

6 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のりん酸の測定

— 共同試験成績 —

山西正将¹, 廣井利明¹, 高津文香¹

キーワード 亜りん酸, 固形肥料, く溶性りん酸, 水溶性りん酸, 吸光光度分析法, 共同試験

1. はじめに

亜りん酸(塩)を含む肥料は多くが液状であり, 葉面散布用の肥料として流通しているが, 近年, 亜りん酸(塩)を含む固形肥料においても, く溶性及び水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. 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のく溶性及び水溶性りん酸の試験法は阿部ら^{1, 2)}によって検討され, 真度, 併行精度, 定量下限等の検討を行った結果, 単一試験室内における試験方法の妥当性が確認された. しかしながら, 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のく溶性りん酸の試験法²⁾において, 試料溶液中のくえん酸の分解及び亜りん酸の酸化を目的として加熱分解時に加える硫酸を原因とした正の系統誤差が一部の肥料で確認されたため, 阿部らが検討した方法²⁾を改良し, 改めて真度, 併行精度, 定量下限等の検討を行った結果, 単一試験室内における試験方法の妥当性が確認された(前報).

今回, 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中の水溶性りん酸試験法(2014年度検討)¹⁾及びく溶性りん酸試験法(2015年度検討)について共同試験を実施し試験室間の再現精度を調査したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料の調製

(1) く溶性りん酸試験法用試料

亜りん酸塩由来のく溶性りん酸を含む加工りん酸肥料 1 点, 化成肥料 1 点, 吸着複合肥料 1 点, 試薬(亜りん酸カルシウム一水和物) 1 点を目開き 500 μm の網ふるいを通過するまで粉碎後, 混合した. く溶性りん酸を含まない化成肥料 1 点を同様に粉碎, 混合後, 粉碎混合済みの試薬(亜りん酸カルシウム一水和物)と重量割合 9:1 (く溶性りん酸として約 5%相当量含む)で混合した.

共同試験用試料として上記 5 種類の試料各約 1.8 g をポリエチレン袋に入れ, 1 対のブラインド試料を提供するため, 袋にランダムに番号を付し, 10 点を各試験室に配布した.

(2) 水溶性りん酸試験法用試料

亜りん酸塩由来の水溶性りん酸を含む化成肥料 3 点, 吸着複合肥料 1 点, 配合肥料 1 点を 500 μm の網ふるいを通過するまで粉碎し, 混合した.

共同試験用試料として上記 5 種類の試料各約 6 g をポリエチレン袋に入れ, 1 対のブラインド試料を提供するため, 袋にランダムに番号を付し, 10 点を各試験室に配布した.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

2) 装置及び器具

各試験室に設置している上下転倒式(恒温)回転振り混ぜ機及び分光光度計を使用した。

3) 試験方法

(1) 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のく溶性りん酸の測定

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、放冷後標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過して試料溶液とした。

試料溶液 2.5 mL をトールビーカー 100 mL に入れ、硝酸 1 mL 及び塩酸 3 mL を加え混合した後、時計皿で覆い、200 °C ~ 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。放冷後、全量フラスコ 100 mL に水で移し、くえん酸溶液が 17 mL 相当量になるよう同溶液を加え、硝酸(1+1) 2 mL を加えた。

発色試薬溶液(b 試薬) 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(Scheme 1)、試料溶液中のりん酸量を求め、分析試料中のく溶性りん酸を算出した。

(2) 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中の水溶性りん酸の測定

分析試料 5 g を(1 mg の桁まで)はかりとり、全量フラスコ 500 mL に入れ水約 400 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 10 mL をトールビーカー 100 mL ~ 200 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 200 °C ~ 250 °C のホットプレートで加熱した。液量が約 2 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、適量の水を入れた後、発色試薬溶液(a 試薬) 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(Scheme 2)、試料溶液中のりん酸量を求め、分析試料中の水溶性りん酸を算出した。

4) 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、各系列の共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行でランダムな順序で 3) に従って分析した。

