値 0.00476 % (質量分率) ~ 0.204 % (質量分率) の範囲でその室間再現精度 (RSD_R) は 2.6 % ~ 12.7 % であった。この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている併行精度及び室間再現精度の目安の 1.5 倍以内であり、肥料等試験法の要求する精度に適合していることを確認した。

文 献

- 1) 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,昭和 61 年 2 月 22 日,農林水産省告示第 284 号,最終改正平成 27 年 1 月 9 日,農林水産省告示第 52 号 (2015)
- 2) 伊藤浩平, 木村康晴, 長谷川正憲, 白井裕治:高速液体クロマトグラフ法を用いた肥料中の亜硝酸およびチオシアン酸塩の同時定量, 日本土壤肥料学雑誌 (投稿中)
- 3) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 4) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2015)
< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2015.pdf >
- 5) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 6) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)

Determination of Nitrous Acid and Ammonium Thiocyanate in Fertilizer by High Performance Liquid Chromatography (HPLC): A Collaborative Study

Masanori HASEGAWA¹ and Yasuharu KIMURA²

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

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

A collaborative study was conducted to evaluate high performance liquid chromatography (HPLC) for determination of nitrous acid and ammonium thiocyanate in fertilizers. The nitrous acid and ammonium thiocyanate were extracted with water. The extract was centrifuged. The nitrous acid and ammonium thiocyanate were analyzed by HPLC on amino-modified silica gel column or amino-modified polyvinyl alcohol gel column with UV detection at 210 nm. We sent eleven collaborators 6 blank materials and additional liquids in a blind duplicate design. After identification of outliers with Cochran test and Grubbs test, the mean values and the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) of determination of nitrous acid were reported 0.0255 % ~ 0.291 % as a mass fraction and 1.7 % ~ 3.6 %, respectively. Those of determination of ammonium thiocyanate were reported 0.00476 % ~ 0.204 % as a mass fraction and 2.6 % ~ 12.7 %, respectively. These results indicated that this method has acceptable precision for determination of nitrous acid and thiocyanate in these concentration ranges.

Key words nitrous acid, ammonium thiocyanate, high performance liquid chromatography (HPLC)

(Research Report of Fertilizer, **8**, 70~78, 2015)

9 カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報)

— 2013 年冬作・2014 年夏作 —

廣井利明¹, 五十嵐総一², 鈴木時也³, 橋本良美³, 田中雄大³, 阿部文浩³, 加島信一²

キーワード 汚泥肥料, 連用試験, カドミウム

1. はじめに

肥料の公定規格¹⁾では汚泥肥料中の含有を許されるカドミウムの最大量(以下,「含有許容値」という。)は0.0005 %と定められており,汚泥肥料はこの範囲内において流通,施用されている.一方,汚泥肥料の施用により土壌に負荷された重金属が蓄積し,更に長期に施用すると土壌の保持力を超えて農作物へ移行し,人畜に有害な農作物が生産されることが懸念されている.2009年3月に農林水産省から発表された「汚泥肥料の規制のあり方に関する懇談会報告書」²⁾において,「3 将来実施することが必要な調査研究課題」として,カドミウム含有許容値の科学的知見を集積するため,「汚泥肥料の連用により通常に比べカドミウムの蓄積が進んでいる土壌を活用し,カドミウムを吸収しやすい農作物を栽培し,植物への吸収の有無,程度を調べる必要がある」と記載された.このことから,肥料の有効性及び安全の確保に必要な課題に関する調査研究として,汚泥肥料の連用施用試験を実施し,カドミウムの土壌への蓄積及び作物体の吸収量を確認する.

2009年夏作から2013年夏作にかけては,汚泥肥料を施用した区及び施用していない区の2試験区を設け,ニンジン,ホウレンソウ,ホウレンソウ,チンゲンサイ,カブ,ホウレンソウ,ニンジン,ホウレンソウ,ニンジンの順で栽培し,土壌中のカドミウム濃度の変化及び作物体のカドミウム吸収量を確認した.その結果は既に肥料研究報告第6号³⁾及び7号⁴⁾で報告した.2013年冬作及び2014年夏作においてはそれぞれホウレンソウ,ニンジンを用いて試験を実施したのでその結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 2013年冬作の連用試験(2013年11月5日~2014年3月11日)

(1) 試験圃場及び供試土壌

本試験は当センター岩槻圃場(埼玉県さいたま市)で実施した.試験は,汚泥肥料の施用履歴がある土壌(汚泥肥料施用区)と施用履歴がない土壌(標準区)を供試土壌とし,2試験区2反復とした.土壌の種類,土性,前作跡地のpH,EC,有効態りん酸,全窒素,全炭素及び0.1 mol/L 塩酸可溶カドミウム(以下,0.1 mol/L HCl-Cd)及び,参考に2012年夏作の作付け前土壌のリン酸吸収係数,陽イオン交換容量をTable 1に示す.

(2) 供試肥料等

施用する汚泥肥料はし尿汚泥肥料を使用した.し尿汚泥肥料は,し尿及び生活雑排水を沈殿分離及び接触

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 (現)仙台センター

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 (現)福岡センター

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 肥飼料安全検査部

ばっ気を組合せた方式により排水処理して発生した汚泥を高分子凝集剤を用いて脱水、加熱乾燥した黒色、粒径約 3 mm の市販肥料である。し尿汚泥肥料の成分分析結果を Table 2 に示した。カドミウム濃度は 3.6 mg/kg (現物) であり (Table 2), その乾物濃度は肥料公定規格の含有許容値付近 (約 5 mg/kg) である。窒素全量 (現物値) 質量分率 3.3 % 及び窒素無機化率約 30 % (30 °C, 28 日間培養) であり、窒素全量及び無機化率は一般的なし尿汚泥肥料の中では低めであるため、長期連用や大量施用した場合も作物への生理障害等は発現しにくく、カドミウム負荷量を高く保ちつつ長期連用試験が可能な肥料と考えられる。

補正肥料として特級試薬の硫酸アンモニウム、リン酸二水素アンモニウム及び塩化カリウムを使用した。汚泥肥料及び補正肥料の各成分の分析は肥料等試験法⁵⁾によった (補正肥料の成分量は Table 3 に示した)。

なお、汚泥肥料中の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は、汚泥肥料 1 g を 0.1 mol/L 塩酸 50 mL で 1 時間振とうして抽出したカドミウムをフレイム原子吸光分析装置 (Z-2310: 日立ハイテクノロジーズ) で測定した。汚泥肥料中の 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 (pH 7.0) 可溶カドミウム (以下、1 mol/L 酢安 (pH 7.0) -Cd) 濃度は、汚泥肥料 1 g を 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 (pH 7.0) 50 mL で 1 時間振とうして抽出したカドミウムを ICP 質量分析装置 (ICPM-8500: 島津製作所) で測定した。

Table 1 Characteristics of soil for using in winter 2013 crop

	Unit	Year	AP ¹⁾ -1	AP ¹⁾ -2	SP ²⁾ -1	SP ²⁾ -2
pH (H ₂ O) ³⁾		2009 ⁷⁾	6.1	6.1	6.2	6.2
		2013 ⁸⁾	6.1	6.2	6.0	6.1
EC ⁴⁾	mS/m	2009	10.0	10.3	14.0	11.6
		2013	15.1	16.8	16.3	16.7
Phosphate absorption coefficient ⁵⁾	mg/100 g	2012 ⁹⁾	2370	2380	2360	2420
CEC ⁵⁾	cmol/kg	2012 ⁹⁾	37.8	38.8	37.7	38.4
Available phosphate ⁵⁾	mg/100 g	2009	5.8	6.1	7.7	6.9
		2013	5.4	5.5	8.1	7.8
Total nitrogen ⁵⁾	% ⁶⁾	2013	0.44	0.43	0.42	0.41
Total carbon ⁵⁾	% ⁶⁾	2013	5.8	5.7	5.5	5.6
0.1 mol/L HCl-Cd ⁵⁾	mg/kg	2009	0.18	0.19	0.18	0.21
		2013	0.20	0.20	0.15	0.17
Kind of soil			Andosol		Andosol	
Soil texture			Light clay		Light clay	

1) Sludge-fertilizer-application plot

2) Standard plot

3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, $n = 1$

4) Soil electrical conductivity determined on 1:5 (soil:water) susensions with an electrical conductivity meter, $n = 1$

5) Content in the dry matter, average ($n = 2$)

6) Mass fraction

7) The year when the study was designed to evaluate the effects of sludge fertilizer applications on soil intended for long-term use

8) The year when this study was conducted

9) The year when the study was conducted in summer 2012 crop

Table 2 Properties of sludge fertilizer

Item	Unit	Content	Item	Unit	Content
Total nitrogen	% ¹⁾	3.3	Total copper	mg /kg	546
Total phosphorus ²⁾	% ¹⁾	5.2	Total zinc	mg /kg	1760
Total potassium ³⁾	% ¹⁾	0.4	Carbon to nitrogen ratio	-	7.1
Total calcium ⁴⁾	% ¹⁾	2.1	Total cadmium ⁵⁾	mg /kg	3.6 ⁶⁾
Organic carbon	% ¹⁾	23.6	Acid-solubility-cadmium ⁷⁾	mg /kg	3.2
Moisture	% ¹⁾	26.1	Exchangeable-cadmium ⁸⁾	mg /kg	0.32

1) Mass fraction

2) Content as P₂O₅

3) Content as K₂O

4) Content as CaO

5) Content of cadmium dissolved with aqua regia

6) 4.9 mg/kg in the dry matter

7) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid

8) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution

Table 3 Properties of the reagent

Item	Unit	Ammonium sulfate ⁴⁾	Urea ⁵⁾	Ammonium dihydrogenphosphate	Potassium chloride
Total nitrogen	% ¹⁾	21.1	46.2	12.0	-
Total phosphorus ²⁾	% ¹⁾	-	-	61.5	-
Total potassium ³⁾	% ¹⁾	-	-	-	63.1

1) Mass fraction

2) Content as P₂O₅

3) Content as K₂O

4) Ammonium sulfate was used in winter 2013 crop

5) Urea was used in summer 2014 crop

(3) 試験区の構成

汚泥肥料施用区及び標準区は、1 試験区の面積を 4 m²(縦 2 m×横 2 m)とし、各試験区 2 反復の計 4 試験区を Fig.1 のとおり配置した。施肥量は埼玉県のカレンソウ施肥基準⁶⁾を基に施肥設計した。

汚泥肥料の施肥量は、農林水産省のアンケート調査結果では 1 作当たり 2 t/10 a 程度施用している農家も存在するが、施肥量は、500 kg/10 a 程度が最も一般的であった⁷⁾。自治体によっては、汚泥肥料中の重金属の農地への蓄積を抑制するために施用上限量の目安を示しており、年間 500 kg/10 a～1000 kg/10 a としている事例がある^{8～10)}。また、高分子凝集剤を使用した汚泥肥料を連用した場合、土壌 pH が低下する¹¹⁾ことが知られている。連用施用による土壌理化学性への影響等を考慮し、ここでは、1 作当たりの施肥量は 500 kg/10 a (現物)とした。

窒素肥効率は前作までの標準区との生育量の差から 10 %として計算し、不足分を補正肥料で施用した。りん酸及び加里についても不足分は補正肥料を用いて補った。標準区については、補正肥料を用いて汚泥肥料施

用区と同様の成分量になるよう施用した (Table 4). なお, 前作までの跡地土壌を分析したところ, 各試験区の有効態りん酸は 5.4 mg/100 g 乾土~8.1 mg/100 g 乾土であり, 地力増進基本指針¹²⁾における有効態りん酸の改善目標 (10 mg/100 g 乾土) と比較して低い値であった. このため, 溶成りん肥 (く溶性りん酸 20 % 含有) を 1 試験区当たり 500 g 施用した (Table 4).

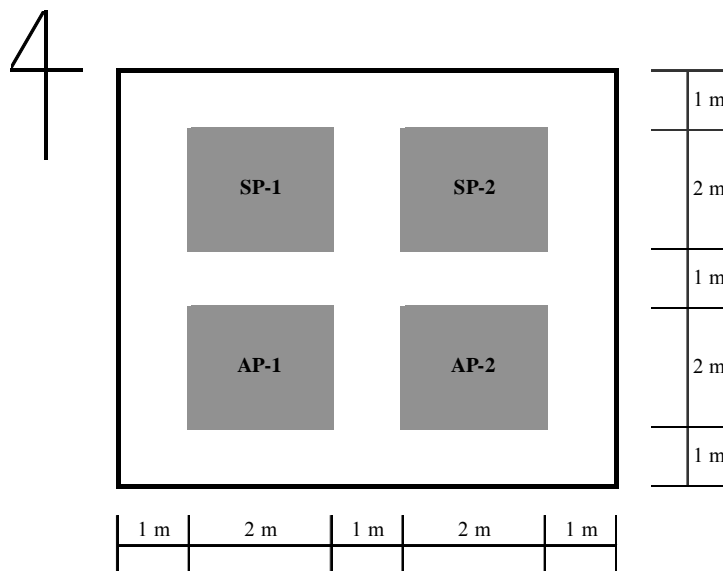


Fig.1 Plot plan of the test field

AP: Sludge-fertilizer-application plot

SP: Standard plot

Table 4 The fertilization design of the test plots where spinach was cultivated in winter 2013

	Amount of application per 4 m ² (g)	The applied components per 4 m ²				Amount of application per 10 a (kg)	The applied components per 10 a			
		N (g)	P ¹⁾ (g)	K ²⁾ (g)	Cd (mg)		N (g)	P ¹⁾ (g)	K ²⁾ (g)	Cd (g)
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>										
Sludge fertilizer	2000	66	104	7	7.3	500	16550	26100	1800	1.8
Ammonium sulfate	348	73	—	—	—	87	18345	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Potassium chloride	103	—	—	65	—	26	—	—	16200	—
Fused magnesium phosphate	500	—	100	—	—	250	—	25000	—	—
Total		140	204	72	7.3		34895	51100	18000	1.8
<Standard plot (SP)>										
Sludge fertilizer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ammonium sulfate	283	60	—	—	—	71	14907	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	170	20	104	—	—	42	5093	26100	—	—
Potassium chloride	114	—	—	72	—	29	—	—	18000	—
Fused magnesium phosphate	500	—	100	—	—	250	—	25000	—	—
Total		80	204	72	0.0		20000	51100	18000	0.0

1) Content as P₂O₅

2) Content as K₂O

(4) 栽培方法

供試作物はホウレンソウ(品種名:強力オーライ)とし、埼玉県の施肥基準を基に栽培した。各試験区の周辺部にはガードプランツとして供試作物を栽培した。

施肥は2013年11月1日に、各試験区の表層土約12 kgを袋に取り、肥料を入れ混合し、各試験区表層に均等に散布し、耕耘機で深さ約15 cmまで耕耘した。

試験区内は9条(条間約20 cm)とし、播種は11月5日にシーダーテープ種子により行った。

間引きは11月20日及び11月29日に行い、農薬散布はヨトウムシ等の害虫防除のため播種時にダイアジノン粒剤を散布した。雑草防除は手除草により適宜実施した。

収穫は2013年3月11日に行い、地際をハサミで切断して地上部を収穫した。

(5) 作物体のカドミウム分析

収穫したホウレンソウは直ちに試験区毎に全株重量を測定した。分析用試料として試験区中央の1 m²分全てを、水道水、イオン交換水の順に洗浄し、ガラス室で自然乾燥した後に通風乾燥機にて65 °Cで1昼夜乾燥した。重量を測定した後、目開き500 µmのふるいを通過するまで粉砕機(ZM200:Retsch ロータ回転数6000 rpm)で粉砕し分析用試料とした。

カドミウム含有量は、分析試料0.5 gに硝酸5 mL及び過酸化水素水2 mLを加えマイクロ波分解装置(Multiwave 3000:Perkin Elmar)¹³⁾で分解したものを50 mLに定容し試料溶液とした。測定はICP質量分析装置(ICPM-8500:島津製作所)により行った。

(6) 跡地土壌の分析

収穫後の跡地土壌は、対角線採土法¹⁴⁾により採取した。各試験区の作物体の分析用試料を収穫した場所と同じ試験区中央1 m²の四隅及び中央の計5か所より、採土器(内径50 mm×長さ250 mm)を用いて表層から約15 cmまで採取、混合した。通風乾燥機により35 °Cで一晩乾燥後、目開き2 mmのふるいを通過したもの及び更に全量分析用として目開き500 µmのふるいを通過するまで粉砕機(ZM200:Retsch ロータ回転数6000 rpm)で粉砕したものを分析用試料とした。

風乾した土壌の水分は、ハロゲン水分計(HG53:メトラー・トレド)により測定した。

土壌pH及びECは風乾土壌1に対して純水5を加え1時間振とう後、pHはガラス電極法(F-23:HORIBA)により、ECは電気伝導率計(F-54:HORIBA)により測定した。

土壌中のカドミウム分析については、形態別カドミウムを分析した。土壌中カドミウムの形態(可溶性)別評価法については、土壌の種類による溶出傾向や作物体の吸収との相関などに対応するための様々な方法が検討されているものの、万能と呼べる方法がない状況にある。そこで統一的な尺度として、政令¹⁵⁾で定められた0.1 mol/L HCl-Cd、及び交換性陽イオンの測定に用いられており¹⁶⁾、0.1 mol/L HCl-Cdと比較してより多くの各種作物体のカドミウム濃度と相関があると報告されている^{17~18)}交換態カドミウム(1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd)を選択した。また、参考として供試汚泥肥料中にカドミウムと比較して多量に含まれる銅及び亜鉛の土壌蓄積状況を確認するため、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 7.0)可溶銅及び亜鉛(以下、1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cu及びZn)についても測定した。

土壌中の0.1 mol/L HCl-Cdは、土壌10 gに対し0.1 mol/L 塩酸50 mLを加え約30 °Cに保ち1時間振とうして抽出したカドミウムをICP質量分析装置(ICPM-8500:島津製作所)により測定した。

土壌中の1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd、Cu及びZnは、土壌2.5 gに対し1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 7.0)50 mLを加え約25 °C~30 °Cに保ち1時間振とうして抽出したカドミウムをICP質量分析装置(ICPM-8500:島

津製作所)により測定した。

2) 2014年夏作の連用試験(2014年6月19日~2014年9月19日)

(1) 試験圃場及び供試土壌

試験圃場及び供試土壌として2.1)の試験の汚泥肥料施用区及び標準区の跡地を引き続き使用した。土壌の種類、土性、及び前作跡地の pH, EC, 有効態りん酸(トルオーグ法)¹⁴⁾, 全窒素, 全炭素及び 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度を Table 5 に示す。

Table 5 Characteristics of soil for using in summer 2014 crop

	Unit	Year	AP ¹⁾ -1	AP ¹⁾ -2	SP ²⁾ -1	SP ²⁾ -2
pH (H ₂ O) ³⁾		2009 ⁷⁾	6.1	6.1	6.2	6.2
		2014 ⁸⁾	6.3	6.4	6.2	6.2
EC ⁴⁾	mS/m	2009	10.0	10.3	14.0	11.6
		2014	19.3	19.8	17.3	17.3
Total nitrogen ⁵⁾	% ⁶⁾	2014	0.42	0.41	0.39	0.39
Total carbon ⁵⁾	% ⁶⁾	2014	5.8	5.8	5.6	5.6
Available phosphate ⁵⁾	mg/100 g	2009	5.8	6.1	7.7	6.9
		2014	6.7	6.2	10.2	9.0
0.1 mol /L HCl-Cd ⁵⁾	mg/kg	2009	0.18	0.19	0.18	0.21
		2014	0.22	0.21	0.16	0.16
Kind of soil			Andosol		Andosol	
Soil texture			Light clay		Light clay	

1) Sludge-fertilizer-application plot

2) Standard plot

3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, $n = 1$

4) Soil electrical conductivity determined on 1:5 (soil:water) suspensions with an electrical conductivity meter, $n = 1$

5) Content in the dry matter, average ($n = 2$)

6) Mass fraction

7) The year when the study was designed to evaluate the effects of sludge fertilizer applications on soil intended for long-term use

8) The year when this study was conducted

(2) 供試肥料等

供試肥料及び補正肥料は 2.1) (2)と同様のものを用いた。ただし、補正肥料のうち、窒素肥料は硫酸アンモニウムではなく尿素を使用した。これは土壌の EC 上昇防止及び比較的緩効性の肥料とするためである。

(3) 試験区の構成

試験区の構成は 2.1) (3)と同様に配置した。施肥量は埼玉県のニンジン施肥基準⁶⁾を基に設計した。汚泥肥料の施用量は、前作同様 500 kg/10 a(現物), 窒素肥効率を 50 %として計算し, 不足分を補正肥料で施用した。りん酸及び加里についても不足分は補正肥料を用いて補った。標準区については、補正肥料を用いて汚泥肥

料施用区と同様の成分量になるよう施用した(Table 6).

また、前作(2013年冬作)までの跡地土壌を分析したところ、各試験区の有効態りん酸は汚泥肥料施用区 6.2 mg/100 g 乾土、標準区 10.2 mg/100 g 乾土であり、地力増進基本指針^{1,2)}における有効態りん酸の改善目標(10 mg/100g 乾土)に比べて低い又は同等な値であった。このため、過去の有効態りん酸の推移を基に、不足分のりん酸として、熔成りん肥(く溶性りん酸 20%含有)を汚泥肥料施用区は 1162 g、標準区は 133 g 施用した。

Table 6 The fertilization design of the test plots where carrot was cultivated in summer 2014

	Amount of application per 4 m ² (g)	The applied components per 4 m ²				Amount of application per 10 a (kg)	The applied components per 10 a			
		N (g)	P ¹⁾ (g)	K ²⁾ (g)	Cd (mg)		N (g)	P ¹⁾ (g)	K ²⁾ (g)	Cd (g)
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>										
Sludge fertilizer	2000	66	104	7	7.3	500	16550	26100	1800	1.8
Urea	93	43	—	—	—	23	10725	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Potassium chloride	90	—	—	57	—	23	—	—	14200	—
Fused magnesium phosphate	1162	—	232	—	—	291	—	58100	—	—
Total		109	337	64	7.3		27275	84200	16000	1.8
<Standard plot (SP)>										
Sludge fertilizer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Urea	120	56	—	—	—	30	13907	—	—	—
Ammonium dihydrogenphosphate	170	20	104	—	—	42	5093	26100	—	—
Potassium chloride	101	—	—	64	—	25	—	—	16000	—
Fused magnesium phosphate	133	—	27	—	—	33	—	6640	—	—
Total		76	131	64	0.0		19000	32740	16000	0.0

1) Content as P₂O₅

2) Content as K₂O

(4) 栽培方法

供試作物はニンジン(品種名:恋ごころ)とした。各試験区の周辺部にはガードプランツとして供試作物を栽培した。

施肥は 2014 年 6 月 16 日に行った。各試験区の表層土約 12 kg を袋に取り、肥料を入れ混合し、各試験区表層に均等に散布し、耕耘機で深さ約 15 cm まで耕耘した。

試験区内は 9 条(条間約 20 cm)とし、播種は 6 月 19 日にシーダーテープ種子を用いて行った。

間引きは 7 月 22 日及び 7 月 30 日に行い、収穫時の株間が約 8 cm となるようにした。

農薬散布はヨトウムシ等の害虫防除のため、施肥時にダイアジノン粒剤を散布した。雑草防除は手除草により適宜実施した。適宜水道水によるかん水を行った。

収穫は 2014 年 9 月 19 日に行い、葉部と根部を収穫した。

(5) 作物体のカドミウム分析

収穫したニンジンは水道水洗浄後、試験区毎に全株重量を測定した。分析用試料として試験区中央の 1 m² 分全てを根部と葉部に切り分け、部位別に重量を測定した。根部はイオン交換水ですすぎ、自然乾燥して薄く

切り分けた後、通風乾燥機により 65 °C で 24 時間乾燥を行い重量を測定した。葉部は葉が重ならないように広げ、自然乾燥し、その後、通風乾燥機により 65 °C で 24 時間乾燥を行い、重量を測定した。乾燥した根部及び葉部は、それぞれ目開き 1 mm 及び 500 µm のふるいを通すまで粉砕機 (ZM200:Retsch ロータ回転数 6000 rpm) で粉砕した。

カドミウム含有量の分析は、2.1).(5)と同様に行った。

(6) 跡地土壌の分析

収穫後の土壌は、2.1).(6)と同様に採取及び調製した。また、カドミウムの垂直分布を調査するため、表層から約 15 cm まで採取した際と同じ穴から、採土器 (内径 30 mm×長さ 100 cm) を用いて約 15 cm から 25 cm までの土壌を採取し同様に調製した。

土壌の分析は、2.1).(6) の項目に加えて全カドミウム (全 Cd) を分析した。

土壌中の全 Cd は、分析試料 0.5 g に、硝酸約 10 mL、過酸化水素水約 3 mL、及びフッ化水素酸約 5 mL を加え、マイクロ波分解装置 (Multiwave 3000:Perkin Elmar) により分解し試料溶液とした。測定は ICP 質量分析装置 (ICPM-8500:島津製作所) により行った。

3. 結果

1) 2013 年冬作連用試験 (冬作ホウレンソウ:2013 年 11 月 5 日～2014 年 3 月 11 日)

(1) 作物体の収量及びカドミウム吸収量

播種から収穫までの栽培期間は約 5 ヶ月であり、その間に異常な症状等は観察されなかった。

ホウレンソウの収量、カドミウム濃度及び吸収量を Table 7 に示した。汚泥肥料施用区及び標準区の収量は、生体重平均値でそれぞれ 16.65 kg と 17.90 kg であり、標準区の収量を 100 とした汚泥肥料施用区の収量指数は 93 であった。カドミウム濃度 (乾物) については、汚泥肥料施用区は平均値で 0.45 mg/kg、標準区は 0.30 mg/kg であり、汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$) が、その現物濃度は Codex 基準値 (0.2 mg/kg) の 1/4 未満であった。カドミウム吸収量については、汚泥肥料施用区は平均値で 0.73 mg/試験区、標準区は 0.53 mg/試験区であり、汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$)。

(2) 跡地土壌のカドミウム濃度

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度、1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度、pH 及び EC を Table 8 に示した。0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は、平均値で汚泥肥料施用区は 0.22 mg/kg、標準区は 0.16 mg/kg であり、汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$)。1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度は、平均値で汚泥肥料施用区は 0.041 mg/kg、標準区は 0.029 mg/kg であり、汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$)。

Table 7 Cadmium uptake and yield of spinach (edible portion) in the test

	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	Yield index ⁴⁾	Significance test
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>								
Fresh weight	kg	17.50		15.80		16.65	93	-
Dry weight	kg	1.66		1.54		1.60	90	-
Cadmium concentration ¹⁾	mg/kg	0.46	0.47	0.42	0.46	0.45	-	significance ⁵⁾
Cadmium concentration ²⁾	mg/kg	0.044	0.045	0.041	0.045	0.044	-	-
Quantity of cadmium uptake ³⁾	mg/plot	0.77	0.78	0.65	0.71	0.73	-	significance
<Standard plot (SP)>								
Fresh weight	kg	18.45		17.35		17.90	100	-
Dry weight	kg	1.85		1.72		1.78	100	-
Cadmium concentration ¹⁾	mg/kg	0.32	0.32	0.28	0.27	0.30	-	-
Cadmium concentration ²⁾	mg/kg	0.032	0.032	0.028	0.027	0.030	-	-
Quantity of cadmium uptake ³⁾	mg/plot	0.59	0.59	0.48	0.47	0.53	-	-

1) Content in the dry matter

2) Content in the fresh matter

3) Quantity of cadmium uptake = Yield (dry weight) × Cadmium concentration (dry matter)

4) Yield of Standard plot was indexed as 100

5) It is significantly different for Standard plot (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2×2) (repetition × number of samples))

Table 8 Characteristics of cultivated soil in winter 2013

	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	significance test
< Sludge-fertilizer-application plot(AP) >							
0.1 mol /L HCl-Cd ¹⁾	mg/kg	0.22	0.22	0.22	0.21	0.22	significance ⁵⁾
Exchangeable-Cd ²⁾	mg/kg	0.038	0.039	0.046	0.040	0.041	significance
pH (H ₂ O) ³⁾		6.3		6.4			
EC ⁴⁾	mS/m	19.3		19.8			
< Standard plot (SP) >							
0.1 mol /L HCl-Cd ¹⁾	mg/kg	0.16	0.16	0.17	0.16	0.16	
Exchangeable-Cd ²⁾	mg/kg	0.028	0.027	0.031	0.031	0.029	
pH (H ₂ O) ³⁾		6.2		6.2			
EC ⁴⁾	mS/m	17.3		17.3			

1) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid in the drying soil

2) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil

3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, $n = 2$

4) Soil electrical conductivity determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with an electrical conductivity meter, $n = 2$

5) It is significantly different for standard plot (two-way factorial ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2×2) (repetition × number of samples))

Table 9 Cadmium uptake and yield of carrot in the test

	Part	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	Yield index ⁴⁾	Significance test
< Sludge-fertilizer-application plot (AP) >									
Fresh weight	Root	kg	9.15		8.65		8.90	100	-
	Leaf	kg	6.45		5.65		6.05	98	-
	Total	kg	15.60		14.30		14.95	99	-
Dry weight	Root	kg	1.01		0.94		0.97	98	-
	Leaf	kg	0.88		0.88		0.88	101	-
	Total	kg	1.89		1.82		1.85	99	-
Cadmium concentration ¹⁾	Root	mg/kg	0.17	0.17	0.15	0.17	0.17	-	Significance ⁵⁾
	Leaf	mg/kg	0.25	0.25	0.26	0.25	0.25	-	Pending ⁶⁾
Cadmium concentration ²⁾	Root	mg/kg	0.019	0.019	0.017	0.018	0.018	-	-
	Leaf	mg/kg	0.034	0.034	0.040	0.039	0.037	-	-
Quantity of cadmium uptake ³⁾	Root	mg/plot	0.17	0.18	0.14	0.16	0.16	-	Significance
	Leaf	mg/plot	0.22	0.22	0.23	0.22	0.22	-	Pending
	Total	mg/plot	0.39	0.40	0.37	0.38	0.38	-	Pending
< Standard plot (SP) >									
Fresh weight	Root	kg	9.00		8.85		8.93		
	Leaf	kg	6.80		5.60		6.20		
	Total	kg	15.80		14.45		15.13		
Dry weight	Root	kg	0.98		1.01		0.99		
	Leaf	kg	0.96		0.79		0.87		
	Total	kg	1.94		1.79		1.87		
Cadmium concentration ¹⁾	Root	mg/kg	0.13	0.14	0.12	0.12	0.13		
	Leaf	mg/kg	0.20	0.20	0.17	0.17	0.18		
Cadmium concentration ²⁾	Root	mg/kg	0.015	0.015	0.013	0.013	0.014		
	Leaf	mg/kg	0.029	0.028	0.024	0.023	0.026		
Quantity of cadmium uptake ³⁾	Root	mg/plot	0.13	0.14	0.12	0.12	0.13		
	Leaf	mg/plot	0.19	0.19	0.13	0.13	0.16		
	Total	mg/plot	0.33	0.33	0.25	0.25	0.29		

1) Content in the dry matter

2) Content in the fresh matter

3) Quantity of cadmium uptake = Yield (dry weight) × Cadmium concentration (dry matter)

4) Yield of Standard plot was indexed as 100

5) It is significantly different for Standard plot (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition × number of samples))

6) It was pending decision to be significantly different for Standard plot and for interaction (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition × number of samples))

2) 2014年夏作連用試験(夏作ニンジン:2014年6月19日～2014年9月19日)

(1) 作物体の収量及びカドミウム吸収量

播種から収穫までの栽培期間は約3ヶ月であり、収穫直前には、一部の葉にうどん粉病と思われる病徴や虫による葉の食害が認められた。また、過去の試験結果と比較して早期に下葉が黄化する窒素欠乏症状が認められ収量も低くなったが、それ以外の異常な症状等は観察されなかった。

ニンジンの収量、カドミウム濃度及び吸収量を Table 9 に示した。汚泥肥料施用区及び標準区の収量は、生体重平均値で根部がそれぞれ 8.90 kg と 8.93 kg、葉部がそれぞれ 6.05 kg と 6.20 kg であり、標準区の収量を 100 とした汚泥肥料施用区の収量指数は根部が 100、葉部が 98 でほぼ同じ収量であった。

汚泥肥料施用区及び標準区のカドミウム濃度(乾物)については、平均値で根部がそれぞれ 0.18 mg/kg と 0.15 mg/kg、葉部がそれぞれ 0.33 mg/kg と 0.28 mg/kg であり、根部については汚泥肥料施用区が有意に高かった($p < 0.01$)が、その現物濃度は Codex 基準値の 1/4 以下であった。汚泥肥料施用区及び標準区の試験区当たりのカドミウム吸収量については、平均値で根部がそれぞれ 0.17 mg と 0.13 mg、葉部がそれぞれ 0.25 mg と 0.18 mg であり、根部については汚泥肥料施用区が有意に高かった($p < 0.01$)。作物体全体の試験区当たりのカドミウム吸収量の平均値は汚泥肥料施用区で 0.38 mg、標準区で 0.29 mg であった。

(2) 跡地土壌のカドミウム濃度

跡地土壌の全 Cd 濃度(作土層(表層から 0 cm -15 cm)及びその下層(15 cm -25 cm))、0.1 mol/L HCl-Cd 濃度、1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd 濃度、pH 及び EC を Table 10 に示した。作土層の全 Cd 濃度は、汚泥肥料施用区は 0.57 mg/kg、標準区は 0.47 mg/kg で、汚泥肥料施用区が有意に高かった($p < 0.01$)。下層(表層から 15-25 cm)の全 Cd 濃度は、汚泥肥料施用区は 0.46 mg/kg、標準区は 0.44 mg/kg で、試験区間で有意差は確認できなかった。0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は、汚泥肥料施用区は 0.20 mg/kg、標準区は 0.15 mg/kg で、汚泥肥料施用区が有意に高かった($p < 0.01$)。1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd 濃度は、汚泥肥料施用区は 0.038 mg/kg、標準区は 0.026 mg/kg で、汚泥肥料施用区が有意に高かった($p < 0.01$)。

Table 10 Characteristics of cultivated soil in summer 2014

	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	Significance test
< Sludge-fertilizer-application plot (AP) >							
Total-Cd ¹⁾ , upper layer soil ²⁾	mg/kg	0.54	0.54	0.61	0.59	0.57	Significance ⁸⁾
Total-Cd ¹⁾ , lower layer soil ³⁾	mg/kg	0.48	0.48	0.44	0.43	0.46	Pending ⁹⁾
0.1 mol/L HCl-Cd ⁴⁾	mg/kg	0.19	0.20	0.21	0.21	0.20	Significance
Exchangeable-Cd ⁵⁾		0.038	0.038	0.038	0.039	0.038	Significance
pH (H ₂ O) ⁶⁾		6.9		6.8			
EC ⁷⁾	mS/m	16.9		17.7			
< Standard plot (SP) >							
Total-Cd ¹⁾ , upper layer soil ²⁾	mg/kg	0.43	0.47	0.48	0.50	0.47	
Total-Cd ¹⁾ , lower layer soil ³⁾	mg/kg	0.44	0.45	0.43	0.43	0.44	
0.1 mol/L HCl-Cd ⁴⁾	mg/kg	0.14	0.15	0.15	0.16	0.15	
Exchangeable-Cd ⁵⁾		0.025	0.024	0.026	0.027	0.026	
pH (H ₂ O) ⁶⁾		6.8		6.8			
EC ⁷⁾	mS/m	15.4		16.9			

1) Content in the dry matter

2) 0 cm - 15 cm depth

3) 15 cm - 25 cm depth

4) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid in the drying soil

5) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil

6) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, $n = 2$

7) Soil electrical conductivity determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with an electrical conductivity meter, $n = 2$

8) It is significantly different for standard plot (two-way factorial ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2×2) (repetition × number of samples))

9) It was pending decision to be significantly different for Standard plot and for interaction (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2×2) (repetition × number of samples))

4. 考 察

1) 2009年連用試験開始時からの推移について

2009年の試験開始時から、これまで6年間、年2作、計11作の試験を行った。各試験結果等の推移については下記のとおりであった。

(1) 施肥履歴

これまでの試験における施肥履歴を Table 11 に示した。

Table 11 The fertilizer application log of the test plots

Year	Season	Test crops	Fertilizers	<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>				<Standard plot (SP)>					
				Amount of application (kg/10 a)	The applied components per 10 a				Amount of application (kg/10 a)	The applied components per 10 a			
					N	P ¹⁾	K ²⁾	Cd		N	P ¹⁾	K ²⁾	Cd
2009	Summer	Carrot	Sludge fertilizer	332	11	17	1	1.2	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	52	11	—	—	—	104	22	—	—	—
			Potassium dihydrogen phosphate	3	—	2	1	—	36	—	19	12	—
			Potassium chloride	28	—	—	—	—	12	—	—	8	—
			Total		22	19	20	1.2		22	19	20	0
2009	Winter	Spinach	Sludge fertilizer	302	10	16	1	1.1	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	47	10	—	—	—	95	20	—	—	—
			Potassium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	30	—	16	10	—
			Potassium chloride	27	—	—	—	—	12	—	—	8	—
			Total		20	16	18	1.1		20	16	18	0
2010	Summer	Carrot	Sludge fertilizer	227	8	12	1	0.8	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	36	8	—	—	—	71	15	—	—	—
			Potassium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	23	—	12	8	—
			Potassium chloride	15	—	—	—	—	3	—	—	2	—
			Total		15	12	10	0.8		15	12	10	0
2010	Winter	Qing geng cai	Sludge fertilizer	181	6	9	1	0.7	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	28	6	0	0	—	57	12	—	—	—
			Potassium dihydrogen phosphate	5	—	3	2	—	23	—	12	8	—
			Potassium chloride	15	0	0	10	—	6	—	—	4	—
			Total		12	12	12	0.7		12	12	12	0
2011	Summer	Turnip	Sludge fertilizer	227	8	12	1	0.8	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	33	7	—	—	—	57	12	—	—	—
			Ammonium dihydrogenphosphate	6	1	3	—	—	24	3	15	—	—
			Potassium chloride	22	—	—	—	—	24	—	—	15	—
			Total		15	15	15	0.8		15	15	15	0
2011	Winter	Spinach	Sludge fertilizer	483	16	25	2	1.8	—	—	—	—	—
			Urea	22	10	—	—	—	43	20	—	—	—
			Potassium dihydrogen phosphate	1	—	1	1	—	50	—	26	17	—
			Potassium chloride	25	—	—	16	—	1	—	—	1	—
			Total		26	26	18	1.8		20	26	18	0
2012	Summer	Carrot	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	65	14	—	—	—	80	17	—	—	—
			Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	—
			Potassium chloride	29	—	—	18	—	32	—	—	20	—
			Fused magnesium phosphate	50	—	10	—	—	50	—	10	—	—
			Total		30	36	20	1.8		22	36	20	0
2012	Winter	Spinach	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	71	15	—	—	—	71	15	—	—	—
			Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	—
			Potassium chloride	26	—	—	16	—	29	—	—	18	—
			Fused magnesium phosphate	50	—	10	—	—	50	—	10	—	—
			Total		32	36	18	1.8		20	36	18	0
2013	Summer	Carrot	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	81	17	—	—	—	80	17	—	—	—
			Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	—
			Potassium chloride	29	—	—	18	—	32	—	—	20	—
			Fused magnesium phosphate	50	—	10	—	—	50	—	10	—	—
			Total		34	36	20	1.8		22	36	20	0
2013	Winter	Spinach	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	—
			Ammonium sulfate	87	18	—	—	—	71	15	—	—	—
			Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	—
			Potassium chloride	26	—	—	16	—	29	—	—	18	—
			Fused magnesium phosphate	250	—	25	—	—	250	—	25	—	—
			Total		35	51	18	1.8		20	51	18	0
2014	Summer	Carrot	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	—
			Urea	23	11	—	—	—	30	14	—	—	—
			Ammonium dihydrogenphosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	—
			Potassium chloride	23	—	—	14	—	25	—	—	16	—
			Fused magnesium phosphate	291	—	58	—	—	33	—	7	—	—
			Total		27	84	16	1.8		19	33	16	0

1) Content as P₂O₅

2) Content as K₂O

(2) 作物体の収量

作物体の収量(生体重)の推移は Table 12 のとおりである。これまでの試験の収量は、参考にした自治体施肥基準に記載されている目標収量と同等以上であり、一定の収量を確保できていると考えられる。標準区に対する汚泥肥料施用区の生体重指数を見ると、試験開始から主に葉菜類において、汚泥肥料施用区の収量が 8 割程度で推移した。これは、汚泥肥料施用区の施肥設計において、汚泥肥料の連用による残効¹⁹⁾を考慮して、窒素肥効率を 100 %として計算していたが、連用 6 作目の 2011 年冬作ホウレンソウにおいても収量が標準区に対して 8 割程度であった。この原因として、窒素要求量の比較的少ないニンジン(2009 年夏作)では両試験区間での収量が同程度であったことから、汚泥肥料の窒素肥効率は標準区の試薬よりも低いことが考えられる。そこで、改めて供試肥料であるし尿汚泥肥料の窒素無機化率を確認するため、無機化試験(恒温槽 30 °C で 240 日間培養)を実施したところ、培養期間 90 日までに無機化率 30 %となり、その後ほぼ一定で推移した。この結果から、2012 年冬作ホウレンソウは汚泥肥料の窒素肥効率を 30 %として施肥したところ、標準区の生体重を 100 とした汚泥肥料施用区の生体重指数は 85 となった。冬は地温が低いため、無機化試験の温度 30 °C と比較して無機化率が低くなっていると考えられる。2013 年夏作ニンジンは汚泥肥料の窒素肥効率を 30 %として施肥したところ、標準区の生体重を 100 とした汚泥肥料施用区の生体重指数は 118 となった。これは、前作である冬作の残効があることが考えられる。以上のことから、供試肥料としているし尿汚泥肥料については、窒素肥効率を夏作ニンジンでは 50 %、冬作ホウレンソウでは 10 %として施肥設計を計算することが適当と考えられる。窒素肥効率を 10 %として施肥した 2013 年冬作ホウレンソウでは、標準区を 100 とした汚泥肥料施用区の生体重指数は 93 となり、汚泥肥料施用区の生体重指数は増加したものの、同等の収量とはならなかった。現在試験中の 2014 年冬作ホウレンソウ試験においては、供試汚泥肥料の窒素肥効率を 0 %として施肥している。

また、2014 年夏作ニンジンにおいて過去の試験結果と比較して下葉が黄化する窒素欠乏症状が早期に認められ収量も低かった。これは、施肥設計において参考とした自治体施肥基準が減肥設計に改訂され(窒素施用量(改訂前) 22 kg/10a(改訂後) 19 kg/10a)、栽培した品種も減肥栽培が推奨されているもののため、改訂された施肥基準に従い過去の試験と比較して窒素施用量を少なく施用したことが影響したと考えられる。通常、ニンジンは自治体施肥基準では堆肥により土づくりを行い、根の肥大を促進するため基肥は緩効性肥料を使用し、加えて追肥を行うこととされている⁶⁾。しかし、本試験では堆肥による土づくり、緩効性肥料の使用及び追肥が困難なため基肥のみの施肥方法としている。基肥のみで一定の収量を確保するためには窒素施用量は、施肥基準の量 19 kg/10a よりも多くし 2013 年夏作以前と同量(22 kg/10a)程度とする必要があると考えられる。

(3) 跡地土壌の理化学性の推移

(3.1) 跡地土壌の pH

跡地土壌 pH の推移は Fig.2 のとおりである。pH 6.0~pH 6.9 の範囲内で試験区間差も小さく推移している。石灰含量の低い高分子凝集汚泥を連用施用した場合に土壌 pH が低下することが知られている¹¹⁾が、本試験では pH 6.0 を下回らないよう、適宜、石灰資材による pH の補正を行っている。また、供試土壌が黒ボク土であることや、高分子凝集剤を使用したし尿汚泥肥料の施用量が極端には多くないため、連用施用による pH の変動は比較的少ないものとなっていると考えられる。土壌 pH の変動は、土壌中カドミウムの作物体への可給性に影響を及ぼすことが知られている^{20, 21)}。本試験では、汚泥肥料施用区と標準区の跡地土壌 pH はほぼ同程度で推移していることから、各試験でのカドミウム動態の処理間差に土壌 pH はほとんど影響していないものと考えられる。

Table 12 The yield of each crop body of 2009 to 2014 (fresh weight)

Year	Season	Test Crops	Part	AP ¹⁾	SP ²⁾	Aim	Fresh
				Fresh weight (kg/plot)	Fresh weight (kg/plot)	yield ³⁾ (kg/plot)	weight index of AP ⁴⁾
2009	Summer	Carrot	Root	18.0 (0.1) ⁵⁾	17.9 (1.0)	-	101
			Leaf	10.5 (0.4)	9.6 (0.9)	-	109
			Total	28.5 (0.4)	27.6 (1.8)	16	104
2009	Winter	Spinach	Edible portion	13.7 (0.8)	18.6 (1.0)	8	74
2010	Summer	Spinach	Edible portion	4.5 (0.1)	5.8 (0.6)	4	77
2010	Winter	Qing geng cai	Edible portion	22.4 (0.7)	26.9 (0.8)	12	83
2011	Summer	Turnip	Root	8.9 (0.6)	9.4 (0.9)	-	95
			Leaf	8.7 (1.0)	10.0 (1.3)	-	88
			Total	17.6 (1.5)	19.3 (2.2)	16	91
2011	Winter	Spinach	Edible portion	8.1 (0.0)	10.3 (0.5)	8	79
2012	Summer	Carrot	Root	12.3 (0.5)	12.1 (0.2)	-	101
			Leaf	10.0 (0.6)	9.7 (0.8)	-	103
			Total	22.3 (0.1)	21.8 (0.5)	14	102
2012	Winter	Spinach	Edible portion	11.3 (0.5)	13.3 (0.6)	8	85
2013	Summer	Carrot	Root	12.2 (0.9)	10.3 (1.4)	-	118
			Leaf	5.4 (0.3)	4.6 (0.6)	-	119
			Total	17.6 (1.2)	14.9 (2.0)	14	118
2013	Winter	Spinach	Edible portion	16.7 (1.2)	17.9 (0.8)	8	93
2014	Summer	Carrot	Root	8.9 (0.4)	8.9 (0.1)	-	100
			Leaf	6.1 (0.6)	6.2 (0.8)	-	98
			Total	15.0 (0.9)	15.1 (1.0)	14	99

1) Sludge-fertilizer-application plot

2) Standard plot

3) This value is shown in the recommending rate of fertilizer application (local government) exchanging aim yield (kg/10 a) to 4 m².

4) Fresh weight index of sludge-fertilizer-application plot when standard plot assume 100.

