

肥料研究報告

第9号

2016年

Research Report of Fertilizer

Vol. 9
2016



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27年度に得られた成果を中心に収録した第9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。

2016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9号

- 2016 -

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効果発現促進材の測定	青山恵介	1
2 液状肥料中の水溶性成分の簡易抽出方法	川口伸司	10
3 ICP-MS による汚泥肥料中の重金属の測定	八木寿治, 佐久間健太, 橋本良美	21
4 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による有機質肥料及びそれを含む肥料中のメラミンの測定	船水悦子	33
5 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のりん酸の測定 -く溶性りん酸試験法の改良-	廣井利明, 山西正将	43
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, 廣井利明, 高津文香	59
7 液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)法による肥料中のスルファミン酸の測定 -共同試験成績-	野崎友春	69

<調査・試験業務>

8 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) -2014 年冬作・2015 年夏作-	阿部 進, 鈴木時也, 田中雄大, 阿部文浩, 橋本良美, 廣井利明, 加島信一	77
--	---	----

<試験成績の信頼性確保関連>

9	2015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, 長谷川正憲, 藤田敏史, 千田正樹, 平原稔夫, 筒井久司, 神川孝文, 八木啓二, 白井裕治, 今川俊明	110
---	---	-----

10	2015年度 肥料認証標準物質の開発 ―汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12 の再認証― 秋元里乃, 阿部 進, 八木寿治, 長谷川正憲, 佐久間健太, 白井裕治	136
----	---	-----

11	2015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, 高度化成肥料 FAMIC-A-13 及び普通化成肥料 FAMIC-B-14 の長期安定性評価― 稲葉茂幸, 木村康晴, 伊藤 潤, 神川孝文, 藤田 卓, 青山恵介, 恵智正宏, 白井裕治	145
----	---	-----

<ノート>

12	コマツナの生理障害 ―銅― 五十嵐総一, 八木啓二, 添田英雄, 有隅孝子, 加島信一	170
----	--	-----

他誌掲載論文	185
--	-------	-----

Research Report of Fertilizer Volume 9

– 2016–

Index

<Development and Validation for Determination Methods>

1	Simultaneous Determination Method for Effect-Development Promoting Agent (Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo) in Liquid Compound Fertilizer using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)	Keisuke AOYAMA	1
2	Simple Extraction Method for Water-Soluble Components in Liquid Compound Fertilizers	Shinji KAWAGUCHI	10
3	Determination of Heavy Metals in Sludge Fertilizers using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (ICP-MS)	Toshiharu YAGI, Kenta SAKUMA, Yoshimi HASHIMOTO	21
4	Determination Method for Melamine in Organic Fertilizer and Fertilizer Containing Organic Matter using High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)	Etsuko FUNAMIZU	33
5	Determination Method for Citric Acid-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonate (Phosphite) using Spectrophotometer	Toshiaki HIROI, Masayuki YAMANISHI	43
6	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 YAMANISHI, Toshiaki HIROI and Fumika TAKATSU	59
7	Determination of Sulfamic Acid in Fertilizers using Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS): A Collaborative Study	Tomoharu NOZAKI	69

<Investigation and Research>

- 8 Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report) - Winter 2014 and Summer 2015 -
... Shin ABE, Tokiya SUZUKI, Yudai TANAKA, Fumihiko ABE, Yoshimi HASHIMOTO,
Toshiaki HIROI and Shinichi KASHIMA 77

<Assurance Practices for Reliable Analytical Data>

- 9 Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements of Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2015
..... Kohei ITO, Masanori HASEGAWA, Toshifumi FUJITA, Masaki CHIDA,
Toshio HIRABARA, Hisashi TSUTSUI, Takafumi KAMIKAWA,
Keiji YAGI, Yuji SHIRAI and Toshiaki IMAGAWA 110
- 10 Re-authentication of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components and Harmful Elements: Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12)
..... Satono AKIMOTO, Shin ABE, Toshiharu YAGI, Masanori HASEGAWA,
Kenta SAKUMA and Yuji SHIRAI 136
- 11 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, Takafumi KAMIKAWA,
Taku FUJITA, Keisuke AOYAMA, Masahiro ECHI and Yuji SHIRAI 145

<Note>

- 12 Physiological disorder of Komatsuna - Copper -
..... Souichi IGARASHI, Keiji YAGI, Hideo SOETA, Takako ARISUMI
and Shinichi KASHIMA 170
- | |
|----------------------------------|
| Paper accepted in other journals |
|----------------------------------|

 185

1 ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による液状肥料中の 効果発現促進材の測定

青山恵介¹

キーワード ICP-OES, 液状肥料, 効果発現促進材

1. はじめに

植物の成長を促進させる効果がある材料として、効果発現促進材(Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo)を添加した肥料が流通しており、添加した場合はその使用量を保証票に記載する必要がある。効果発現促進材の分析方法としては、Ca, Fe, Co, Cu 及び Zn については原子吸光分析装置, Mo については分光光度計を用いる方法が肥料分析法¹⁾及び肥料等試験法²⁾に記載されているが、ICP 発光分光分析装置(ICP-OES)を用いた方法についてはこれまで検討されていない。

平成 26 年度に液状肥料中の水溶性主成分(W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃)について検討した結果³⁾, ICP 発光分光分析法による一斉分析法が確立された。本検討では、水溶性主成分に続き、効果発現促進材について検討したので報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

分析用試料として、いずれも流通している液状複合肥料(13 点)、家庭園芸用複合肥料(液状肥料)(12 点)及び液体微量要素複合肥料(5 点)を用いた。

2) 試薬等の調製

- (1) カルシウム標準液(Ca 1 mg/mL): カルシウム標準液(Ca: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (2) 鉄標準液(Fe 1 mg/mL): 鉄標準液(Fe: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (3) コバルト標準液(Co 1 mg/mL): コバルト標準液(Co: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (4) 銅標準液(Cu 1 mg/mL): 銅標準液(Cu: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (5) 亜鉛標準液(Zn 1 mg/mL): 亜鉛標準液(Zn: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (6) モリブデン標準液(Mo 1 mg/mL): モリブデン標準液(Mo: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (7) 混合標準液: (1)~(6)の標準液を標準原液とし、各標準原液を混合・希釈して各元素濃度が 200 µg/mL の混合標準を調製した。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。
- (8) 水: JIS K 0211 に規定する超純水(比抵抗値 18 MΩ cm 以上)
- (9) 塩酸: 精密分析用

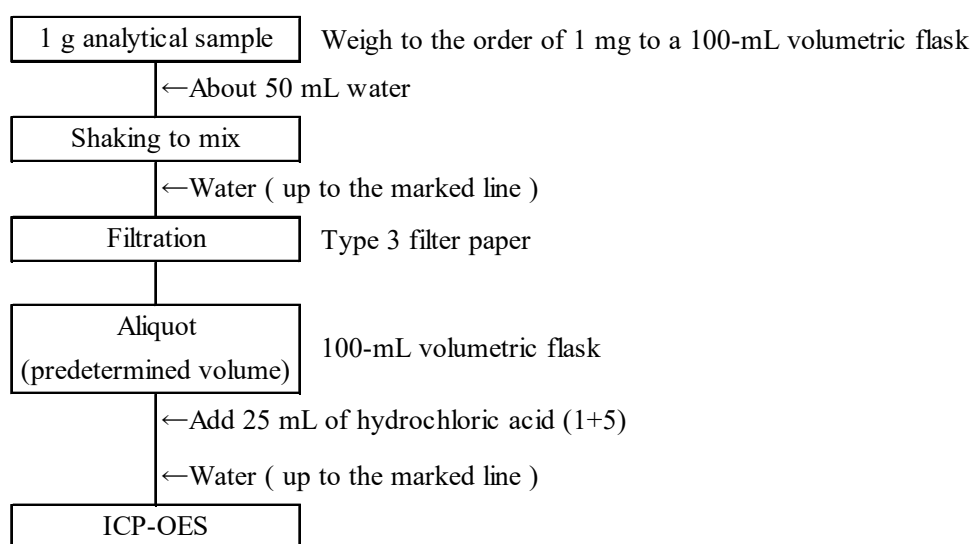
3) 装置及び器具

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

- (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後, Table 1 の測定条件で 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 Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo in liquid fertilizer

Table 1 Analysis wavelength

Element	Wavelength (nm)
Ca	393.366
Fe	259.940
Co	228.616
Cu	327.396
Zn	213.856
Mo	202.030

3. 結果及び考察

1) 分光干渉の確認

Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo について, それらの元素における分光干渉を確認した. また, 肥料の主要成分

として含まれる P, K, Mg, Mn 及び B による分光干渉についても確認した³⁾。

元素濃度が 100 µg/mL の各々の標準液を Table 1 に示した波長を用いて ICP-OES で分析した結果、分光干渉は定量限界(ブランク溶液 ($n = 10$) の 10σ) 未満であり、効果発現促進材の定量に影響しないことがわかった。したがって、各元素の ICP-OES における分析波長は Table 1 のとおりとした。

2) 検量線の直線性

2.2) に従って調製した Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の混合標準液を ICP-OES で測定し、絶対検量線法により検量線を作成したところ、0.1 µg/mL ~ 20 µg/mL の範囲で直線性 ($r^2 = 0.999$ 以上) を示した。

3) 添加回収試験による真度の評価

液状肥料に質量分率 0.01 % 及び 0.1 % 相当量の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo 標準液を添加した試料を用いて、本法にしたがって 3 点併行で添加回収試験を行った。結果は Table 2 のとおり、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 106 %, 94 % ~ 96 %, 95 % ~ 98 %, 93 % ~ 95 %, 92 % ~ 96 % 及び 95 % ~ 98 % であった。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 2 Spiking and recovery tests

Element	Sample	Spike level (%) ^{a)}	Recovery ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
Ca	Fertilizer-1	0.1	106	1.9	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	106	4.4	92 ~ 108
Fe	Fertilizer-1	0.1	94	1.0	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	96	2.0	92 ~ 108
Co	Fertilizer-1	0.1	98	2.0	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	95	1.3	92 ~ 108
Cu	Fertilizer-1	0.1	95	0.2	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	93	1.7	92 ~ 108
Zn	Fertilizer-1	0.1	96	3.0	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	92	1.0	92 ~ 108
Mo	Fertilizer-1	0.1	98	1.1	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	95	0.4	92 ~ 108

a) Mass fraction

b) Mean Value ($n=3$)

c) Relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) show in Testing methods of Fertilizers

4) 方法間比較による真度の評価

試料 12 点(液状複合肥料, 家庭園芸用複合肥料及び液体微量要素複合肥料)を用いて、肥料等試験法と本法の分析値を比較した。肥料等試験法は, Ca, Fe, Co, Cu 及び Zn については原子吸光法, Mo はチオシアネートナトリウム吸光光度法により分析した。

Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の肥料等試験法及び本法の分析値における回帰直線及び 95 % 予測区間を Fig 1 に示した。また, 95 % 信頼区間の傾き (b), 切片 (a) 及び回帰直線の相関係数 (r) を Table 3 に示した。肥料等

試験法では、傾き(b)の95%信頼区間に1が含まれ、切片(a)の95%信頼区間に原点(0)が含まれ、相関係数(r)が0.99以上を推奨している。Table 3に示した結果において、Fe、Co及びCuの傾き(b)の95%信頼区間が1を含んでいないが、それ以外については推奨の範囲内であり、Fig 1の肥料等試験法と本法の分析値とを評価しても同等であった。

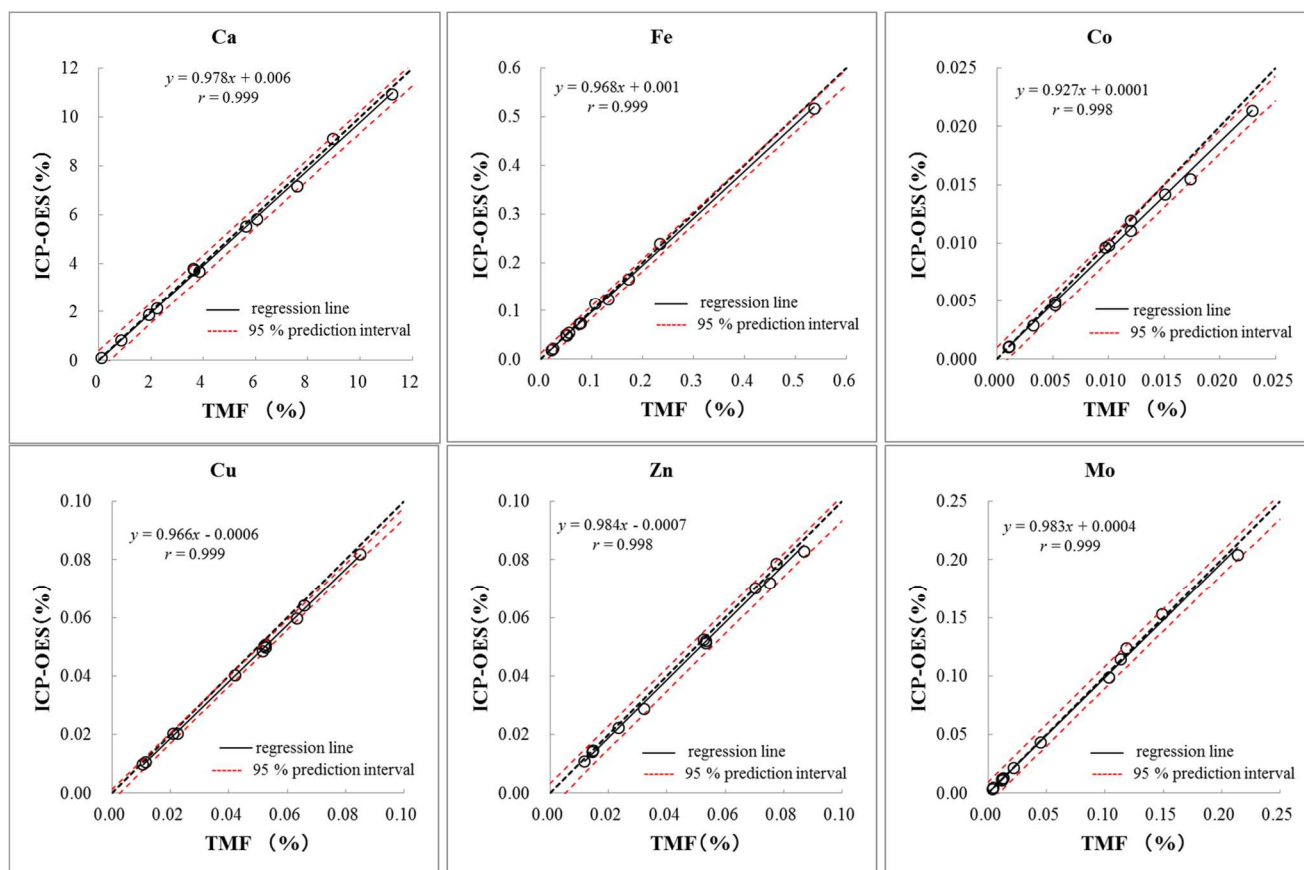


Fig 1 Comparison between ICP-OES and Testing Methods for Fertilizers (TMF) mass fraction (%)

Table 3 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and TMF

Element	95 % confidence interval		correlation coefficient (r)
	inclination (b)	intercept (a)	
Ca	0.943 ~ 1.013	-0.192 ~ 0.204	0.999
Fe	0.943 ~ 0.993	-0.004 ~ 0.006	0.999
Co	0.888 ~ 0.966	0.000 ~ 0.001	0.998
Cu	0.946 ~ 0.986	-0.002 ~ 0.000	0.999
Zn	0.944 ~ 1.025	-0.003 ~ 0.002	0.998
Mo	0.946 ~ 1.020	-0.003 ~ 0.004	0.999

5) 中間精度及び併行精度の評価

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、Ca, Fe, Co,

Cu, Zn 及び Mo 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 4 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 5 に示した. 液状複合肥料の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の平均値は質量分率 2.14 %, 0.145 %, 0.0554 %, 0.0643 %, 0.0677 % 及び 0.124 %, 併行相対標準偏差は 0.7 %, 0.6 %, 1.7 %, 0.9 %, 0.6 % 及び 0.5 %, 中間相対標準偏差は 2.1 %, 1.1 %, 4.4 %, 1.7 %, 0.7 % 及び 1.2 % であった. また, 家庭園芸用複合肥料の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の平均値は質量分率 0.103 %, 0.0485 %, 0.0105 %, 0.00976 %, 0.0107 % 及び 0.00359 %, 併行相対標準偏差は 0.9 %, 0.5 %, 3.3 %, 0.6 %, 2.3 % 及び 0.3 %, 中間相対標準偏差は 1.0 %, 0.9 %, 4.8 %, 3.4 %, 4.2 % 及び 4.0 % 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²⁾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.

Table 4 Repeatability test results on different days (mass fraction (%))

Sample	Element	Test day							
		1	2	3	4	5	6	7	
Fertilizer-3	Ca	2.18	2.14	2.16	2.11	2.12	2.19	2.07	
		2.19	2.14	2.15	2.11	2.10	2.23	2.11	
	Fe	0.146	0.143	0.143	0.143	0.143	0.145	0.148	
		0.147	0.143	0.145	0.144	0.143	0.146	0.145	
	Co	0.0573	0.0548	0.0546	0.0596	0.0527	0.0547	0.0583	
		0.0562	0.0549	0.0543	0.0571	0.0510	0.0533	0.0574	
	Cu	0.0637	0.0642	0.0642	0.0649	0.0635	0.0667	0.0643	
		0.0636	0.0645	0.0647	0.0635	0.0625	0.0658	0.0634	
	Zn	0.0673	0.0676	0.0682	0.0680	0.0679	0.0681	0.0681	
		0.0666	0.0670	0.0680	0.0674	0.0681	0.0672	0.0677	
	Mo	0.121	0.125	0.125	0.124	0.123	0.126	0.125	
		0.123	0.125	0.126	0.123	0.123	0.125	0.125	
	Fertilizer-4	Ca	0.104	0.0988	0.105	0.104	0.104	0.103	0.103
			0.104	0.0978	0.103	0.104	0.1041	0.102	0.102
Fe		0.0483	0.0481	0.0483	0.0484	0.0482	0.0491	0.0495	
		0.0487	0.0480	0.0487	0.0488	0.0486	0.0491	0.0490	
Co		0.0108	0.0106	0.0109	0.0108	0.0100	0.0101	0.0106	
		0.0109	0.0100	0.0109	0.0112	0.0102	0.00982	0.00962	
Cu		0.0101	0.00982	0.00914	0.0100	0.00953	0.0101	0.00975	
		0.0100	0.00973	0.00914	0.00987	0.00962	0.0101	0.00972	
Zn		0.0112	0.0107	0.0103	0.0103	0.0104	0.0116	0.0106	
		0.0114	0.0107	0.0104	0.0103	0.0103	0.0107	0.0107	
Mo		0.00386	0.00370	0.00364	0.00345	0.00354	0.00346	0.00352	
		0.00384	0.00371	0.00360	0.00346	0.00355	0.00345	0.00353	

Table 5 Repeatability and intermediate precision

Sample	Element	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-3	Ca	2.14	0.02	0.7	2	0.05	2.1	3.5
	Fe	0.145	0.001	0.6	3	0.002	1.1	4.5
	Co	0.0554	0.0010	1.7	4	0.0024	4.4	6.5
	Cu	0.0643	0.0006	0.9	4	0.0011	1.7	6.5
	Zn	0.0677	0.0004	0.6	4	0.0005	0.7	6.5
	Mo	0.124	0.001	0.5	3	0.001	1.2	4.5
Fertilizer-4	Ca	0.103	0.001	0.9	3	0.001	1.0	4.5
	Fe	0.0485	0.0003	0.5	4	0.0005	0.9	6.5
	Co	0.0105	0.0003	3.3	4	0.0005	4.8	6.5
	Cu	0.00976	0.00006	0.6	4	0.00033	3.4	6.5
	Zn	0.0107	0.0003	2.3	4	0.0004	4.2	6.5
	Mo	0.00359	0.00001	0.3	6	0.00014	4.0	9

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 deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate relative standard deviation

6) 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²⁾、液状肥料中の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo 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 Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo として濃度が質量分率 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 6 のとおり、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 102 %, 88 %, 95 %, 86 %, 89 % 及び 95 % であり、いずれの成分も肥料等試験法に示されている目安以内であり満足な結果が得られた。

Table 6 Spiking and recovery test (minimum limit of quantification)

Element	Sample	Spike level (%) ^{a)}	Recovery ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
Ca	Fertilizer-5	0.0005	102	11.8	85~115
Fe	Fertilizer-5	0.0005	88	4.3	85~115
Co	Fertilizer-5	0.0005	95	1.6	85~115
Cu	Fertilizer-5	0.0005	86	0.4	85~115
Zn	Fertilizer-5	0.0005	89	3.0	85~115
Mo	Fertilizer-5	0.0005	95	0.6	85~115

a) Mass fraction

b) Mean Value ($n=3$)

c) Relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) show in Testing method of Fertilizers

4. まとめ

ICP-OES による液状肥料中の効果発現促進材の分析法を検討したところ、次の結果を得た。

1) ICP-OES の分光干渉は効果発現促進材の定量に影響しないことがわかった。

2) Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の混合標準液を ICP-OES で分析し、絶対検量線法により検量線を作成したところ、 $0.1 \mu\text{g} \sim 20 \mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性 ($r^2=0.999$ 以上) を示した。

3) 2種類の肥料を用いて添加回収試験を実施したところ、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 106 %, 94 %~96 %, 95 %~98 %, 93 %~95 %, 92 %~96 % 及び 95 %~98 % であった。いずれも肥料等試験法に示されている添加濃度における真度(回収率)の目標以内であった。

4) 試料 12 点について、肥料等試験法及び本法により分析を行ったところ、本法と肥料等試験法の分析値は同等であった。

5) 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。

6) 本法における効果発現促進材の定量下限は質量分率 0.0005 % と推定された。質量分率 0.0005 % 相当量を添加した試料を用いて添加回収試験を行ったところ、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 102 %, 88 %, 95 %, 86 %, 89 % 及び 95 % であり、いずれも肥料等試験法に示されている添加濃度における真度(回収率)の目標以内であった。

以上、ICP-OES による液状肥料中の効果発現促進材の分析法が確立できた。質量分率が 0.0005 % の低含有量の試料についても定量が可能であった。

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) 青山恵介: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, 肥料研究報告, **8**, 1-9 (2015)

Simultaneous Determination Method for Effect-Development Promoting Agent (Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo) in Liquid Compound Fertilizer using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

Keisuke AOYAMA¹

Food and Agricultural Materials inspection Center, Kobe Regional Center

An ICP-OES method for simultaneous determination of effect-development promoting agents (Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo) in liquid compound fertilizer was developed and validated as a single-laboratory validation. Samples were extracted by shaking and diluted with water. After filtration, sample solution was added hydrochloric acid, and analyzed by ICP-OES. As a result of 3 replicate analysis of 2 fertilizer samples spiked with Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo at 0.01 % (mass fraction)~0.1 % each, the mean recoveries were 106 %, 94 %~96 %, 95 %~98 %, 93 %~95 %, 92 %~96 % and 95 %~98 %, respectively. Repeatability standard deviation of Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo were 0.7 %~0.9 %, 0.5 %~0.6 %, 1.7 %~3.3 %, 0.6 %~0.9 %, 0.6 %~2.3 % and 0.3 %~0.5 % respectively. Intermediate relatives standard deviation of there were 1.0 %~2.1 %, 0.9 %~1.1 %, 4.4 %~4.8 %, 1.7 %~3.4 %, 0.7 %~4.2 % and 1.2 %~4.0 %, respectively. The limits of quantification of there were estimated 0.0005 %, each. Those results indicated that the developed method was valid for the determination of these effect-development promoting agents in a liquid compound fertilizer.

Key words ICP-OES, liquid compound fertilizer, effect-development promoting agent, single-laboratory validation

(Research Report of Fertilizer, **9**, 1-9, 2016)

2 液状肥料中の水溶性成分の簡易抽出方法

川口伸司¹

キーワード 液状肥料, 水溶性主成分, 効果発現促進材

1. はじめに

近年, 肥料等試験法¹⁾に記述されている上下転倒式回転振り混ぜ機による抽出方法は肥料以外の分析法には用いられてはいないこと, 更に恒温式上下転倒式回転振り混ぜ機は特注品であることから, これらを用いない抽出方法の確立について要望が寄せられている。

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), 水溶性マンガン(W-MnO), 水溶性亜鉛(W-Zn), 水溶性銅(W-Cu), 水溶性鉄(W-Fe)及び水溶性モリブデン(W-Mo)の抽出方法について上下転倒式回転振り混ぜ機を用いない方法について検討した。

今回は, 液状肥料中の水溶性りん酸(W-P₂O₅), 水溶性加里(W-K₂O), 水溶性マンガン(W-MnO), 水溶性亜鉛(W-Zn), 水溶性銅(W-Cu), 水溶性鉄(W-Fe)及び水溶性モリブデン(W-Mo)を対象として手で振り混ぜる簡易抽出方法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) 分析用試料

分析用試料として, 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

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。
- (2) 塩酸: JIS K 8180 に規定する試薬。
- (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) 過塩素酸: JIS K 8223 に規定する試薬。
- (6) アンモニア水: JIS K 8085 に規定する試薬。
- (7) 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。
- (8) 硫酸鉄(Ⅲ)溶液: JIS K 8981 に規定する硫酸鉄(Ⅲ) 5 g を硫酸(1+1) 約 10 mL 及び適量の水に溶かし, 更に水を加えて 100 mL とした。
- (9) チオシアン酸ナトリウム溶液: JIS K 9002 に規定するチオシアン酸ナトリウム 50 g を水に溶かして 500 mL とした。
- (10) 塩化すず(Ⅱ)溶液: JIS K 8136 に規定する塩化すず(Ⅱ) 二水和物 50 g を塩酸(1+1) 200 mL に加温

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

して溶かしたのち、水を加えて 500 mL とした。

(11) リン酸標準液(P_2O_5 10 mg/mL): JIS K 9007 に規定するリン酸二水素カリウムを $105\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ で約 2 時間加熱し、デシケーター中で放冷した後、19.17 g をひょう量皿にはかりとった。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。

(12) リン酸標準液(P_2O_5 0.5 mg/mL): リン酸標準液(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。

(13) カリウム標準液(K_2O 1mg/mL): カリウム標準液(K: 1000 mg/L) (関東化学;JCSS)を使用した。

(14) マンガン標準液(MnO 1 mg/mL): マンガン標準液(Mn: 100 mg/L) (関東化学;JCSS)を使用した。

(15) 亜鉛標準液(Zn 0.1 mg/mL): 亜鉛標準液(Zn: 100 mg/L) (関東化学;JCSS)を使用した。

(16) 銅標準液(Cu 0.1 mg/mL): 銅標準液(Cu: 100 mg/L) (関東化学;JCSS)を使用した。

(17) 鉄標準液(Fe 0.1 mg/mL): 鉄標準液(Fe: 100 mg/L) (関東化学;JCSS)を使用した。

(18) モリブデン標準液(Mo 1 mg/mL): モリブデン標準液(Mo: 1000 mg/L) (関東化学;JCSS)を使用した。

(19) モリブデン標準液(Mo 0.01 mg/mL): モリブデン標準液(Mo 1 mg/mL)の一定量を水で正確に 100 倍に希釈した。

(20) 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。

(21) 干渉抑制剤溶液 1: JIS K 8617 に規定する炭酸カルシウム 12.5 g をビーカー2000 mL にはかりとり、少量の水を加え、塩酸 105 mL を徐々に加え、少時加熱し、放冷後、水を加えて 1000 mL とした。水溶性加里(W- K_2O)の分析に用いた。

(22) 干渉抑制剤溶液 2: JIS K 8132 に規定する塩化ストロンチウム六水和物 152.1 g をビーカー2000 mL にはかりとり、少量の水を加えた後、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。水溶性マンガン(W-MnO)の分析に用いた。

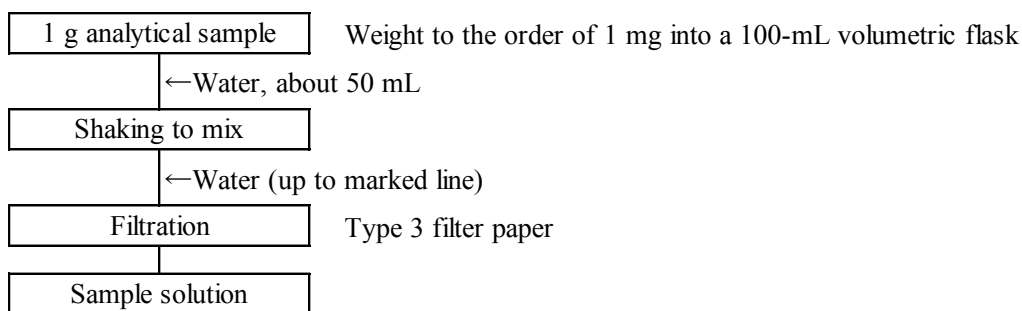
3) 器具及び装置

- (1) 電子天びん: sartorius CPA423S
- (2) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: 三喜製作所 RS-12
- (3) ホットプレート: 柴田科学 NP-6
- (4) 分光光度計: 島津製作所 UVmini-1240
- (5) 原子吸光分析装置: 日立ハイテクノロジーズ Z-2310

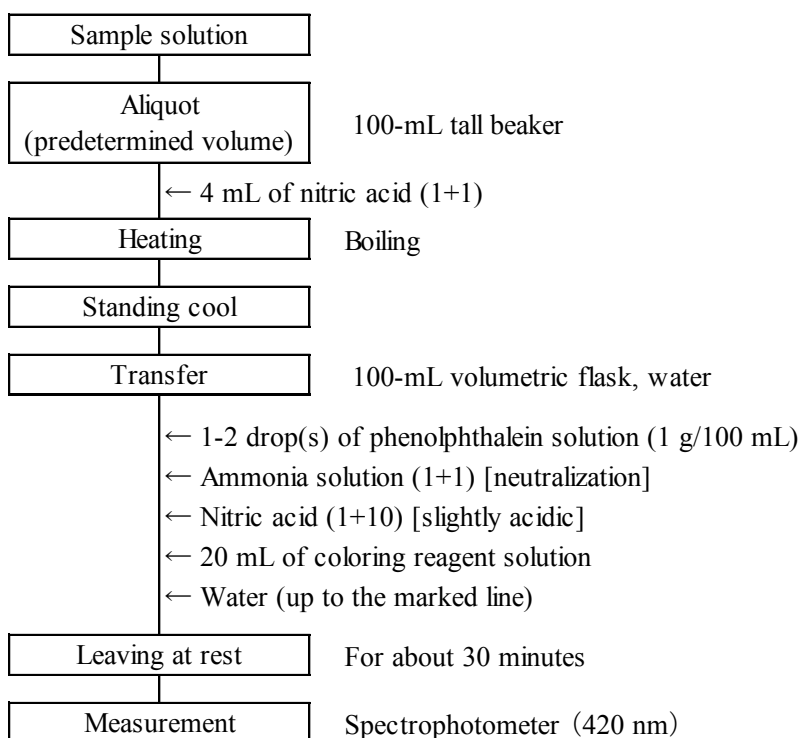
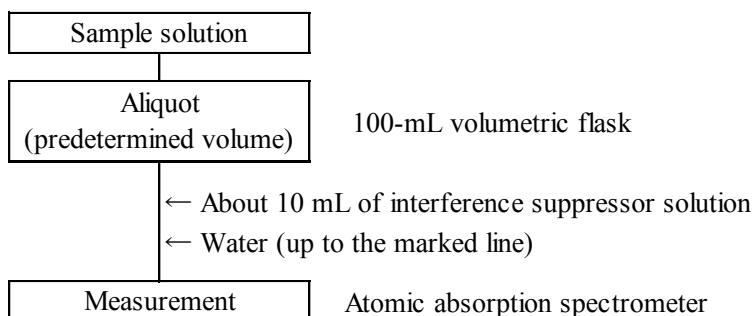
4) 分析方法

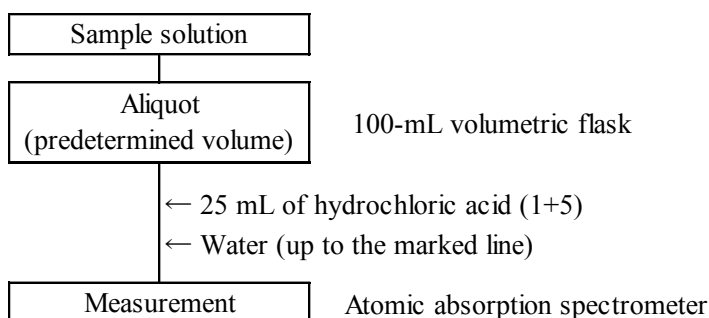
試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れ、水約 50 mL を加えて振り混ぜた後水で定容し、ろ紙 3 種でろ過して試料溶液とした(Scheme 1)。この試料溶液について、水溶性りん酸(W- P_2O_5)はバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(Scheme 2)、水溶性加里(W- K_2O)、水溶性マンガン(W-MnO)、水溶性亜鉛(W-Zn)、水溶性銅(W-Cu)及び水溶性鉄(W-Fe)はフレイム原子吸光法、水溶性モリブデン(W-Mo)はチオシアン酸ナトリウム吸光光度法の手順でそれぞれ測定した(Scheme 3~5)。

なお、方法間比較による真度の評価に使用した従来の上下転倒式恒温回転振り混ぜ機を用いた抽出手順を Scheme 6 に示した。

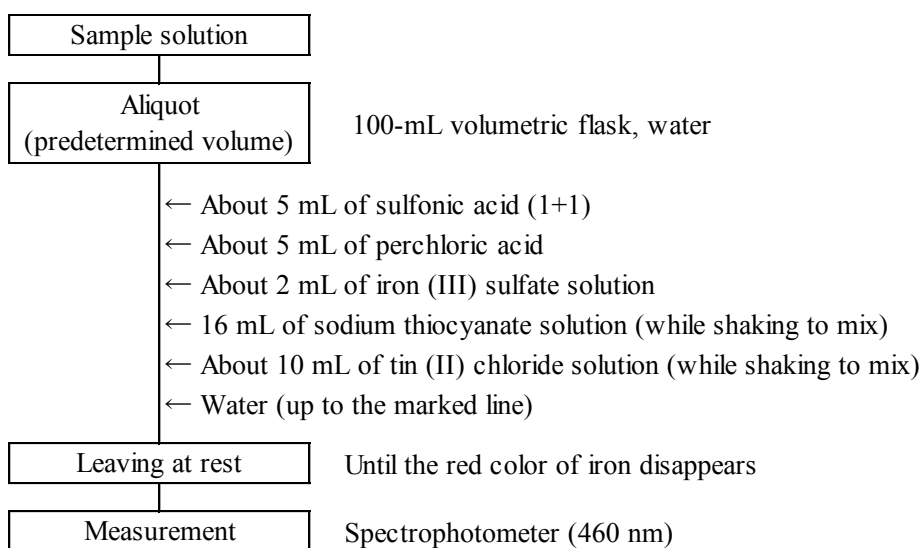


Scheme 1 The flow sheet of simple extraction procedure

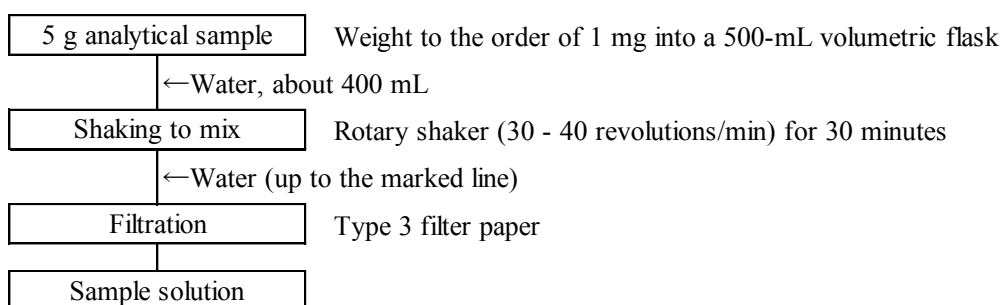
Scheme 2 The flow sheet for water-soluble phosphoric acid (W-P₂O₅)Scheme 3 The flow sheet for water-soluble potassium (W-K₂O)
and water-soluble manganese (W-MnO)



Scheme 4 The flow sheet for water-soluble zinc (W-Zn), water-soluble copper (W-Cu) and water-soluble iron (W-Fe)



Scheme 5 The flow sheet for water-soluble molybdenum (W-Mo)



Scheme 6 The flow sheet of extraction procedure using rotary shaker

3. 結果及び考察

1) 方法間比較による真度の評価

水溶性りん酸、水溶性マンガン、水溶性亜鉛、水溶性銅及び水溶性鉄については試料12点、水溶性加里については試料13点を用いて、上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出方法と本法との測定値の相関及び本法の予測値の95%信頼区間を回帰直線の周囲に描き Fig. 1 に示した。

水溶性りん酸($y=1.005x+0.005$, $r=0.999$)の傾きの95%信頼区間は0.997~1.012で、切片の95%信頼区間

は $-0.057\sim 0.067$, 水溶性加里 ($y=1.001x+0.011$, $r=0.999$)の傾きの95%信頼区間は $0.980\sim 1.022$ で, 切片の95%信頼区間は $-0.104\sim 0.125$, 水溶性マンガン ($y=1.006x-0.001$, $r=1.000$)の傾きの95%信頼区間は $0.999\sim 1.013$ で, 切片の95%信頼区間は $-0.005\sim 0.003$, 水溶性亜鉛 ($y=1.005x-0.001$, $r=1.000$)の傾きの95%信頼区間は $0.999\sim 1.010$ で, 切片の95%信頼区間は $-0.003\sim 0.001$, 水溶性銅 ($y=1.001x$, $r=1.000$)の傾きの95%信頼区間は $0.999\sim 1.004$ で, 切片の95%信頼区間は $-0.0004\sim 0.0003$, 水溶性鉄 ($y=0.997x$, $r=1.000$)の傾きの95%信頼区間は $0.992\sim 1.002$ で, 切片の95%信頼区間は $-0.001\sim 0.001$ であり, いずれも肥料等試験法¹⁾に示されている真度評価の推奨範囲内であった。