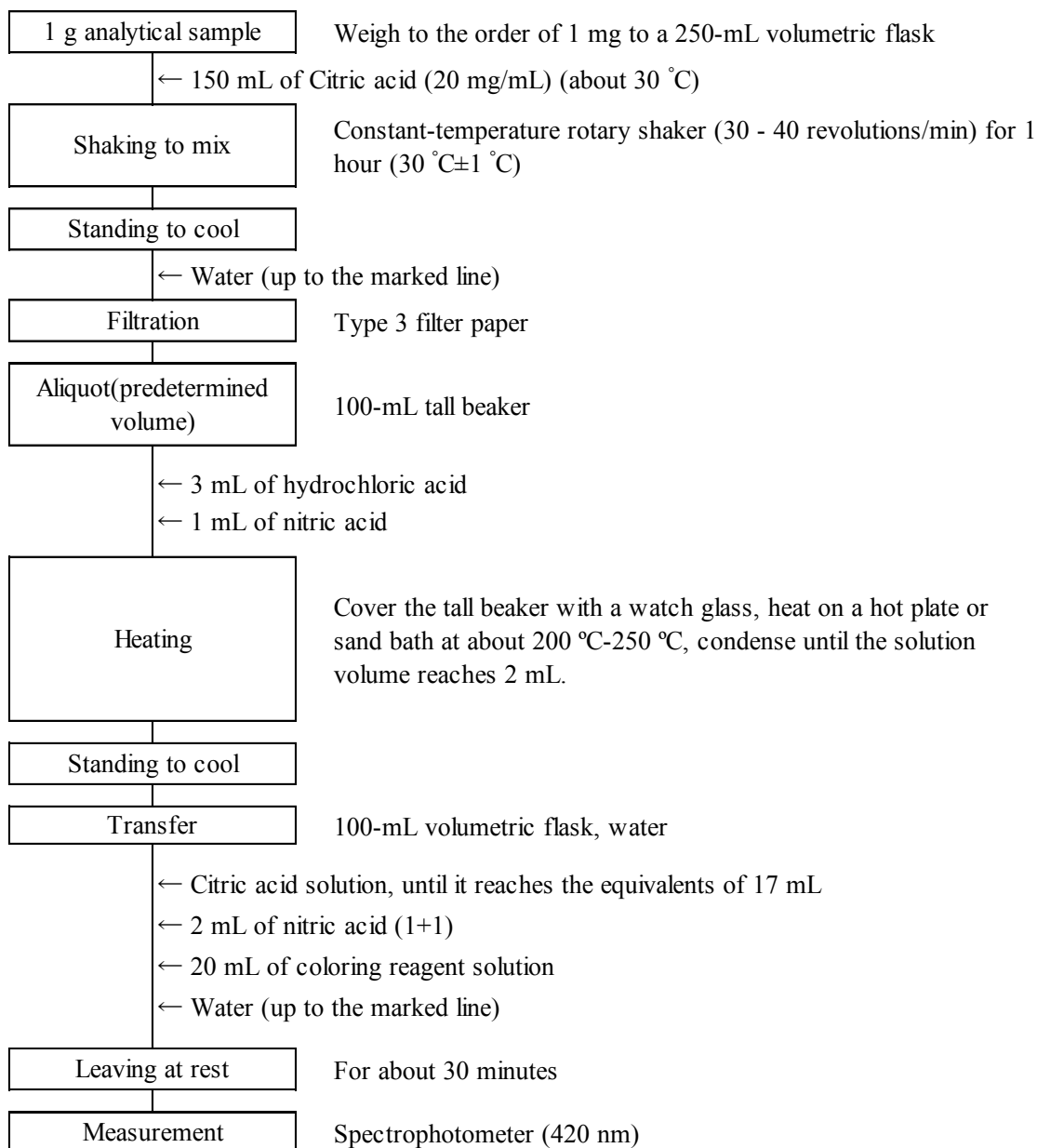
5) 共同試験

試験に参加した 12 試験室と使用した分光光度計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 20 試料について 3) に従って分析した。