5) Standard deviation ($n = 2$ (2 repetition))

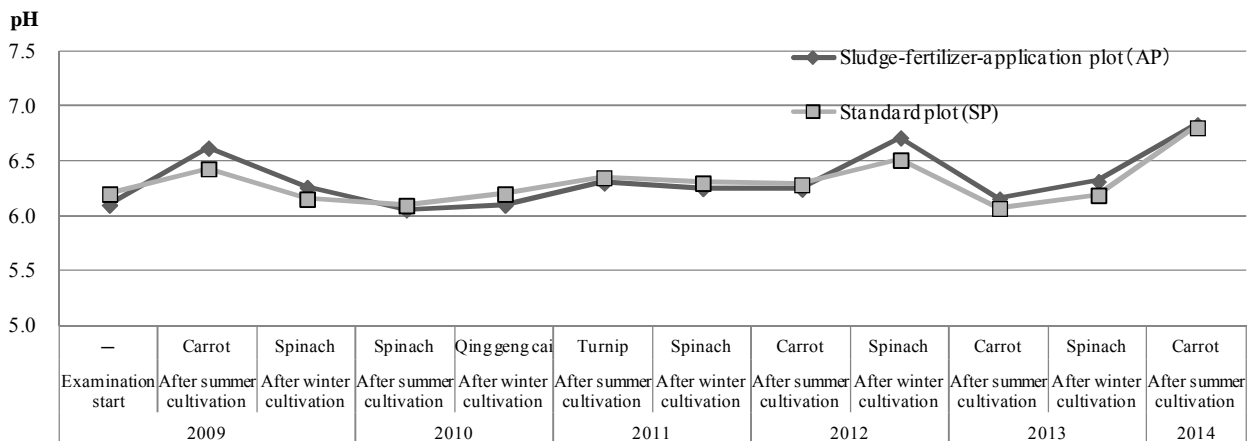


Fig. 2 Changes in the pH of soil after harvest

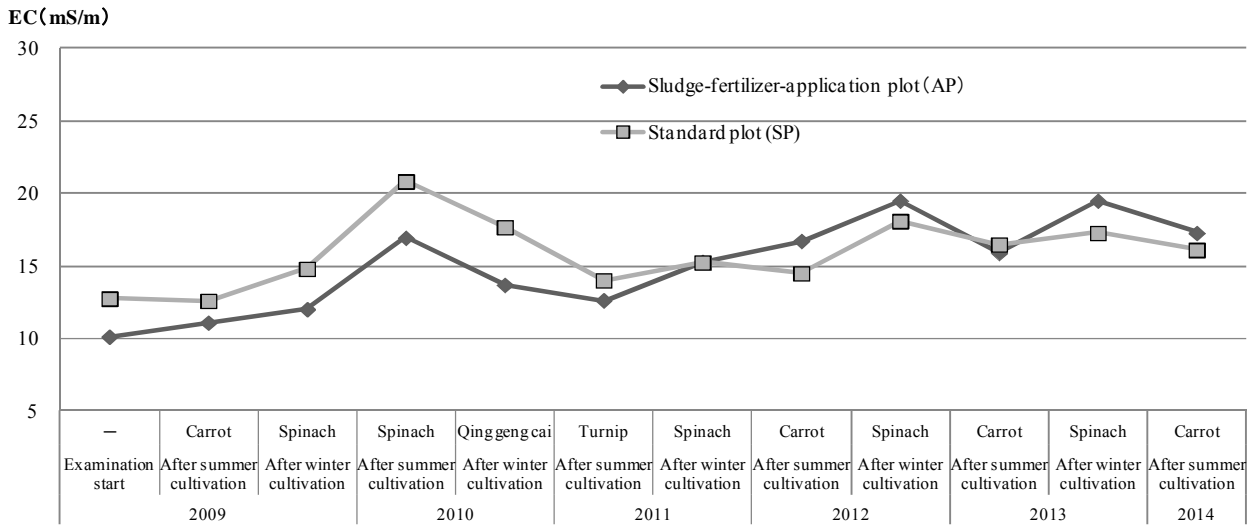


Fig. 3 Changes in the EC of soil after harvest

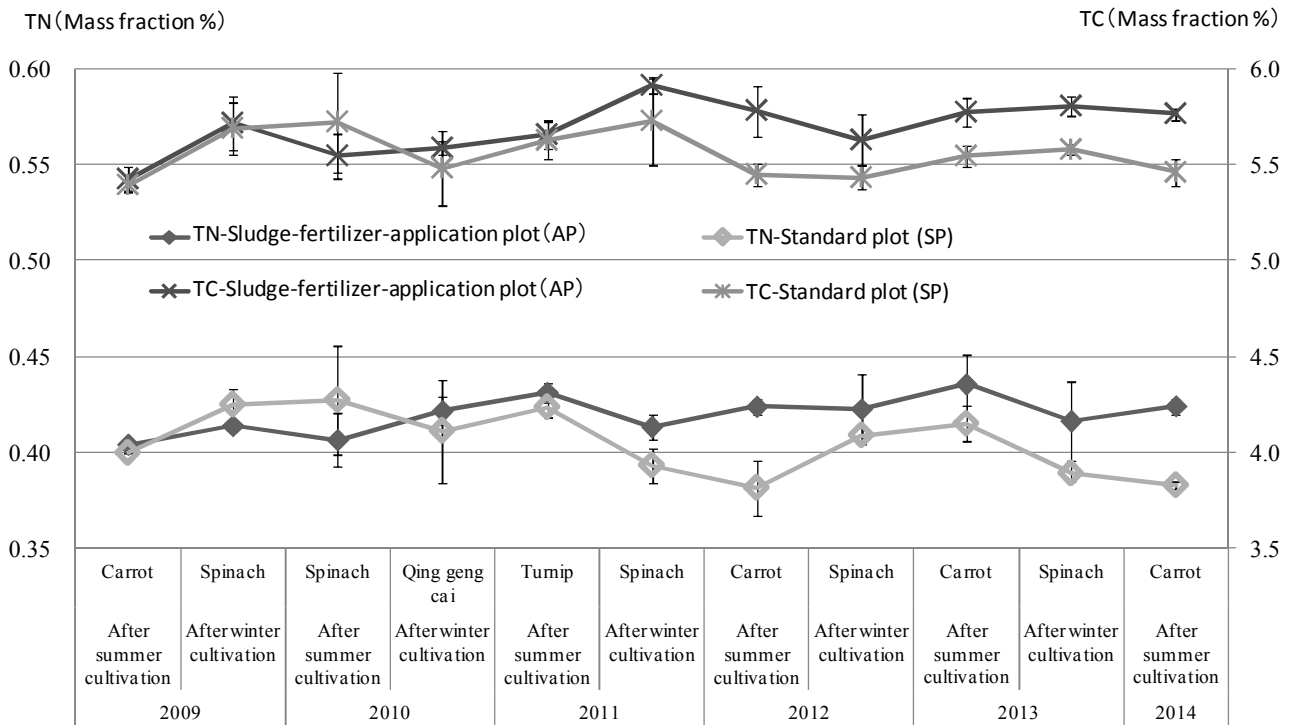


Fig. 4 Changes in the total nitrogen (TN) and total carbon (TC) of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

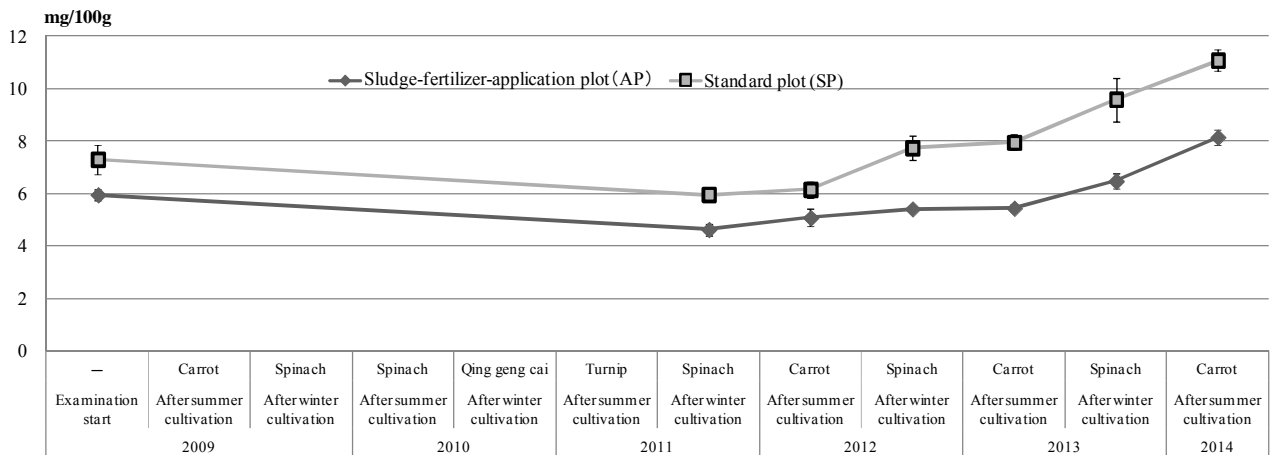


Fig. 5 Changes in the available phosphate of soil after harvest (The error bar indicating the standard deviation)

(3.2) 跡地土壌の EC

跡地土壌 EC の推移は Fig.3 のとおりである。試験開始以降、年々上昇傾向となっている。これは、肥料由来の塩類が土壌中に蓄積しているためと考えられる。冬作跡地土壌において EC が上昇する傾向があり、これは、夏作よりも降水量が少ないことが一因として考えられる。地力増進基本指針¹²⁾における EC(電気伝導度)の改善目標は黒ボク土で 30 mS/m 以下とされている。作物の種類により最適 EC は異なるが、今後、EC が上昇を続けた場合、作物生育に影響を及ぼす可能性もあるため、推移を確認する必要がある。2014 年夏作ニンジン試験では、EC 上昇防止及び比較的緩効性の肥料とするため、これまで使用していた窒素肥料を硫酸アンモニウムから尿素に変更したところ、EC の上昇は比較的少なかった。

(3.3) 跡地土壌の全窒素 (TN) 及び全炭素 (TC)

跡地土壌の全窒素 (TN) 及び全炭素 (TC) の推移は Fig.4 のとおりである。試験開始当初は TN 及び TC において試験区間でほぼ同等であったが、2011 年冬作ホウレンソウ以降、常に汚泥肥料施用区の方が高く推移している。これは、汚泥肥料施用区は汚泥肥料由来の有機物が毎回施用されているが、標準区は有機物の施用がない状態で連作しているため、土壌中の有機物濃度が減少する傾向にあると考えられる。肥料由来のカドミウムは土壌中の有機物と結合し不可給態化することが知られており²²⁾、有機物濃度の差が土壌中のカドミウムの動態や作物への可給性に影響する可能性があるため、推移を確認する必要がある。

(3.4) 跡地土壌の有効態りん酸

跡地土壌の有効態りん酸の推移は Fig.5 のとおりである。試験開始当初から汚泥肥料施用区と比較して標準区が高く推移している。供試土壌が黒ボク土のため試験開始当初から有効態りん酸が比較的低いことが作物生育の制限となる可能性が考えられる。そのため、2012 年夏作試験から地力増進基本指針¹¹⁾の改善目標である 10 mg/100g を目標に試験毎に熔成りん肥を施用した結果、2014 年夏作跡地土壌において標準区は 10 mg/100g 以上となったが、汚泥肥料施用区は標準区と比較して有効態りん酸の上昇率が低かった。これは、汚泥肥料由来のりん酸が無機肥料由来のリン酸と比較して肥効率が低いこと、また、汚泥肥料に含まれる凝集剤等と結合しりん酸が不可給態化していることが考えられる。土壌の pH が中性に近づくと、土壌のカドミウムは、りん酸イオンと結合して水に溶けにくい化学形態のものが増加することが知られている²⁰⁾。今後は、りん酸の施肥設計を見直し、両試験区の有効態りん酸を 10 mg/100g 程度に保ち、カドミウムの動態を観察する必要がある。

と考えられる。

(3.5) 跡地土壌の交換性塩基(加里, 苦土, 石灰)

跡地土壌の交換性塩基(加里, 苦土, 石灰)の推移は Fig.6 のとおりである。

交換性石灰及び加里はほぼ一定で推移していた。

交換性苦土は、試験開始時と 2011 年冬作跡地土壌を比較するとやや減少していた。その後 2012 年夏作の作付け前から、各試験区の有効態りん酸を増加させることを目的として熔成りん肥の施用を開始した。2013 年冬作までは全ての試験区に同量の熔成りん肥を施用していたが、上記(3.4)のとおり、汚泥肥料施用区は標準区と比較して熔成りん肥施用量に対する有効態りん酸の増加率が低いため、2014 年夏作では標準区よりも熔成りん肥施用量を多く施用した。このため、標準区と比較して汚泥肥料施用区の跡地土壌中の交換性苦土が高い状態となっていると考えられる。交換性塩基の違いが、作物生育及びカドミウムの動態に影響があるか今後の推移を確認する必要があると考えられる。

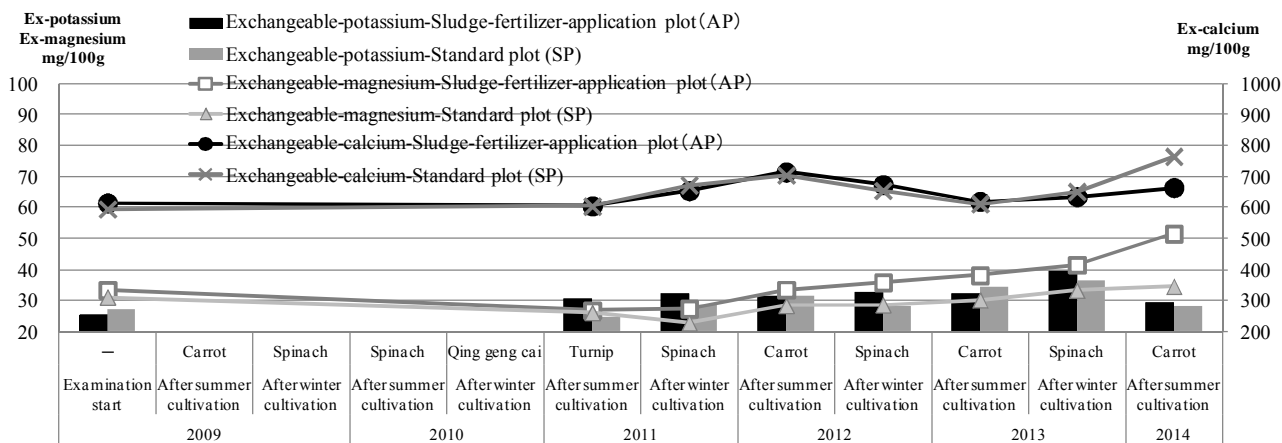


Fig. 6 Changes in the exchangeable base of soil after harvest

(4) 跡地土壌のカドミウム等濃度の推移

(4.1) 跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移は Table 13 及び Fig.7 のとおりである。

汚泥肥料施用区及び標準区の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移について傾向を把握するため、それぞれの処理区における、試験開始時からの経過月(各試験の間隔は 6 ヶ月とした)に対する 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の線形単回帰分析を行った(単回帰式の分散分析表の p 値により評価, 両側有意水準 5%) (Table 13). 2014 年夏作跡地までの汚泥肥料施用区の回帰は有意でなく ($p=0.30$) 一定で推移している傾向であった。一方、標準区では、2011 年冬作跡地以降、回帰が有意となり下降傾向が認められ ($p<0.05$), 両試験区間の差は大きくなる傾向であった。また、2011 年冬作以降、汚泥肥料施用区の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度が標準区に比べて有意に高くなり、以後同様の結果が続いている。これは、標準区は肥料由来のカドミウム負荷がないため、各試験において作物体の収穫により土壌中カドミウムの圃場外への持ち出しが継続されること等により、跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度についても減少する傾向となっていると考えられる。

Table 13 Changes in the 0.1 mol/L HCl-Cd concentration¹⁾ of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	AP ²⁾	SP ³⁾	Significance test (difference between the processing)	p-value of single regression analysis ⁴⁾	
			(mg/kg)	(mg/kg)		AP ²⁾	SP ³⁾
2009	Start	—	0.19 (0.01) ⁵⁾	0.20 (0.02)	N.S. ⁶⁾	—	—
2009	Summer	Carrot	0.21 (0.01)	0.21 (0.02)	N.S.	—	—
2009	Winter	Spinach	0.20 (0.003)	0.18 (0.01)	Pending ⁷⁾	—	—
2010	Summer	Spinach	0.19 (0.01)	0.17 (0.02)	Pending	—	—
2010	Winter	Qing geng cai	0.18 (0.02)	0.18 (0.01)	N.S.	0.55	0.20
2011	Summer	Turnip	0.19 (0.004)	0.18 (0.01)	N.S.	0.41	0.11
2011	Winter	Spinach	0.20 (0.01)	0.17 (0.01)	Significance ⁸⁾	0.63	< 0.05 ⁹⁾
2012	Summer	Carrot	0.19 (0.005)	0.15 (0.01)	Significance	0.41	< 0.01
2012	Winter	Spinach	0.21 (0.01)	0.17 (0.01)	Significance	0.98	< 0.01
2013	Summer	Carrot	0.20 (0.004)	0.16 (0.01)	Significance	0.89	< 0.01
2013	Winter	Spinach	0.22 (0.01)	0.16 (0.00)	Significance	0.34	< 0.01
2014	Summer	Carrot	0.20 (0.006)	0.15 (0.00)	Significance	0.30	< 0.01

1) Content in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) The *p*-value which calculated from dispersion analysis for linear regression by examination start of each examination plot.

5) Standard deviation ($n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

6) It is no significantly different for processing examination section (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

7) It was pending decision to be significantly different for Standard plot and for interaction (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

8) It is significantly different for processing examination section (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

9) It show that regression is significant in $p < 0.05$ (5 % of both sides levels of significance).

(4.2) 跡地土壌の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度

跡地土壌の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度の推移(2009 年冬作～2014 年夏作まで)は Table 14 及び Fig.8 のとおりである。

汚泥肥料施用区及び標準区の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度の推移について傾向を把握するため、それぞれの処理区における、2009 年冬作からの経過月(各試験の間隔は 6 ヶ月とした)に対する 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度の線形単回帰分析を行った(単回帰式の分散分析表の *p* 値により評価, 両側有意水準 5 %) (Table 14). 2014 年夏作跡地までの汚泥肥料施用区の回帰は有意でなく($p > 0.05$), 一定で推移している傾向であった。一方, 標準区では, 2012 年夏作跡地以降, 回帰が有意となり($p < 0.05$) 下降傾向が認められ, 両試験区間の差は大きくなる傾向であった。この傾向は 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度と同様であった (Table 13 及び Fig.7)。

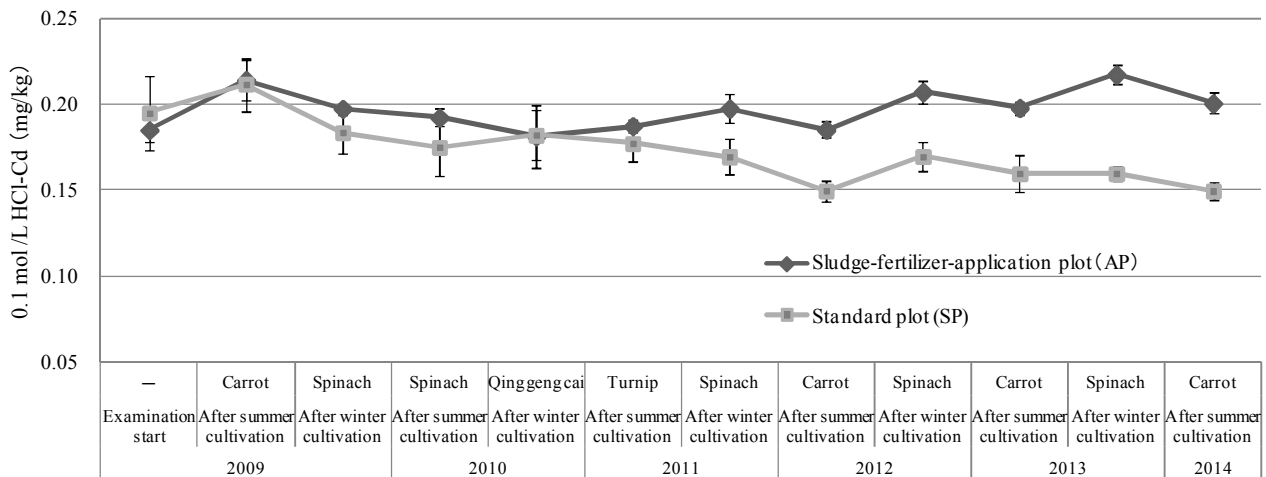


Fig. 7 Changes in the 0.1 mol/L HCl-Cd concentration of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

Table 14 Changes in the exchangeable-Cd concentration¹⁾ of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	AP ²⁾	SP ³⁾	Significance test (difference between the processing)	p-value of single regression analysis ⁴⁾	
			(mg/kg)	(mg/kg)		AP ²⁾	SP ³⁾
2009	Winter	Spinach	0.036 (0.002) ⁵⁾	0.037 (0.002)	N.S. ⁶⁾	—	—
2010	Summer	Spinach	0.038 (0.002)	0.036 (0.003)	N.S.	—	—
2010	Winter	Qing geng cai	0.041 (0.001)	0.037 (0.001)	Significance ⁷⁾	—	—
2011	Summer	Turnip	0.036 (0.0004)	0.035 (0.003)	Pending ⁸⁾	—	—
2011	Winter	Spinach	0.039 (0.001)	0.035 (0.002)	Significance	0.58	0.13
2012	Summer	Carrot	0.037 (0.001)	0.032 (0.001)	Significance	0.93	< 0.05 ⁹⁾
2012	Winter	Spinach	0.038 (0.001)	0.032 (0.003)	Significance	0.93	< 0.01
2013	Summer	Carrot	0.038 (0.001)	0.031 (0.001)	Significance	0.91	< 0.01
2013	Winter	Spinach	0.041 (0.003)	0.029 (0.002)	Significance	0.34	< 0.01
2014	Summer	Carrot	0.038 (0.0005)	0.026 (0.001)	Significance	0.38	< 0.01

1) Content of cadmium dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) The p-value which calculated from dispersion analysis for linear regression by examination start of each examination plot.

5) Standard deviation (n = 4 (2 × 2) (repetition × number of samples))

6) It is no significantly different for processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2 × 2) (repetition × number of samples))

7) It is significantly different for processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, n = 4 (2 × 2) (repetition × number of samples))

8) It was pending decision to be significantly different for Standard plot and for interaction (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, the cadmium concentration is n = 4 (2 × 2) (repetition × number of samples))

9) It show that regression is significant in p < 0.05 (5 % of both sides levels of significance).

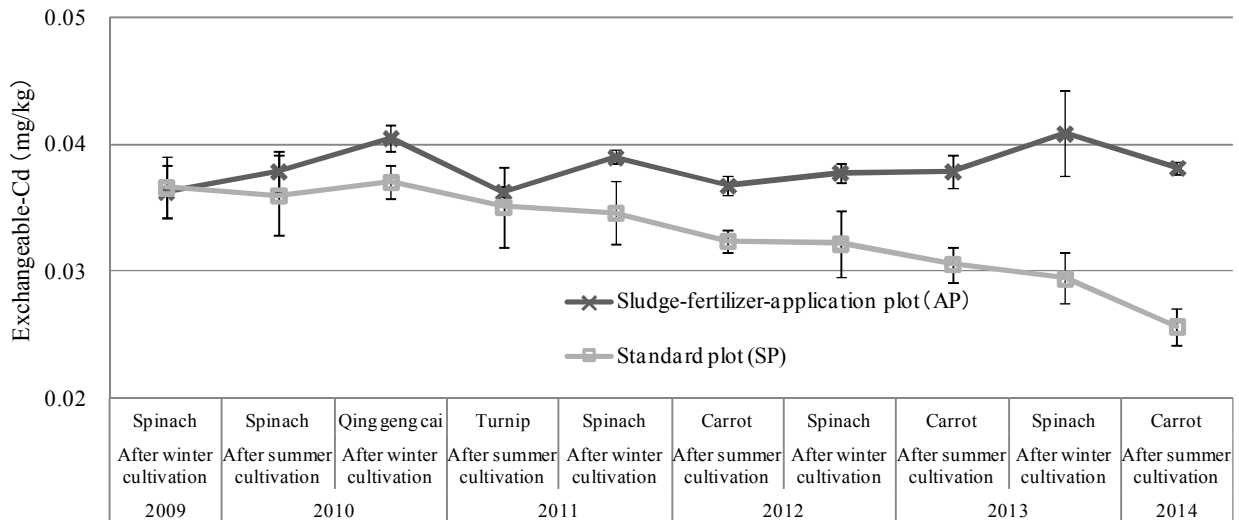


Fig. 8 Changes in the exchangeable-Cd concentration of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

(4.3) 跡地土壌の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cu 及び Zn 濃度

跡地土壌の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cu 及び Zn 濃度の推移 (2009 年冬作～2014 年夏作まで) は Table 15 及び Fig.9 のとおりである。汚泥肥料中にカドミウムと比較して多量に含まれる銅及び亜鉛について、カドミウムの土壌蓄積の参考とするため推移を確認した。

汚泥肥料施用区及び標準区の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cu 及び Zn 濃度の推移について傾向を把握するため、それぞれの処理区における、2009 年冬作からの経過月 (各試験の間隔は 6 ヶ月とした) に対する 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cu 及び Zn 濃度の線形単回帰分析を行った (単回帰式の分散分析表の p 値により評価, 両側有意水準 5%)。1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cu については、2014 年夏作跡地までの汚泥肥料施用区及び標準区の回帰は有意でなく ($p > 0.05$), 一定で推移している傾向であった。1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Zn については、汚泥肥料施用区では、2011 年冬作跡地以降、回帰が有意となり ($p < 0.05$) 上昇傾向が認められた。一方、標準区は一定で推移しており ($p > 0.05$), 両試験区間の差は大きくなる傾向であった。

黒ボク土を用い、高分子凝集剤を使用した汚泥の連用ポット試験において、汚泥の連用によって土壌中の可溶性のカドミウム、銅及び亜鉛の増加が認められ、施肥量が多いほど蓄積量は多く、銅及びカドミウム濃度の増加傾向は亜鉛ほど顕著ではなかったことが報告されており²³⁾、この報告と今回の結果は矛盾しないものであった。

土壌では粘土や有機物に重金属は吸着され蓄積する。その吸着の強さは腐植質火山灰土壌の腐植酸を用いた測定では pH 5 の場合「銅 > 亜鉛 > カドミウム」となっている²⁴⁾。1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cu が一定で推移している理由として、土壌有機物等への吸着が比較的に強いこと、現状の負荷量では可溶化する銅が増加していないことが考えられる。一方、1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Zn が上昇傾向である理由は、供試汚泥肥料中の亜鉛濃度が 1760 mg/kg (Table 2) と銅やカドミウムと比較して非常に高く、銅よりも土壌中で動きやすいために汚泥肥料の連用施用により上昇傾向となっていると考えられる。カドミウムについては、亜鉛及び銅と比較して連用による負荷量は少ないものの、亜鉛よりも土壌中で動きやすいことから、汚泥肥料を長期連用した場合や大量施用により負荷量が増大した場合は、亜鉛と同様に作物に吸収可能なカドミウム濃度が上昇傾向となる可能性が考えられる。

また、亜鉛濃度の高い汚泥肥料を連用した試験において、負荷量が多い試験区(1 作当たり 2 t/10a 及び 6 t/10a)の 7 作目(コマツナ)及び 9 作目(コカブ)において土壌の pH 6.0 未満という条件で亜鉛の過剰症状(クロロシス及び生育抑制)が認められたという報告がある²⁵⁾。本試験では土壌 pH を 6.0 以上に保っているため影響は少ないと考えられるが、亜鉛を多く含む汚泥肥料を多量に長期連用する場合には、土壌 pH の変動とともに亜鉛の過剰症状についても注意する必要があると考えられた。

Table 15 Changes in the exchangeable-Cu and Zn concentration¹⁾ of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	Cu		Zn	
			AP ²⁾ (mg/kg)	SP ³⁾ (mg/kg)	AP ²⁾ (mg/kg)	SP ³⁾ (mg/kg)
2009	Winter	Spinach	0.40 (0.07) ⁴⁾	0.40 (0.03)	1.3 (0.1)	1.2 (0.2)
2010	Summer	Spinach	0.37 (0.02)	0.36 (0.04)	1.3 (0.04)	1.2 (0.2)
2010	Winter	Qing geng cai	0.35 (0.004)	0.33 (0.004)	1.3 (0.1)	1.1 (0.1)
2011	Summer	Turnip	0.29 (0.002)	0.28 (0.01)	1.5 (0.1)	1.3 (0.3)
2011	Winter	Spinach	0.46 (0.01)	0.39 (0.02)	1.6 (0.2)	1.3 (0.3)
2012	Summer	Carrot	0.40 (0.04)	0.37 (0.02)	1.6 (0.1)	1.1 (0.1)
2012	Winter	Spinach	0.35 (0.02)	0.33 (0.03)	1.7 (0.1)	1.3 (0.1)
2013	Summer	Carrot	0.33 (0.02)	0.31 (0.01)	1.9 (0.2)	1.2 (0.1)
2013	Winter	Spinach	0.36 (0.13)	0.25 (0.05)	1.9 (0.1)	1.1 (0.1)
2014	Summer	Carrot	0.41 (0.04)	0.34 (0.06)	2.2 (0.1)	1.0 (0.1)

1) Content of copper and zinc dissolved with pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) Standard deviation ($n = 4$ (2×2) (repetition \times number of samples))

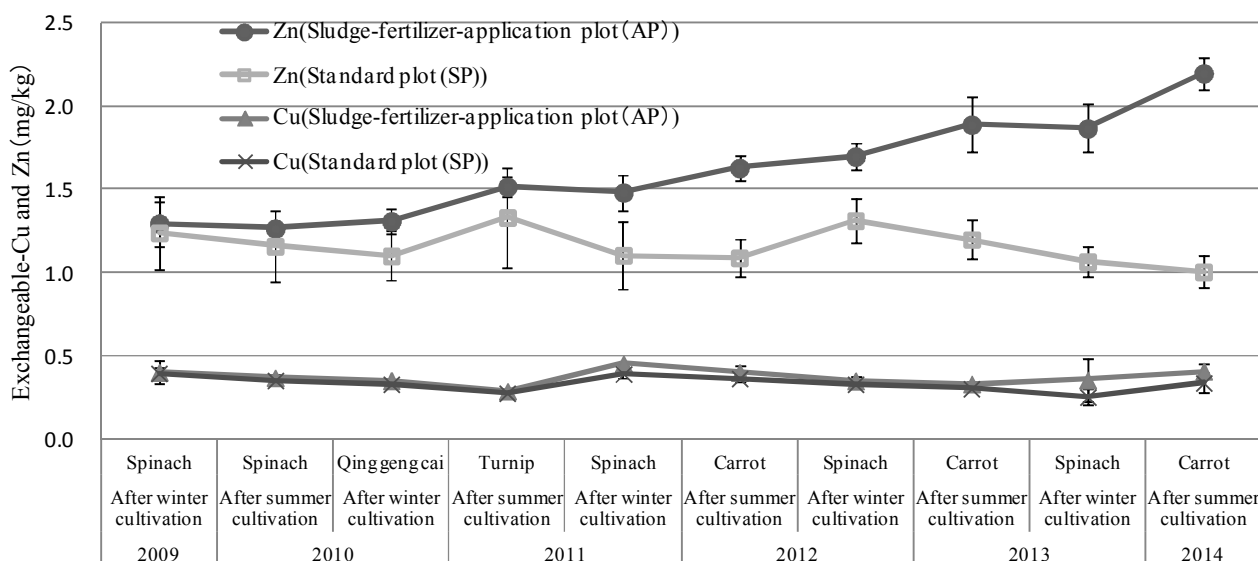


Fig. 9 Changes in the exchangeable-Cu and Zn density of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

(4.4) 跡地土壌の全 Cd 濃度

跡地土壌の全 Cd 濃度の推移は Table 16 及び Fig.10 のとおりである。

汚泥肥料施用区及び標準区の全 Cd 濃度の推移について傾向を把握するため、それぞれの処理区における、2009 年夏作からの経過月(夏作から冬作までの間隔は 6 ヶ月とした)に対する全 Cd 濃度の線形単回帰分析を行った(単回帰式の分散分析表の p 値により評価, 両側有意水準 5 %) (Table 16). 2014 年夏作跡地までの汚泥肥料施用区は上昇傾向($p < 0.05$)が認められ, 標準区の回帰は一定で推移している傾向であった($p > 0.05$).

汚泥肥料施用区及び標準区の全 Cd 濃度を比較したところ, 調査した 2009 年夏作から汚泥肥料施用区が標準区より有意に高くなっており, その差は 2012 年夏作以降, 顕著なものとなり以後同様の結果が続いている. これは, 汚泥肥料施用区は汚泥肥料由来のカドミウム負荷量が, 作物体の収穫による土壌中カドミウムの圃場外への持ち出し量よりも多いため, カドミウムが蓄積する傾向にあるが, 標準区は肥料由来のカドミウム負荷がないためと考えられる.

(4.5) 跡地土壌の全 Cd 濃度の垂直分布

連用試験開始から 6 年目 11 作目である 2014 年夏作ニンジンの跡地土壌について, 全 Cd 濃度の垂直分布を調査するため, 作土層(表層から 0 cm -15 cm)及びその下層(15 cm -25 cm)の全 Cd 濃度を分析した結果を Table 16 及び Fig.10 に示した. 汚泥肥料施用区作土層の全 Cd 濃度は, 汚泥肥料施用区下層, 標準区作土層及び標準区下層と比較して有意に高かった($p < 0.05$). 汚泥肥料施用区下層及び標準区作土層, 下層の全 Cd 濃度に有意差はなかった($p > 0.05$).この結果から, 現状, 全 Cd としての評価では両試験区ともカドミウムの下層への移行はほとんどないと考えられる. 黒ボク土の場合, 肥料由来のカドミウムはほとんどが作土層に留まり, 下層にはほとんど溶出しないことが報告されており²⁶⁾, これと矛盾しない結果であった. 上記(4.1)及び(4.2)において標準区の土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度及び 1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd 濃度が減少傾向($p < 0.05$)となっている主な要因は, 下層への移行よりも, 作物収穫による持出し及び土壌中の有機物等と結合すること²²⁾により 0.1 mol/L 塩酸又は 1 mol/L 酢安(pH 7.0)には不溶な形態として作土中に蓄積していることが考えられる.

Table 16 Changes in the total-Cd concentration¹⁾ of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	Upper layer soil of 0 cm - 15 cm depth				Lower layer soil of 15 cm - 25 cm depth			
			AP ²⁾	SP ³⁾	Significance test	p-value of single regression analysis ⁴⁾		AP ²⁾	SP ³⁾	Significance test
			(mg/kg)	(mg/kg)		AP ²⁾	SP ³⁾	(mg/kg)	(mg/kg)	
2009	Summer	Carrot	0.51 (0.02) ⁵⁾	0.48 (0.03)	Significance ⁶⁾	—	—	—	—	—
2010	Summer	Spinach	0.52 (0.01)	0.49 (0.03)	Significance	—	—	—	—	—
2011	Summer	Turnip	0.51 (0.02)	0.48 (0.02)	Significance	—	—	—	—	—
2012	Summer	Carrot	0.52 (0.02)	0.46 (0.03)	Significance	—	—	—	—	—
2013	Summer	Carrot	0.53 (0.01)	0.46 (0.03)	Significance	—	—	—	—	—
2014	Summer	Carrot	0.57 (0.03)	0.47 (0.03)	Significance	0.03 ⁷⁾	0.16	0.46 (0.03)	0.44 (0.01)	Pending ⁸⁾

1) Content in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) The p-value which calculated from dispersion analysis for linear regression by examination start of each examination plot.

5) Standard deviation ($n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

6) It is significantly different for processing examination section (two-way ANOVA, 5% of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

7) It show that regression is significant in $p < 0.05$ (5 % of both sides levels of significance)

8) It was pending decision to be significantly different for Standard plot and for interaction (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

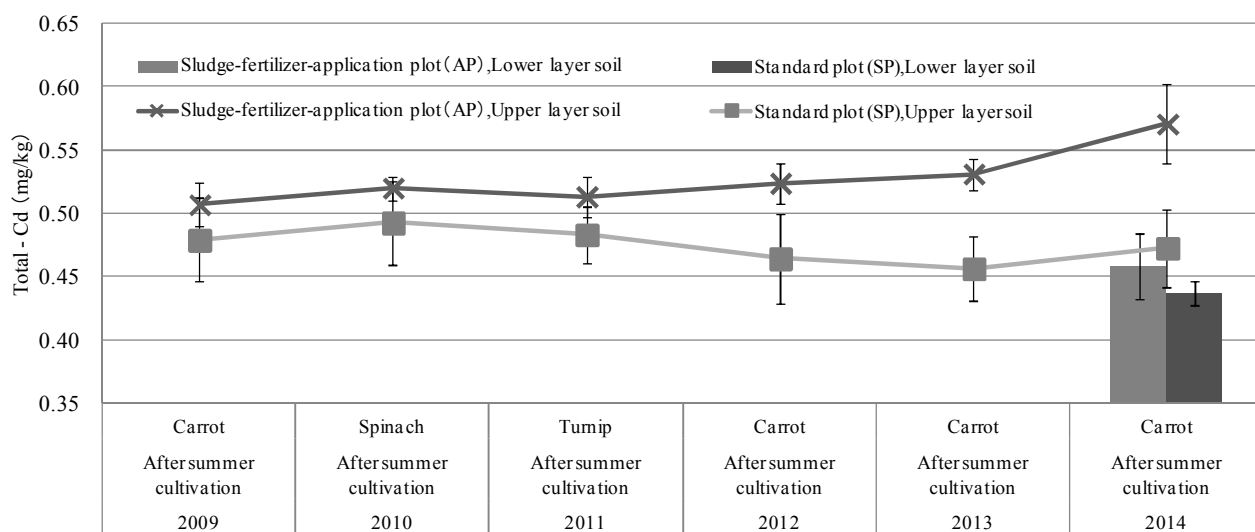


Fig. 10 Changes in the total-Cd concentration of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

(5) 作物体のカドミウム濃度及び吸収量

2009 年夏作～2014 年夏作までの各試験での作物体のカドミウム濃度及び吸収量の推移を Table 17 及び Fig.11 に示した. ニンジン及びホウレンソウについては, それぞれ過去 4 作及び過去 5 作の品種別の推移を Fig.11 下段に示した.

2010 年冬作チンゲンサイのカドミウム濃度は, 汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p < 0.01$) が, カドミウム吸収量は両試験区間で同程度であった($p > 0.05$). これは, 汚泥肥料施用区に比べて標準区の収量が 2 割程度多かった (Table 12) ためと考えられる.

2011年冬作ホウレンソウにおいて、試験開始から初めて汚泥肥料施用区が標準区に比べてカドミウム濃度及び吸収量の両方で有意に高かった($p < 0.01$)。この差は、跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度においても認められており(Table 13)、ホウレンソウは土壌中の交換態のカドミウムを主体に吸収し、無機結合態カドミウムなど他形態のカドミウムも吸収し、ホウレンソウのカドミウム吸収と土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度に相関があるという報告²⁷⁾と一致する結果であった。

その後に実施した2012年夏作ニンジンでも、跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度は引き続き汚泥肥料施用区が有意に高かった($p < 0.01$)が、作物体のカドミウム濃度及び吸収量に試験区間での有意差は判然としなかった。これは、ニンジンのカドミウム吸収と土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度との相関は認められないという報告²⁸⁾と一致する結果であった。

2011年以降、冬作ホウレンソウのカドミウム濃度は、汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p < 0.05$)。これは、汚泥肥料施用区ではホウレンソウが吸収可能な形態のカドミウム濃度が標準区と比較して高い状態が2011年冬作以降続いていることが原因と考えられる。しかし、作物体中のカドミウム濃度はCodex基準値に比べて低い濃度で推移している。

(6) ニンジン及びホウレンソウの品種別カドミウム濃度の推移

過去4回のニンジン試験及び過去5回のホウレンソウ試験について、その品種別作物体中カドミウム濃度の推移をTable 18に示した(Fig.11 下 Fig.参照)。ニンジン品種はベーターリッチを2009年、2012年及び2013年夏作の3作試験したところ、汚泥肥料の施用量や連用回数に関わらず、試験を行った年によって作物体カドミウム濃度は変動していた。3作の結果では、栽培日数が長いほど、カドミウム濃度が高まる傾向があった。2014年夏作では、ニンジン品種を「恋ごころ」に変更し試験を行った。この品種は、ベーターリッチよりもカドミウム濃度が高まりやすいとされており²⁹⁾、夏の高温に比較的強い品種として選定した。しかし、カドミウム濃度は2012年及び2013年夏作のベーターリッチよりも低い結果となり、品種の影響は判然としなかった。

ホウレンソウ品種はサンライトを2009年冬作、2010年夏作及び2011年冬作の3作試験したところ、汚泥肥料の施用量や連用回数に関わらず、試験を行った年や季節によって作物体のカドミウム濃度は変動していた。これは、栽培期間中の降水量や気温等の気象条件が影響していると考えられる³⁰⁾。2012年冬作では、ホウレンソウ品種を「オーライ」に変更し試験を行った。これは、サンライトよりもカドミウム濃度が高まりやすいとされており³¹⁾、冬の低温に比較的強い品種として選定した。しかし、カドミウム濃度は2009年冬作のサンライトよりも低く、品種の影響は認められなかった。

試験開始時(2009年夏作)から2014年夏作までの作物体のカドミウム濃度は、概ねCodex基準値³²⁾の1/4以下で推移している。しかし、2010年夏作ホウレンソウのカドミウム濃度は、汚泥肥料施用区及び標準区ともにCodex基準値の2/3程度と顕著に高い濃度であった。冬作ホウレンソウと比較して夏作ホウレンソウのカドミウム濃度は高まりやすいことが知られており、夏の高温等の気象条件が影響していると考えられる。

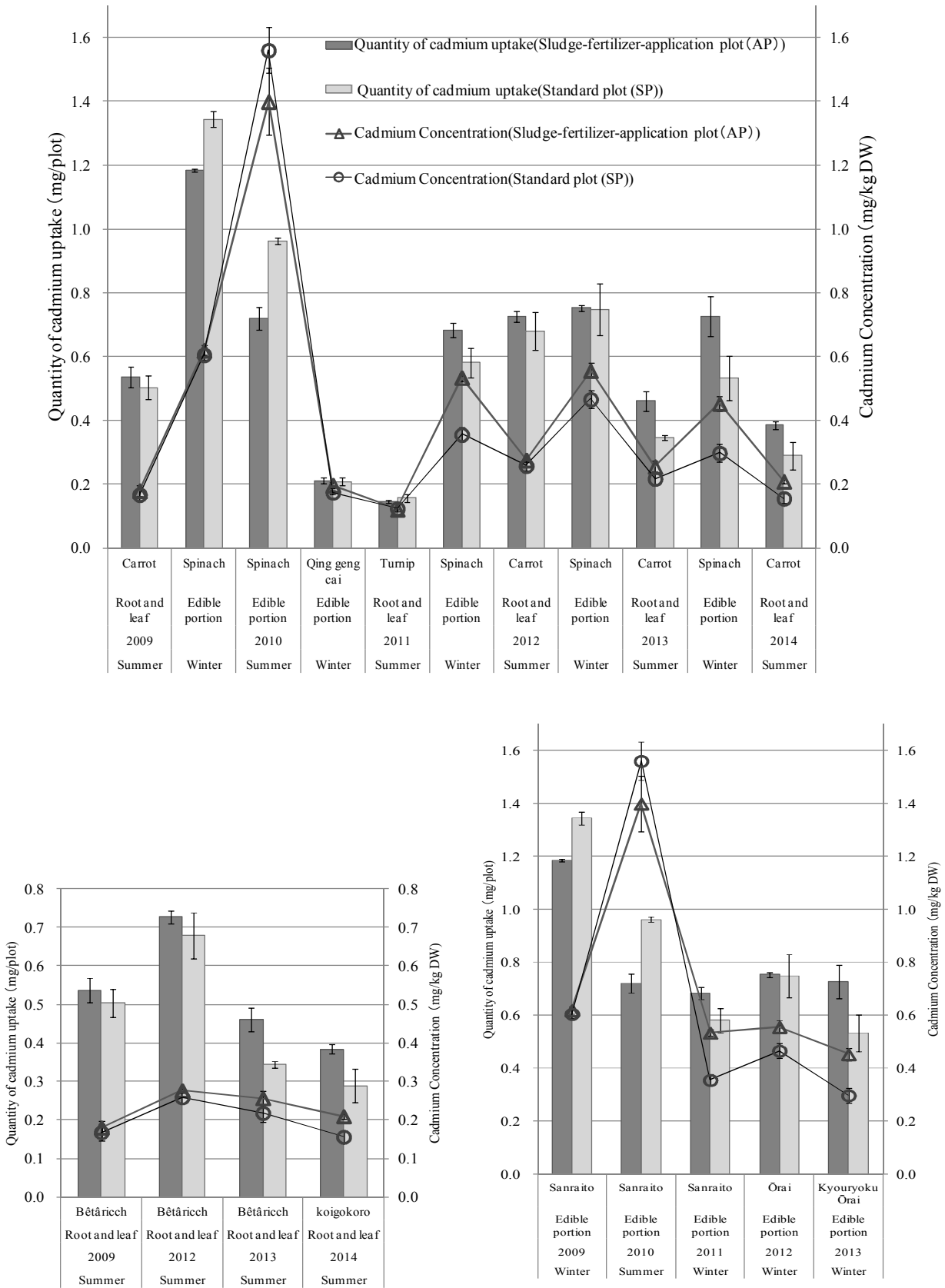


Fig. 11 Absorption and the amount of cadmium concentration of each crops in 2009~2014
 (The upper graph shows the all crops. The left lower graph shows the carrot. And the right lower graph shows the spinach. These error bars indicate the standard deviation.)

Table 17 Absorption and the amount of cadmium concentration of each crops in 2009~2014

Year	Season	Test Crops	Part	Cadmium Concentration ¹⁾			Quantity of cadmium uptake		
				AP ²⁾ (mg/kg)	SP ³⁾ (mg/kg)	Significance test	AP ²⁾ (mg/plot)	SP ³⁾ (mg/plot)	Significance test
2009	Summer	Carrot	Root	0.12 (0.01) ⁴⁾	0.11 (0.02)	N.S. ⁵⁾	0.21 (0.02)	0.20 (0.03)	N.S.
			Leaf	0.24 (0.02)	0.22 (0.02)	N.S.	0.32 (0.02)	0.31 (0.01)	N.S.
			Total	-	-	-	0.54 (0.03)	0.50 (0.04)	N.S.
2009	Winter	Spinach	Edible portion	0.62 (0.01)	0.61 (0.02)	N.S.	1.18 (0.004)	1.34 (0.02)	N.S.
2010	Summer	Spinach	Edible portion	1.40 (0.10)	1.56 (0.07)	N.S.	0.72 (0.04)	0.96 (0.01)	N.S.
2010	Winter	Qing geng cai	Edible portion	0.20 (0.01)	0.17 (0.01)	Signifi- cance ⁶⁾	0.21 (0.01)	0.21 (0.01)	N.S.
2011	Summer	Turnip	Root	0.08 (0.01)	0.08 (0.002)	N.S.	0.04 (0.003)	0.04 (0.003)	N.S.
			Leaf	0.16 (0.01)	0.17 (0.01)	N.S.	0.10 (0.01)	0.11 (0.01)	Pending ⁷⁾
			Total	-	-	-	0.15 (0.01)	0.16 (0.01)	Pending
2011	Winter	Spinach	Edible portion	0.53 (0.01)	0.36 (0.02)	Signifi- cance	0.68 (0.02)	0.58 (0.05)	Signifi- cance
2012	Summer	Carrot	Root	0.24 (0.01)	0.23 (0.01)	Pending	0.32 (0.01)	0.30 (0.02)	Pending
			Leaf	0.31 (0.01)	0.29 (0.02)	Pending	0.41 (0.005)	0.38 (0.04)	Pending
			Total	-	-	-	0.73 (0.02)	0.68 (0.06)	Pending
2012	Winter	Spinach	Edible portion	0.56 (0.02)	0.47 (0.03)	Signifi- cance	0.75 (0.01)	0.75 (0.08)	N.S.
2013	Summer	Carrot	Root	0.18 (0.02)	0.15 (0.02)	N.S.	0.22 (0.02)	0.17 (0.004)	Signifi- cance
			Leaf	0.33 (0.02)	0.28 (0.03)	Signifi- cance	0.24 (0.01)	0.18 (0.01)	Pending
			Total	-	-	-	0.46 (0.03)	0.34 (0.01)	Signifi- cance
2013	Winter	Spinach	Edible portion	0.45 (0.02)	0.30 (0.03)	Signifi- cance	0.73 (0.06)	0.53 (0.07)	Signifi- cance
2014	Summer	Carrot	Root	0.17 (0.01)	0.13 (0.01)	Signifi- cance	0.16 (0.01)	0.13 (0.01)	Signifi- cance
			Leaf	0.25 (0.003)	0.18 (0.02)	Pending	0.22 (0.003)	0.16 (0.03)	Pending
			Total	-	-	-	0.38 (0.01)	0.29 (0.04)	Pending
The sum total				-	-	-	6.54 (0.13)	6.35 (0.20)	Signifi- cance

1) Content in the dry matter

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) Standard deviation ($n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

5) It is no significantly different for processing examination section (t -test, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

6) It is significantly different for processing examination section (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

7) It was pending decision to be significantly different for Standard plot and for interaction (two-way ANOVA, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

Table 18 The cadmium concentration of carrot and spinach in 2009~2014

Test Crops	Variety	Year	Season	Cultivation Days	Part	Cadmium Concentration ¹⁾				CODEX Cadmium Standard ⁵⁾	
						AP ²⁾		SP ³⁾			
						Dry ⁴⁾	Fresh ⁵⁾	Dry ⁴⁾	Fresh ⁵⁾		
						(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	
Carrot		2009	Summer	90	Root	0.12	0.01	0.11	0.01	0.1	
					Leaf	0.24	0.03	0.22	0.03		0.2
	Bêtâricch	2012	Summer	105	Root	0.24	0.03	0.23	0.02	0.1	
					Leaf	0.31	0.04	0.29	0.04		0.2
		2013	Summer	97	Root	0.18	0.02	0.15	0.02	0.1	
					Leaf	0.33	0.04	0.28	0.04		0.2
	koigokoro	2014	Summer	92	Root	0.17	0.02	0.13	0.01	0.1	
					Leaf	0.25	0.04	0.18	0.03		0.2
	Spinach	Sanraito	2009	Winter	156	Edible portion	0.62	0.09	0.61	0.07	0.2
			2010	Summer	38	Edible portion	1.40	0.16	1.56	0.17	
2011		Winter	99	Edible portion	0.53	0.08	0.36	0.05			
Ōrai		2012	Winter	131	Edible portion	0.56	0.07	0.47	0.06		
Kyouryoku Ōrai		2013	Winter	126	Edible portion	0.45	0.04	0.30	0.03		

1) $n = 4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples)

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) Content in the dry matter

5) Content in the fresh matter

(7) カドミウム負荷量, 持出し量及び蓄積量

各試験での肥料由来のカドミウム負荷量, 作物体によるカドミウム持出し量, 土壌へのカドミウム蓄積量及び蓄積濃度の推移は Table 19 のとおりである. 施用肥料のカドミウム含有量に施用量を乗じて, 土壌へのカドミウム負荷量とした. カドミウム持出し量は, 収穫した作物体のカドミウム吸収量とした. 施用肥料によるカドミウム負荷量と作物体によるカドミウム持出し量の差をカドミウム蓄積量とした. カドミウム蓄積量を試験区当たりの土壌量(作土の深さ 15 cm, 土壌の仮比重 1.0 とし, 試験区 4 m² 当たりの土壌量を 600 kg とした)で除して, 土壌へのカドミウム蓄積濃度とした. これは, 土壌の作土の深さ及び仮比重が常に一定で, かつ肥料由来のカドミウムが全て作土に蓄積したと仮定した算出した.

カドミウム持出し量については, これまで実施した 11 作の試験の合計は, 汚泥肥料施用区で 6.54 mg/試験区, 標準区で 6.35 mg/試験区と同程度であり, 有意差は認められなかった ($p > 0.05$) (有意差検定結果は, Table 17 カドミウム吸収量の総計を参照).