水溶性モリブデンについては, 試料3点を用い, 上下転倒式回転振り混ぜ抽出法と本法に従ってそれぞれ4点併行で試験を実施して得られた結果をTable 1に示した。また, この結果からそれぞれ2群の成績のF検定及びt検定の結果をTable 2に示した。いずれの試料においても, 肥料等試験法¹⁾で求められている両側有意水準5%で有意な差は認められなかった。

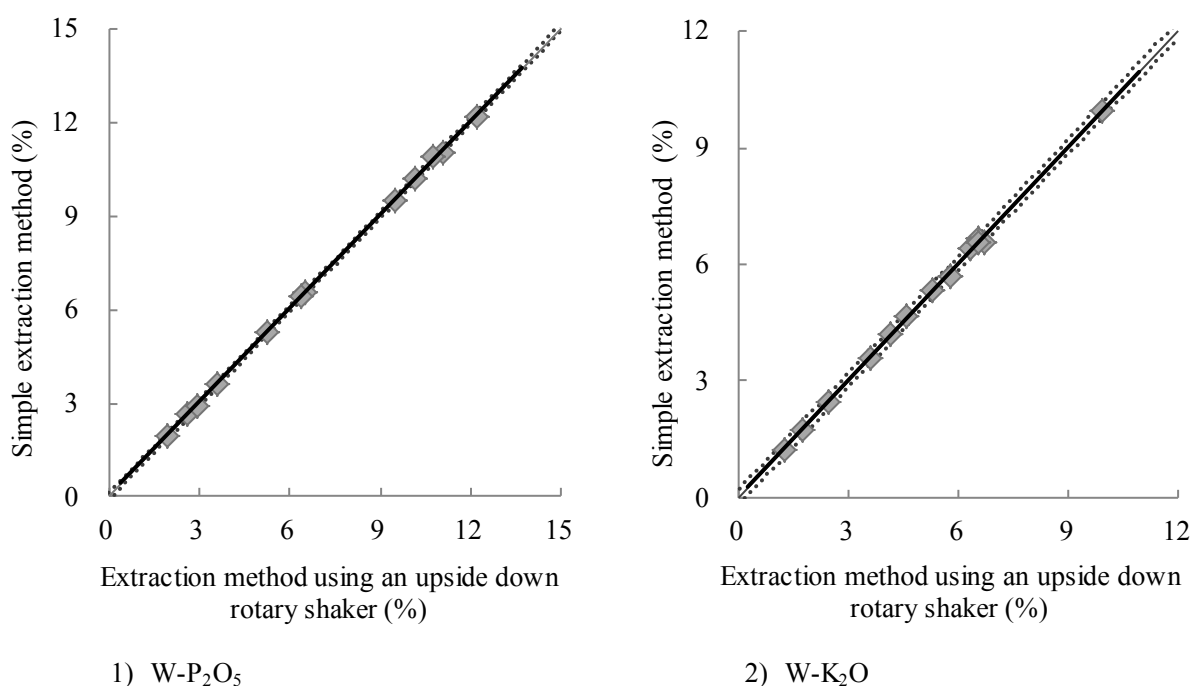


Fig. 1 Comparison of extraction method using an upside down rotary shaker and simple extraction method

Heavy line: Regression line

Dotted lines: Upper and Lower limit of 95 % prediction interval

Thin line: $y=x$

(%): Mass fraction

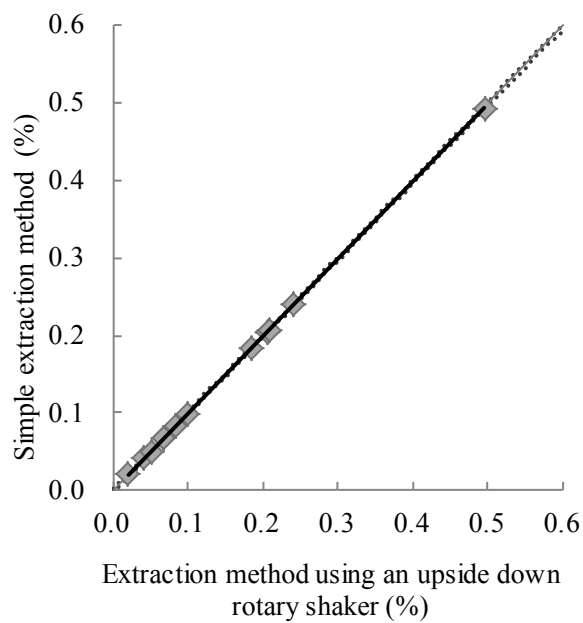
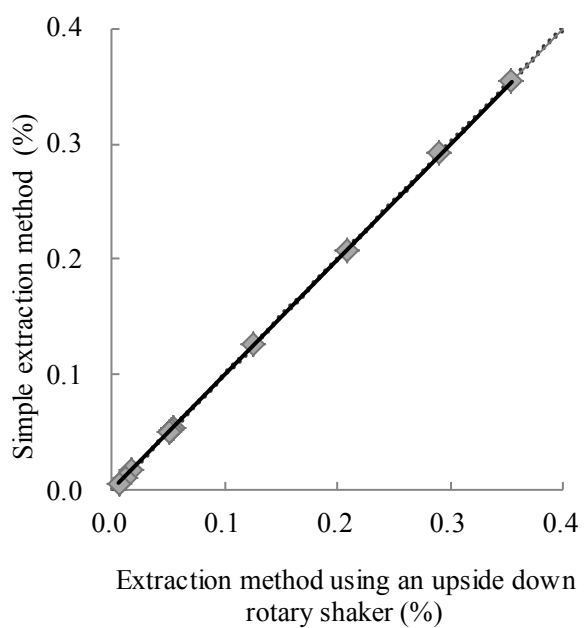
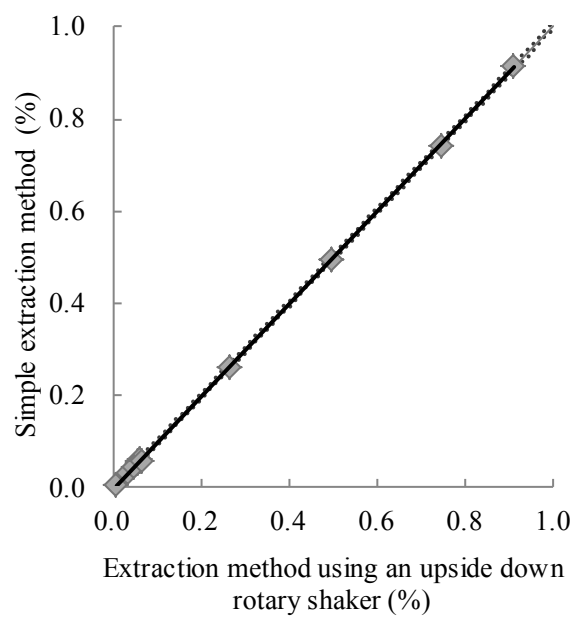
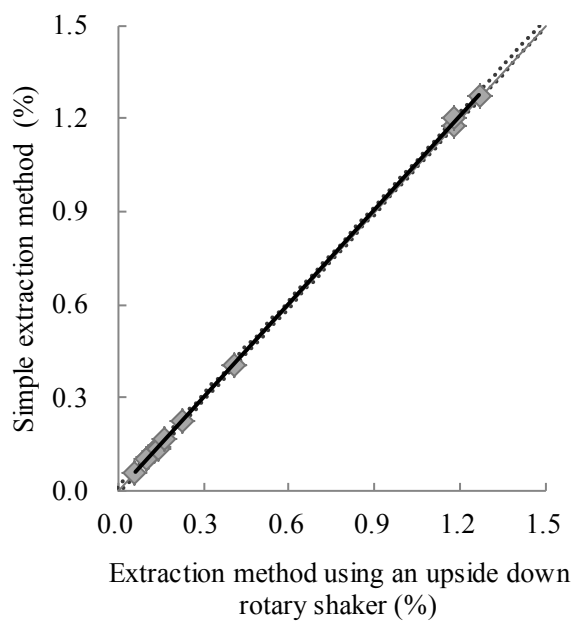


Table 1 Individual result of repetition tests using 4 samples for W-Mo (% (Mass fraction))

	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2		Liquid micronutrients mixed fertilizer	
	Upside down rotary shake	Simple shake	Upside down rotary shake	Simple shake	Upside down rotary shake	Simple shake
1	0.107	0.106	0.234	0.234	0.0229	0.0230
2	0.105	0.105	0.236	0.235	0.0229	0.0229
3	0.106	0.106	0.235	0.235	0.0228	0.0229
4	0.107	0.107	0.236	0.234	0.0228	0.0230
Mean value	0.106	0.106	0.235	0.235	0.0229	0.0229

Table 2 Statistical analysis of repetition test result for W-Mo

Sample	<i>F</i> value	<i>F</i> critical value	<i>t</i> value	<i>t</i> critical value
Fluid mixed fertilizer 1	1.37	9.28	0.45	2.45
Fluid mixed fertilizer 2	4.73	9.28	1.30	2.45
Liquid micronutrients mixed fertilizer	1.21	9.28	1.36	2.45

2) 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、液状複合肥料及び液体微量要素複合肥料を用いて、2 濃度の水溶性りん酸 (W-P₂O₅)、水溶性加里 (W-K₂O)、水溶性マンガン (W-MnO)、水溶性亜鉛 (W-Zn)、水溶性銅 (W-Cu)、水溶性鉄 (W-Fe) 及び水溶性モリブデン (W-Mo) 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 3 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 4 に示した。水溶性りん酸 (W-P₂O₅) の平均値は質量分率 12.19 % 及び 2.88 % で、併行相対標準偏差は 0.2 % 及び 0.2 %、中間相対標準偏差は 0.4 % 及び 0.5 %、水溶性加里 (W-K₂O) の平均値は質量分率 9.96 % 及び 2.44 % で、併行相対標準偏差は 0.2 % 及び 0.4 %、中間相対標準偏差は 0.7 % 及び 0.8 %、水溶性マンガン (W-MnO) の平均値は質量分率 1.28 % 及び 0.232 % で、併行相対標準偏差は 0.4 % 及び 0.5 %、中間相対標準偏差は 1.3 % 及び 1.5 %、水溶性亜鉛 (W-Zn) の平均値は質量分率 0.0591 % 及び 0.0314 % で、併行相対標準偏差は 0.7 % 及び 0.4 %、中間相対標準偏差は 1.0 % 及び 0.7 %、水溶性銅 (W-Cu) の平均値は質量分率 0.0540 % 及び 0.0172 % で、併行相対標準偏差は 0.6 % 及び 0.7 %、中間相対標準偏差は 1.3 % 及び 1.5 %、水溶性鉄 (W-Fe) の平均値は質量分率 0.244 % 及び 0.0988 % で、併行相対標準偏差は 0.6 % 及び 0.5 %、中間相対標準偏差は 1.4 % 及び 2.9 %、水溶性モリブデン (W-Mo) の平均値は質量分率 0.242 % 及び 0.0228 % で、併行相対標準偏差は 0.4 % 及び 0.4 %、中間相対標準偏差は 1.0 % 及び 0.8 % 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、液状肥料の水溶性りん酸 (W-P₂O₅)、水溶性加里 (W-K₂O)、水溶性マンガン (W-MnO)、水溶性亜鉛 (W-Zn)、水溶性銅 (W-Cu)、水溶性鉄 (W-Fe) 及び水溶性モリブデン (W-Mo) の抽出については、上下転倒式回転振り混ぜ機を用いない簡易抽出方法でも十分であることが確認された。

Table 3 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation

(% (Mass fraction))

Test day	W-P ₂ O ₅				W-K ₂ O			
	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2		Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2	
1	12.24	12.21	2.88	2.88	10.01	10.01	2.42	2.41
2	12.13	12.13	2.85	2.86	9.96	9.96	2.43	2.44
3	12.13	12.11	2.88	2.90	9.96	9.95	2.43	2.42
4	12.22	12.22	2.90	2.90	10.05	10.08	2.46	2.48
5	12.22	12.24	2.88	2.89	9.83	9.90	2.41	2.43
6	12.18	12.22	2.89	2.88	9.93	9.98	2.43	2.43
7	12.26	12.19	2.89	2.90	9.91	9.92	2.45	2.45

Table 3 Continue

Test day	W-MnO				W-Zn			
	Fluid mixed fertilizer 2		Liquid micronutrients mixed fertilizer		Fluid mixed fertilizer3		Liquid micronutrients mixed fertilizer	
1	1.27	1.28	0.229	0.228	0.0579	0.0591	0.0314	0.0314
2	1.27	1.27	0.228	0.229	0.0588	0.0588	0.0311	0.0312
3	1.26	1.26	0.232	0.229	0.0591	0.0584	0.0313	0.0315
4	1.26	1.28	0.231	0.232	0.0588	0.0591	0.0316	0.0313
5	1.29	1.29	0.234	0.234	0.0601	0.0597	0.0314	0.0312
6	1.30	1.30	0.236	0.236	0.0593	0.0594	0.0317	0.0314
7	1.30	1.31	0.238	0.236	0.0595	0.0595	0.0318	0.0317

Table 3 Continue

Test day	W-Cu				W-Fe			
	Fluid mixed fertilizer 3		Liquid micronutrients mixed fertilizer		Fluid mixed fertilizer 3		Liquid micronutrients mixed fertilizer	
1	0.0532	0.0531	0.0168	0.0168	0.240	0.238	0.0953	0.0951
2	0.0536	0.0533	0.0170	0.0169	0.245	0.244	0.0960	0.0949
3	0.0533	0.0537	0.0170	0.0170	0.248	0.251	0.1007	0.1001
4	0.0544	0.0543	0.0174	0.0173	0.243	0.242	0.0980	0.0975
5	0.0541	0.0542	0.0173	0.0177	0.244	0.242	0.0985	0.0991
6	0.0555	0.0544	0.0175	0.0173	0.242	0.246	0.1017	0.1018
7	0.0549	0.0544	0.0172	0.0173	0.247	0.246	0.1019	0.1026

Table 3 Continue

Test day	W-Mo			
	Fluid mixed fertilizer 3		Liquid micronutrients mixed fertilizer	
1	0.241	0.240	0.0227	0.0227
2	0.240	0.243	0.0225	0.0226
3	0.242	0.243	0.0231	0.0229
4	0.240	0.240	0.0226	0.0226
5	0.243	0.245	0.0227	0.0229
6	0.246	0.248	0.0230	0.0231
7	0.242	0.240	0.0228	0.0227

Table 4 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

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)} (%)	
W-P ₂ O ₅	Fluid mixed fertilizer 1	12.19	0.02	0.2	1.5	0.05	0.4	2.5
	Fluid mixed fertilizer 2	2.88	0.01	0.2	2.0	0.02	0.5	3.5
W-K ₂ O	Fluid mixed fertilizer 1	9.96	0.02	0.2	2.0	0.07	0.7	3.5
	Fluid mixed fertilizer 2	2.44	0.01	0.4	2.0	0.02	0.8	3.5
W-MnO	Fluid mixed fertilizer 2	1.28	0.01	0.4	2.0	0.02	1.3	3.5
	Liquid micronutrients mixed fertilizer	0.232	0.001	0.5	3.0	0.003	1.5	4.5
W-Zn	Fluid mixed fertilizer 3	0.0591	0.0004	0.7	4.0	0.0006	1.0	6.5
	Liquid micronutrients mixed fertilizer	0.0314	0.0001	0.4	4.0	0.0002	0.7	6.5
W-Cu	Fluid mixed fertilizer 3	0.0540	0.0003	0.6	4.0	0.0007	1.3	6.5
	Liquid micronutrients mixed fertilizer	0.0172	0.0001	0.7	4.0	0.0003	1.5	6.5
W-Fe	Fluid mixed fertilizer 3	0.244	0.002	0.6	3.0	0.003	1.4	4.5
	Liquid micronutrients mixed fertilizer	0.0988	0.001	0.5	4.0	0.003	2.9	6.5
W-Mo	Fluid mixed fertilizer 3	0.242	0.001	0.4	3.0	0.002	1.0	4.5
	Liquid micronutrients mixed fertilizer	0.0228	0.0001	0.4	4.0	0.0002	0.8	6.5

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. まとめ

液状肥料中の水溶性りん酸, 水溶性加里, 水溶性マンガ, 水溶性亜鉛, 水溶性銅, 水溶性鉄及び水溶性モリブデンについて手で振り混ぜる簡易抽出方法の適用を検討したところ, 次のとおりの結果が得られた.

(1) 水溶性りん酸, 水溶性マンガ, 水溶性亜鉛, 水溶性銅及び水溶性鉄については分析用試料 12 点を用い水溶性加里については分析用試料 13 点を用いて, 上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出方法と本法の測定値を比較したところ, 相関係数は $r=0.999\sim r=1.000$ を示し, 強い相関が認められた.

(2) 水溶性モリブデンについては分析用試料 3 点を用いて 4 点併行で試験を実施し, 上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出方法と本法の測定値を比較したところ, 両側有意水準 5 % で有意な差は認められなかった.

(3) 液状複合肥料及び液体微量要素複合肥料を用いて, 2 濃度の水溶性りん酸(W-P₂O₅), 水溶性加里(W-K₂O), 水溶性マンガ(W-MnO), 水溶性亜鉛(W-Zn), 水溶性銅(W-Cu), 水溶性鉄(W-Fe)及び水溶性モリブデン(W-Mo)を 2 点併行で日を変えて 7 回試験を実施したところ, 水溶性りん酸(W-P₂O₅)の平均値は質量分率 12.19 %及び 2.88 %で, 併行相対標準偏差は 0.2 %及び 0.2 %, 中間相対標準偏差は 0.4 %及び 0.5 %, 水溶性加里(W-K₂O)の平均値は質量分率 9.96 %及び 2.44 %で, 併行相対標準偏差は 0.2 %及び 0.4 %, 中間相対標準偏差は 0.7 %及び 0.8 %, 水溶性マンガ(W-MnO)の平均値は質量分率 1.28 %及び 0.232 %で, 併行相対標準偏差は 0.4 %及び 0.5 %, 中間相対標準偏差は 1.3 %及び 1.5 %, 水溶性亜鉛(W-Zn)の平均値は質量分率 0.0591 %及び 0.0314 %で, 併行相対標準偏差は 0.7 %及び 0.4 %, 中間相対標準偏差は 1.0 %及び 0.7 %, 水溶性銅(W-Cu)の平均値は質量分率 0.0540 %及び 0.0172 %で, 併行相対標準偏差は 0.6 %及び 0.7 %, 中間相対標準偏差は 1.3 %及び 1.5 %, 水溶性鉄(W-Fe)の平均値は質量分率 0.244 %及び 0.0988 %で, 併行相対標準偏差は 0.6 %及び 0.5 %, 中間相対標準偏差は 1.4 %及び 2.9 %, 水溶性モリブデン(W-Mo)の平均値は質量分率 0.242 %及び 0.0228 %で, 併行相対標準偏差は 0.4 %及び 0.4 %, 中間相対標準偏差は 1.0 %及び 0.8 %であった.

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(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>

Simple Extraction Method for Water-Soluble Components in Liquid Compound Fertilizers

Shinji KAWAGUCHI¹

¹Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

The Japanese Official Methods of Analysis of Fertilizer provides several extraction methods using the upside down rotary shaker for the determination of water-soluble and citrate soluble components in fertilizers. However, these extraction methods are only used in the analytical methods for fertilizer. Therefore a simple extraction method shaking with hand without using the upside down rotary shaker for water-soluble components (water-soluble principal ingredients (W-P₂O₅, W-K₂O and W-MnO) and water-soluble effect-development promoting agent (W-Zn, W-Cu, W-Fe and W-Mo)) in liquid compound fertilizer was developed and validated as a single method validation. The quantities of W-P₂O₅, W-K₂O, W-MnO, W-Zn, W-Cu and W-Fe were measured in 12 or 13 analytical samples by extraction methods with both the simple extraction method performed shaking with hand and the extraction method using an upside down rotary shaker. The data obtained from the simple extraction method correlated highly with that from the extraction method using an upside down rotary shaker (W-P₂O₅ ($r=0.999$, $y=1.005x+0.005$), W-K₂O ($r=0.999$, $y=1.001x+0.011$), W-MnO ($r=1.000$, $y=1.006x+0.001$), W-Zn ($r=1.000$, $y=1.005x+0.001$), W-Cu ($r=1.000$, $y=1.001x$) and W-Fe ($r=1.000$, $y=0.997x$)). With regard to W-Mo, 3 samples were conducted 4-point parallel test according to the simple extraction method and the extraction method using an upside down rotary shaker, respectively. As a result, it was confirmed the homoscedasticity of 2 groups. The *t*-test for each concentration indicated that significant difference was not observed under two-tailed significant level of 5 %. W-P₂O₅, W-K₂O, W-MnO, W-Zn, W-Cu, W-Fe and W-Mo were conducted a duplicate test per 7 test days using two analytical samples of liquid fertilizers respectively. As the result, W-P₂O₅ was total mean value (mass fraction) 12.19 % and 2.88 %, repeatability relative standard deviation (*RSD_r*) 0.2 % and 0.2 %, intermediate relative standard deviation (*RSD_I*) 0.4 % and 0.5 %, W-K₂O was total mean value (mass fraction) 9.96 % and 2.44 %, *RSD_r* 0.2 % and 0.4 %, *RSD_I* 0.7 % and 0.8 %, W-MnO was total mean value (mass fraction) 1.28 % and 0.232 %, *RSD_r* 0.4 % and 0.5 %, *RSD_I* 1.3 % and 1.5 %, W-Zn was total mean value (mass fraction) 0.0591 % and 0.0314 %, *RSD_r* 0.7 % and 0.4 %, *RSD_I* 1.0 % and 0.7 %, W-Cu was total mean value (mass fraction) 0.0540 % and 0.0172 %, *RSD_r* 0.6 % and 0.7 %, *RSD_I* 1.3 % and 1.5 %, W-Fe was total mean value (mass fraction) 0.244 % and 0.0988 %, *RSD_r* 0.6 % and 0.5 %, *RSD_I* 1.4 % and 2.9 %, W-Mo was total mean value (mass fraction) 0.242 % and 0.0228 %, *RSD_r* 0.4 % and 0.4 %, *RSD_I* 1.0 % and 0.8 %. These results indicated that this extraction method was valid for water-soluble components in a liquid compound fertilizer.

Key words liquid compound fertilizer, water-soluble principal ingredients, effect-development promoting agent, single-laboratory method validation

(Research Report of Fertilizer, 9, 10-20, 2016)

3 ICP-MS による汚泥肥料中の重金属の測定

八木寿治¹, 佐久間健太¹, 橋本良美¹

キーワード 汚泥肥料, マイクロ波分解装置, ICP-MS, 重金属, カドミウム

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(許容値)が設定されており, 当該有害成分の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. これら試験法の中で, カドミウム(Cd), 鉛(Pb), ニッケル(Ni), クロム(Cr) (以下, 重金属という.)は, 試料を酸分解し原子吸光分析装置にて測定する方法が規定されているが, 酸分解する前に試料を炭化・灰化する必要があるなど, 試験結果を得るまでに時間を要する.

重金属の中で, カドミウムは過去の検査結果より, 水銀に次いで公定規格の許容値超過数が多く, ニッケル, クロム及び鉛の許容値超過の可能性より高いと指摘されており⁴⁾, より注意を要すると結論づけられている. また, 土壌から作物中にも移行することが知られており⁵⁾, FAMIC においても汚泥肥料の連用施用試験を実施し, 作物体への移行量を確認するなどその動態が注目され⁶⁾, 健康に影響を与える様々な事態に備えて, 食品中の迅速測定法も開発されている^{7~8)}. このため, 汚泥肥料中のカドミウムの試験法開発を第一に, さらに, その他の重金属への適用の可能性を視野に入れ, 今回, 汚泥肥料中の重金属の分析の迅速化及び省力化の観点からマイクロ波分解装置を用い試料分解した後, 誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)による測定法について検討を行った. 新たな試験法として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

汚泥発酵肥料 14 点, し尿汚泥肥料 7 点, 下水汚泥肥料 2 点, 工業汚泥肥料 1 点, 焼成汚泥肥料 1 点及び混合汚泥肥料 1 点(計 26 点)を収集した. 40 °C で 60~70 時間乾燥し, 目開き 500 µm のふるいを通すまで粉碎したものを分析用試料とした.

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) (1)~(4)の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: 1 µg/mL, Pb: 10 µg/mL, Ni: 10 µg/mL, Cr: 10 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.

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

- (6) ロジウム標準液(1 mg/mL): 和光純薬工業 原子吸光分析用
 (7) レニウム標準液(0.1 mg/mL): AccuStandard ICP-MS 用
 (8) (6)~(7)の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 の水を用いた.
 (12) 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装置(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) マイクロ波分解装置: Anton-Paar Multiwave 3000
 (4) 遠心分離機: コクサン H-26F
 (5) ポリプロピレン製ねじ口容器: ジーエルサイエンス DigiTUBEs 50 mL

4) マイクロ波分解-ICP-MS による試験操作

(1) 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 0.20 g 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を用いて Table 1 の分解プログラムによって分解した. なお, 分解が不十分と認められる場合は, 更に硝酸 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)⁹⁾となるように硝酸を加え定容した(Scheme 1).

Table 1 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

(2) 試料溶液の測定

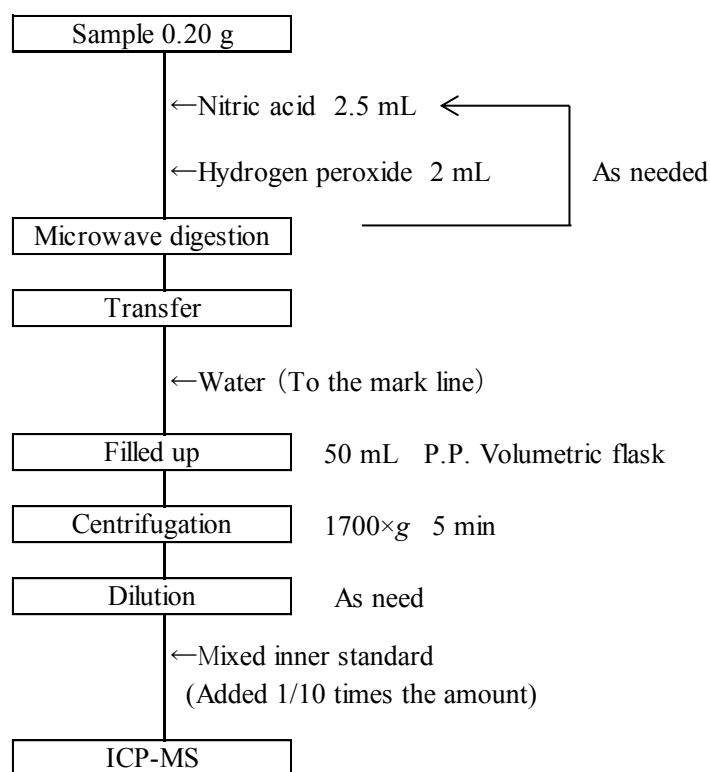
試料溶液及び混合内標準液をそれぞれ 9:1 の割合で混合した後 ICP-MS に導入し, ¹¹¹Cd, ²⁰⁸Pb, ⁶⁰Ni, ⁵²Cr, ¹⁰³Rh, ¹⁸⁷Re を測定し Cd, Ni, Cr は Rh で, Pb は Re で内標準補正した.

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, クロム濃度を算出

した. 混合標準液は硝酸濃度が5%(体積分率)⁹⁾となるように調製した.

ICP-MSの測定条件は以下のとおり.

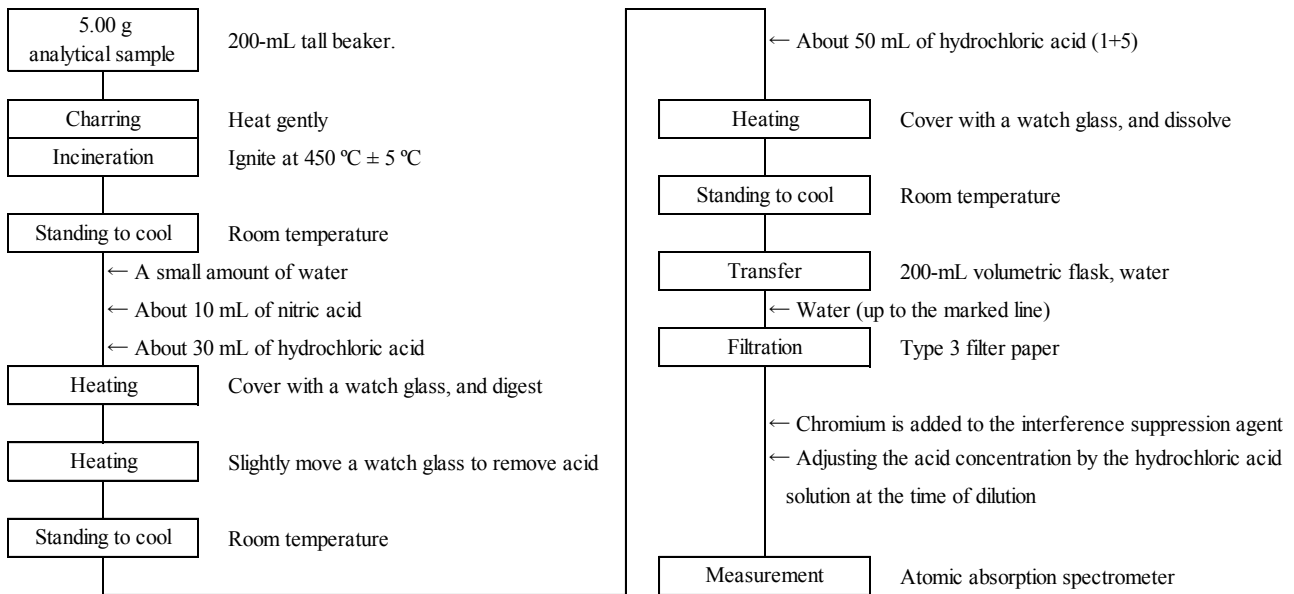
High-frequency output	1.2 kW
Sampling depth	3.5 mm
Coolant gas flow rate	7.0 L/min
Plasma gas flow rate	1.50 L/min
Carrier gas flow rate	0.70 L/min



Scheme 1 Heavy metal analysis in fertilizer by microwave digestion -ICP-MS method

5) 肥料等試験法(王水分解—原子吸光法)による試験操作

肥料等試験法³⁾に記載されている5.3.a, 5.4.a, 5.5.a, 5.6.a フレーム原子吸光法により分析試料中の重金属を測定した(Scheme 2). なお, 焼成汚泥肥料中のクロムは分析法が異なり, 硝酸・硫酸・過塩素酸分解—原子吸光法となるため試験を行わなかった.



Scheme 2 Heavy metal analysis in fertilizer by Aqua regia decomposition - atomic absorption spectrometry

3. 結果及び考察

1) 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 で測定し検量線を作成した. カドミウム, 鉛, ニッケル, クロムは 0.1 ng/mL ~ 100 ng/mL の範囲で直線性 (決定係数 $r^2=0.999$ 以上) を示した.

2) 既存法との比較

試料 26 点を用いて, 既存法である肥料等試験法と本法におけるそれぞれの定量値を求め, 2 方法の定量値の相関図を作成し, 回帰直線の傾き (a), 切片 (b) 及び相関係数 (r) を求めた (Fig.1-1 ~ Fig.1-4). また, 回帰直線の傾き及び切片の 95 % 信頼区間を算出した (Table 2). これらを肥料等試験法に示されている真度評価の推奨範囲 (傾き (a) の 95 % 信頼区間に 1 が含まれ, 切片 (b) の 95 % 信頼区間に原点 (0) が含まれ, 相関係数 (r) が 0.99 以上) と比較したところ, カドミウムのみ真度評価の推奨範囲内であった. なお, 当該元素における本法の 95 % 予測区間を回帰直線の周囲に描いた (Fig.1-1).

全体として, カドミウムは肥料等試験法と同等の測定値が得られたが, 鉛, ニッケル, クロムは得られなかった. また, 鉛は既存法に対して低値となり, ニッケル, クロムは逆に高値となる傾向がみられた. 肥料の銘柄毎に傾向が異なることから, この両方法間の測定値の違いは, 使用する酸の種類, 適用した分解法, 肥料中の元素組成から起因する測定対象元素の分解度の違いや, 測定機器の違いに起因する干渉程度の違いが複合的に影響していることが考えられた.

なお, 使用する酸の種類を肥料等試験法で用いられている硝酸-塩酸 (1+3) の王水にすることも考えられたが, 酸の種類を同一化しても開放形分解と加圧下 (最大圧: 大気圧の 60 倍) 分解では酸による分解度が異なることも考えられ, また, 塩酸を使用すると ICP-MS に直接導入することができず, 一旦酸を揮散させて置換する必要性があるので, 迅速性の観点からも優位ではないと思われ検討を行わなかった.