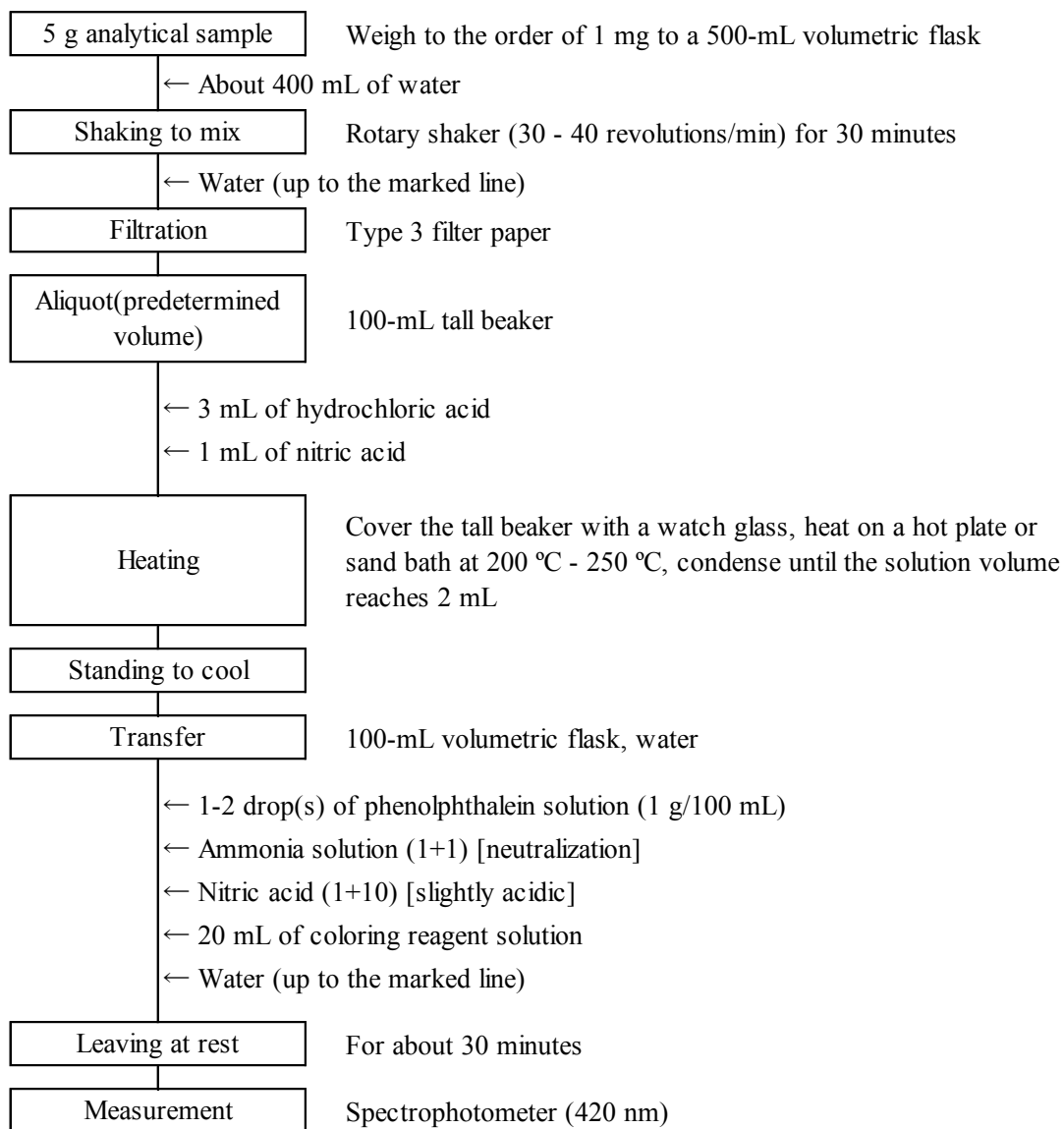
- ・ 片倉コープアグリ株式会社(日立ハイテクノロジーズ U-5100)
- ・ 日東エフシー株式会社 名古屋工場(島津製作所 UVmini-1240)
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会 本部(島津製作所 UV-1800)
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会 関西支部(島津製作所 UV-1700)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター(島津製作所 UV-1800)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター(島津製作所 UV-1800)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター(島津製作所 UV-1800)