汚泥肥料施用区では, 各試験において, カドミウム負荷量と比較して持出し量が少ないことから土壌のカドミウム収支がプラスとなるため, 汚泥肥料の連用によるカドミウム負荷量の増加に伴って土壌蓄積するカドミウムが高まる方向であることが考えられる. 実測値においても跡地土壌の全 Cd 濃度の増加傾向が認められている(上記(4.4)). 過去 11 作の試験における汚泥肥料施用区のカドミウム負荷量は 62 mg/試験区 (155 g/ha), カドミウム蓄積濃度(カドミウム蓄積量と試験区土壌量から算出した理論上の土壌中カドミウムの上昇濃度)は 0.092

mg/kg となった (Table 19).

跡地土壌の全カドミウム濃度について、2009 年夏作跡地からの実測値と理論値の推移を Table 20 及び Fig.12 に示した。汚泥肥料施用区及び標準区の全カドミウム濃度の理論値は、2009 年夏作跡地土壌の実測値を起点として、Table 19 で算出したカドミウム蓄積濃度を累積し算出した。標準区は実測値と理論値がほぼ一致して推移していた。一方、汚泥肥料施用区は実測値と理論値が上昇傾向であることは同じであるが、理論値と比較して実測値の方が低い傾向で推移していた。これは、上記(4.5)において下層への移行はほとんどないと考えられることから、耕耘等による水平移動により作土に留まらないカドミウムがあるためと考えられる²⁶⁾。

Table 19 Changes of the 2009~2014 year of the quantity of cadmium load by fertilizer, quantity of peculating due to the crops body, and quantity of cadmium accumulation to the soil

Year	Season	Test crops	Sludge-fertilizer-application plot (AP)				Standard plot (SP)			
			Quantity of cadmium ¹⁾			Concentration of cadmium accumulation ⁵⁾	Quantity of cadmium ¹⁾			Concentration of cadmium accumulation ⁵⁾
			Load ²⁾	Removal ³⁾	Accumulation ⁴⁾		Load ²⁾	Removal ³⁾	Accumulation ⁴⁾	
(mg/plot)	(mg/plot)	(mg/plot)	(mg/kg)	(mg/plot)	(mg/plot)	(mg/plot)	(mg/kg)			
2009	Summer	Carrot	4.84	0.54	4.30	0.007	0	0.50	-0.50	-0.001
2009	Winter	Spinach	4.40	1.18	3.22	0.005	0	1.34	-1.34	-0.002
2010	Summer	Spinach	3.30	0.72	2.58	0.004	0	0.96	-0.96	-0.002
2010	Winter	Qing geng cai	2.64	0.21	2.43	0.004	0	0.21	-0.21	0.000
2011	Summer	Turnip	3.30	0.15	3.15	0.005	0	0.16	-0.16	0.000
2011	Winter	Spinach	7.04	0.68	6.35	0.011	0	0.58	-0.58	-0.001
2012	Summer	Carrot	7.28	0.73	6.55	0.011	0	0.68	-0.68	-0.001
2012	Winter	Spinach	7.28	0.75	6.53	0.011	0	0.75	-0.75	-0.001
2013	Summer	Carrot	7.28	0.46	6.82	0.011	0	0.34	-0.34	-0.001
2013	Winter	Spinach	7.28	0.73	6.55	0.011	0	0.53	-0.53	-0.001
2014	Summer	Carrot	7.28	0.38	6.90	0.011	0	0.29	-0.29	-0.0005
Total			61.92	6.54	55.38	0.092	0.00	6.35	-6.35	-0.011

1) It show every test plot 4 m²

2) Quantity of cadmium load by fertilizer = Total cadmium concentration of the fertilizer × Amount of the fertilizer

3) Quantity of peculating due to the crops body = Yield (dry weight) × Cadmium concentration (dry matter)

4) Quantity of cadmium accumulation to the soil = 2) - 3)

5) Concentration of cadmium accumulation to the soil = 4) / Amount of test plot soil (600 kg)

Table 20 Changes in the actual total-Cd concentration and the theoretical total-Cd concentration¹⁾ of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	Actual measurement ¹⁾		Theoretical value ¹⁾	
			AP ²⁾ (mg/kg)	SP ³⁾ (mg/kg)	AP ²⁾⁴⁾ (mg/kg)	SP ³⁾⁵⁾ (mg/kg)
2009	Summer	Carrot	0.51 (0.02) ⁵⁾	0.48 (0.03)	0.51	0.48
2010	Summer	Spinach	0.52 (0.01)	0.49 (0.03)	0.52	0.47
2011	Summer	Turnip	0.51 (0.02)	0.48 (0.02)	0.53	0.47
2012	Summer	Carrot	0.52 (0.02)	0.46 (0.03)	0.55	0.47
2013	Summer	Carrot	0.53 (0.01)	0.46 (0.03)	0.58	0.47
2014	Summer	Carrot	0.57 (0.03)	0.47 (0.03)	0.60	0.47

1) Total-Cd concentration in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) This value is the theoretical total-cadmium concentration of soil when assuming that there was accumulation of the whole quantity cadmium derived from fertilizer to the surface soil of the test plots in a starting point in summer 2009

5) This value is the theoretical total-cadmium concentration of soil when assuming that there was not accumulation of cadmium derived from fertilizer to the surface soil of the test plots in a starting point in summer 2009

4) Standard deviation ($n = 4$ (2×2) (repetition \times number of samples))

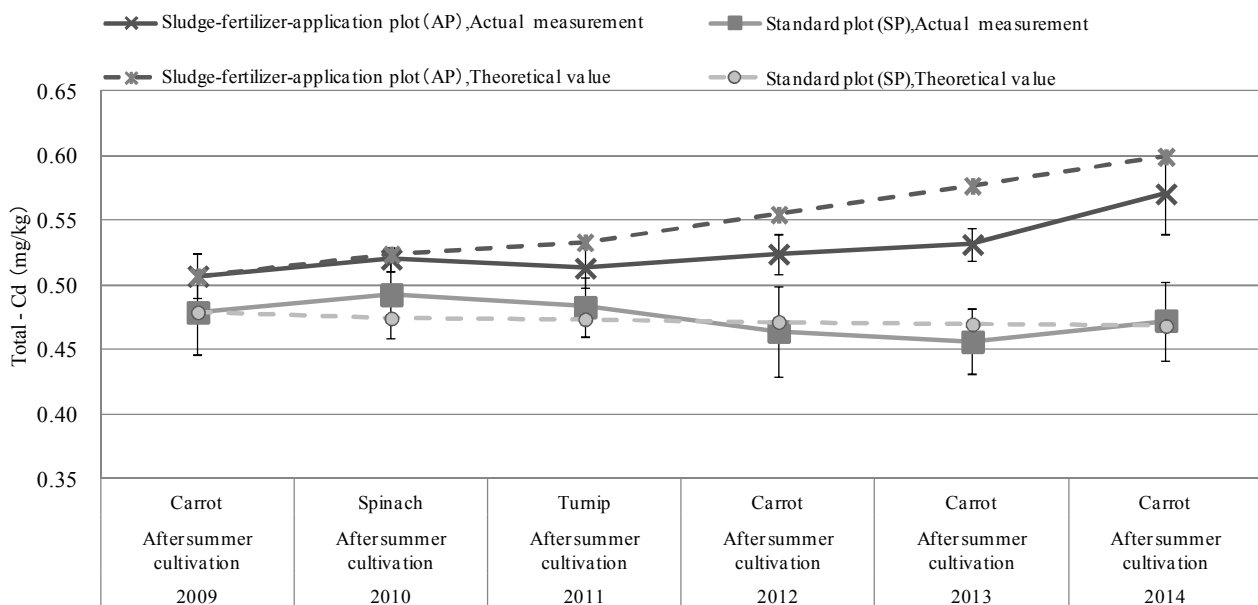


Fig. 12 Changes in the actual total-Cd concentration and the theoretical total-Cd concentration of soil after harvest

汚泥肥料施用区のカドミウム負荷量及び蓄積量と土壤中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移を Fig.13 に示した。土壤中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は試験開始時の 2009 年夏作から 2014 年夏作まで、ほぼ一定で推移しており、汚泥肥料の連用施用による有意な上昇又は下降傾向は認められなかった ($p > 0.05$)。しかし、カドミウム負荷量が 1 作当たり 5 mg/試験区 (12 g/ha) 以下であった 2009 年夏作から 2011 年夏作まで (Table 13) の推移を線形回帰分析したところ、回帰が有意となり ($p < 0.05$)、下降傾向が認められた (Fig.7)。2011 年冬作以降にカドミウム負荷量を 1 作当たり 7 mg/試験区 (18 g/ha) 以上とした後は、線形回帰分析 (両側有意水準 5%) では有意では

なく、下降傾向は認められなくなり ($p > 0.05$) 一定で推移していた。今後、データ数を増やして推移を確認する必要があると考えられる。

本試験以外で高分子凝集剤を使用した汚泥肥料を用い5年(5作)以上の黒ボク土圃場での連用試験を実施し、土壌の pH を 6.0~7.0 に維持した状態で作物を正常に生育させ、土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移を確認した報告は見当たらない。類似の試験として黒ボク土に比べて腐植の少ない褐色森林土の圃場において水産系廃棄物由来堆肥を用い5年間5作の連用試験を実施した結果(カドミウム総負荷量は 91.1 g/ha, 跡地土壌の pH は 6.0~6.7 の間で推移しており、本試験に近い条件となっている)、跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は 0.15 mg/kg から 0.17 mg/kg にわずかに増加したことが報告されている³³⁾。

また、他機関の汚泥肥料の連用施用試験において、5年又は10作程度の連用により汚泥肥料施用区の作物体カドミウム濃度が対照区に対して有意に高い傾向を示した報告は確認できない。本試験で有意差が確認されている要因として、供試汚泥肥料のカドミウム濃度が含有許容量付近と高いものを使用し、対照とした標準区は施肥由来カドミウムがないように試薬を施肥しているため差を見やすい設計であること、1試験区 4 m² と通常より小さい面積であるため均一な施肥・栽培管理が可能であること、耕耘作業には手押しの耕耘機を使用し更にガードプランツ区を設けていることから試験区外の土壌との交叉汚染が少ないこと、作物体のサンプリングを試験区の中央 1 m² 分全てを粉碎混合し分析用試料とし2点併行で分析しているためサンプリングによるばらつきが比較的小さいこと等、試験設計が要因となっている可能性も考えられる。

以上のことから、本試験で用いた土壌、し尿汚泥肥料及び作物等における連用施用においては、1作当たり 7 mg/試験区(年間 14 mg/試験区(36 g/ha))よりカドミウム負荷量を多くした場合は、跡地土壌の全 Cd の増加傾向が認められており、今後、跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度が増加傾向となる可能性もあるため、推移を確認する必要があると考えられる。一方、肥料由来のカドミウム負荷がない標準区及び汚泥肥料由来のカドミウム負荷量が1作当たり 5 mg/試験区以下の場合に、土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度が減少傾向 ($p < 0.05$) となる理由としては、作物収穫による持出しの他、土壌中に負荷されたカドミウムは水平移動により作土に留まらないものがあること^{34~35)} や、土壌や汚泥肥料中の有機物等と結合すること²²⁾ により 0.1 mol/L 塩酸には不溶性形態として作土中に蓄積していることが考えられる。

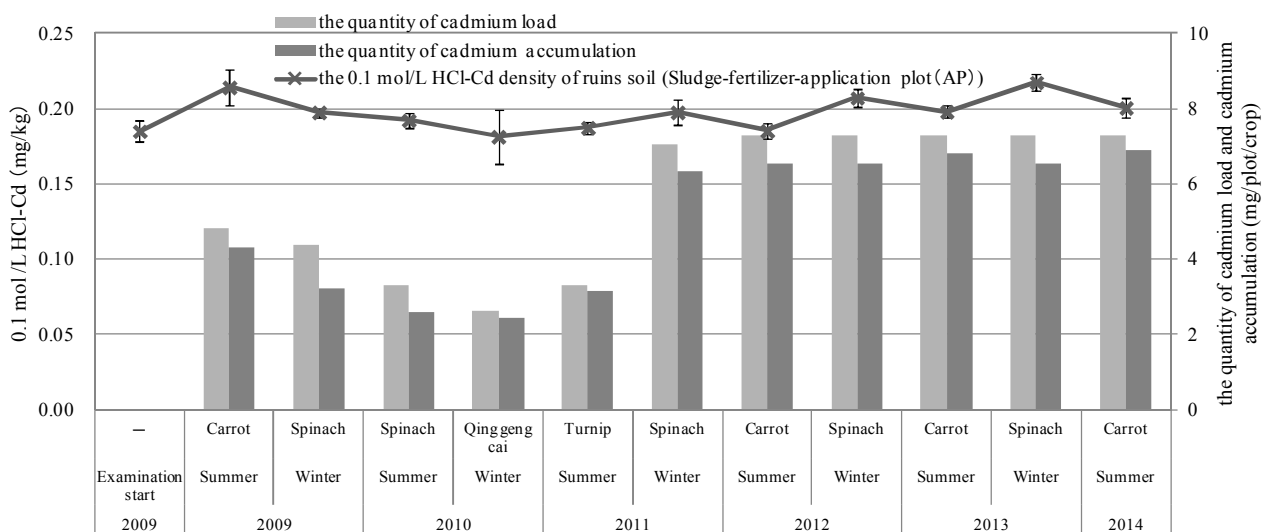


Fig. 13 Changes of the 2009~2014 year of the quantity of cadmium load by fertilizer, quantity of cadmium accumulation to the soil, and the 0.1 mol/L HCl-Cd concentration of soil after harvest in sludge fertilizer application plot (AP)

5. まとめ

肥料の有効性及び安全の確保に必要な課題に関する調査研究として、汚泥肥料の連用施用試験を2009年より引き続き行っており、汚泥肥料施用区及び汚泥肥料無施用の標準区の2試験区に、2013年冬作としてハウレンソウを、2014年夏作としてニンジン栽培し、土壌中のカドミウム濃度の変化及び作物体へのカドミウム吸収量を確認した。その結果、跡地土壌の全Cd濃度、作物体の吸収と相関がある形態とされる跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度及び1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd濃度は汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p < 0.05$)。作物体のカドミウム濃度及び吸収量は2013年冬作ハウレンソウ及び2014年夏作ニンジンにおいて、汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p < 0.05$)。作物体のカドミウム濃度はCodex基準値の1/4以下であった。

試験開始時の2009年夏作から5年半11作の跡地土壌のCd濃度及び作物体Cd濃度、吸収量の推移について整理した。跡地土壌の全Cd濃度は、汚泥肥料施用区で上昇傾向が認められ、標準区では一定で推移していることから、汚泥肥料の施用によりカドミウムが土壌蓄積していると考えられる。一方で、跡地土壌のCd濃度は汚泥肥料施用区と標準区で差がない状態が続いていたが、2011年冬作又は2012年夏作以降は、汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p < 0.05$)。ハウレンソウのCd濃度についても、2011年冬作以降は汚泥肥料施用区が有意に高くなっており、土壌Cd濃度と同様の傾向となっている。跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cd及び1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd濃度の推移は、標準区では有意な下降傾向が認められた($p < 0.05$)が汚泥肥料施用区はほぼ一定で推移しており($p > 0.05$)、汚泥肥料の連用施用による有意な上昇又は下降傾向は認められなかった。しかし、汚泥肥料施用区のカドミウム負荷量が1作当たり5 mg/試験区以下であった2011年夏作までは跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度の有意な下降傾向が認められていた($p < 0.05$)が、カドミウム負荷量を1作当たり7 mg/試験区(18 g/ha)程度とした2011年冬作以降は、下降傾向が認められなくなっていることから、データ数を増やし今後の推移を確認する必要があると考えられる。また、汚泥肥料中の濃度が比較的高く、カドミウムの同族元素である亜鉛については、汚泥肥料施用区において2011年冬作以降、跡地土壌の1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Znの上昇傾向が認められた($p < 0.05$)。

連用試験開始から5年半11作目である2014年夏作ニンジンの跡地土壌について、土壌中カドミウムの垂直分布を調査するため、作土層(表層から0 cm -15 cm)及びその下層(15 cm -25 cm)の全Cd濃度を分析した結果、カドミウムの下層への移行は認められなかった。

汚泥肥料のカドミウム含有許容値付近(乾物濃度4.9 mg/kg、現物濃度3.6 mg/kg)のし尿汚泥肥料を、2009年夏作~2011年冬作までの6作は1作当たりの施用量181 kg/10 a(現物)~483 kg/10 a(現物)を施用、2012年夏作~2014年夏作までの5作は500 kg/10a(現物)を施用し、年2作の試験を5年半、11作行った。これまでのところ、汚泥肥料を施用していない標準区の結果との比較から、汚泥肥料由来のカドミウムは作土中に蓄積し、作物に吸収されていると考えられるが、作物吸収と相関があるとされる土壌中の0.1 mol/L HCl-Cd濃度及び1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd濃度はほぼ一定で推移しており、作物体中のカドミウム濃度についてもCodex基準値に比べて低い濃度で推移している。本試験条件においてカドミウム負荷量年間6 mg/4 m²~10 mg/4 m²(15 g/ha~26 g/ha)での3年半及びカドミウム負荷量年間約15 mg/4 m²(36 g/ha)での3年間の汚泥肥料連用施用であれば、カドミウムの作物体への吸収量が増大する可能性は低いと考えられる。しかし、更に長期に連用を継続した場合や、汚泥肥料施用量を増加させた場合又は黒ボク土と比較して有機物含有量の少ない土壌の場合における汚泥肥料由来のカドミウムの土壌中への蓄積及び作物体の吸収については知見を集積する必要があると考えられる。

文 献

- 1) 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, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 27 年 1 月 9 日, 農林省告示第 52 号 (2015)
- 2) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課肥料企画班:汚泥肥料の規制のあり方に関する懇談会報告書 平成 21 年 3 月, (2009)
< http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_hiryo/odei_hiryo/pdf/honnbun.pdf >
- 3) 廣井利明, 惠智正宏, 山西正将, 阿部文浩:カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報), 肥料研究報告, **6**, 43~60, (2013)
- 4) 廣井利明, 五十嵐総一, 惠智正宏, 橋本良美, 阿部文浩:カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報), 肥料研究報告, **7**, 43~66, (2014)
- 5) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC):肥料等試験法 (2015)
< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf >
- 6) 埼玉県ホームページ:主要農作物施肥基準 平成 25 年 3 月
< <http://www.pref.saitama.lg.jp/page/sehikijun.html> >
- 7) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課肥料企画班:汚泥肥料の施用に係る指導実態等に関するアンケート結果(抜粋), (2008)
< http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_hiryo/odei_hiryo/pdf/03_data1.pdf >
- 8) 千葉県:農林水産技術推進会議農林部会:肥料価格高騰に伴う土壌管理・施肥適正化指導指針 平成 20 年 9 月, 20, (2008)
< <http://www.pref.chiba.lg.jp/ninaite/network/h21-fukyuu/documents/kakakukoutou.pdf> >
- 9) 栃木県:農作物施肥基準－環境と調和のとれた土づくり・施肥設計の手引き 平成 18 年 1 月, 110, (2006)
< <http://www.pref.tochigi.lg.jp/g04/work/nougyou/keiei-gijyutsu/sehikijun.html> >
- 10) 群馬県:作物別施肥基準及び土壌診断基準 おでい肥料と土壌の重金属
< <http://www.aic.pref.gunma.jp/agricultural/management/technology/soil/01/index.html> >
- 11) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, 183, 博友社, 東京 (1991)
- 12) 農林水産省:地力増進基本指針, 平成 20 年 10 月 16 日
< http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_dozyo/pdf/chi4.pdf >
- 13) Perkin Elmer 社:マイクロ波分解装置取扱説明書, 分解メソッド集, ホウレンソウ
- 14) 財団法人日本土壌協会:土壌, 水質及び植物体分析法, 東京(2001)
- 15) 農林省省令:農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係るカドミウムの量の検定の方法を定める省令, 昭和 46 年 6 月 24 日農林省令第 47 号, 最終改正平成 24 年 8 月 6 日環境省令第 22 号 (2012)
- 16) 日本土壌肥料学会監修:土壌環境分析法, p.215~219, 博友社, 東京(1997)
- 17) 戸上和樹, 吉住佳与, 工藤一晃, 青木和彦, 三浦憲蔵:Bland-Altman 分析による土壌 pH を考慮した野菜可食部カドミウム濃度予測のための土壌抽出法の検証, 日本土壌肥料学雑誌, **83** (5), 564~573, (2012)
- 18) 農林水産技術会議事務局:農林水産省委託プロジェクト生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発, 技術情報集, 47, (2013)
- 19) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, p.106, 博友社, 東京 (1991)
- 20) 農林水産省, 独立行政法人農業環境技術研究所:ダイズのカドミウム吸収抑制のための技術確立マニユ

アル, 平成 19 年 4 月, p.4, (1991)

- 21) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, p.119, 博友社, 東京(1991)
- 22) 独立行政法人農業環境技術研究所:農作物中のカドミウム低減対策技術集, 平成 23 年 3 月, p.49, (2011)
- 23) 海老原武久, 山田要, 松村尉:汚泥の農用地への利用に関する研究 第Ⅱ報 汚泥連用が土壌・作物に及ぼす影響, 群馬県農業試験場報告, **22**, 49~58, (1982)
- 24) 農林水産技術会議事務局:有機性汚泥の環境保全的評価及び農林業への利用に関する研究, 研究成果, 231, (1989)
- 25) 伊藤淳次, 田村明長, 山根忠昭:し尿処理汚泥の連用が作物および土壌に及ぼす影響, 島根農試報告, **25**, 83~100, (1991)
- 26) 後藤茂子, 林浩昭, 山岸順子, 米山忠克, 茅野充男: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と水平方向への移行, 日本土壌肥料学雑誌, **73** (4), 391~396, (2002)
- 27) 砂川 匡, 袖垣一也, 安田雅晴, 沢野定憲:ハウレンソウのカドミウム吸収特性の解明と含量予測技術の開発, 岐阜県農業技術センター研究報告, **8**, 26~33, (2008)
- 28) 八槇 敦:各種抽出法による土壌のカドミウム含量と野菜のカドミウム吸収との関係, 日本土壌肥料学会講演要旨集, **55**, 283, (2009)
- 29) 伊藤純雄, 菊地直, 加藤直人:ニンジンおよびレタス類の品種別カドミウム濃度の相対的序列推定, 中央農研研究報告, **18**, 15~35, (2013)
- 30) 佐野健人・松本栄一・中村憲治:ハウレンソウのカドミウム吸収能に関する品種間差異のほ場における検証 (2), 農用地土壌のカドミウムによる農作物汚染リスク予測技術の開発に関する研究成果集(H17.12), 84~87, (2005)
- 31) 伊藤純雄, 菊地 直, 加藤直人:ハウレンソウ類のカドミウム吸収に関わる品種間差の生育条件による変動とそれに基づく吸収程度の相対的序列の推定, 中央農研研究報告, **14**, 1~15, (2010)
- 32) 農林水産省ホームページ:コーデックス委員会が策定した国際基準値
< http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_cd/kizyunti/ >
- 33) 農林水産技術会議事務局:農林水産生態系における有害化学物質の総合管理技術の開発, 研究成果, 471, 210~216, (2009)
- 34) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, 124~127, 博友社, 東京 (1991)
- 35) 岡本 保:下水汚泥の農業利用上の留意点, 再生と利用, **34** (127), 74~81, (2010)

Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report)
- Winter 2013 and Summer 2014 -

Toshiaki HIROI¹, Souichi IGARASHI², Tokiya SUZUKI³, Yoshimi HASHIMOTO³, Yudai TANAKA³,
Fumihiro ABE³ and Shinichi KASHIMA²

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

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

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

This research is monitoring the change of the cadmium which was dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid (acid-solubility-Cd) and pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution (exchangeable-Cd) from the soil. We are investigating the cadmium absorption by the crop since 2009. The test field is the upland fields derived from Andosol. And the used fertilizer is sludge fertilizer and chemical reagent. We cultivated the spinach in winter 2013 and carrot in summer 2014. Those crops were cultivated in the standard plot (SP) and the sludge-fertilizer-application plot (AP). The SP used only reagents. The AP used the sludge fertilizer of 500 kg/10a (fresh weight). Other ingredients used reagents. The amount of nitrogen, phosphorus and potassium applied to each plot was designed on the basis of fertilization standard showed by Saitama prefecture web site. Total cadmium concentration of the crop, acid-solubility-Cd and exchangeable-Cd of soil after harvest were measured by the inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). As a result, the soil in the AP after harvest was indicated a significant high acid-solubility-Cd and exchangeable-Cd concentration compared with the soil in the SP after the winter 2011. Total-Cd concentration of soil from summer 2009 to summer 2014 showed significant increasing trend in the AP. Although acid-solubility-Cd and exchangeable-Cd concentration of soil from summer 2009 to summer 2014 showed significant decreasing trend in the SP, those Cd concentration of soil did not show significant fluctuations in the AP by the continuous application of sludge fertilizer. The cadmium concentration of crops harvested from summer 2009 to summer 2014 in the SP and AP was less than the CODEX standard. It is considered that it is necessary to check future transition.

Key words sludge fertilizer, continuous application, cadmium

(Research Report of Fertilizer, **8**, 79~113, 2015)

10 2014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

伊藤浩平¹, 千田正樹², 船水悦子², 平原稔夫³, 筒井久司⁴,
恵智正宏⁵, 豊留夏紀⁶, 白井裕治¹, 今川俊明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, ISO/IEC 17043, ISO/IEC 17025, z スコア

1. はじめに

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)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保についての考え方が重視されている. 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おり, 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めている.

肥料生産事業場の品質管理室, 肥料検査機関の試験所等においても, 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²⁾による内部精度管理が日常的になりつつある. 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC)においても立入検査で収去した肥料の主成分及び有害成分の調査分析は不可欠であり, その試験法には信頼性の確保が求められる.

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 6 か所の肥料品質保全協議会が個々に試料調製及び解析を行ってきた. しかし, 試験成績数が増加することで解析精度の向上が図れることから, 2006年度より肥料品質保全協議会等の試験所を中心に全国共通の試料を用いた共同試験を実施している. 均質性試験及び共同試験成績については ISO/IEC 17043 (JIS Q 17043)³⁾を参考に解析し, 2014年度は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.

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料調製

化成肥料は, 粉碎して目開き 500 µm の網ふるいを全通させ, 品質の安定を図るため約 3 ヶ月間常温で保管した. その後, 試料をよく混合し, のし餅状に広げて短冊状に 9 等分し, 1~9 の区分番号を付して容器に移した.

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

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 (現) 農薬検査部

⁷ 公益財団法人日本肥糧検定協会

この中から表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の各区分の容器から一定量ずつ採取し、よく混合した後、1袋当たり約200g入りの試料220個を調製し、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、粉碎して目開き212 μm の網ふるいを全通させたのち、試料をよく混合し、のし餅状に広げて短冊状に9等分し、1～9の区分番号を付して容器に移した。この中から表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の各区分の容器から一定量ずつ採取し、よく混合した後、1袋当たり約180g入りの試料160個を調製し、ポリエチレン製袋で密封して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
	1	8	2	4	9	1	5
区分番号	3	7	9	7	4	2	8
	4	3	1	5	6	7	6
	6	5	8	2	3	9	1

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、2.1)で調製した共同試験用試料から10試料ずつ抜き取り均質性確認用試料とした。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)、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室に送付した。2014年度、化成肥料は140試験室、鉍さいけい酸質肥料は81試験室が参加した。

3. 共同試験成績の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)、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)、水溶性苦土(W-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.1により定量。但し、揮発物の補正は行わない。
- (2) 窒素全量(T-N)は、肥料分析法4.1.1.1(硫酸法).Cにより試料溶液を調製、同項.Dにより定量。

(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。リン酸アンモニウムマグネシウムの生成が懸念されたため試料溶液は調製しない。

(4) く溶性りん酸(C-P₂O₅)は、肥料分析法4.2.1.C.dにより試料溶液を調製、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。

(5) 水溶性りん酸(W-P₂O₅)は、肥料分析法4.2.1.C.bにより試料溶液を調製、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。

(6) 水溶性加里(W-K₂O)は、肥料分析法4.3.1.C.b.2)により試料溶液を調製、4.3.3(フレイム光度法または原子吸光測光法).Eにより定量。

(7) く溶性苦土(C-MgO)は、肥料分析法4.2.1.C.dにより試料溶液を調製、4.6.1(EDTA法).D.bにより定量。又は、同様の方法で試料溶液を調製、4.6.2(原子吸光測光法).Eにより定量。

(8) 水溶性苦土(W-MgO)は、肥料分析法4.6.1.C.bにより試料溶液を調製、4.6.2(原子吸光測光法).Eにより定量。

(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.1)により試料溶液を調製、同項.Eにより定量。又は、同様の方法で試料溶液を調製、5.24.2(原子吸光測光法).Eにより定量。

(10) カドミウム全量(T-Cd)は、肥料分析法5.6.1(原子吸光測光法).D.a.1)(王水分解)により試料溶液を調製、同項.E.aにより定量。又は、同様の方法で試料溶液を調製、5.19.1.E.(溶媒抽出法)により定量。

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

(12) アルカリ分(AL)は、肥料分析法4.5.1.1.C.b)により試料溶液を調製、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。

又は、同様の方法で試料溶液を調製、可溶性石灰(S-CaO)(肥料分析法4.5.1.2.E)及び可溶性苦土(S-MgO)(肥料分析法4.6.2.E)を測定、肥料分析法4.5.2.3(原子吸光測光法).Eにより算出。なお、当該肥料はマンガンを含有している。

(13) く溶性苦土(C-MgO)は、肥料分析法4.2.1.C.d)により試料溶液を調製、4.6.1(EDTA法).D.b)により定量。又は、同様の方法で試料溶液を調製、4.6.2(原子吸光測光法).Eにより定量。

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。

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

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.

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

(2) z スコアによる評価

データの解析手法として, ISO/IEC 17043 (JIS Q 17043)³⁾を用い, 各試験室の試験成績の 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).
- (2) z スコアによる評価が $|z| \leq 2$ (満足), $2 < |z| < 3$ (疑わしい) 及び $|z| \geq 3$ (不満足) となった試験室数及びその割合(%).
- (3) 外れ値を棄却しない全データの平均値(Mean).
- (4) 全体の値の中央値(Median).
- (5) $NIQR$ を標準偏差とみなした Median の拡張不確かさ ($U_{95\%}$) (包含係数: $k=2$) を (d) 式により算出.

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

- (6) 全データの標準偏差 (s).
- (7) 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 s と一致する.
- (8) Horwitz 修正式^{6~8)} ((e) ~ (g) 式) より, 平均的な室間再現標準偏差 (Horwitz' s : 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.

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

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

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

- (9) 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.

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

(10) $\text{HorRat}_{\text{rob}}$ 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⁹⁾では, $0.5 < \text{HorRat} \text{ 値} \leq 2$ を許容範囲としている.

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

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×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 2 に示した。均質性の判定は、IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコルで示されている以下の判定式を用いて行った。いずれの試料においても判定式を満たしていたことから、分析用試料は均質であることを確認した。

$$s_{\text{bb}}^2 \leq F_1 \sigma_{\text{all}}^2 + F_2 s_r^2 \quad \dots (\text{判定式})$$

表 2 均質性確認試験の結果

肥料の種類	分析成分	試料数	平均値 ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	s_{bb} ^{e)} (%) ^{b)}	σ_{all} ^{f)} (%) ^{b)}	s_{bb}^2 ^{g)}	$F_1 \sigma_{\text{all}}^2 + F_2 s_r^2$ ^{h)}
化成肥料	C-P ₂ O ₅	10	10.33	0.03	0.3	0	0.09	0	0.015
	C-MgO	10	3.34	0.05	1.4	0.03	0.03	0.001	0.004
鉍さいけい酸質肥料	C-MgO	10	5.88	0.01	0.3	0.01	0.05	0.003	0.006

a) 総平均定量値(試料数×2点併行分析)

b) 質量分率

c) 併行標準偏差

d) 併行相対標準偏差

e) 試料間標準偏差

f) 許容可能なサンプリング誤差の上限 $\sigma_{\text{all}} = 0.3\text{HSD} = 0.3 \times 0.02 \times (\text{平均値} \times 0.01)^{0.8495} \div 0.01$

g) 判定式左辺

h) 判定式右辺: 試料数 $m=10$, 併行点数 $n=2$ の時, $F_1=1.88$, $F_2=1.01$

2) 試験成績の解析結果

4.2) (1)～(2)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、化成肥料中の水分が 89 % と最も高く、化成肥料中の T-Cd が 72 % と最も低い割合を示した。一方、「不満足」と評価を受けた試験室の割合は、化成肥料では T-Cd の 13 %、鉍さいけい酸質肥料中では S-SiO₂ の 17 % がそれぞれ最も高い結果であった。

4.2) (3)～(10)で求めた統計量を表 4 に示した。多くの成分で全体の Mean は Median とほぼ一致したが、一部で Mean と Median の差が大きい試験項目もみられ、外れ値の影響を若干受けていることが考えられた。また、全体の標準偏差 s は、ロバスト法によって得られた NIQR と比較して基本的に大きな値を示す傾向が見られ、外れ値の影響を受けていることが推察された。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、 $\text{HSD} \times 0.5$ 及び $\text{HSD} \times 2$ を同図に表示した。

2006～2014 年度に実施した試験項目の Median、NIQR、 RSD_{rob} 及び $\text{HorRat}_{\text{rob}}$ 等について、化成肥料は表 5-1 に、鉍さいけい酸質肥料は表 5-2 に示した。また、本年度 7 試験室以上報告のあった試験方法別の Median、NIQR、 RSD_{rob} 、 $\text{HorRat}_{\text{rob}}$ 及び HSD を表 6 に示した。

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$ ^{a)}		$2 < z < 3$ ^{b)}		$3 \leq z $ ^{c)}	
		試験 室数	割合 (%)	試験 室数	割合 (%)	試験 室数	割合 (%)
(化成肥料)							
Mois	133	118	89	8	6	7	5
T-N	126	111	88	7	6	8	6
A-N	122	107	88	8	7	7	6
C-P ₂ O ₅	126	104	83	8	6	14	11
W-P ₂ O ₅	132	116	88	3	2	13	10
W-K ₂ O	130	110	85	9	7	11	8
C-MgO	122	106	87	9	7	7	6
W-MgO	120	104	87	7	6	9	8
T-As	47	41	87	2	4	4	9
T-Cd	61 ^{d)}	44	72	4	7	8	13
(鉍さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	63	50	79	2	3	11	17
AL	77	71	92	4	5	2	3
S-CaO	60	58	97	2	3	0	0
S-MgO	60	54	90	4	7	2	3
C-MgO	79	67	85	6	8	6	8

a) 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(%)

b) 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(%)

c) 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(%)

d) 5試験室は定量下限未満であったためzスコアの算出は行っていない

表4 共同試験成績の統計量

試験項目	Mean ^{a)} (%, mg/kg) ⁱ⁾	Median ^{b)} (%, mg/kg) ⁱ⁾	$U_{95\%}$ ^{c)} (%, mg/kg) ⁱ⁾	s ^{d)} (%, mg/kg) ⁱ⁾	$NIQR$ ^{e)} (%, mg/kg) ⁱ⁾	HSD ^{f)} (%, mg/kg) ⁱ⁾	RSD_{rob} ^{g)} (%)	$HorRat_{rob}$ ^{h)}
(化成肥料)								
Mois	1.79	1.78	0.03	0.28	0.16	0.07	8.7	2.38
T-N	9.13	9.13	0.02	0.27	0.11	0.26	1.2	0.42
A-N	7.98	7.99	0.02	0.26	0.12	0.23	1.5	0.52
C-P ₂ O ₅	10.43	10.41	0.02	0.51	0.12	0.29	1.2	0.42
W-P ₂ O ₅	5.40	5.34	0.02	0.51	0.12	0.17	2.2	0.71
W-K ₂ O	8.78	8.80	0.03	0.41	0.16	0.25	1.8	0.61
C-MgO	3.36	3.37	0.01	0.19	0.08	0.11	2.4	0.73
W-MgO	1.92	1.89	0.03	0.29	0.18	0.07	9.5	2.62
T-As	2.73	2.64	0.09	0.77	0.32	0.36	12.2	0.88
T-Cd	0.55	0.55	0.02	0.20	0.08	0.10	13.8	0.79
(鉍さいけい酸質肥料)								
S-SiO ₂	33.71	34.10	0.09	2.38	0.36	0.58	1.1	0.62
AL	50.81	50.83	0.23	1.36	1.03	0.71	2.0	1.45
S-CaO	42.87	42.79	0.29	1.10	1.12	0.65	2.6	1.71
S-MgO	5.79	5.78	0.03	0.19	0.14	0.18	2.3	0.76
C-MgO	5.65	5.71	0.04	0.35	0.17	0.18	3.1	0.99

a) 全体の平均値

b) 全体の中央値

c) 全体の中央値の不確かさ

d) 全体の標準偏差

e) ロバスト標準偏差

f) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

g) ロバスト相対標準偏差

h) ロバスト標準偏差から求めたHorRat値

i) T-As及びT-Cdはmg/kg, その他の成分は% (質量分率)

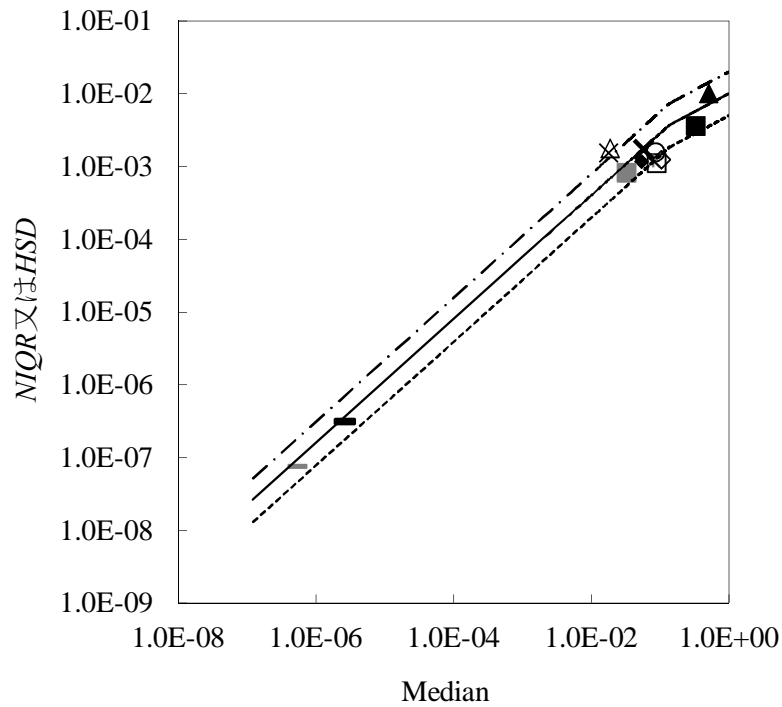


図1 共同試験のNIQRとHorwitz修正式によるHSDの関係

- | | | | |
|-------|--|-------|--|
| × | Mois (化成肥料) | □ | T-N (化成肥料) |
| * | A-N (化成肥料) | ◇ | C-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) |
| ■ | C-MgO (化成肥料) | △ | W-MgO (化成肥料) |
| - | T-As (化成肥料) | - | T-Cd (化成肥料) |
| ■ | S-SiO ₂ (鉍さいけい酸質肥料) | ▲ | AL (鉍さいけい酸質肥料) |
| × | C-MgO (鉍さいけい酸質肥料) | — | HSD(Horwitz 修正式) |
| ----- | HSD(Horwitz 修正式×0.5) | - · - | HSD(Horwitz 修正式×2) |

表5-1 複合肥料における2006～2014年度の共同試験成績の統計量

試験項目	実施年	試験項目に由来する主な原料名	参加試験室数	Median ^{a)} (%,mg/kg) ^{f)}	NIQR ^{b)} (%,mg/kg) ^{f)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	HorRat _{rob} ^{d)}	HSD ^{e)} (%,mg/kg) ^{f)}
Mois	2006		147	1.70	0.30	17.7	4.78	0.06
	2007		146	4.99	0.35	7.0	2.21	0.16
	2008		145	2.87	0.24	8.5	2.50	0.10
	2009		145	3.53	0.15	4.2	1.27	0.12
	2010		143	1.58	0.41	26.0	6.97	0.06
	2011		137	1.00	0.12	12.0	3.00	0.04
	2013		136	2.93	0.84	28.7	8.42	0.10
	2014		133	1.78	0.16	8.7	2.38	0.07
T-N	2006	尿素	158	14.60	0.13	0.9	0.33	0.38
	2007	有機質肥料	145	8.74	0.07	0.8	0.26	0.25
	2010	尿素	140	14.11	0.11	0.8	0.30	0.38
	2014	有機質肥料	126	9.13	0.11	1.2	0.37	0.30
A-N	2006	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	150	11.46	0.10	0.9	0.33	0.32
	2007	硫酸アンモニア	143	6.20	0.09	1.4	0.47	0.19
	2008	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	147	12.56	0.16	1.2	0.45	0.34
	2009	硝酸アンモニア,硝酸アンモニア石灰肥料	144	5.56	0.07	1.3	0.43	0.17
	2010	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	128	11.53	0.18	1.6	0.56	0.32
	2011	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	138	13.49	0.18	1.3	0.49	0.36
	2012		130	2.39	0.04	1.9	0.53	0.08
	2013	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	136	9.92	0.74	7.5	2.63	0.28
2014	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	122	7.99	0.12	1.5	0.52	0.23	
N-N	2009	硝酸アンモニア,硝酸アンモニア石灰肥料	123	3.62	0.11	3.2	0.96	0.12
	2012		115	2.17	0.10	4.8	1.34	0.08
T-P ₂ O ₅	2007	有機質肥料	140	10.35	0.10	0.9	0.33	0.29
C-P ₂ O ₅	2007	りん酸アンモニア	143	9.81	0.13	1.3	0.47	0.28
	2008	りん酸アンモニア	146	15.82	0.13	0.8	0.32	0.40
	2010	りん酸アンモニア	141	14.59	0.18	1.2	0.47	0.38
	2013	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	129	20.60	0.20	1.0	0.44	0.45
	2014	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	126	10.41	0.12	1.2	0.38	0.32
S-P ₂ O ₅	2006	過りん酸石灰,りん酸アンモニア	144	10.88	0.11	1.0	0.37	0.30
	2009	過りん酸石灰	125	6.37	0.12	1.9	0.62	0.19
	2011	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	114	17.44	0.22	1.3	0.53	0.42
W-P ₂ O ₅	2006	過りん酸石灰,りん酸アンモニア	157	9.02	0.12	1.3	0.46	0.26
	2007	りん酸アンモニア	143	7.02	0.23	3.2	1.08	0.21
	2008	りん酸アンモニア	149	9.16	0.24	2.7	0.93	0.26
	2009	過りん酸石灰	144	4.57	0.08	1.8	0.56	0.15
	2010	りん酸アンモニア	144	11.56	0.52	4.5	1.63	0.32
	2011	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	133	14.51	0.19	1.3	0.50	0.38
	2012		131	2.86	0.06	2.1	0.61	0.10
	2013	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	134	12.09	0.38	3.1	1.14	0.33
2014	りん酸アンモニア,過りん酸石灰	132	5.34	0.12	2.2	0.71	0.17	
C-K ₂ O	2011	硫酸加里	122	10.41	0.23	2.2	0.79	0.29
W-K ₂ O	2006	塩化加里	156	12.38	0.22	1.8	0.64	0.34
	2007	硫酸加里	145	8.43	0.15	1.8	0.61	0.24
	2008	塩化加里	147	11.39	0.15	1.3	0.47	0.32
	2009	硫酸加里	145	8.35	0.13	1.5	0.52	0.24
	2010	塩化加里	142	14.72	0.17	1.2	0.44	0.38

表5-1 (続き)

試験項目	実施年	試験項目に由来する主な原料名	参加試験室数	Median ^{a)} (%,mg/kg) ^{f)}	NIQR ^{b)} (%,mg/kg) ^{f)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	HorRat _{rob} ^{d)}	HSD ^{e)} (%,mg/kg) ^{f)}
W-K ₂ O	2011	塩化加里	132	10.17	0.17	1.7	0.59	0.29
	2012		131	2.43	0.06	2.4	0.68	0.09
	2013	塩化加里, 硫酸加里苦土	132	11.74	0.35	3.0	1.08	0.32
	2014	硫酸加里	130	8.80	0.16	1.8	0.61	0.25
C-MgO	2007	副産苦土肥料	137	3.41	0.07	2.2	0.65	0.11
	2008	水酸化苦土肥料	142	4.62	0.12	2.5	0.80	0.15
	2010	副産苦土肥料	137	3.11	0.07	2.4	0.71	0.10
	2011	水酸化苦土肥料	128	2.48	0.07	2.8	0.81	0.09
	2013	副産苦土肥料, 硫酸加里苦土	129	6.18	0.13	2.2	0.71	0.19
	2014	副産苦土肥料	122	3.37	0.08	2.4	0.73	0.11
W-MgO	2011	水酸化苦土肥料	119	1.94	0.09	4.6	1.28	0.07
	2012		116	1.68	0.05	3.1	0.83	0.06
	2013	硫酸加里苦土	120	3.79	0.68	18.0	5.50	0.12
	2014	副産苦土肥料	120	1.89	0.18	9.5	2.62	0.07
C-MnO	2009	熔成微量元素複合肥料	126	0.54	0.02	3.6	0.83	0.02
	2013	熔成微量元素複合肥料	115	0.51	0.01	2.8	0.64	0.02
W-MnO	2012		112	1.25	0.03	2.4	0.61	0.05
C-B ₂ O ₃	2009	熔成微量元素複合肥料	120	0.28	0.02	5.6	1.16	0.01
	2013	熔成微量元素複合肥料	104	0.25	0.01	5.5	1.11	0.01
W-B ₂ O ₃	2006	ほう酸塩肥料	132	0.40	0.02	4.2	0.91	0.02
	2008	ほう酸塩肥料	119	0.26	0.01	2.9	0.58	0.01
	2010	ほう酸塩肥料	116	0.29	0.01	3.4	0.70	0.01
	2012		103	0.240	0.009	3.6	0.72	0.012
Fe	2012		86	0.240	0.013	5.4	1.09	0.012
Cu	2012		88	0.0545	0.0014	2.6	0.42	0.0034
Zn	2012		87	0.0595	0.0029	4.8	0.78	0.0036
Mo	2012		52	0.210	0.010	4.7	0.92	0.011
T-As	2006		84	1.89	0.19	10.1	0.70	0.27
	2007		68	3.84	0.38	9.8	0.75	0.50
	2008		65	4.14	0.41	9.8	0.76	0.53
	2009		59	4.31	0.60	13.9	1.09	0.55
	2010		61	3.62	0.36	9.8	0.75	0.48
	2011		52	4.74	0.61	12.9	1.02	0.60
	2013		52	10.31	0.99	9.6	0.85	1.16
	2014		47	2.64	0.32	12.2	0.88	0.36
T-Cd	2006		95	1.26	0.11	9.1	0.59	0.19
	2007		85	1.24	0.12	9.6	0.62	0.19
	2008		86	2.60	0.15	5.9	0.43	0.36
	2009		73	0.47	0.08	17.3	0.97	0.08
	2010		79	1.22	0.08	6.7	0.43	0.19
	2011		74	2.03	0.09	4.4	0.31	0.29
	2013		65	3.02	0.24	8.1	0.60	0.41
	2014		61	0.55	0.08	13.8	0.79	0.10

a) 全体の中央値

b) ロバスト標準偏差

c) ロバスト相対標準偏差

d) ロバスト標準偏差から求めたHorRat値

e) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

f) T-As及びT-Cdはmg/kg, その他の成分は% (質量分率)