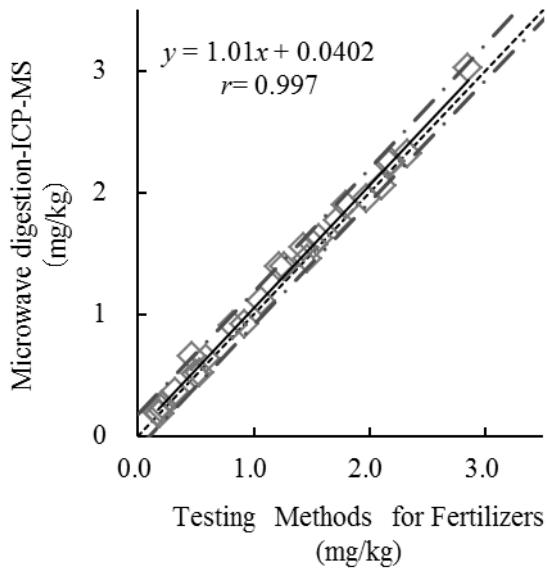


Fig. 1-1 Comparison of the cadmium measurements in between two methods

Solid line: Regression line, Dotted line: $y=x$
Dashed lines: Upper and Lower limit of 95 % prediction interval

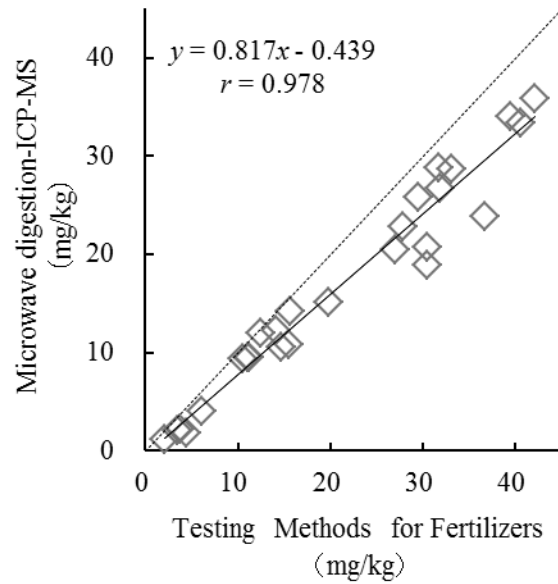


Fig. 1-2 Comparison of the lead measurements in between two methods

Solid line: Regression line, Dotted line: $y=x$

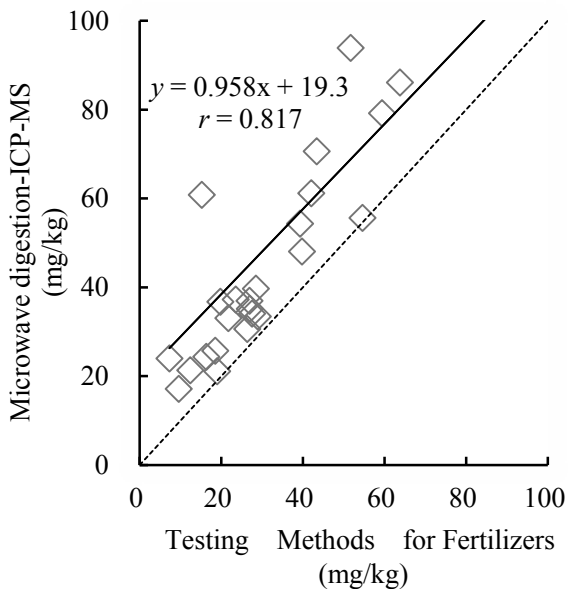


Fig. 1-3 Comparison of the nickel measurements in between two methods

Solid line: Regression line, Dotted line: $y=x$

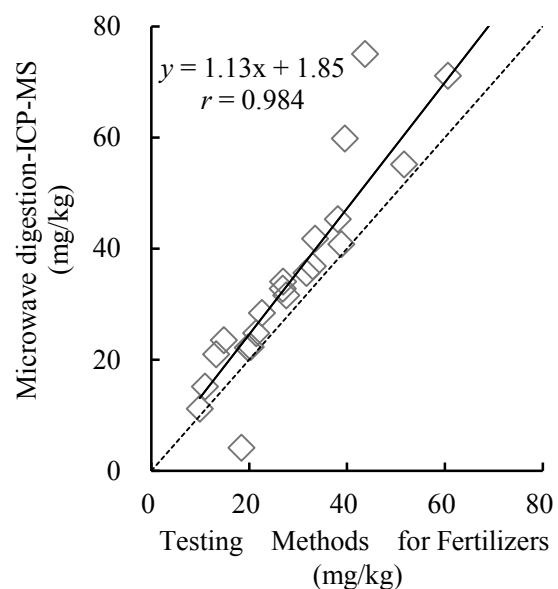


Fig. 1-4 Comparison of the chromium measurements in between two methods

Solid line: Regression line, Dotted line: $y=x$

Table 2 Confidence interval of slope and intercept of the regression line

Element	$Y = aX + b$			
	a (Slope)		b (Intercept)	
	Lower limit ^{a)}	Upper limit ^{b)}	Lower limit ^{a)}	Upper limit ^{b)}
Cd	0.976	1.044	-0.008	0.089
Pb	0.742	0.891	-2.256	1.378
Ni	0.673	1.243	5.759	32.928
Cr	1.048	1.220	-3.151	6.844

a) Lower limit of 95 % confidence interval

b) Upper limit of 95 % confidence interval

3) モニターイオンの影響

ICP-MS で測定する際にはスペクトル干渉のため測定値に影響を及ぼすことがあり、この影響を低減させるには測定質量数の変更が有効とされている¹⁰⁾。このため、汚泥発酵肥料 1 種類、混合汚泥肥料 1 種類、し尿汚泥肥料 1 種類を用いて、本法で第一選択したモニターイオンを底質調査法¹⁰⁾で選択可能とされているモニターイオンに変更し測定を行い、軽減の有無を確認した。評価を行うため、肥料等試験法で得られた値を基準として当該値に対する割合を算出した (Table 3)。

結果として、カドミウムはモニターイオン (m/z) 111 を選択したとき、割合として 97 % ~ 105 % と肥料等試験法に近い値を示したが、同 114 では割合として 127 % ~ 158 % とやや高い値となった。

鉛はモニターイオン (m/z) 208 を選択したとき、割合として 84 % ~ 95 % と肥料等試験法と比較して低い値を示したが、同 206 でもさほど変化はみられなかった。

ニッケルはモニターイオン (m/z) 60 を選択したとき、割合として 146 % ~ 205 % と肥料等試験法に対して高い値を示したが、同 58 では割合として 216 % ~ 567 % と更に高い値となった。

クロムはモニターイオン (m/z) 52 を選択したとき、割合として 129 % ~ 140 % と肥料等試験法に対して高い値を示したが、同 53 では割合として 133 % ~ 152 % とやや高い値となった。

特に質量数 80 以下の元素では干渉を受けやすいとされており⁹⁾、ニッケル及びクロムそして同質量数に近いカドミウムもモニターイオン変更時には更に高い値となった。これらはスペクトル干渉¹¹⁾の影響と考えられた。なお、参考としてスペクトル干渉の原因となる多原子イオン¹²⁾を Table 4 に示した。

これらのことからモニターイオンは ¹¹¹Cd, ²⁰⁸Pb, ⁶⁰Ni, ⁵²Cr を本法の検討に用いることとした。

Table 3 The comparison of the determination values by the difference of the monitor ion

Sample	Ratio of this method for the existing method ^{a)}	Cd		Pb		Ni		Cr	
		* ^{b)} 111 ^{b)}	114 ^{b)}	206	208	58	60	52	53
Composted sludge fertilizer	The existing method (mg/kg)	2.33		31.7		26.3		51.6	
	This method (mg/kg)	2.25	3.05	30.3	30.2	56.8	38.4	71.3	72.1
	Ratio (%)	97	131	95	95	216	146	138	140
Mixed sludge fertilizer	The existing method (mg/kg)	2.17		27.0		19.8		26.8	
	This method (mg/kg)	2.23	2.75	22.3	22.7	52.5	40.5	34.5	35.6
	Ratio (%)	103	127	83	84	265	205	129	133
Raw sewage sludge fertilizer	The existing method (mg/kg)	1.97		19.8		26.9		33.0	
	This method (mg/kg)	2.06	3.11	16.4	16.6	152.7	48.5	46.0	50.1
	Ratio (%)	105	158	83	84	567	180	140	152

a) Testing Methods for Fertilizers

b) Monitor ion (m/z), *standard selection

Table 4 Polyatomic ions that cause spectral interference

Element	m/z	Polyatomic ion
Cd	111	$^{95}\text{Mo}^{16}\text{O}$
	114	^{114}Sn $^{98}\text{Mo}^{16}\text{O}$
Ni	58	^{58}Fe
	60	$^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}$
Cr	52	$^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$ $^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}$ $^{35}\text{Cl}^{16}\text{OH}$
	53	$^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}$

4) 分解法の影響

肥料等試験法では硝酸・塩酸による開放形王水分解を行い、本法では硝酸・過酸化水素によるマイクロ波分解を行っている。3.2) 既存法との比較で確認されたように鉛、ニッケル及びクロムは肥料等試験法に示されている真度評価の推奨範囲外となり、これらが、分解度の違いによるものなのか、スペクトル干渉等の影響によるものなのか判然としなかったため、確認のため試験を実施した。試料 15 点について、肥料等試験法(王水分解-原子吸光法)と、本法、本法で得られた分解液を原子吸光分析装置にて値を求め、各方法の平均値と、試料をブロックとみなして算出した標準偏差及び相対標準偏差を基本統計量とした。各方法の平均値間の多重比較には、試料をブロックとみなした二元配置分散分析を行い、その誤差分散を用いた Tukey 法により検定を行った (Table 5)。

なお、測定時は検量線作成用標準液と測定試料溶液との酸種・酸濃度を合わせるようにし、また、クロムは原子吸光法で測定する際には干渉抑制剤を添加し測定することとなっているが、マイクロ波分解で得られた試料溶液に対して干渉抑制剤を添加し測定したところ半数程度の試料に対して測定データが得られなかったことから、この原因は最終試料溶液の酸種と干渉抑制剤との組み合わせによる影響と考え、干渉抑制剤を添加せず測定を行った。

結果として、鉛は、分解法間と測定法間の両方で有意差が認められた。一般に硝酸・過酸化水素に比べて王水の方が分解力は大きいですが、密閉容器系マイクロ波による分解は高压下で試料に対して酸が作用するため、開放系王水分解よりも分解力が高まることが考えられた。また、同溶液を ICP-MS で測定すると王水分解で得られた値よりも低い値となった。このことからマイクロ波による分解は王水分解よりもより分解されているが、非スペクトル干渉¹¹⁾と思われる測定系の干渉の影響を受け低い値となることが示唆された。

ニッケルは、分解法間では有意差は認められず測定法間で有意差が認められた。先の鉛では分解法間で有意差が認められたがニッケルでは認められなかったことから、元素によっても分解度が異なることが示唆された。その他、同溶液を ICP-MS で測定すると 1 試料を除いてすべて高い値となった。このことからスペクトル干渉¹¹⁾と思われる測定系の干渉の影響を受け高い値となることが示唆された。

クロムは、分解法間では有意差は認められず測定法間で有意差が認められた。また、マイクロ波分解で得られた値は王水分解で得られた値と比較して割合として 63 %~136 %となりばらつきが大きかった。既報では干渉抑制剤を添加しないと値のばらつきがみられる¹³⁾とあり、干渉抑制剤添加前の最終溶液の酸種が異なるが、今回も同傾向であった。

底質調査方法¹⁰⁾にも、マイクロ波分解を用いた方法が圧力容器法(参考法)として記載されており、使用する加圧装置・分解条件によっては、湿式分解法と異なる測定結果が得られる可能性があるとの記述がある。今回、カドミウムは既存法との良好な相関性が得られたが、その他の重金属は得られなかったことから、検討に用いた全重金属の一斉分析は困難と見込まれた。よって、以降はカドミウムに特化して分析法を検討していくこととした。

Table 5 Basic statistics and results of analysis by Tukey test

Element	Method	Average ^{d)}	SD ^{e)}	RSD ^{f)}	Significant	Significant
		(mg/kg)	(mg/kg)	(%)	difference test for B	difference test for C
Pb	A ^{a)}	25.9	1.5	5.9	* ^{g)}	*
	B ^{b)}	20.8	1.8	8.8	—	*
	C ^{c)}	29.9	0.9	3.2	—	—
Ni	A	44.3	2.7	6.1	*	n.s. ^{h)}
	B	57.3	4.7	8.2	—	*
	C	47.2	2.9	6.1	—	—
Cr	A	53.2	5.1	9.6	*	n.s.
	B	62.2	4.3	6.9	—	*
	C	52.7	2.1	3.9	—	—

a) Aqua regia decomposition-atomic absorption method

b) Microwave digestion-ICP-MS

c) Microwave digestion-atomic absorption method

d) The total average value of the 15 sample

e) SD was calculated using a value obtained by subtracting the average value from each analysis value, after obtaining the average value of the analysis of the three test methods for each sample.

f) $((SD \text{ of e}) / \text{the total average value of d}) \times 100$

g) There is significant difference between methods (significance level 5 %)

h) There is no significant difference between methods (significance level 5 %)

5) 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種類の汚泥発酵肥料を用いて、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 6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 6 Statistical analysis result of repeatability test

Sample	Element	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	0.263	0.022	8.5	11	0.031	12	18
Composted sludge fertilizer 2		2.39	0.04	1.6	8	0.10	4.1	13

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)

6) 定量下限等の確認

汚泥発酵肥料を用い、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¹⁴⁾ので、本法の定量下限はカドミウム 0.1 mg/kg 程度と推定された(Table 7)。有害成分、制限成分等の定量下限は含有許容量が 1 mg/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⁾。カドミウムの含有許容量は 5 mg/kg であることから、本法は汚泥肥料中のカドミウム含有量の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。

なお、当該結果は肥料等試験法における原子吸光法のカドミウムの定量下限 0.1 mg/kg と同等であった。一般的に ICP-MS の検出感度は原子吸光装置の検出感度よりも高いと言われており ICP-MS 法のほうがより低い定量下限を得られるものと期待したが、試料採取量が 200 mg と少なかったためばらつきが大きくなり試験法の定量下限は高くなったと考えられた。

Table 7 Calculated LOQ and LOD values

Sample	Element	Mean ^{a)}	s_r	LOQ ^{b)}	LOD ^{c)}
Composted sludge fertilizer	Cd	0.235	0.008	0.08	0.03

a) Mean value ($n=7$)

b) Standard deviation×10

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

4. まとめ

マイクロ波分解-ICP-MSによる汚泥肥料中の重金属の試験法について単一試験室による妥当性確認を実施したところ、次の結果を得た。

(1) 検量線を作成したところ、カドミウム、鉛、ニッケル及びクロムは 0.1 ng/mL～100 ng/mL の範囲で直線性(決定係数 $r^2=0.999$ 以上)を示した。

(2) 試料 26 点を用いて、既存法である肥料等試験法と本法との測定値の比較を行ったところ、カドミウムのみ肥料等試験法が定める真度評価の推奨範囲内であり、適用が可能と判断された(傾きの 95%信頼区間は 0.976～1.04, 切片の 95%信頼区間は -0.0085～0.0889)。なお、鉛は既存法に対して低値となり、ニッケル、クロムは逆に高値となる傾向がみられた。

(3) 各元素 2 種類のモニターイオンを比較し、 ^{111}Cd , ^{208}Pb , ^{60}Ni , ^{52}Cr を本法の検討に用いた。(2)で高値となったニッケル等の値の低減を試みたが、改善はみられなかった。

(4) 鉛、ニッケル及びクロムについて硝酸・過酸化水素によるマイクロ波分解と、開放系王水分解との分解度の比較をしたところ、鉛では有意差が認められたが、ニッケル及びクロムでは有意差は認められなかった。

(5) カドミウムについて、併行精度及び中間精度の確認を行った結果、併行相対標準偏差は 1.6 %～8.5 %、中間相対標準偏差は 4.1 %～12 %であり、肥料等試験法に示されている精度の目安を満たしていた。

(6) カドミウムについて、定量下限等の確認を行った結果、本法における定量下限は 0.1 mg/kg 程度、検出下限は 0.03 mg/kg 程度と推定された。

以上のことから、本法は固形の汚泥肥料中のカドミウム含有量を測定するために、十分な性能を有していることが確認された。

謝 辞

本試験の取りまとめに際し、解析手法等についてご指導いただきました国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所 安井明美博士及び内藤成弘博士に深謝いたします。

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(2015)
< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf >
- 4) 農林水産省:汚泥肥料中の重金属管理手引書 改訂第 1 版 平成 27 年 3 月, p.2~6 (2015)
- 5) 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 >
- 6) 廣井利明, 恵智正宏, 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)

- 7) 博多幸子, 中野憲, 神尾典子, 高野美紀子, 安部幸雄, 片平大造, 伊藤岩夫: マイクロウェーブ分解法と誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS 法) を用いた食品中の金属多元素迅速一斉分析法の検討, 福島県衛生研究所年報 **20**, 75~80 (2002)
- 8) 芦塚由紀, 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) 環境省: 無機元素の多元素同時測定法 (酸分解/ICP-MS 法)
- 10) 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
- 11) 社団法人日本分析化学会関東支部: ICP 発光分析・ICP 質量分析の基礎と実際 - 装置を使いこなすために -, オーム社, p.146~160 (2008)
- 12) 毛利孝明: トレースアナリシスにおける問題点, 香川県環境保健研究センター, 創刊号, 35~40 (2002)
- 13) 榊原良成, 井上智江: 汚泥肥料中のクロム試験法の妥当性確認 - 測定操作の評価 -, 肥料研究報告, **2**, 130~136 (2009)
- 14) Codex: "Guideline on Analytical Terminology", CAC/GL 72-2009 (2009)

Determination of Heavy Metals in Sludge Fertilizers using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (ICP-MS)

Toshiharu YAGI¹, Kenta SAKUMA¹ and Yoshimi HASHIMOTO¹

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

The proper applicability to the analytical method for the heavy metals (Cd, Pb, Ni, Cr) in sludge fertilizers was studied. The sludge fertilizer that contains heavy metals was digested by microwave, after digestion nitric acid and hydrogen peroxide was added to sample. Heavy metals were measured by ICP-MS, using Rh and Re as an internal standard substance. 26 samples were compared in measurement values with existing method (aqua regia decomposition-atomic absorption method) and this method. Only Cd was within the recommended range of trueness evaluation criteria (95% confidence interval of slope: 0.976 ~ 1.04, 95 % confidence interval of intercept: -0.0085 ~ 0.0889) defined in The Testing Methods for Fertilizers provided by the Food and Agricultural Materials Inspection Center. In addition, Pb was low values against the existing method, Ni, Cr were high values against the existing method. The degree of digestions were compared between the aqua regia decomposition-atomic absorption method (open system), the microwave digestion-ICP-MS and the microwave digestion-atomic absorption method. Degree of digestion for Cd was equivalent in the both digestion systems and methods. However, with respect to Pb, it was realized significant differences between digestionsystems and methods. The values of Ni differ significantly in both methods, but not in digestion systems. As to Cr, it was shown the significant differences in both methods, but not in both digestion systems. According to the above results, an ICP-MS method for the determination was validated as a single-laboratory validation specialized in Cd. As a result of duplicate test per 5 tests on different days using two analytical samples, repeatability relative standard deviations (RSD_r) were 1.6 % ~ 8.5 % and intermediate relative standard deviations ($RSD_{(T)}$) were 4.1 % ~ 12 %, respectively. As a result, they were within the criteria of repeatability and intermediate precision of the Testing Methods for Fertilizers. On the basis of 7 replicate measurements of naturally contained samples, the LOQ values were 0.1 mg/kg for Cd in the sludge fertilizers. Those results indicated that the developed method was valid for the determination of Cd.

Key words sludge fertilizer, microwave digestion, inductively coupled plasma - mass spectrometer (ICP-MS), heavy metal, cadmium, single-laboratory validation

(Research Report of Fertilizer, 9, 21-32, 2016)

4 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による有機質肥料及び

それを含む肥料中のメラミンの測定

船水悦子¹

キーワード メラミン, 石灰窒素, 有機質肥料, 高速液体クロマトグラフ

1. はじめに

今般, 石灰窒素(肥料・農薬)のうち石灰窒素粉状品に水を加えて造粒した粒状製品について, メラミンの含有量が高い製品があることが確認された¹⁾. メラミンは作物によっては吸収し蓄積することがあり²⁾, メラミンとその関連物質であるシアヌル酸が同時に生体内に取り込まれることで健康被害を引き起こすことが知られている³⁾. 石灰窒素及び石灰窒素を原料とする肥料中のメラミンについては, 平成 25 年 3 月 25 日付けで農林水産省消費・安全局より暫定許容値を 0.4 %とする旨通知されている⁴⁾.

有機質を含まない肥料中のメラミン及びその関連物質であるアンメリン, アンメリド及びシアヌル酸(以下「メラミン等」という。)の分析法として, 誘導体化操作を必要としない迅速で汎用性のある試験法として HPLC 法が検討され, 単一試験室内における試験方法の妥当性確認⁵⁾及び共同試験⁶⁾を実施し, 満足な結果を得た. HPLC 法は肥料中のメラミン及びその関連物質の分析法として肥料等試験法⁷⁾に記載された. なお, 有機質を含む肥料については, 測定対象物質付近に定量を妨害するピークが認められたため, 測定対象から除外された. 有機質を含む肥料は定量を妨害する夾雑ピークが多く, HPLC 法ではメラミン等 4 成分を同時測定することは困難である.

今回, 既存の HPLC 法を参考に, 測定対象物質をメラミンに限定し, 有機質を含む肥料中のメラミンの測定法を検討したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 供試試料

有機質肥料 9 種類, 有機質を含む化成肥料 7 種類, 有機質を含む配合肥料 2 種類及び有機質を含む指定配合肥料 2 種類をそれぞれ目開き 500 μm のふるいに通し, 通過したものをを用いた. 共試試料はポリエチレン袋に入れ, 常温で保存した.

2) 試薬等の調製

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水.
- (2) アセトニトリル: HPLC 用試薬.
- (3) メタノール: 特級試薬.
- (4) ジエチルアミン: 特級試薬.
- (5) 塩酸: 有害金属測定用試薬.
- (6) メタリン酸: 特級試薬.

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

(7) トリクロロ酢酸： 特級試薬.

(8) 酢酸： 特級試薬.

(9) りん酸塩緩衝液： JIS K 9020 に規定するりん酸水素二ナトリウム 0.237 g 及び JIS K 9009 に規定するりん酸二水素ナトリウム二水和物 0.520 g を水に溶かして 1000 mL とした. HPLC の溶離液に使用する場合は, 親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過した.

(10) メラミン標準液(0.5 mg/mL)： メラミン 0.05 g をその質量を 0.1 mg の桁まではかりとり, 水に溶かして 100 mL とした.

(11) 検量線用標準液(0.05 $\mu\text{g/mL}$ ~5 $\mu\text{g/mL}$)： メラミン標準液(0.5 mg/mL)をアセトニトリル-りん酸塩緩衝液(82+18)で順次希釈して 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ~5 $\mu\text{g/mL}$ の濃度の検量線用標準液を調製した.

3) 器具及び装置

(1) 高速液体クロマトグラフ(HPLC)： 島津製作所 LC-VP シリーズ

(2) 分析カラム： 東ソー TSKgel Amide-80 (内径 4.6 mm, 長さ 250 mm, 粒径 5 μm)

(3) 分析ガードカラム： 東ソー TSKgel guardgel Amide-80 (内径 3.2 mm, 長さ 15 mm)

(4) 超音波発生器： ヤマト科学 B5200

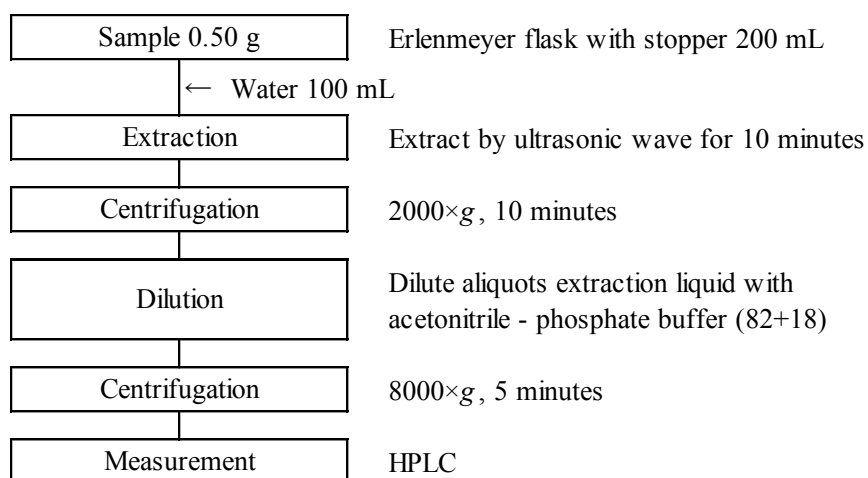
(5) 遠心分離機： KUBOTA 8410

(6) 高速遠心分離機： HITACHI CT15E

4) 試験操作

(1) 抽出

分析試料 0.50 g をはかりとり, 共栓三角フラスコ 200 mL に入れた. 抽出溶液として水を 100 mL 加え, 超音波発生器を用いて 10 分間超音波処理を行った. 静置後, 上澄み液を 50 mL 容の共栓遠心沈殿管にとり, 2000 $\times g$ で約 10 分間遠心分離し, 上澄み液を抽出液とした. 抽出液の一定量を 50 mL 容の全量フラスコにとり, 標線までアセトニトリル-りん酸塩緩衝液(82+18)を加えて希釈した. 希釈液を 1.5 mL 容の共栓遠心沈殿管にとり, 8000 $\times g$ で約 5 分間遠心分離し, 上澄み液を HPLC 測定用試料溶液とした(Scheme. 1).



Scheme 1 Method flow sheet of melamine in organic fertilizer and fertilizer containig organic matter

(2) 測定

各検量線用混合標準液 10 μL を HPLC に注入し、Table 1 の HPLC 条件で測定し、得られたピーク面積から検量線を作成した。試料溶液 10 μL を HPLC に注入し、ピーク面積から検量線により試料溶液中のメラミン等の量を求め、分析試料中の濃度を算出した。

Table 1 HPLC conditions

Column	TOSOH corporation TSKgel Amide-80 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm particle size)
Guard column	TOSOH corporation TSKgel guardgel Amide-80 (3.2 mm \times 15 mm)
Column temperatures	40 $^{\circ}\text{C} \pm 1$ $^{\circ}\text{C}$
Mobile phase	Acetonitrile - phosphate buffer (82+18)
Flow rate	1.0 mL/min
Detector system	UV detector at a wavelength of 214 nm

3. 結果及び考察

1) 測定条件の検討

分析用試料としてなたね油かす及び大豆油かすを用い、肥料等試験法⁷⁾に収載の HPLC 法(有機質を含まない肥料)により分析を行ったところ、メラミンの定量を妨害する夾雑ピークが認められた。測定条件を調整することでメラミンピークと夾雑ピークが分離可能か検討した結果、溶離液の組成をアセトニトリル-5 mmol/L リン酸塩緩衝液(82+18)にすることでメラミンピークと夾雑ピークを分離することができた。

HPLC 条件を Table 1 に、メラミン検量線用標準液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 相当量)の HPLC クロマトグラムを Fig.1 に示した。設定した測定条件におけるメラミンのピーク形状及び分離度は満足するものであった。0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 相当量の検量線用混合標準液を調製し、本法に従って検量線を作成した。その結果、0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 相当量の範囲で直線性のある検量線が得られた(Fig.2)。

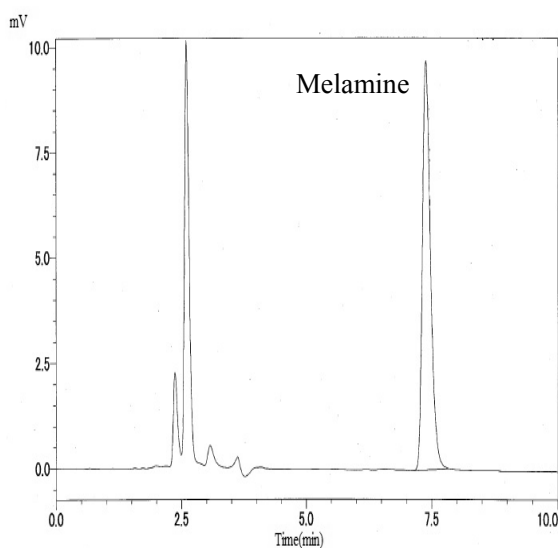


Fig.1 HPLC chromatogram of melamine
Melamine standard solution (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)
HPLC condition is shown Table 1.

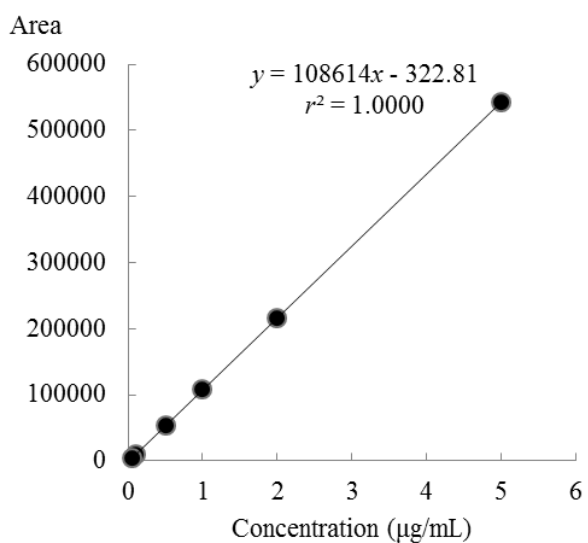


Fig.2 Calibration curve for melamine

2) 抽出溶液の検討

分析用試料としてなたね油かすを用いて抽出溶液の検討を行った結果を Table 2 に示した。

抽出溶液として水, アセトニトリル-水 (1+1), メタノール-水 (5+1), アセトニトリル-水-ジエチルアミン (5+4+1), 塩酸 (1+15), 塩酸 (1+30), 塩酸 (1+150), トリクロロ酢酸水溶液 (5 g/100 mL), メタリン酸水溶液 (5 g/100 mL) 及び酢酸 (0.1 mol/L) を用い, なたね油かすにメラミン濃度が質量分率 0.1 % になるよう標準液を添加した試料及びメラミンを添加しない試料の分析を行った。全ての抽出溶液において定量を妨害する夾雑ピークは検出されず, 0.1 % 添加試料の回収率は 88.7 % ~ 98.5 % であった。抽出溶液の pH は 0 ~ 14 の範囲で, 最も pH の低い塩酸 (1+15) の添加回収率が 88.7 % であり, 他の抽出溶液と比較すると若干低い値となった。各抽出溶液のクロマトグラムを比較したところ, ピークの状態に大きな差はなかったため, 有機溶剤, 酸及びアルカリを加えることなく, 抽出溶液は水のみを用いることとした。

Table 2 Comparison of extraction solvent

Extraction solvent	pH of extract	Content (%)	Measured value ^{a)} (%)	Recovery (%)
Water	7	0.1	0.098	98.5
Acetonitril-water (1+1)	7	0.1	0.095	94.6
Methanol-water (5+1)	9	0.1	0.091	90.9
Acetonitril-water-diethylamine (5+4+1)	14	0.1	0.096	95.6
Hydrochloric acid-water (1+15)	0	0.1	0.089	88.7
Hydrochloric acid-water (1+30)	0	0.1	0.091	91.1
Hydrochloric acid-water (1+150)	1	0.1	0.097	97.4
Trichloroacetic acid (5 g/100 mL)	0	0.1	0.095	94.7
Metaphosphoric acid (5 g/100 mL)	1	0.1	0.090	89.5
Acetic acid (0.1 mol/L)	3	0.1	0.091	90.6

a) $n=1$

3) 抽出時間の検討

分析用試料として石灰窒素有機入り化成肥料及びなたね油かすを用いて抽出時間の検討を行った結果を Fig.3 に示した。

肥料等試験法⁷⁾に記載の HPLC による肥料中のメラミン関連物質の測定方法 (有機質を含まない肥料) では, メラミン, アンメリン, アンメリド及びシアヌル酸の 4 成分全てを抽出溶液に溶解させるために, 抽出時間を 30 分と長く設定している。今回は分析対象物質がメラミンのみなので, 抽出時間を短縮することが可能か検討した。メラミンを 0.2 % 程度含有する石灰窒素有機入り化成肥料及びなたね油かすにメラミン濃度が質量分率 0.1 % になるよう標準液を添加した試料を用い, 水 100 mL を加え, 0, 5, 10, 20, 30 分超音波抽出を行った。結果, 石灰窒素有機入り化成肥料は測定値が質量分率 0.18 % ~ 0.20 % の範囲で推移し, 5 分以降は抽出時間による差は認められなかった。なたね油かすは測定値が質量分率 0.068 % ~ 0.092 %, 回収率が 67.7 % ~ 92.5 % の範囲で推移し, 10 分以降は抽出時間による差は認められなかった。以上の結果より, 抽出時間を 10 分とすることとした。

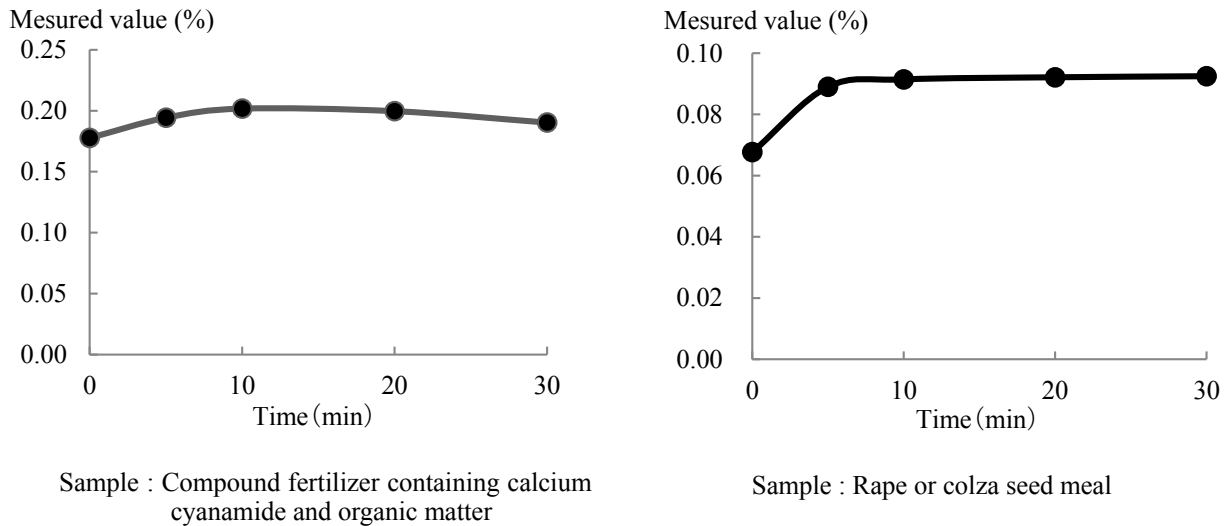


Fig.3 Comparison of extraction time

(%): Mass fraction

4) 抽出液の pH によるメラミンの安定性への影響の検討

分析用試料として春雨粕を用いて試料溶液の pH によるメラミンの安定性への影響を調査した結果を Table 3 に示した。

流通肥料を本法に従って調製した抽出液の pH は 4~10 と広い範囲を示したことから、抽出液の pH がメラミンの安定性に与える影響を調査することとした。メラミンを質量分率 1.2 %程度含有する春雨粕を分析用試料として用い、抽出操作により得られた抽出液 40 mL を 50 mL ビーカーにとり、pH 2, pH 4, pH 7 及び pH 10 となるよう調整した。pH を調整した抽出液を 50 mL 容全量フラスコに移し込み、標線まで水を加えた。pH 未調整の抽出液(pH 5)についても 40 mL を 50 mL 容全量フラスコにはかりとり、標線まで水を加えた。定容した抽出液の一定量を 50 mL 容の全量フラスコにとり、標線までアセトニトリルーリン酸塩緩衝液(82+18)を加えて希釈した。希釈液を 1.5 mL 容の共栓遠心沈殿管にとり、8000×g で約 5 分間遠心分離し、上澄み液を HPLC 測定用試料溶液とし、抽出直後、20 時間後及び 45 時間後に HPLC により測定を行い、メラミンの安定性を確認した。結果、抽出液の pH がメラミンの安定性には影響を与えることはなく、測定値は pH 2~pH 10 のいずれの抽出液においても質量分率 1.2 %程度で 45 時間安定していた。

Table 3 Effect of pH of the extract on stability of melamine

Lapse time (hours)	Measured value in the solution on each pH ^{a)}				
	pH 2	pH 4	pH 5.4	pH 7	pH 10
0	1.23	1.24	1.23	1.24	1.25
20	1.22	1.24	1.22	1.23	1.23
45	1.23	1.24	1.22	1.23	1.22

a) Measured value after standing certain period in the extract of vermicelli dregs adjusted to each pH

5) 添加回収試験

なたね油かす 1 点, 大豆油かす 1 点, 石灰窒素有機入り化成肥料 1 点, 有機入り化成肥料 1 点及び有機入

り配合肥料 1 点にメラミンとして質量分率 2 %, 0.4 %及び 0.1 %をそれぞれ添加し, 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. 回収率は質量分率 2 %で 94.6 %~99.8 %, 0.4 %で 92.4 %~98.5 %及び 0.1 %で 93.1 %~98.4 %であり, 肥料等試験法⁷⁾に示されている回収率の目標以内であった.

Table 4 Result of recovery test for melamine

Sample name	Content of melamine (%) ^{a)}	Mean recovery ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	Criteria of the truness ^{d)} (%)
Rape or colza seed meal	2	94.6	1.1	85~110
	0.4	95.6	0.9	85~110
	0.1	96.3	0.6	85~110
Soybean meal	2	95.2	2.5	85~110
	0.4	92.4	3.4	85~110
	0.1	93.1	1.8	85~110
Compound fertilizer containing calcium cyanamide and organic	2	98.2	0.4	85~110
	0.4	98.5	0.1	85~110
	0.1	97.6	2.1	85~110
Compound fertilizer containing organic	2	99.8	1.2	85~110
	0.4	97.9	0.8	85~110
	0.1	96.2	2.2	85~110
Mixed fertilizers containing organic	2	98.6	3.0	85~110
	0.4	97.7	5.6	85~110
	0.1	98.4	2.2	85~110

a) Mass fraction

b) $n=3$

c) Relative standard deviation

d) Criteria of the truness (recovery) of Testing Methods for Fertilizer requires

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, 大豆油かすにメラミンが質量分率 2 %となるよう標準液を添加した試料及び有機入り化成肥料にメラミンが質量分率 0.1 %となるよう標準液を添加した試料を用い, それぞれ 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 及び Table 6 に示した.

大豆油かすのメラミンの平均値は質量分率 1.91 %, 併行相対標準偏差は 1.7 %, 中間相対標準偏差は 2.2 %, 有機入り化成肥料のメラミンの平均値は質量分率 0.100 %, 併行相対標準偏差は 1.4 %, 中間相対標準偏差は 2.5 %であり, いずれの相対標準偏差も肥料等試験法⁷⁾に示されている精度の目安以内であった.