- ・ 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(島津製作所 UVmini -1240)
- ・ 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(島津製作所 UVmini -1240)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部(島津製作所 UV-1800)
- ・ パリノ・サーヴェイ株式会社 研究所(島津製作所 UV-1800)
- ・ OAT アグリオ株式会社(島津製作所 UV-1800)

(50 音順)



Scheme 1 The flow sheet for citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅) in solid fertilizers containing phosphonic acid, etc.



Scheme 2 The flow sheet for water-soluble phosphorous (W-P₂O₅) in solid fertilizers containing phosphonic acid, etc.

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

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 Table 1-1 及び 1-2 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試料及び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³⁾. また, 併行相対標準偏差(RSD_r)は 0.2 % ~ 1.0 % であった. このことから, すべての共同試験用試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した.

Table 1-1 Homogeneity test results of citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)

Sample	No. of 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)} (%)	F Value ^{i)j)}
Processed phosphate fertilizer	10 (0)	45.54	0.17	0.4	0.05	0.18	0.4	1.17
Compound fertilizer 1	10 (0)	17.54	0.06	0.3	0.04	0.07	0.4	1.91
Compound fertilizer 2	10 (0)	5.20	0.05	0.9	0.03	0.06	1.1	1.55
Absorption mixed fertilizer	10 (0)	14.11	0.07	0.5	0.07	0.10	0.7	2.82
Calassium phosphonate (CaHPO ₃)	10 (0)	50.80	0.11	0.2	0	0.11	0.2	0.29

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

b) Grand mean value ($n = 20 = 10 \times$ The number of times of a repetition (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) F value calculated based on analysis of variance (ANOVA)

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

Table 1-2 Homogeneity test results of water-soluble phosphorus (W-P₂O₅)

Sample	No. of 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)} (%)	F Value ^{i)j)}
Compound fertilizer 1	10 (0)	59.03	0.11	0.2	0.04	0.12	0.2	1.50
Compound fertilizer 2	10 (0)	3.85	0.04	1.0	0	0.04	1.0	0.31
Compound fertilizer 3	10 (0)	12.89	0.13	1.0	0.08	0.15	1.1	1.77
Absorption mixed fertilizer	10 (0)	7.24	0.03	0.5	0.01	0.03	0.5	1.05
Mixed fertilizer	10 (0)	22.13	0.11	0.5	0	0.11	0.5	0.51

a) ~ j) Refer to the footnote of Table 1-1

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 2-1 及び 2-2 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^{4, 5)}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, 12 試験室の試験成績のうち, く溶性りん酸については 3 種類の試料で各 1 試験室が外れ値として判定された. 水溶性りん酸の試験成績では外れ値はなかった.

Table 2-1 Individual result of citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)

Lab ID ^{a)}	Processed phosphate fertilizer		(% (mass fraction))			
			Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2	
A	47.31	47.19	17.39	17.49	5.09	5.16
B	48.83	48.68	18.57 ^{b)}	18.64 ^{b)}	5.47	5.32
C	46.80	46.81	17.54	17.62	4.98	4.91
D	46.86	46.74	17.42	17.54	5.12	5.17
E	47.58	47.19	17.77	17.66	5.13	5.08
F	46.50	46.73	17.60	17.63	4.90	4.95
G	47.33	47.32	17.90	17.75	4.79	4.94
H	48.06	48.05	18.03	17.95	5.24	5.22
I	47.34	47.33	17.81	17.75	5.02	4.91
J	46.88	47.10	17.91	18.04	5.22	5.18
K	46.93	47.27	17.80	17.84	5.25	4.95
L	46.13	46.04	17.55	17.60	4.91	4.92
Lab ID ^{a)}	Absorption mixed fertilizer		Calassium phosphonate (CaHPO ₃)			
A	14.18	14.16	51.07	50.90		
B	15.05 ^{b)}	15.15 ^{b)}	54.15 ^{b)}	54.23 ^{b)}		
C	14.10	14.14	50.77	50.86		
D	14.13	14.25	50.47	49.96		
E	14.41	14.40	52.02	51.77		
F	14.32	14.22	50.17	50.22		
G	14.27	14.29	51.25	51.21		
H	14.58	14.60	51.67	51.63		
I	14.37	14.30	50.90	50.94		
J	14.53	14.62	50.52	50.66		
K	14.38	14.55	50.84	51.08		
L	14.13	14.07	50.28	50.28		