表5-2 鉍さいけい酸質肥料における2006～2014年度の共同試験成績の統計量

試験項目	実施年	試験項目に由来する主な原料名	参加試験室数	Median ^{a)} (%) ^{f)}	NIQR ^{b)} (%) ^{f)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	HorRat _{rob} ^{d)}	HSD ^{e)} (%) ^{f)}
S-SiO ₂	2006		66	33.92	0.60	1.8	1.03	0.58
	2007		67	28.25	0.87	3.1	1.63	0.53
	2008		68	33.35	0.49	1.5	0.85	0.58
	2009		69	32.67	0.62	1.9	1.09	0.57
	2010		67	33.52	0.57	1.7	0.98	0.58
	2011		59	30.69	0.75	2.4	1.35	0.55
	2012		67	36.15	0.48	1.3	0.80	0.60
	2013		60	35.18	0.55	1.6	0.92	0.59
	2014		63	34.10	0.36	1.1	0.62	0.58
AL	2006		75	50.56	0.64	1.3	0.91	0.71
	2007		83	48.70	0.76	1.6	1.08	0.70
	2008		86	50.90	0.71	1.4	0.99	0.71
	2009		85	39.03	0.92	2.4	1.47	0.62
	2010		85	49.26	0.80	1.6	1.14	0.70
	2011		76	49.48	0.68	1.4	0.97	0.70
	2012		77	49.95	0.71	1.4	1.00	0.71
	2013		78	36.79	0.95	2.6	1.56	0.61
	2014		77	50.83	1.03	2.0	1.45	0.71
C-MgO	2006		78	6.18	0.13	2.0	0.67	0.19
	2007		86	3.17	0.21	6.6	1.95	0.11
	2008		89	5.80	0.14	2.4	0.79	0.18
	2009		87	2.34	0.20	8.7	2.48	0.08
	2010		88	5.42	0.11	2.1	0.67	0.17
	2011		78	3.36	0.23	6.8	2.05	0.11
	2012		81	6.77	0.19	2.8	0.94	0.20
	2013		79	3.77	0.14	3.6	1.11	0.12
	2014		79	5.71	0.17	3.1	0.99	0.18

a) 全体の中央値

b) ロバスト標準偏差

c) ロバスト相対標準偏差

d) ロバスト標準偏差から求めたHorRat値

e) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

f) 質量分率

表6 試験方法別の共同試験成績の統計量

試験項目	試験方法	報告 試験室数	Median ^{a)} (%,mg/kg) ^{f)}	NIQR ^{b)} (%,mg/kg) ^{f)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	HorRat _{rob} ^{d)}	HSD ^{e)} (%,mg/kg) ^{f)}
(化成肥料)							
Mois	加熱減量法	133	1.78	0.16	8.7	2.38	0.07
T-N	硫酸法	113	9.13	0.11	1.2	0.42	0.26
	自動分析装置による	8	9.16	0.06	0.6	0.22	0.26
A-N	蒸留法	114	7.99	0.11	1.4	0.48	0.23
	自動分析装置による	8	8.05	0.30	3.7	1.28	0.24
C-P ₂ O ₅	バナドモリブデン酸アンモニウム法	123	10.41	0.12	1.1	0.37	0.32
W-P ₂ O ₅	バナドモリブデン酸アンモニウム法	129	5.34	0.12	2.2	0.71	0.17
W-K ₂ O	フレイム光度法	53	8.79	0.18	2.0	0.70	0.25
	原子吸光法	71	8.81	0.14	1.6	0.57	0.25
C-MgO	原子吸光法	113	3.37	0.07	2.2	0.66	0.11
W-MgO	原子吸光法	109	1.89	0.18	9.4	2.59	0.07
	ICP発光分光分析法	7	1.78	0.21	11.9	3.24	0.07
T-As	ジエチルジチオカルバミン酸銀法	25	2.42	0.44	18.1	1.29	0.34
	原子吸光法(水素化物発生装置)	18	2.73	0.20	7.4	0.54	0.38
T-Cd	原子吸光法(溶媒抽出)	10	0.57	0.05	8.8	0.50	0.10
	原子吸光法(D2補正)	23	0.54	0.05	9.6	0.55	0.09
	原子吸光法(ゼーマン補正)	21	0.54	0.07	13.0	0.74	0.09
(鉍さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	ふっ化カリウム法	45	34.06	0.30	0.9	0.51	0.58
	過塩素酸法	15	34.21	0.46	1.3	0.79	0.58
AL	EDTA法	15	50.81	0.62	1.2	0.87	0.71
	原子吸光法	58	50.79	1.18	2.3	1.65	0.71
S-CaO	原子吸光法	58	42.79	1.14	2.7	1.74	0.65
S-MgO	原子吸光法	58	5.78	0.13	2.2	0.73	0.18
C-MgO	EDTA法	7	5.77	0.33	5.7	1.84	0.18
	原子吸光法	68	5.70	0.16	2.9	0.94	0.18

a) 全体の中央値

d) ロバスト標準偏差から求めたHorRat値

b) ロバスト標準偏差

e) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

c) ロバスト相対標準偏差

f) T-As及びT-Cdはmg/kg, その他の成分は% (質量分率)

3) 試験成績の傾向

同一の試験室において報告された異なる試験成績の z スコアの関係を図2-1～図2-7に示した。具体的には、同一の共同試験用試料について同様の抽出方法で異なる成分(化成肥料中のC-P₂O₅とC-MgO等)、同一の共同試験用試料について異なる抽出方法で同一の成分(化成肥料中のC-P₂O₅とW-P₂O₅等)、そして同様の抽出方法及び同一の成分で異なる共同試験用試料(化成肥料及び鉍さいけい酸質肥料中のC-MgO等)である。

更に、 z スコアが同じ値となる点線を書き加えた。この直線に平行方向のプロットは同様の抽出方法又は同一の成分の測定方法において系統的な偏りの要因があると考えられる。

なお、2)及び3)を参考に「4)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。

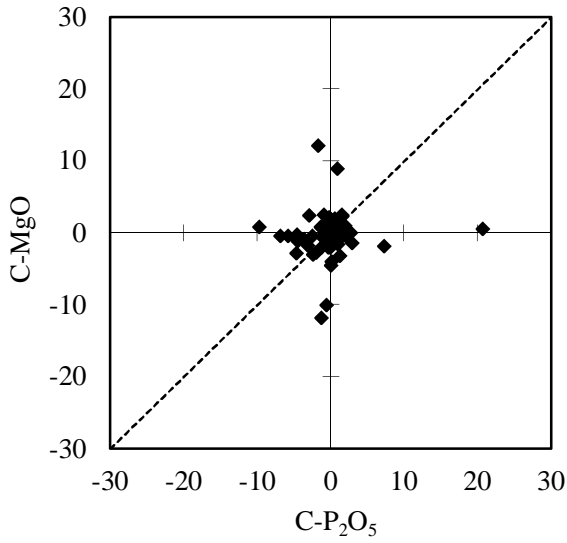


図2-1 化成肥料中のC-MgO-C-P₂O₅のzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- zスコアが同じ値を示す直線

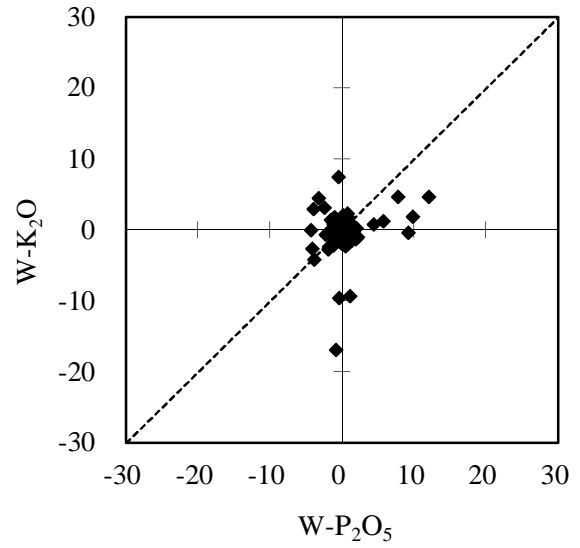


図2-2 化成肥料中のW-K₂O-W-P₂O₅のzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- zスコアが同じ値を示す直線

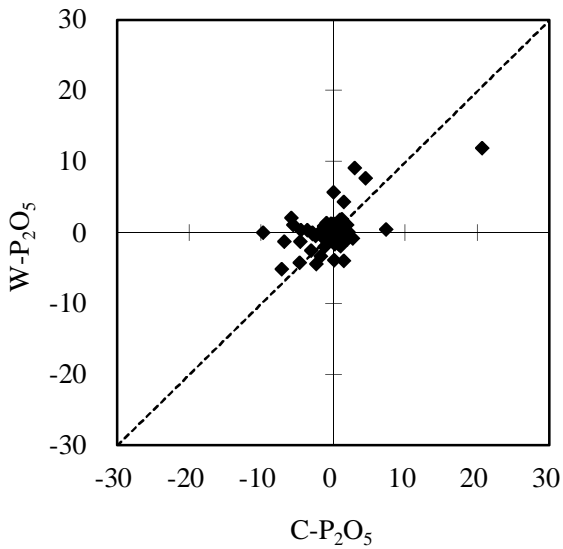


図2-3 化成肥料中のW-P₂O₅-C-P₂O₅のzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- zスコアが同じ値を示す直線

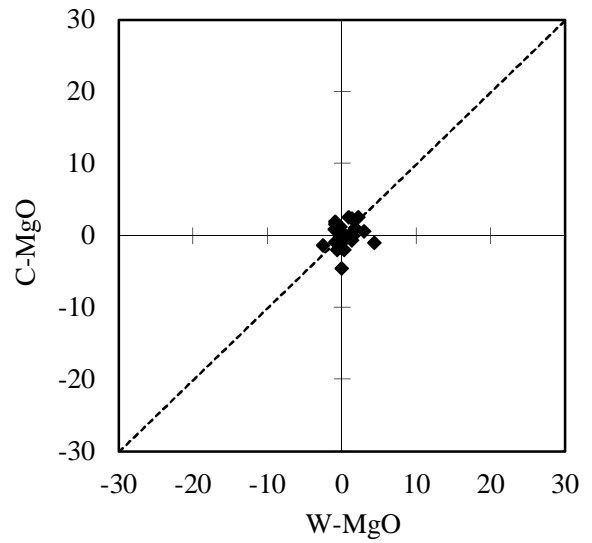


図2-4 化成肥料中のC-MgO-W-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- zスコアが同じ値を示す直線

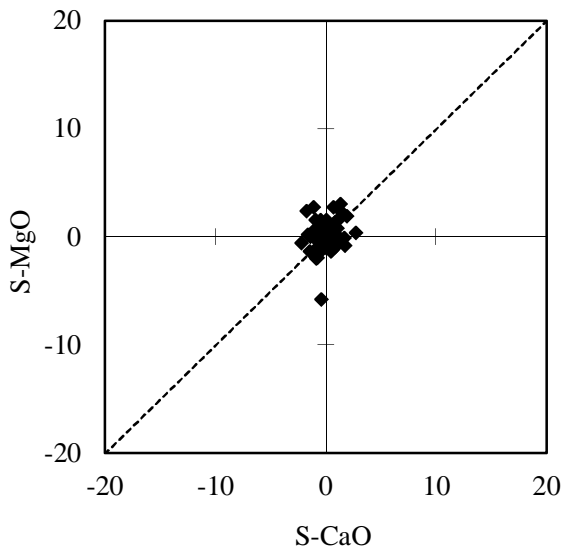


図2-5 鉍さいけい酸質肥料中の
S-MgO-S-CaOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
----- zスコアが同じ値を示す直線

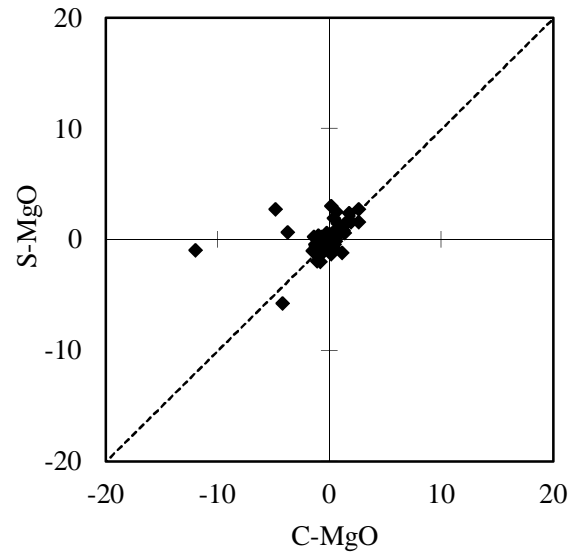


図2-6 鉍さいけい酸質肥料中の
S-MgO-C-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
----- zスコアが同じ値を示す直線

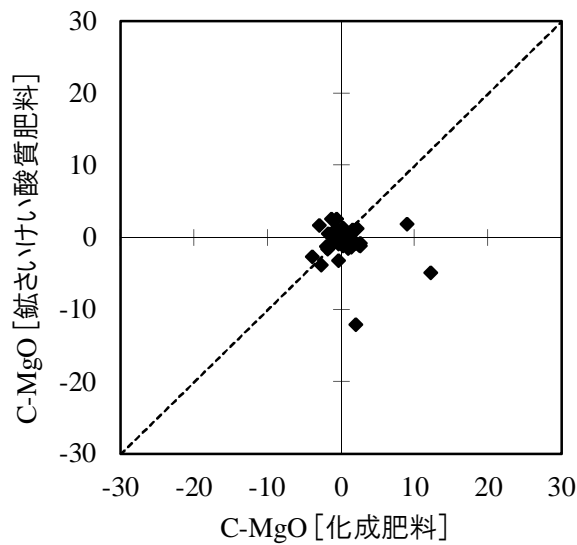


図2-7 鉍さいけい酸質肥料及び化成
肥料中のC-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
----- zスコアが同じ値を示す直線

4) 成分別の試験成績の評価

(1) 化成肥料中の水分(Mois)

参加133試験室のうち、全ての試験室が加熱減量法により分析した。試験成績の度数分布を図3-1に示す。平均値1.79% (質量分率)とMedian 1.78% (質量分率)はほぼ一致し、「満足」と評価された試験室は全体の

89%であった。NIQR 0.16% (質量分率)は、HSD 0.07% (質量分率)より大きい値であり、「不満足」と評価された試験室は全体の5%である7試験室が該当した。NIQRが大きくなった要因として、当該化成肥料の原料である過りん酸石灰は加熱により損失されやすい結晶水を含有しており、加熱時間は3時間が採用されているが乾燥時間の誤差や乾燥機内の温度が不均一になったことなどにより、ばらつきが生じたことが考えられる。乾燥機内の位置によっては実際の温度が設定温度と異なることがあるため、強制循環式恒温乾燥機を使用することが望ましい。また、機内の気流により試料が飛散することがあるので注意する必要がある。

(2) 化成肥料中の窒素全量(T-N)

参加126試験室のうち、113試験室が硫酸法、5試験室が燃焼法、8試験室が自動分析装置による方法を用いた。試験成績の度数分布を図3-2に示す。平均値とMedianは9.13% (質量分率)と一致しており、「満足」と評価された試験室は全体の88%であった。NIQR 0.11% (質量分率)はHSD 0.26% (質量分率)より小さく、「不満足」と評価された試験室は全体の6%である8試験室が該当した。そのうち7試験室が硫酸法、1試験室が燃焼法を用いていた。硫酸法は、蒸留操作の初期にアンモニアの流出が多いため、水酸化ナトリウムを添加後は、蒸留フラスコを素早く蒸留装置に装着するように留意されたい。また、滴定に用いる標準水酸化ナトリウム液は、標定の正確性が分析値に影響を与えるため、アミド硫酸の計量操作及び滴定操作は正確に行うよう注意を払う必要がある。

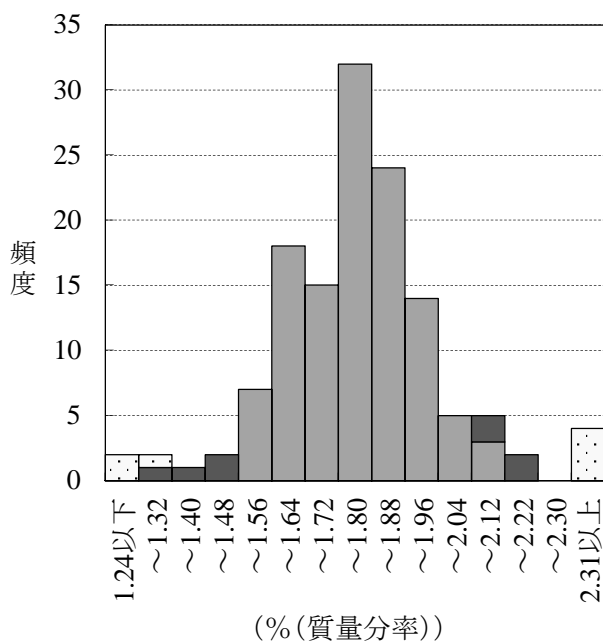


図3-1 化成肥料中の水分の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

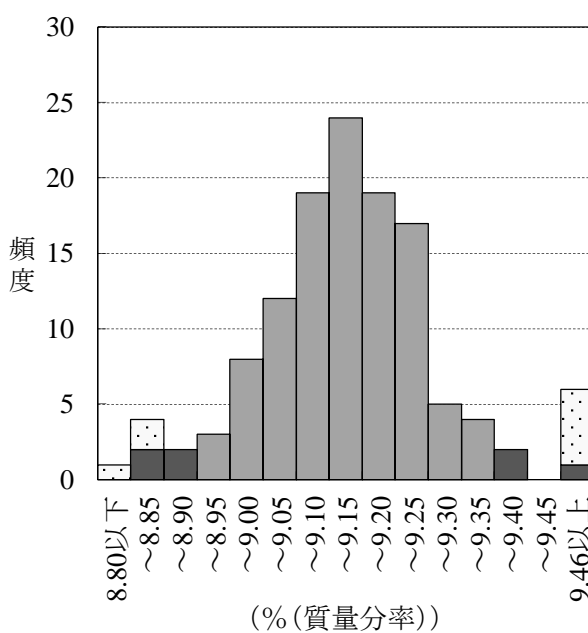


図3-2 化成肥料中の窒素全量の分析成績

■ 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122試験室のうち、114試験室が蒸留法、8試験室が自動分析装置による方法を用いた。試験成績の度数分布を図3-3に示す。平均値7.98% (質量分率)とMedian 7.99% (質量分率)はほぼ一致し、「満足」と評価された試験室は全体の88%であった。NIQR 0.12% (質量分率)は、HSD 0.23% (質量分率)より小さい値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の6%である7試験室が該当した。そのうち6試験室が蒸留法を用

いていた。蒸留法は、窒素全量と同様に蒸留操作初期のアンモニア流出に注意するほか、有機物を含む試料の場合は、水蒸気蒸留時に添加するアルカリ剤として水酸化ナトリウムを使用すると、有機物由来の窒素により高値となる場合があるため、アルカリ剤の選択に注意する必要がある。

(4) 化成肥料中のく溶性りん酸(C-P₂O₅)

参加126試験室のうち、123試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法、2試験室がICP発光分光分析法、1試験室が自動分析装置による方法を用いた。試験成績の度数分布を図3-4に示す。平均値10.43%（質量分率）とMedian 10.41%（質量分率）であり、「満足」と評価された試験室は全体の83%であった。NIQR 0.12%（質量分率）は、HSD 0.29%（質量分率）より小さい値であり、「不満足」と評価された試験室は全体の11%にあたる14試験室が該当し、全てバナドモリブデン酸アンモニウム法によるものであった。く溶性りん酸の測定時には、試料液中及び標準液中のくえん酸量を同一とし、発色後は30～120分の間に測定を終了させることに留意されたい。

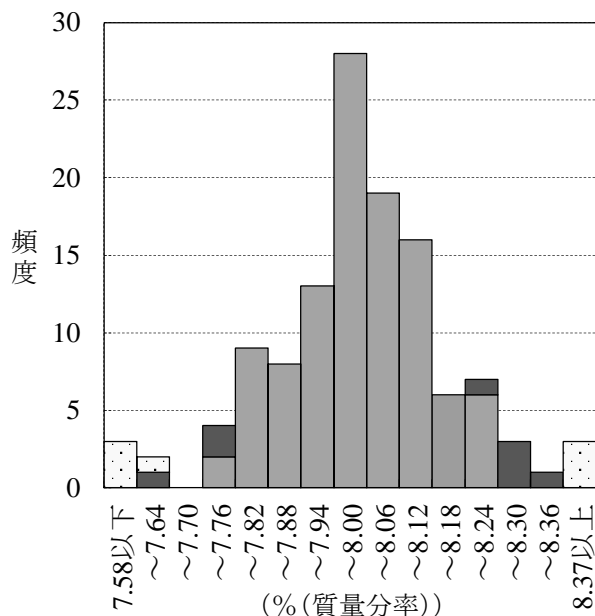


図3-3 化成肥料中のアンモニア性窒素の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

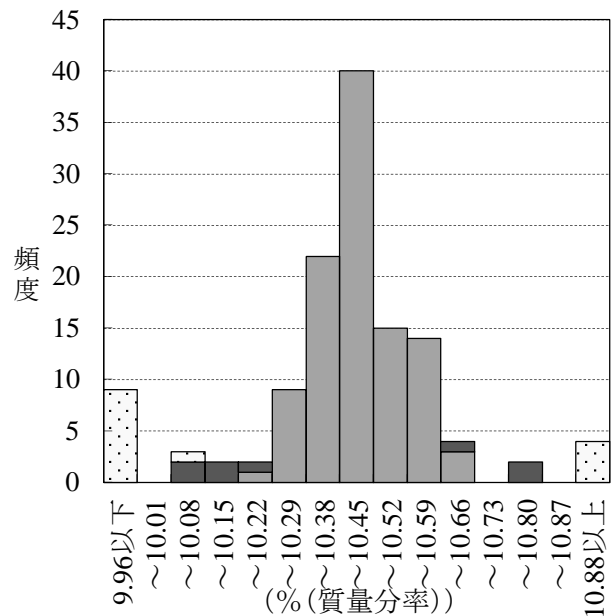


図3-4 化成肥料中のく溶性りん酸の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

(5) 化成肥料中の水溶性りん酸(W-P₂O₅)

参加132試験室のうち、129試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法、2試験室がICP発光分光分析法、1試験室が自動分析装置による方法を用いた。試験成績の度数分布を図3-5に示す。平均値5.40%（質量分率）とMedian 5.34%（質量分率）であり、「満足」と評価された試験室は全体の88%であった。NIQR 0.12%（質量分率）は、HSD 0.17%（質量分率）より小さい値であり、「不満足」と評価された試験室は全体の10%にあたる13試験室が該当し、全てバナドモリブデン酸アンモニウム法により分析した試験室であった。

(6) 化成肥料中の水溶性加里(W-K₂O)

参加130試験室のうち、71試験室が原子吸光法、53試験室がフレイム光度法、3試験室がICP発光分光分

析法, 2 試験室がテトラフェニルホウ酸ナトリウム容量法, 1 試験室が自動分析装置による方法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-6 に示す。平均値 8.78 % (質量分率) と Median 8.80 % (質量分率) はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 85 % であった。NIQR 0.16 % (質量分率) は HSD 0.25 % (質量分率) より小さい値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 8 % にあたる 11 試験室が該当し, 内訳はフレーム光度法が 7 試験室, 原子吸光法が 3 試験室及び ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった。原子吸光法及びフレーム光度法による分析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有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。フレーム光度法及び原子吸光測光法で測定する際は検量線の直線性に留意し, 調製した標準液についても, 時間の経過とともに濃度変化が生じることがあるので定期的に調製する必要がある。また, 定量には試料溶液の噴霧効率が影響するため, 測定時には試料液及び標準液の温度, 酸組成及び酸濃度を同一とすることが望ましい。

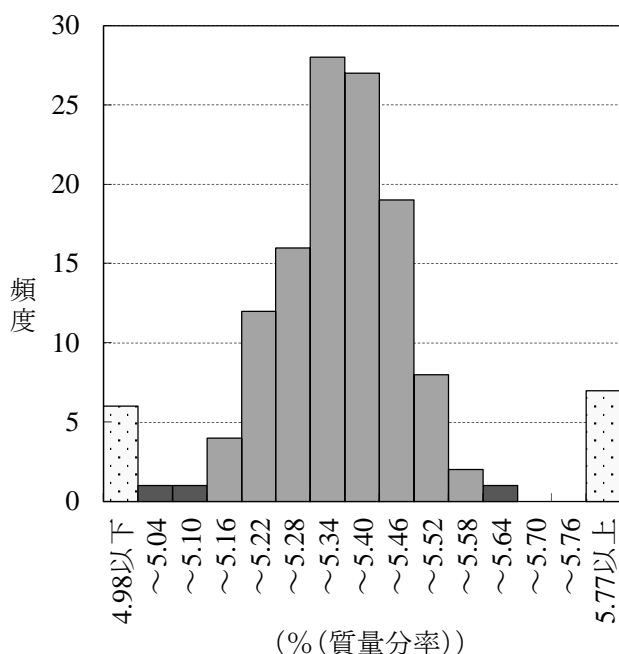


図3-5 化成肥料中の水溶性りん酸の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

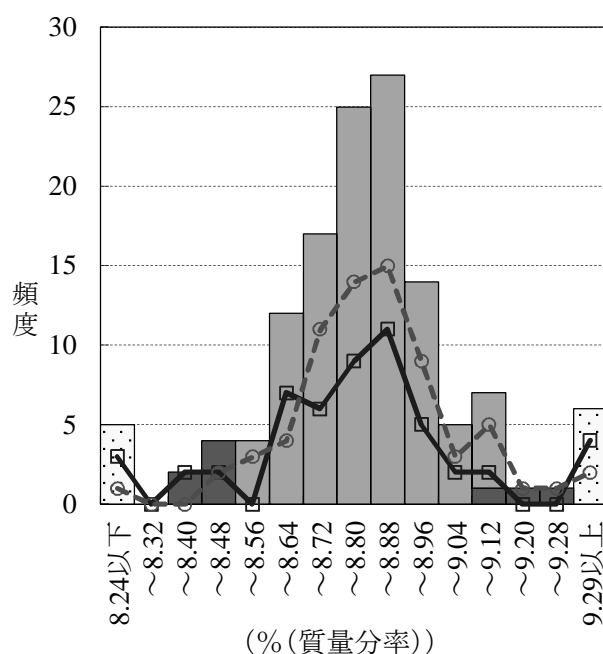


図3-6 化成肥料中の水溶性加里の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足
 —○— 原子吸光
 —■— フレーム

(7) 化成肥料中の可溶性苦土(C-MgO)

参加 122 試験室のうち, 113 試験室が原子吸光法, 5 試験室が ICP 発光分光分析法, 4 試験室が EDTA 法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-7 に示す。平均値 3.36 % (質量分率) と Median 3.37 % (質量分率) はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 87 % であった。NIQR 0.08 % (質量分率) は HSD 0.11 % (質量分率) と比較し小さい値となった。「不満足」と評価された試験室は全体の 6 % にあたる 7 試験室が該当し, 内訳は原子吸光法が 6 試験室, EDTA 法が 1 試験室であった。

(8) 化成肥料中の水溶性苦土(W-MgO)

参加 120 試験室のうち, 109 試験室が原子吸光法, 7 試験室が ICP 発光分光分析法, 4 試験室が EDTA 法

を用いた。試験成績の度数分布を図3-8に示す。平均値 1.92 % (質量分率)と Median 1.89 % (質量分率)はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 87 %であった。NIQR 0.18 % (質量分率)は HSD 0.07 % (質量分率)と比較し大きい値となった。「不満足」と評価された試験室は全体の 8 %にあたる 9 試験室であった。

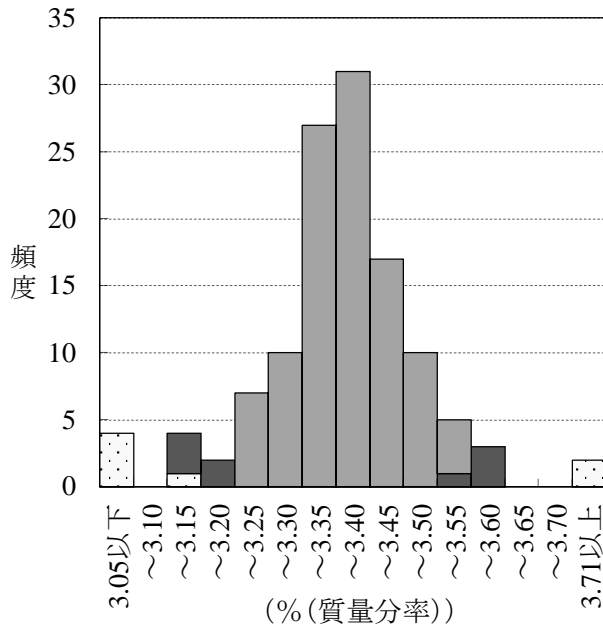


図3-7 化成肥料中のく溶性苦土の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

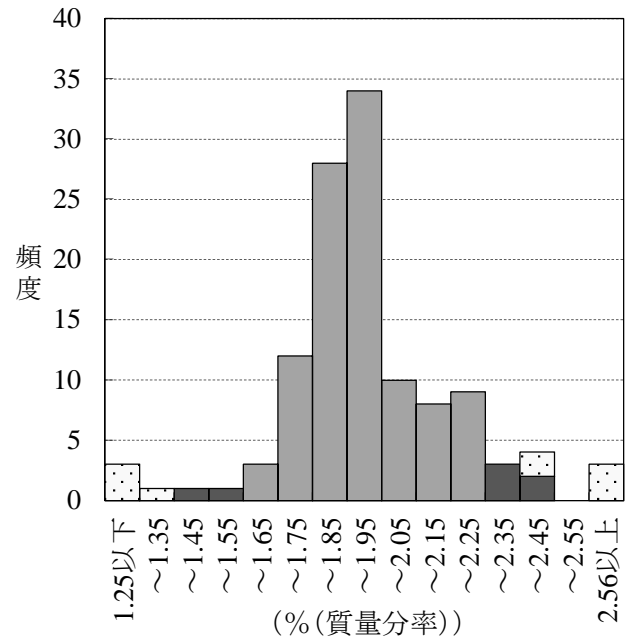


図3-8 化成肥料中の水溶性苦土の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

(9) 化成肥料中のひ素全量(T-As)

参加 47 試験室のうち、19 試験室が原子吸光法を用いており、そのうち 18 試験室が水素化物発生装置を用いた方法、1 試験室がフレームレス原子化法であった。また、25 試験室がジエチルジチオカルバミン酸銀法、3 試験室が ICP 発光分光分析法であった。試験成績の度数分布を図 3-9 に示す。平均値 2.73 mg/kg と Median 2.64 mg/kg であり、「満足」と評価された試験室は全体の 87 %であった。NIQR 0.32 mg/kg は HSD 0.36 mg/kg とほぼ一致する値となった。「不満足」と評価された試験室は全体の 9 %にあたる 4 試験室が該当し、全てジエチルジチオカルバミン酸銀法を用いた試験室であった。ジエチルジチオカルバミン酸銀法及び水素化物発生装置を用いた原子吸光法による分析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有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

(10) 化成肥料中のカドミウム全量(T-Cd)

参加 61 試験室のうち、56 試験室が原子吸光法を用いており、そのうち溶媒抽出法が 10 試験室、D2 補正法が 23 試験室、ゼーeman補正法が 21 試験室、D2 補正法及びゼーeman補正法による測定値の平均値の報告が 1 試験室、フレームレス原子化法が 1 試験室であった。また、5 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-10 に示す。平均値と Median は 0.55 mg/kg で一致し、「満足」と評価された試験室は全体の 72 %であった。NIQR 0.08 mg/kg は HSD 0.10 mg/kg より小さい値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 13 %にあたる 8 試験室が該当し、内訳は溶媒抽出法が 1 試験室、D2 補正法が 4 試験室、ゼーeman補正法が 2 試験室、ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった。

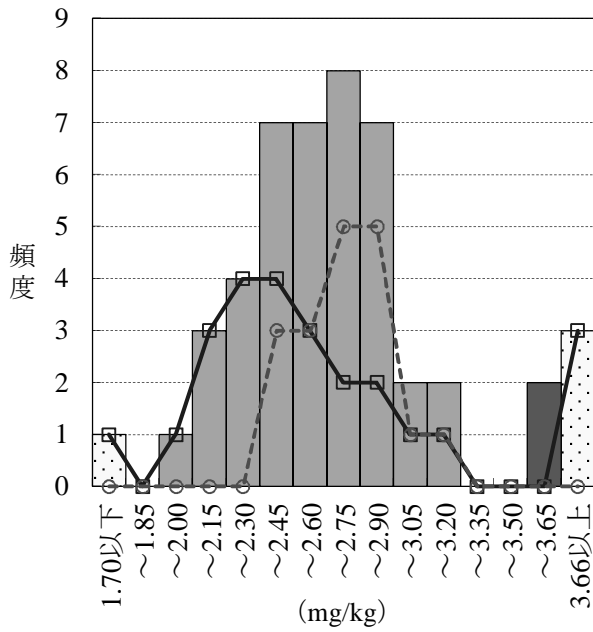


図3-9 化成肥料中のひ素全量の分析成績

■ 満足
 ■ 疑わしい
 □ 不満足
 —□— ジエチルジチオカルバミン酸銀法
 -○- 原子吸光法

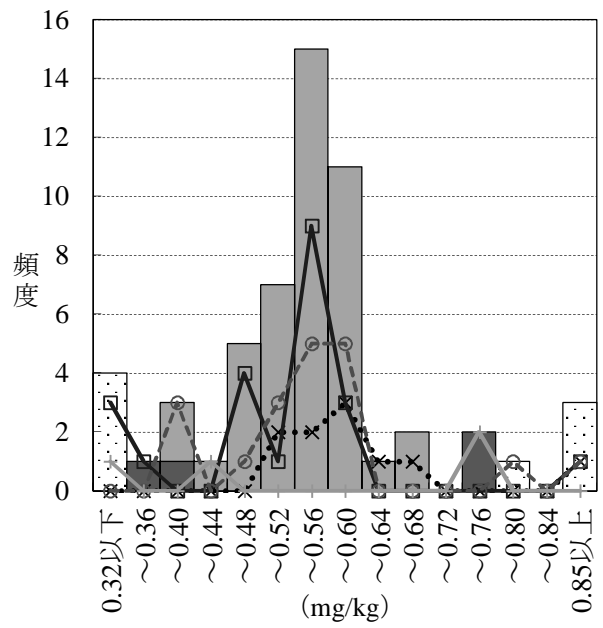


図3-10 化成肥料中のカドミウム全量の分析成績

■ 満足
 ■ 疑わしい
 □ 不満足
 ●●●● 溶媒抽出
 —□— D2補正
 -○- ゼーマン補正
 —+— ICP-OES

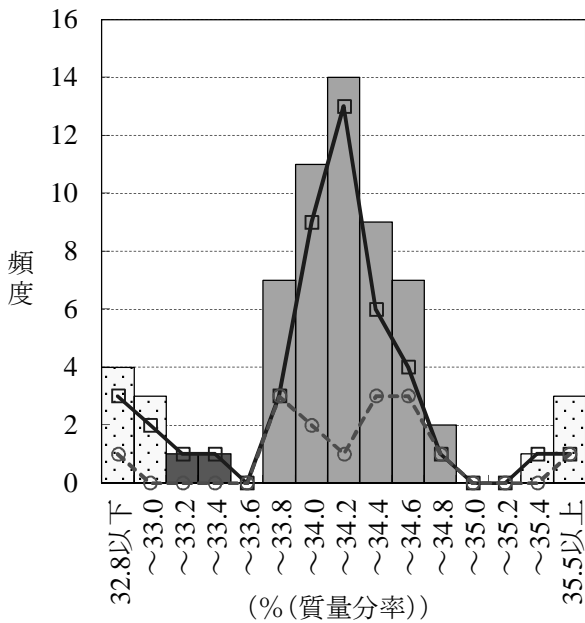


図4-1 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸の分析成績

■ 満足
 ■ 疑わしい
 □ 不満足
 -○- 過塩素酸法
 —□— ふっ化カリウム法

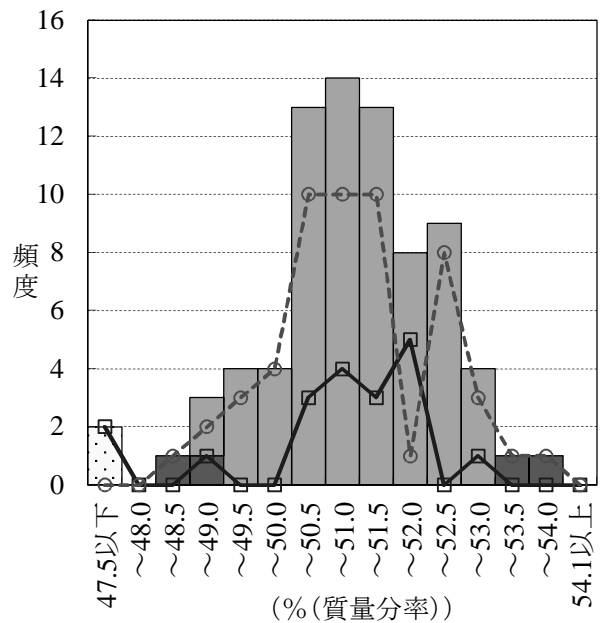


図4-2 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分の分析成績

■ 満足
 ■ 疑わしい
 □ 不満足
 -○- 原子吸光測光法
 —□— EDTA法

(11) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)

参加 63 試験室のうち、45 試験室がフッ化カリウム法、15 試験室が過塩素酸法、2 試験室が塩酸法、1 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 4-1 に示す。平均値 33.71 % (質量分率) と Median 34.10 % (質量分率) とやや乖離し、「満足」と評価された試験室は全体の 79 % であった。NIQR 0.36 % (質量分率) は、HSD 0.58 % (質量分率) より小さい値であり、2006～2013 年度の NIQR 0.48 % (質量分率)～0.87 % (質量分率) と比較すると NIQR は小さい値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 17 % にあたる 11 試験室であり、内訳はフッ化カリウム法が 7 試験室、過塩素酸法が 2 試験室、塩酸法と ICP 発光分光分析法がそれぞれ 1 試験室であった。

フッ化カリウム法及び過塩素酸法による分析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有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

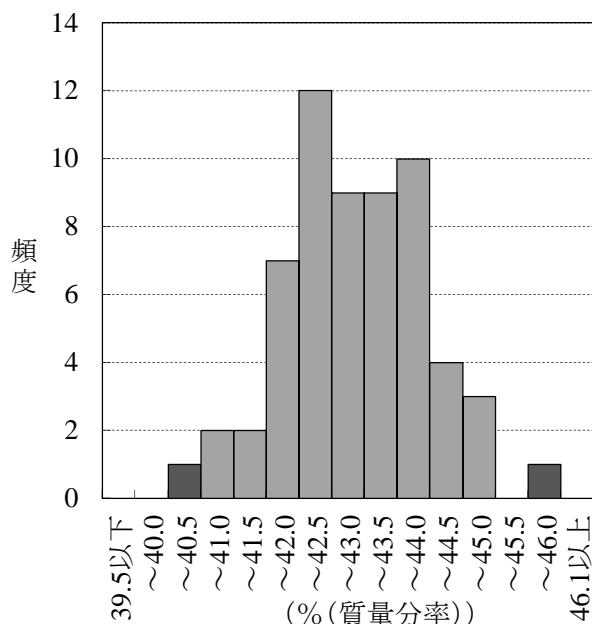


図4-3 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性石灰の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい

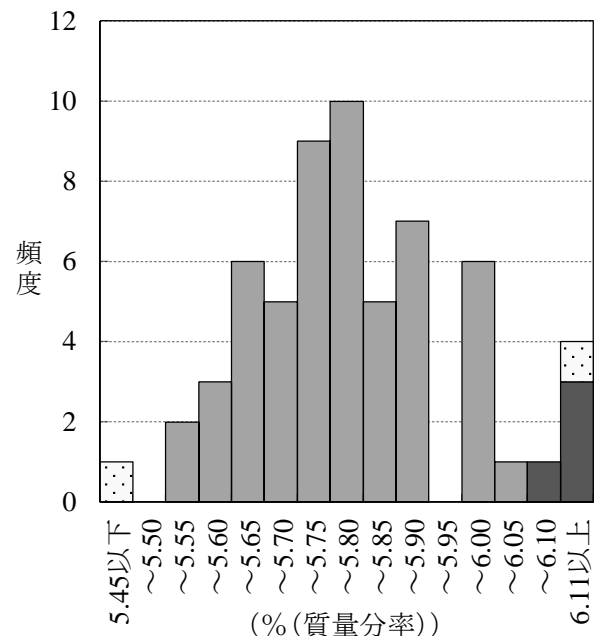


図4-4 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性苦土の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

(12) 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分(AL)

参加 77 試験室のうち、58 試験室が原子吸光法、15 試験室が EDTA 法、4 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 4-2 に示す。平均値 50.81 % (質量分率) と Median 50.83 % (質量分率) はほぼ一致し、「満足」と評価された試験室は全体の 92 % であった。NIQR 1.03 % (質量分率) は、HSD 0.71 % (質量分率) より大きく、2006～2013 年度の NIQR 0.64 % (質量分率)～0.95 % (質量分率) と比較しても大きい値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 3 % にあたる 2 試験室が該当し、全て EDTA 法を用いた試験室であった。

原子吸光法及び EDTA 法による分析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有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

原子吸光法を用いた 58 試験室及び ICP 発光分光分析法を用いた 4 試験室のうち 2 試験室、合計 60 試験

室から S-CaO 及び S-MgO の分析値の報告を受けた。それらの試験成績の度数分布を図 4-3 及び図 4-4 に示す。S-CaO は平均値が 42.87 % (質量分率), Median が 42.79 % (質量分率), NIQR が 1.12 % (質量分率) であり, 「不満足」となった試験室はなかった。一方, S-MgO の平均値 5.79 % (質量分率) と Median 5.78 % (質量分率) はほぼ一致し, NIQR は 0.14 % (質量分率) であり, 2 試験室が「不満足」という結果であった。

アルカリ分の分析は, 試料溶液調製時に塩酸による煮沸抽出を行う際, 分析試料がビーカーの底部に固結すると抽出不十分となり低値の要因となるため, 注意する必要がある。

(13) 鉍さいけい酸質肥料中のく溶性苦土(C-MgO)

参加 79 試験室のうち, 68 試験室が原子吸光法, 7 試験室が EDTA 法, 4 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 4-5 に示す。平均値が 5.65 % (質量分率) と Median が 5.71 % (質量分率) であり, 「満足」と評価された試験室は全体の 85 % であった。NIQR 0.17 % (質量分率) は HSD 0.18 % (質量分率) とほぼ一致した。「不満足」と評価された試験室は全体の 8 % にあたる 6 試験室が該当し, 内訳は原子吸光法が 3 試験室, EDTA 法が 1 試験室, ICP 発光分光分析法が 2 試験室であった。原子吸光法及び EDTA 法による分析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有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

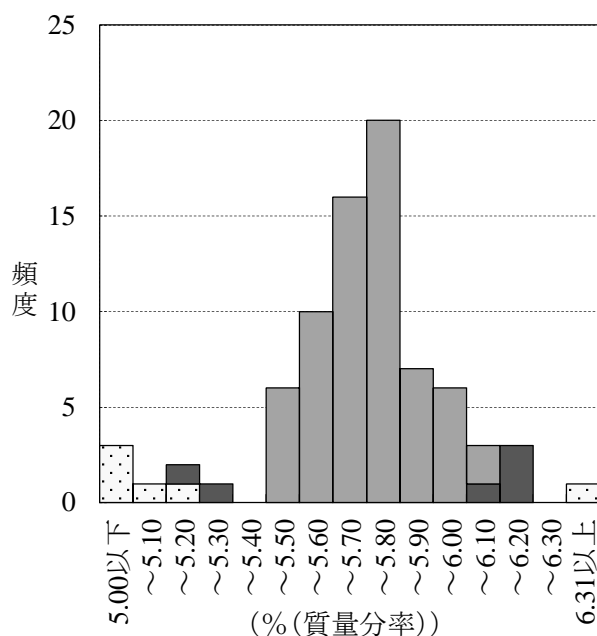


図4-5 鉍さいけい酸質肥料中のく溶性苦土の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

5) リン酸の測定波長及び検量線の作成と評価結果の傾向

本共同試験では 2013 年度から, リン酸の分析において参考情報の収集を行っている。今年度は, く溶性りん酸及び水溶性りん酸をバナドモリブデン酸アンモニウム法で試験した試験室に, 分析成績の他に測定波長や標準液の濃度及び吸光度について報告を求めており, く溶性りん酸については 110 試験室, 水溶性りん酸については 113 試験室から報告があった。

報告結果を用いて、試験室を測定波長で分類した。波長は 420 nm, 415 nm, 410 nm, 400 nm 及びその他の波長に分類し、それぞれの波長で z スコアにより不満足と評価された試験室数 ($n \geq 3$) とその割合、及び最小二乗法で算出した検量線傾きの中央値と $NIQR$ を表 7 に示した。その結果く溶性りん酸は、420 nm を用いた試験室が 82 試験室 (75 %), 400 nm, 410 nm 及び 415 nm など、その他の波長を用いた試験室が合わせて 28 試験室 (25 %) であり、水溶性りん酸は、420 nm が 82 試験室 (73 %), その他の波長は 30 試験室 (27 %) であった。どちらの成分でも特筆する傾向は見られなかった。

各波長での検量線傾きは、420 nm で $0.234 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg}$ で最小、400 nm で $0.374 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg}$ と最大となり、測定波長が小さくなるにつれて傾きは大きくなる傾向が見られた。これは吸光度曲線¹⁰⁾と一致する傾向であり、各波長での傾きのばらつきを示す $NIQR$ は $0.005 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg} \sim 0.017 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg}$ と小さい値であった。これらの結果は 2013 年度の調査の結果と同様の傾向を示していた。

また、表 8 に各試験室での濃度算出方法 (検量線法か示差法) 及び標準液の調製方法 (りん酸 (P_2O_5) かりん (P)) を示した。く溶性りん酸では 77 試験室が検量線法、28 試験室が示差法を用い、89 試験室がりん酸 (P_2O_5) として調製した標準液、21 試験室がりん (P) として調製した標準液を用いていた。また、水溶性りん酸では 84 試験室が検量線法、29 試験室が示差法を用い、87 試験室がりん酸 (P_2O_5) として調製した標準液、26 試験室がりん (P) として調製した標準液を用いていた。不満足数及びその割合については検量線法と示差法の間に顕著な差は認められなかった。また、標準液の調製方法の違いによる不満足割合は、く溶性りん酸でりん酸 (P_2O_5) が 8 %, りん (P) が 19 %, 水溶性りん酸でりん酸 (P_2O_5) が 2 %, りん (P) が 19 % であった。2013 年度の調査によると、りん酸 (P_2O_5) で 4 % に対してりん (P) で 38 % と顕著な差が見られていた¹¹⁾。本年度は標準液をりん (P) として調製した試験室に不満足割合が高い傾向が見られたものの、りん酸 (P_2O_5) で調製した試験室との間に 2013 年度のような顕著な差は認められなかった。傾向の確認のために 2015 年度も引き続き調査を続けていく。

表7 りん酸の測定波長と試験成績

測定波長 (nm)	試験室数(CP)			試験室数(WP)			検量線傾き	
	回答数	内不満足数	不満足 の割合(%)	回答数	内不満足数	不満足 の割合(%)	中央値 ^{a)}	$NIQR$ ^{a)}
420	82	4	5	83	5	6	0.234	0.005
415	5	1	20	5	0	0	0.264	0.006
410	16	5	31	18	1	6	0.299	0.017
400	4	1	25	4	1	25	0.374	0.002
その他	3	0	0	3	0	0	-	-

a) 単位: $\text{abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg}$

表8 りん酸の測定方法と試験成績

成分	測定方法又は 標準液の調製方法	試験室数		
		回答数	内不満足数	不満足 の割合(%)
く溶性りん酸	検量線法	77	10	13
	示差法	28	1	4
	P_2O_5 ^{a)}	89	7	8
	P ^{b)}	21	4	19
水溶性りん酸	検量線法	84	6	7
	示差法	29	1	3
	P_2O_5 ^{a)}	87	2	2
	P ^{b)}	26	5	19

a) りん酸 (P_2O_5) として標準液を調製

b) りん (P) として標準液を調製

6) 内部品質管理と評価結果の傾向

この外部精度管理試験に際して内部品質管理状況を求めたところ、表9のとおり、143試験室(全体の93%)から回答があった。93試験室(全体の60%)が内部品質管理を実施しており、50試験室(全体の32%)が実施していなかった。また、内部品質管理のための管理試料として、49試験室(全体の32%)が認証標準物質、51試験室(全体の33%)が過去の共通試料を用いていた(複数回答可)。

く溶性りん酸及び水溶性りん酸の試験成績における内部品質管理の効果を表10に示した。く溶性りん酸は内部品質管理を実施した場合の不満足数($|z| \geq 3$)及びその割合が9試験室及び11%に対し、実施していない場合は4試験室及び10%と内部品質管理の実施の有無で差は認められなかった。水溶性りん酸では、内部品質管理を実施した場合の不満足数及びその割合が6試験室及び7%に対し、実施していない場合は6試験室及び14%となり、不満足の高い傾向がみられた。

なお、参考として、肥料認証標準物質(高度化成肥料FAMIC-A-10, FAMIC-A-13及び普通化成肥料FAMIC-B-10)のく溶性りん酸の内部品質管理試験成績を表11に示した。く溶性りん酸については39試験室のうち32試験室の試験成績が警戒線以内、1試験室の試験成績が処置線以内であり、6試験室の試験成績が処置線を越えていた。水溶性りん酸については29試験室のうち27試験室の試験成績が警戒線以内であり、2試験室の試験成績が処置線を越えていた。品質管理成績が処置線の範囲を超えた場合は、その一連の試験を不適合とし、再試験を実施することが望まれる¹²⁾。今回、く溶性りん酸で処置線を越えた6試験室のうち、3試験室が不満足($|z| \geq 3$)、1試験室が疑わしい($3 > |z| > 2$)の評価をうけており、内部品質管理試験成績を踏まえ分析成績を確認する体制の整備も重要であることがうかがえる。

表9 内部品質管理試験状況

	回答数	内部品質管理に用いた管理試料(複数回答可)		
		認証標準物質	過去の共通試料	独自の管理資料
内部品質管理試験実施	93	49	51	13
内部品質管理試験不実施	50	-	-	-
無回答	11	-	-	-

表10 内部品質管理試験状況とりん酸の試験成績

管理試料の有無及び 管理試料の種類	試験室数(CP)			試験室数(WP)		
	回答数	内不満足数	不満足割合(%)	回答数	内不満足数	不満足割合(%)
使用	81	9	11	84	6	7
うち認証標準物質 ^{a)}	48	4	8	48	4	8
過去の共通試料 ^{a)}	42	7	17	45	4	9
独自の管理試料 ^{a)}	9	0	0	9	0	0
未使用 ^{b)}	41	4	10	43	6	14

a) 複数回答はそれぞれにカウント

b) 内部品質管理試験実施せず

表11 内部品質管理試験状況とりん酸の試験成績

管理試料	試験室数			
	回答数	警戒線以内	処置線以内	処置線を超える値
認証標準物質A ^{a)} (CP)	39	32	1	6
認証標準物質B ^{b)} (WP)	29	27	0	2

a) 高度化成肥料 FAMIC-A-10及びFAMIC-A-13

b) 普通化成肥料 FAMIC-B-10

6. 総 括

2014年度外部精度管理のための共同試験は、化成肥料10成分に140試験室、鉍さいけい酸質肥料3成分に81試験室が参加した。各試験成績をロバスト法による z スコアを用いて評価したところ、「満足 ($|z| \leq 2$)」と評価された試験室の割合は72%~97%、「不満足 ($|z| \geq 3$)」と評価された試験室の割合は0%~17%であった。全体として平均値 Mean と中央値 Median はほぼ一致したが、一部でやや乖離した項目もみられ、外れ値の影響を受けていることが考えられた。複数の試験法による報告で10試験室以上が採用した方法間について平均値の差を検定したところ、検定を行った全ての方法間で有意な差は認められなかった。「不満足」が多くみられた分析成分は原子吸光法をはじめとした機器分析により測定されていることが多かった。機器分析を行う際は検量線の直線性に注意するとともに、各標準液の確認を行い、日頃から分析機器の管理に注意を払う必要がある。また、6割の試験室が何らかの標準物質を用いた内部品質管理を行っていることがわかった。しかし、肥料認証標準物質を用いた内部品質管理を行っているが、標準物質の適正な使用がなされていないために不満足の結果を報告している試験室が確認されており、内部品質管理試験成績を踏まえ分析成績を確認する体制を整えることも重要であることがうかがえた。

肥料分析は熟練を要する実験操作が多く、機器の扱い等を含めて日々練度の向上に努める必要がある。更に危機管理の側面から、内部品質管理試験を取り入れて分析成績の管理を行うことで、一層試験室の信頼性は高まると考えられる。

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、片倉チッカリン株式会社(現 片倉コープアグリ株式会社)千葉工場及び産業振興株式会社昭和町工場の関係者各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2005, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料認証標準物質の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 3) ISO/IEC 17043 (2010): “Conformity assessment—General requirements for proficiency testing” (JIS Q 17043 : 2011, 「適合性評価—技能試験に対する一般要求事項」)
- 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 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)

- 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)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, (2005)
- 10) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, p.108~114, 養賢堂, 東京 (1988)
- 11) 矢野愛子, 千田正樹, 板東悦子, 鈴木知華, 宮下靖司, 稲葉茂幸, 豊留夏紀, 白井裕治, 上沢正志:2013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, 肥料研究報告, **7**, 68~94(2014)
- 12) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):本認証標準物質の使い方
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/tukaikata_14b.pdf>

Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements in Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2014

Kohei ITO¹, Masaki CHIDA², Etsuko FUNAMIZU², Toshio HIRABARA³,
Hisashi TSUTSUI⁴, Masahiro ECHI⁵, Natsuki TOYODOME⁶, Yuji SHIRAI¹ and Toshiaki IMAGAWA⁷

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

⁶ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

(Now) Agricultural Chemicals Inspection Station

⁷ Japan Fertilizer and Feed Inspection Association

A proficiency testing of analytical laboratories was conducted in fiscal year 2014, using reference materials of ground compound fertilizer and silicate slag fertilizer based on ISO/IEC 17043, “Conformity assessment - General requirements for proficiency testing”. Moisture (Mois.), total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), water-soluble magnesium (W-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 slag fertilizer sample. Two homogenized samples were sent to the participants. From the 140 participants which received a compound fertilizer sample, 47~133 results were returned for each element. From the 81 participants which received a silicate slag fertilizer sample, 60~79 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 72 %~97 % and the results from the satisfactory participants were almost normally distributed. The mean and the median of all elements slightly differed from each other. 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 2 elements. Where more than 10 results were returned, no significant distribution difference was observed between the different methods.