Table 5 Intermediate precision of confirmatory test results by the day

Day	% (Mass fraction)			
	Soybean meal		Compound fertilizer containing organic material	
	(Content of melamine: 2 %)		(Content of melamine: 0.1 %)	
1	1.94	1.85	0.0979	0.0938
2	1.94	1.93	0.100	0.100
3	1.90	1.92	0.100	0.100
4	1.85	1.90	0.101	0.102
5	1.95	1.97	0.102	0.101

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

Sample name	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)} (%)
Soybean meal	1.91	0.03	1.7	4	0.04	2.2	6.5
Compound fertilizer ⁱ⁾	0.100	0.001	1.4	4	0.002	2.5	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) Compound fertilizer containing organic material

7) 定量下限の確認

大豆油かす 1 点を用いたメラミンの定量下限確認の試験結果を Table 7 に示した。大豆油かすにメラミンとして質量分率 0.04 %を添加して 7 点併行試験を実施したところ、本法の定量下限は質量分率 0.02 %程度と推定された。また、本法の検出下限は質量分率 0.007 %程度と推定された。

Table 7 Calculated *LOQ* and *LOD* values

Sample name	Content of melamine (%) ^{a)}	Mean value ^{b)} (%) ^{a)}	<i>SD</i> ^{c)} (%) ^{a)}	<i>LOQ</i> ^{d)} (%) ^{a)}	<i>LOD</i> ^{e)} (%) ^{a)}
Soybean meal	0.04	0.039	0.002	0.02	0.007

a) Mass fraction

b) $n=7$

c) Standard deviation

d) Standard deviation $\times 10$

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

8) 流通肥料の分析

有機質肥料としてなたね油かす 2 種類, 大豆油かす 1 種類, 魚かす粉末 3 種類, カポック油かす 1 種類, 蒸製皮革粉 1 種類及び春雨粕 1 種類, 有機質を含む化成肥料として石灰窒素を含む肥料 2 種類, 含まない肥料 5 種類, 有機質を含む配合肥料 2 種類及び有機質を含む指定配合肥料 2 種類を本法に従って測定した。

有機質肥料については, 魚かす粉末 3 種類、蒸製皮革粉及び春雨粕でメラミンピークと同位置にピークが検出された。魚かす粉末で検出されたピークについては, メラミンとして質量分率 0.01 %~0.04 % 検出され, 抽出溶液の検討, 測定条件の検討及び抽出カラムの検討を行ったが, 除去することが出来なかった。魚かす粉末中にメラミンが混入している可能性も考え, 魚かす粉末 1 種類について, 飼料分析基準⁸⁾に記載の液体クロマトグラフトンデム型質量分析計による測定法を用いて分析を行った。結果, メラミンは検出されず, 魚かす粉末で検出されたピークはメラミンではなく夾雑ピークであることを確認した。以上の結果より, 本試験法は魚かす粉末を測定対象から除くこととした。蒸製皮革粉については, メラミンとして質量分率 0.008 % 程度検出されたが, 本試験法のメラミンの検出下限が 0.007 % 程度であることから, 分析に影響を及ぼさない程度の夾雑ピークと考えられる。春雨粕については, 肥料等試験法⁷⁾に記載のガスクロマトグラフ質量分析計法でメラミンの含有が確認されているサンプルであり, メラミンとして質量分率 1.2 % 検出された。その他の有機質肥料については, 定量を妨害する夾雑ピークは検出されなかった。

有機質を含む化成肥料については, 石灰窒素を含む肥料 2 種類でメラミンピークと同位置にピークが検出された。石灰窒素を含む肥料であることから, 検出されたピークはメラミンであると考えられる。含有量は質量分率 0.01 %~0.18 % であった。石灰窒素を含まない肥料については, 定量を妨害する夾雑ピークは検出されなかった。

配合肥料及び指定配合肥料については, 定量を妨害する夾雑ピークは検出されなかった。

4. まとめ

有機質肥料及びそれを含む肥料中のメラミンの試験法の検討を行ったところ, 次のとおりの成績を得た。

- (1) 既存の HPLC 法の溶離液の比率を調整することで, 夾雑ピークとメラミンピークの分離が可能であった。
- (2) 検量線は 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ~ 5 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性を示し, 決定係数は $r^2=0.999$ 以上であった。
- (3) 抽出溶液を検討した結果, 水を抽出溶液として用いることとした。
- (4) 石灰窒素中のメラミンの暫定許容値 0.4 % (質量分率) を基準とし, 5 種類の有機質肥料及びそれを含む肥料に, メラミンとして質量分率 2 %, 0.4 % 及び 0.1 % となるよう添加し, 3 点併行分析を実施した。平均回収率

は 92.4 %～99.8 %であり、肥料等試験法に示されている真度(回収率)の目標を満たしていた。

(5) 大豆油かす及び有機入り化成肥料にメラミンとして質量分率 2.0 %及び 0.1 %となるようにそれぞれ添加し、2 点併行で日を変えて 5 日間試験を実施し、併行精度及び中間精度の確認を行った。併行相対標準偏差は 1.4 %～1.7 %、中間相対標準偏差は 2.2 %～2.5 %であり、肥料等試験法に示されている精度の目安を満たしていた。

(6) 大豆油かすにメラミンとして質量分率 0.04 %となるよう添加し、7 点併行試験を実施し定量下限と検出下限の確認を行った結果、本試験法におけるメラミンの定量下限は質量分率 0.02 %程度、検出下限は質量分率 0.007 %程度と推定された。

(7) 20 種類の有機質及びそれを含む流通肥料中のメラミンを測定した結果、魚かす粉末でメラミンの定量を妨害する夾雑ピークが確認されたため、本試験法は魚かす粉末を測定対象外とすることとした。

以上の結果より、本試験法は、有機質肥料及びそれを含む肥料中のメラミンを測定するために十分な性能を有していることを確認した。

文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課長通知:石灰窒素の肥料登録に関する当面の取扱いについて、平成 23 年 4 月 15 日, 23 消安第 524 号 (2011)
- 2) 阿部文浩, 八木寿治, 坂東悦子:メラミンを添加した土壌におけるコマツナに対する害の確認試験とメラミン等の吸収, 肥料研究報告, **5**, 101~107 (2012)
- 3) 食品安全委員会:メラミン等による健康影響について, 平成 20 年 10 月 9 日 (2008)
- 4) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課長通知:石灰窒素中のメラミンの暫定許容値の設定について, 平成 25 年 3 月 25 日, 24 消安第 6116 号 (2013)
- 5) 坂東悦子, 白井裕治:高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測定, 肥料研究報告, **6**, 27~35 (2013)
- 6) 坂東悦子, 甲斐茂浩:高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測定ー共同試験成績ー, 肥料研究報告, **7**, 10~21 (2014)
- 7) 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>
- 8) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):飼料分析基準
<<http://www.famic.go.jp/ffis/feed/bunseki/bunsekikijun.html>>

Determination Method for Melamine in Organic Fertilizer and Fertilizer Containing Organic Matter using High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)

Etsuko FUNAMIZU¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

An HPLC method for determination of melamine in organic fertilizer and fertilizer containing organic matter was developed and validated as a single-laboratory validation. The melamine was extracted from analytical sample with water. The extract was centrifuged, and a portion of the supernatant was diluted with mobile phase. The melamine was analyzed by HPLC on carbamoyl-modified silica gel column with UV detection at 214 nm. As a result of 3 replicate analysis of 5 fertilizer samples spiked with melamine at 2 %, 0.4 % and 0.1 % (mass fraction), the mean recovery of melamine was 92.4 % ~ 99.8 %. In the train of duplicate analysis per 5 days, the repeatability and intermediate precision of melamine were 1.4 % ~ 1.7 % and 2.2 % ~ 2.5 %, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of melamine added to samples, the *LOQ* value was 0.02 %. These results demonstrated that this method was validated for the determination of melamine in organic fertilizer and fertilizer containing organic matter with the exception of fish meal.

Key words melamine, calcium cyanamid, organic fertilizer, HPLC, single-laboratory validation

(Research Report of Fertilizer, **9**, 33-42, 2016)

5 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のりん酸の測定

―く溶性りん酸試験法の改良―

廣井利明¹, 山西正将¹

キーワード 亜りん酸, 亜りん酸塩, 固形肥料, く溶性りん酸, 王水, 吸光光度分析法

1. はじめに

亜りん酸(ホスホン酸: H_2PHO_3)はオルトリン酸(H_3PO_4)に比較して、水への溶解度が高く、亜りん酸及び亜りん酸塩(以下、亜りん酸(塩)という。)を含む肥料を使用して作物に葉面散布した場合や養液栽培した場合、従来のオルトリン酸塩を含む肥料に比べて着果等の増加が報告され、亜りん酸を含む葉面散布用の肥料が多く流通するようになってきている¹⁾。一方で、植物は亜りん酸を直接吸収利用できないとの報告もされるようになり²⁾、肥料としての亜りん酸の利用が注目されている。

近年、亜りん酸(塩)を含む固形肥料で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が、現状では、当該成分の試験法が肥料分析法³⁾及び肥料等試験法⁴⁾に記載されていない。このため、2014年度の調査研究課題において、試験法が検討⁵⁾され肥料等技術検討会の審議を受けた。本年度はその方法の室間再現精度確認のための共同試験が計画されていた。しかしながら、本年度に入り共同試験準備として2014年度に検討した試験法を用いて、供試肥料の成分確認試験を実施したところ、一部の肥料において試料溶液に残存した硫酸の影響と考えられる正の系統誤差を生ずることが判明した。

このため、く溶性りん酸試験法を改良することとし、試料溶液中の亜りん酸を塩酸及び硝酸を加えて加熱酸化した後、モリブデン量の多い発色試薬溶液(肥料分析法³⁾におけるb試薬)を用いたバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法により測定する方法について検討し、単一試験室での妥当性確認を行ったのでその概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

(1) 自己調製試料

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、純度99%以上の試薬及び肥料認証標準物質FAMIC-A-13(以下、「肥料標準A-13」という。)を用いた。亜りん酸を含み、く溶性りん酸を保証している流通肥料をX線回折装置を用いてその結晶構造を調査したところ、亜りん酸カルシウムの形態となっていることが認められた。試薬の亜りん酸カルシウム一水和物($\text{CaPHO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)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(20 mg/mL)には溶解する物質であったため、この試薬を原料として使用することとした。肥料標準A-13については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。

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

配合設計の作成に当たっては、亜りん酸カルシウム一水和物の量が質量分率 100 %～質量分率 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 (C-P₂O₅)として質量分率 51.40 %～質量分率 0.206 %含有する試験品 1～8 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。

Material		C-P ₂ O ₅ ^{a)}
A	Calcium phosphonate (CaHPO ₃)	51.40 ^{b)}
B	Fertilizer certificated reference material FAMIC-A-13	10.79 ^{c)}
C	Ammonium sulfate	0.00
D	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)}		
1	100				51.40	51.40
2	60	40			35.16	30.84
3	30	70			22.97	15.42
4	20		40	40	10.28	10.28
5	10		45	45	5.14	5.14
6	5		47.5	47.5	2.57	2.57
7	2		49	49	1.03	1.03
8	0.4		49.8	49.8	0.206	0.206

a) These are materials 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) 流通肥料

市販の亜りん酸(塩)由来のく溶性りん酸を含む固形肥料約 300 g を目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎、混合し、試験品 9～14 を調製した。試験品はポリエチレン袋に入れ密封し常温で保管した。肥料の種類及び亜りん酸の由来する原料を Table 3 に示した。

Table 3 Phosphonic acid source of fertilizers used in this study

Number of analytical sample	Type of fertilizer	Phosphonic acid source
9	Processed phosphate fertilizer	Phosphonic acid
10	Byproduct phosphate fertilizer	Calcium phosphonate
11	Compound fertilizer	Phosphonic acid
12	Compound fertilizer	Phosphonic acid
13	Compound fertilizer	Calcium phosphonate
14	Absorption mixed fertilizer	Potassium phosphonate

2) 試薬

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水を使用した。
- (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) 塩酸: JIS K 8180 に規定する試薬。
- (6) 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。
- (7) アンモニア水: JIS K 8085 に規定する試薬。
- (8) りん酸標準液 (P_2O_5 10 mg/mL): JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウムを $105\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ で約 2 時間加熱し、デシケーター中で放冷した後、19.17 g をひょう量皿にはかりとり、少量の水で溶かし、全量フラスコ 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。
- (9) 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。
- (10) 発色試薬溶液 (a 試薬): 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。
- (11) 発色試薬溶液 (b 試薬): 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 150 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 50 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) 砂浴
- (5) 分光光度計: 島津製作所 UV-1800

4) 試験方法

(1) 2014 年度検討法(硝酸-硫酸分解法)[下記 3. 2)の検討で用いた方法]

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、放冷後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+5)を加えて微酸性とし室温まで放冷した。発色試薬溶液(a 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 の吸光度を測定した(Scheme 1)。

(2) 改良法(王水酸化法)

[上記(1)の改良のため、下記 3.3)~3.7)で各条件を検討し、3.8)~3.12)での性能確認に用いた方法]

上記(1)と同様に調製した試料溶液の一定量をトルビーカー 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。

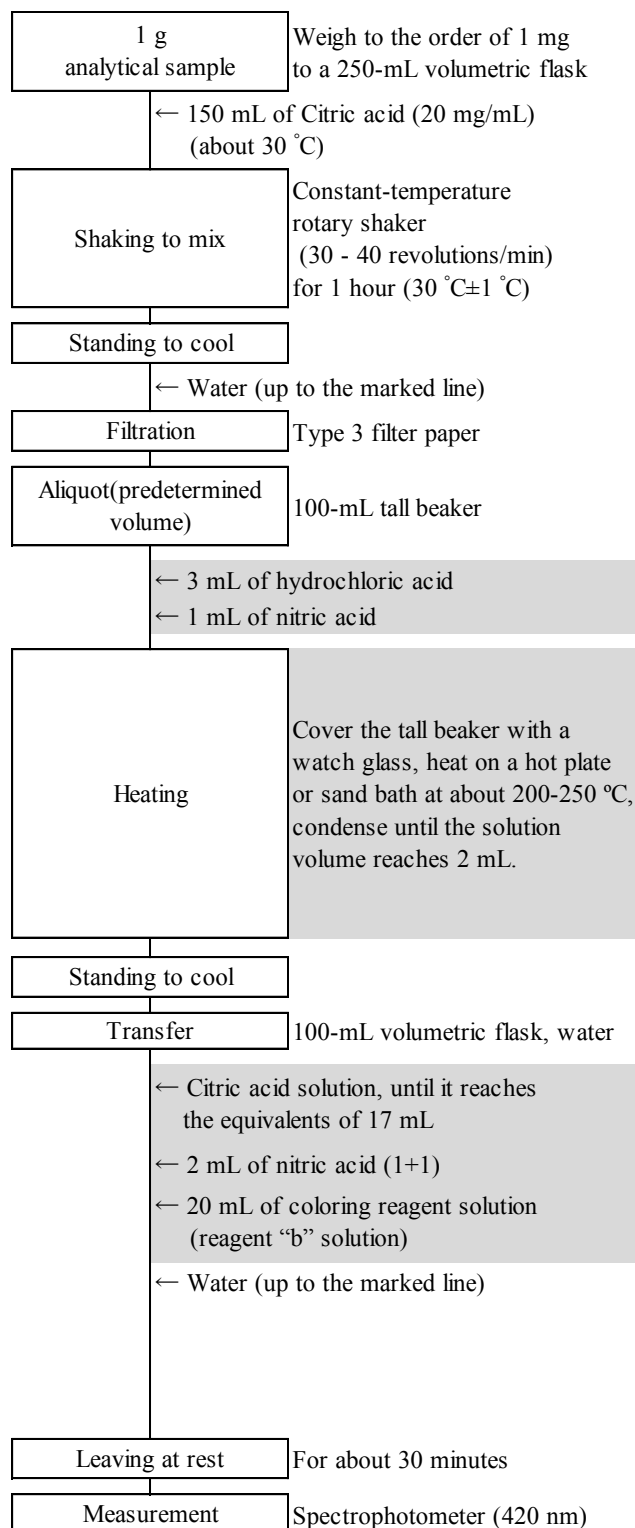
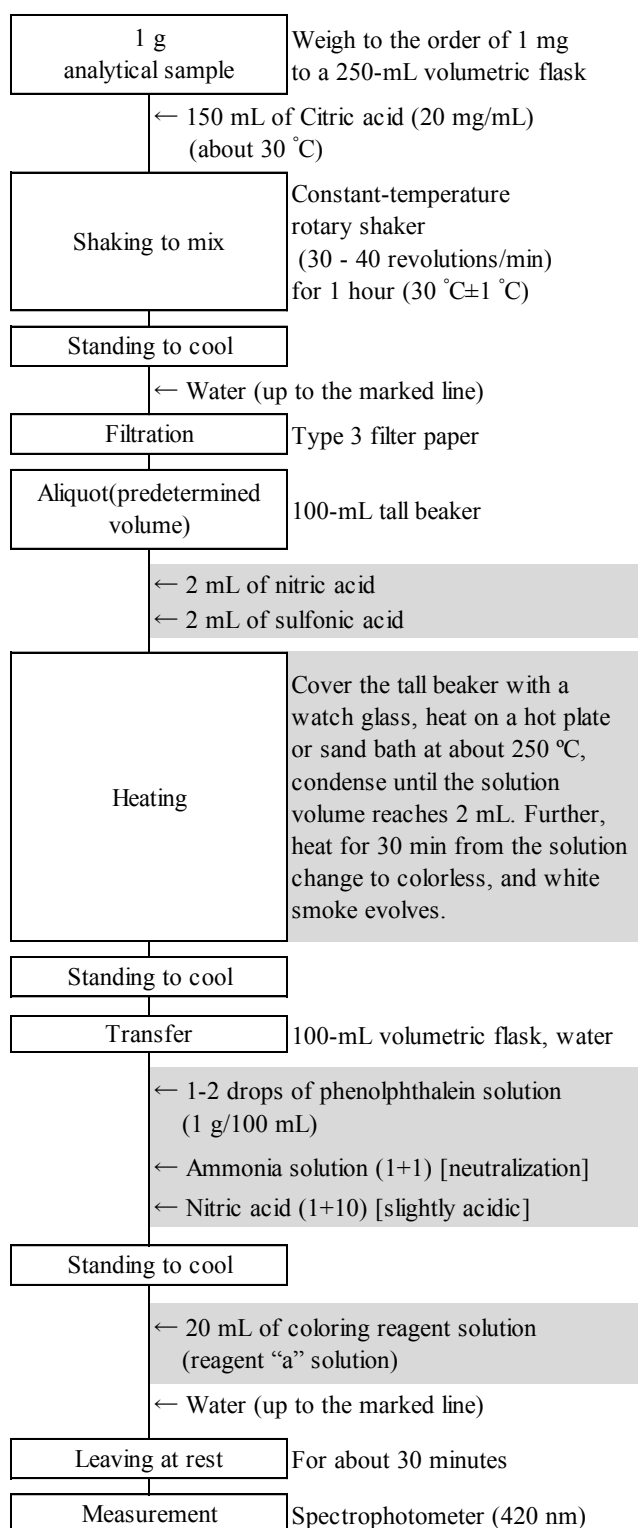
りん酸標準液(P_2O_5 0.5 mg/mL) 1 mL ~ 12 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり、くえん酸溶液 17 mL を加え、硝酸(1+1) 4 mL を加え、更に適量の水を加えた。発色試薬溶液(b 試薬) 20 mL を加え、標線まで水を加えた後、約 30 分間放置し分光光度計で波長 420 nm の吸光度を測定した(Scheme 2)。

(3) 既存の方法(ケルダール硫酸分解法)

[下記 3.9)において上記(2)の改良法との比較試験に用いた方法]

肥料等試験法⁴⁾のりん酸全量試験法として収載されているケルダール硫酸分解法に準じた。

上記(1)と同様に調製した試料溶液の一定量をケルダール硫酸分解し、試料溶液中のりん酸全量を測定し、く溶性りん酸とした。なお、測定にあたって硫酸による発色への影響を考慮し測定用溶液 100 mL 中に硫酸が 0.5 mL 以下となるように分取した。



Scheme 1 The method that was developed in 2014
The flow sheet for citric acid-soluble phosphorus (P_2O_5)
in solid fertilizers containing phosphonic acid

Scheme 2 The improving method in 2015
The flow sheet for citric acid-soluble phosphorus (P_2O_5)
in solid fertilizers containing phosphonic acid

3. 結果及び考察

1) 昨年度(2014年度)までの試験法検討経緯

2014年度までに実施されたく溶性りん酸試験法の検討経緯を以下のとおり整理した。

(1) 亜りん酸(塩)を含まない肥料の試験法

肥料分析法³⁾及び肥料等試験法⁴⁾には肥料中のく溶性りん酸(C-P₂O₅)及び水溶性りん酸(W-P₂O₅)の試験法として、溶媒で抽出した後、バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(以下、吸光光度法という。)により発色・測定する方法が収載されている。この方法では、含有する非オルトリン酸をオルトリン酸に酸化するために試料溶液に硝酸(1+1)を加え煮沸する方法がとられている。

(2) 亜りん酸(塩)を含む肥料の試験法

亜りん酸(塩)を含む肥料の場合は上記(1)の方法では亜りん酸が十分酸化されず、定量値が低くなる傾向がある。溶液中の亜りん酸イオンは強い還元剤であり、種々の酸化剤によって定量的に酸化されオルトリン酸イオンになる⁶⁾ことが知られており、既に、亜りん酸(塩)を含む液状肥料の水溶性りん酸試験法が検討され^{7, 8)}、試料溶液中の亜りん酸を塩酸及び硝酸で加熱・酸化し吸光光度法により測定する方法が肥料等試験法⁴⁾に収載された。

近年、亜りん酸(塩)を含む固形肥料で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が、現状では、当該成分の試験法が肥料分析法³⁾及び肥料等試験法⁴⁾に収載されていない。亜りん酸(塩)を含む肥料中のく溶性りん酸の測定を肥料等試験法の水溶性りん酸試験法に準じて測定した場合、試料溶液に含まれるくえん酸が吸光光度法による定量値に影響を与える場合がある⁹⁾。このため、2014年度の調査研究課題において、く溶性りん酸の定量値に影響を与えないようくえん酸を分解するため、試料溶液に硝酸2 mL及び硫酸2 mLを加えて加熱し、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される発色試薬溶液(肥料分析法³⁾における a 試薬)により発色定量する方法が検討され、肥料等技術検討会で報告された⁵⁾(Scheme 1)。

2) 2014年度検討法(硝酸-硫酸分解法)の問題点とその原因調査

本年度、調査研究計画に基づき実施予定の共同試験の準備として2014年度に検討した硝酸-硫酸分解法(Scheme 1)を用いて、供試肥料の成分確認試験を実施したところ、一部の肥料において理論値よりも高い測定値となる場合が多くあったため、確認のための試験を実施した。硝酸-硫酸分解法を用いて亜りん酸カルシウム一水和物及び肥料標準 A-13 のく溶性りん酸をそれぞれ3点併行で分析した。硝酸-硫酸分解における試料溶液残量を約2 mLから約1 mLに変更した方法についても分析した。その結果、試験方法に従い、試料溶液残量を約2 mLとした場合、亜りん酸カルシウム一水和物については理論値(質量分率51.4%)を相対値で2%程度超過し、肥料標準 A-13 については内部品質管理のための上方処置線(認証値+室間再現標準偏差×3)を超過する高めの値(理論値又は認証値に対する割合が101%~106%)となった。試料溶液残量を約1 mLとした場合、3点併行試験のうち2点は理論値又は認証値に近い値(理論値又は認証値に対する割合が98%~99%)となったが、うち1点は濃縮し過ぎるなどして低値となった。

この原因として、硝酸-硫酸分解・濃縮後に残留した硫酸の影響が考えられたため、確認試験を実施した。りん酸標準液に発色試薬溶液(a試薬)を加え測定したもの(標準液①)、りん酸標準液に硫酸2 mL及び硝酸2 mLを加えて硝酸-硫酸分解法で測定したもの(標準液②)について、吸光度を比較した。

その結果、硝酸-硫酸分解法により試料溶液残量を約 2 mL とした標準液②は、標準液をそのまま発色させた標準液①と比較して発色操作後 30 分で 0.02 程度高めの吸光度となり、その後 90 分後までの経時変化は標準液①は吸光度で +0.001 のところ、標準液②は +0.013 と比較的顕著な増加傾向が認められた。硝酸-硫酸分解法により試料溶液残量を約 1 mL までとした標準液③は、硝酸-硫酸分解を行わなかった標準液①と同程度の吸光度となった。

以上のことから、硝酸-硫酸分解法は試料溶液に硫酸が 2 mL 程度残存することによる正の系統誤差及び経時変化があると考えられたため、本年度の計画による共同試験を実施する前に試験法を改良する必要性が生じた。

3) 亜りん酸の酸化方法の選定

硝酸-硫酸分解法を改良する方法として、酸化方法の改良を検討した。上記 2) の結果から試料溶液残量を約 1 mL までとする操作とすることも考えられたが、硫酸を含む試料溶液の濃縮に長時間を要するとともに、濃縮終了の判定に熟練を要し、ばらつきの原因となることが考えられた。そこで、現在流通している亜りん酸(塩)入り固形肥料の品質管理分析実績がある肥料生産業者及び分析機関にく溶性りん酸の試験方法を聞き取り調査した。その結果、比較的多く用いられている方法は、現行の肥料等試験法の亜りん酸(塩)を含む肥料の水溶性りん酸試験法で採用されている塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加えて加熱濃縮(以下、「王水酸化操作」という。)し、発色及び測定操作は肥料等試験法のく溶性りん酸試験法と同様に、発色試薬溶液 b 試薬により測定する方法であったことから、この方法(Scheme 2)を基に、以下の検討を行うこととした。

4) 王水酸化操作及び硝酸(1+1)添加の有無による発色への影響について

王水酸化操作を行うにあたり、バナドモリブデン酸アンモニウム吸光度法において、試料溶液を王水分解した際に塩化ニトロシル(NOCI)が残存するとその還元性によってりん酸の発色が妨げられる場合がある¹⁰⁾ため、その影響を調査する必要がある。また、現行の肥料等試験法⁴⁾く溶性りん酸試験法(以下、「現行法」という。)は、試料溶液及び検量線用標準液にくえん酸溶液 17 mL 相当量及び硝酸(1+1)4 mL を添加し、非オルトリン酸を含む試料溶液については煮沸した後、中和操作を行わず、発色試薬溶液(b 試薬)を添加し測定する方法である。本検討での改良法は「硝酸(1+1)4 mL での煮沸」に変えて、試料溶液中の亜りん酸を酸化するための王水酸化操作を行うが、この王水酸化操作及び硝酸(1+1)4 mL 添加の有無が、標準液の発色に与える影響について、りん酸標準液 P₂O₅ 6 mg/100 mL を用いて、王水酸化操作の有無及び硝酸(1+1)の添加量を変えて、3 点併行試験により吸光度を比較する検討を行った。その結果、Table 4 のとおり、標準液④(現行法の標準液)、標準液⑥(標準液にくえん酸溶液 15 mL、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL 添加し、約 2 mL まで加熱濃縮後、くえん酸溶液 2 mL 及び硝酸(1+1)2 mL を加え測定する方法)の吸光度を比較したところ、同程度の結果となった。発色操作前の硝酸の添加量が多い標準液⑤(王水酸化操作のための硝酸 1 mL + 硝酸(1+1)4 mL = 硝酸 3 mL/100 mL 相当量)は、硝酸 2 mL/100 mL 相当量を含む現行法の標準液④及び⑥と比較して吸光度が低下し、経時変化も大きくなる傾向であった。標準液⑥は王水酸化操作のために硝酸 1 mL 添加、王水酸化操作後に硝酸(1+1)2 mL を添加し、測定溶液中の硝酸の合計量が標準液④と同じ約 2 mL 相当量であるため、同程度の吸光度となったと考えられた。

この結果から、現行法と同時に測定が可能な利便性も考慮し、検量線用標準液は現行法と同じ「くえん酸溶液 17 mL 添加、硝酸(1+1)4 mL 添加し発色試薬溶液 b 試薬で測定する方法」とし、試料溶液は「王水酸化操作後、くえん酸溶液 17 mL 相当量添加、硝酸(1+1)2 mL を加え発色試薬溶液 b 試薬で測定する方法」とし以下の検討を行うこととした。

Table 4 Influence on absorbance of the standard solution by the aqua regia oxidation treatment

	④ ^{a)b)c)}	⑤ ^{a)b)d)}	⑥ ^{a)b)e)}	⑦ ^{a)b)f)}	⑧ ^{a)b)g)}
	Absorbance (abs)	Absorbance (abs)	Absorbance (abs)	Absorbance (abs)	Absorbance (abs)
30 minutes later ^{h)}	1.417	1.405	1.419	1.431	1.428
60 minutes later ^{h)}	1.415	1.399	1.417	1.433	1.429
90 minutes later ^{h)}	1.414	1.394	1.415	1.433	1.428
120 minutes later ^{h)}	1.412	1.389	1.413	1.434	1.428

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

b) Phosphate standard solution (P_2O_5 6 mg/mL),

This corresponds to reagent “b” solution in the Official Methods of Analysis of Fertilizers (1992).

c) Add 17 mL of citric acid solution, then add 4 mL of nitric acid (1+1)

d) Add 15 mL of citric acid solution and 3 mL of hydrochloric acid, 1 mL of nitric acid, then heat and condense until the solution volume becomes 2 mL, further add 2 mL of citric acid solution and 4 mL of nitric acid (1+1)

e) Add 15 mL of citric acid solution and 3 mL of hydrochloric acid, 1 mL of nitric acid, then heat and condense until the solution volume becomes 2 mL, further add 2 mL of citric acid solution and 2 mL of nitric acid (1+1)

f) Add 17 mL of citric acid solution

g) Add 15 mL of citric acid solution and 3 mL of hydrochloric acid, 1 mL of nitric acid, then heat and condense until the solution volume becomes 2 mL, further add 2 mL of citric acid solution

h) It is an elapsed time until the measurement after adding the coloring reagent solution.

5) くえん酸を添加した標準液の発色に王水酸化操作が与える影響について

バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法において、試料溶液中にくえん酸が共存する場合には、モリブデンの一部がマスキングされるため、りん酸発色試薬溶液中のモリブデンを増量する必要がある。ただし、あまり多く増量するとけい酸が発色するため、くえん酸量は一定とし(100 mLの発色溶液中にくえん酸 0.34 g)、その条件下で発色試薬溶液(b 試薬)を用いることとされている⁹⁾。

現行法では、試料溶液の分取量に応じて発色操作前に 100 mL 中のくえん酸溶液(20 mg/mL)量を 17 mL (くえん酸 0.34 g)相当量に揃えて、発色操作を行っている。くえん酸量を一定にするにあたり、王水酸化操作により試料溶液中のくえん酸が分解するなどし発色に影響するかどうか検討した。

トールビーカー 100 mL にりん酸標準液(6 mg 相当量)を入れ、くえん酸溶液 0 mL~18 mL(くえん酸量として 0.00 g~0.36 g 相当量)を段階的に加え、それぞれに、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加えて約 250 °C のホットプレート上で加熱し、液量が約 2 mL となるまで濃縮し、全量フラスコ 100 mL に水で移し込み後、分取量から計算したくえん酸溶液量が 17 mL/100 mL 相当量以下の場合は 17 mL 相当量となるようにくえん酸溶液を添加し、りん酸を測定した結果を Table 5 に示した。

王水酸化操作前のくえん酸溶液添加量 0 mL~17 mL における標準液吸光度(abs)は 1.419~1.423 であり、発色操作前にくえん酸溶液量を 17 mL/100 mL に揃えることで、王水酸化操作の前後どちらでくえん酸溶液を添加しても、定量値に影響することはほとんどないものと考えられた。

この結果から、上記 2) の結果と同じ方法により、以下の検討を行うこととした。

Table 5 Influence of aqua regia oxidation treatment on absorbance of standard solution varying in the citric acid density

Estimated aliquot amount of sample solution (Reference) (mL)	Before the aqua regia oxidation treatment		After the aqua regia oxidation treatment	
	Citric acid solution added amount (A) (mL)	Citric acid added amount (Reference) (g)	Citric acid solution added amount (B) (mL)	Absorbance of standard solution ^{a)b)c)} (abs)
0	0	0.00	17	1.423
2.5	1.5	0.03	15.5	1.421
10	6	0.12	11	1.421
25	15	0.30	2	1.419
30	18	0.36	0	1.420

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

b) P_2O_5 6 mg/mL

c) Add predetermined volume (A) of citric acid solution and 3 mL of hydrochloric acid, 1 mL of nitric acid, then heat and condense until the solution volume becomes 2 mL, further add the citric acid solution (B) to make the equivalents of 17 mL of the citric acid solution and 2 mL of nitric acid (1+1).

6) 王水酸化操作の加熱終了条件について

王水酸化操作をする際に、亜りん酸を完全にオルトリン酸化するための加熱終了条件を検討するため、2.1) (1) Table 2 の試験品 1 及び試験品 6 を用い加熱濃縮による試料溶液残量を数段階に変えた試料溶液を調製し定量値を比較した。なお、試料溶液残量の確認方法は空のトールビーカーに水 1 mL~5 mL を段階的に入れたものと目視で比較し判断した。試験品のく溶性りん酸設計値はそれぞれ質量分率 51.4 %, 質量分率 2.57 % である。加熱温度は、試料溶液の濃縮時間の短縮と市販の加熱器具で設定が可能であることなどを考慮して 250 °C で行った。その結果、Table 6 のとおり、試料溶液残量が約 1 mL~3 mL の場合に、2 濃度の試料の設計成分量に対する回収率が 98 %~100 % となった。試料溶液残量を 5 mL 以下まで濃縮したことで、酸濃度が濃くなり、酸化力が強くなり、亜りん酸をオルトリン酸化することができたと考えられる。また、試料溶液残量を 0.5 mL 以下とした場合に、結晶の析出又は炭化物が発生し、より低い定量値となる場合があったことから、改良法では加熱濃縮による試料溶液残量を、約 2 mL とすることとして以下の検討を行うこととした。

Table 6 Influence of sample solution residual amount at the time of the heating end on recovery rate of C-P₂O₅

Number of analytical sample	Content of C-P ₂ O ₅ (%) ^{a)}	Aliquot amount of sample solution (mL)	Sample solution amount at the time of the heating start (mL)	Sample solution residual amount at the time of the heating end ^{b)}						
				10 mL	5 mL	3 mL	2 mL	1 mL	0.5 mL	0 mL
				Recovery rate (%) ^{c)}						
1	51.4	2.5	6.5	—	96	99	99	100	76	— ^{d)}
6	2.57	25	29	94	97	98	98	98	98	—

a) Mass fraction

b) Approximate amount

c) Mean recovery ($n = 3$)

d) It is immeasurable for carbonization.