a) Laboratory identification

b) Outlier of Grubbs test

Table 2-2 Individual result of water-soluble phosphorus (W-P₂O₅)
(% (mass fraction))

Lab ID ^{a)}	Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2		Compound fertilizer 3	
A	59.46	59.36	4.01	3.96	13.54	13.49
B	58.68	58.58	3.94	3.90	13.22	12.97
C	58.08	58.34	3.80	3.93	13.29	13.26
D	57.87	57.79	3.88	3.88	13.43	13.43
E	58.54	58.62	4.04	4.01	13.30	13.22
F	58.62	58.69	3.84	3.88	13.37	13.46
G	58.27	58.36	3.81	3.84	13.11	13.05
H	58.93	58.69	4.06	4.12	13.63	13.43
I	58.49	58.54	3.87	3.85	13.58	13.50
J	58.04	57.95	3.86	3.95	13.07	13.29
K	58.24	58.43	3.85	3.86	13.45	13.63
L	58.53	58.12	3.90	3.92	13.52	13.68

Lab ID ^{a)}	Absorption mixed fertilizer		Mixed fertilizer	
A	7.25	7.21	21.97	22.02
B	7.05	7.07	21.65	21.49
C	7.05	6.97	21.78	21.69
D	7.04	7.04	21.65	21.65
E	7.51	7.45	21.69	22.00
F	7.37	7.34	21.74	21.87
G	7.07	7.08	21.51	21.75
H	7.36	7.35	22.12	21.90
I	7.06	7.11	21.88	21.75
J	7.06	7.02	21.89	22.07
K	6.98	7.00	21.66	21.56
L	7.20	7.16	22.00	21.84

a) Refer to the footnote of Table 2-1

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^{4, 5)}した平均値, 併行標準偏差 (s_r) 及び併行相対標準偏差 (RSD_r), 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 3-1 及び 3-2 に示した.

く溶性りん酸の平均値は 5.08 % (質量分率) ~ 50.89 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 (s_r) は 0.06 % (質量分率) ~ 0.14 % (質量分率), 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 0.3 % ~ 1.6 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.17 % (質量分率) ~ 0.69 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 1.1 % ~ 3.3 % であった.

水溶性りん酸の平均値は 3.92 % (質量分率) ~ 58.47 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 (s_r) は 0.03 % (質量分率) ~ 0.13 % (質量分率), 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 0.2 % ~ 1.0 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.08 % (質量分率) ~ 0.42 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 0.7 % ~ 2.3 % であった.

いずれの併行相対標準偏差 (RSD_r) 及び室間再現相対標準偏差 (RSD_R) も肥料等試験法⁶⁾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の目安の範囲内であることから、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 3-1 Statistical analysis of collaborative study results for citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)

Sample	Labs ^{a)}	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)}	(%)	(%)
Processed phosphate fertilizer	12 (0)	47.21	0.13	0.3	1	0.69	1.5	2.5
Compound fertilizer 1	11 (1)	17.71	0.07	0.4	1.5	0.19	1.1	3
Compound fertilizer 2	12 (0)	5.08	0.08	1.6	2	0.17	3.3	4
Absorption mixed fertilizer	11 (1)	14.32	0.06	0.4	1.5	0.18	1.2	3
Calassium phosphonate (CaHPO ₃)	11 (1)	50.89	0.14	0.3	1	0.57	1.1	2.5

a) Number of laboratories, where p =number of laboratories retained after outlier removed and (q)=number of outlier

b) Grand mean value of the results of duplicate sample which were reported from laboratories retained after outlier removed (n = The number of laboratories (p) × The number of repetition (2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Relative standard deviation of repeatability

f) Rough standard of relative standard deviation of repeatability in Testing Methods for Fertilizers 2015

g) Standard deviation of reproducibility

h) Relative standard deviation of reproducibility

i) Rough standard of relative deviation of reproducibility in Testing Methods for Fertilizers 2015