Key words proficiency testing, compound fertilizer, silicate slug fertilizer, harmful element, ISO/IEC 17043, ISO/IEC 17025, *z* score

(Research Report of Fertilizer, **8**, 114~139, 2015)

11 2014年度 肥料認証標準物質の開発

— 普通化成肥料 FAMIC-B-14 の調製 —

阿部進¹, 秋元里乃¹, 坂井田里子¹, 八木寿治¹, 伊藤浩平¹, 田中雄大¹,
加島信一², 廣井利明³, 鈴木時也¹, 佐久間健太¹, 橋本良美¹, 白井裕治¹

キーワード 認証標準物質, 普通化成肥料, 主成分, 有害成分, ISO/IEC Guide 31,
ISO/IEC Guide 35, 共同試験

1. はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) では, 安全な肥料の生産, 流通を確保するために立入検査を実施し, その際に収去した肥料の主成分及び有害成分の分析を実施しているが, これらの分析を行うにあたり試験法の信頼性確保が求められている. 従前より, 肥料生産事業場の品質管理室, 生産事業場等からの分析依頼を受けた分析機関, 肥料検査機関等の試験室では, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のため, 管理試料又は肥料認証標準物質¹⁾による内部品質管理が日常的に行われ, 更に共通試料を用いた試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施している. 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 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)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. その要求事項において「認証標準物質の定期的な使用」及び「試験所間の比較又は技能試験プログラムへの参加」が推奨されている.

現在, FAMIC においては, 肥料認証標準物質 A (高度化成肥料), 肥料認証標準物質 B (普通化成肥料) 及び肥料認証標準物質 C (汚泥発酵肥料) を調製・販売しており, これらの調製については国際的整合性確保のため ISO Guide 34:2009 (JIS Q 0034:2012)³⁾の「5 技術及び生産に関する要求事項」を参考に調製することとし, ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁴⁾を参考に解析を行った上で ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁵⁾を参考に認証書及びラベルを作成しているところである. 2014年度は新たに肥料認証標準物質 B (FAMIC-B-14) を調製し, その主要な成分について 16 試験室で共同試験を実施し, 認証値の値付けをしたので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 基材の選定

肥料認証標準物質 B の基材として, 硫酸アンモニア, 過りん酸石灰及び塩化加里を原料として製造された市販の普通化成肥料を用いた. 基材の選定にあたっては, 普通肥料の公定規格に規定されている化成肥料であって, 成分含有量として, 窒素, りん酸及び加里をそれぞれ質量分率 7 %程度含有することを確認し選定した.

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

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 (現)福岡センター

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 肥飼料安全検査部 (現)仙台センター

2) 認証標準物質候補の調製

購入した肥料は、FAMIC 試料調整室において超遠心粉碎機で、目開き 500 μm のふるいを通過するまで粉碎した。粉碎後、ポリエチレン袋に密封した候補品を室温で約 3 ヶ月間放置し、基材選定時と成分が大きく変動していないことを確認後、目開き 500 μm のふるいを通し、よく混合して均質化した肥料を約 150 g ずつ褐色ガラス瓶に小分けし、密封した。

3) 試験項目

肥料取締法に基づき、当該肥料の保証票に記載されている保証成分である、アンモニア性窒素、可溶性りん酸、水溶性りん酸及び水溶性加里、並びに、化成肥料の公定規格で許容基準が定められている有害成分のうち、調製時に含有を確認したヒ素、カドミウム、ニッケル、クロム及び鉛の計 9 成分を試験項目とした(表 1)。また、参考として水分も試験項目とした。

表 1 肥料認証標準物質候補 B の試験成分及び試験法

試験成分	試験項目 番号 ¹⁾	試験法の概要	
		試料液調製方法等	測定方法
水分 (H_2O)	3.1.a	—	乾燥器による乾燥減量法
	3.1.b	—	水分計による乾燥減量法
アンモニア性窒素 (A-N)	4.1.2.a	直接蒸留	蒸留法
可溶性りん酸 (S- P_2O_5)	4.2.2.a	水抽出／ペーテルマンくえん 酸塩溶液抽出	バナドモリブデン酸 アンモニウム吸光光度法
水溶性りん酸 (W- P_2O_5)	4.2.4.a	水抽出	バナドモリブデン酸 アンモニウム吸光光度法
水溶性加里 (W- K_2O)	4.3.3.a	水抽出	フレイム原子吸光法 又は フレイム光度法
ヒ素 (As)	5.2.a		水素化物発生原子吸光法
	5.2.b	硫酸－硝酸－過塩素酸分解	ジエチルジチオカルバミン酸 銀吸光光度法
カドミウム (Cd)	5.3.a	王水分解	フレイム原子吸光法
ニッケル (Ni)	5.4.a	王水分解	フレイム原子吸光法
クロム (Cr)	5.5.b	りん酸－硝酸－硫酸分解	フレイム原子吸光法
鉛 (Pb)	5.6.a	王水分解	フレイム原子吸光法

1) 肥料等試験法(2014)の試験項目番号

4) 試験方法

各試験項目の試験法として肥料等試験法(2014)⁶⁾(表 1)を用いた。

5) 均質性確認試験

IUPAC の技能試験プロトコル⁷⁾の均質性試験に従い、認証標準物質候補 B (320 本)からランダムに 10 試料を抜き取って均質性確認試験用試料とし、それぞれの試験項目を 2 点併行でランダムな順序で試験して均質性

確認試験の成績とした。

6) 共同試験

本標準物質の認証値の設定のため、16 試験室による共同試験を実施した。各試験室に共同試験用試料を2本配付し、それぞれの試料について日を変えて3点併行で試験を実施した。報告値は、有害成分(ヒ素、カドミウム、ニッケル、クロム及び鉛)は mg/kg で表し、有効数字4桁目を四捨五入して3桁まで、有害成分以外の試験成績は%(質量分率)で表し、小数第3位を四捨五入して小数第2位までに丸めることとした。

・共同試験参加試験室(五十音順)

小野田化学工業株式会社 新潟工場
片倉チッカリン株式会社 筑波総合研究所
株式会社環境衛生科学研究所
公益財団法人 日本肥糧検定協会 関西支部
公益財団法人 日本肥糧検定協会 本部
コープケミカル株式会社 八戸工場
住商アグリビジネス株式会社 鹿島工場
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
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
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
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
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
独立行政法人 農林水産消費安全技術センター 本部
日東エフシー株式会社 研究開発部
パリノ・サーヴェイ株式会社
ホクレン肥料株式会社 帯広工場

3. 結果及び考察

1) 均質性確認試験

均質性確認試験の成績及びその成績の一元配置による分散分析等から得られた統計量を表2-1及び表2-2に示した。併行精度について Cochran 検定による外れ値はすべての成分において認められなかった。次に、一元配置による分散分析のF検定(片側有意水準5%)を実施した結果、すべての成分について試料間に有意な差は認められなかった⁷⁾。また、併行相対標準偏差は0.6%~4.6%であった。

表 2-1 均質性確認試験の結果(主成分等)

試験成分	試料数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ¹⁰⁾	s_r ³⁾ (%) ¹⁰⁾	RSD_r ⁴⁾ (%)	s_{bb} ⁵⁾ (%) ¹⁰⁾	s_{b+r} ⁶⁾ (%) ¹⁰⁾	RSD_{b+r} ⁷⁾ (%)	F値 ⁸⁾⁹⁾
水分(H ₂ O)	10 (0)	0.64	0.03	4.2	0.01	0.03	4.6	1.36
アンモニア性窒素(A-N)	10 (0)	7.98	0.11	1.4	0	0.11	1.4	0.75
可溶性りん酸(S-P ₂ O ₅)	10 (0)	9.12	0.06	0.6	0.01	0.06	0.6	1.13
水溶性りん酸(W-P ₂ O ₅)	10 (0)	6.83	0.05	0.7	0	0.05	0.7	0.65
水溶性加里(W-K ₂ O)	10 (0)	8.34	0.11	1.3	0	0.11	1.3	0.35

1) 外れ値除外後の試料数,

()の値はCochran検定により外れ値となった試料数

2) 総平均値(外れ値除外後の試料数×2点併行分析)

3) 併行標準偏差

4) 併行相対標準偏差

5) 試料間標準偏差

6) 併行精度を含む試料間標準偏差

$$s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$$

7) 併行精度を含む試料間相対標準偏差

8) 一元配置分散分析により算出された分散比

9) F 境界値; F (9,10:0.05)=3.02

10) 質量分率

表 2-2 均質性確認試験の結果(有害成分)

試験成分	試料数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (mg/kg)	s_r ³⁾ (mg/kg)	RSD_r ⁴⁾ (%)	s_{bb} ⁵⁾ (mg/kg)	s_{b+r} ⁶⁾ (mg/kg)	RSD_{b+r} ⁷⁾ (%)	F値 ⁸⁾⁹⁾
砒素(As)	10 (0)	2.83	0.10	3.4	0.03	0.10	3.6	1.14
カドミウム(Cd)	10 (0)	4.57	0.14	3.1	0	0.14	3.1	0.32
ニッケル(Ni)	10 (0)	38.0	0.74	1.9	0.34	0.81	2.1	1.42
クロム(Cr)	10 (0)	54.2	1.45	2.7	0	1.45	2.7	0.90
鉛(Pb)	10 (0)	4.66	0.21	4.6	0.12	0.25	5.3	1.64

脚注は表 2-1 を参照

2) 共同試験成績

各試験室から報告された共同試験成績を表 3-1 及び表 3-2 に示した。クロム及び鉛を除く各試験項目の試験成績について ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁸⁾を参考に統計処理することとし、試験成績の外れ値を検出するために、Cochran 検定及び Grubbs 検定を実施し、有意水準 1%の外れ値を除外した。Cochran 検定による外れ値の除外は最大 1 試験室とし、Grubbs 検定と合わせて外れ値として除外する試験室数は、検定開始時の試験室数の 2/9 以内^{9, 10)}とした。なお、各試験室から報告されたクロムの測定値は 13.2 mg/kg~60.4 mg/kg、鉛の測定値は N.D.~7.50 mg/kg と測定値の幅が広いことから、外れ値検定を実施しなかった。

表 3-1 共同試験成績

Lab. ¹⁾	水分 (%) ²⁾						アンモニア性窒素 (%) ²⁾					
A	0.72	0.78	0.65	0.75	0.77	0.76	8.12	8.10	8.15	8.11	8.14	8.12
B	0.77	0.76	0.75	0.84	0.83	0.81	8.14	8.17	8.11	8.08	8.10	8.08
C	0.87	0.87	0.85	0.85	0.86	0.87	7.97	7.84	7.93	7.97	8.00	7.92
D	0.76	0.75	0.72	0.76	0.74	0.75	8.07	8.09	8.09	8.10	8.13	8.06
E	0.72	0.81	0.76	0.80	0.74	0.75	8.12	8.11	8.09	8.21	8.18	8.17
F	0.63	0.60	0.60	0.62	0.64	0.60 ⁵⁾	8.10	8.11	8.11	8.10	8.10	8.10
G	0.70	0.71	0.71	0.69	0.72	0.67	7.93	7.95	7.93	7.93	7.99	7.99
H	0.68	0.70	0.69	0.66	0.66	0.66	8.04	7.98	8.00	7.94	7.98	8.00
I	0.68	0.69	0.69	0.83	0.83	0.83 ³⁾	8.12	8.11	8.11	8.09	8.06	8.17
J	0.77	0.76	0.77	0.78	0.81	0.82	8.06	8.06	8.09	8.07	8.11	8.03
K	0.54	0.56	0.56	0.52	0.54	0.56	7.99	8.05	7.92	8.01	8.05	8.00
L	0.73	0.74	0.71	0.77	0.72	0.74	8.10	8.11	8.11	8.10	8.03	8.13
M	0.69	0.74	0.72	0.70	0.68	0.68	8.02	8.08	8.10	8.10	8.10	8.00
N	0.68	0.66	0.67	0.63	0.65	0.65	7.96	7.91	7.95	8.08	8.08	8.11
O	0.68	0.65	0.67	0.67	0.67	0.69	8.01	8.05	8.06	8.09	8.08	8.10
P	0.62	0.68	0.60	0.62	0.66	0.70	7.73	8.03	7.99	7.96	8.02	7.92 ³⁾

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) 質量分率

3) Cochranの検定による外れ値

4) Grubbsの検定による外れ値

5) 表 1以外の方法(カールフィッシャー水分計)で試験を実施したため解析には用いなかった試験成績

6) 表 1以外の方法(ICP発光分光法)で試験を実施したため、解析には用いなかった試験成績

7) 表 1以外の方法(硫酸-硝酸分解)で試験を実施したため、解析には用いなかった試験成績

8) 表 1以外の方法(塩酸(1+5)による溶解操作せず)で試験を実施したため、解析には用いなかった試験成績

9) 表 1以外の方法(炭化・灰化处理)で試験を実施したため、解析には用いなかった試験成績

10) 表 1以外の方法(王水分解)で試験を実施したため、解析には用いなかった試験成績

11) 外れ値検定を実施しなかった試験項目

12) 各試験室の定量下限未満の試験成績

表 3-2 共同試験成績

Lab. ¹⁾	可溶性りん酸 (%) ²⁾						水溶性りん酸 (%) ²⁾					
A	9.21	9.23	9.20	9.20	9.18	9.25	6.68	6.76	6.72	6.68	6.73	6.64
B	9.25	9.33	9.36	9.35	9.36	9.34	6.74	6.72	6.71	6.75	6.78	6.76
C	9.20	9.25	9.25	9.32	9.34	9.38	6.60	6.61	6.66	6.64	6.68	6.61
D	9.02	9.05	8.93	8.98	8.90	9.04	6.64	6.70	6.57	6.70	6.71	6.70
E	9.21	9.27	9.24	9.22	9.24	9.25	6.69	6.68	6.71	6.66	6.70	6.71
F	9.15	9.13	9.16	9.14	9.17	9.15	6.68	6.66	6.65	6.67	6.67	6.69
G	9.21	9.23	9.22	9.18	9.20	9.17	6.70	6.71	6.69	6.70	6.71	6.70
H	9.25	9.18	9.20	9.28	9.21	9.31	6.73	6.66	6.69	6.57	6.55	6.49 ³⁾
I	9.06	9.08	9.07	9.06	8.77	9.04 ³⁾	6.61	6.62	6.52	6.57	6.54	6.56
J	9.19	9.18	9.20	9.23	9.23	9.21	6.68	6.69	6.67	6.69	6.68	6.69
K	9.16	9.17	9.19	9.10	9.15	9.13	6.67	6.67	6.67	6.65	6.66	6.66
L	9.17	9.17	9.19	9.26	9.23	9.24	6.73	6.76	6.74	6.69	6.69	6.70
M	9.17	9.28	9.12	9.15	9.12	9.16	6.77	6.79	6.75	6.85	6.78	6.80
N	9.12	9.11	9.15	9.13	9.12	9.17	6.74	6.75	6.74	6.68	6.64	6.66
O	9.09	9.09	9.07	9.07	9.09	9.07	6.83	6.80	6.80	6.68	6.71	6.73
P	9.11	9.17	9.11	9.19	9.15	9.19	6.80	6.80	6.79	6.76	6.77	6.75

Lab. ¹⁾	水溶性加里 (%) ²⁾						ひ素 (mg/kg)					
A	8.38	8.40	8.48	8.44	8.40	8.35	3.16	3.11	2.97	3.25	3.08	2.50
B	8.46	8.45	8.46	8.23	8.33	8.30	3.02	2.94	3.06	2.68	2.78	2.95 ⁶⁾
C	8.46	9.05	8.15	8.83	8.32	8.49 ³⁾	2.73	2.90	2.89	2.60	2.57	2.77
D	8.37	8.35	8.34	8.38	8.35	8.33	2.85	3.02	2.75	2.75	2.71	2.73
E	8.29	8.31	8.32	8.41	8.38	8.39						
F	8.26	8.27	8.25	8.25	8.27	8.24	2.81	2.87	2.81	3.14	2.78	2.98 ⁷⁾
G	8.55	8.52	8.49	8.55	8.58	8.61	2.91	2.87	2.95	2.96	2.96	2.96
H	8.20	8.25	8.22	8.25	8.20	8.15	2.68	2.61	2.98	2.57	2.57	2.53
I	7.03	7.06	7.02	7.15	7.19	7.17 ⁴⁾	3.02	2.99	2.97	2.89	2.86	2.83
J	8.57	8.45	8.53	8.58	8.55	8.53	3.09	2.95	3.14	2.93	2.96	2.99
K	8.16	8.14	8.15	8.22	8.17	8.12	2.34	2.19	2.16	2.49	2.54	2.56
L	8.26	8.13	8.17	8.36	8.42	8.38	2.97	2.90	2.62	3.36	3.21	3.12
M	8.18	8.16	8.12	8.23	8.26	8.25	3.05	3.02	3.02	2.96	2.94	2.95
N	8.18	8.19	8.16	8.28	8.17	8.23	3.32	3.10	3.29	3.11	3.02	3.04
O	8.33	8.27	8.29	8.31	8.31	8.30	2.74	2.82	2.77	2.86	2.84	2.92
P	8.26	8.27	8.25	8.44	8.35	8.42	2.85	3.07	2.90	2.74	2.61	2.80

脚注は表 3-1 を参照

表 3-3 共同試験成績

Lab. ¹⁾	カドミウム (mg/kg)						ニッケル (mg/kg)					
	A	4.22	4.32	4.13	4.26	4.14	4.31	39.2	38.4	37.8	39.7	38.3
B	4.48	4.44	4.40	4.52	4.40	4.72	40.3	42.4	40.6	40.9	40.1	42.4
C	4.44	4.43	4.42	4.24	4.23	4.25	40.3	40.1	40.9	40.6	38.9	40.1
D	4.35	4.32	4.38	4.34	4.37	4.32	40.0	40.3	39.8	40.1	40.2	40.0
E												
F	5.10	5.61	5.58	5.45	5.50	5.60 ⁸⁾	36.3	35.3	37.1	37.8	36.7	38.1 ⁸⁾
G	4.19	4.13	4.24	4.35	4.10	4.13	37.0	37.5	35.2	36.0	36.8	37.8
H	4.27	4.02	3.90	4.05	3.98	3.74	30.3	30.2	29.2	30.9	30.7	29.7
I	4.23	4.26	4.22	4.19	4.23	4.16	36.0	35.2	35.3	34.8	34.4	34.5
J	4.26	4.31	4.38	4.32	4.27	4.35						
K	4.49	4.48	4.44	4.39	4.48	4.50	38.7	39.5	40.0	38.7	39.5	38.2
L	4.50	4.49	4.59	4.42	4.40	4.39	39.7	38.6	38.6	38.2	38.0	40.1
M	4.04	4.01	4.13	4.00	4.00	4.08	37.8	38.2	37.8	38.7	38.5	38.4
N	4.21	4.10	4.01	4.00	3.89	3.86	38.2	38.0	38.7	37.3	36.3	36.5
O	3.55	3.62	3.67	3.43	3.66	3.53	34.3	36.6	35.7	36.0	34.0	30.9 ³⁾
P	4.64	4.41	4.73	4.59	4.53	4.48	38.7	38.1	38.2	40.3	39.5	38.9

Lab. ¹⁾	クロム ¹¹⁾ (mg/kg)						鉛 ¹¹⁾ (mg/kg)					
	A	34.1	30.6	33.7	31.1	30.2	34.3	2.49	2.44	2.47	2.81	2.45
B	41.9	40.6	38.0	38.8	38.2	39.4	2.12	2.40	2.60	2.64	2.64	3.16
C	56.1	56.0	55.6	52.1	52.2	51.7 ⁹⁾	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D. ¹²⁾
D	56.7	56.5	55.9	57.1	56.3	56.8	4.49	4.43	4.45	4.50	4.51	4.54
E												
F	37.2	39.9	36.0	35.7	36.7	37.6 ¹⁰⁾						
G	57.4	59.3	58.8	54.4	60.4	56.6	5.15	5.53	5.96	6.46	7.42	7.50
H	30.7	34.1	31.1	30.3	29.9	30.4	5.17	4.85	4.85	3.28	3.60	2.95
I	31.5	30.3	32.1	31.9	32.1	32.0	2.21	2.78	2.25	2.66	2.49	2.20
J												
K	17.7	16.6	17.1	13.2	14.5	15.9	1.62	1.76	1.90	1.44	1.86	1.44
L	57.1	52.1	54.9	52.7	53.7	53.7	2.10	2.26	2.91	2.21	2.53	2.53
M	46.9	45.2	46.9	45.9	45.9	47.7	0.93	1.30	0.93	1.41	1.00	1.00
N	34.8	34.3	32.9	49.7	50.2	49.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D. ¹²⁾
O	40.6	39.3	39.4	38.3	38.0	39.1	2.46	2.57	2.86	2.28	2.59	2.46
P	55.5	53.8	56.2	53.9	52.2	53.9	4.25	4.47	4.47	4.48	4.29	4.48

脚注は表 3-1 を参照

3) 共同試験成績の評価

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値, 室内標準偏差(s_W : 2 日間にわたる測定を室内精度としてプール), 室間再現標準偏差(s_R), 室間再現相対標準偏差(RSD_R)及び肥料等試験法における室間再現相対標準偏差の目安($CRSD_R$)⁶⁾を主成分等については表 4-1 に, 有害成分については表 4-2 に示した. RSD_R は, 水分を除く試験成分において肥料等試験法における室間再現精度の目安($CRSD_R$)⁶⁾以内であった.

クロム及び鉛の共同試験結果を表 5 に示した. クロム及び鉛(N.D.の試験成績を除く)の RSD_R は 30.6 %及び 19.6 %と $CRSD_R$ を超えており, 各試験室の室内相対標準偏差は 0.7 %~20.8 %及び 0.9 %~23.1 %と試験室によって異なる傾向があった. これは, クロムについては共同試験で実施した試験法が熟練を要するとともに測定溶液の粘性が高く測定装置により測定値に大きく差が出ること, 鉛については含有量が定量下限(1mg/kg)に近く, 試験室によっては検出が困難であったことなどが原因と考えられた. そのため, クロム及び鉛については認証値を設定することが困難と判断し, 共同試験成績の評価をするための統計処理を行わなかった.

表 4-1 共同試験成績の解析結果(主成分等)

試験成分	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ⁷⁾	s_W ³⁾ (%) ⁷⁾	s_R ⁴⁾ (%) ⁷⁾	RSD_R ⁵⁾ (%)	$CRSD_R$ ⁶⁾ (%)
水分(H ₂ O)	14 (1)	0.69	0.03	0.08	11.7	6
アンモニア性窒素(A-N)	15 (1)	8.06	0.04	0.07	0.9	4
可溶性りん酸(S-P ₂ O ₅)	15 (1)	9.18	0.04	0.09	1.0	4
水溶性りん酸(W-P ₂ O ₅)	15 (1)	6.70	0.03	0.06	1.0	4
水溶性加里(W-K ₂ O)	14 (2)	8.32	0.06	0.13	1.6	4

1) 解析に用いた試験室数, ()の値は外れ値となった試験室数

2) 総平均値(試験室数×併行試験数(3)×試験日数(2))

3) 室内標準偏差

4) 室間再現標準偏差

5) 室間再現相対標準偏差

6) 肥料等試験法における

室間再現相対標準偏差の目安

7) 質量分率

表 4-2 共同試験成績の解析結果(有害成分)

試験成分	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (mg/kg)	s_W ³⁾ (mg/kg)	s_R ⁴⁾ (mg/kg)	RSD_R ⁵⁾ (%)	$CRSD_R$ ⁶⁾ (%)
砒素(As)	13 (0)	2.87	0.15	0.24	8.4	16
カドミウム(Cd)	14 (0)	4.23	0.09	0.28	6.5	16
ニッケル(Ni)	12 (1)	37.9	0.8	3.0	7.9	11

脚注は表 4-1 を参照

表 5 クロム及び鉛の共同試験成績

試験成分	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾	各試験室の 室内相対 標準偏差	s_w ³⁾	s_R ⁴⁾	RSD_R ⁵⁾	$CRSD_R$ ⁶⁾
		(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)	(%)
クロム (Cr)	12	42.6	0.7 ~ 20.8	2.9	13.0	30.6	11
鉛 (Pb) ⁷⁾	11	3.28	0.9 ~ 23.1	0.45	0.64	19.6	16

- 1) 解析に用いた試験室数
- 2) 総平均値(試験室数×併行試験数(3)×試験日数(2))
- 3) 室内標準偏差
- 4) 室間再現標準偏差
- 5) 室間再現相対標準偏差
- 6) 肥料等試験法における室間再現相対標準偏差の目安
- 7) N.D. を除く試験成績

4) 認証値及び不確かさ

ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁵⁾において肥料認証標準物質の認証書の必須内容として要求されている認証値及び不確かさを表 6-1 及び表 6-2 に示した。また、ISO Guide 33:2000 (JIS Q 0033:2002)¹¹⁾において肥料認証標準物質の使用にあたり必要となる参考データ(共同試験における室内標準偏差, 室間再現標準偏差及び解析に用いた試験室数)を同表に示した。

(1) 拡張不確かさの算出方法

共同試験の総平均値の標準不確かさ(u)は ISO/TS 21748:2004 (JIS Z 8404-1:2006)¹²⁾に従い, 共同試験の室内標準偏差(s_w), 室間再現標準偏差(s_R), 試験室数($p = 11 \sim 15$)及び各試験室での繰返し試験数($n = 6$)から, (a)式により求めた。平均値の不確かさは, 拡張不確かさとし, 標準不確かさ(u)に包含係数(k)を乗じて求め(b)式), 有効数字 2 桁以内に丸めた。なお, 包含係数(k)については正規分布の信頼水準約 95 %に相当する $k=2$ とした。

$$\text{標準不確かさ}(u) = \sqrt{\frac{(s_R^2 - s_w^2) + \frac{s_w^2}{n}}{p}} \quad \dots (a)$$

$$\text{拡張不確かさ}(U_{95\%}) = k \times u \quad \dots (b)$$

s_R : 室間再現標準偏差

s_w : 室内標準偏差

n : 共同試験の室内繰返し試験数($n = 6$)

p : 共同試験の試験室数

k : 包含係数($k = 2$)

(2) 認証値の決定方法

鉛及びクロムについては試験室間での測定値にばらつきが大きく認証値を設定することが困難と判断した。また、水分についてはこれまで安定性の確認ができていないことから認証せずに参考情報として提供し、その他の試験成分(アンモニア性窒素, 可溶性りん酸, 水溶性りん酸, 水溶性加里, ひ素, カドミウム及びニッケル)を認証することとした。なお, 認証値は共同試験の平均値を拡張不確かさの桁数に丸めて¹³⁾表示した。

表 6-1 認証書に記載する項目(主成分等)

試験成分	認証する項目		参考データ		
	認証値 (%) ⁵⁾	拡張不確かさ ¹⁾ (%) ⁵⁾	s_w ²⁾ (%) ⁵⁾	s_R ³⁾ (%) ⁵⁾	試験室数 ⁴⁾
水分(H ₂ O) ⁶⁾	0.69	0.04	0.03	0.08	14
アンモニア性窒素(A-N)	8.06	0.03	0.04	0.07	15
可溶性りん酸(S-P ₂ O ₅)	9.18	0.04	0.04	0.09	15
水溶性りん酸(W-P ₂ O ₅)	6.70	0.03	0.03	0.06	15
水溶性加里(W-K ₂ O)	8.32	0.06	0.06	0.13	14

1) 包含係数($k=2$):約 95 %の信頼水準をもつと推定される区間の半分の幅を示す

2) 室内標準偏差

3) 室間再現標準偏差

4) 解析に用いた試験室数

5) 質量分率

6) 参考情報として提供

表 6-2 認証書に記載する項目(有害成分)

試験成分	認証する項目		参考データ		
	認証値 (mg/kg)	拡張不確かさ ¹⁾ (mg/kg)	s_w ²⁾ (mg/kg)	s_R ³⁾ (mg/kg)	試験室数 ⁴⁾
ひ素(As)	2.87	0.11	0.15	0.24	13
カドミウム(Cd)	4.23	0.14	0.09	0.28	14
ニッケル(Ni)	37.9	1.7	0.8	3.0	12

脚注は表 6-1 を参照

5) 認証標準物質の有効期限

前ロットの肥料認証標準物質 FAMIC-B-10(普通化成肥料)の有効期限は, 長期安定性の評価試験の結果に基づき 2 年 6 ヶ月から 4 年 6 ヶ月に延長された¹⁴⁾。本認証標準物質候補 B と長期安定性が確認された FAMIC-B-10 とを比較した場合, 原料, 製造方法が同等であることから, 安定性に関しても同等と判断されるため, 本認証標準物質候補 B の有効期限を 4 年半後の 2019 年 6 月末に設定する。

また, 今後も継続的に安定性モニタリング試験を実施し, 安定性に問題があった成分については, 認証値から参考値にするなどの処置を行うこととする。

4. まとめ

2014年度は肥料認証標準物質候補として普通化成肥料を調製し、その認証値の決定のための共同試験を行い、ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁴⁾を参考に解析し、ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁵⁾の要求事項に基づいて認証書(案)及びラベル(案)を作成した。これらのことについて、肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会の審議を受け、2015年4月より肥料認証標準物質 FAMIL-B-14として販売を開始した。

肥料の認証標準物質は、国内には他に作製している例はない。さらに、国外で利用されている肥料認証標準物質は我が国の特有の肥料成分及びその試験方法が網羅されておらず、また、我が国向けの肥料認証標準物質も作製されていない。このような観点から、この標準物質が肥料分析の信頼性確保に貢献するところは大きいものと期待される。

謝 辞

肥料認証標準物質の開発において、国立研究開発法人農業・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、内藤成弘博士、国立研究開発法人産業技術総合研究所黒岩貴芳博士、公益財団法人日本肥糧検定協会上沢正志博士及び全国農業協同組合連合会日高秀俊博士には、ご指導いただき感謝いたします。また、共同試験にご協力いただいた小野田化学工業株式会社、片倉チッカリン株式会社、株式会社環境衛生科学研究所、公益財団法人日本肥糧検定協会(関西支部・本部)、コープケミカル株式会社、住商アグリビジネス株式会社、日東エフシー株式会社、パリオ・サーヴェイ株式会社及びホクレン肥料株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料認証標準物質の配布申請手続き
<<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: 2005, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 3) ISO Guide 34 (2009): “General requirements for the competence of reference material producers” (JIS Q 0034: 2012, 「標準物質生産者の能力に関する一般要求事項」)
- 4) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035: 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 5) ISO Guide 31 (2000): “Reference materials—Contents of certificates and labels” (JIS Q 0031: 2002, 「標準物質—認証書及びラベルの内容」)
- 6) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2014)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2014.pdf>
- 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) ISO 5725-2 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of standard measurement method” (JIS Z 8402-2: 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度)—第2部:標準測定方法の併行精度及

び再現精度を求めるための基本方法」)

- 9) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, Pure & Appl. Chem., **67** (2), 331~343 (1995)
- 10) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)
- 11) ISO Guide 33 (2000): “Uses of certified reference materials” (JIS Q 0033: 2002, 「認証標準物質の使い方」)
- 12) ISO/TS 21748 (2004): “Measurement uncertainty-Part 1:Guidance for the use of repeatability reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation” (JIS Z 8404-1 :2006, 「測定の不確かさ-第1部:測定の不確かさの評価における併行精度, 再現精度及び真度の推定値の利用の指針」)
- 13) ISO 31-0 (1992): “Quantities and units—Part 0: General principles, Annex B (Informative) (Guide to the rounding of numbers)” (JIS Z 8401 : 1999, 「数値の丸め方」)
- 14) 廣井利明, 秋元里乃, 八木寿治, 坂東悦子, 惠智正宏, 山西正将, 白井裕治, 柴田政人:2011 年度 肥料認証標準物質の開発 —高度化成肥料 FAMIC-A-10, 普通化成肥料 FAMIC-B-10 及び汚泥発酵肥料 FAMIC-C-09 の長期安定性試験—, 肥料研究報告, **5**, 90~100 (2012)

Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components and Harmful Elements: Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-14)

Shin ABE¹, Satono AKIMOTO¹, Satoko SAKAIDA¹, Toshiharu YAGI¹, Kohei ITO¹,
Yudai TANAKA¹, Shinichi KASHIMA², Toshiaki HIROI³, Tokiya SUZUKI¹,
Kenta SAKUMA¹, Yoshimi HASHIMOTO¹ and Yuji SHIRAI¹

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

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

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

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has developed a certified reference material (CRM): ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-14), for analysis of major components and harmful elements. FAMIC-B-14 was certified for the contents of ammonium nitrogen (A-N), soluble phosphorus (S-P₂O₅), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), arsenic (As), cadmium (Cd) and nickel (Ni). The certified values were obtained from a statistical analysis of the results of a collaborative study on the chemical analysis of the candidate for CRM. Sixteen laboratories participated in this study. In a statistical analysis of data which were reported from participants, outliers were removed by Cochran test and Grubbs test, followed by the usual statistical procedure. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components and harmful elements in ordinary compound fertilizer.

Key words certified reference material (CRM), ordinary compound fertilizer, major component, Harmful elements, ISO Guide 31, ISO Guide 35, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **8**, 140~152, 2015)

12 2014年度 肥料認証標準物質の開発

—高度化成肥料 FAMIC-A-10, 普通化成肥料 FAMIC-B-10,
汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12 及び高度化成肥料 FAMIC-A-13 の長期安定性評価—

稲葉茂幸¹, 木村康晴¹, 伊藤 潤¹, 藤田 卓¹,
青山恵介¹, 恵智正宏¹, 長谷川正憲³, 白井裕治²

キーワード 認証標準物質, 化成肥料, 汚泥発酵肥料, 主成分,
有害成分, ISO Guide 35, 長期安定性, モニタリング試験

1. はじめに

安全な肥料の流通を確保するために独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)が行っている立入検査において収去した肥料の主成分および有害成分の分析は不可欠であり, その試験法には信頼性の確保が求められている. 従前から, 肥料生産事業場の品質管理室, 生産事業場から分析依頼を受けた民間分析機関, 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⁾による内部品質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 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)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, 「認証標準物質の定期的な使用」を実施することが推奨されている.

また, 現在 FAMIC においては, 肥料認証標準物質 A(高度化成肥料 FAMIC-A-10 及び FAMIC-A-13), 同 B(普通化成肥料 FAMIC-B-10) 及び同 C(汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12) (以下, それぞれ「標準物質 A-10」「標準物質 A-13」「標準物質 B-10」「標準物質 C-12」という.) を調製^{3, 4, 5)}, 販売しており(表 1), これらの調製については国際的整合性確保のため ISO Guide 34:2009 (JIS Q 0034:2012)⁶⁾の「5 技術及び生産に関する要求事項」を参考に調製することとし, ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁷⁾を参考に解析を行った上で ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁸⁾を参考に認証書及びラベルを作成しているところである. 2014 年度は, 標準物質 A-10, 標準物質 B-10, 標準物質 C-12 及び 2014 年 3 月に認証を行った標準物質 A-13 の長期安定性について, 在庫試料を用い認証値設定時からの認証成分のモニタリングを実施したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 安定性のモニタリング

(1) 試験計画

ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁷⁾では, 認証標準物質の保管期間中, モニタリングを実施して安定性を確認することが望まれている. 安定性の検討については, 終了時点でのデータを提供する同時期測定型安定

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

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 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 (現) 肥飼料安全検査部

性試験及び保存期間中にデータが得られる従来型安定性試験の二つの基本的実験方法がある。同時に調製した認証標準物質の保存期間の経時的なデータが必要なことから、後者の方法を長期安定性のモニタリングの方法として選択した。この従来型安定性試験を実施するため、次の a)～f) を FAMIC 神戸センターで計画した。

- a) 分析用試料・・・標準物質 A-10, B-10, C-12 及び A-13 の在庫から、それぞれランダムに 1 本を抜き取った試料。
- b) 試験成分・・・認証されたすべての成分(表 1 参照)。
- c) 試験方法・・・認証値設定の共同試験で使用された肥料等試験法⁹⁾(表 2A, 表 2B 及び表 2C を参照)。
- d) 試験時期・・・標準物質 A-10 及び B-10 は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、12 ヶ月後、20 ヶ月後、24 ヶ月後、28 ヶ月後、32 ヶ月後、38 ヶ月後、44 ヶ月後及び 50 ヶ月後(A-10 除く)。標準物質 C-12 は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、8 ヶ月後、14 ヶ月後、20 ヶ月後及び 26 ヶ月後。標準物質 A-13 は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、7 ヶ月後及び 13 ヶ月後。
- e) 試験室・・・単一試験室(FAMIC 神戸センター)。
- f) 安定性の評価・・・分析時の調製日から経過時間(月数)及びその測定時の分析値の平均値について、JIS Q 0035:2008 付属書 B.5 を参考に解析。

表 1 肥料認証標準物質の概要

名称	種類	原料組成	認証成分	有効期限
FAMIC-A-10	高度化成肥料	尿素, 硫酸アンモニア, リン酸アンモニア, 塩化加里, 副産苦土肥料, 熔成微量元素複合肥料, リン酸, アンモニア	窒素全量, アンモニア性窒素, <溶性りん酸, 水溶性加里, <溶性苦土, <溶性マンガン, <溶性ほう素(全7成分)	2015年 6月末
FAMIC-B-10	普通化成肥料	硫酸アンモニア, 過りん酸石灰, 塩化加里	アンモニア性窒素, 可溶性りん酸, 水溶性りん酸, 水溶性加里, ひ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, 鉛(全9成分)	2015年 6月末
FAMIC-C-12	汚泥発酵肥料	下水汚泥, 食品工業汚泥, 動物質原料	窒素全量, リン酸全量, 加里全量, 銅全量, 亜鉛全量, 石灰全量, 有機炭素, ひ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム, 鉛(全13成分)	2016年 6月末
FAMIC-A-13	高度化成肥料	尿素, 硫酸アンモニア, リン酸アンモニア, 塩化加里, 副産苦土肥料, 熔成微量元素複合肥料, リン酸, アンモニア	窒素全量, アンモニア性窒素, <溶性りん酸, 水溶性加里, <溶性苦土, <溶性マンガン, <溶性ほう素(全7成分)	2018年 6月末

(2) モニタリングの実施

FAMIC 神戸センターにおいて標準物質 A-10 及び標準物質 B-10 を 2010 年 7 月～9 月, 2011 年 7 月～9 月, 2012 年 4 月～5 月, 2012 年 7 月～9 月, 2012 年 12 月～2013 年 1 月, 2013 年 4 月～5 月, 2013 年 10 月～11 月, 2014 年 4 月～5 月及び 2014 年 10 月～11 月(標準物質 A-10 を除く)の計 9 回(標準物質 A-10 は 8 回), 標準物質 C-12 を 2012 年 8 月～10 月, 2013 年 4 月～5 月, 2013 年 10 月～11 月, 2014 年 4 月～5 月及

び2014年10月～11月の計5回、標準物質A-13を2013年9月～11月、2014年4月～5月及び2014年10月～11月の計3回試験を実施した。

各試験時とも未開封の標準物質A-10、標準物質B-10、標準物質C-12及び標準物質A-13各1瓶を用いて、試験成分毎に2点併行試験を行った。

報告値の桁数は、標準物質A-10、B-10及びA-13については、有害成分(As, Cd, Hg, Ni, Pb), C-MnO及びC-B₂O₃の試験成績は有効数字3桁、それ以外の成分は、小数点以下2桁とした。標準物質C-12については、T-Cu及びT-Znの試験成績は整数、それ以外の成分について有効数字3桁とした。また、報告値は、現状の認証値と同様に水分換算しない濃度(有姿濃度)とした。

表2A 標準物質A-10, A-13の試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目 番号 ¹⁾	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
窒素全量(T-N)	4.1.1.a	ケルダール分解－蒸留	中和滴定法
	4.1.1.b	－	燃焼法
アンモニア性窒素(A-N)	4.1.2.b	塩酸(1+20)抽出	ホルムアルデヒド添加/ 中和滴定法
く溶性りん酸(C-P ₂ O ₅)	4.2.3.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム 発色/吸光光度法
水溶性加里(W-K ₂ O)	4.3.3.a	水抽出	フレイム原子吸光法 又はフレイム光度法
く溶性苦土(C-MgO)	4.6.2.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	フレイム原子吸光法
く溶性マンガン(C-MnO)	4.7.2.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	フレイム原子吸光法
く溶性ほう素(C-B ₂ O ₃)	4.8.1.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	アゾメチンH発色/ 吸光光度法

1) 肥料等試験法の試験項目番号

表2B 標準物質B-10の試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目 番号 ¹⁾	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
アンモニア性窒素(A-N)	4.1.2.a	蒸留	中和滴定法
可溶性りん酸(S-P ₂ O ₅)	4.2.2.a	水抽出/ペーテルマンくえん 酸塩溶液抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム 発色/吸光光度法
水溶性りん酸(W-P ₂ O ₅)	4.2.4.a	水抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム 発色/吸光光度法
水溶性加里(W-K ₂ O)	4.3.3.a	水抽出	フレイム原子吸光法 又はフレイム光度法
砒素(As)	5.2.a	硫酸－硝酸－過塩素酸分解	水素化物発生原子吸光法
カドミウム(Cd)	5.3.a	王水分解	フレイム原子吸光法
水銀(Hg)	5.1.a	硝酸－過塩素酸分解	還元気化原子吸光法
ニッケル(Ni)	5.4.a	王水分解	フレイム原子吸光法
鉛(Pb)	5.6.a	王水分解	フレイム原子吸光法

脚注は表2Aを参照

試験成分	試験項目 番号 ¹⁾	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
窒素全量 (T-N)	4.1.1.a	ケルダール分解－蒸留	中和滴定法
	4.1.1.b	－	燃焼法
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	4.2.1.a	ケルダール硫酸分解／王水分解	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法
加里全量 (T-K ₂ O)	4.3.1.a	王水分解／塩酸煮沸	フレイム原子吸光法又はフレイム光度法
石灰全量 (T-CaO)	4.5.1.a	王水分解／塩酸煮沸	フレイム原子吸光法
有機炭素 (O-C)	4.11.1.a	二クロム酸酸化	酸化還元滴定法
銅全量 (T-Cu)	4.10.1.	王水分解	フレイム原子吸光法
亜鉛全量 (T-Zn)	4.9.1.a	王水分解	フレイム原子吸光法
砒素 (As)	5.2.a	硫酸－硝酸－過塩素酸分解	水素化物発生原子吸光法
カドミウム (Cd)	5.3.a	王水分解	フレイム原子吸光法
水銀 (Hg)	5.1.a	硝酸－過塩素酸分解	還元気化原子吸光法
ニッケル (Ni)	5.4.a	王水分解	フレイム原子吸光法
クロム (Cr)	5.5.a	王水分解	フレイム原子吸光法
鉛 (Pb)	5.6.a	王水分解	フレイム原子吸光法

脚注は表2Aを参照

3. 結果及び考察

1) 安定性のモニタリング

(1) モニタリング成績

標準物質 A-10, 標準物質 B-10, 標準物質 C-12 及び標準物質 A-13 の試験成分の安定性試験成績を表 3A ①～表 3C に示した. ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2006)²⁾では, 肥料認証標準物質を用いて試験所の日常の内部品質管理又は試験所が開発した試験方法の妥当性確認を実施することが推奨されている. FAMIC では, 肥料認証標準物質を用いた試験成績の真度評価を実施している. 標準物質 A-10 及び標準物質 B-10 の試験期間の 50 ヶ月後 (標準物質 A-10 は 44 ヶ月後) 並びに標準物質 C-12 の試験期間の 26 ヶ月後並びに標準物質 A-13 の試験期間の 13 ヶ月後までに実施した各経過月及び各試験成分の試験成績の平均値を図 1A①～図 1C に示し, 更に警戒限界及び処置限界を描いた. なお, 内部品質管理のために実施した併行試験の繰返し数 (n) 並びに認証値 (μ), 室内標準偏差 (s_W) 及び室間再現標準偏差 (s_R) を用いて (a) 式, (b) 式及び (c) 式により, 技能評価のための標準偏差, 警戒限界及び処置限界を求めた¹⁰⁾. その結果, 標準物質 A-10, 標準物質 B-10 及び標準物質 C-12 及び標準物質 A-13 の安定性試験成績の平均値は, いずれの試験成分も警戒限界の範囲内であった.

$$\text{技能評価のための標準偏差}(\sigma) = \sqrt{(s_R^2 - s_W^2) + \frac{s_W^2}{n}} \quad \dots (a)$$

$$\text{平均値に対する警戒限界} = \mu \pm 2\sigma \quad \dots (b)$$

$$\text{平均値に対する処置限界} = \mu \pm 3\sigma \quad \dots (c)$$

n : 長期安定試験の併行試験数

s_R : 共同試験で得られた室間再現標準偏差

s_W : 共同試験で得られた室内標準偏差

μ : 認証値

表3A① 認証標準物質A-10の安定性モニタリング試験成績 (質量分率%)

経過月	窒素全量 (T-N)		アンモニア性 窒素 (A-N)		く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)		水溶性加里 (W-K ₂ O)	
	0	14.83	14.95	10.59	10.62	10.09	10.14	13.18
12	14.80	14.80	10.78	10.90	10.11	10.14	13.63	13.72
20	14.77	14.91	10.89	10.91	9.88	10.23	13.70	13.74
24	14.50	14.53	10.69	10.75	9.96	10.04	13.48	13.83
28	14.62	14.63	10.71	10.74	10.01	10.06	13.64	13.75
32	14.55	14.56	10.72	10.75	10.07	10.07	13.45	13.56
38	14.69	14.70	10.71	10.73	9.99	10.04	13.36	13.48
44	14.70	14.75	10.64	10.71	10.06	10.13	13.38	13.49

表3A① (続き) (質量分率%)

経過月	く溶性苦土 (C-MgO)		く溶性マンガン (C-MnO)		く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	
	0	3.20	3.44	0.389	0.414	0.204
12	3.29	3.35	0.397	0.398	0.200	0.206
20	3.30	3.41	0.388	0.388	0.208	0.210
24	3.32	3.38	0.397	0.400	0.211	0.217
28	3.33	3.36	0.412	0.420	0.213	0.218
32	3.28	3.44	0.385	0.389	0.198	0.219
38	3.44	3.44	0.397	0.406	0.203	0.218
44	3.28	3.44	0.398	0.402	0.206	0.207

表3A② 認証標準物質A-13の安定性モニタリング試験成績 (質量分率%)

経過月	窒素全量 (T-N)		アンモニア性 窒素 (A-N)		く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)		水溶性加里 (W-K ₂ O)	
	0	14.90	14.94	10.58	10.60	10.74	10.77	13.00
7	14.80	14.82	10.22	10.54	10.68	10.81	13.04	13.14
13	14.80	14.83	10.44	10.49	10.85	10.87	12.87	12.89

表3A② (続き) (質量分率%)