7) 王水酸化操作の加熱温度について

王水酸化操作において試料溶液を加熱濃縮する際の温度を検討した。亜りん酸を酸化させるにあたり、加熱温度が高い方が酸化力が強まるが、高温すぎると酸化が不十分のうちに酸が揮発すること、又は突沸の危険性が高まると考えられる。逆に低温であると酸化力が弱まり亜りん酸を十分に酸化できない可能性がある。そのため、最適となる加熱温度について、以下のとおり検討した。

2.1) (1) Table 2 の試験品 1 及び試験品 6 を用い加熱温度を数段階に変えた試料溶液を調製し定量値を比較した結果を Table 7 に示した。試験品 1 は 170 °C ~ 270 °C で、試験品 6 は 200 °C ~ 270 °C において設計成分量に対する回収率が 98 % ~ 100 % となった。この結果から、試料溶液を約 2 mL まで濃縮する際にはより高温である方が加熱時間の短縮につながることを、また、270 °C では突沸が認められ安全性上の問題があるので、改良法では加熱温度を 200 °C ~ 250 °C として以下の検討を行うこととした。上記 2) ~ 7) の検討結果から、改良した試験法を 2.4) (2) 改良法 (Scheme 2) とし、この改良法について以下の真度、精度等の性能調査を実施した。

Table 7 Influence of heating temperature on recovery rate of C-P₂O₅

Number of analytical sample	Content of C-P ₂ O ₅ (%) ^{a)}	Aliquot amount of sample solution (mL)		Heating temperature			
				170 °C	200 °C	250 °C	270 °C
				1	51.4	2.5	Heating time ^{b)}
			Recovery rate (%) ^{c)}	99	100	100	100
6	2.57	25	Heating time ^{b)}	>600	600	240	100
			Recovery rate (%) ^{c)}	— ^{d)}	98	98	98

a) Mass fraction

b) It is minute required for heating and condensing until the solution volume becomes 2 mL.

c) Mean recovery ($n = 3$)

d) Non-measurement

8) 調製試料測定による真度の評価

改良法の真度を確認するため、2.1) (1) Table 2 の試験品 1～試験品 7 を用いてく溶性りん酸の試験を 3 点併行で実施した結果を Table 8 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 %～質量分率 51.4 %で、回収率は 99 %～100 %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 8 Result of recovery test

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	51.4	51.1	99	0.1	98~102
2	35.2	35.0	99	0.3	98~102
3	23.0	22.9	100	0.5	97~103
4	10.3	10.2	99	1.3	97~103
5	5.14	5.10	99	1.0	96~104
6	2.57	2.55	99	1.6	96~104
7	1.03	1.02	99	4.8	96~104

a) Mass fraction

b) Mean value ($n = 3$)

c) Repeatability relative standard deviation

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

9) 既存の方法との比較による真度の評価

改良法が、各種の原料を使用した亜りん酸(塩)入り固形肥料の定量に適用可能かどうか確認するため、既存の方法として肥料等試験法⁴⁾のりん酸全量試験法として収載されているケルダール硫酸分解法(上記 2.4) (3))と改良法(王水酸化法)との 2 方法により、試薬の亜りん酸カルシウム一水和物及び Table 3 に示した流通肥料 6 点(加工りん酸肥料 1 点, 副産りん酸肥料 1 点, 化成肥料 3 点, 吸着複合肥料 1 点)計 7 点の試料について、く溶性りん酸定量値を比較した。それぞれ 4 点併行試験を実施した結果を Table 9 に示した。

2 群の成績の等分散性を確認し、試験品毎に t 検定を実施した結果、両側有意水準 5 %で有意な差は認められなかった。

Table 9 Comparison between kjeldahl method and Aqua regia oxidation method for C-P₂O₅

Number of analytical sample	Kjeldahl method		Aqua regia oxidation method		P-value of t-test ^{d)}
	Measured value ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	Measured value ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	
9	45.8	0.1	45.8	0.1	0.58 ^{e)}
10	40.9	0.2	40.9	0.1	0.91 ^{e)}
11	17.7	0.1	17.6	0.1	0.07 ^{e)}
12	13.3	0.04	13.3	0.02	0.48 ^{e)}
13	5.15	0.1	5.18	0.03	0.55 ^{e)}
14	14.2	0.05	14.2	0.04	0.38 ^{e)}
1	51.0	0.3	50.8	0.1	0.24 ^{e)}

a) Mean value ($n = 4$)

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) P-value of t-test on both sides levels

e) Not significant ($P > 5\%$)

10) 肥料認証標準物質による真度の評価

改良法の真度を確認するため、肥料標準 A-13 を用いてく溶性りん酸の試験を 3 点併行で実施した結果を Table 10 に示した。その平均値は質量分率 10.85 % であり、認証標準物質の認証値の警戒線 (3 点併行試験) の範囲以内 (質量分率 10.65 % ~ 10.92 %) であり、肥料等試験法における認証標準物質を用いた真度の規準を満たしていた。

Table 10 Result of trueness confirmation test for C-P₂O₅

Sample	Certified value	Measured		Warning limit ^{e)}	
	(C-P ₂ O ₅) (%) ^{b)}	value ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	Lower (%) ^{b)}	Upper (%) ^{b)}
FAMIC-A-13 ^{a)}	10.79	10.85	0.05	10.65	10.92

a) Fertilizer certified reference material (High-analysis compound fertilizer)

b) Mass fraction

c) Mean value ($n = 3$)

d) Repeatability relative standard deviation

e) The calculated evaluation criteria on basis of 3 replicate analysis

This evaluation criteria is used criteria of trueness in Testing Methods of Fertilizers

11) 併行精度及び中間精度の評価

改良法の中間精度及び併行精度を確認するため、試験品 1 及び試験品 6 を用いて、く溶性りん酸の試験を 2 点併行で日を変えて 5 回実施して得られた結果を Table 11 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 12 に示した。試験品 1 の平均値は質量分率で 51.0 % 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。また, 試験品6の平均値は質量分率で2.57%で, 併行相対標準偏差は0.6%, 中間相対標準偏差は1.1%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, 改良法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 11 Individual result of repetition test of changing the date
for the precision confirmation (% (Mass fraction))

Test days	Analytical sample 1		Analytical sample 6	
1	50.9	50.8	2.55	2.54
2	51.2	51.0	2.56	2.54
3	51.0	51.3	2.54	2.56
4	51.2	51.0	2.62	2.59
5	50.9	51.0	2.58	2.60

Table 12 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	51.0	0.1	0.2	1	0.2	0.3	2
6	2.57	0.01	0.6	2	0.03	1.1	3.5

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

12) 定量下限等の確認

改良法の定量下限を確認するため, 試験品8(く溶性りん酸設計値 質量分率 0.206%)を用いてく溶性りん酸の試験を7点併行で実施した結果をTable 13に示した。平均定量値は質量分率0.205%であり, その標準偏差は質量分率0.005%であった。なお, 定量下限は標準偏差 $\times 10$, 検出下限は標準偏差 $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ を用いて算出¹¹⁾したところ, 改良法の定量下限は質量分率0.05%程度, 検出下限は質量分率0.02%程度と推定された。なお, 肥料等試験法⁴⁾に示されているこの濃度における回収率の目安は94%~106%であり, 参考のため比較したところ, 調製した試料の回収率100%は許容範囲内であった。

現在流通している亜りん酸(塩)入り固形肥料のく溶性りん酸の最小保証成分量は質量分率5%程度であり, 推定した定量下限値(質量分率0.05%)はこの最小保証成分量の1/10以下であった。このことから, 改良法は,

肥料等試験法が示している定量下限の推奨基準を満たしていることを確認した。

Table 13 Estimation of the lower limit of quantitation (*LOQ*) of C-P₂O₅
(% (mass fraction))

Number of analytical sample	Content	Mean ^{a)}	<i>s_r</i> ^{b)}	<i>LOQ</i> ^{c)}	<i>LOD</i> ^{d)}
8	0.206	0.205	0.005	0.05	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

2014年度に検討した亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のく溶性りん酸の試験法について、本年度に共同試験準備のための試験をしたところ、一部の肥料において測定用溶液中の硫酸が定量値に影響を与えることが判明したため、発色操作を改良することとした。改良法は、肥料等試験法の亜りん酸(塩)入り肥料の水溶性りん酸試験法で採用されている塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加えて加熱濃縮する方法により試料溶液中の亜りん酸を酸化し、肥料等試験法のく溶性りん酸試験法と同様に、発色試薬溶液 b 試薬を用いたバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法により発色、測定する方法とした。

改良法について、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) くえん酸溶液 0 mL～17 mL 添加したりん酸標準溶液を塩酸及び硝酸で加熱濃縮し、バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(発色試薬溶液 b 試薬使用)により測定したところ、発色操作前にくえん酸溶液量を 17 mL/100 mL に揃えることで、王水酸化操作の前後どちらでくえん酸溶液を添加しても、定量値に影響しないことを確認した。

(2) 真度を確認するため、亜りん酸カルシウム一水和物を添加して調製した試験品 7 点を用いてく溶性りん酸の試験を 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 %～質量分率 51.4 %で、回収率は 99 %～100 %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。

既存の方法としてケルダール硫酸分解法と改良法との 2 方法により、試薬の亜りん酸カルシウム一水和物及び流通肥料 6 点の試料について 4 点併行試験を行い、試験品毎に *t* 検定を実施したところ、両側有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

肥料認証標準物質 FAMIC-A-13 を用いてく溶性りん酸の試験を 3 点併行で実施した結果、いずれの定量値も肥料等試験法が示している真度の目標(認証標準物質の認証値の警戒線)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、く溶性りん酸の試験を 2 点併行で日を変えて 5 回実施したところ、平均値は質量分率で 51.0 % 及び 2.57 % で、併行相対標準偏差は 0.2 % 及び 0.6 %、中間相対標準偏差は 0.3 % 及び 1.1 % 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) 改良法のく溶性りん酸定量下限は質量分率 0.05 % 程度、検出下限は質量分率 0.02 % 程度と推定された。

文 献

- 1) 渡辺和彦:季刊 肥料, 通巻 101 号, 平成 17 年 6 月, p.91~93, 肥料協会新聞部
- 2) 草刈眞一:タキイ最前線 冬春号(2011)
- 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) 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) 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く溶性りん酸の測定-亜りん酸の酸化方法の改良-, 肥料研究報告, **8**, 17~25(2015)
- 6) 柴田雄次, 木村健二郎:無機化学全書 IV-6 リン P, 145, 丸善株式会社, 東京(1965)
- 7) 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-発色方法の改良-, 肥料研究報告, **1**, 25~33(2008)
- 8) 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-共同試験成績-, 肥料研究報告, **1**, 34~40(2008)
- 9) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, 108~114, 養賢堂, 東京(1988)
- 10) 山添文雄, 越野正義, 藤井国博, 三輪睿太郎:改訂詳解肥料分析法, 93, 養賢堂, 東京(1973)
- 11) Codex:“Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009(2009)

Determination Method for Citric Acid-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonate (Phosphite) using Spectrophotometer

Toshiaki HIROI¹ and Masayuki YAMANISHI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

A spectrophotometry was developed and valid for the determination of citric acid-soluble phosphorus as to convert to phosphorus oxide (C-P₂O₅) in solid fertilizer containing phosphonate (phosphite). Phosphonate ion and phosphate ion in solid fertilizer were extracted with 2 % citric acid solution. Phosphonate ion and phosphate ion were oxidized to orthophosphoric ion with aqua regia. The C-P₂O₅ was spectrophotometrically determined by measuring orthophosphoric ion colored with the coloring reagent which contains ammonium vanadomolybdate and hexaammonium heptamolybdate tetrahydrate according to the Testing Methods for Fertilizers. As a result of 3 replicate analysis in 7 fertilizer samples prepared to contain 1.03 % ~ 51.4 % (mass fraction) of C-P₂O₅, the mean recoveries ranged from 99 % to 100 %. In the train of duplicate test per 5 tests on different days using two analytical samples, the mean values were 51.4 % and 2.57 % (mass fraction), repeatability relative standard deviation (*RSD_r*) were 0.2 % and 0.6 % and intermediate relative standard deviation (*RSD_{1(T)}*) were 0.3 % and 1.1 %, respectively. On the basis of 7 replicate analysis of C-P₂O₅, the limit of quantitative value (*LOQ*) was estimated at 0.05 % (mass fraction). These results were satisfied for the criteria shown in the Testing Methods for Fertilizers. This method is valid for the determination of C-P₂O₅ in solid fertilizer containing phosphonate (phosphite).

Key words phosphonic acid, phosphonate, solid fertilizer, citric acid-soluble phosphoric acid, aqua regia, spectrophotometry, single-laboratory validation

(Research Report of Fertilizer, **9**, 43-58, 2016)

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。

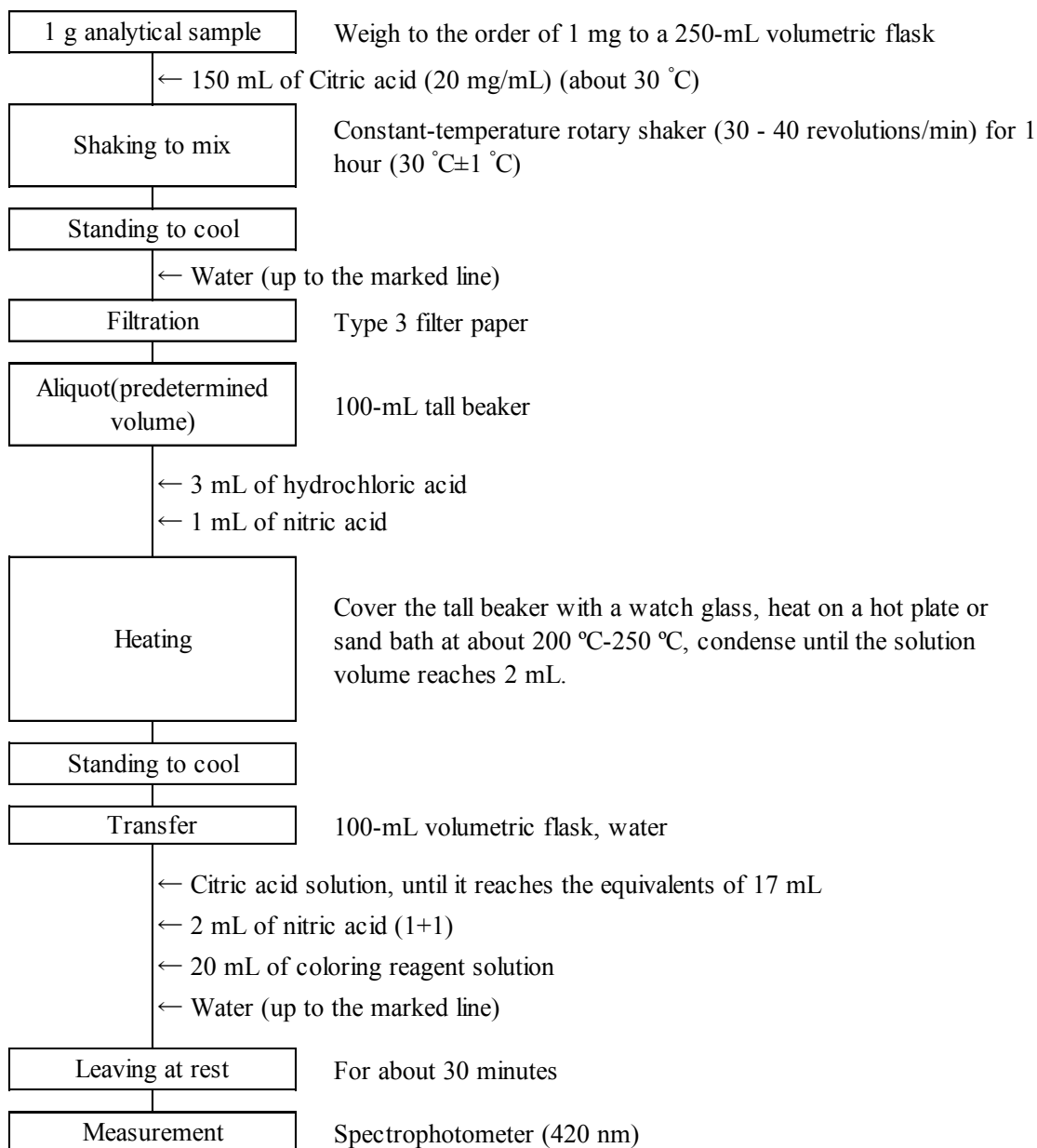
5) 共同試験

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。

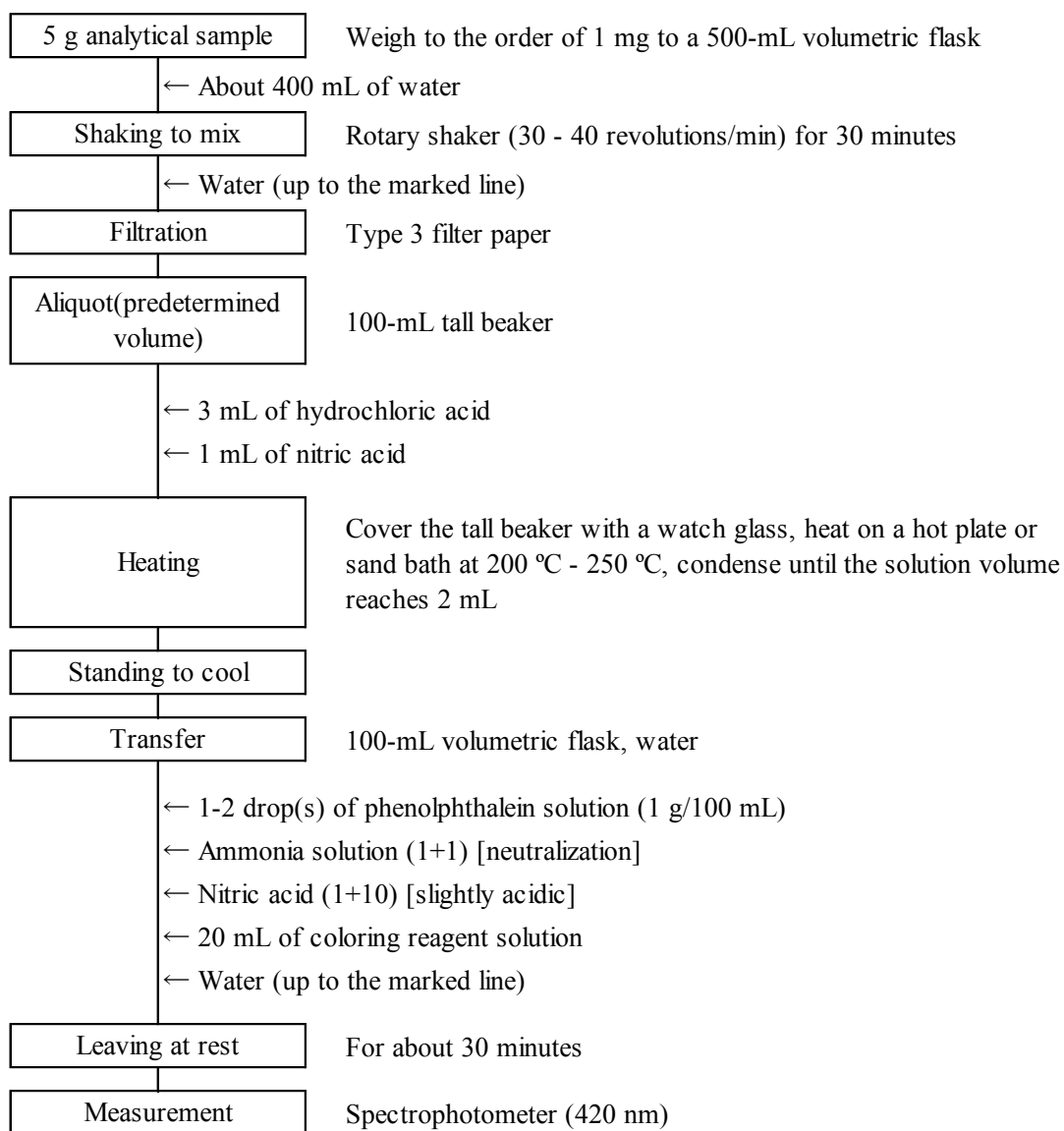
- ・ 片倉コープアグリ株式会社(日立ハイテクノロジーズ U-5100)
- ・ 日東エフシー株式会社 名古屋工場(島津製作所 UVmini-1240)
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会 本部(島津製作所 UV-1800)
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会 関西支部(島津製作所 UV-1700)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター(島津製作所 UV-1800)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター(島津製作所 UV-1800)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター(島津製作所 UV-1800)

- ・ 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 ; (0):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 —適用範囲拡大—, 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 —亜りん酸の酸化方法の改良—, 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)

7 液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)法による肥料中の スルファミン酸の測定

—共同試験成績—

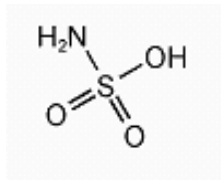
野崎友春¹

キーワード スルファミン酸, 高速液体クロマトグラフ質量分析法, 共同試験

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. このことから, 平成 26 年に肥料中のスルファミン酸の分析法として, 高速液体クロマトグラフ質量分析(LC-MS)法が伊藤らによって検討され, 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³⁾.

今回, LC-MS 法による肥料中のスルファミン酸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.



スルファミン酸[HOSO₂NH₂]

Fig.1 Chemical structural formula of sulfamic acid

2. 材料及び方法

1) 共同試験用添加溶液

JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質アミド硫酸を用いてスルファミン酸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成し, 均質性の確認を実施したところ, 試料中のスルファミン酸の均一な混合が難しいことが確認された. そのため, 共同試験参加試験室においてスルファミン酸溶液を添加して共同試験を実施することとした.

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

ブランク試料はスルファミン酸を含まないことを確認した流通している化成肥料, 副産複合肥料, 副産窒素肥料, 硫酸アンモニア及び液状の家庭園芸用複合肥料とした. 家庭園芸用複合肥料以外は目開き 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 の化成肥料をポリエチレン袋に, 約 1.5 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 20 個を調製した. ブラインド試料を提供するため, 共同試験用試料及スルファミン酸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質量分析計及び高速遠心分離機を使用した.

4) スルファミン酸の測定

(1) 固形肥料(化成肥料, 副産複合肥料, 副産窒素肥料及び硫酸アンモニア)の抽出

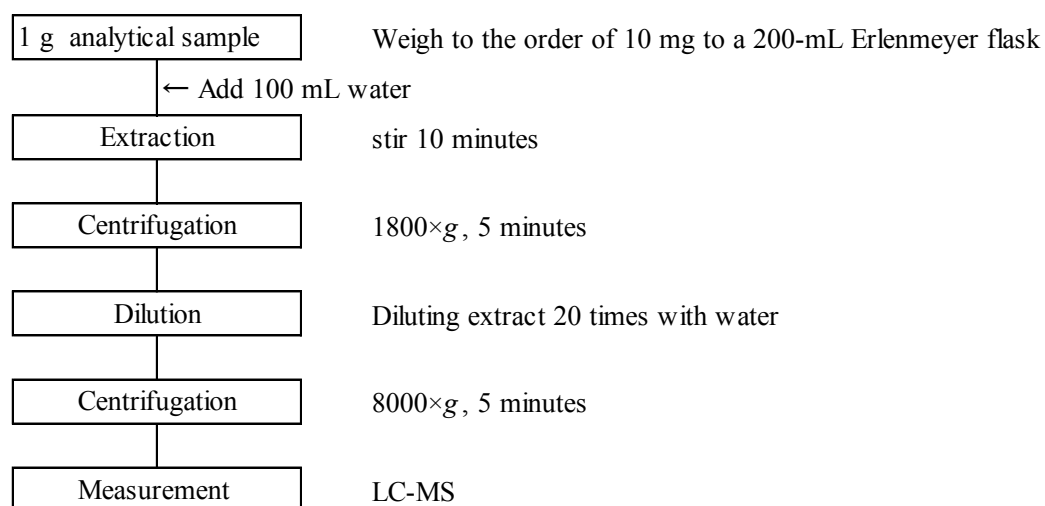
分析試料 1.00 g をはかりとり, 共栓三角フラスコ 200 mL に入れ, 添加溶液を加え 16 時間室温で放置し, 水 100 mL を加え, マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜ, 共栓遠心沈殿管 50 mL にとり, 2000 \times g で約 5 分間遠心分離し, 上澄み液を抽出液とした.

(2) 液状肥料(家庭園芸用複合肥料)の抽出

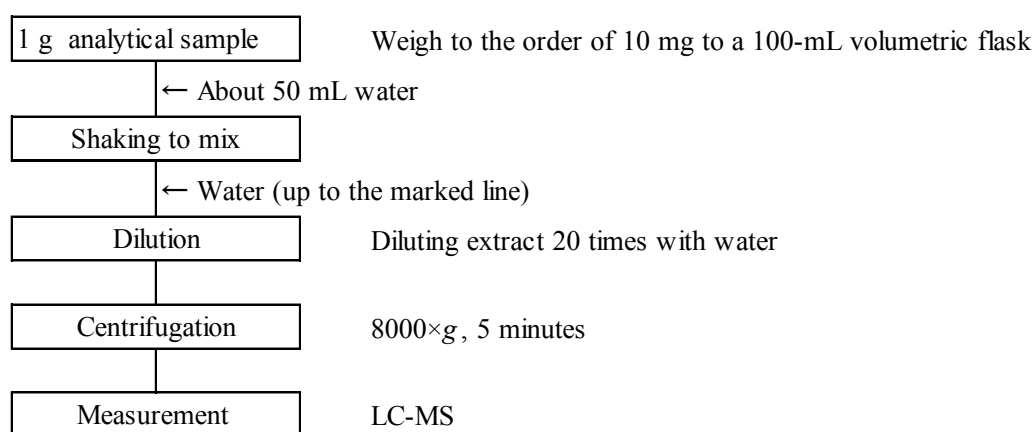
分析試料 1.00 g をはかりとり, 全量フラスコ 100 mL に入れ, 水約 50 mL を加え, 全量フラスコの蓋をして, 振り混ぜて溶かし, 標線まで水を加えて抽出液とした.

(3) 測定

各抽出液 5 mL を全量フラスコ 100 mL に入れ, 水約 50 mL を加え, 振り混ぜた後, 標線まで水を加えて希釈抽出液とした. 副産窒素肥料及び硫酸アンモニアは各希釈抽出液 10 mL を全量フラスコに入れ, 水約 20 mL を加え, 振り混ぜた後, 標線まで水を加えて 1/5 希釈抽出液とした. 各希釈抽出液及び 1/5 希釈抽出液を 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を LC-MS 測定用試料溶液とした (Scheme 1 及び Scheme 2). その試料溶液を高速液体クロマトグラフ質量分析計に供し, Table 1 の測定条件で測定し, ピーク面積から試料溶液中のスルファミン酸の量を求め, 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質量分析計の操作方法に従った.



Scheme 1 Flow sheet for sulfamic acid in solid fertilizers



Scheme 2 Flow sheet for sulfamic acid in liquid fertilizers

Table 1 Analytical conditions for LC-MS

HPLC conditions	
Column	Silica surface is covered with vross-linked diol groups or polyhydroxymethacrylate
Guard column	Same type as analytical column
Temperature	40 °C±1 °C
Mobile phase	Ammonium formate buffer - Acetonitrile (1+9)
Flow rate	0.2 mL/min
Injection volume	1 µL
MS conditons	
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Ion monitoring	<i>m/z</i> 95.9

5) 共同試験用試料の均質性試験

今回の試験では、試料はスルファミン酸の混入がないこと及びスルファミン酸を液体で添加することから、均質性試験を行わなかった。

6) 共同試験

試験に参加した 7 試験室と使用した高速液体クロマトグラフ質量分析計及び使用カラム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 LCMS-2020 システム, Phenomenex Luna 5u HILIC 200A (100 mm×2.0 mm, 5.0 μm))
 - ・ 昭和電工株式会社 (島津製作所 Nexera/LCMS-8030 Plus, 昭和電工 Shodex ODP2 HP-2D (150 mm×2.0 mm))
 - ・ 一般社団法人日本海事検定協会 (島津製作所 LC/MS-2010C HT, MS-2020, Phenomenex Luna 5u HILIC 200A (100 mm×2.0 mm, 5.0 μm), Phenomenex SecurityGuard Cartridge HILIC (4.0 mm×2.0 mm))
 - ・ 一般財団法人日本食品分析センター (Agilent Technologies 1100 Series, Phenomenex Luna 5u HILIC 200A (100 mm×2.0 mm, 5.0 μm), Phenomenex SecurityGuard Cartridge HILIC (4.0 mm×2.0 mm))
 - ・ 一般財団法人日本冷凍食品検査協会 (Waters Alliance 2695, Waters Quattro micro, Phenomenex Luna 5u HILIC 200A (100 mm×2.0 mm, 5.0 μm), Phenomenex SecurityGuard Cartridge HILIC (4.0 mm×2.0 mm))
 - ・ 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 LC/MS-2020 システム, Phenomenex Luna 5u HILIC 200A (100 mm×2.0 mm, 5.0 μm), Phenomenex SecurityGuard Cartridge HILIC (4.0 mm×2.0 mm))
 - ・ 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 LC/MS-2020 システム, Phenomenex Luna 5u HILIC 200A (100 mm×2.0 mm, 5.0 μm), Phenomenex SecurityGuard Cartridge HILIC (4.0 mm×2.0 mm))
- (50 音順)

3. 結果及び考察

1) 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 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。この結果、Cochran の検定で 3 種類の試料について 1 試験室の分析値が棄却。また、Grubbs の検定で 2 種類の試料について 1 試験室の分析値が棄却された。さらに、2 種類の試料では、外れ値検定の結果棄却された試験室が 2/9 を超えたため、それらの試料の試験成績の統計処理は全ての試験室の結果を用いた。

Table 2 Individual result of sulfamic acid in fertilizer (mass %)

Lab ID ^{a)}	Compound fertilizer		By-product Compound fertilizer		By-product nitrogen fertilizer		By-product nitrogen fertilizer (dilution)	
A	0.0566	0.0525	0.0327	0.0245	0.0890	0.0845	0.0970	0.101
B	0.0418	0.0441	0.0234	0.0227	0.0529	0.0532	0.0616	0.0632
C	0.0466	0.0466	0.0244	0.0243	0.0672	0.0644	0.0606	0.0629
D	0.0499	0.0507	0.0271	0.0236	0.0662	0.0675	0.0914	0.0927
E	0.0843 ^{c)}	0.0803 ^{c)}	0.0395 ^{c)}	0.0447 ^{c)}	0.124	0.176	0.140	0.122
F	0.0419	0.0400	0.0215	0.0220	0.108	0.0364	0.0674	0.0629
G	0.0499	0.0606	0.0215	0.0232	0.0724	0.0686	0.0698	0.0790
Lab ID ^{a)}	Ammonium sulphate		Ammonium sulphate (dilution)		Compound fertilizer for home gardening 1		Compound fertilizer for home gardening 2	
A	0.215	0.210	0.252	0.254	0.0100	0.00937	0.0373	0.0342
B	0.205	0.203	0.215	0.219	0.00963	0.00964	0.0395	0.0389
C	0.196	0.189	0.188	0.216	0.00768	0.00769	0.0371	0.0343
D	0.197	0.186	0.257	0.220	0.00937	0.00930	0.0457	0.0289
E	0.325	0.413	0.411 ^{b)}	0.306 ^{b)}	0.429 ^{b)}	0.499 ^{b)}	2.34 ^{b)}	3.19 ^{b)}
F	0.0850	0.270	0.206	0.217	0.0114	0.0104	0.0347	0.0387
G	0.252	0.242	0.208	0.229	0.0105	0.0108	0.0386	0.0443

a) Laboratory identification

b) Outliers of Cochran's test

c) Outliers 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^{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 に示した.

外れ値を実施した各試料の平均回収率は 94.2 % ~ 112 % であり, その s_r は 0.00035 % (質量分率) ~ 0.055 % (質量分率), RSD_r は 3.7 % ~ 29.4 %, s_R は 0.00117 % (質量分率) ~ 0.077 % (質量分率), RSD_R は 9.7 % ~ 44.9 % であった. なお, RSD_R が RSD_r より小さかった試料が 1 種類あった.

これらの試料について, 平均回収率は肥料等試験法⁶⁾に基づく真度の目標の範囲内 (80 % ~ 115 %) であった. 併行相対標準偏差は併行精度の目安の 1.5 倍に入った試料が 1 点, 室間再現相対標準偏差は室間再現精度の目安の 1.5 倍に入った試料が 1 点であった. また, 副産窒素肥料及び硫酸アンモニアの試料溶液を希釈して分析した結果と希釈しないで分析した結果を比較すると, 併行相対標準偏差及び室間相対標準偏差ともに希釈して分析した方が希釈しないで分析したより小さい値となった.

Table 3 Statistical analysis of collaborative study results

Sample	Labs ^{a)}	Conc. ^{b)}	Mean ^{d)}	Recovery	s_r ^{e)}	RSD_r ^{f)}	$CRSD_r$ ^{g)}	s_R ^{h)}	RSD_R ⁱ⁾	$CRSD_R$ ^{j)}
	p (q) ^{a)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%)	(%) ^{c)}	(%)	(%)	(%) ^{e)}	(%)	(%)
Compound fertilizer	6 (1)	0.05	0.0484	96.9	0.0034	7.1	4	0.0064	13.3	8
By-product Compound fertilizer	6 (1)	0.025	0.0242	97.0	0.0026	10.9	4	0.0031	12.9	8
By-product nitrogen fertilizer ^{k)}	7 (0)	0.075	0.0807	107.7	0.0237	29.4	4	0.0362	44.9	8
By-product nitrogen fertilizer (dilution)	7 (0)	0.075	0.0837	111.6	0.0057	6.8	4	0.0258	30.9	8
Ammonium sulphate ^{l)}	7 (0)	0.21	0.228	108.4	0.055	24.1	4	0.0767	33.7	8
Ammonium sulphate (dilution)	6 (1)	0.21	0.223	106.4	0.015	6.8	4	0.0216	9.7	8
Compound fertilizer for home gardening 1	6 (1)	0.01	0.00965	96.5	0.00035	3.7	4	0.0012	12.1	8
Compound fertilizer for home gardening 2	6 (1)	0.04	0.0377	94.2	0.0054	14.3	4	0.0044	14.3 ¹¹⁾	8

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

b) Sulfamic acid concentration contributed by spike

c) Mass fraction

d) 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))

e) Standard deviation of repeatability

f) Relative standard deviation of repeatability

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

h) Standard deviation of reproducibility

i) Relative standard deviation of reproducibility

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

k) Sample of number of outlier / number of laboratories exceed 2/9

l) Value was RSD_r because $RSD_R < RSD_r$

4. まとめ

7 試験室において化成肥料, 副産複合肥料, 副産窒素肥料, 硫酸アンモニア及び液状の家庭園芸用複合肥料(計 12 点)にスルファミン酸を添加して LC-MS 法によるスルファミン酸分析法の共同試験を実施し, 試験法の評価を行った. その結果, 平均回収率は 94.2 %~112 %, 併行精度(相対標準偏差)は 3.7 %~29.4 %, 室間再現精度(相対標準偏差)は 9.7 %~44.9 %であり, 平均回収率は肥料等試験法に基づく真度の目標の範囲内であったものの, 併行精度及び室間再現精度は肥料等試験法の併行精度及び室間再現精度の目安の範囲内には入らなかった.

このことから, 今回の共同試験結果からは本試験法が肥料中のスルファミン酸の測定に用いることができる十

分な性能を有しているとは言えないが、昨年度の単一試験室の結果では、問題がなかったことから、今後、試験方法も含めて検討をおこなう必要があると考える。

謝 辞

共同試験にご協力頂きました、株式会社島津製作所、昭和電工株式会社、一般社団法人日本海事検定協会、一般財団法人日本食品分析センター及び一般財団法人日本冷凍食品検査協会の各位に謝意を表します。

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), 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 3) LC-MS 法による肥料中のスルファミン酸の測定, 平成 27 年肥料等技術検討会資料
- 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 of Sulfamic Acid in Fertilizers using Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS): A Collaborative Study

Tomoharu NOZAKI¹

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

A collaborative study was conducted to evaluate the applicability of liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) for determination of sulfamic acid in fertilizers. Sulfamic acid in fertilizer was extracted and diluted with water. The sulfamic acid in the mixture was determined by LC-MS. Six samples of fertilizers, respectively, were sent to 7 collaborators. These samples were analyzed as blind duplicates. Recovery values reported from 94.2 % to 112 %, the relative standard deviation (RSD_t) for repeatability ranged from 3.7 % to 29.4 %, the relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility ranged from 9.7 % to 44.9 %. These results indicated that this method has an unacceptable precision for determination of sulfamic acid in fertilizers.

Key words sulfamic acid, LC-MS, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **9**, 69-76, 2016)

8 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)

— 2014年冬作・2015年夏作 —

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

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2014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、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⁾、7号⁴⁾及び8号⁵⁾で報告した。2014年冬作及び2015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) 2014年冬作の連用試験(2014年11月7日～2015年3月12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(電気伝導率)、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)をTable 1に示した。

(2) 供試肥料等

施用する汚泥肥料に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

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

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)福岡センター

触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, 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℃, 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尿素, リン酸一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⁶⁾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(pH7.0)可溶カドミウム(以下, 「1 mol/L 酢安(pH7.0)-Cd」という)濃度は, 汚泥肥料1 gを1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH7.0)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 2014 crop

	Unit	Year	AP ^{a)} -1	AP ^{a)} -2	SP ^{b)} -1	SP ^{b)} -2
pH (H ₂ O) ^{e)}		2009 ^{g)}	6.1	6.1	6.2	6.2
		2014 ^{h)}	6.9	6.8	6.8	6.8
EC ^{d)}	mS/m	2009	10.0	10.3	14.0	11.6
		2014	16.9	17.7	15.4	16.9
Phosphate absorption coefficient ^{e)}	mg/100 g	2009	5.8	6.1	7.7	6.9
		2014	8.4	7.9	11.4	10.8
Total nitrogen ^{e)}	% ^{f)}	2014	0.42	0.42	0.38	0.38
Total carbon ^{e)}	% ^{f)}	2014	5.7	5.8	5.4	5.5
0.1 mol/L HCl-Cd ^{e)}	mg/kg	2009	0.18	0.19	0.18	0.21
		2014	0.20	0.21	0.15	0.15
Kind of soil	Andosol					
Soil texture	Light clay					

a) Sludge-fertilizer-application plot

b) Standard plot

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

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

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

f) Mass fraction

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

h) The year when the study was conducted

Table 2 Properties of sludge fertilizer

Item	Unit	Content	Item	Unit	Content
Total nitrogen	% ^{a)}	3.3	Total copper	mg /kg	546
Total phosphorus ^{b)}	% ^{a)}	5.2	Total Zinc	mg /kg	1760
Total potassium ^{c)}	% ^{a)}	0.4	Carbon to nitrogen ratio	-	7.1
Total calcium ^{d)}	% ^{a)}	2.1	Total cadmium ^{e)}	mg /kg	3.6 ^{f)}
Organic carbon	% ^{a)}	23.6	Acid-solubility-cadmium ^{g)}	mg /kg	3.2
Moisture	% ^{a)}	26.1	Excangeable-cadmium ^{h)}	mg /kg	0.32

a) Mass fraction

b) Content as P₂O₅

c) Content as K₂O

d) Content as CaO

e) Content of cadmium dissolved with aqua regia

f) 4.9 mg /kg in the dry matter

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

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

Table 3 Properties of reagent

Item	Unit	Urea	Ammonium dihydrogen phosphate	Potassium chloride
Total nitrogen	% ^{a)}	46.2	12.0	—
Total phosphorus ^{b)}	% ^{a)}	—	61.5	—
Total potassium ^{c)}	% ^{a)}	—	—	63.1

a) Mass fraction

b) Content as P₂O₅

c) Content as K₂O

(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。施肥量は埼玉県の高レンソウ施肥基準⁷⁾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⁸⁾。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^{9～11)}。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¹²⁾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。

汚泥肥料の窒素肥効率は前作までの標準区との生育量の差から 0 % 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)。りん酸施用については 2012 年夏作以降融成りん肥を使用していたが、汚泥肥料施用区の有効態りん酸の増加率が鈍いため、2014 年夏作ニンジン作付け時

に同区に熔成りん肥を多量(標準区の 10 倍量)に施用したところ、有効態りん酸は増加したが、標準区と比較して汚泥肥料施用区の交換性苦土が大幅に上昇したため、苦土を含む熔成りん肥の施用は中止し、2014年冬作からはりん酸一アンモニウムを施用した。なお、前作の跡地土壌を分析したところ、標準区の有効態りん酸は、11.1 mg/100 g 乾土となり地力増進基本指針¹³⁾における有効態りん酸の改善目標(10 mg/100g 乾土)に達したため、施肥基準のりん酸量を施肥した。汚泥肥料施用区は 8.2 mg/100 g 乾土であったため、有効態りん酸の改善目標に到達するよう施肥基準を上回る量のりん酸施用を行った(Table 4)。

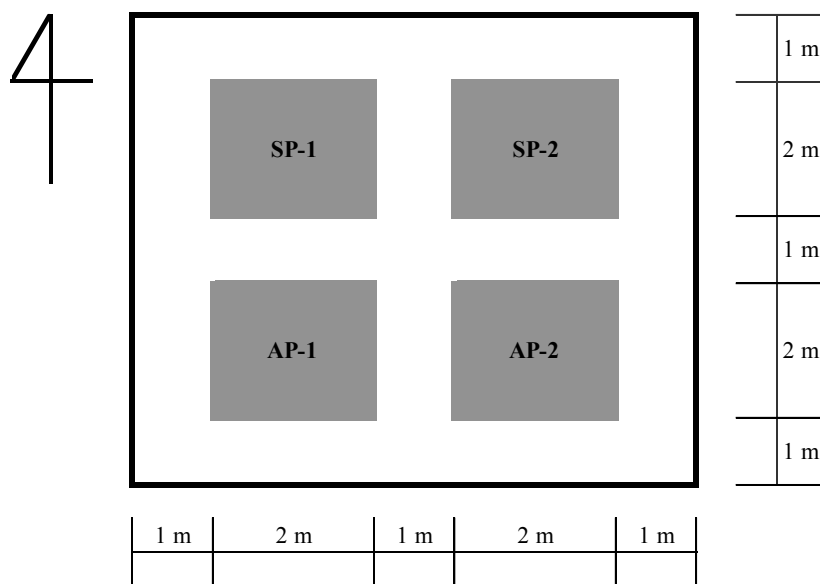


Fig.1 Plot plan of the test field

(AP: Sludge-fertilizer application plot SP: Standard plot)