Table 3-2 Statistical analysis of collaborative study results for water-soluble phosphorus (W-P₂O₅)

Sample	Labs ^{a)}	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	12	58.47	0.13	0.2	1	0.42	0.7	2.5
Compound fertilizer 2	12	3.92	0.04	1.0	2	0.08	2.1	4
Compound fertilizer 3	12	13.37	0.10	0.7	1.5	0.20	1.5	3
Absorption mixed fertilizer	12	7.16	0.03	0.4	2	0.16	2.3	4
Mixed fertilizer	12	21.80	0.12	0.5	1.5	0.18	0.8	3

a) ~ i) Refer to the footnote of Table 3-1

4. まとめ

12 試験室において各 5 種類(10 点)の試料を用いて共同試験を実施し、亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のく溶性及び水溶性りん酸測定における室間再現性の評価を行った。

その結果、く溶性りん酸の平均値 5.08 % (質量分率) ~ 50.89 % (質量分率) の範囲でその室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 1.1 % ~ 3.3 % であり、水溶性りん酸の平均値 3.92 % (質量分率) ~ 58.47 % (質量分率) の範囲でその室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 0.7 % ~ 2.3 % であり、いずれの室間再現相対標準偏差 (RSD_R) も肥料等試験法⁶⁾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の目安の範囲内であることから、

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が確認された。

文 献

- 1) 阿部文浩、佐々木徳幸、平原稔夫: 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中の水溶性りん酸の測定 ー適用範囲拡大ー, 肥料研究報告, **8**, 10~16 (2015)
- 2) 阿部文浩, 佐々木徳幸, 平原稔夫: 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中の水溶性りん酸の測定 ー亜りん酸の酸化方法の改良ー, 肥料研究報告, **8**, 17~25 (2015)
- 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) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 5) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)
- 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 Method for Citric Acid-Soluble and Water-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonic Acid or Phosphonate (Phosphite) using Spectrophotometer: A Collaborative Study

Masayuki YAMANISHI¹, Toshiaki HIROI¹ and Fumika TAKATSU¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

A collaborative study was conducted to evaluate spectrophotometry for determination of citric acid-soluble (as phosphorus oxide; C-P₂O₅) and water-soluble phosphorus (as phosphorus oxide; W-P₂O₅) in solid fertilizers containing phosphonic acid or phosphonate (phosphite). The inorganic phosphorus compounds in fertilizer were extracted with 2 % citric acid solution or water as ionic forms. Oxidation of phosphonic ion and hydrolysis of pyrophosphoric ion with aqua regia was used to formation of orthophosphoric ion. C-P₂O₅ and W-P₂O₅ was spectrophotometrically determined by measuring phosphoric ion colored with an ammonium vanadomolybdate and hexaammonium heptamolybdate tetrahydrate according to Testing Methods for Fertilizers. We sent 12 collaborators 5 materials each method 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 C-P₂O₅ were reported 5.08 % ~ 50.89 % as a mass fraction and 1.1 % ~ 3.3 %, respectively. Those of determination of W-P₂O₅ were reported 3.92 % ~ 58.47 % as a mass fraction and 0.7 % ~ 2.3 %, respectively. These results indicated that this method has acceptable precision for determination of C-P₂O₅ and W-P₂O₅ in these concentration ranges.

Key words phosphonic acid, phosphonate, solid fertilizers, citric acid-soluble phosphorus, water-soluble phosphorus, spectrophotometry, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **9**, 59-68, 2016)