経過月	く溶性苦土 (C-MgO)		く溶性マンガン (C-MnO)		く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	
	0	3.18	3.29	0.359	0.381	0.214
7	3.16	3.27	0.357	0.368	0.194	0.208
13	3.26	3.35	0.348	0.370	0.196	0.204

表3B 認証標準物質B-10の安定性モニタリング試験成績 (質量分率%)

経過月	アンモニア性窒素 (A-N)		可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)		水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)		水溶性加里 (W-K ₂ O)	
	0	8.33	8.49	7.99	8.03	6.88	6.94	8.59
12	8.27	8.30	8.11	8.11	7.01	7.01	8.81	8.84
20	8.24	8.31	8.08	8.09	6.99	7.00	8.65	8.70
24	8.17	8.18	8.09	8.17	6.96	6.98	9.02	9.04
28	8.32	8.33	8.14	8.17	6.94	6.96	8.96	9.05
32	8.21	8.22	8.16	8.17	6.94	6.98	8.64	8.68
38	8.36	8.39	8.02	8.08	7.00	7.01	8.71	8.79
44	8.18	8.23	8.03	8.09	6.94	6.97	8.63	8.66
50	8.27	8.28	8.11	8.13	6.96	7.02	8.66	8.68

表3B (続き)

経過月	砒素 (As)		カドミウム (Cd)		水銀 (Hg)		ニッケル (Ni)		鉛 (Pb)	
	0	2.60	2.63	5.83	5.84	0.881	0.890	42.4	45.5	23.7
12	2.32	2.48	5.93	5.95	0.885	0.889	47.3	47.3	25.8	26.9
20	2.25	2.25	5.86	5.89	0.856	0.871	44.8	45.6	24.8	26.9
24	2.38	2.39	5.99	6.01	0.891	0.892	45.1	46.5	25.7	26.3
28	2.27	2.32	5.87	5.99	0.933	0.945	46.8	46.9	21.5	22.9
32	2.28	2.34	5.82	5.82	0.888	0.916	43.6	44.8	24.6	25.6
38	2.34	2.42	5.76	5.85	0.868	0.873	46.1	46.1	21.6	25.9
44	2.21	2.28	5.73	5.76	0.876	0.906	44.4	44.7	24.8	25.4
50	2.38	2.55	6.14	6.15	0.858	0.879	46.5	46.8	24.0	25.2

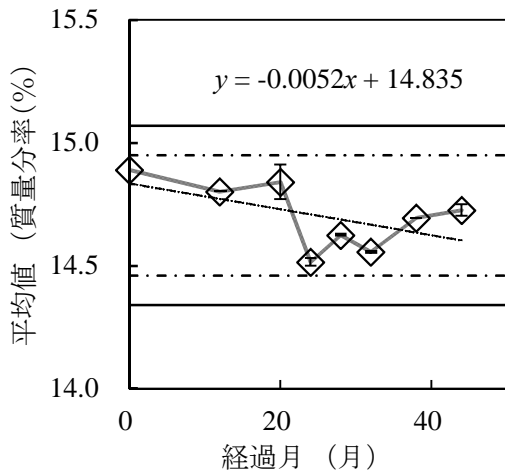
表3C 認証標準物質C-12の安定性モニタリング試験成績 (質量分率%)

経過月	窒素全量 (T-N)		りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)		加里全量 (T-K ₂ O)		石灰全量 (T-CaO)		有機炭素 (O-C)	
	0	4.77	4.79	8.64	8.64	0.607	0.619	5.99	6.03	20.4
8	4.57	4.75	8.46	8.49	0.553	0.561	5.76	5.82	20.0	20.1
14	4.71	4.78	8.52	8.53	0.560	0.564	6.03	6.08	20.1	20.9
20	4.67	4.72	8.59	8.59	0.538	0.541	5.84	6.17	20.7	20.8
26	4.67	4.69	8.56	8.61	0.572	0.573	6.20	6.30	20.2	20.3

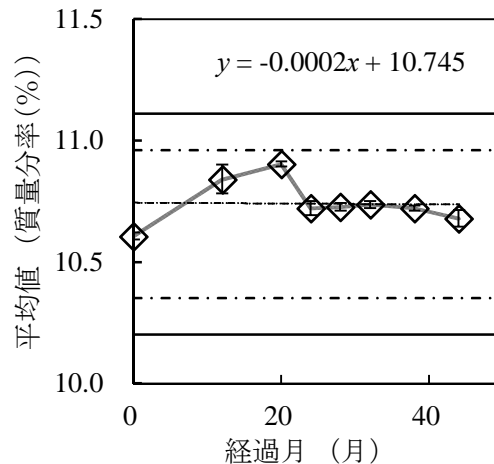
表3C (続き)

経過月	銅全量 (T-Cu)		亜鉛全量 (T-Zn)		砒素 (As)		カドミウム (Cd)	
	0	583	587	963	991	22.1	22.5	1.81
8	575	591	991	992	19.2	20.3	1.83	1.85
14	567	586	1,015	1,015	20.7	21.1	1.79	1.82
20	582	582	982	988	21.8	22.1	1.78	1.78
26	545	547	991	996	22.9	23.1	1.84	1.90

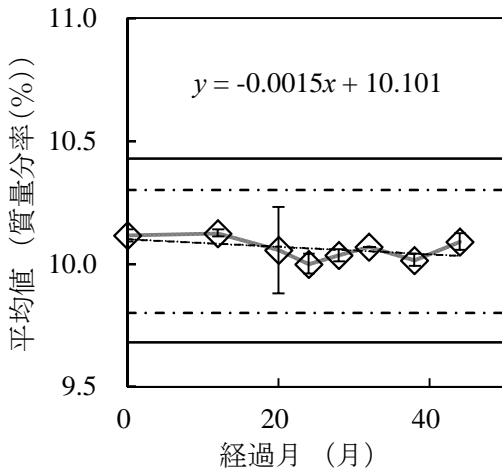
経過月	表3C (続き) (mg/kg)							
	水銀 (Hg)		ニッケル (Ni)		クロム (Cr)		鉛 (Pb)	
0	0.464	0.470	73.3	74.3	78.6	81.2	36.4	36.5
8	0.448	0.478	74.2	74.6	80.5	80.5	35.1	35.1
14	0.443	0.473	78.3	78.7	75.4	79.4	36.1	36.9
20	0.511	0.514	72.7	74.3	81.8	82.9	35.3	35.3
26	0.501	0.503	73.3	73.4	86.6	88.5	35.4	35.9



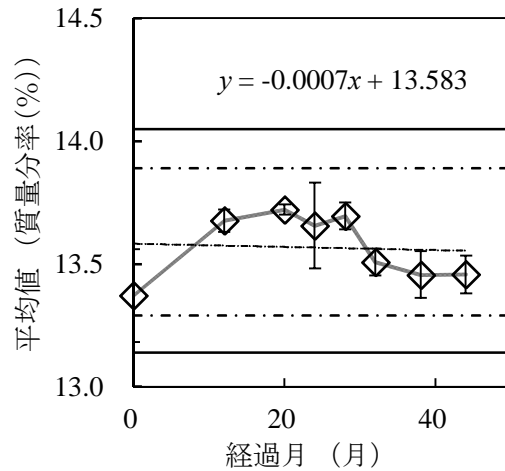
1. 標準物質A10(窒素全量)



2. 標準物質A10(アンモニア性窒素)



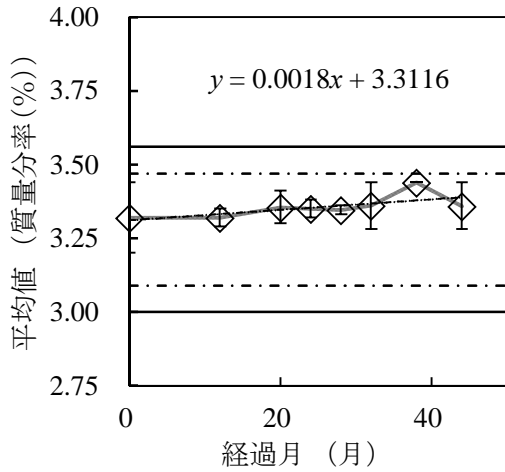
3. 標準物質A10(く溶性りん酸)



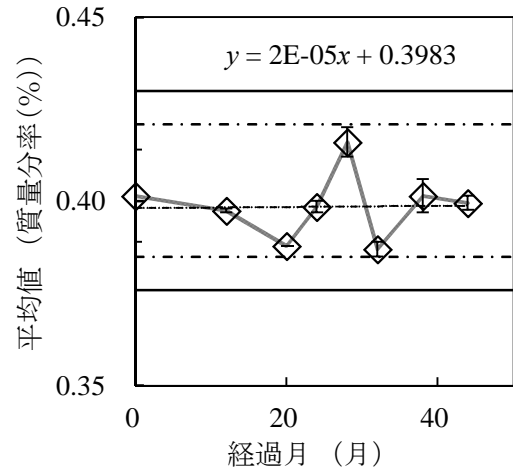
4. 標準物質A10(水溶性加里)

図 1A① 標準物質 A10 のモニタリング試験成績

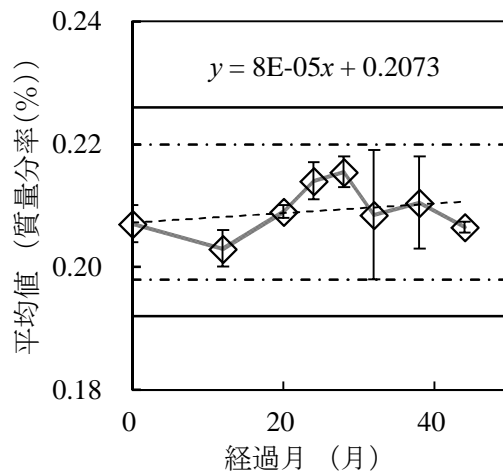
◇: 平均値 エラーバー: 測定値の幅 破線: 回帰直線
 実線: 上下処置限界 一点鎖線: 上下警戒限界



5. 標準物質A10(く溶性苦土)

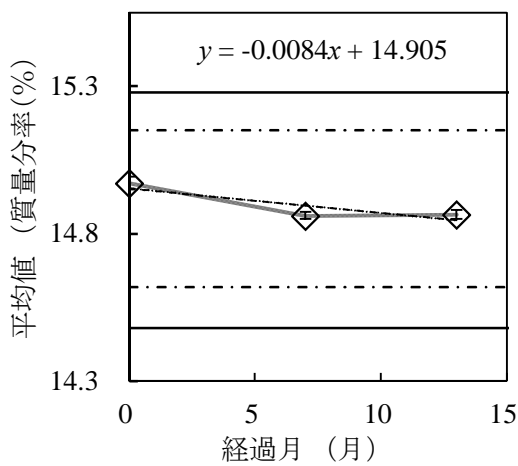


6. 標準物質A10(く溶性マンガ)

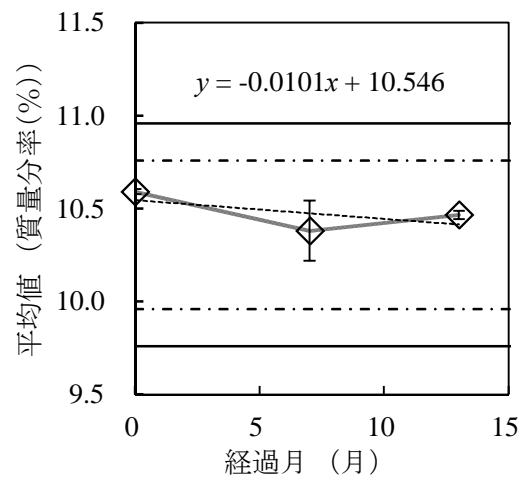


7. 標準物質A10(く溶性ほう素)

図 1A① (続き)



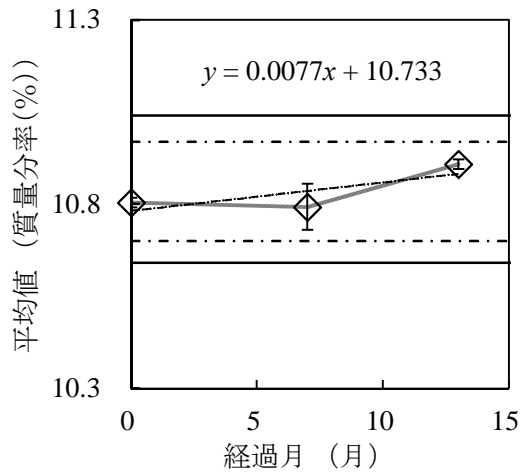
1. 標準物質A13(窒素全量)



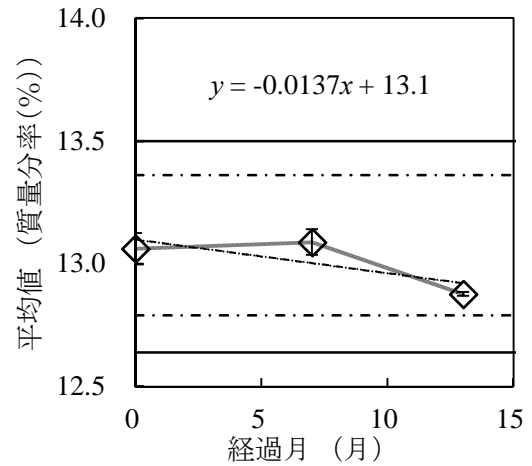
2. 標準物質A13(アンモニア性窒素)

図 1A② 標準物質 A13 のモニタリング試験成績

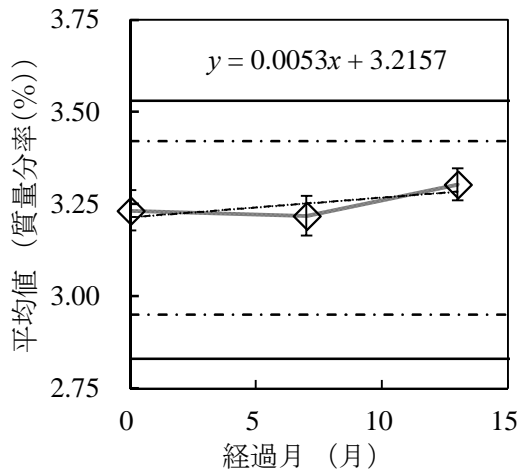
(脚注は図 1A①参照)



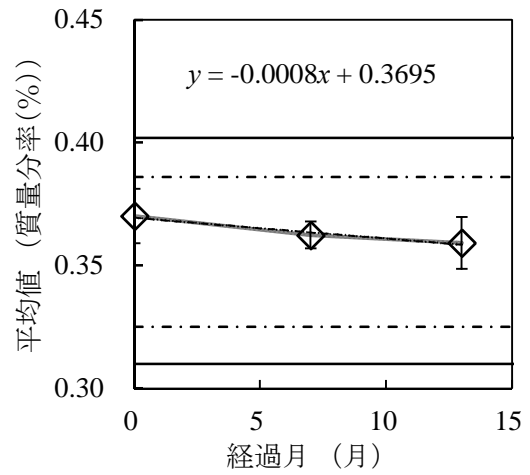
3. 標準物質A13(く溶性りん酸)



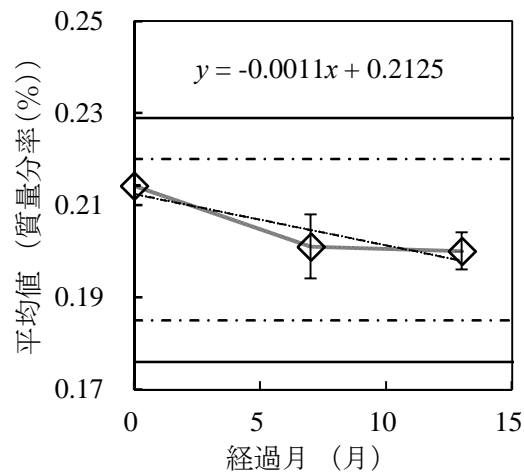
4. 標準物質A13(水溶性加里)



5. 標準物質A13(く溶性苦土)

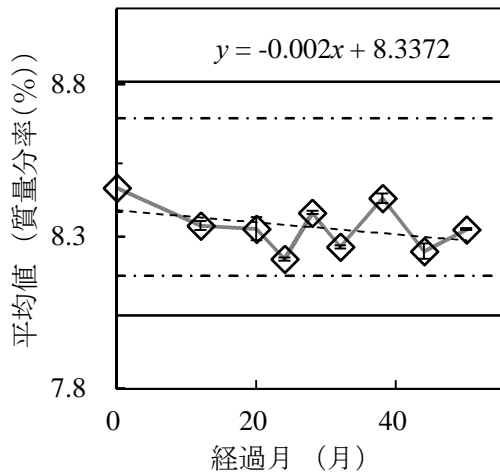


6. 標準物質A13(く溶性マンガン)

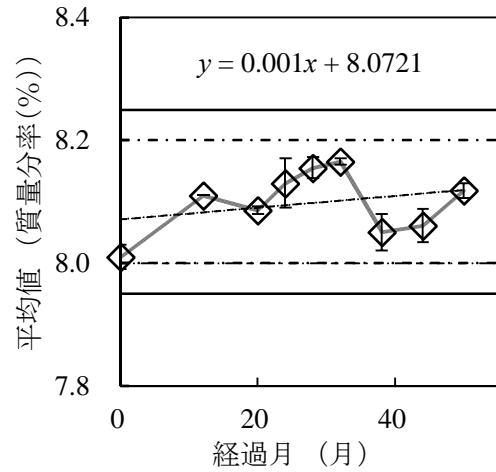


7. 標準物質A13(く溶性ほう素)

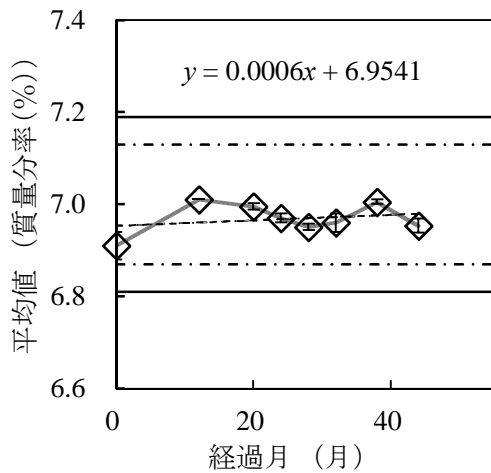
図 1A② (続き)



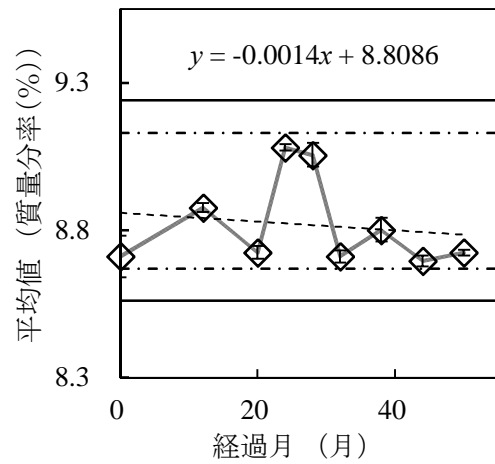
1. 標準物質B10(アンモニア性窒素)



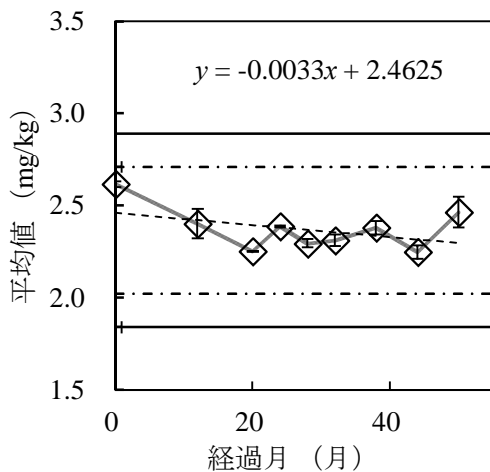
2. 標準物質B10(可溶性りん酸)



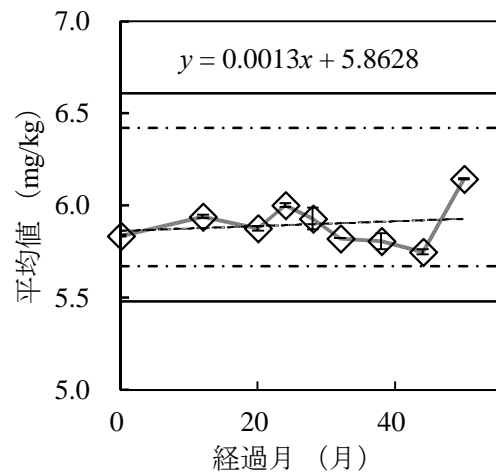
3. 標準物質B10(水溶性りん酸)



4. 標準物質B10(水溶性加里)

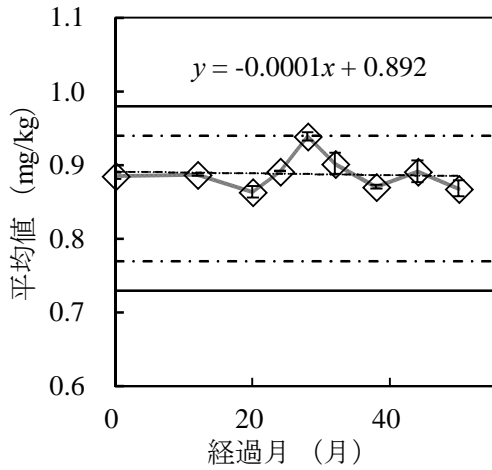


5. 標準物質B10(ひ素)

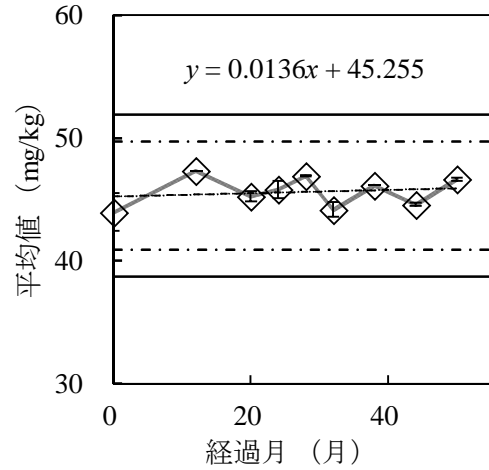


6. 標準物質B10(カドミウム)

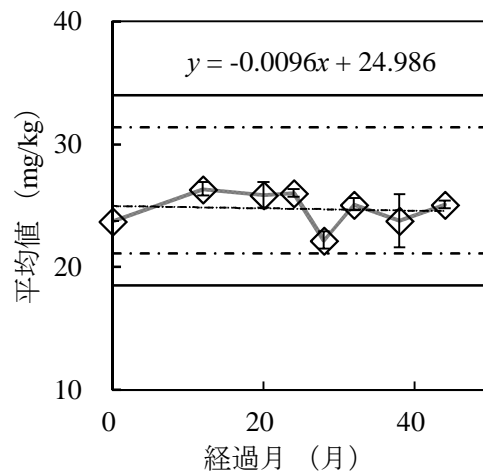
図 1B 標準物質 B10 のモニタリング試験成績
(脚注は図 1A①参照)



7. 標準物質B10(水銀)

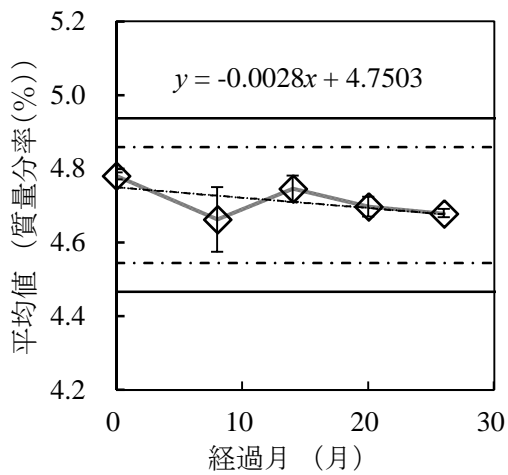


8. 標準物質B10(ニッケル)

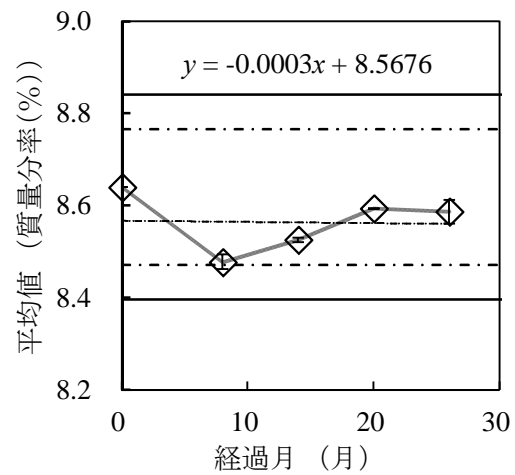


9. 標準物質B10(鉛)

図 1B (続き)



1. 標準物質C12(窒素全量)



2. 標準物質C12(りん酸全量)

図 1C 標準物質 C12 のモニタリング試験成績

(脚注は図 1A①参照)

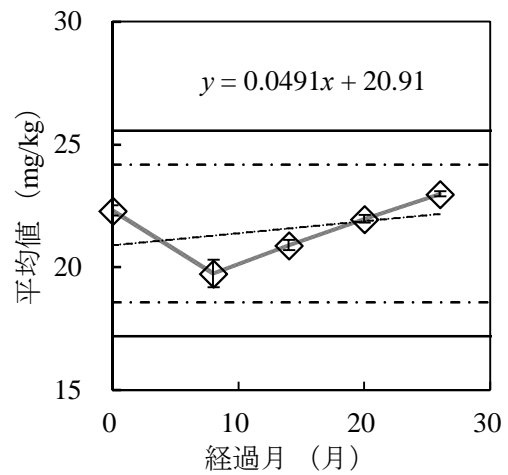
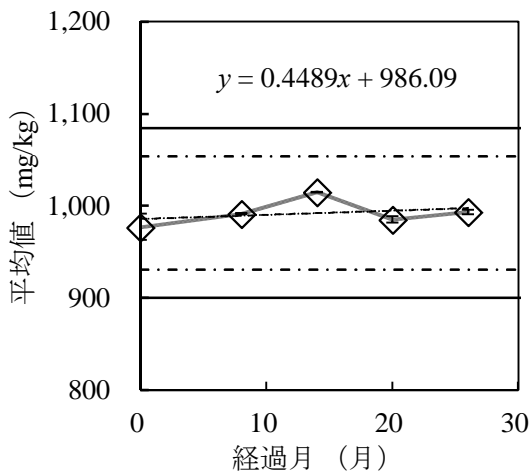
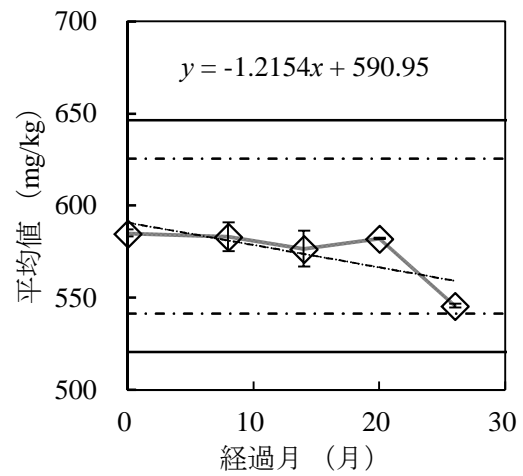
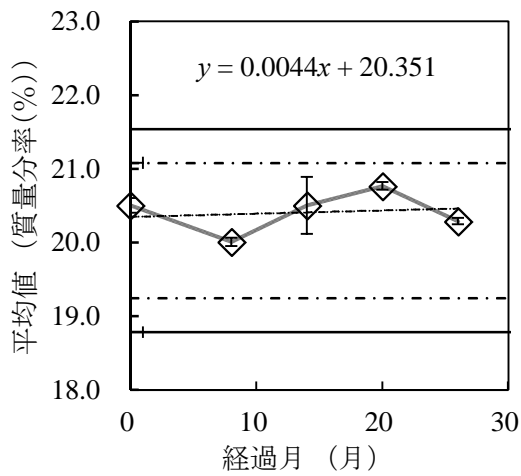
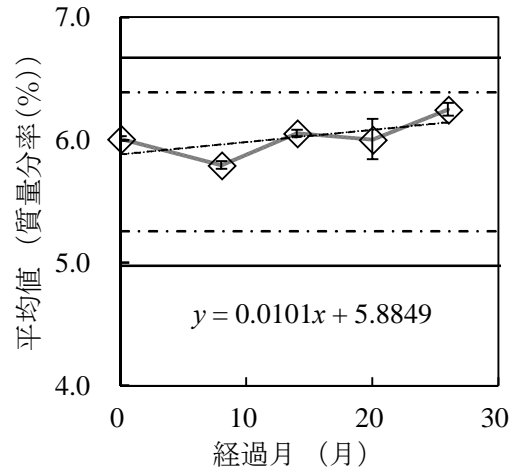
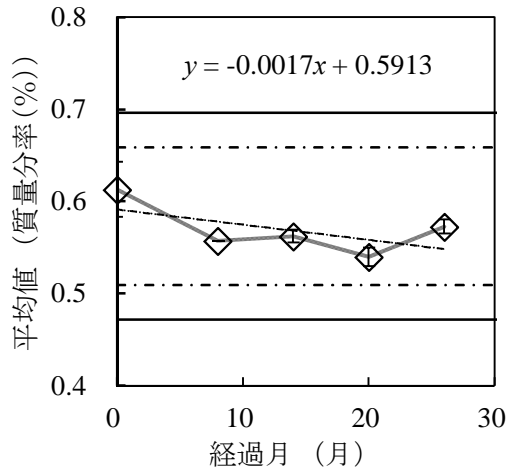
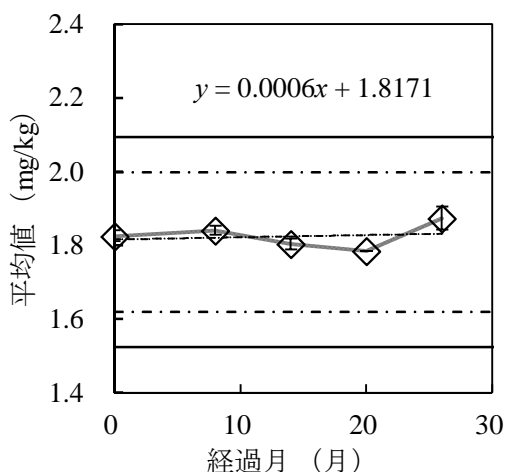
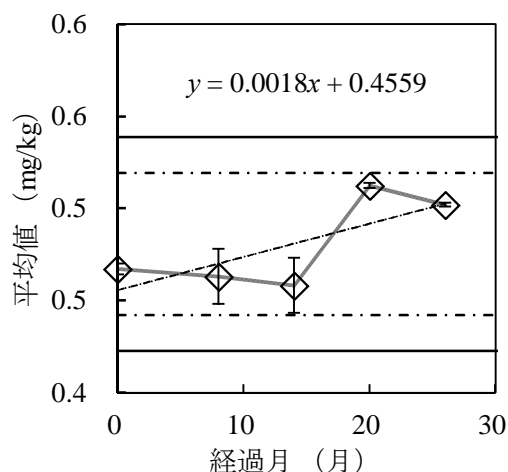


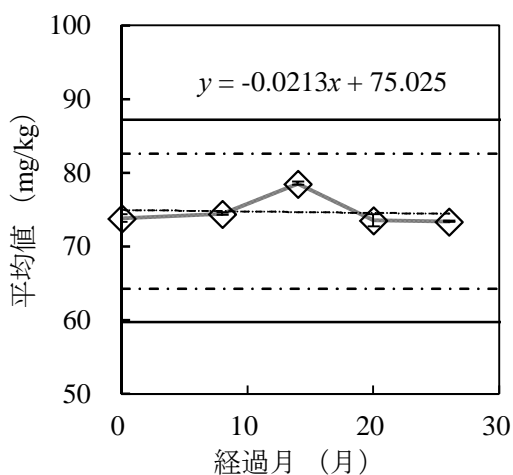
図 1C (続き)



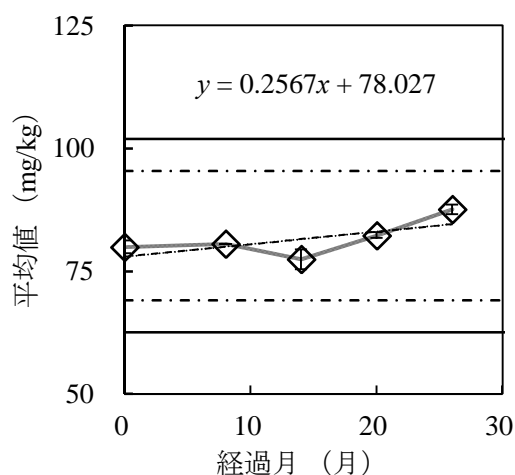
9. 標準物質C12 (カドミウム)



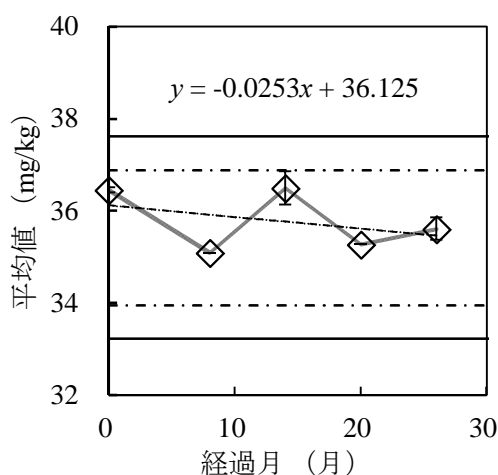
10. 標準物質C12 (水銀)



11. 標準物質C12 (ニッケル)



12. 標準物質C12 (クロム)



13. 標準物質C12 (鉛)

図 1C (続き)

2) 肥料認証標準物質の長期安定性評価

標準物質 A-10 及び標準物質 B-10 の認証値設定時(0ヶ月), 12ヶ月後, 20ヶ月後, 24ヶ月後, 28ヶ月後, 32ヶ月後, 38ヶ月後, 44ヶ月後及び50ヶ月後(標準物質 B-10のみ)並びに標準物質 C-12 の認証値設定時(0

ヶ月), 8ヶ月後, 14ヶ月後, 20ヶ月後及び26ヶ月後までの経過月並びに各回の測定の平均値並びに安定性試験の評価結果を表4-1及び表4-2に示した. 安定性の評価は, 経過月の平均値と各回の測定の平均値を用いて ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)を参考に次の手順で行った. まず, (d)式及び(e)式より, 経過月及び分析値との回帰直線の傾き(b_1)及び切片(b_0)を求めた. 次に, (f)式及び(g)式より, 予測の標準誤差(s)及び回帰直線の傾きの標準誤差(s_{b_1})を求めた. 回帰直線の傾きの標準誤差(s_{b_1})と t 値($t_{0.95, T-2}$)を乗じた値と傾きの絶対値($|b_1|$)を比較した.

その結果, 標準物質 A-10, 標準物質 B-10 及び標準物質 C-12 の全ての認証成分において, $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$ となり, 傾きは有意とは認められなかった. これにより標準物質 A-10, 標準物質 B-10 及び標準物質 C-12 の認証成分は, 各々認証値設定時から3年8ヶ月, 4年2ヶ月, 2年2ヶ月間安定であったと評価した. また, 試験回数は3回と少ないが, 標準物質 A-13 について同様の評価を実施したところ, いずれの成分も傾きは有意とは認められなかった.

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots (d)$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x} \quad \dots (e)$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{T-2} \sum_{i=1}^T (y_i - \hat{y}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{T-2} \sum_{i=1}^T (y_i - b_0 - b_1 x_i)^2} \quad \dots (f)$$

$$s_{b_1} = s / \sqrt{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots (g)$$

判定基準: $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$ \dots 有意でない(安定)
 $|b_1| \geq s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$ \dots 有意である(不安定)

T : 試験実施回数 (A-10(8回), A-13(3回), B-10(9回), C-13(5回))

x_i : 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間(月)

\bar{x} : x_i の平均値(月)

y_i : モニタリング実施日の測定値の平均値

\bar{y} : y_i の試験成績の総平均値

b_1 : 回帰直線の傾き

b_0 : 回帰直線の切片

s : 予測の標準誤差(推定残差($y_i - \hat{y}_i$))の標準偏差

\hat{y}_i : x_i に対する y_i の予測値

s_{b_1} : 回帰直線の傾きの標準誤差

$t_{0.95, T-2}$: t 値(両側有意水準 $\alpha = 0.05$, 自由度 $T - 2$)

表4-1 標準物質の安定性のモニタリング¹⁾成績の評価結果

試験成分	\bar{x} ²⁾ (mon.)	\bar{y} ³⁾ (%) ¹⁰⁾	回帰分析結果				判定 基準 ⁸⁾ (%) ¹⁰⁾	判定 ⁹⁾
			b_1 ⁴⁾	b_0 ⁵⁾	s ⁶⁾	s_{b_1} ⁷⁾		
			(%) ¹⁰⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾	(%) ¹⁰⁾	(%) ¹⁰⁾	(%) ¹⁰⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾		
(標準物質A-10)								
窒素全量 (T-N)	24.8	14.71	-0.0052	14.84	0.12	0.003	0.008	○
アンモニア性窒素 (A-N)	24.8	10.74	-0.0002	10.74	0.10	0.003	0.006	○
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	24.8	10.06	-0.0015	10.10	0.04	0.001	0.003	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	24.8	13.57	-0.0007	13.58	0.14	0.004	0.009	○
く溶性苦土 (C-MgO)	24.8	3.36	0.0018	3.31	0.03	0.0008	0.0019	○
く溶性マンガン (C-MnO)	24.8	0.399	0.0000	0.398	0.010	0.0003	0.0006	○
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	24.8	0.209	0.0001	0.207	0.004	0.0001	0.0003	○
(標準物質A-13)								
窒素全量 (T-N)	6.7	14.849	-0.0084	14.91	0.044	0.0047	0.0601	○
アンモニア性窒素 (A-N)	6.7	10.479	-0.0101	10.546	0.116	0.0126	0.1605	○
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	6.7	10.785	0.0077	10.733	0.055	0.0059	0.0755	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	6.7	13.008	-0.0137	13.100	0.102	0.0111	0.1409	○
く溶性苦土 (C-MgO)	6.7	3.251	0.0053	3.216	0.043	0.0047	0.0600	○
く溶性マンガン (C-MnO)	6.7	0.364	-0.0008	0.369	0.001	0.0002	0.0020	○
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	6.7	0.205	-0.0011	0.212	0.005	0.0005	0.0062	○
(標準物質B-10)								
アンモニア性窒素 (A-N)	27.6	8.28	-0.0020	8.34	0.08	0.002	0.004	○
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	27.6	8.10	0.0010	8.07	0.05	0.001	0.003	○
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	27.6	6.97	0.0007	6.95	0.03	0.001	0.002	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	27.6	8.77	-0.0014	8.81	0.16	0.004	0.009	○
(標準物質C-12)								
窒素全量 (T-N)	13.6	4.71	-0.0028	4.75	0.05	0.002	0.007	○
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	13.6	8.56	-0.0003	8.57	0.07	0.004	0.012	○
加里全量 (T-K ₂ O)	13.6	0.57	-0.0017	0.59	0.03	0.001	0.004	○
石灰全量 (T-CaO)	13.6	6.02	0.0101	5.88	0.15	0.01	0.02	○
有機炭素 (O-C)	13.6	20.41	0.0044	20.35	0.32	0.02	0.05	○

1) 標準物質A-10及び標準物質B-10は調製後の試験実施日から起算して

50ヶ月後(A-10は44ヶ月後)までモニタリング

標準物質C-12は調製後の試験実施日から起算して26ヶ月後までモニタリング

標準物質A-13は調製後の試験実施日から起算して13ヶ月後までモニタリング

2) 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間の平均値(月)

3) 標準物質A-10の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(8) × 併行試験数(2))

標準物質B-10の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(9) × 併行試験数(2))

標準物質C-12の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(5) × 併行試験数(2))

標準物質A-13の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(3) × 併行試験数(2))

4) 回帰直線の傾き

5) 回帰直線の切片

6) 予測の標準誤差

7) 回帰直線の傾きの標準誤差

8) $s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$

9) ○は次式に適合して傾きは有意とは認められず、安定と評価した成分

$$|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$$

10) 表中の%は質量分率

表4-2 標準物質の安定性のモニタリング¹⁾成績の評価結果

試験成分	\bar{x} ²⁾ (mon.)	\bar{y} ³⁾ (mg/kg)	回帰分析結果			s_{b_1} ⁷⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	判定 基準 ⁸⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	判定 ⁹⁾
			b_1 ⁴⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	b_0 ⁵⁾ (mg/kg)	s ⁶⁾ (mg/kg)			
(標準物質B-10)								
ひ素 (As)	27.6	2.37	-0.0033	2.46	0.11	0.003	0.006	○
カドミウム(Cd)	27.6	5.90	0.0013	5.91	0.13	0.003	0.007	○
水銀 (Hg)	27.6	0.89	-0.0001	0.89	0.02	0.0005	0.0013	○
ニッケル(Ni)	27.6	45.6	0.0136	45.3	1.3	0.03	0.07	○
鉛 (Pb)	27.6	24.7	-0.0084	25.0	1.4	0.03	0.08	○
(標準物質C-12)								
銅全量 (T-Cu)	13.6	574	-1.2154	591	12.5	0.6	2.0	○
亜鉛全量(T-Zn)	13.6	992	0.4489	986	15.3	0.8	2.4	○
ひ素 (As)	13.6	21.6	0.0491	20.9	1.4	0.1	0.2	○
カドミウム(Cd)	13.6	1.83	0.0006	1.82	0.04	0.002	0.006	○
水銀 (Hg)	13.6	0.48	0.0018	0.46	0.02	0.001	0.003	○
ニッケル(Ni)	13.6	74.7	-0.0213	75.0	2.5	0.1	0.4	○
クロム(Cr)	13.6	81.5	0.2567	78.0	3.2	0.2	0.5	○
鉛 (Pb)	13.6	35.8	-0.0253	36.1	0.7	0.03	0.11	○

脚注は表4-1を参照

3) 肥料認証標準物質の有効期限

標準物質 A-10 及び標準物質 B-10 の有効期限は、2012 年 11 月 30 日の肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会の審議を受け、有効期限を 2 年延長し 2015 年 6 月末に変更した。また、同部会で標準物質 C-12 は 2016 年 6 月末までの有効期限の認証を受けた。その後、継続して長期安定性モニタリング試験を行った結果、標準物質 A-10 及び標準物質 B-10 は認証値設定から 4 年 2 ヶ月間(認証物質 A-10 は 3 年 8 ヶ月間)、標準物質 C-12 は認証値設定から 2 年 2 ヶ月間の安定性が確認された。

4) ERM Application Note 1 よる測定値と認証値との比較(参考)

認証標準物質の測定値と認証値を比較する方法として、それらの差をそれらの不確かさを用いて評価する方法が ERM Application Note 1¹¹⁾に紹介されている。この評価方法は新しい測定方法の妥当性確認のために紹介されているが、参考のため、今回の標準試料 A-10、標準試料 B-10 及び標準試料 C-12 の長期安定性試験成績への適用を試みることにした。

まず、長期安定性試験成績の総平均値(\bar{y}_{meas})及び認証値(μ)とそれらの差の絶対値(Δ_m)((h)式)並びに(i)式より認証標準物質の標準不確かさ(u_{CRM})及び(j)式より総平均値の標準不確かさ(u_{meas})を表 5 に示した。得られた u_{meas} 及び u_{CRM} を用いて(k)式より Δ_m の合成標準不確かさ($u_{\text{C}(\Delta_m)}$)を算出し、更に包含係数($k = 2$)を用いて(l)式より拡張不確かさ($U_{\text{C}(\Delta_m)}$)を算出して表 5 に示し、 Δ_m と $U_{\text{C}(\Delta_m)}$ を比較した(式(m))。その結果、標準試料 A-10(7成分)、標準試料 B-10(9成分)及び標準試料 C-12(13成分)の 29 成分のうち 25 成分は、 Δ_m が $U_{\text{C}(\Delta_m)}$ を超えていないことから、測定値の総平均値(\bar{y}_{meas})及び認証値(μ)の間に有意差は認められなかった。有意差が認められた 4 成分のうち、く溶性苦土の Δ_m (質量分率 0.08%)は、認証値(質量分率 3.28%)に対して 2%であり、拡張不確かさをわずかに 0.02%超えていた程度であった。アンモニア性窒素の Δ_m (質量分率

0.10 %) は、認証値(質量分率 8.38 %)に対して 1 % であり、拡張不確かさをわずか 0.01 % 超えていた程度であった。カドミウムの Δ_m (質量分率 0.14 mg/kg) は、認証値(質量分率 6.04 mg/kg)に対して 2 % であり、拡張不確かさをわずか 0.01 mg/kg 超えていた程度であった。水銀の Δ_m (0.03 mg/kg) は、認証値(0.86 mg/kg)に対して 3 % であり、拡張不確かさをわずか 0.001 mg/kg 超えていた程度であった。なお、式(j)による長期安定性試験成績の総平均値の不確かさ(u_{meas})の推定が実際の標準不確かさより過小評価していることも考えられた¹¹⁾。

$$\Delta_m = |\bar{y}_{\text{meas}} - \mu| \quad \dots (h)$$

$$u_{\text{CRM}} = \frac{U_{95\%}}{2} \quad \dots (i)$$

$$u_{\text{meas}} = \sqrt{\frac{s_{(T)}^2 + \frac{s_r^2}{n}}{d}} \quad \dots (j)$$

$$u_{C(\Delta_m)} = \sqrt{u_{\text{meas}}^2 + u_{\text{CRM}}^2} \quad \dots (k)$$

$$U_{C(\Delta_m)} = 2u_{C(\Delta_m)} \quad \dots (l)$$

$$\Delta_m \leq U_{C(\Delta_m)} \quad \dots (m)$$

\bar{y}_{meas} : 長期安定性試験成績の総平均値

μ : 認証値

Δ_m : 総平均値と認証値の差の絶対値

u_{CRM} : 認証値の標準不確かさ

$U_{95\%}$: 認証値の拡張不確かさ(包含係数 $k=2$)

u_{meas} : 測定の標準不確かさ

$s_{(T)}$: 日間標準偏差

T : 試験回数(A-10(8), A-12(3), B-10(9), C-13

(5))

s_r : 併行標準偏差

n : 併行試験数(2)

$u_{C(\Delta_m)}$: Δ_m の合成標準不確かさ

$U_{C(\Delta_m)}$: Δ_m の拡張不確かさ(包含係数 $k=2$)

表5 長期安定性試験成績の総平均値と認証値の比較

試験成分	単位	$\bar{y}_{\text{meas}}^{1)}$	$u_{\text{meas}}^{2)}$	$\mu^{3)}$	$u_{\text{CRM}}^{4)}$	$\Delta_m^{5)}$	$U_{C(\Delta_m)}^{6)}$
(標準物質A-10)							
窒素全量 (T-N)	(%) ⁷⁾	14.71	0.05	14.71	0.04	0.00	0.12
アンモニア性窒素 (A-N)	(%) ⁷⁾	10.74	0.03	10.66	0.05	0.08	0.11
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	(%) ⁷⁾	10.06	0.02	10.05	0.04	0.01	0.09
水溶性加里 (W-K ₂ O)	(%) ⁷⁾	13.56	0.05	13.59	0.04	0.03	0.13
く溶性苦土 (C-MgO)	(%) ⁷⁾	3.36	0.02	3.28	0.02	0.08	0.06
く溶性マンガン (C-MnO)	(%) ⁷⁾	0.399	0.003	0.403	0.003	0.004	0.009
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	(%) ⁷⁾	0.209	0.002	0.209	0.002	0.000	0.005
(標準物質B-10)							
アンモニア性窒素 (A-N)	(%) ⁷⁾	8.28	0.03	8.38	0.03	0.10	0.09
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	(%) ⁷⁾	8.10	0.02	8.10	0.01	0.00	0.04
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	(%) ⁷⁾	6.97	0.01	7.00	0.02	0.03	0.05
水溶性加里 (W-K ₂ O)	(%) ⁷⁾	8.77	0.05	8.85	0.04	0.08	0.12
ひ素 (As)	(mg/kg)	2.37	0.04	2.36	0.05	0.01	0.13
カドミウム (Cd)	(mg/kg)	5.90	0.04	6.04	0.05	0.14	0.13
水銀 (Hg)	(mg/kg)	0.89	0.01	0.86	0.01	0.03	0.03
ニッケル (Ni)	(mg/kg)	45.6	0.4	45.3	0.6	0.3	1.5
鉛 (Pb)	(mg/kg)	24.7	0.4	26.2	0.7	1.5	1.7
(標準物質C-12)							
窒素全量 (T-N)	(%) ⁷⁾	4.71	0.02	4.70	0.02	0.01	0.06
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	(%) ⁷⁾	8.56	0.03	8.62	0.05	0.06	0.11
加里全量 (T-K ₂ O)	(%) ⁷⁾	0.57	0.01	0.58	0.01	0.01	0.03
石灰全量 (T-CaO)	(%) ⁷⁾	6.02	0.07	5.82	0.09	0.20	0.22
有機炭素 (O-C)	(%) ⁷⁾	20.4	0.1	20.2	0.2	0.2	0.4
銅全量 (T-Cu)	(mg/kg)	574	7	583	6	9	19
亜鉛全量 (T-Zn)	(mg/kg)	992	6	992	9	0	21
ひ素 (As)	(mg/kg)	21.6	0.6	21.4	0.5	0.2	1.5
カドミウム (Cd)	(mg/kg)	1.83	0.02	1.81	0.03	0.02	0.07
水銀 (Hg)	(mg/kg)	0.480	0.011	0.481	0.005	0.001	0.024
ニッケル (Ni)	(mg/kg)	75	1	73	2	2	4
クロム (Cr)	(mg/kg)	82	2	82	2	0	5
鉛 (Pb)	(mg/kg)	35.8	0.3	35.4	0.2	0.4	0.7

- 1) 内部品質管理試験成績(標準物質A-10)の総平均値(データ数 = 試験回数(8)×繰返し数(2))
 内部品質管理試験成績(標準物質B-10)の総平均値(データ数 = 試験回数(9)×繰返し数(2))
 内部品質管理試験成績(標準物質C-12)の総平均値(データ数 = 試験回数(5)×繰返し数(2))

2) 総平均値の標準不確かさ

3) 認証値

4) 認証値の標準不確かさ

5) 平均値と認証値の差の絶対値

6) 平均値と認証値の差の合成拡張不確かさ(包含係数:k = 2)

7) 質量分率

4. まとめ

FAMICは、肥料認証標準物質として標準物質A(高度化成肥料FAMIC-A-10)、標準物質B(普通化成肥料FAMIC-B-10)、標準物質C(汚泥発酵肥料FAMIC-C-12)及び標準物質A(高度化成肥料FAMIC-A-13)の有効期限を確認するためにモニタリングによる長期安定性試験を実施した。この結果、標準物質A-10、標準物質B-10、標準物質C-12及び標準物質A-13の各試験日毎の試験成績の平均値は、いずれの成分も内部品質管理の警戒限界を超えることはなかった。また、試験成績をISO Guide 35:2006(JIS Q 0035:2008)⁶⁾を参考に統計解析し、安定性を評価したところ、標準物質A-10、標準物質B-10及び標準物質C-12について認証値設定後、各々3年8ヶ月間、4年2ヶ月間、2年2ヶ月間の全ての認証成分の安定性が確認された。

肥料認証標準物質の認証成分の長期安定性を確認することは、利用者の利便性向上に寄与するものと考えられる。一方、肥料の認証標準物質は、国内には他に作製している例はない。更に、国外で利用されている肥料認証標準物質は我が国の特有の肥料成分及びその試験方法が網羅されておらず、また、我が国向けの肥料認証標準物質も作製されていない。このような観点から、この標準物質の利用促進が、肥料分析の信頼性確保に貢献するところは大きいものと期待される。

文 献

- 1) 独立行政法人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) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人:2010 年度肥料認証標準物質の開発—高度化成肥料FAMIC-A-10及び普通化成肥料FAMIC-B-10—, 肥料研究報告, **4**, 107~121, (2009)
- 4) 秋元里乃, 廣井利明, 八木寿治, 顯谷久典, 舟津正人, 矢野愛子, 坂東悦子, 藤田真理子, 白井裕治, 柴田政人:2012 年度 肥料認証標準物質の開発—汚泥発酵肥料FAMIC-C-12—, 肥料研究報告, **6**, 84~100 (2013)
- 5) 加島信一, 八木寿治, 顯谷久典, 秋元里乃, 矢野愛子, 藤田真理子, 橋本良美, 廣井利明, 白井裕治, 久保明:2013 年度 肥料認証標準物質の開発—高度化成肥料FAMIC-A-13—, 肥料研究報告, **7**, 95~104(2014)
- 6) ISO Guide 34 (2009): “General requirements for the competence of reference material producers” (JIS Q 0034: 2012, 「標準物質生産者の能力に関する一般要求事項」)
- 7) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 8) ISO Guide 31 (2000): “Reference materials—Contents of certificates and labels” (JIS Q 0031 : 2002, 「標準物質—認証書及びラベルの内容」)
- 9) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2014)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2014.pdf>
- 10) ISO 5725-6 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 6: Use in practice of accuracy values” (JIS Z 8402-6: 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度)—

第 6 部: 精確さに関する値の実用的な使い方」)

11) Thomas Linsinger : “Comparison of a measurement result with the certified value”, European Reference Materials' application note 1, European Commission - Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) (2010)

<http://www.erm-crm.org/ERM_products/application_notes/application_note_1/Documents/erm_application_note_1_english_rev3.pdf>

Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements: High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-10) and Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-10) and Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12) and High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-13)

Shigeyuki INABA¹, Yasuharu KIMURA¹, Jun ITO¹, Taku FUJITA¹,
Keisuke AOYAMA¹, Masahiro ECHI¹, Masanori HASEGAWA³ and Yuji SHIRAI²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

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

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has performed long-term stability examinations to confirm shelf life of fertilizer certified reference materials (CRMs), high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-10 and FAMIC-A-13), ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-10) and composted sludge fertilizer (FAMIC-C-12) for analysis of major components and harmful elements. FAMIC-A-10 and FAMIC-A-13 are certified for the contents of total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO) and citric acid-soluble boron (C-B₂O₃). FAMIC-B-10 is certified for the concentrations of ammonium nitrogen (A-N), soluble phosphoric acid (S-P₂O₅), water-soluble phosphoric acid (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb), nickel (Ni) and mercury (Hg). FAMIC-C-12 is certified for the concentrations of total nitrogen (T-N), total phosphoric acid (T-P₂O₅), total potassium (T-K₂O), total calcium (T-CaO), total copper (T-Cu), total zinc (T-Zn), organic carbon (O-C), arsenic (As), cadmium (Cd), mercury (Hg), nickel (Ni), chromium (Cr), and lead (Pb). The monitoring long-term stability was evaluated by a statistical analysis of the results of monitoring stability examination on the chemical analysis of the stock CRMs. The data was performed a statistical analysis in reference to ISO Guide 35: 2006. It shows evidence that there were no need to update the certified value and its uncertainty. From these results of the statistical analysis, the all certified values of the CRMs of high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-10) and ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-10) and composted sludge fertilizer (FAMIC-C-12) were stable for each three years eight months after preparation and four years two months after preparation and two years two months after preparation. In addition, high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-13) had little examination number of times, but was the same. It was compared the certification level with the measurements of CRMs by an introduced evaluation method in ERM Application Note 1 by reference. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components and harmful elements in compound fertilizers.