Table 4 The fertilization design of the test plots where spinach was cultivated in winter 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 ^{a)} (g)	K ^{b)} (g)	Cd (mg)		N (kg)	P ^{a)} (kg)	K ^{b)} (kg)	Cd (g)
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>										
Sludge fertilizer	2000	66	104	7	7.3	500	16.6	26.1	1.8	1.8
Urea	99	46	—	—	—	25	11.4	—	—	—
Ammonium dihydrogen phosphate	285	34	174	—	—	71	8.6	43.5	—	—
Potassium chloride	103	—	—	65	—	26	—	—	16.2	—
Total		146	278	72	7.3		36.6	69.6	18.0	1.8
<Standard plot (SP)>										
Urea	136	63	—	—	—	34	15.7	—	—	—
Ammonium dihydrogen phosphate	144	17	88	—	—	36	4.3	22.0	—	—
Potassium chloride	114	—	—	72	—	29	—	—	18.0	—
Total		80	88	72	—		20.0	22.0	18.0	—

a) Content as P₂O₅

b) Content as K₂O

(4) 栽培方法

供試作物はホウレンソウ(品種名:ニューアンナ R4)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2014年10月30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7日にシーダーテープ種子により行った。

間引きは11月21日及び12月5日に行い、農薬散布はヨ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2015年3月12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器にて65 °Cで1昼夜乾燥した。重量を測定した後、目開き500 µmのふるいを通すまで粉砕機(ZM200:Retsch ローター回転数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)¹⁴⁾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¹⁵⁾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。通風乾燥器により35 °Cで一晩乾燥後、目開き2 mmのふるいを通したものと及び更に全量分析用として目開き500 µmのふるいを通すまで粉砕機(ZM200:Retsch ローター回転数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、省令¹⁶⁾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¹⁷⁾、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^{18~19)}交換態カドミウム(1 mol/L 酢安(pH 7.0)-Cd)を選択した。

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) 2015年夏作の連用試験(2015年6月17日~2015年9月30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)¹⁵⁾, 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 2015 crop

	Unit	Year	AP ^{a)} -1	AP ^{a)} -2	SP ^{b)} -1	SP ^{b)} -2
pH (H ₂ O) ^{c)}		2009 ^{g)}	6.1	6.1	6.2	6.2
		2015 ^{h)}	6.1	6.3	6.4	6.5
EC ^{d)}	mS/m	2009	10.0	10.3	14.0	11.6
		2015	11.4	10.8	10.2	10.7
Available phosphate ^{e)}	mg/100 g	2009	5.8	6.1	7.7	6.9
		2015	12.8	10.6	11.4	8.4
Total nitrogen ^{e)}	% ^{f)}	2015	0.40	0.38	0.32	0.35
Total carbon ^{e)}	% ^{f)}	2015	5.3	5.1	4.5	5.0
0.1 mol/L HCl-Cd ^{e)}	mg/kg	2009	0.18	0.19	0.18	0.21
		2015	0.22	0.20	0.15	0.16
Kind of soil	Andosol					
Soil texture	Light clay					

a) Sludge-fertilizer-application plot

b) Standard plot

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

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

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

f) Mass fraction

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

h) The year when the 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。

(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⁷⁾を基に設計した。汚泥肥料の施用量は、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分量になるよう施用した(Table 6)。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汚泥肥料施用区 11.7 mg/100 g 乾土, 標準区 9.9 mg/100 g 乾土であり, 地力増進基本指針における有効態りん酸の改善目標(10 mg/100 g 乾土)に比べて高い又は同等な値であった。このため, 施肥基準のりん酸量を施肥した。

Table 6 The fertilization design of the test plots where carrot was cultivated in summer 2015

	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 ^{a)} (g)	K ^{b)} (g)	Cd (mg)		N (kg)	P ^{a)} (kg)	K ^{b)} (kg)	Cd (g)
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>										
Sludge fertilizer	2000	66	104	7	7.3	500	16.6	26.1	1.8	1.8
Urea	93	43	—	—	—	23	10.7	—	—	—
Ammonium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Potassium chloride	90	—	—	57	—	23	—	—	14.2	—
Total		109	104	64	7.3		27.3	26.1	16.0	1.8
<Standard plot (SP)>										
Urea	120	56	—	—	—	30	13.9	—	—	—
Ammonium dihydrogen phosphate	170	20	104	—	—	42	5.1	26.1	—	—
Potassium chloride	101	—	—	64	—	25	—	—	16.0	—
Total		76	104	64	—		19.0	26.1	16.0	—

a) Content as P₂O₅

b) 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2015年6月15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17日にシーダーテープ種子を用いて行った。

間引きは7月21日から8月3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2015年9月30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、通風乾燥器により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、通風乾燥器により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 ローター回転数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。

土壌の分析は、2.1) (6)の項目 (0.1 mol/L HCl-Cd を除く)に加えて全カドミウムを分析した。

土壌中の全カドミウムは、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) 2014 年冬作連用試験(冬作ホウレンソウ:2014 年 11 月 7 日~2015 年 3 月 12 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 4 ヶ月であり、その間に異常な症状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 14.75 kg と 13.55 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 109 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 0.43 mg/kg, 標準区は 0.28 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)²⁰⁾ 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 0.65 mg/試験区, 標準区は 0.42 mg/試験区であり、汚泥肥料施用区が高い傾向にあった。

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

	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	Yield index ^{d)}	Significance test
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>								
Fresh weight	kg	14.75		14.75		14.75	109	-
Dry weight	kg	1.49		1.55		1.52	102	-
Cadmium concentration ^{a)}	mg/kg	0.45	0.44	0.42	0.40	0.43	-	Significance ^{e)}
Cadmium concentration ^{b)}	mg/kg	0.045	0.044	0.044	0.043	0.044	-	-
Quantity of cadmium uptake ^{c)}	mg/plot	0.67	0.65	0.65	0.63	0.65	-	Pending ^{f)}
<Standard plot(SP)>								
Fresh weight	kg	14.00		13.10		13.55	100	-
Dry weight	kg	1.53		1.46		1.49	100	-
Cadmium concentration ^{a)}	mg/kg	0.30	0.32	0.26	0.25	0.28	-	-
Cadmium concentration ^{b)}	mg/kg	0.033	0.034	0.029	0.028	0.031	-	-
Quantity of cadmium uptake ^{c)}	mg/plot	0.46	0.48	0.37	0.37	0.42	-	-

a) Content in the dry matter

b) Content in the fresh matter

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

d) Yield of Standard plot was indexed as 100

e) It was significantly different for processing examination section

(two-way ANOVA 5 % of both sides levels of significance, $n=4 (2 \times 2)$ (repetition × number of samples))

f) It was pending decision to be significantly different for interaction

(two-way ANOVA 5 % of both sides levels of significance, $n=4 (2 \times 2)$ (repetition × number of samples))

(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 0.21 mg/kg, 標準区は 0.15 mg/kg であり, 汚泥肥料施用区が高い傾向にあった. 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度は, 平均値で汚泥肥料施用区は 0.039 mg/kg, 標準区は 0.026 mg/kg であり, 汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$).

Table 8 Characteristics of cultivated soil in winter 2014

	Unit	Test prot-1		Test prot-2		Average	Significance test
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>							
0.1 mol /L HCl-Cd ^{a)}	mg/kg	0.22	0.22	0.20	0.20	0.21	Pending ^{e)}
Exchangeable-Cd ^{b)}	mg/kg	0.039	0.038	0.040	0.039	0.039	Significance ^{f)}
pH (H ₂ O) ^{c)}		6.1		6.3			
EC ^{d)}	mS/m	11.4		10.8			
<Standard plot(SP)>							
0.1 mol /L HCl-Cd ^{a)}	mg/kg	0.15	0.15	0.15	0.16	0.15	
Exchangeable-Cd ^{b)}	mg/kg	0.027	0.025	0.028	0.027	0.026	
pH (H ₂ O) ^{c)}		6.4		6.5			
EC ^{d)}	mS/m	10.2		10.7			

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

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

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

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

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

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

2) 2015 年夏作連用試験(夏作ニンジン:2015 年 6 月 17 日～2015 年 9 月 30 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 ヶ月半であり, その間に異常な症状は確認されなかった.

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 7.28 kg と 6.38 kg, 葉部がそれぞれ 8.80 kg と 7.20 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 114, 葉部が 122 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 0.19 mg/kg と 0.15 mg/kg, 葉部がそれぞれ 0.23 mg/kg と 0.19 mg/kg であり, 葉部については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 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 0.14 mg/試験区と 0.10 mg/試験区, 葉部がそれぞれ 0.22 mg/試験区と 0.15 mg/試験区であり, 葉部については汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$). 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 0.36 mg/試験区, 標準区で 0.26 mg/試験区であり, 汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$).

Table 9 Cadmium uptake and yield of carrot in the test

	Part	Unit	Test plot-1		Test plot-2		Average	Yield index ^{d)}	Significance test
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>									
Fresh weight	Root	kg	7.25		7.30		7.28	114	-
	Leaf	kg	7.50		10.1		8.80	122	-
	Total	kg	14.75		17.40		16.08	118	-
Dry weight	Root	kg	0.75		0.75		0.75	108	-
	Leaf	kg	0.86		1.06		0.96	117	-
	Total	kg	1.61		1.80		1.71	113	-
Cadmium concentration ^{a)}	Root	mg/kg	0.22	0.22	0.17	0.17	0.19	Pending ^{e)}	
	Leaf	mg/kg	0.26	0.26	0.20	0.20	0.23	Significance ^{f)}	
Cadmium concentration ^{b)}	Root	mg/kg	0.023	0.022	0.017	0.017	0.020	-	
	Leaf	mg/kg	0.030	0.030	0.021	0.021	0.025	-	
Quantity of cadmium uptake ^{c)}	Root	mg/plot	0.16	0.16	0.13	0.13	0.14	Pending	
	Leaf	mg/plot	0.22	0.22	0.22	0.21	0.22	Significance	
	Total	mg/plot	0.39	0.38	0.34	0.34	0.36	Significance	
<Standard plot(SP)>									
Fresh weight	Root	kg	5.90		6.85		6.38		
	Leaf	kg	6.60		7.80		7.20		
	Total	kg	12.50		14.65		13.58		
Dry weight	Root	kg	0.64		0.74		0.69		
	Leaf	kg	0.79		0.85		0.82		
	Total	kg	1.43		1.59		1.51		
Cadmium concentration ^{a)}	Root	mg/kg	0.17	0.17	0.14	0.13	0.15		
	Leaf	mg/kg	0.20	0.21	0.18	0.16	0.19		
Cadmium concentration ^{b)}	Root	mg/kg	0.018	0.018	0.015	0.014	0.016		
	Leaf	mg/kg	0.023	0.025	0.019	0.017	0.021		
Quantity of cadmium uptake ^{c)}	Root	mg/plot	0.11	0.11	0.10	0.10	0.10		
	Leaf	mg/plot	0.15	0.16	0.15	0.14	0.15		
	Total	mg/plot	0.26	0.27	0.25	0.24	0.26		

a) Content in the dry matter

b) Content in the fresh matter

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

d) Yield of Standard plot was indexed as 100

e) It was pending decision to be significantly different for interaction

(two-way ANOVA 5 % of both sides levels of significance, $n=4$ (2×2) (repetition × number of samples))

f) It was significantly different for processing examination section

(two-way ANOVA 5 % of both sides levels of significance, $n=4$ (2×2) (repetition × number of samples))

(2) 跡地土壤のカドミウム濃度

跡地土壤の全 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. 全 Cd 濃度は,

汚泥肥料施用区は 0.57 mg/kg, 標準区は 0.46 mg/kg で, 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, 汚泥肥料施用区は 0.034 mg/kg, 標準区は 0.024 mg/kg で, 汚泥肥料施用区が有意に高かった ($p < 0.05$).

Table 10 Characteristics of cultivated soil in summer 2015

	Unit	Test prot-1		Test prot-2		Average	Significance test
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>							
Total-Cd ^{a)}	mg/kg	0.55	0.56	0.57	0.58	0.57	Significance ^{e)}
Exchangeable-Cd ^{b)}	mg/kg	0.034	0.032	0.037	0.033	0.034	Significance
pH (H ₂ O) ^{c)}		6.8		6.9			
EC ^{d)}	mS/m	11.9		10.8			
<Standard plot(SP)>							
Total-Cd ^{a)}	mg/kg	0.45	0.45	0.47	0.47	0.46	
Exchangeable-Cd ^{b)}	mg/kg	0.024	0.023	0.025	0.024	0.024	
pH (H ₂ O) ^{c)}		6.9		6.8			
EC ^{d)}	mS/m	9.6		10.4			

a) Content in the dry matter

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

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

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

e) It was significantly different for processing examination section

(two-way ANOVA 5 % of both sides levels of significance, $n=4$ (2×2) (repetition \times number of samples))

4. 考 察

1) 2009 年連用試験開始時からの推移からみる 2014 年冬作及び 2015 年夏作の成績について

2009 年の試験開始時から, これまで 7 年間, 年 2 作, 計 13 作の試験を行った. 各試験結果等の推移から考えられる 2014 年冬作及び 2015 年夏作の傾向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. 試験開始当初, 汚泥肥料施用区の施肥設計においては, 汚泥肥料の連用による残効²¹⁾を考慮して, 窒素肥効率を 100 % として計算していたが, 汚泥肥料施用区の収量が標準区に比べて低い傾向にあることから, 供試肥料であるし尿汚泥肥料の窒素無機化率について 2012 年に改めて無機化試験(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とから, 2012 年冬作以降, 汚泥肥料の窒素肥効率を 30 % として施肥した. その後, 試験区間での収量差及び気温による無機化率の違いを考慮し汚泥肥料の窒素肥効率を調整して施肥を行ってきた. 2014 年冬作ホウレンソウ試験においては, 汚泥肥料の窒素肥効率を 0 %. 2015 年夏作ニンジンにおいては, 汚泥肥料の窒素肥効率を 50 % として施肥を行った.

Table 11 The fertilizer application log of the test plots

Year	Season	Fertilizer	<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>				<Standard plot(SP)>					
			Amount of application per 10 a (kg)	The applied components per 10 a				Amount of application per 10 a (kg)	The applied components per 10 a			
Test crops			N (kg)	P ^{a)} (kg)	K ^{b)} (kg)	Cd (g)	N (kg)	P ^{a)} (kg)	K ^{b)} (kg)	Cd (g)		
2009	Summer	Sludge fertilizer	332	11	17	1	1.2	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	52	11	—	—	—	104	22	—	—	
		Potassium dihydrogen phosphate	3	—	2	1	—	36	—	19	12	
	Carrot	Potassium chloride	28	—	—	18	—	12	—	—	8	
		Total		22	19	20	1.2		22	19	20	0
2009	Winter	Sludge fertilizer	302	10	16	1	1.1	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	47	10	—	—	—	95	20	—	—	
		Potassium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	30	—	16	10	
	Spinach	Potassium chloride	27	—	—	17	—	12	—	—	8	
		Total		20	16	18	1.1		20	16	18	0
2010	Summer	Sludge fertilizer	227	8	12	1	0.8	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	36	8	—	—	—	71	15	—	—	
		Potassium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	23	—	12	8	
	Spinach	Potassium chloride	15	—	—	9	—	3	—	—	2	
		Total		15	12	10	0.8		15	12	10	0
2010	Winter	Sludge fertilizer	181	6	9	1	0.7	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	28	6	—	—	—	57	12	—	—	
		Potassium dihydrogen phosphate	5	—	3	2	—	23	—	12	8	
	Qing geng cai	Potassium chloride	15	—	—	10	—	6	—	—	4	
		Total		12	12	12	0.7		12	12	12	0
2011	Summer	Sludge fertilizer	227	8	12	1	0.8	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	33	7	—	—	—	57	12	—	—	
		Potassium dihydrogen phosphate	6	1	3	—	—	24	3	15	—	
	Turnip	Potassium chloride	22	—	—	14	—	24	—	—	15	
		Magnesia lime ^{c)}	—	—	—	—	—	35	—	—	—	
		Total		15	15	15	0.8		15	15	15	0
2011	Winter	Sludge fertilizer	483	16	25	2	1.8	—	—	—	—	
		Urea	22	10	—	—	—	43	20	—	—	
		Potassium dihydrogen phosphate	1	—	1	1	—	50	—	26	17	
	Spinach	Potassium chloride	25	—	—	16	—	1	—	—	1	
		Slaked lime ^{c)}	176	—	—	—	—	216	—	—	—	
		Total		26	26	18	1.8		20	26	18	0
2012	Summer	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	65	14	—	—	—	80	17	—	—	
		Ammonium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	
	Carrot	Potassium chloride	29	—	—	18	—	32	—	—	20	
		Fused magnesium phosphate	50	—	10	—	—	50	—	10	—	
		Total		30	36	20	1.8		22	36	20	0

a) Content as P₂O₅b) Content as K₂O

c) It was used for pH adjustment

d) The average value of the two district for changing the amount used by each of the experimental plot (SP-1:240 kg, SP-2:196 kg)

Table 11 Continue

Year	Season	Fertilizer	<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>				<Standard plot(SP)>					
			Amount of application per 10 a (kg)	The applied components per 10 a				Amount of application per 10 a (kg)	The applied components per 10 a			
Test crops			N (kg)	P ^{a)} (kg)	K ^{b)} (kg)	Cd (g)	N (kg)	P ^{a)} (kg)	K ^{b)} (kg)	Cd (g)		
2012	Winter	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	71	15	—	—	—	71	15	—	—	
		Ammonium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	
	Spinach	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	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	81	17	—	—	—	80	17	—	—	
		Ammonium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	
	Carrot	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	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	
		Ammonium sulfate	87	18	—	—	—	71	15	—	—	
		Ammonium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	
	Spinach	Potassium chloride	26	—	—	16	—	29	—	—	18	
		Fused magnesium phosphate	250	—	25	—	—	250	—	25	—	
		Slaked lime ^{e)}	196	—	—	—	—	218 ^{d)}	—	—	—	
		Total		35	51	18	1.8		20	51	18	0
2014	Summer	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	
		Urea	23	11	—	—	—	30	14	—	—	
		Ammonium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	
	Carrot	Potassium chloride	23	—	—	14	—	25	—	—	16	
		Fused magnesium phosphate	291	—	58	—	—	33	—	7	—	
		Slaked lime ^{e)}	—	—	—	—	—	196	—	—	—	
		Total		27	84	16	1.8		19	33	16	0
2014	Winter	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	
		Urea	25	11	—	—	—	34	16	—	—	
		Ammonium dihydrogen phosphate	71	9	43	—	—	36	4	22	—	
	Spinach	Potassium chloride	26	—	—	16	—	29	—	—	18	
		Total		37	70	18	1.8		20	22	18	0
2015	Summer	Sludge fertilizer	500	17	26	2	1.8	—	—	—	—	
		Urea	23	11	—	—	—	30	14	—	—	
		Ammonium dihydrogen phosphate	—	—	—	—	—	42	5	26	—	
	Carrot	Potassium chloride	23	—	—	14	—	25	—	—	16	
		Slaked lime ^{e)}	196	—	—	—	—	—	—	—	—	
		Total		27	26	16	1.8		19	26	16	0

(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。

これまでの収量は、ホウレンソウに関して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。

ニンジンに関しては 2012 年夏作より自治体施肥基準に記載されている目標収量を下回っている。これは、通

常, ニンジン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⁷⁾が, 本試験では試験設計上, 緩効性肥料の使用及び追肥が行えないことが一因と考えられる. また, 2015 年夏作では, ニンジン根部の収量としては試験開始以降最も低くなった. これは, 8 月中旬以降の長雨と日照不足が大きく影響し根部の肥大が悪かったこと及びりん酸の施用量が例年に比べて少なかったことが原因と考えられた. また, 標準区に比べて汚泥肥料施用区の収量が多かったのは, 2014 年冬作ホウレンソウで汚泥肥料の窒素肥効率を 0%としており, 前作の残効により差が生じた可能性が考えられる.

Table 12 The yield of each crop body of 2009 to 2015 (fresh weight)

Year	Season	Test Crops	Part	AP ^{a)}	SP ^{b)}	Aim yield ^{c)} (kg/plot)	Fresh weight index of AP ^{d)}
				Fresh weight (kg/plot)	Fresh weight (kg/plot)		
2009	Summer	Carrot	Root	18.0 (0.1) ^{e)}	17.9 (1.0)	14	101
			Leaf	10.5 (0.4)	9.6 (0.9)	–	109
			Total	28.5 (0.4)	27.6 (1.8)	–	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)	16	95
			Leaf	8.7 (1.0)	10.0 (1.3)	–	88
			Total	17.6 (1.5)	19.3 (2.2)	–	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)	14	101
			Leaf	10.0 (0.6)	9.7 (0.8)	–	103
			Total	22.3 (0.1)	21.8 (0.5)	–	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)	14	118
			Leaf	5.4 (0.3)	4.6 (0.6)	–	119
			Total	17.6 (1.2)	14.9 (2.0)	–	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)	14	100
			Leaf	6.1 (0.6)	6.2 (0.8)	–	98
			Total	15.0 (0.9)	15.1 (1.0)	–	99
2014	Winter	Spinach	Edible portion	14.8 (0.0)	13.6 (0.6)	8	109
2015	Summer	Carrot	Root	7.3 (0.0)	6.4 (0.7)	14	114
			Leaf	8.8 (1.8)	7.3 (0.9)	–	121
			Total	16.1 (1.9)	13.6 (1.6)	–	118

a) Sludge-fertilizer-application plot

b) Standard plot

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

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

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

(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 6.0～6.9 の範囲内で試験区間差も小さく推移している。本試験では pH 6.0 を下回らず、且つ試験区間で差が出ないよう、適宜、石灰資材による pH の補正を行っている。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。

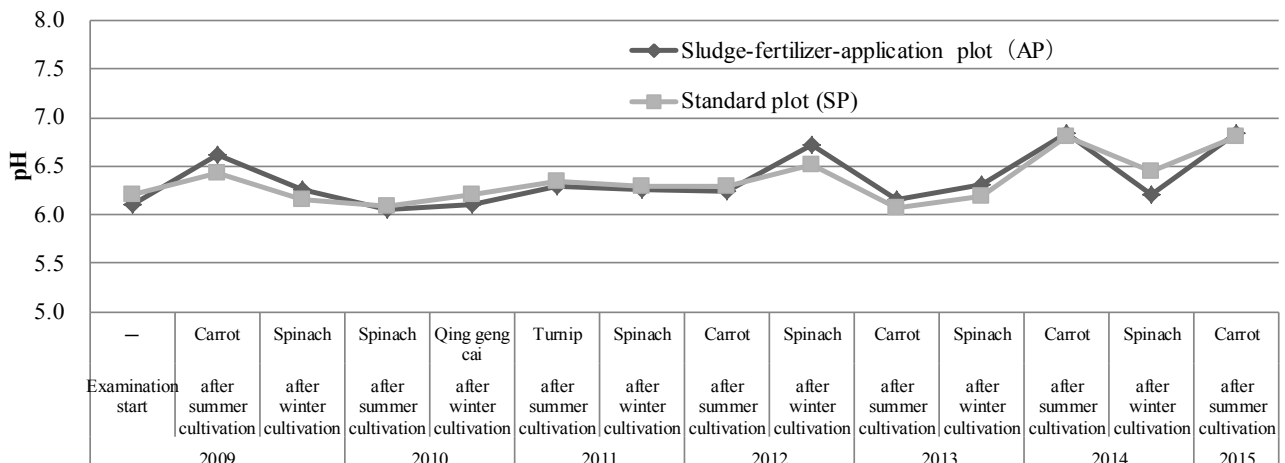


Fig.2 Changes in the pH of soil after harvest

(3.2) 跡地土壌の EC (電気伝導率)

跡地土壌 EC の推移は Fig.3 のとおりである。試験開始以降、2013 年冬作跡地までは年々上昇傾向となっていたが、2014 年夏作跡地以降は下降傾向が見られた。これは、EC 上昇防止及び肥効の緩効化をはかるため、2014 年夏作から窒素肥料をそれまで使用していた硫酸アンモニウムから尿素に変更したためと考えられる。

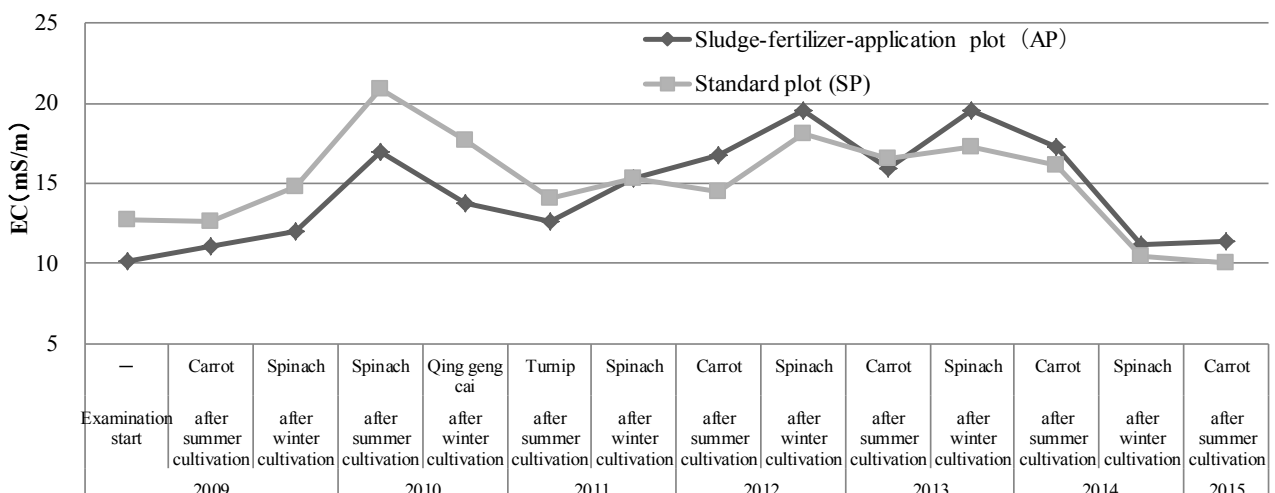


Fig.3 Changes in the EC of soil after harvest

(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 に試

験区間でほとんど差が見られなかったが、2011年冬作跡地以降、TN及びTC共に汚泥肥料施用区の方が標準区に比べて高い傾向にあった。これは、汚泥肥料施用区には汚泥肥料由来の有機物が施用されているが、標準区においては有機物の施用がない状態で連作が行われているため、標準区の有機物濃度が減少したことによると考えられる。

2014年冬作及び2015年夏作の跡地土壌についても同様の傾向が見られた。

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。

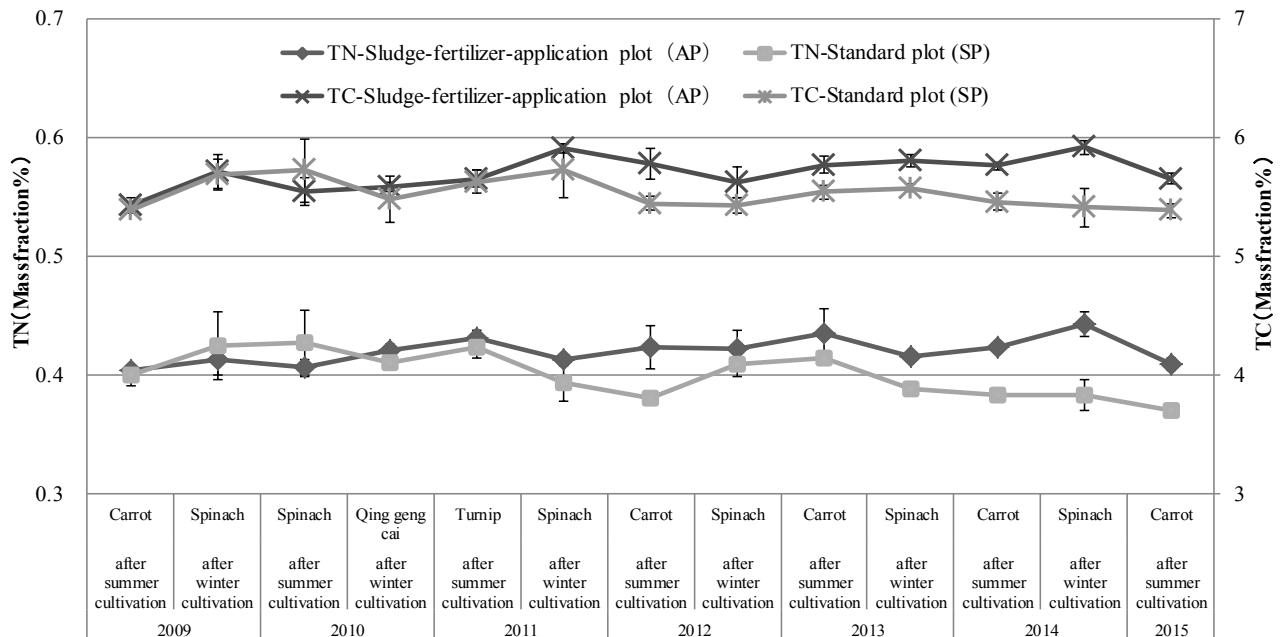


Fig. 4 Changes in the total nitrogen (TN) and total carbon (TC) of soil after harvest (The error bar indicating the standard deviation)

(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たが、2014年冬作跡地では汚泥肥料区の有効態りん酸が急激に増加した。これは、2014年夏作時に汚泥肥料施用区に大量に施肥した溶成りん肥の影響によるものと推察された。前作に施肥した溶成りん肥により有効態りん酸が上昇する傾向は、標準区においても2014年夏作跡地で確認されている。

また、2015年夏作跡地については、有効態りん酸が地力増進基本指針の改善目標である 10 mg/100 g を下回った。これは、2014年冬作以降溶成りん肥の施用を中止したことにより緩効性のりん酸成分が減少したこと及び前作の跡地については、有効態りん酸が 10 mg/100 g と同程度もしくはそれ以上の値であったため土壌改良分として施肥していたりん酸一アンモニウムの追加を2015年夏作時に行わなかったためと考えられる。

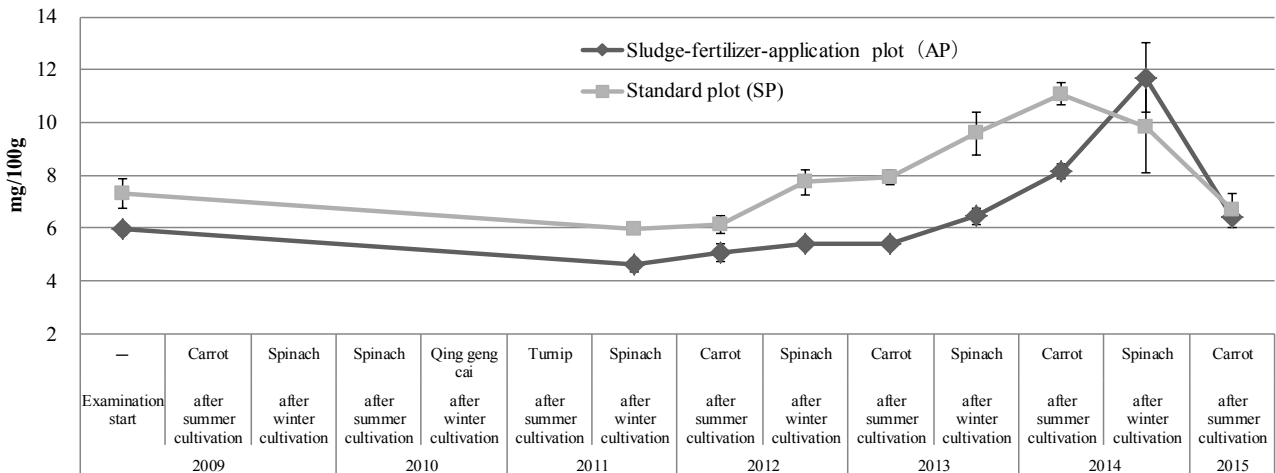


Fig.5 Changes in the available phosphate of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

(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.6-1~6-3 のとおりである。

交換性加里は、ほぼ一定で推移していた。

交換性苦土は、試験開始時と 2011 年冬作跡地を比較するとやや減少していた。その後、2012 年夏作から、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、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、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かったため、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。

交換性石灰は、大きな変動はなく、また、試験区間で大きな差がなかったものの 2014 年夏作跡地では標準区において増加傾向が見られた。これは 2014 年夏作時に標準区にのみ消石灰を施用したことによるものと考えられる。また、2014 年冬作跡地では試験区間の差を維持したまま、汚泥肥料施用区及び標準区で減少傾向が確認された。これは 2014 年冬作時に消石灰の施用を行わなかったことによるものと考えられる。2015 年夏作においては汚泥肥料施用区にのみ消石灰を施用したため試験区間での差は解消されたと考えられる。

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。

Table 13 Changes in the 0.1 mol/L HCl-Cd concentration^{a)} of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	AP ^{b)}	SP ^{c)}	Significance test	<i>p</i> -value of single regression analysis ^{d)}	
			(mg/kg)	(mg/kg)	(difference between the processing)	AP ^{b)}	SP ^{c)}
2009	Start	—	0.19 (0.01) ^{e)}	0.20 (0.02)	N.S. ^{f)}	—	—
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 ^{g)}	—	—
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)	Pending	0.41	0.11
2011	Winter	Spinach	0.20 (0.01)	0.17 (0.01)	Significance ^{h)}	0.63	< 0.05
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 (0.004)	Significance	0.34	< 0.01
2014	Summer	Carrot	0.20 (0.01)	0.15 (0.005)	Significance	0.30	< 0.01
2014	Winter	Spinach	0.21 (0.01)	0.15 (0.003)	Pending	0.17	< 0.01

a) Content in drying soil

b) Sludge-fertilizer-application plot

c) Standard plot

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

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

f) It was not 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))

g) It was pending decision to be significantly different for interaction

(two-way ANOVA 5 % of both sides levels of significance, $n=4 (2 \times 2)$ (repetition \times number of samples))

h) It was 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))

(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 年冬作跡地までの汚泥肥料施用区の回帰は有意でなく($p=0.17$)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た。2014 年冬作跡地では交互作用が確認されたが, 引き続き汚泥肥料施

用区が高い傾向にあった。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壤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、跡地土壤の 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。

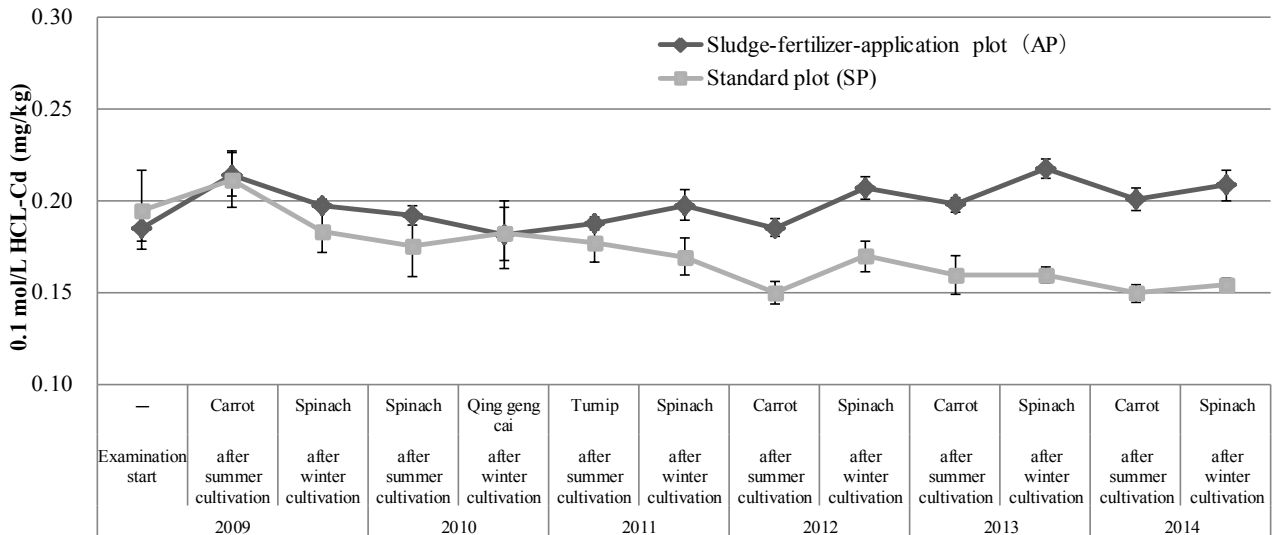


Fig.7 Changes in the 0.1 mol/L HCl-Cd concentration of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

(4.2) 跡地土壤の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度

跡地土壤の 1 mol/L 酢安 (pH 7.0)-Cd 濃度の推移は 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). 2015 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)。

Table 14 Changes in the exchangeable-Cd concentration^{a)} of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	AP ^{b)}	SP ^{c)}	Significance test (difference between the processing)	<i>p</i> -value of single regression analysis ^{d)}	
			(mg/kg)	(mg/kg)		AP ^{b)}	SP ^{c)}
2009	Winter	Spinach	0.036 (0.002) ^{e)}	0.037 (0.002)	N.S. ^{f)}	—	—
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 ^{g)}	—	-
2011	Summer	Turnip	0.036 (0.0004)	0.035 (0.003)	Pending ^{h)}	—	-
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
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
2014	Winter	Spinach	0.039 (0.001)	0.026 (0.001)	Significance	0.31	< 0.01
2015	Summer	Carrot	0.034 (0.002)	0.024 (0.001)	Significance	0.38	< 0.01

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

b) Sludge-fertilizer-application plot

c) Standard plot

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

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

f) It was not 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))

g) It was 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))

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

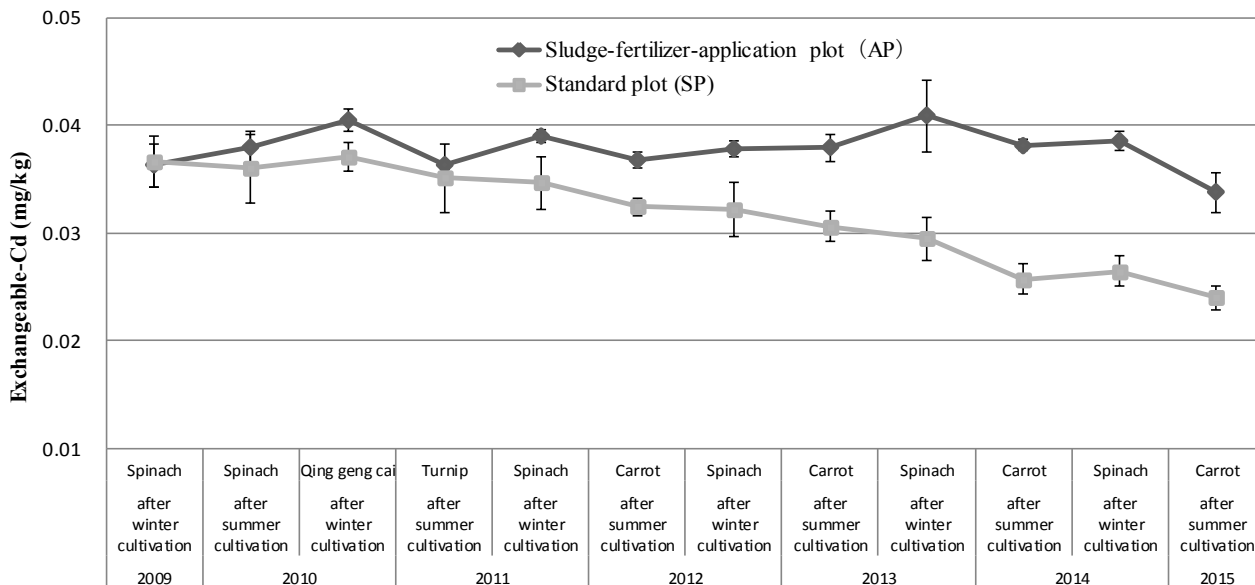


Fig.8 Changes in the exchangeable-Cd concentration of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

(4.3) 跡地土壤の全カドミウム濃度

跡地土壤の全カドミウム濃度の推移は Table 15 及び Fig.9 のとおりである。

汚泥肥料施用区及び標準区の全カドミウム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)に対する全カドミウム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 15). 2015 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カドミウム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壤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.