Key words certified reference material (CRM), compound fertilizer, composted sludge fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 35, long-term stability, monitoring examination

(Research Report of Fertilizer, **8**, 153~173, 2015)

13 水溶性けい酸試験法の性能調査

—ふっ化カリウム法—

川口 伸司¹

キーワード クライテリア・アプローチ, 水溶性けい酸, ふっ化カリウム法, 肥料等試験法

1. はじめに

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 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾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. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準 (criteria) を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ (Criteria Approach) と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法 (1992 年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者は肥料分析法 (1992 年版)⁴⁾に収載されている試験法のうち, 主要な成分として規定されているけい酸 (SiO_2)^{5, 6)}のうち水溶性けい酸 (W- SiO_2) のふっ化カリウム法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には水溶性けい酸 (W- SiO_2) が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたってはできる限り各肥料原料の主成分に対応する試薬を用い (表 1), 流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬等を混合し, 水溶性けい酸 (W- SiO_2) として質量分率 2.4 % ~ 30 % 含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 回転振り混ぜ機: 三喜製作所 RS-12
- (2) ホットプレート: 柴田科学 NP-6
- (3) アスピレーター: AS ONE AS-01
- (4) 電動ビュレット: 京都電子工業 APB-620

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

表1 試料の調製に使用する試薬等

使用する試薬等		対応する原材料名	
名称	規格	名称又は種類名(材料)	慣用名
けい酸カリウム溶液		液体けい酸加里肥料	けい酸カリ
けい酸ナトリウム溶液	鹿1級		けい酸ソーダ
水酸化カリウム	JIS K 8574 特級		苛性カリ

表2 試験に用いた試料の配合割合 (質量分率%)

使用する試薬等	真度評価用試料			定量下限確認用試料
	W-SiO ₂ -30	W-SiO ₂ -20	W-SiO ₂ -12	W-SiO ₂ -2
けい酸カリウム溶液	30.35	65.49	60.67	12.14
けい酸ナトリウム溶液	64.70	19.00		
水酸化カリウム	4.95	1.06	1.59	6.97
水		14.45	37.74	80.89
W-SiO ₂ 含有量	30	20	12	2.4

3) 試薬の調製

- (1) 水: 水精製装置 (Merck Millipore Elix Advantage5) を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- (2) 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液: 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり、冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし、密栓して 4~5 日間放置する。その上澄み液 5.5 mL~11 mL を共栓保存容器にとり、炭酸を含まない水 1000 mL を加えた。
- (3) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- (4) 塩化カリウム: JIS K 8121 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- (5) 塩化カリウム溶液: JIS K 8101 に規定するエタノール 250 mL を水 750 mL に加えて混合し、塩化カリウム 150 g を加えて溶かした。指示薬としてメチルレッド溶液 (0.1 g/100 mL) 数滴を加え、溶液の色が赤色になるまで塩酸を滴下して酸性とし、1 日間放置後 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で中和した。
- (6) ふっ化カリウム溶液: JIS K 8815 に規定するふっ化カリウム 58 g を水 1000 mL に溶かした。
- (7) メチルレッド溶液 (0.1 g/100 mL): JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.10 g を JIS K 8102 に規定するエタノール (95) 100 mL に溶かした。
- (8) フェノールフタレン溶液 (1 g/100 mL): JIS K 8799 に規定するフェノールフタレン 1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール (95) 100 mL に溶かした。
- (9) その他の試薬: 肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

水溶性けい酸 (W-SiO₂) の抽出は表 3 のとおり肥料等試験法³⁾の試験方法を用いた。なお、参考のため、試験法のフローシート (図 1) を示した。

表3 試験成分及び試験方法

試験成分	肥料等試験法の項目	試料溶液の抽出方法
水溶性けい酸 (W-SiO ₂)	4.4.1.a ふっ化カリウム法	(4.1) 水回転振とう

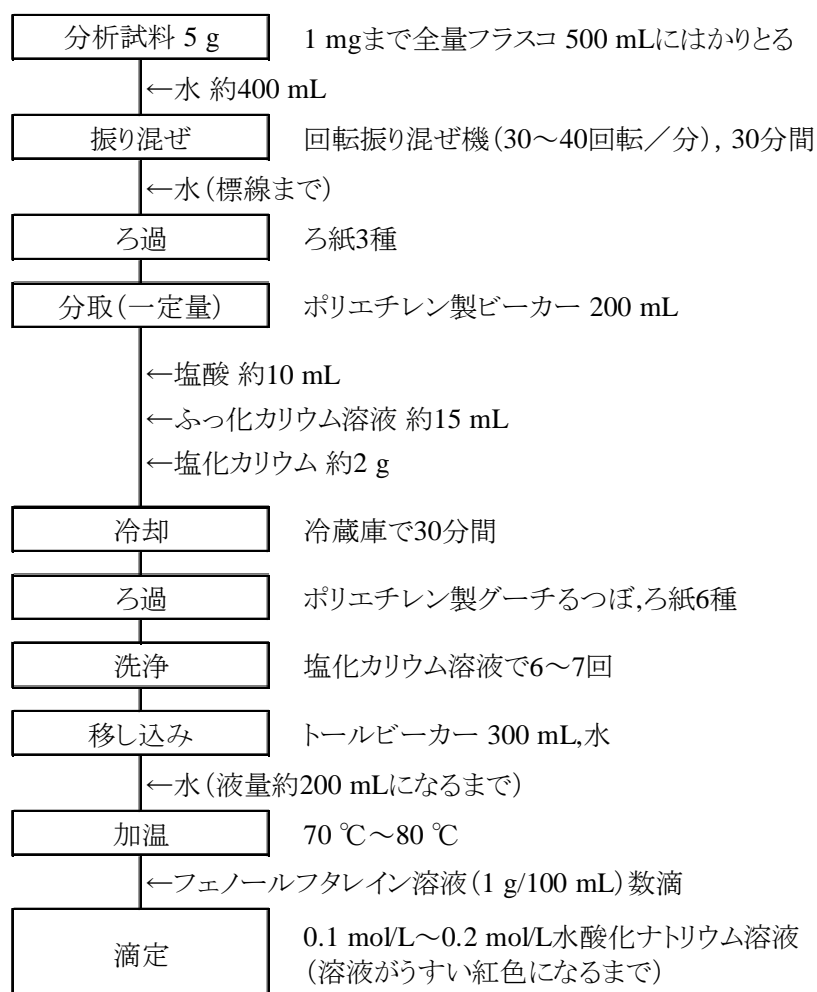


図1 肥料中の水溶性けい酸試験法フローシート

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いたけい酸カリウム溶液及びけい酸ナトリウム溶液中の水溶性けい酸の含有量

試料の調製に用いたけい酸カリウム溶液及びけい酸ナトリウム溶液中の水溶性けい酸(W-SiO₂)の含有量を肥料分析法(1992年版)⁴⁾により3点併行で日を変えて2回測定した結果を表4に示した。相対標準偏差は0.3%と小さかった。このことから試料の調製には平均値を用いて配合設計を行った。

表4 試料の調製に用いたけい酸カリウム溶液及びけい酸ナトリウム溶液の測定値

試料	平均値 ^{a)}	標準偏差	相対
	(%) ^{b)}	(%) ^{b)}	標準偏差 (%)
けい酸カリウム溶液	19.78	0.06	0.3
けい酸ナトリウム溶液	37.09	0.11	0.3

a) 水溶性けい酸(W-SiO₂) 6点の平均値

b) 質量分率

2) 調製試料測定による真度の評価

真度評価用試料を用いて3点併行で水溶性けい酸(W-SiO₂)の試験を実施した成績を表5に示した。

肥料取締法⁷⁾において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(汚泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、水溶性けい酸(W-SiO₂)の設計値と測定値との差について算出した。水溶性けい酸(W-SiO₂)として質量分率12%~30%含有する試料について測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率-0.10%~0.21%であり、設計値に対する回収率は、99.5%~100.7%であった。

いずれの回収率もこの濃度範囲における肥料等試験法³⁾が示している真度(回収率)の目標の範囲内であったことから、普通肥料の水溶性けい酸(W-SiO₂)の保証成分量の評価を得るのに十分な正確さを有していることが確認された。

表5 試料中の水溶性けい酸(W-SiO₂)の真度確認試験成績

試料	設計値	測定値	設計値との差	差の割合	回収率	標準偏差	相対標準偏差	回収率の目標
	A ^{a)} (%) ^{b)}	B ^{c)} (%) ^{b)}	C ^{d)} (%) ^{b)}	D ^{e)} (%)	E ^{f)} (%)	F ^{g)} (%) ^{b)}	G ^{h)} (%)	H ⁱ⁾ (%)
W-SiO ₂ -30	30	30.21	0.21	0.7	100.7	0.05	0.2	98~102
W-SiO ₂ -20	20	19.90	-0.10	-0.5	99.5	0.06	0.3	97~103
W-SiO ₂ -12	12	12.06	0.06	0.5	100.5	0.05	0.4	97~103

a) 試料中の水溶性けい酸(S-SiO₂)の含有量(設計値)

b) 質量分率

c) 3点併行試験の平均値

d) $C=B-A$

e) $D=(C/A) \times 100$

f) $E=(B/A) \times 100$

g) 3点併行試験の標準偏差

h) $G=(F/B) \times 100$

i) 真度(回収率)の目標

3) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため、2種類の市販されている液体けい酸加里肥料について、水溶性けい酸(W-SiO₂)を2点併行で日を変えて7回試験を実施して得られた結果を表6に示した。また、この結果から一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を表7に示した。液体けい酸加里肥料1の水溶性けい酸(W-SiO₂)の平均値は質量分率24.01%で、併行相対標準偏差は0.3%、中間相対標準偏差は0.4%であった。また、液体けい酸加里肥料2の水溶性けい酸(W-SiO₂)の平均値は質量分率16.07%で、併行相対標準偏差は0.2%、中間相対標準偏差は0.3%であった。

この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法³⁾に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安以内であったことから、普通肥料の水溶性けい酸(W-SiO₂)の保証成分量の評価をするのに十分な精度を有していることが確認された。

表6 日を変えての中間精度確認試験成績 (質量分率%)

試験日	液体けい酸加里肥料1		液体けい酸加里肥料2	
1	24.00	24.11	16.00	16.07
2	24.19	24.03	16.00	16.11
3	24.08	24.05	16.14	16.13
4	23.98	24.05	16.10	16.09
5	24.06	23.93	16.10	16.08
6	23.95	23.96	16.07	16.05
7	23.89	23.91	16.05	16.03

表7 中間精度確認試験成績の統計解析結果

試料の種類	平均値 ^{a)} (%) ^{b)}	併行精度			中間精度		
		s_r ^{c)} (%) ²⁾	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ²⁾	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
液体けい酸加里肥料1	24.01	0.07	0.3	1.5	0.08	0.4	2.5
液体けい酸加里肥料2	16.07	0.03	0.2	1.5	0.04	0.3	2.5

a) 総平均値(試験日数(7)×2点併行分析)

b) 質量分率

c) 併行標準偏差

d) 併行相対標準偏差

e) 併行精度(併行相対標準偏差)の目安

f) 中間標準偏差

g) 中間相対標準偏差

h) 中間精度(中間相対標準偏差)の目安

4) 定量下限等の確認

定量下限確認用試料を用いて7点併行で水溶性けい酸(W-SiO₂)の試験を実施した結果を表8に示した。

普通肥料の公定規格⁸⁾における液体けい酸加里肥料の水溶性けい酸(W-SiO₂)の含有すべき主成分の最小量は質量分率12.0%と規定されていることから、その1/5の水溶性けい酸(W-SiO₂)として質量分率2.4%を含有する試料を調製した。

水溶性けい酸(W-SiO₂)の平均回収率は100.2%で肥料等試験法³⁾の真度(回収率)の目標の範囲内であり、定量下限及び検出下限を確認したところ、質量分率0.2%及び0.1%程度と推定された。なお、定量下限は「(標準偏差)×10」式、また、検出下限は「(標準偏差)×2× $t(n-1, 0.05)$ 」式を用いて算出した^{3, 9)}。

更に、推定された定量下限における本法の性能を確認するため、水溶性けい酸(W-SiO₂)として質量分率0.2%含有する試料を調製し、3点併行で試験を実施した。その結果は表9に示すとおり、水溶性けい酸(W-SiO₂)の平均回収率は101.5%と肥料等試験法³⁾の真度(回収率)の目標の範囲内であった。

このことから、この試験法は公定規格における普通肥料の含有量の評価をするのに十分な定量範囲を有していることが確認された。

表8 定量下限確認試験の成績

試料	設計値 ^{a)} (%) ^{b)}	平均値 ^{c)} (%) ^{b)}	回収率 ^{d)} (%)	標準偏差 (%) ^{b)}	推定定量 下限値 ^{e)} (%) ^{b)}	推定検出 下限値 ^{f)} (%) ^{b)}
W-SiO ₂ -2	2.4	2.41	100.2	0.02	0.2	0.1

a) 試料中の水溶性けい酸(W-SiO₂)の含有量(設計値)

b) 質量分率

c) 7点併行試験の平均値

d) (平均値/設計値)×100

e) 標準偏差×10

f) 標準偏差×2× $t(n-1,0.05)$

表9 定量下限における試験法の性能確認試験

試料	設計値 ^{a)} (%) ^{b)}	測定値 ^{c)} (%) ^{b)}	回収率 (%)	相対 標準偏差 (%)	回収率 の目標 ^{d)} (%)
W-SiO ₂ -02	0.200	0.203	101.5	1.1	94~106

a) 試料中の水溶性けい酸(S-SiO₂)の含有量(設計値)

b) 質量分率

c) 3点併行試験の平均値

d) 真度(回収率)の目標

4. まとめ

水溶性けい酸(W-SiO₂)のふっ化カリウム法の真度、精度及び定量・検出下限を調査したところ、次の結果を得た。

(1) 水溶性けい酸(W-SiO₂)として質量分率12%~30%含有する試料を調製し測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率-0.10%~0.21%であり、設計値に対する回収率は、99.5%~100.7%であった。

(2) 2種類の液体けい酸加里肥料について、水溶性けい酸(W-SiO₂)を2点併行で日を変えて7回試験を実施したところ、水溶性けい酸(W-SiO₂)の平均値は質量分率24.01%及び16.07%で、併行相対標準偏差は0.3%及び0.2%、中間相対標準偏差は0.4%及び0.3%であった。

(3) 水溶性けい酸(W-SiO₂)として質量分率2.4%含有する試料を調製し、定量下限及び検出下限を確認したところ、質量分率0.2%及び0.1%程度と推定された。

これらの結果は肥料等試験法³⁾に記載されたふっ化カリウム法が主成分としての水溶性けい酸(W-SiO₂)を評価することができる性能を有していることを示していた。

文 献

- 1) 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」)

- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>
- 4) 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)
- 5) 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改平成 18 年 3 月 23 日, 政令第 51 号 (2006)
- 6) 農林水産省告示: 肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 695 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)
- 7) 肥料取締法: 昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号 (2011)
- 8) 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, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 27 年 1 月 9 日, 農林水産省告示第 52 号 (2015)
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)

Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Water-soluble Silicic Acid in Fertilizer by Potassium Fluoride Method

Shinji KAWAGUCHI¹

¹Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

A study was conducted to evaluate performance characteristic of testing method for water-soluble silicic acid (W-SiO₂) by potassium fluoride method described in Testing Method for Fertilizers. The accuracy of testing method for W-SiO₂ was assured from 3 replicate determinations of 3 fertilizer samples containing 12 % ~ 30 % W-SiO₂ which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 99.5 % ~ 100.7 %. Two samples of fertilizers replicate tested on different 7 days. As a result, total mean value 24.01 % and 16.07 %, intermediate precision 0.4 % and 0.3 %, repeatability 0.3 % and 0.2 %. On the basis of 7 replicate measurements of testing method, the limit of quantitative value was estimated at 0.2 %. These results indicated that this method was validated for determination of W-SiO₂ in the fertilizer.

Key words criteria approach, water-soluble silicic acid, potassium fluoride method,
Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **8**, 174~181, 2015)

14 コマツナの生理障害

—加里—

藤田 卓¹

キーワード 植害試験, コマツナ, カリウム, 欠乏症状, 下葉の黄化

1. はじめに

肥料中の有害成分による植物の異常症状の有無を判定する手段として、植物に対する害に関する栽培試験(以下、植害試験という)の方法が農林水産省農蚕園芸局長通知¹⁾により定められている。普通肥料の公定規格²⁾では、副産肥料や汚泥肥料等で植害試験の結果、植物に害の認められないことが求められている。植害試験では、原則として供試作物にコマツナを用い、その生育状況から肥料中の植物に有害な成分の有無を判定する。しかし、試験中に発生する異常症状には、有害成分の他にも、病虫害、必須成分の欠乏又は過剰、多量施肥等様々な要因がある。発生した症状が、有害成分によるものか、他の要因によるものかを判別することは難しい。また、窒素、りん酸等植物の必須成分の欠乏又は過剰に起因する症状を生理障害というが、コマツナを対象として生理障害の詳細を記した文献は少ない。

そこで、独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)では、植害試験中に発生する症状を的確に判定することを目的として、意図的にコマツナの生理障害を発生させて、その症状を観察・記録した資料の作成を行っている。加えて、今後 FAMIC で作成を予定している植害試験法の詳細な手順及び解説書の基礎データとして蓄積する。今回はカリウムを対象として欠乏症状及び過剰症状確認試験の2試験を実施したので、その結果を報告する。なお、本稿では肥料成分や土壌分析値で使用する K_2O を加里、元素の K をカリウムとする。

2. 材料及び方法

1) 供試土壌, 肥料等

(1) 供試土壌

欠乏症状確認試験用には収奪履歴のある黒ボク土を、過剰症状確認試験用には収奪履歴のない黒ボク土を用いた。両試験に用いた土壌の理化学性を表 1 に示した。試験には、目開き 2 mm のふるいを通したものをを用いた。

(2) 供試肥料

試験に用いた肥料の成分量を表 2 に示した。各成分の分析は、肥料等試験法³⁾によった。

(3) 供試作物

コマツナ(品種名:夏楽天)

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

(4) 試験規模

1/10000 a ノイバウエルポットを用い、欠乏症状確認試験は1試験区2連、過剰症状確認試験は1試験区1連とした。

表1 供試土壌の理化学性

試験用途	欠乏症状確認	過剰症状確認
土壌の種類	黒ボク土	黒ボク土
土性	L(壤土)	L(壤土)
水分(%)	32.52	29.69
pH(土:H ₂ O=1:5)	5.89	5.74
電気伝導率(mS/m)	4.7	23.8
塩基置換容量(meq/100 g 乾土) ⁴⁾	36.4	36.5
交換性塩基(mg/100 g 乾土) ⁵⁾		
CaO	372	399
MgO	22	23
K ₂ O	6	39
塩基飽和度(%)	39.8	44.2
容積重(g/500 mL 風乾土)	374	375
最大容水量(mL/100 g 乾土)	102	99

表2 供試肥料の成分量

	成分量(% (質量分率))		
	W-K ₂ O	A-N	S-P ₂ O ₅
硫酸加里	52.98		
塩化加里	63.18		
硫酸アンモニア		21.20	
過りん酸石灰			18.66

2) 試験方法

(1) 試験区の構成及び施用量

試験区の構成及び施用量を表3に示した。欠乏症状確認試験では、硫酸加里をK₂Oとして1ポット当たり0 mg~100 mgまで施用した計6区、各2連の試験区を設けた。また、0 mg区については回復試験区を別に設け、カリウム欠乏によると考えられる症状を発生した場合、硫酸加里をK₂Oとして25 mgとなる量を適量の水に溶かして灌水時に土壌に施用した(2日間続けてK₂Oとして計50 mg)。過剰症状確認試験では、硫酸加里をK₂Oとして1ポット当たり100 mg~2800 mgまで施用した13区及び塩化加里をK₂Oとして1ポット当たり100 mg~800 mgまで施用した8区の計21区、各1連の試験区を設けた。両試験とも加里質肥料以外については、硫酸アンモニアをNとして1ポット当たり100 mg及び過りん酸石灰をP₂O₅として200 mgとなるように施用した。

(2) 栽培方法

耕種概要を表4に示した。両試験とも、栽培期間は通常の植害試験と同じ21日間とした。ノイバウエルポットに、施肥後の供試土壌をポット底から約5 cmまで充填し、供試作物のコマツナを20粒播種した。栽培条件は、人工気象装置(小糸工業製 コイトロン KG50-HLA型)内で量子子束密度約310 μmol m⁻² s⁻¹、照明時間12時間、気温昼間25 °C、夜間18 °C、湿度65%の一定とした。灌水は最大容水量の60%を目安に管理し、ローラーポンプ式自動給水装置(古江サイエンス製 RP-MRFS)を併用した。栽培条件を均一にするため、人工気象

装置内でのポットの配置は休日を除き、毎日無作為に換えた。

表3 試験区の構成及び施用量

試験区名	施用量 (mg/pot)	成分量(mg/pot)		
		W-K ₂ O	A-N	S-P ₂ O ₅
欠	0 mg区	0	0	
乏	10 mg区	19	10	
症	25 mg区	47	25	
状	50 mg区	94	50	
確	75 mg区	142	75	
認	100 mg区	189	100	
	100 mg区	189	100	
	200 mg区	378	200	
	300 mg区	566	300	
	400 mg区	755	400	
	500 mg区	944	500	
	600 mg区	1133	600	
	700 mg区	1321	700	
	800 mg区	1510	800	
過	1200 mg区	2265	1200	
剩	1600 mg区	3020	1600	
症	2000 mg区	3775	2000	
状	2400 mg区	4530	2400	
確	2800 mg区	5285	2800	
認	100 mg区	158	100	
	200 mg区	317	200	
	300 mg区	475	300	
	400 mg区	633	400	
	500 mg区	791	500	
	600 mg区	950	600	
	700 mg区	1108	700	
	800 mg区	1266	800	
	硫酸アンモニア(共通)	472	100	
	過りん酸石灰(共通)	1072		200

※ 0 mg区については、欠乏症状が発生した場合、灌水時に硫酸加里溶液を
土壌に施用する回復試験区も別に設けた(K₂Oとして25 mgを2回施用)。

表4 耕種概要

試験名	施肥	播種	収穫
欠乏症状確認試験	平成26年3月31日	4月4日	4月25日
過剰症状確認試験	平成26年6月23日	6月27日	7月18日

3) 調査項目及び収穫物の分析方法

(1) 調査項目

発芽率, 葉長, 収穫物の葉体重量(生体重, 乾物重), 異常症状の確認, 跡地土壌の pH, EC(過剰症状確認試験のみ), 葉体のリン, カリウム, マグネシウム, カルシウム含有率(乾物当たり)及び葉体のカリウムの簡易検出試験(欠乏症状確認試験のみ)

(2) 収穫物の分析方法

① 葉体のカリウム, リン, マグネシウム及びカルシウム含有率(乾物当たり)³⁾

収穫後, 生体重を測定したコマツナを定温乾燥機にて 65 °C で 1 昼夜乾燥した. 重量を測定した後, ミルサーで粉碎し, 分析試料とした. 試料約 1 g をひょう量皿にとり, 水分計により採取重量及び水分を測定した. 水分測定後の試料を全てトールビーカー 100 mL に移し電気炉で穏やかに炭化した後, 550 °C で 4 時間以上灰化した. 放冷後, トールビーカーに塩酸約 10 mL 及び水約 20 mL を加え時計皿で覆い, 5 分程度煮沸した. 放冷後, 全量フラスコ 100 mL に移し込み, 水で定容した後ろ過し, 試料溶液とした. 適量の試料溶液を全量フラスコ 50 mL ~ 100 mL に分取した後, カリウムについてはフレイム光度法, リンについてはバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法, マグネシウム及びカルシウムについてはフレイム原子吸光法により測定した(図 1).

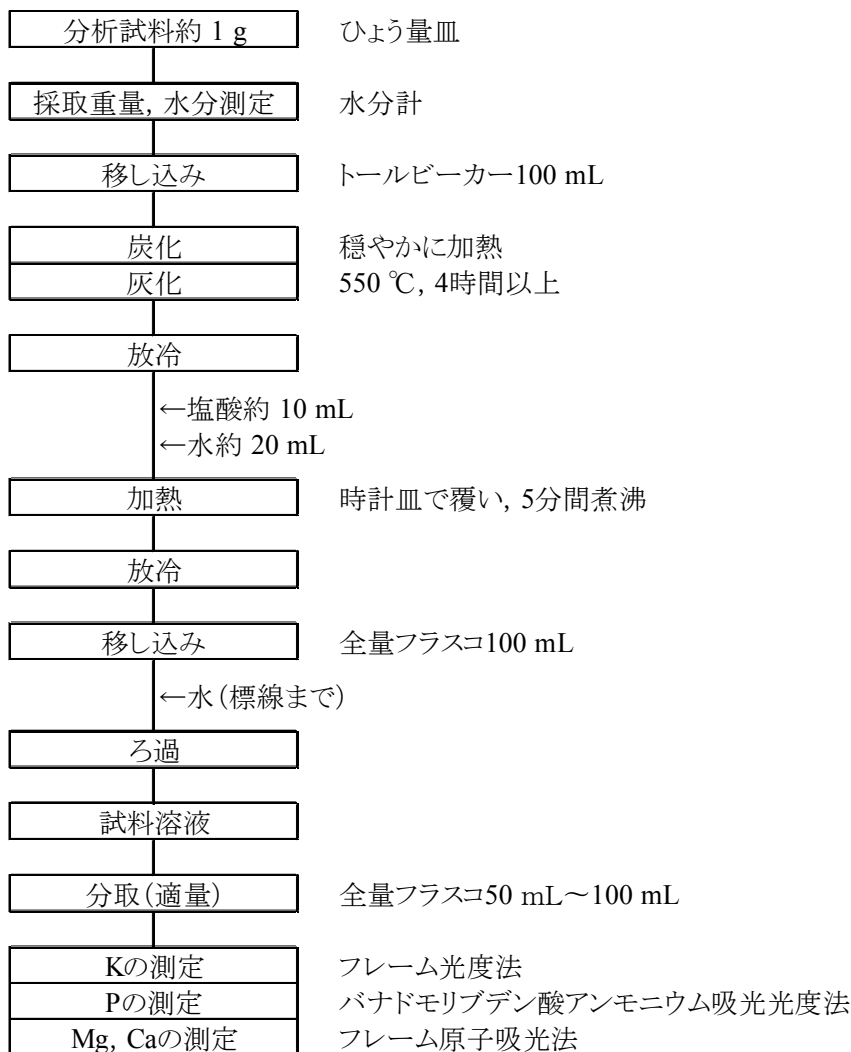


図1 葉体のカリウム, リン, マグネシウム及びカルシウム含有率(乾物当たり)試験法フローシート

②葉体のカリウムの簡易検出試験⁶⁾

収穫物の第 1 葉の葉柄を下部から上部に向かってハサミで長さ 2 mm 程度に数個切り取り, 約 100 mg を計り取った. これを試験管に入れ, 水 3 mL 及び 5 % テトラフェニルホウ酸ナトリウム溶液 0.15 mL を加えてよく攪拌した後, テトラフェニルホウ酸カリウムの微粒子による白濁の度合いを観察した(図 2).

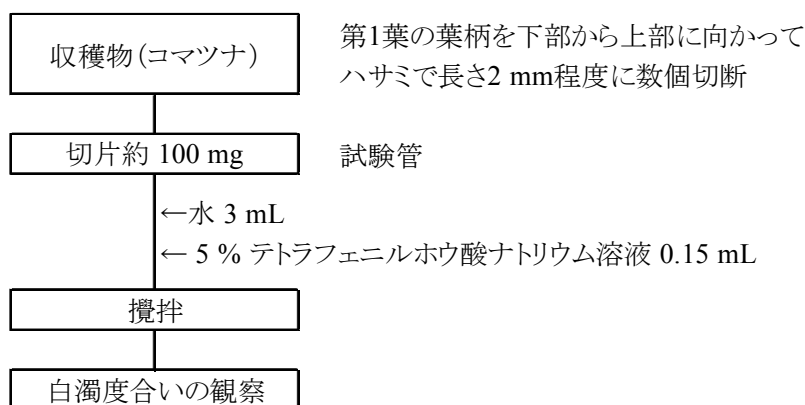


図2 葉体のカリウムの簡易定性試験法フローシート

3. 結果及び考察

1) カリウムの生理作用^{7,8)}

古くから「窒素は葉肥, リンは実肥, カリウムは根肥」と言われているが, 窒素及びリンが原形質の構成元素であるのに対し, カリウムは作物体内では主にイオン(K^+)の状態で存在している⁹⁾. カリウムは細胞内では, 100 mM 程度の高濃度で存在し, 酵素の立体構造を安定化して, 基質に対する親和力を増大させる. カリウムにより活性化される酵素は 60 種以上あり, 例えば葉緑体中ではデンプン合成酵素活性が 50 mM~100 mM の濃度範囲で最大となり, CO_2 固定が飛躍的に増大する. また, 高濃度のカリウムは細胞内の pH を酵素反応に適する 7~8 に安定化する. さらには浸透圧(膨圧)の維持にも働き, 細胞を拡大する. カリウムは篩管内でも 100 mM 程度の高濃度で存在し, 独立栄養器官である成熟葉側での膨圧を増大し, 従属栄養器官である根や果実等へのショ糖の転流を促進している. このようにカリウムはデンプン生産及びショ糖の転流に大きく関与しており, 「カリウムは根肥」の表現はある程度正しいことが分かる.

この他の重要なカリウムの生理作用として, リボゾームの立体構造を安定化させることによるタンパク質合成の促進, 随伴イオンの塩素とともに気孔の孔辺細胞の浸透圧を調節することによる気孔の開閉, 病害抵抗性の増大や乾燥・塩害耐性の付与等が挙げられる.

2) 生理障害の症状

(1) 欠乏症状

欠乏症状確認試験の結果を表 5 に示した. 植物の代表的なカリウム欠乏症状として, 下葉の異常が挙げられる. カリウムは窒素, リン酸と同様に作物体内を再転流しやすいので, 本症状は下葉から発生する⁶⁾. このため, 生育初期に現れることは少ない¹⁰⁾. 症状は①不整形の白斑あるいは褐色の斑点を生じるタイプ, ②葉縁が黄化するタイプ, ③葉脈間が黄化するタイプの 3 つに区分される⁹⁾. 今回の試験では, 0 mg と 10mg 区の下葉にて②と③のタイプがみられた. なお, 21 日間の植害試験では, 収穫時の葉齢は通常 4~5 程度であるので, 以後の考察において, 第 2 葉までを下葉, 第 3 葉以降を新葉と定義した. 最初にみられたのは②のタイプで, 栽培期間後期にまず下葉の先端部が暗緑色を呈した(写真 1). 以後, 葉縁の黄化が進行し, やがて枯死した(写真 2~4). やや遅れて葉脈間が脱色し, やがて枯死する③のタイプがみられた(写真 5). 主に②のタイプは第 1 葉, ③は第 2 葉でみられた(写真 6). 下葉の黄

化が認められた栽培期間後期(17日目)から0 mg区に硫酸加里溶液を土壌施用する回復試験を試みた(以後、黄化回復試験という)。その結果、20日目頃から徐々に肥効が現れ、試験終了時(21日目)までには明らかに黄化の進行が止まり、生育状況及び葉色の改善も認められた(写真7)。下葉の黄化がカリウム欠乏によるか否かの確認方法として、土壌施肥の有効性が実証できた。また、0 mg及び10 mg区については黄化がみられた個体、それ以外の試験区についてはランダムに収穫物を選択して、カリウムの簡易検出試験を実施した。その結果、0 mg及び10 mg区については白濁が認められず、加里の施用量が増加するに従って白濁の度合いが増した(写真8)。従って、簡易検出試験もカリウム欠乏症状の確認方法として有効であることが分かった。

カリウムが生育初期より欠乏すると葉が外側に巻き、生育不良になる⁹⁾。今回の試験では、0 mg、10 mg及びごく一部の25 mg区で発芽直後(3日目)に子葉がカップ状に外側に巻く症状がみられた(写真9)。本症状は、以後進行することなく解消に向かうが、0 mg区では子葉の先端に症状の跡が残る個体がみられた(写真10)。

カリウムは光合成の促進への影響が大きいので、欠乏すると作物の伸長は抑えられ、さらに子実や果実の収量も低下する¹⁰⁾。今回の試験では、発芽直後から加里施用量の減少に伴う葉体の生育不良及び葉体重量の低下が認められた(写真11、図3)。しかし、窒素やりん酸等他の必須成分の欠乏、塩類濃度障害、有害成分による害でも生育不良は起こるため、判別するのは難しい。そこで、発芽直後にみられた子葉が外側に巻く症状を初期のカリウム欠乏の指標と考え、栽培期間中期(11日目)から0 mg区に硫酸加里溶液を土壌施用する回復試験を試みた(以後、生育回復試験という)。その結果、17日目頃から生育状況が改善し始め、試験終了時までには生育状況及び葉色の改善が認められた(写真12)。従って、カリウム欠乏が疑われる生育不良の確認方法としても、土壌施肥の有効性が実証できた。

カリウムは根へのショ糖の転流に関与しており、根は従属栄養器官のため成熟葉からの炭水化物供給がないと自分自身で成長肥大することができない⁷⁾。今回の試験では、0 mg区で根の伸長不良がみられた。しかし、10 mg区は100 mg区と比較してやや劣るものの、ほぼポット中に根が張っており、25 mg区以降でも加里の施用量に従う差異は僅かであった(写真13)。11日目から硫酸加里溶液を施用した生育回復試験区では根張りの改善が認められたが、17日目から施用した黄化回復試験区では0 mg区との明確な差異はなかった(写真14)。根の生育不良は、カリウムだけでなく、窒素、りん酸、ほう素等が欠乏してもみられる¹⁰⁾ことから、植害試験で根の伸長不良がみられた場合、その原因をカリウム欠乏と判断するのは難しいと考えられた。

カリウムが不足すると新葉は暗緑色となり、伸びが悪く小葉となる¹⁰⁾。今回の試験では、0 mg区の半数程度及び10 mg区の一部で、新葉に相当する第3葉に三角状の形状異常がみられた(写真15)。

通常の植害試験では、標準区において塩化加里を K_2O として1ポット当たり25 mg施用するのが最小施用量であり、無機質肥料の場合は K_2O として1ポット当たり100 mgに満たないときには100 mgの量になるように塩化加里を施用し、有機質肥料及び汚泥肥料の場合は塩化加里を K_2O として1ポット当たり25 mg基礎施用した上に肥料を施用する。今回の試験では収奪により交換性加里の少ない土壌を用いたが、欠乏症状として異常が認められたのは主に0 mg及び10 mg区までであった。従って、最低でも K_2O として1ポット当たり25 mg施用する植害試験ではカリウム欠乏症状が発症することは少ないと考えられた。

一方、既報¹¹⁾のりん酸過剰症状確認試験でみられた下葉の脱色及び枯死症状では、発症区の葉体のカリウムに対するリンの比(P/K)が比較的高いことから、リンに対してカリウムが相対的に不足したことが原因と推察した。今回の試験での葉体のカリウム、リン含有率(%(乾物当たり))及びP/Kを図4に示した。カリウム含有率が施用量に従って高くなるのに対し、リン含有率は低くなる傾向にあり、異常症状がみられ

た 0 mg 及び 10 mg 区付近で P/K は顕著に高い値となった。従って、下葉の異常がカリウム欠乏のみの単独要因ではなく、リンとの相対的な関係から生じている可能性も考えられた。また、カリウムが適量であってもカルシウムやマグネシウムが土壤中に多量に存在するとカリウムの吸収が抑制され、欠乏が助長されることがある⁹⁾。以上より、 K_2O として 1 ポット当たり 25 mg 以上の施用であっても施肥、土壌条件等によっては異常症状の発生する可能性があるため、植害試験に際しては肥料や土壌中のりん酸、カルシウム及びマグネシウム含有量も考慮すべきと考えられた。

表5 試験結果(欠乏症状確認試験)

試験区	ポットNo.	発芽率(%)	葉長(cm)			生体重 (g/pot)	乾物重 (g/pot)	葉体の無機元素含有率(%(乾物当たり))				異常症状
			4月7日	4月18日	4月25日			K	P	Mg	Ca	
0 mg	1	100	5.6	8.6	16.25	1.42	0.26	0.59	0.25	1.45	有	
	2	100	5.5	8.5	15.96	1.40	0.25	0.55	0.24	1.41		
	平均	100	5.6	8.6	16.11	1.41	0.26	0.57	0.25	1.43		
10 mg	1	100	6.2	9.1	22.15	2.11	0.35	0.43	0.26	1.89	有	
	2	100	6.0	8.6	21.92	2.07	0.35	0.42	0.25	1.84		
	平均	100	6.1	8.9	22.04	2.09	0.35	0.43	0.26	1.87		
25 mg	1	100	6.6	9.6	22.92	2.43	0.63	0.36	0.23	1.72	有	
	2	100	6.3	8.6	22.04	2.43	0.61	0.35	0.24	1.84		
	平均	100	6.5	9.1	22.48	2.43	0.62	0.36	0.24	1.78		
50 mg	1	100	6.1	9.0	23.29	2.78	1.03	0.31	0.20	1.61	無	
	2	100	6.5	9.3	24.01	2.80	1.06	0.32	0.20	1.59		
	平均	100	6.3	9.2	23.65	2.79	1.05	0.32	0.20	1.60		
75 mg	1	100	6.7	9.7	25.08	2.92	1.55	0.32	0.19	1.46	無	
	2	100	6.8	10.2	24.81	2.83	1.53	0.34	0.19	1.58		
	平均	100	6.8	10.0	24.95	2.88	1.54	0.33	0.19	1.52		
100 mg	1	100	6.8	9.6	25.22	3.09	1.82	0.31	0.18	1.41	無	
	2	100	6.7	9.7	25.91	3.17	1.84	0.31	0.19	1.42		
	平均	100	6.8	9.7	25.57	3.13	1.83	0.31	0.19	1.42		
生育回復		100	5.8	10.3	20.01	1.94	1.34	0.41	0.21	1.50	有	
黄化回復		100	5.3	9.0	18.85	1.61	1.46	0.50	0.20	1.23	有	

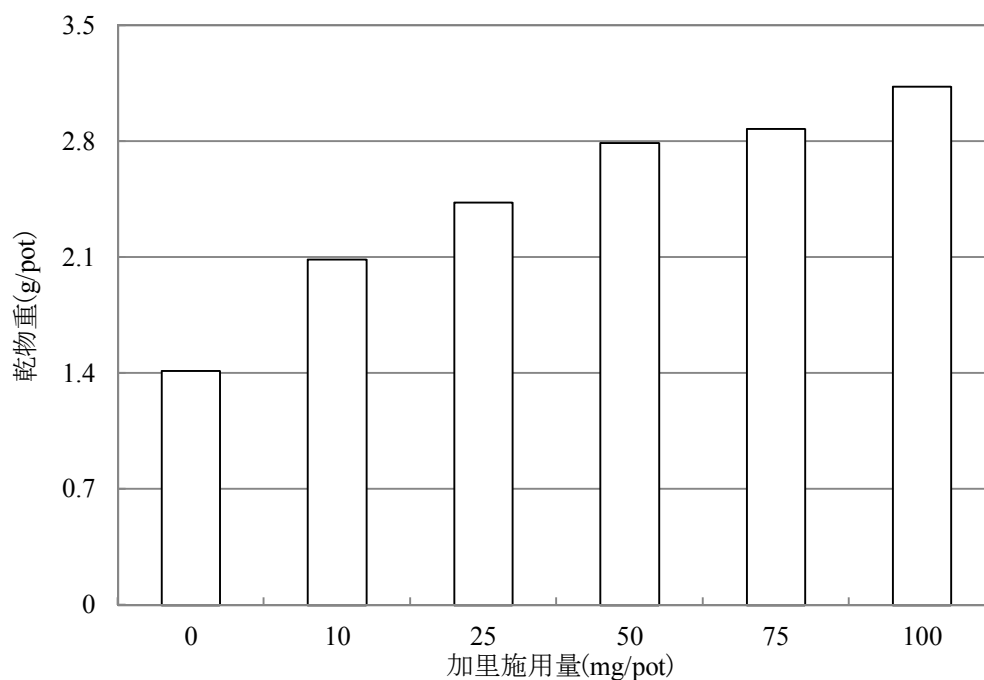


図3 葉体の乾物重

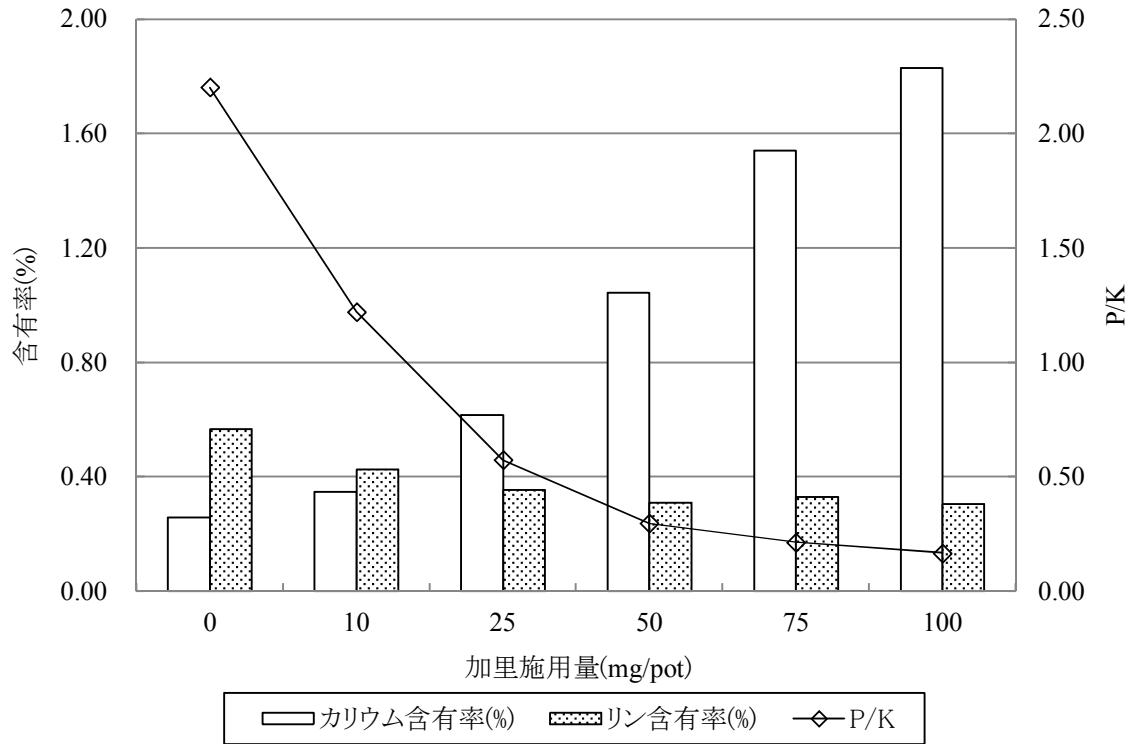


図4 葉体のカリウム, リン含有率(%(乾物当たり))及びP/K



(写真1) 播種14日後の0 mg区の様子. 葉縁が黄化するタイプの欠乏症状は, 栽培期間後期に下葉先端部が暗緑色を呈することから始まった.



(写真2) 播種17日後の0 mg区の様子. 下葉先端部から葉縁部へと症状が広がってきた.



(写真3) 播種19日後の0 mg区の様子. 葉縁部が黄色を呈しているのがよく分かる.



(写真4) 播種21日後の0 mg区の様子. さらに症状が進行して, 枯死した状態. このタイプの症状は主に第1葉でみられた.



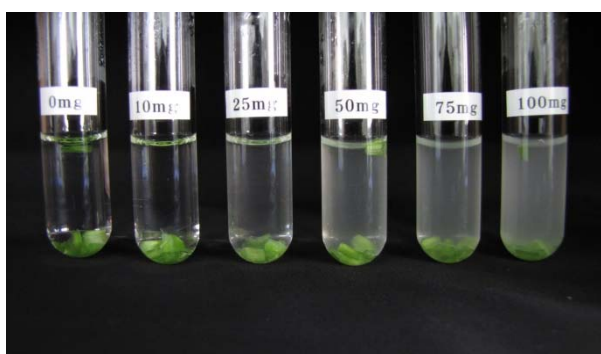
(写真5) 播種20日後の0 mg区の様子. 葉脈間が脱色するタイプは葉縁の黄化より2日ほど遅れて発症した. この症状は主に第2葉でみられた.