Table 15 Changes in the total-Cd concentration^{a)} of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	AP ^{b)}	SP ^{c)}	Significance test (difference between the processing)	<i>p</i> -value of single regression analysis ^{d)}	
			(mg/kg)	(mg/kg)		AP ^{b)}	SP ^{c)}
2009	Summer	Carrot	0.51 (0.02) ^{e)}	0.48 (0.03)	Significance ^{f)}	—	—
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	0.030 ^{g)}	0.16
2015	Summer	Carrot	0.57 (0.01)	0.46 (0.01)	Significance	0.005	0.06

a) Content in the drying soil

b) Sludge-fertilizer-application plot

c) Standard plot

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

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

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

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

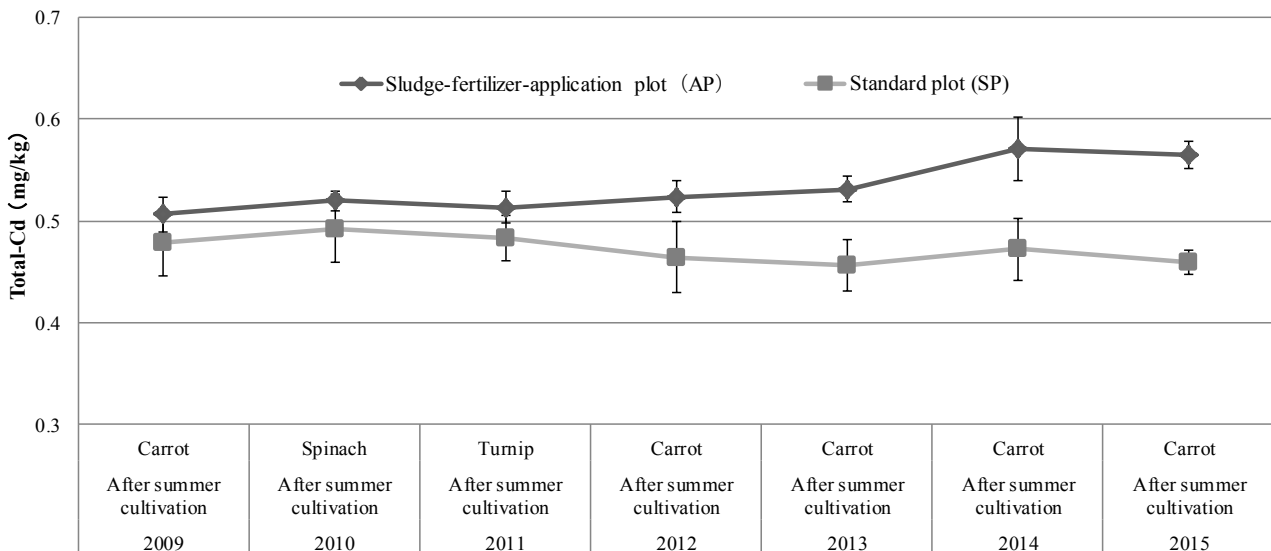


Fig.9 Changes in the total-Cd concentration of soil after harvest
(The error bar indicating the standard deviation)

(5) 作物体のカドミウム濃度及び吸収量

2009年夏作から2015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 16 及び

Fig.10 に示した.

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.

Table 16 Continue

Table 16 Absorption and the amount of cadmium concentration of each crops in 2009~2015

Year	Season	Test Crops	Part	Cadmium Concentration ^{a)}				Quantity of cadmium uptake			
				AP ^{b)} (mg/kg)	SP ^{c)} (mg/kg)	Significance test	Rate ^{d)} (%)	AP ^{b)} (mg/plot)	SP ^{c)} (mg/plot)	Significance test	Rate ^{d)} (%)
2009	Summer	Carrot	Root	0.12	0.11	N.S. ^{f)}	103.3	0.21	0.20	N.S.	108.8
				(0.01) ^{e)}	(0.02)			(0.02)	(0.03)		
			Leaf	0.24	0.22	N.S.	109.2	0.32	0.31	N.S.	105.3
			Total	-	-			0.54	0.50	N.S.	106.7
								(0.03)	(0.04)		
2009	Winter	Spinach	Edible portion	0.62	0.61	N.S.	102.2	1.18	1.34	N.S.	88.1
				(0.01)	(0.02)			(0.004)	(0.02)		
2010	Summer	Spinach	Edible portion	1.40	1.56	N.S.	89.7	0.72	0.96	N.S.	74.9
				(0.10)	(0.07)			(0.04)	(0.01)		
2010	Winter	Qing geng cai	Edible portion	0.20	0.17	Signifi- cance ^{g)}	113.1	0.21	0.21	N.S.	101.5
				(0.01)	(0.01)			(0.01)	(0.01)		
2011	Summer	Turnip	Root	0.08	0.08	N.S.	100.4	0.04	0.04	N.S.	99.3
				(0.01)	(0.002)			(0.003)	(0.00)		
			Leaf	0.16	0.17	N.S.	96.6	0.10	0.11	Pending ^{h)}	89.8
				(0.01)	(0.01)			(0.01)	(0.01)		
			Total	-	-			0.15	0.16	Pending	92.4
								(0.01)	(0.01)		
2011	Winter	Spinach	Edible portion	0.53	0.36	Signifi- cance	150.0	0.68	0.58	Signifi- cance	117.7
				(0.01)	(0.02)			(0.02)	(0.05)		

a) Content in the dry matter

b) Sludge-fertilizer-application plot

c) Standard plot

d) AP/ SP

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

f) It was not significantly different for processing examination section
(two-way ANOVA 5 % of both sides levels of significance, $n=4$ (2×2) (repetition \times number of samples))

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

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

Table 16 Continue

Year	Season	Test Crops	Part	Cadmium Concentration ^{a)}				Quantity of cadmium uptake			
				AP ^{b)} (mg/kg)	SP ^{c)} (mg/kg)	Significance test	Rate ^{d)} (%)	AP ^{b)} (mg/plot)	SP ^{c)} (mg/plot)	Significance test	Rate ^{d)} (%)
2012	Summer	Carrot	Root	0.24 (0.01)	0.23 (0.01)	Pending	106.3	0.32 (0.01)	0.30 (0.02)	Pending	106.5
			Leaf	0.31 (0.01)	0.29 (0.02)	Pending	107.5	0.41 (0.005)	0.38 (0.04)	Pending	107.3
			Total	-	-			0.73 (0.02)	0.68 (0.06)	Pending	106.9
2012	Winter	Spinach	Edible portion	0.56 (0.02)	0.47 (0.03)	Significance	119.2	0.75 (0.01)	0.75 (0.08)	N.S.	100.6
2013	Summer	Carrot	Root	0.18 (0.02)	0.15 (0.02)	N.S.	117.4	0.22 (0.02)	0.17 (0.004)	Significance	134.3
			Leaf	0.33 (0.02)	0.28 (0.03)	Significance	117.4	0.24 (0.01)	0.18 (0.01)	Pending	133.3
			Total	-	-			0.46 (0.03)	0.34 (0.01)	Significance	133.8
2013	Winter	Spinach	Edible portion	0.45 (0.02)	0.30 (0.03)	Significance	152.1	0.73 (0.06)	0.53 (0.07)	Significance	136.4
2014	Summer	Carrot	Root	0.17 (0.01)	0.13 (0.01)	Significance	129.6	0.16 (0.01)	0.13 (0.010)	Significance	127.4
			Leaf	0.25 (0.00)	0.18 (0.02)	Pending	137.3	0.22 (0.00)	0.16 (0.03)	Pending	137.3
			Total	-	-			0.38 (0.01)	0.29 (0.04)	Pending	132.9
2014	Winter	Spinach	Edible portion	0.43 (0.02)	0.28 (0.03)	Significance	151.2	0.65 (0.02)	0.42 (0.06)	Pending	153.8
2015	Summer	Carrot	Root	0.19 (0.03)	0.15 (0.02)	Pending	128.0	0.14 (0.02)	0.10 (0.004)	Pending	139.5
			Leaf	0.23 (0.03)	0.19 (0.02)	Significance	124.0	0.22 (0.01)	0.15 (0.01)	Significance	143.9
			Total	-	-			0.36 (0.03)	0.26 (0.02)	Significance	142.1
The sum total				-	-			7.55 (0.17)	7.03 (0.31)	Pending	107.4

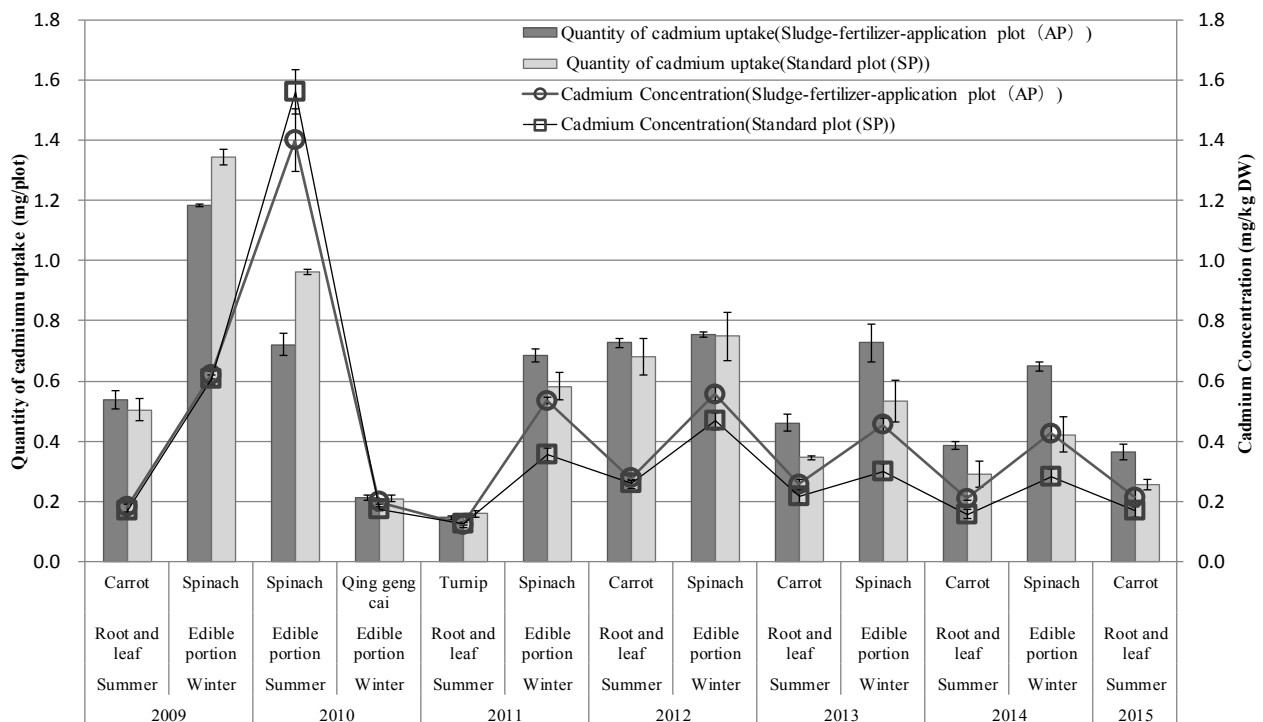


Fig.10 Cadmium concentration and absorption amount of each crops in 2009~2015
(The error bar indicating the standard deviation)

(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 5 回のニンジン試験及び過去 6 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 17 に示した。試験開始時から 2015 年夏作までの作物体のカドミウム濃度は、概ね Codex 基準値の 1/4 以下で推移している。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。

ニンジンの品種は、2014 年夏作から「恋ごころ」に変更した。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²³⁾、夏の高温に比較的強い品種として選定した。

ホウレンソウ品種は 2012 年冬作では、「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²⁴⁾、冬の低温に比較的強い品種として選定した。その後、2013 年冬作では「オーライ」よりも病害抵抗性が高い「強力オーライ」、2014 年冬作からはよりカドミウム濃度が高まりやすいとされる品種²⁴⁾である「ニューアンナ R4」と品種を変更した。

これまでの試験結果からは品種による吸収率の差は判然としなかった。本試験では同一条件で複数の品種を栽培していないため、品種の影響による吸収率の差を比較するのは困難と判断せざるを得ず、今後は、品種の変更を行わず可能な限り同一品種で試験することにより検討要素を絞りこむ必要があると考えられる。

Table 17 Changes of the cadmium concentration of carrot and spinach in 2009~2015

Test Crops	Variety	Year	Season	Cultivation Days	Part	Cadmium Concentration ^{a)}				CODEX Cadmium Standard ^{e)} (mg/kg)	
						AP ^{b)}		SP ^{c)}			
						Dry ^{d)} (mg/kg)	Fresh ^{e)} (mg/kg)	Dry ^{d)} (mg/kg)	Fresh ^{e)} (mg/kg)		
Carrot	Bêtâricch	2009	Summer	90	Root	0.12	0.01	0.11	0.01	0.1	
					Leaf	0.24	0.03	0.22	0.03		
		2012	Summer	105	Root	0.24	0.03	0.23	0.02		
					Leaf	0.31	0.04	0.29	0.04		
		2013	Summer	97	Root	0.18	0.02	0.15	0.02		
					Leaf	0.33	0.04	0.28	0.04		
	Koigokoro	2014	Summer	92	Root	0.17	0.02	0.13	0.01		
					Leaf	0.25	0.04	0.18	0.03		
		2015	Summer	105	Root	0.19	0.02	0.15	0.02		
					Leaf	0.23	0.03	0.19	0.02		
	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	
Ōrai		2011	Winter	99	Edible portion	0.53	0.08	0.36	0.05		
		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		
New Anna R4		2014	Winter	124	Edible portion	0.43	0.04	0.28	0.03		

- a) $n=4$ (2×2) (repetition \times number of samples)
- b) Sludge-fertilizer-application plot
- c) Standard plot
- d) Content in the dry matter
- e) 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 18 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て算出した.

カドミウム持出し量については, これまで実施した 13 作の試験の合計は, 汚泥肥料施用区で 7.55 mg/試験区, 標準区で 7.03 mg/試験区であった.

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傾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カドミウム濃度の増加傾向が認められている(上記(4.3)). 過去 13 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 76.48 mg/試験区 (191 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 0.115 mg/kg となった (Table 18).

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 19 及び Fig.11 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 18 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、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。その理由として、土壌中のカドミウムが垂直方向に移動した可能性が考えられたため 2014 年夏作跡地において作土層の下層 (15-25 cm) の全カドミウム濃度を分析した。その結果、汚泥肥料施用区 (0.46 mg/kg) 及び標準区 (0.44 mg/kg) の全カドミウム濃度に有意差はなかった ($p > 0.05$)⁵⁾。そのため、全カドミウム濃度の理論値と実測値に差が生じるのは耕耘等により一部のカドミウムが水平移動し作土に留まらないことによると考えられる²⁵⁾。

Table 18 Changes of the 2009~2015 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 ^{a)}			Concentration of cadmium accumulation ^{e)}	Quantity of cadmium ^{a)}			Concentration of cadmium accumulation ^{e)}
			Load ^{b)}	Removal ^{c)}	Accumulation ^{d)}		Load ^{b)}	Removal ^{c)}	Accumulation ^{d)}	
(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	-0.0003
2011	Summer	Turnip	3.30	0.15	3.15	0.005	0	0.16	-0.16	-0.0003
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
2014	Winter	Spinach	7.28	0.65	6.63	0.011	0	0.42	-0.42	-0.001
2015	Summer	Carrot	7.28	0.36	6.92	0.012	0	0.26	-0.26	-0.0004
Total			76.48	7.55	68.93	0.115	0.00	7.03	-7.03	-0.0117

a) It show every test plot 4 m²

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

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

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

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

Table 19 Changes in the actual total-Cd concentration and the theoretical total-Cd concentration^{a)} of soil after harvest

Year	Season	Test Crops	Actual measurement		Theoretical value	
			AP ^{b)} (mg/kg)	SP ^{c)} (mg/kg)	AP ^{b) d)} (mg/kg)	SP ^{c) e)} (mg/kg)
2009	Summer	Carrot	0.51 (0.02) ^{f)}	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
2015	Summer	Carrot	0.57 (0.01)	0.46 (0.01)	0.62	0.47

a) Total-Cd concentration in the drying soil

b) Sludge-fertilizer-application plot

c) Standard plot

d) 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

e) 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

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

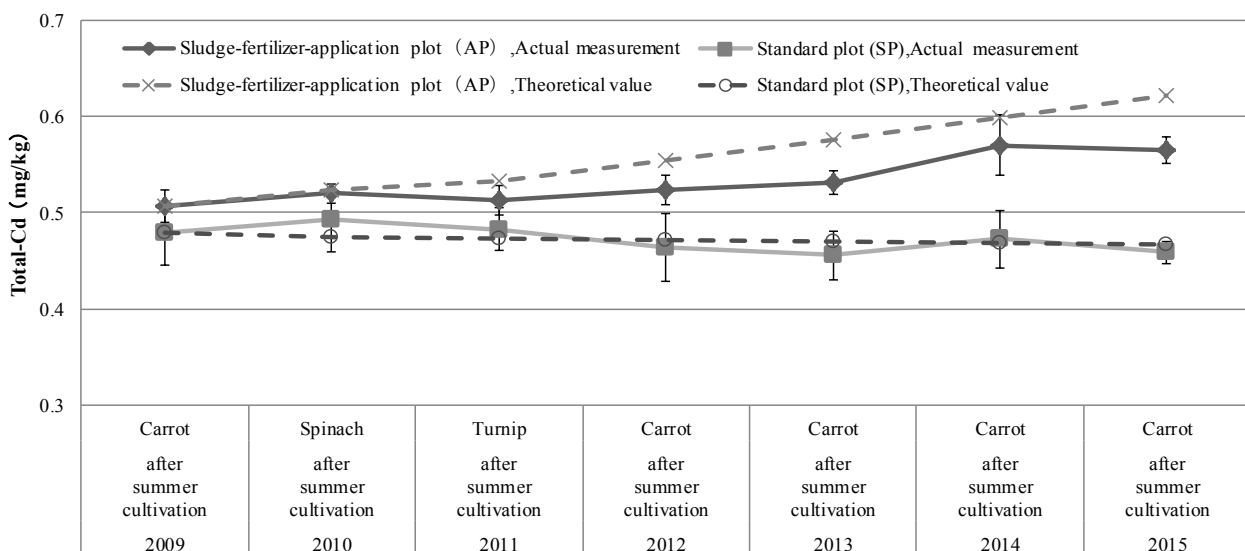


Fig.11 Changes in the actual total-Cd concentration and the theoretical total-Cd concentration of soil after harvest (The error bar indicating the standard deviation)

汚泥肥料施用区のカドミウム負荷量及び蓄積量と土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移を Fig.12 に示した。土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度は試験開始時から 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 ($p > 0.05$)。

他の試験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²⁶⁾。

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、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において、土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度が減少傾向 ($p < 0.05$) となることは作物収穫による持出しによるものと考えられる。また、カドミウム負荷がある汚泥肥料施用区の土壌中 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度が、ほぼ一定で推移 ($p > 0.05$) していることは、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^{27~28)} 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 塩酸には不溶な形態として作土中に蓄積していることが考えられる。

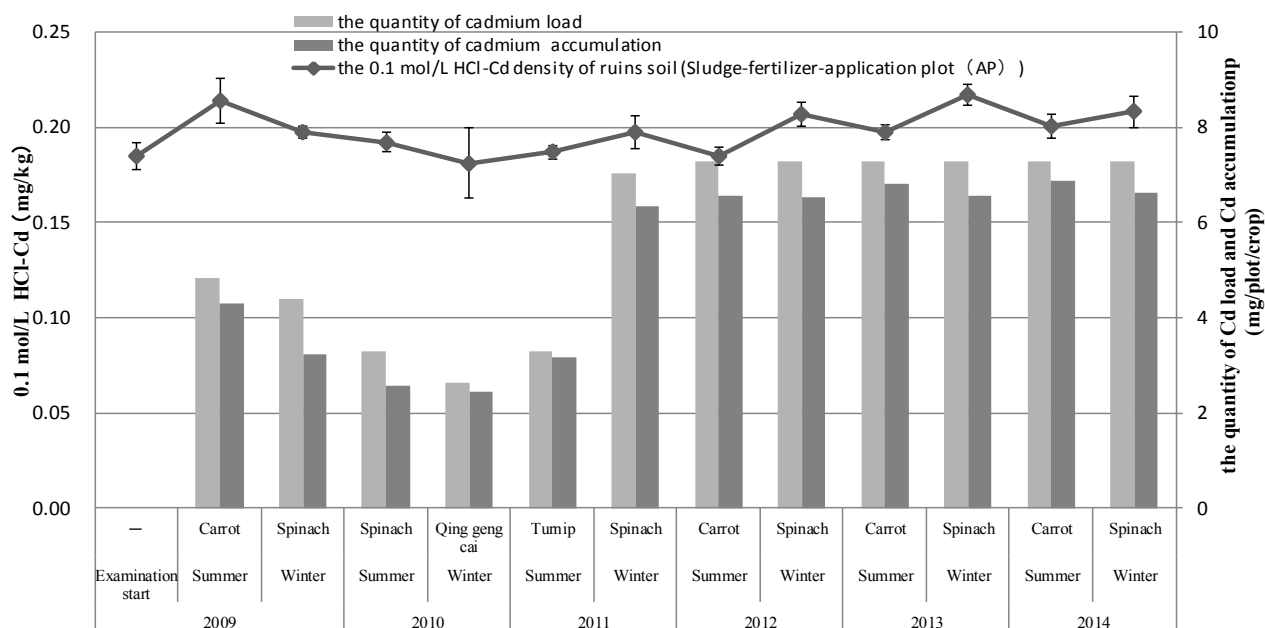


Fig.12 Changes of the 2009~2014 year of the quantity of cadmium load by fertilizer, the quantity of cadmium accumulation to soil, and the 0.1 mol/L HCl-Cd concentration of soil after harvest in sludge fertilizer application plot (AP) (The error bar indicating the standard deviation)

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、2014年冬作としてハウレンソウを、2015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、2015年夏作ニンジンの跡地土壌の全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($p < 0.05$)。作物体のカドミウム濃度は2014年冬作ハウレンソウ及び2015年夏作ニンジンの葉部で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吸収量については、2015年夏作ニンジンの葉部及び全体(葉+根)で、汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高かった($p < 0.05$)。また、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6年半13作の跡地土壌のカドミウム濃度及び作物体カドミウム濃度、吸収量の推移について整理した。跡地土壌の全カドミウム濃度は、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。

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～483 kg/10 a(現物)を施用、2012年夏作～2015年夏作までの7作は500 kg/10 a(現物)を施用し、年2作の試験を6年半、13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2年半及びカドミウム負荷量年間約15 mg/4 m²(36 g/ha)での4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ぼく土より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の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, 恵智正宏, 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, 恵智正宏, 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) 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:汚泥肥料の連用によるカドミウム等の土壌への蓄積, 作物への吸収試験(継続), 肥料研究報告, 8, 79~113, (2015)
- 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
< <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html> >

- 7) 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/a0903/sehikijun.html> >
- 8) 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 >
- 9) 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> >
- 10) 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> >
- 11) 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> >
- 12) 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)
- 13) 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 >
- 14) 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
- 15) 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)
- 16) 農林省令: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)
- 17) 日本土壌肥料学会監修:土壌環境分析法, 215~219, 博友社, 東京 (1997)
- 18) 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)
- 19) 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)
- 20) 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/ >
- 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, 106, 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, p49, (2011)
- 23) 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)
- 24) 伊藤純雄, 菊地直, 加藤直人:ホ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)
- 25) 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)
- 26) 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)
- 27) 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)
- 28) 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 2014 and Summer 2015 -

Shin ABE¹, Tokiya SUZUKI², Yudai TANAKA², Fumihiro ABE², Yoshimi HASHIMOTO²,
Toshiaki HIROI¹ and Shinichi KASHIMA³

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

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Fukuoka Regional Center

The aim of this research is to monitor the change of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid (acid-solubility-Cd) and pH 7.0, 1 mol/L ammonium acetate solution (exchangeable-Cd) in the soil. We have been investigating the cadmium absorption by crop since 2009. We have tested in the upland fields in which the soil is composed of the Andosol. And we have used sludge fertilizer and chemical reagents. We cultivated spinach in winter 2014 and carrot in summer 2015. Those crops were cultivated in the standard plot (SP) and the sludge-fertilizer-application plot (AP). In the SP, we used only chemical reagents for the crops. In the AP, we used 500 kg/10 a (fresh weight) of the sludge fertilizer and chemical reagents for the crops. The amount of nitrogen, phosphorus and potassium applied to each plot was designed on the basis of the fertilization standard shown on the Saitama prefecture's web site. The concentration of total cadmium in the crop, acid-solubility-Cd and exchangeable-Cd in the soil after each of the harvests were measured by the inductivity coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). As a result, the soil in the AP after the harvests has indicated a significant high concentration of the exchangeable-Cd compared with the soil in the SP since winter 2011. The concentration of total-Cd in the soil (from summer 2009 to summer 2015) showed significant increasing trend in the AP. Although the concentration of the acid-solubility-Cd (from summer 2009 to winter 2014) and exchangeable-Cd (from summer 2009 to summer 2015) in the soil showed significant decreasing trend in the SP, the concentration of those Cd in the soil did not show significant fluctuations in the AP. The concentrations of cadmium in each crop harvested (from summer 2009 to summer 2015) in the SP and AP were less than that of the CODEX standard. We consider that it is necessary to be conducted further monitoring of the cadmium-transition in the soil from now on.

Key words sludge fertilizer, continuous application, cadmium

(Research Report of Fertilizer, **8**, 77~109, 2016)

9 2015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, 長谷川正憲¹, 藤田敏史², 千田正樹², 平原稔夫³, 筒井久司⁴,
神川孝文⁵, 八木啓二⁶, 白井裕治¹, 今川俊明⁷

キーワード 外部精度管理, 液状複合肥料, 鉍さいけい酸質肥料, ISO/IEC 17043, 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, 2015年度は液状複合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

液状複合肥料は, 20 kg 入りの 4 容器を 1 容器に移し静かに混合した後, 約 250 g 入りの試料 280 個を調製し, 蓋付きのポリエチレン製容器で密封して配付時まで常温保管した.

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

⁷ 公益財団法人日本肥糧検定協会

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。ふるいを通した試料は、よく混合した後、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 180 g 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
	8	1	3	4	5	3	1
区分番号	6	7	4	7	6	1	6
	9	5	2	6	2	2	3
	2	2	8	9	1	5	8

2) 均質性確認試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル^{4, 5)}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。液状複合肥料については窒素全量 (T-N) 及び水溶性苦土 (W-MgO)、鉍さいけい酸質肥料については可溶性苦土 (C-MgO) を各均質性確認用試料につき 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。2015 年度、液状複合肥料は 129 試験室、鉍さいけい酸質肥料は 82 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

液状複合肥料については、窒素全量 (T-N)、アンモニア性窒素 (A-N)、硝酸性窒素 (N-N)、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-Mn)、水溶性ほう素 (W-B) 及び水溶性カルシウム (W-Ca) の 9 項目を試験項目とした。また、鉍さいけい酸質肥料については、可溶性けい酸 (S-SiO₂)、アルカリ分 (AL) 及び可溶性苦土 (C-MgO) の 3 項目を試験項目とした。

2) 試験方法

肥料等試験法 (2014)⁶⁾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) 窒素全量は、肥料等試験法 4.1.1c (デバルダ合金-ケルダール法) の (4.1) により試料溶液を調製し、同項 (4.2) (4.3) により定量。又は、4.1.1.b (燃焼法) により定量。
- (2) アンモニア性窒素 (A-N) は、肥料等試験法 4.1.2.b (ホルムアルデヒド法) により定量。
- (3) 硝酸性窒素 (N-N) は、肥料等試験法 4.1.3.C (フェノール硫酸法) の (4.1) により試料溶液を調製し、同項 (4.2) (4.3) により定量。

(4) 水溶性りん酸(W-P₂O₅)は、肥料等試験法 4.2.4.a.(バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量.

(5) 水溶性加里(W-K₂O)は、肥料等試験法 4.3.a(フレイム原子吸光法又はフレイム光度法)の(4.1.2)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量.

(6) 水溶性苦土(W-MgO)は、肥料等試験法 4.6.3.a(フレイム原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量.

(7) 水溶性マンガン(W-MnO)は、肥料等試験法 4.7.3.a(フレイム原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量.

(8) 水溶性ほう素(W-B₂O₃)は、肥料等試験法 4.8.2.a(アゾメチンH法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量.

(9) 水溶性カルシウム(W-Ca)は、肥料等試験法 4.5.3.a(フレイム原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量.

(10) 可溶性けい酸(S-SiO₂)は、肥料等試験法 4.4.1.a(ふっ化カリウム法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量.

(11) アルカリ分(AL)は、肥料等試験法 4.5.4.a(エチレンジアミン四酢酸塩法(以下「EDTA法」という)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)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)(肥料等試験法 4.5.2.a)及び可溶性苦土(S-MgO)(肥料等試験法 4.6.1.a)を測定し、肥料等試験法 4.5.4.a(フレイム原子吸光法)の(2)により算出.

(12) く溶性苦土(C-MgO)は、肥料等試験法 4.6.2.a(フレイム原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)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。

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

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) ロバスト法から求めた相対標準偏差(RSD_{rob})を、(e)式により算出した。

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

- (9) 肥料等試験法⁶⁾で共同試験の精度の目安として示されている室間再現相対標準偏差($CRSD_R$)。肥料等試験法において、共同試験の精度は、 $CRSD_R$ の目安以内であることが推奨されており、目安の 1.5 倍まで許容している。

5. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

2.2)において10試料を2点併行で分析した均質性試験の成績の総平均値(\bar{x})及びその成績について一元配置分散分析から得られた統計量から算出した併行標準偏差(s_r)、試料間標準偏差(s_{bb})、併行精度を含む試料間標準偏差(s_{b+r})を表2に示した。更に、肥料等試験法(2014)⁶⁾に示されている併行精度及び室間再現精度の目安($CRSD_r$ 及び $CRSD_R$)並びにそれらから算出(式1及び式2)した推定標準偏差($\hat{\sigma}_r$ 及び $\hat{\sigma}_R$)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(2006)⁵⁾の手順を参考に実施した。まず、試験成績の等分散性を確認するため、試験成績について Cochran 検定を実施した。その結果、すべての成分において外れ値は認められなかったため、これらの成績について一元配置分散分析を実施した。技能試験プロトコル(2006)では併行精度が式3を満たすか確認する手順が示されている。ここで、 $0.5\sigma_p$ は $0.5\hat{\sigma}_R$ を代入し、

$0.5\hat{\sigma}_R = \hat{\sigma}_r$ の関係から s_r を $\hat{\sigma}_r$ と比較した。その結果、すべての成分において式 1 を満たす成績であった。次に、IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル(1993)⁵⁾ の判別式(式 4)を用いて均質性の判定した。その結果、すべての成分において判定式(式 4)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。なお、参考のため、式 5 によって併行精度を含む試料間標準偏差(s_{b+r})は算出したところ、いずれの成分も $\hat{\sigma}_R$ と比較して十分小さい値であった。

$$\hat{\sigma}_r = CRSD_r \times \bar{x} / 100 \quad \dots (式 1)$$

$$\hat{\sigma}_R = CRSD_R \times \bar{x} / 100 \quad \dots (式 2)$$

$$s_r < 0.5\sigma_p = 0.5\hat{\sigma}_R = \hat{\sigma}_r \quad \dots (式 3)$$

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 4)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2} \quad \dots (式 5)$$

$\hat{\sigma}_r$: 推定併行標準偏差

$\hat{\sigma}_R$: 推定室間再現標準偏差

$CRSD_r$: 肥料等試験法(2014)に示されている併行精度(併行相対標準偏差)の目安

$CRSD_R$: 肥料等試験法(2014)に示されている室間再現精度(室間再現相対標準偏差)の目安

\bar{x} : 総平均値

s_r : 併行標準偏差

σ_p : 妥当性確認を行う目的に適合した標準偏差

s_{bb} : 試料間標準偏差

s_{b+r} : 併行精度を含む試料間標準偏差

表 2 均質性確認試験の結果

肥料の種類	分析成分	試料数	\bar{x} ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	s_{bb} ^{d)} (%) ^{b)}	s_{b+r} ^{e)} (%) ^{b)}	$CRSD_r$ ^{f)} (%)	$\hat{\sigma}_r$ ^{g)} (%) ^{b)}	$CRSD_R$ ^{h)} (%)	$\hat{\sigma}_R$ ⁱ⁾ (%) ^{b)}	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{j)} (%) ^{b)}
液状複合肥料	T-N	10	6.51	0.05	0.02	0.06	2	0.13	4	0.26	0.08
	W-MgO	10	1.14	0.01	0	0.01	2	0.02	4	0.05	0.01
鉍さいけい酸質肥料	C-MgO	10	5.44	0.01	0.04	0.04	2	0.11	4	0.22	0.07

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) 試料間標準偏差

e) 併行精度を含む試料間標準偏差

$$s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$$

f) 肥料等試験法で示されている併行精度(併行相対標準偏差)の目安

g) 併行精度の目安から算出した併行標準偏差の推定値

$$\hat{\sigma}_r = CRSD_r \times \bar{x} / 100$$

h) 肥料等試験法で示されている室間再現精度(室間再現相対標準偏差)の目安

i) 室間再現精度の目安から算出した併行標準偏差の推定値

$$\hat{\sigma}_R = CRSD_R \times \bar{x} / 100$$

j) 均質性の判定(s_{bb} の評価)のためのパラメータ

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

試験成績で「満足」との評価を受けた試験室の割合は、鉍さいけい酸質肥料中のく溶性苦土が 91 %と最も高く、液状複合肥料中の窒素全量及びアンモニア性窒素が 77 %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、液状複合肥料では窒素全量の 13 %、鉍さいけい酸質肥料中ではアルカリ分の 5 %がそれぞれ最も高い結果であった。直近の昨年度及び今年度と同じ液状複合肥料を用いた平成 24 年度と比較すると、「満足 ($|z| \leq 2$)」と評価された試験室の割合は昨年度が 72 %～97 %、平成 24 年度が 78 %～91 %、「不満足 ($|z| \geq 3$)」と評価された試験室の割合は昨年度が 4 %～14 %、平成 24 年度が 5 %～13 %であった。

4.2) (3)～(9)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。 RSD_{rob} と各試験成分の濃度レベルにおける $CRSD_R$ 及び $CRSD_R$ の 1.5 倍の値との関係を図 1 に示した。全ての試験成分において、 RSD_{rob} は肥料等試験法で精度として許容されている $CRSD_R$ の 1.5 倍の範囲内であったが、液状複合肥料の硝酸性窒素、水溶性カルシウム及び鉍さいけい酸質肥料のく溶性苦土については RSD_{rob} が許容値である $CRSD_R$ の 1.5 倍値の 90%を超える値であり、試験室間の成績のばらつきが比較的大きいことが推察された。

2006～2015 年度に実施した試験項目の Median, $NIQR$, RSD_{rob} 及び $CRSD_R$ 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 6 試験室以上報告のあった試験方法別の Median, $NIQR$, RSD_{rob} 及び $CRSD_R$ 等を表 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 (%)
(液状複合肥料)							
T-N	111	86	77	6	5	19	17
A-N	106	82	77	7	7	17	16
N-N	92	79	86	6	7	7	8
W-P ₂ O ₅	126	106	84	8	6	12	10
W-K ₂ O	124	100	81	8	6	16	13
W-MgO	118	99	84	8	7	11	9
W-MnO	107	89	83	7	7	11	10
W-B ₂ O ₃	97	85	88	1	1	11	11
W-Ca	95	84	88	6	6	5	5
(鉍さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	62	52	84	8	13	2	3
AL	77	67	87	6	8	4	5
S-CaO	60	58	97	1	2	1	2
S-MgO	61	50	82	5	8	6	10
C-MgO	80	73	91	4	5	3	4