(写真6) 播種21日後の10 mg区の様子. 0 mg区ほど高頻度, 重症ではないが, 10 mg区でもカリウム欠乏症状がみられた. 写真では, 第1葉が葉縁の黄化, 第2葉が葉脈間の脱色症状を起こしているのがよく分かる.



(写真7) 播種21日後の0 mg区(左側)と黄化回復試験区(右側)の様子。硫酸加里溶液の土壌施肥を開始して3日目頃から徐々に肥効が現れ、試験終了時までには明らかに黄化の進行が止まり、生育状況及び葉色の改善も認められた。



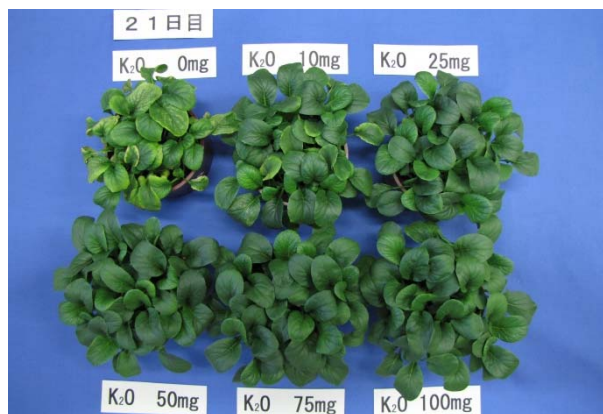
(写真8) カリウムの簡易検出試験の様子。下葉の異常症状がみられた0 mg及び10 mg区ではテトラフェニルホウ酸カリウムの白濁が認められず、加里の施用量が増加するに従って白濁の度合いが増した。



(写真9) 播種3日後の0 mg区の様子。発芽直後に子葉がカップ状に外側に巻く症状は0 mg, 10 mg及びごく一部の25 mg区がみられたが、以後進行することなく解消に向かった。



(写真10) 播種10日後の0 mg区の様子。10 mg及び25 mg区では発症後2日ほどで子葉は正常な形状に戻ったが、0 mg区では子葉の先端に症状跡が残る個体が見られた。写真右側の正常な子葉の形状と比較すると、その差異がよく分かる。



(写真 11) 播種 21 日後の様子. 加里の施用量が減少するに従って, 葉体の生育不良が認められた. 窒素やりん酸等の必須成分の欠乏, 塩類濃度障害, 有害成分による害でも生育不良は起こるので, カリウム欠乏を原因とするか否かの判別は難しい. そこで発芽直後に子葉が外側に巻く写真 9 の症状を初期カリウム欠乏の指標として, 栽培期間中期(11 日目) から硫酸加里溶液を土壤に施用する生育回復試験を試みた.



(写真 12) 播種 21 日後の 0 mg 区(左側)と生育回復試験区(右側)の様子. 硫酸加里溶液の土壤施肥を開始して 6 日目頃から肥効が現れ, 試験終了時までには生育状況及び葉色の改善が認められた.



(写真 13) 0 mg 区(左側), 10 mg 区(中央), 100 mg 区(右側)の根張りの様子. 0 mg 区では明らかに根の伸長不良がみられたが, 10 mg 区は 100 mg 区と比較してやや劣るものの, ほぼポット中に根が張っており, 異常とまでは言えなかった. 25 mg 区以降でも加里の施用量に従う根張り状態の差異は僅かであった.



(写真 14) 0 mg 区(左側), 黄化回復試験区(中央), 生育回復試験区(右側)の根張りの様子. 生育回復試験区では根張りの改善が認められたが, 施肥からの期間が短い黄化回復試験区では 0 mg 区との明確な差異はなかった. 根の生育不良は, カリウムだけでなく, 窒素等他の必須成分が欠乏してもみられることから, カリウム欠乏が原因か否かの判別は困難と考えられた.



(写真 15) 播種 20 日後の 10 mg 区の様子. 0 mg 区の半数程度及び 10 mg 区の一部で、新葉に相当する第 3 葉に三角状の形状異常がみられた。

(2) 過剰症状

過剰症状確認試験の結果を表 6、葉体のカリウム含有率(%(乾物当たり))を図 5 に示した。葉体のカリウム含有率は 3.34 %~10.28 % (加里含有率換算: 4.02 %~12.39 %) の範囲にあり、加里施用量の増加に従って高くなる傾向があった。作物はカリウムの吸収を調節する能力が弱く、土壌中にあればあるほど余計に吸収し、過剰症状は出にくい¹⁰⁾。多くの野菜で葉体の加里含有率(%(乾物当たり))が 2 %もあれば生育や収量への影響はないと考えられるが、多量施肥によって 10 %を超える事例もある¹²⁾。従って、今回の試験のカリウム含有率はカリウムによる過剰症状を発症する程の高値ではないと考えられた。

カリウムは土壌中では有機態としてほとんど存在しない¹³⁾。土壌中でのカリウムはその状態から①土壌溶液中カリウム、②交換性カリウム、③難交換性カリウム及び④鉱物中カリウムに分類される。このうち③難交換性カリウムは土壌溶液中あるいは交換性の部分が少なくなれば徐々に溶出してくるが、作物にとって可給性として評価できるのは①土壌溶液中+②交換性である¹⁴⁾。また、土壌と同様に肥料中のカリウムも有機態ではほとんど存在せず、肥料成分の水溶性加里は土壌溶液中カリウム、く溶性加里は交換性カリウムにほぼ対応すると考えられる。今回の試験では、加里施用量の増加に伴って塩類濃度障害と考えられる発芽率の低下や葉体の生育遅延・不良がみられた(図 6, 写真 16)。その他にも塩類に対する抵抗力が弱い発芽時から生育初期にかけて、子葉が枯れたり、種皮に包まれる等の塩類濃度障害がみられた(写真 17, 18)。カリウムが有機体として存在していない土壌中でカリウムが過剰に存在している状態とは、今回のように塩類濃度も高い状態であると言え、従ってカリウムの過剰症状が出る程に作物がカリウムを吸収するより先に塩類濃度障害が起こると考えられた。なお、塩類濃度障害は塩化加里の方が顕著であり、より低用量で発症したが、これは塩化物イオンの方が溶解度が高く、一時的に土壌溶液濃度を高めたためと考えられた¹²⁾。

カルシウムやマグネシウムは土壌への吸着親和性が大きいいため、カリウム濃度の上昇によって土壌溶液中濃度が低下してしまう。従って、土壌中にカリウムが過剰に存在すると、作物はカルシウムやマグネシウム欠乏症状を起こすことがある¹⁴⁾。カルシウムは作物体内でできるシュウ酸やペクチンと結合するので、古葉に沈積して新葉への移動が少ない¹⁰⁾。よって、カルシウム欠乏症状は通常新葉から発生するが、コマツナでは心葉の生育が阻害され、奇形化し、やがて枯死する⁹⁾。今回の試験ではそのような新葉部の症状は全くみられなかった。一方、マグネシウムはりん酸とともに、作物体内の生長の盛んな新芽や子実へ自由に移動する。よって、マグネシウム欠乏症状は通常古葉から発生し、生育初期にはみられない¹⁰⁾。コマツナでは下葉の葉脈間が淡緑~黄化する⁹⁾。今回の試験では、栽培期間後期に塩化加里 500 mg 及び 600 mg 区の一部に下葉の葉脈間脱色を伴って萎凋する時期があったが、ほどなく葉脈

も含めて枯死した(写真 19, 20). 葉体のマグネシウム含有率(%(乾物当たり))を図 7 に示した. 硫酸加里 100 mg~1200 mg 区及び塩化加里 100 mg 区では外見上の異常が認められなかったが, これらの試験区と比較して塩化加里 500 mg 及び 600 mg 区のマグネシウム含有率は高い傾向にあった. また, 欠乏症状確認試験での葉体のマグネシウム含有率は 0.18 %~0.26 %の範囲にあったが, 塩化加里 500 mg 及び 600 mg 区のそれは 0.25 %及び 0.26 %であり, 遜色はなかった. 従って, 塩化加里 500 mg 及び 600 mg 区でみられた下葉の葉脈間脱色はマグネシウム欠乏症状ではないと考えられた.

硫酸加里 1600 mg 区以降及び塩化加里 200 mg 区以降の施用量区では, 前述の下葉の脱色を伴う萎凋の他, ほぼ同じ時期に下葉の一部剥離や子葉の萎凋等もみられた(写真 21, 22). 予備試験として, 欠乏症状確認試験用の収奪済み黒ボク土に塩化加里を K_2O として 1 ポット当たり 100 mg 施用してコマツナを栽培したところ, 今回の試験と類似した症状がみられた(写真 23, 24). 一方, 硫酸加里を等量施用した試験区ではこのような症状がみられなかったため, 予備試験でみられた症状は塩化物イオンが原因と考えられた. また, コマツナを供試作物として硫酸アンモニアまたは塩化アンモニアを過剰に施用した窒素の生理障害確認試験では, ある時期に一斉に枯れかかり急激に黄色く変化しており, この原因について追試験の必要性を述べている¹⁵⁾. これらのことより, 今回の試験でみられた下葉や子葉の異常症状の原因として塩化物イオンまたは硫酸イオンの過剰吸収の可能性が高いと考えられた.

以上より, 今回の試験では, カリウムの過剰症状はもとより, 加里の過剰施用に起因するマグネシウム等他の必須成分の欠乏症状もなかったと考えられた. 通常の植害試験において, 加里質肥料の場合では施用量は最大でも K_2O として 1 ポット当たり 400 mg であるが, 複合肥料では窒素やりん酸より加里の成分が多いと, 多量に加里を施用する可能性がある. しかし, 供試土壌に多量の可給性カリウムが存在する場合も含めて, 注意すべきは高塩類濃度等他の要因による障害であり, カリウム過剰症状やマグネシウム欠乏症状に留意する必要はほとんどないと考えられた.

表6 試験結果(過剰症状確認試験)

試験区名	発芽率(%)			葉長(cm)		生体重 (g/pot)	乾物重 (g/pot)	葉体の無機元素含有率(%(乾物当たり))				異常症状	跡地土壌(土:H ₂ O=1.5)		
	6月30日	7月2日	7月4日	7月11日	7月18日			K	P	Mg	Ca		pH	EC(mS/m)	
硫酸加里	100 mg	100	100	100	8.5	12.1	41.45	3.80	3.34	0.34	0.21	1.49	無	5.20	35.2
	200 mg	100	100	100	8.8	12.1	41.60	3.89	4.71	0.35	0.21	1.40	無	5.16	38.5
	300 mg	100	100	100	9.1	12.7	42.71	3.86	5.73	0.34	0.20	1.41	無	5.15	46.8
	400 mg	100	100	100	8.8	12.2	42.32	3.81	6.38	0.35	0.19	1.30	無	5.16	52.4
	500 mg	100	100	100	9.1	12.7	43.51	3.86	6.56	0.36	0.20	1.27	無	5.14	60.5
	600 mg	100	100	100	9.1	12.5	42.87	3.72	6.78	0.35	0.20	1.29	無	5.15	67.9
	700 mg	100	100	100	9.1	12.4	40.52	3.80	5.98	0.38	0.19	1.23	無	5.17	76.2
	800 mg	100	100	100	8.6	12.5	42.06	3.74	6.87	0.37	0.18	1.20	無	5.16	86.6
	1200 mg	100	100	100	8.4	11.9	39.89	3.59	6.93	0.37	0.17	1.18	無	5.18	129.3
	1600 mg	100	100	100	8.0	12.2	38.13	3.26	7.41	0.40	0.16	1.07	有	5.22	162.4
2000 mg	90	100	100	6.7	12.3	35.18	2.80	8.54	0.43	0.16	0.99	有	5.25	200	
2400 mg	20	75	75	6.4	12.4	28.13	2.04	9.81	0.49	0.15	0.79	有	5.28	227	
2800 mg	5	20	60	5.1	12.0	18.92	1.27	10.28	0.50	0.16	0.82	有	5.40	279	
塩化加里	100 mg	100	100	100	9.4	12.1	45.33	3.79	3.40	0.32	0.26	1.73	無	5.21	30.8
	200 mg	95	100	100	8.7	12.4	47.55	3.84	4.71	0.33	0.23	1.72	有	5.20	34.3
	300 mg	100	100	100	9.1	13.3	50.30	3.79	5.94	0.34	0.24	1.72	有	5.20	39.4
	400 mg	95	95	95	8.3	13.0	48.50	3.57	6.73	0.32	0.24	1.77	有	5.21	48.0
	500 mg	55	85	90	8.3	13.9	42.86	2.87	7.76	0.35	0.25	1.95	有	5.21	62.1
	600 mg	35	60	65	7.6	14.4	40.30	2.52	8.82	0.38	0.26	1.98	有	5.25	71.3
	700 mg	15	55	65	6.3	14.8	38.35	2.12	9.51	0.38	0.27	2.03	有	5.26	89.0
	800 mg	5	15	35	6.2	12.3	25.62	1.36	8.68	0.41	0.27	2.95	有	5.32	119.2

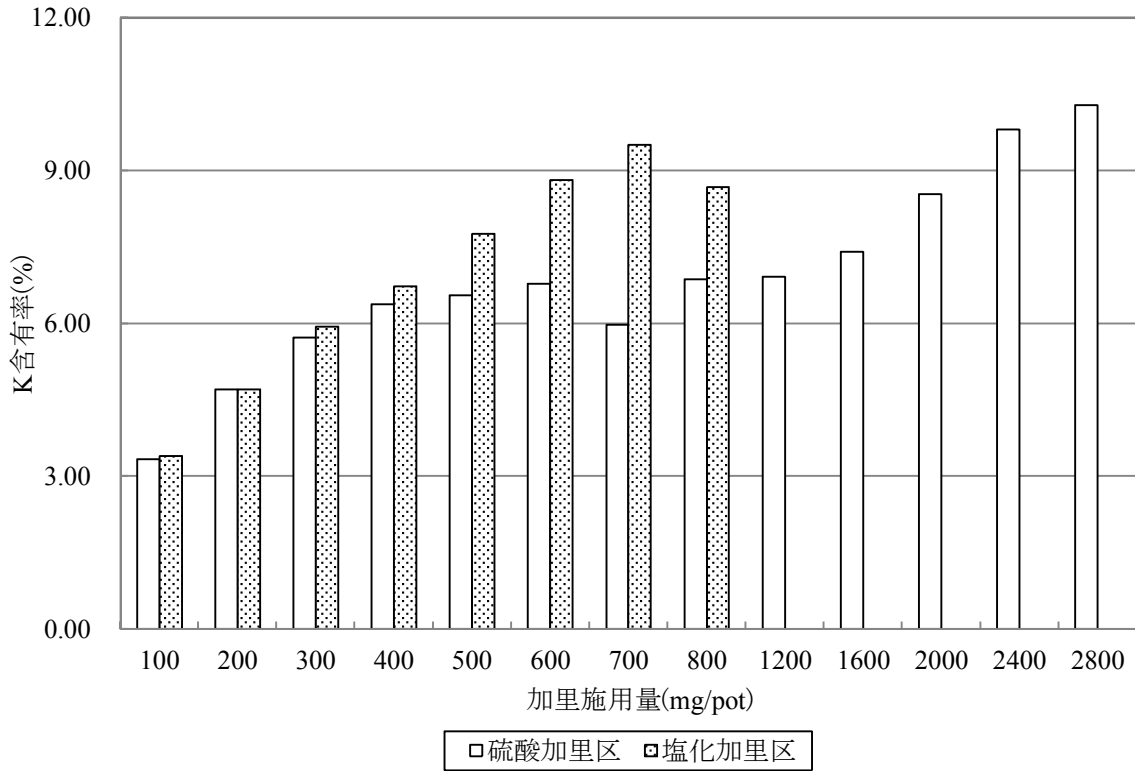


図5 葉体のカリウム含有率(%(乾物当たり))

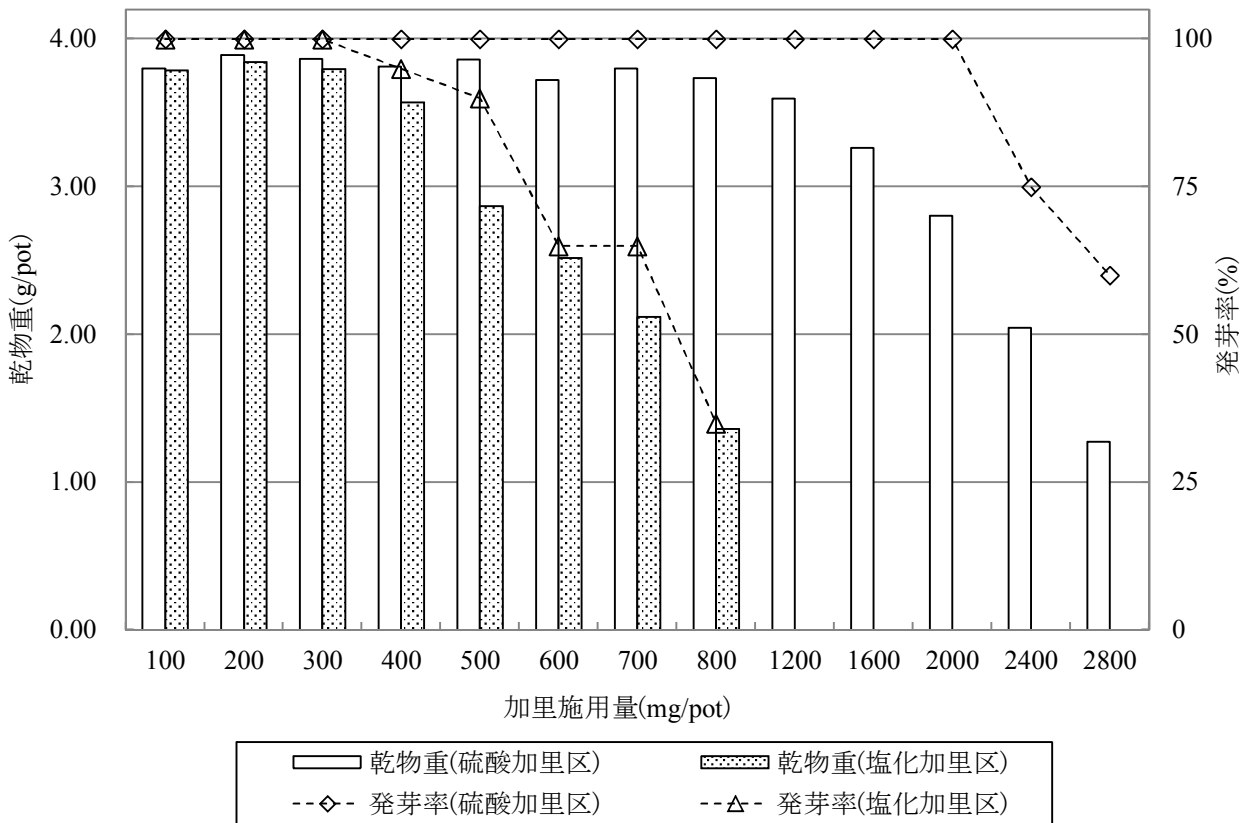


図6 葉体の乾物重及び発芽率(播種7日後)

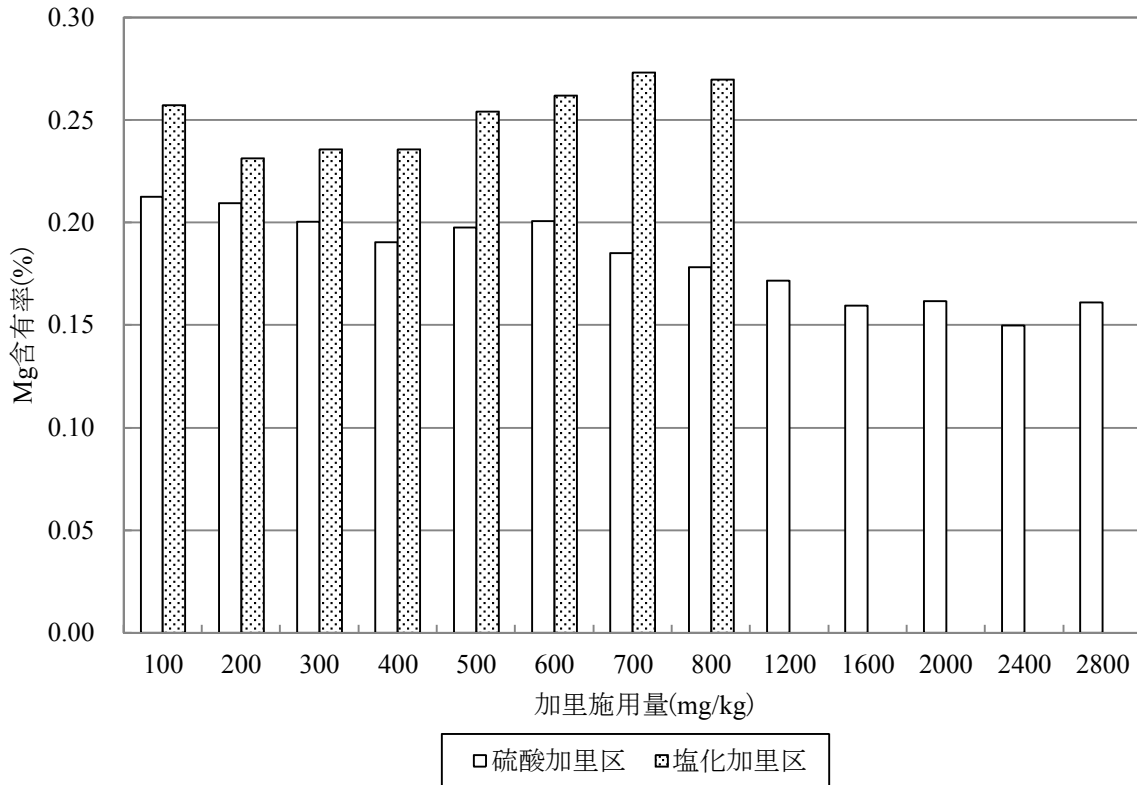


図7 葉体のマグネシウム含有率(%(乾物当たり))



(写真 16) 播種 14 日後の様子. 上段:塩化加里 100 mg~800 mg 区, 中段:硫酸加里 100 mg~800 mg 区, 下段:硫酸加里 1200 mg~2800 mg 区. 加里の施用量が増えるに従って生育状況が悪化しているが, 塩化加里区の方が顕著だった. 発芽率も同様の傾向がみられ, 多量施肥による塩類濃度障害と考えられた.



(写真 17) 播種 7 日後の硫酸加里 2800 mg 区の様子. 塩類濃度障害による子葉の枯れは, 写真のように 2 葉間で症状の度合いに差異がある場合が多かった. 塩類濃度障害は発芽時から生育初期にかけて発症しやすい. この時期は, まだ塩類に対する抵抗力が弱いためと考えられる.



(写真 18) 播種 7 日後の塩化加里 700 mg 区の様子。種皮に包まれて子葉が展開せず、胚軸を伸ばしている状態。この他に、種皮が外れても胚軸が土壌に埋没したままで子葉展開しなかったり、子葉が外側に反るなどの塩類濃度障害がみられた。



(写真 19) 播種 18 日後の塩化加里 500 mg 区の様子。下葉の葉脈間が脱色して、萎凋した状態。この他、全体的に淡緑色を帯びていたり、葉脈も含めて萎凋する下葉もみられた。



(写真 20) 播種 20 日後の塩化加里 500 mg 区の様子。ほどなく葉脈も含めて枯死した。



(写真 21) 播種 21 日後の塩化加里 200 mg 区の様子。下葉の一部剥離は、硫酸加里 1600 mg 区以降及び塩化加里 200 mg 区以降の施用量区で栽培期間後期から急に目立ち始めた。



(写真 22) 播種 19 日後の硫酸加里 2400 mg 区の様子。下葉の異常とはほぼ同時期の栽培期間後期に急に子葉も萎凋し、間もなく枯死した。塩類濃度障害による子葉の枯れとは発症時期や様相が異なっていた。



(写真 23) 欠乏症状確認試験用の収奪済み黒ボク土を用いた予備試験での播種 15 日後の塩化加里 100 mg 区の様子。子葉の萎凋及び枯死は、写真 22 のそれと同じく、急に発症した。硫酸加里を等量施用した場合異常はなかったことから、塩化物イオンが原因と考えられた。K₂O として 1 ポット当たり 100 mg という標準的な施用量で発症したのは、収奪によって塩類間のバランスが崩れたためと推量された。



(写真 24) 上記と同じ予備試験にて、塩化加里を K₂O として 1 ポット当たり 100 mg 施用に加えて硫酸苦土を MgO として 170 mg 施用した試験区の播種 15 日後の様子。過剰症状確認試験と同様の下葉の脱色を伴う萎凋がみられた。硫酸苦土を施用しているため、マグネシウム欠乏症状ではないと考えられた。

4. まとめ

植害試験で発生した症状を正確に判定するための基礎資料作成を目的として、コマツナを用い、カリウムの欠乏症状及び過剰症状確認試験を実施した。欠乏症状確認試験では、供試土壌として収奪履歴のある黒ボク土(交換性加里 6 mg/100 g 乾土)を用い、硫酸加里を K₂O として 1 ポット当たり 0 mg～100 mg まで段階的に施用して、21 日間栽培した。その結果、低施用量区において(1)下葉の葉縁部黄化及び葉脈間脱色、(2)子葉が外側に巻く症状、(3)葉体の生育不良、(4)根の伸長不良、(5)第 3 葉が三角状になる症状の 5 症状を確認した。下葉の黄化または葉体の生育不良の症状がみられた後の 0 mg 区に硫酸加里溶液を土壤施用したところ、黄化の進行停止や生育状況の改善が認められた。また、0 mg 及び 10 mg 区で下葉の黄化がみられた収穫物についてテトラフェニルホウ酸ナトリウム溶液によるカリウムの簡易検出試験を行ったところ、テトラフェニルホウ酸カリウ

ムによる白濁がみられなかった。よって、カリウム欠乏が疑われる下葉の黄化や生育不良の確認方法として、硫酸加里溶液の土壌施肥及びカリウムの簡易検出試験の有効性が実証できた。

過剰症状確認試験では、収奪履歴のない黒ボク土(交換性加里 39 mg/100 g 乾土)を用い、硫酸加里を K_2O として 1 ポット当たり 100 mg~2800 mg まで、または塩化加里を K_2O として 1 ポット当たり 100 mg~800 mg まで段階的に施用して、21 日間栽培した。その結果、施用量の増加に伴って塩類濃度障害と考えられる発芽率の低下や葉体の生育遅延・不良等がみられた。また、栽培期間後期には、塩化物イオンまたは硫酸イオンの過剰吸収によると考えられる下葉の萎凋や一部剥離等がみられた。しかし、カリウムの過剰症状、または加里の過剰施用に起因するマグネシウム等他の必須成分の欠乏症状は発症しなかったと考えられた。

文 献

- 1) 農林水産省農蚕園芸局長通知:肥料取締法の一部改正に伴う今後の肥料取締りについて、別添 1、植物に対する害に関する栽培試験、昭和 59 年 4 月 18 日、59 農蚕第 1943 号 (1984)
- 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、昭和 61 年 2 月 22 日、農林水産省告示第 284 号、最終改正平成 28 年 1 月 8 日、農林水産省告示第 41 号 (2016)
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenhoh_2015.pdf>
- 4) 越野正義:第二改訂 詳解肥料分析法, p.311~315, 養賢堂, 東京 (1988)
- 5) 鎌田春海:土壌標準分析・測定法, p.155~160, 博友社, 東京 (1986)
- 6) 渡辺和彦:わかりやすい園芸作物の栄養診断の手引き, p.56~65, 誠文堂新光社, 東京 (2010)
- 7) 渡辺和彦:環境・資源・健康を考えた土と施肥の新知识, p.187~190, 全国肥料商連合会, 東京 (2012)
- 8) 渡辺和彦:土壌診断生育診断大事典, p.879~887, 農山漁村文化協会, 東京 (2009)
- 9) 清水武:原色 要素障害診断事典, p.148, p.189~190, 農山漁村文化協会, 東京 (1990)
- 10) 高橋英一, 吉野実, 前田正男:新版 原色 作物の要素欠乏・過剰症, p.98~132, p.220~244, 農山漁村文化協会, 東京 (1980)
- 11) 藤田卓:コマツナの生理障害—りん酸—, 肥料研究報告, **6**, 117~129 (2013)
- 12) 堀裕:最新園芸技術 5 野菜の栄養生理と施肥技術, p.168~172, 誠文堂新光社, 東京 (1968)
- 13) 山根一郎:改訂版 土壌学の基礎と応用, p.117~121, 農山漁村文化協会, 東京 (1982)
- 14) 亀和田國彦:土壌診断生育診断大事典, p.179~180, 農山漁村文化協会, 東京 (2009)
- 15) 阿部文浩, 恵智正宏:コマツナの生理障害—窒素—, 肥料研究報告, **5**, 147~155 (2012)

Physiological disorder of Komatsuna - Potassium -

Taku FUJITA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

This study was intended to accurately judge the symptoms that occur in the vegetation test on the harm against plants. The physiological disorder confirmation test, in which it was occurred the potassium deficiency or excessive symptoms about Komatsuna (*Brassica rapa var. perviridis*) intentionally, was undertaken. The application amount of potassium fertilizer or the amount of exchangeable potassium in soil was managed as a means. As the potassium deficiency symptoms, it was observed (1) the border part of lower leaves turned yellow and the decoloration between veins of lower leaves, (2) the cotyledons wound on the outside, (3) the poor growth of leaves, (4) the extension failure of root, (5) the third leaf became triangular. The methods were investigated to confirm whether the yellowing of lower leaves and the poor growth of leaves were due to potassium deficiency. As a result, the application of potassium sulfate solution to the soil and the simple potassium detection test by sodium tetraphenylborate solution were effective. In the potassium excessive symptoms confirmation examination, it was observed the decrease of germination rate, the slow and poor growth of leaves, etc. These were regarded as the high salts obstacle with increasing application amount. On the other hand, in the later stage of cultivation, it was observed the wilting and the partial peeling of lower leaves, etc. These were guessed to be due to the excessive absorption of chloride or sulfate ion. However, it was considered the potassium excessive symptoms did not occur. In addition, it was not observed the deficiency symptoms of the other essential ingredients such as magnesium caused by the excessive application of potassium.

Key words vegetation test on the harm against plants, komatsuna, potassium, deficiency symptoms,
 yellowing of lower leaves

(Research Report of Fertilizer, **8**, 182~200, 2015)

15 化学反応による定性試験

-尿素及びアンモニア性窒素-

五十嵐総一¹, 八木啓二¹, 添田英雄¹, 豊留夏紀², 有隅孝子¹, 石崎和宏¹

キーワード 定性試験法, 肥料

1. はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) では肥料の成分含有量等は肥料分析法¹⁾及び肥料等試験法²⁾により分析を実施しているが, 肥料の鑑定は実用肥料鑑定法³⁾等により実施している。

しかしながら, 実用肥料鑑定法³⁾等に記載された鑑定試験法は試験操作を中心に述べられているものが多く, 肥料の現物写真及び顕微鏡写真の記載が少ないため, FAMIC で収去した肥料の鑑定に多くの時間を要している。また, 記載されている試験操作は分析機器の測定と異なり, 経験及び知識による判定となり, 特殊な技術が必要である。

このことから, 筆者らは肥料検査職員必携下巻⁴⁾等に記載された鑑定試験法のうち, 主成分等の水溶性成分であるアンモニア性窒素 (A-N) 及び尿素性窒素 (U-N) の定性試験法の簡便化を検討し, 検出下限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) 供試試料

流通するなたね油かす及びその粉末, 魚かす粉末, 過りん酸石灰, 塩化加里及び FAMIC で配布している肥料認証標準物質 FAMIC-A-13 (高度化成肥料) を使用した。分析試料は直射日光を避けて常温で保管した。

2) 試薬の調製

(1) 水酸化ナトリウム溶液 (50 g/L): JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム 50 g を水に溶かし, 更に水を加えて 1000 mL とした。

(2) ネスラー試薬: 等級が上水試験用の試液を使用した。

(3) *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド液: JIS K 7253 に規定する *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド 2 g を JIS K 8101 に規定するエタノール (95) 100 mL に溶かし, 更に JIS K 8180 に規定する塩酸 100 mL を加えた。なお, 着色瓶に貯蔵した。

(4) 硫酸アンモニウム: JIS K 8960 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

(5) 尿素: JIS K 8731 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

(6) 調製化成肥料: アンモニア性窒素及び尿素性窒素が含有しない化成肥料を想定し, 過りん酸石灰及び塩化加里を 50 g ずつ配合及び混合した試料を調製した (以下, 「調製化成肥料」という。)。

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福岡センター (現) 農薬検査部

3) 試験方法

(1) 抽出

分析試料 0.5 g~5 g をはかりとり、共栓三角フラスコ又は共栓試験管に入れた。約 10 倍量の水を加え、約 1 分間振り混ぜ、少時静置した。

上澄み液を試料溶液とした。

上澄み液の濁り等で定性反応に影響を及ぼすおそれがある場合は、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。

(2) アンモニア性窒素の定性反応 (図 1)(写真 1)

試料溶液約 2 mL を試験管 (A) に入れ、水酸化ナトリウム溶液 (50 g/L) 約 2 mL 及びネスラー試薬 2 滴を順次加え、その都度振り混ぜた。

試料空試験として、試料溶液約 2 mL を試験管 (B) に入れ、水酸化ナトリウム溶液 (50 g/L) 約 2 mL を加え、振り混ぜた。

試薬空試験として、水約 2 mL を試験管 (C) に入れ、水酸化ナトリウム溶液 (50 g/L) 約 2 mL 及びネスラー試薬 2 滴を順次加え、その都度振り混ぜた。

試験管 (A) の溶液が黄色又は赤褐色に変化することにより、アンモニア性窒素の含有を確認し、赤褐色の沈殿が生じることによって、多量のアンモニア性窒素の含有を確認した。

なお、必要に応じて、試料空試験の試験管 (B) 及び試薬空試験の試験管 (C) の溶液を対照として試験管 (A) の溶液の定性反応の状態を比較した。

(3) 尿素性窒素の定性反応 (図 2)(写真 2)

試料溶液約 2 mL を試験管 (A) に入れ、*p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド液約 2 mL を加え、振り混ぜた。

試料空試験として、試料溶液約 2 mL を試験管 (B) に入れ、水約 2 mL を加え、振り混ぜた。

試薬空試験として、水約 2 mL を試験管 (C) に入れ、*p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド液約 2 mL を加え、振り混ぜた。

試験管 (A) の溶液の色が緑黄色に変化することにより、尿素性窒素の含有を確認した。

なお、必要に応じて、試料空試験の試験管 (B) 及び試薬空試験の試験管 (C) の溶液を対照として、試験管 (A) の溶液の定性反応の状態を比較した。

3. 結果及び考察

1) 定性反応の様子

アンモニア性窒素 9.5 % (質量分率) 及び尿素性窒素 4.6 % (質量分率) を含む肥料認証標準物質 FAMIC-A-13 (高度化成肥料) について、本法によりアンモニア性窒素及び尿素性窒素の定性反応の様子を写真 1 及び写真 2 に示した。

写真 1 の試験管 (A) の溶液は赤褐色に変化し、赤褐色の沈殿が生じていた。また、試料空試験である試験管 (B) の溶液は無色であり、試薬空試験である試験管 (C) の溶液は試薬由来の赤みが若干見られたが、ほぼ無色であった。これらの明確な定性反応により、肥料認証標準物質 FAMIC-A-13 (高度化成肥料) 中のアンモニア性窒素の定性反応陽性を確認することができた。

写真 2 の試験管 (A) の溶液は緑黄色に変化した。また、試料空試験である試験管 (B) の溶液及び、試薬空

試験である試験管 (C) の溶液は無色であった。これらの明確な定性反応により、肥料認証標準物質 FAMIC-A-13 (高度化成肥料) 中の尿素性窒素の定性反応陽性を確認することができた。

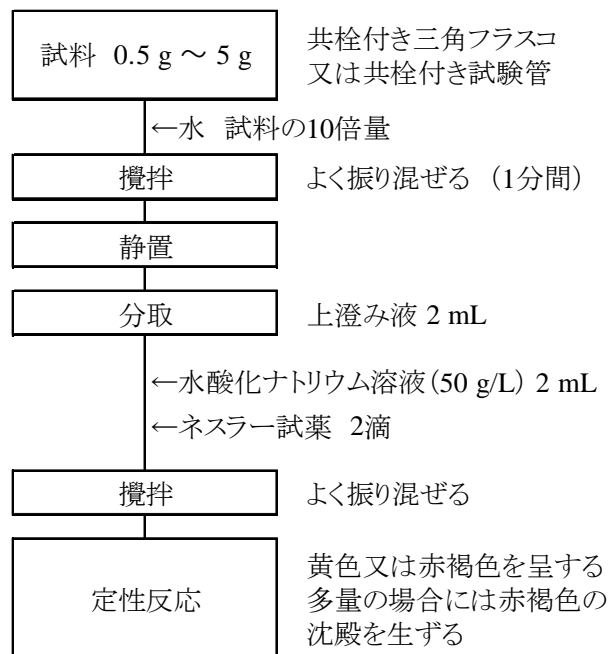


図1 肥料中のアンモニア性窒素の
定性試験法フローシート

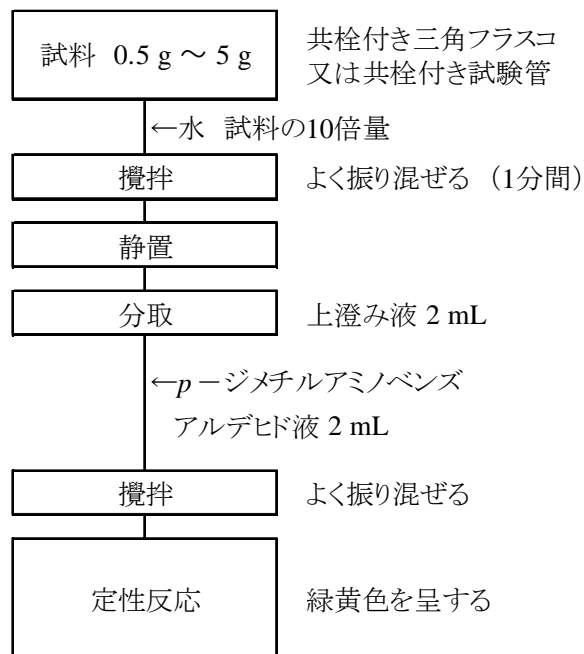


図2 肥料中の尿素性窒素の
定性試験法フローシート

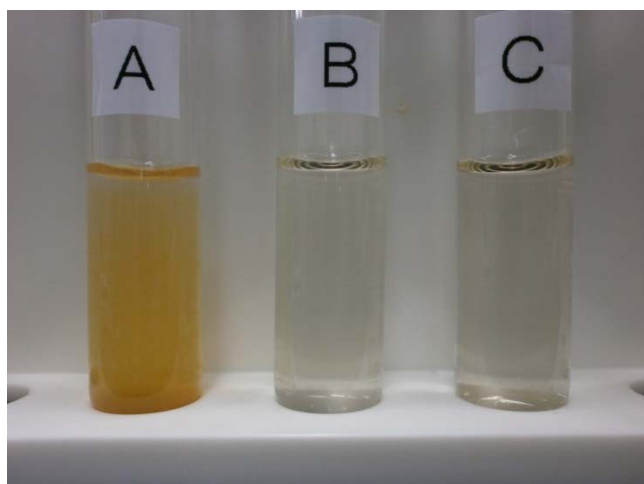


写真1 アンモニア性窒素の定性反応

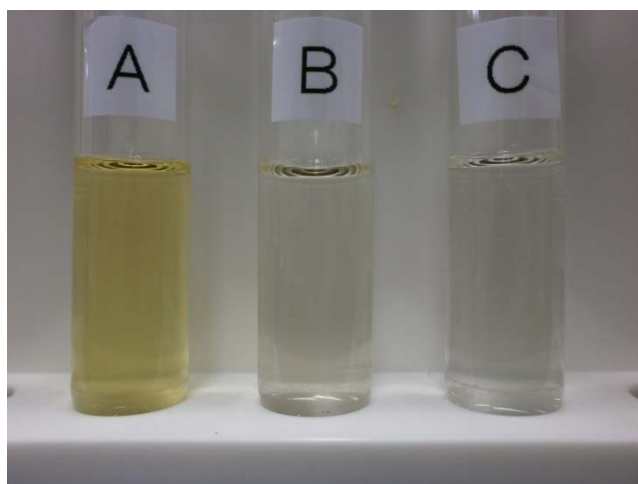


写真2 尿素性窒素の定性反応

2) 検出下限の確認

検出下限の確認試験を実施するため、なたね油かす及びその粉末、魚かす粉末及び 2.2) (6) 調製化成肥料にアンモニア性窒素及び尿素性窒素としてそれぞれ 0.1 % (質量分率) ~ 2 % (質量分率) を含有するように硫酸アンモニウム及び尿素を加えた。次に、2.3) (1) 抽出に従って抽出及びろ過をしてそれぞれの抽出液を調製した。各試料溶液について 2.3) (2) アンモニア性窒素の定性反応及び 2.3) (3) 尿素性窒素の定性反応の操作

を実施した結果を表 1 に示した.

アンモニア性窒素は、なたね油かす及びその粉末中で 0.1 % (質量分率), 魚かす粉末中で 2 % (質量分率), 2.2) (6) 調製化成肥料で 0.1 % (質量分率)まで確認できた. この結果から, 本試験法のアンモニア性窒素の検出下限はなたね油かす及びその粉末中で 0.1 % (質量分率), 魚かす粉末中で 2 % (質量分率), 化成肥料中で 0.1 % (質量分率)程度と推定された.

また, 尿素性窒素はなたね油かす及びその粉末中で 2 % (質量分率), 魚かす粉末中で 2 % (質量分率), 2.2) (6) 調製化成肥料で 0.1 % (質量分率)まで確認できた. この結果から, 本試験法の尿素性窒素の検出下限はなたね油かす及びその粉末中で 2 % (質量分率), 魚かす粉末中で 2 % (質量分率), 化成肥料中で 0.1 % (質量分率)程度と推定された.

なお, なたね油かす及びその粉末や魚かす粉末の動植物質由来の肥料は, 抽出液が黄色を呈すこと, 及び発色試薬等の試薬添加による濁りが発生したことから定性反応有無の判断が困難となる場合があった(写真 3 及び 4). 写真 3(3)は, 抽出液が黄色を呈しており, 写真 4(2)はネスラー試薬添加による濁りの様子である. 写真 4(1)では, ネスラー試薬添加による濁りを上回るようにアンモニア性窒素の定性反応が確認できた.

表1 アンモニア性窒素及び尿素性窒素の検出下限結果

試料の種類	含有量 ^{a)} (%) ^{b)}	アンモニア性 窒素	尿素性窒素
なたね油かす及びその粉末	2	+ ^{c)}	+ ^{d)}
	1	+	-
	0.5	+	-
	0.2	+	-
	0.1	+	-
	0	- ^{e)}	-
魚かす粉末	2	+	+ ⁻
	1	-	-
	0.5	-	-
	0.2	-	-
	0.1	-	-
	0	-	-
調製化成肥料 (過りん酸石灰+塩化加里)	2	+	+
	1	+	+
	0.5	+	+
	0.2	+	+
	0.1	+	+ ⁻
	0	-	-

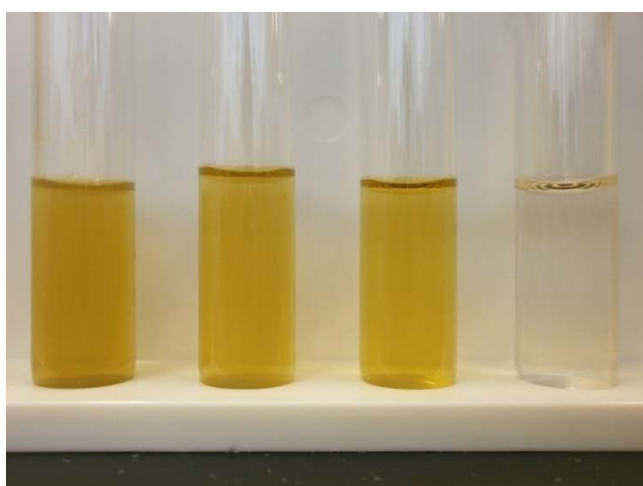
a) アンモニア性窒素又は尿素性窒素の添加濃度

b) 質量分率

c) 定性反応陽性

d) 定性反応陽性(微弱)

e) 定性反応陰性

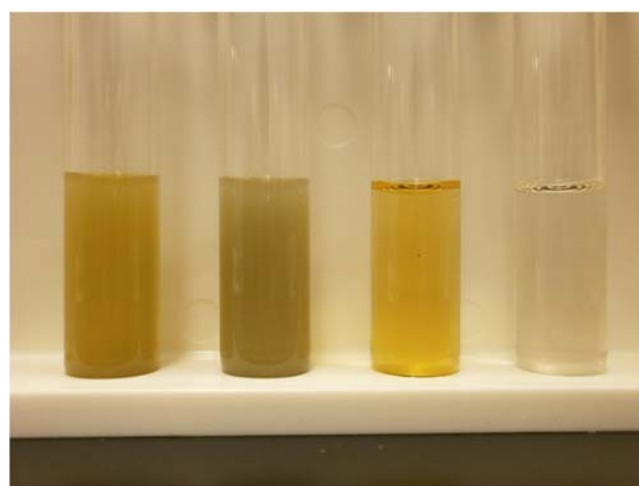


(1) (2) (3) (4)

写真3 なたね油かす及びその粉末の

アンモニア性窒素(A-N)定性試験

- (1) A-N 0.1% (質量分率) 添加区発色試薬添加後
- (2) A-N 0% (質量分率) 区発色試薬添加後
- (3) 試料空試験
- (4) 試薬空試験



(1) (2) (3) (4)

写真4 魚かす粉末の

アンモニア性窒素(A-N)定性試験

- (1) A-N 2% (質量分率) 添加区発色試薬添加後
- (2) A-N 0% (質量分率) 区発色試薬添加後
- (3) 試料空試験
- (4) 試薬空試験

4. まとめ

肥料中のアンモニア性窒素及び尿素性窒素の定性試験法について、肥料検査職員必携下巻等に収載された鑑定試験法の簡便化を検討したところ、次のとおりの成績を得た。

- (1) アンモニア性窒素 9.5% (質量分率) 及び尿素性窒素 4.6% (質量分率) を含む肥料認証標準物質 FAMIC-A-13 (高度化成肥料) のアンモニア性窒素及び尿素性窒素の定性反応陽性を確認できた。
- (2) なたね油かす及びその粉末、魚かす粉末及び調製化成肥料を用いて検出下限の確認の試験を実施したところ、アンモニア性窒素及び尿素性窒素の検出下限は 0.1% (質量分率) ~ 2% (質量分率) 程度と推定された。
- (3) なたね油かす及びその粉末や魚かす粉末は抽出液が黄色を呈すこと、及び発色試薬等の試薬添加による濁りが発生したことから定性反応有無の判断が困難となる場合があった。

文 献

- 1) 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)
- 2) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>
- 3) 農林省神戸肥料検査所:実用肥料鑑定法(1962)
- 4) 農林省農蚕園芸局肥料機械課:肥料検査職員必携下巻, p.2, 東京(1978)

The Qualitative Test by Means of Chemical Reaction - Urea Nitrogen and Ammonium Nitrogen -

Souichi IGARASHI¹, Keiji YAGI¹, Hideo SOETA¹, Natsuki TOYODOME²,
Takako ARISUMI¹ and Kazuhiro ISHIZAKI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

(Now) Agricultural chemicals inspection station

We investigated the qualitative test by means of chemical reaction about urea nitrogen (U-N) and ammonium-nitrogen (A-N) using fertilizers. It is important to simplify the previous fertilizers appraisal method due to fertilizers appraisal method needs empirical techniques frequently. Therefore, we had developed the simple method which was excluded the progress of boiling and filtration from the previous fertilizers appraisal method. As a result, the simple fertilizers appraisal method could detect urea nitrogen (U-N) and ammonia nitrogen (A-N) in a certified reference material (CRM): high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-13), which contains urea nitrogen (U-N) 4.6 % as a mass fraction and ammonium nitrogen (A-N) 9.5 % as a mass fraction. And we investigated the limit of quantitative value (*LOQ*) of urea nitrogen (U-N) and ammonium nitrogen (A-N). We used 3 fertilizer samples which were rapeseed oil cake, fish meal and compound fertilizer (mixing calcium superphosphate and potassium chloride). As a result, the limit of quantitative value (*LOQ*) of urea nitrogen (U-N) and ammonium nitrogen (A-N) was estimated at 0.1 % ~ 2.0 % as a mass fraction. It had seemed that the observing should be careful because of there were some difficult cases to observe due to the yellow aqueous solution from the organic matter of the sample such as rapeseed meal and fish meal.

Key words qualitative test, fertilizer

(Research Report of Fertilizer, **8**, 201~206, 2015)

肥料研究報告編集委員

委員長 池田 一樹

副委員長 田村 道宏

會田 紀雄

白井 裕治

秋元 里乃

野崎 友春

阿部 進

原 秀樹

阿部 文浩

水野 和俊

八木 寿治

肥料研究報告 第8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 050-3797-1856

FAX 048-601-1179

<http://www.famic.go.jp/>

平成27年12月

編集 肥料研究報告編集委員会

リサイクル適性 

この印刷物は、印刷用の紙へ
リサイクルできます。