- 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 (%)

表4 共同試験成績の統計量

試験項目	Mean ^{a)} (%) ⁱ⁾	Median ^{b)} (%) ⁱ⁾	$U_{95\%}$ ^{c)} (%) ⁱ⁾	s ^{d)} (%) ⁱ⁾	$NIQR$ ^{e)} (%) ⁱ⁾	RSD_{rob} ^{f)} (%)	$CRSD_R$ ^{g)} (%)	$1.5 \times CRSD_R$ ^{h)} (%)
(液状複合肥料)								
T-N	6.37	6.57	0.04	0.70	0.19	2.9	4	6
A-N	2.43	2.33	0.02	0.35	0.08	3.4	4	6
N-N	1.32	1.29	0.01	0.18	0.07	5.5	4	6
W-P ₂ O ₅	6.20	6.15	0.01	0.31	0.07	1.1	4	6
W-K ₂ O	6.34	6.27	0.02	0.39	0.10	1.7	4	6
W-MgO	1.15	1.15	0.01	0.09	0.04	3.1	4	6
W-MnO	0.090	0.092	0.000	0.007	0.003	2.8	8	12
W-B ₂ O ₃	0.127	0.126	0.001	0.015	0.004	3.5	6	9
W-Ca	0.223	0.224	0.004	0.030	0.020	8.8	6	9
(鉱さいけい酸質肥料)								
S-SiO ₂	32.42	32.34	0.18	0.95	0.71	2.2	2.5	3.8
AL	50.37	50.43	0.17	1.12	0.76	1.5	2.5	3.8
S-CaO	41.11	40.99	0.27	1.06	1.05	2.6	2.5	3.8
S-MgO	6.55	6.59	0.04	0.28	0.17	2.6	4	6
C-MgO	4.89	4.87	0.06	0.31	0.25	5.2	4	6

- 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) ロバスト相対標準偏差
- g) 肥肥料等試験法で精度の目安として推奨されている
室間再現相対標準偏差
- h) 肥料等試験法で精度として許容されている室間再現相対標準偏差
- i) 質量分率

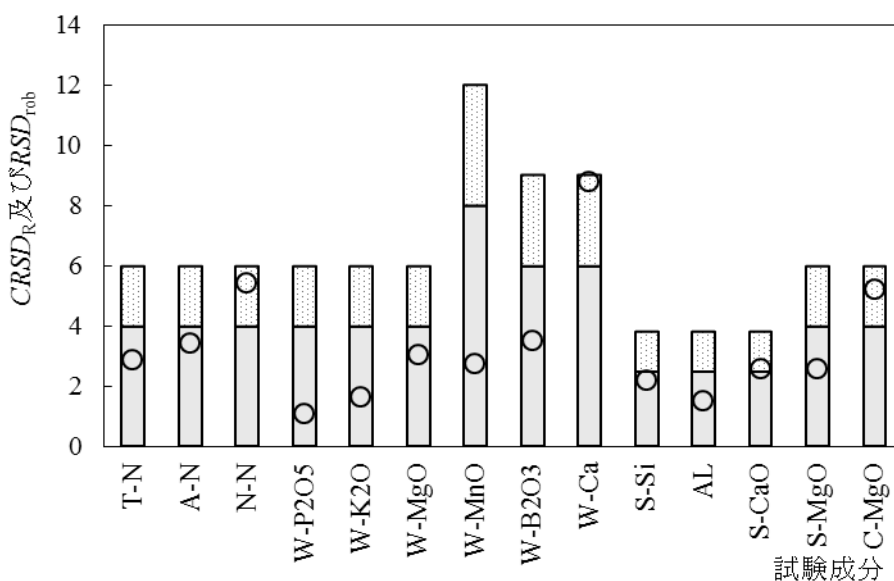


図1 各試験成績の $CRSD_R$ と RSD_{rob} の関係
 □ $1.5 \times CRSD-R$ □ $CRSD-R$ ○ RSD_{rob}

表5-1 複合肥料における2006～2015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)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	1.5×CRSD _R ^{e)} (%)
Mois	2006		147	1.70	0.30	17.7	4	6
	2007		146	4.99	0.35	7.0	4	6
	2008		145	2.87	0.24	8.5	4	6
	2009		145	3.53	0.15	4.2	4	6
	2010		143	1.58	0.41	26.0	4	6
	2011		137	1.00	0.12	12.0	4	6
	2013		136	2.93	0.84	28.7	4	6
	2014		133	1.78	0.16	8.7	4	6
T-N	2006	尿素	158	14.60	0.13	0.9	3	4.5
	2007	有機質肥料	145	8.74	0.07	0.8	4	6
	2010	尿素	140	14.11	0.11	0.8	3	4.5
	2014	有機質肥料	126	9.13	0.11	1.2	4	6
	2015	尿素	111	6.57	0.19	2.9	4	6
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	3	4.5
	2007	硫酸アンモニア	143	6.20	0.09	1.4	4	6
	2008	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	147	12.56	0.16	1.2	3	4.5
	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	4	6
	2010	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	128	11.53	0.18	1.6	3	4.5
	2011	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	138	13.49	0.18	1.3	3	4.5
	2012		130	2.39	0.04	1.9	4	6
	2013	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	136	9.92	0.74	7.5	4	6
	2014	硫酸アンモニア,りん酸アンモニア	122	7.99	0.12	1.5	4	6
	2015	りん酸アンモニア,硝酸アンモニア	106	2.33	0.08	3.4	4	6
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	4	6
	2012		115	2.17	0.10	4.8	4	6
	2015	硝酸アンモニア	92	1.29	0.07	5.5	4	6

a) 全体の中央値

d) 肥料等試験法で精度の目安として推奨されている室間再現相対標準偏差

b) ロバスト標準偏差

e) 肥料等試験法で精度として許容されている室間再現相対標準偏差

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)

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)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	1.5×CRSD _R ^{e)} (%)
T-P ₂ O ₅	2007	有機質肥料	140	10.35	0.10	0.9	3	4.5
C-P ₂ O ₅	2007	りん酸アンモニア	143	9.81	0.13	1.3	4	6
	2008	りん酸アンモニア	146	15.82	0.13	0.8	3	4.5
	2010	りん酸アンモニア	141	14.59	0.18	1.2	3	4.5
	2013	りん酸アンモニア, 過りん 酸石灰	129	20.60	0.20	1.0	3	4.5
	2014	りん酸アンモニア, 過りん 酸石灰	126	10.41	0.12	1.2	3	4.5
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	3	4.5
	2009	過りん酸石灰	125	6.37	0.12	1.9	4	6
	2011	りん酸アンモニア, 過りん 酸石灰	114	17.44	0.22	1.3	3	4.5
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	4	6
	2007	りん酸アンモニア	143	7.02	0.23	3.2	4	6
	2008	りん酸アンモニア	149	9.16	0.24	2.7	4	6
	2009	過りん酸石灰	144	4.57	0.08	1.8	4	6
	2010	りん酸アンモニア	144	11.56	0.52	4.5	3	4.5
	2011	りん酸アンモニア, 過りん 酸石灰	133	14.51	0.19	1.3	3	4.5
	2012		131	2.86	0.06	2.1	4	6
	2013	りん酸アンモニア, 過りん 酸石灰	134	12.09	0.38	3.1	3	4.5
	2014	りん酸アンモニア, 過りん 酸石灰	132	5.34	0.12	2.2	4	6
2015	りん酸アンモニア	126	6.15	0.07	1.1	4	6	
C-K ₂ O	2011	硫酸加里	122	10.41	0.23	2.2	3	4.5
W-K ₂ O	2006	塩化加里	156	12.38	0.22	1.8	3	4.5
	2007	硫酸加里	145	8.43	0.15	1.8	4	6
	2008	塩化加里	147	11.39	0.15	1.3	3	4.5
	2009	硫酸加里	145	8.35	0.13	1.5	4	6
	2010	塩化加里	142	14.72	0.17	1.2	3	5
	2011	塩化加里	132	10.17	0.17	1.7	3	4.5
W-K ₂ O	2012		131	2.43	0.06	2.4	4	6
	2013	塩化加里, 硫酸加里 苦土	132	11.74	0.35	3.0	3	4.5
	2014	硫酸加里	130	8.80	0.16	1.8	4	6
	2015	塩化加里	124	6.27	0.10	1.7	4	6

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)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	1.5×CRSD _R ^{e)} (%)
C-MgO	2007	副産苦土肥料	137	3.41	0.07	2.2	4	6
	2008	水酸化苦土肥料	142	4.62	0.12	2.5	4	6
	2010	副産苦土肥料	137	3.11	0.07	2.4	4	6
	2011	水酸化苦土肥料	128	2.48	0.07	2.8	4	6
	2013	副産苦土肥料, 硫酸加里 苦土	129	6.18	0.13	2.2	4	6
	2014	副産苦土肥料	122	3.37	0.08	2.4	4	6
W-MgO	2011	水酸化苦土肥料	119	1.94	0.09	4.6	4	6
	2012		116	1.68	0.05	3.1	4	6
	2013	硫酸加里苦土	120	3.79	0.68	18.0	4	6
	2014	副産苦土肥料	120	1.89	0.18	9.5	4	6
	2015	塩化マグネシウム	118	1.15	0.04	3.1	4	6
C-MnO	2009	熔成微量元素複合肥料	126	0.54	0.02	3.6	6	9
	2013	熔成微量元素複合肥料	115	0.51	0.01	2.8	6	9
W-MnO	2012		112	1.25	0.03	2.4	4	6
	2015	硫酸マンガン	107	0.09	0.00	2.8	8	12
C-B ₂ O ₃	2009	熔成微量元素複合肥料	120	0.28	0.02	5.6	6	9
	2013	熔成微量元素複合肥料	104	0.25	0.01	5.5	6	9
W-B ₂ O ₃	2006	ほう酸塩肥料	132	0.40	0.02	4.2	6	9
	2008	ほう酸塩肥料	119	0.26	0.01	2.9	6	9
	2010	ほう酸塩肥料	116	0.29	0.01	3.4	6	9
	2012		103	0.24	0.01	3.6	6	9
	2015	ほう酸塩肥料	97	0.126	0.004	3.5	6	9
W-Ca	2015	塩化カルシウム	95	0.223	0.020	8.8	6	9
Fe	2012		86	0.240	0.013	5.4	6	9
Cu	2012		88	0.0545	0.0014	2.6	8	12
Zn	2012		87	0.0595	0.0029	4.8	8	12
Mo	2012		52	0.210	0.010	4.7	6	9
T-As	2006		84	1.89	0.19	10.1	16	24
	2007		68	3.84	0.38	9.8	16	24
	2008		65	4.14	0.41	9.8	16	24
	2009		59	4.31	0.60	13.9	16	24
	2010		61	3.62	0.36	9.8	16	24
	2011		52	4.74	0.61	12.9	16	24
	2013		52	10.31	0.99	9.6	11	16.5
	2014		47	2.64	0.32	12.2	16	24

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)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	1.5×CRSD _R ^{e)} (%)
T-Cd	2006		95	1.26	0.11	9.1	16	24
	2007		85	1.24	0.12	9.6	16	24
	2008		86	2.60	0.15	5.9	16	24
	2009		73	0.47	0.08	17.3	22	33
	2010		79	1.22	0.08	6.7	16	24
	2011		74	2.03	0.09	4.4	16	24
	2013		65	3.02	0.24	8.1	16	24
	2014		61	0.55	0.08	13.8	22	33

表5-2 鉍さいけい酸質肥料における2006～2015年度の共同試験成績の統計量

試験項目	実施年	参加試験室数	Median ^{a)} (%) ^{f)}	NIQR ^{b)} (%) ^{f)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	1.5×CRSD _R ^{e)} (%)
S-SiO ₂	2006	66	33.92	0.60	1.8	2.5	3.8
	2007	67	28.25	0.87	3.1	2.5	3.8
	2008	68	33.35	0.49	1.5	2.5	3.8
	2009	69	32.67	0.62	1.9	2.5	3.8
	2010	67	33.52	0.57	1.7	2.5	3.8
	2011	59	30.69	0.75	2.4	2.5	3.8
	2012	67	36.15	0.48	1.3	2.5	3.8
	2013	60	35.18	0.55	1.6	2.5	3.8
	2014	63	34.10	0.36	1.1	2.5	3.8
	2015	62	32.34	0.71	2.2	2.5	3.8
AL	2006	75	50.56	0.64	1.3	2.5	3.8
	2007	83	48.70	0.76	1.6	2.5	3.8
	2008	86	50.90	0.71	1.4	2.5	3.8
	2009	85	39.03	0.92	2.4	2.5	3.8
	2010	85	49.26	0.80	1.6	2.5	3.8
	2011	76	49.48	0.68	1.4	2.5	3.8
	2012	77	49.95	0.71	1.4	2.5	3.8
	2013	78	36.79	0.95	2.6	2.5	3.8
	2014	77	50.83	1.03	2.0	2.5	3.8
2015	77	50.43	0.76	1.5	2.5	3.8	

a) 全体の中央値

d) 肥料等試験法で精度の目安として推奨されている室間再現相対標準偏差

b) ロバスト標準偏差

e) 肥料等試験法で精度として許容されている室間再現相対標準偏差

c) ロバスト相対標準偏差

f) 質量分率

表5-2 (続き)

試験項目	実施年	参加 試験室数	Median ^{a)} (%) ^{f)}	NIQR ^{b)} (%) ^{f)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	1.5×CRSD _R ^{e)} (%)
S-CaO	2009	58	32.68	0.90	2.8	2.5	3.8
	2010	56	41.64	0.78	1.9	2.5	3.8
	2011	55	40.78	0.23	0.6	2.5	3.8
	2012	57	40.53	0.60	1.5	2.5	3.8
	2013	61	30.09	0.70	2.3	2.5	3.8
	2014	58	42.79	1.14	2.7	2.5	3.8
	2015	57	41.02	1.02	2.5	2.5	3.8
S-MgO	2009	58	4.48	0.10	2.3	4	6
	2010	56	5.38	0.08	1.5	4	6
	2011	55	6.24	0.12	1.9	4	6
	2012	56	6.86	0.14	2.0	4	6
	2013	61	4.62	0.16	3.4	4	6
	2014	58	5.78	0.13	2.2	4	6
	2015	58	6.60	0.16	2.4	4	6
C-MgO	2006	78	6.18	0.13	2.0	4	6
	2007	86	3.17	0.21	6.6	4	6
	2008	89	5.80	0.14	2.4	4	6
	2009	87	2.34	0.20	8.7	4	6
	2010	88	5.42	0.11	2.1	4	6
	2011	78	3.36	0.23	6.8	4	6
	2012	81	6.77	0.19	2.8	4	6
	2013	79	3.77	0.14	3.6	4	6
	2014	79	5.71	0.17	3.1	4	6
	2015	80	4.87	0.25	5.2	4	6

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)} (%) ^{d)}	NIQR ^{b)} (%) ^{d)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	1.5×CRSD _R ^{e)} (%)
(液状複合肥料)							
T-N	燃焼法	12	6.63	0.05	0.8	4	6
	デバルダ合金-ケルダール法	65	6.45	0.18	2.8	4	6
	還元鉄-ケルダール法	24	6.62	0.13	2.0	4	6
	ケルダール法	6	4.92	0.98	19.9	4	6
A-N	蒸留法	25	2.32	0.09	3.8	4	6
	ホルムアルデヒド法	74	2.33	0.07	3.2	4	6
N-N	フェノール硫酸法	72	1.28	0.06	4.6	4	6
	デバルダ合金-蒸留法	13	1.35	0.07	5.5	4	6
W-P ₂ O ₅	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光度法	124	6.15	0.07	1.1	4	6
W-K ₂ O	フレイム光度法	36	6.28	0.08	1.2	4	6
	フレイム原子吸光法	86	6.27	0.10	1.6	4	6
W-MgO	フレイム原子吸光法	109	1.15	0.04	3.2	4	6
	ICP発光分光分析法	6	1.17	0.05	4.5	4	6
W-MnO	フレイム原子吸光法	98	0.092	0.002	2.5	8	12
	ICP発光分光分析法	7	0.090	0.008	9.2	8	12
W-B ₂ O ₃	アゾメチンH法	90	0.126	0.004	3.5	6	9
	ICP発光分光分析法	7	0.127	0.008	6.4	6	9
W-Ca	フレイム原子吸光法	95	0.223	0.020	8.8	6	9
	ICP発光分光分析法	6	0.231	0.016	7.1	6	9
(鉱さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	ふっ化カリウム法	44	32.30	0.69	2.2	2.5	3.8
	過塩素酸法	14	32.37	0.68	2.1	2.5	3.8
AL	エチレンジアミン四酢酸塩法	16	50.56	0.39	0.8	2.5	3.8
	フレイム原子吸光法	57	50.22	0.80	1.6	2.5	3.8
S-CaO	フレイム原子吸光法	57	41.02	1.02	2.5	2.5	3.8
S-MgO	フレイム原子吸光法	58	6.60	0.16	2.4	4	6
C-MgO	フレイム原子吸光法	72	4.87	0.22	4.6	4	6

a) 全体の中央値

d) 肥料等試験法で精度の目安として推奨されている室間再現相対標準偏差

b) ロバスト標準偏差

e) 肥料等試験法で精度として許容されている室間再現相対標準偏差

c) ロバスト相対標準偏差

f) 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 2-5 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(液状複合肥料中の W-P₂O₅ と W-K₂O 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 S-MgO と 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。

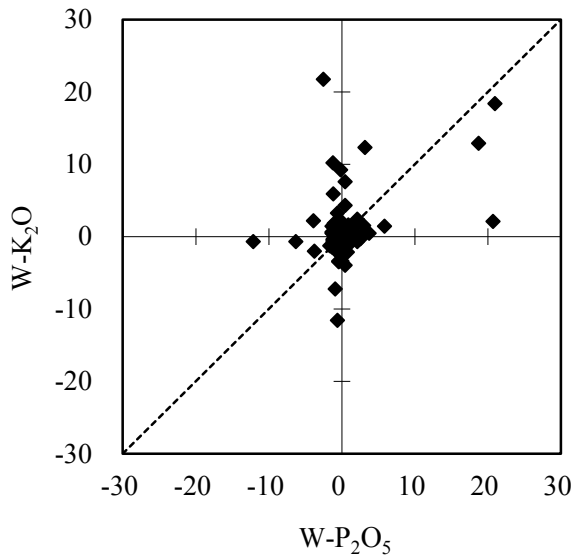


図2-1 液状複合肥料中のW-P₂O₅－W-K₂Oのzスコアの関係

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

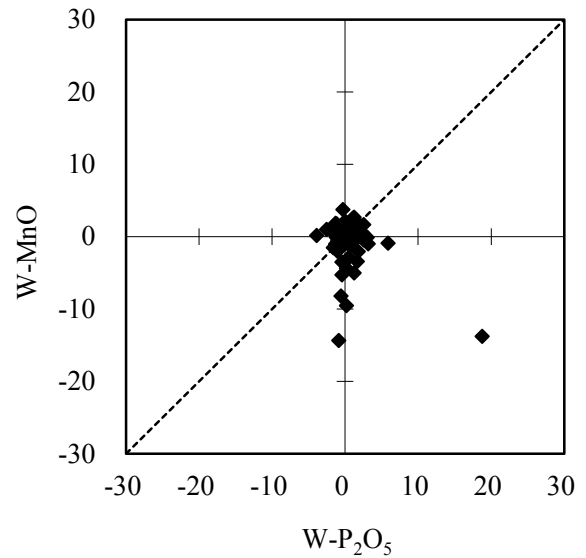


図2-2 液状複合肥料中のW-P₂O₅－W-MnOのzスコアの関係

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

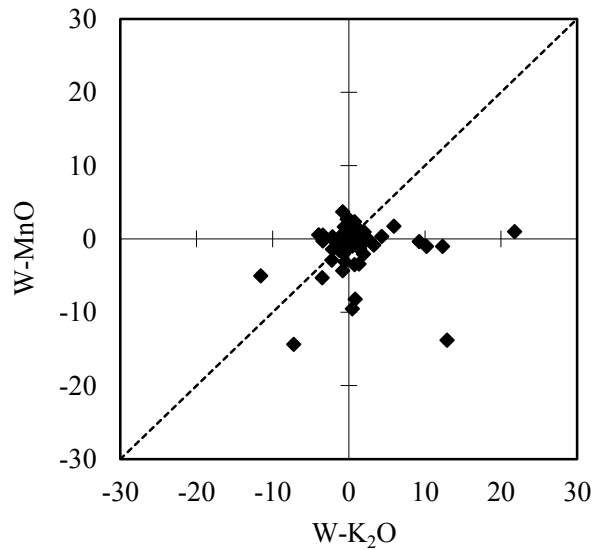


図2-3 液状複合肥料中のW-K₂O－W-MnOのzスコアの関係

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

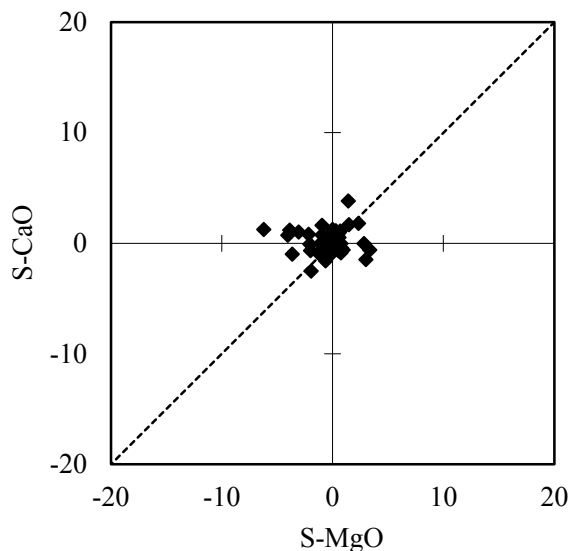


図2-4 鉍さいけい酸質肥料中の
S-MgO-S-CaOのzスコアの関係

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

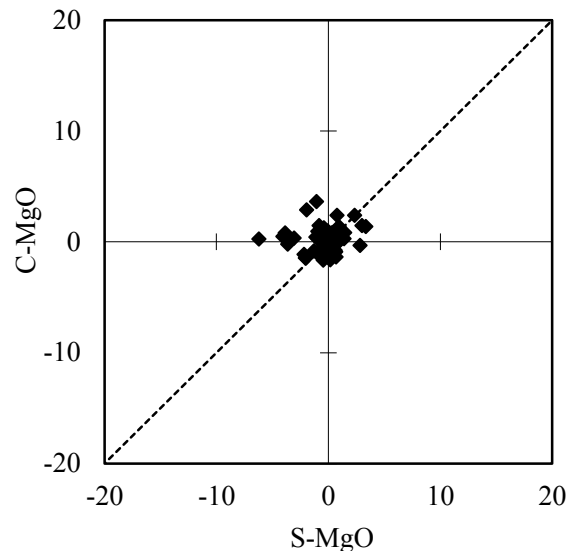


図2-5 鉍さいけい酸質肥料中の
S-MgO-C-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
----- 線形 (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) 液状複合肥料中の窒素全量(T-N)

参加 111 試験室のうち、65 試験室がデバルダ合金-ケルダール法、12 試験室が燃焼法、24 試験室が還元鉄-ケルダール法、6 試験室がケルダール法、2 試験室が自動分析装置、1 試験室がサリチル硫酸法、1 試験室がケルダール法に硝酸性及び亜硝酸性の窒素量を合算した方法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-1 に示す。平均値 6.37% (質量分率) と Median 6.57% (質量分率) には 0.2% の差が見られた。z スコアにより、「満足」と評価された試験室は全体の 77% の 86 試験室であり、「不満足」と評価された試験室は全体の 17% である 19 試験室が該当した。そのうち 7 試験室がデバルダ合金-ケルダール法、6 試験室がケルダール法、2 試験室が燃焼法、1 試験室が還元鉄-ケルダール法を用いていた。この 4 試験法の Median を比較すると、ケルダール法は、その他の試験法と比較して 1.5% 以上低い値を示した (表 6)。4 試験法の試験成績について一元配置分散分析を行い、多重比較検定として Tukey 検定を行ったところ、ケルダール法の試験成績は、ほかの 3 試験法に比べて有意に小さい値であった (有意水準 5%)。ケルダール法は、硝酸性窒素の定量ができないほか、蒸留中に硝酸性窒素がアンモニア性窒素の一部と反応して脱窒する可能性がある。今回の液状複合肥料は硝酸性窒素を含有しており、ケルダール法を用いたことが低値の原因と考えられる。肥料等試験法には、ケルダール法は硝酸性窒素を含まない肥料に適用するとされており、方法の選択には注意が必要である。

(2) 液状複合肥料中のアンモニア性窒素(A-N)

参加 106 試験室のうち、25 試験室が蒸留法、74 試験室がホルムアルデヒド法、4 試験室がインドフェノール法、1 試験室がイオンクロマトグラフ法、2 試験室が自動分析装置を用いた。試験成績の度数分布を図 3-2 に示した。平均値 2.43% (質量分率) と Median 2.33% (質量分率) であり、z スコアにより、「満足」と評価された試験室は全体の 77% であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 16% である 17 試験室が該当した。そのうち 9 試験

室がホルムアルデヒド法, 5 試験室が蒸留法を用いていた. 蒸留法及びホルムアルデヒド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. 蒸留法は, 尿素を用いた肥料を測定する際に水酸化ナトリウムをアルカリ剤として用いると, 蒸留時に尿素が分解することがある. 分解によりアンモニア性窒素が遊離し, 高値の原因となる場合があるため, アルカリ剤の選択には注意が必要である. また, 蒸留操作初期にアンモニアの流出が多いため, アルカリ剤の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留意されたい. ホルムアルデヒド法については, りん酸による誤差を生じる可能性があるため, 塩化アルミニウム溶液等の添加によるりん酸除去操作や, ホルムアルデヒド溶液を添加する前の pH 調整操作等の個々の分析操作を正確に行うことに注意する必要がある.

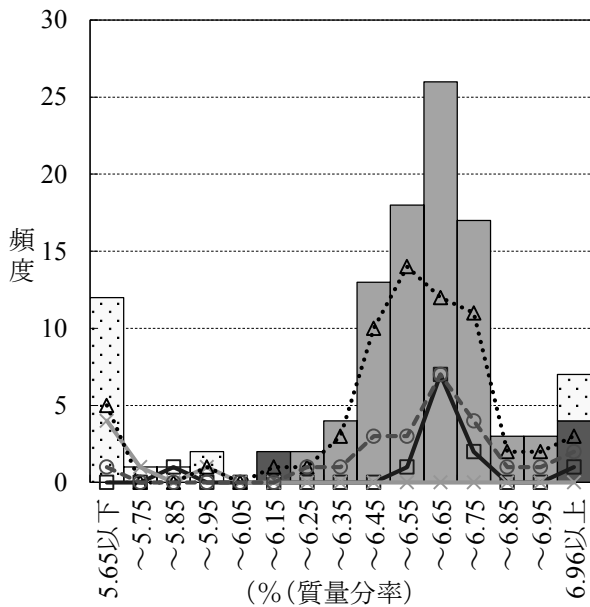


図3-1 液状複合肥料中の窒素全量の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい ▨ 不満足
 —□— 燃焼法 —×— ケルダール法
 ...△... デバルダ合金—ケルダール法 -○- 還元鉄—ケルダール法

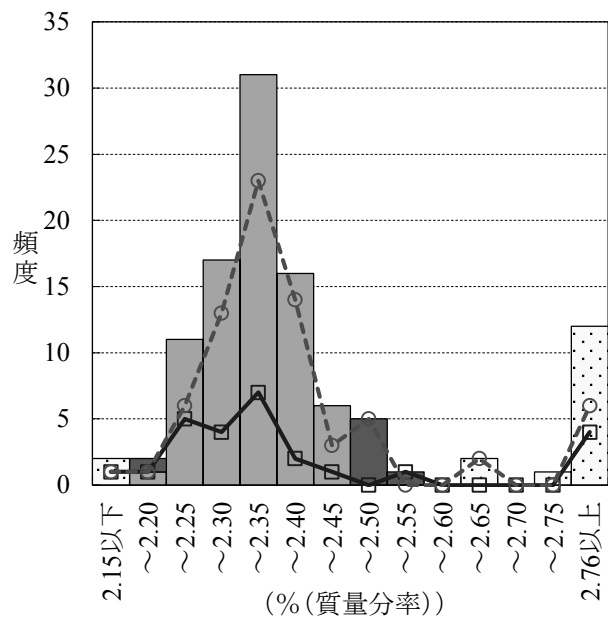


図3-2 液状複合肥料中のアンモニア性窒素の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい ▨ 不満足
 —□— 蒸留法 -○- ホルムアルデヒド法

(3) 液状複合肥料中の硝酸性窒素(N-N)

参加 92 試験室のうち, 72 試験室がフェノール硫酸法, 13 試験室がデバルダ合金法, 3 試験室が自動分析装置, 2 試験室がナフチルアミン法, 2 試験室がイオンクロマトグラフ法を用いた. 試験成績の度数分布を図 3-3 に示した. 平均値 1.32 % (質量分率) と Median 1.29 % (質量分率) であり, 「満足」と評価された試験室は全体の 86 % 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 7 試験室が該当し, そのうちフェノール硫酸法, デバルダ合金法及び自動分析装置による方法が 2 試験室ずつ, ナフチルアミン法が 1 試験室であった. フェノール硫酸法及びデバルダ合金法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5 % で有意な差が認められ, デバルダ合金法による試験成績が高いことが確認された. これは尿素を含む本試料に, 水酸化ナトリウムを添加し, 加熱による水蒸気蒸留を行ったことで, 尿素が分解してアンモニア性窒素が遊離することで高値の原因になったことが推察される. 肥料等試験法ではデバルダ合金法は, アンモニア性窒素を遊離する尿素や石灰窒素及び有機物を含む肥料には適用できないとされており, 方法の選択に注意する必要がある.

(4) 液状複合肥料中の水溶性りん酸(W-P₂O₅)

参加 126 試験室のうち、124 試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法、1 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 6.20 % (質量分率) と Median 6.15 % (質量分率) であり、「満足」と評価された試験室は全体の 84 % であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 10 % にあたる 12 試験室が該当し、1 試験室が自動分析装置による方法、その他は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。

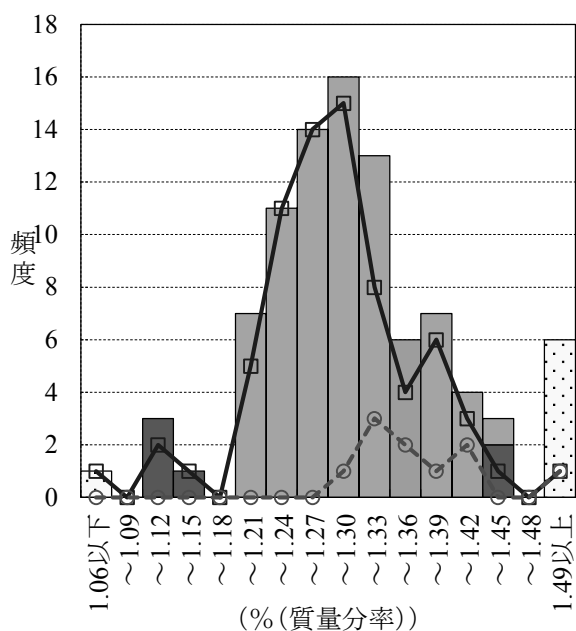


図3-3 液状複合肥料中の硝酸性窒素の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい
 □ 不満足 ■ フェノール硫酸法
 -○- デバルダ合金法

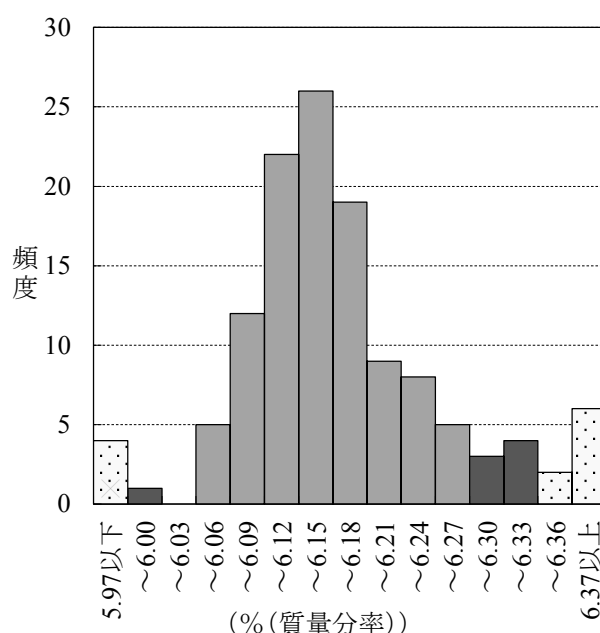


図3-4 液状複合肥料中の水溶性りん酸の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

(5) 液状複合肥料中の水溶性加里(W-K₂O)

参加 124 試験室のうち、86 試験室がフレーム原子吸光法、36 試験室がフレーム光度法、2 試験室が ICP 発光分光分析法、1 試験室がテトラフェニルホウ酸ナトリウム容量法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-5 に示す。平均値 6.34 % (質量分率) と Median 6.27 % (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 81 % 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 16 試験室が該当し、内訳はフレーム光度法が 2 試験室、フレーム原子吸光法が 12 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試験成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 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。

(6) 液状複合肥料中の水溶性苦土(W-MgO)

参加 118 試験室のうち、109 試験室が原子吸光法、6 試験室が ICP 発光分光分析法、3 試験室が EDTA 法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-6 に示す。平均値と Median とともに 1.15 % (質量分率) であり、「満足」と評価された試験室は全体の 84 % であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 9 % にあたる 11 試験室が該当

し、内訳は原子吸光法が 10 試験室, EDTA 法が 1 試験室であった。

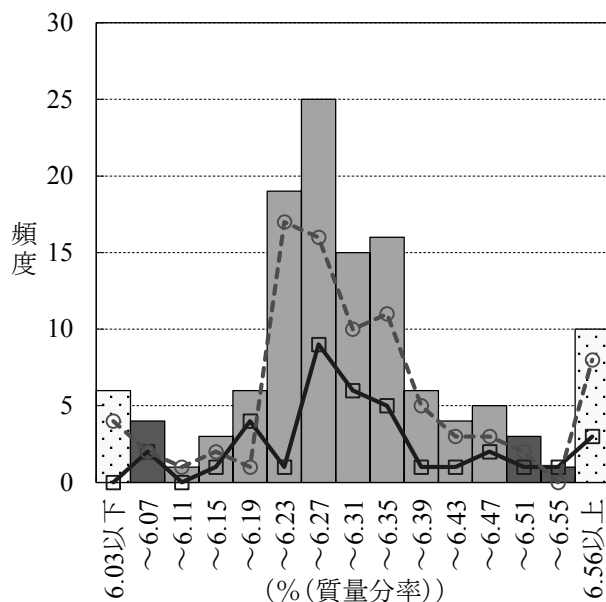


図3-5 液状複合肥料中の水溶性カリの

分析成績

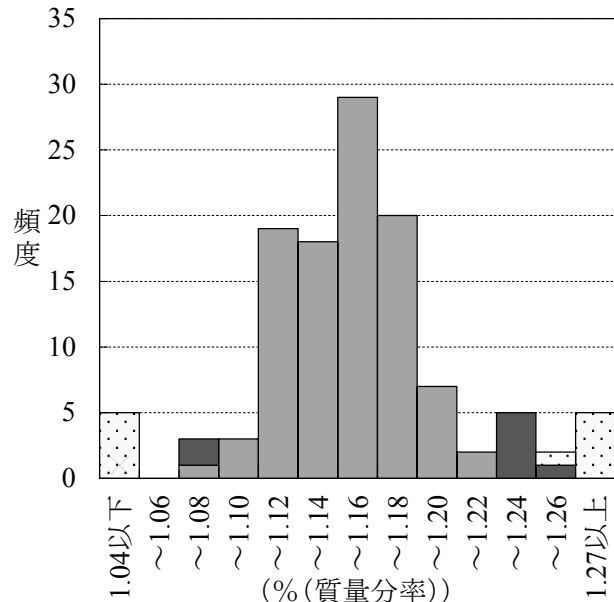
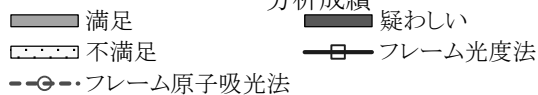


図3-6 液状複合肥料中の水溶性苦土の

分析成績



(7) 液状複合肥料中の水溶性マンガン(W-MnO)

参加 107 試験室のうち, 98 試験室がフレイム原子吸光法, 7 試験室が ICP 発光分光分析法, 2 試験室が過よ素酸カリウム法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-7 に示す。平均値 0.090 % (質量分率) と Median 0.092 % (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。「不満足」と評価された試験室は全体の 10 % にあたる 11 試験室が該当し, フレイム原子吸光法が 7 試験室, ICP 発光分光分析法が 3 試験室, 過よ素酸カリウム法が 1 試験室であった。フレイム原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

(8) 液状複合肥料中の水溶性ほう素(W-B₂O₃)

参加 97 試験室のうち, 90 試験室がアゾメチン H 法, 7 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 3-8 に示す。平均値 0.127 % (質量分率) と Median 0.126 % (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。「不満足」と評価された試験室は全体の 11 % にあたる 11 試験室が該当し, アゾメチン H 法が 9 試験室, ICP 発光分光分析法が 2 試験室であった。アゾメチン H 法及び ICP 発光分光分析法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

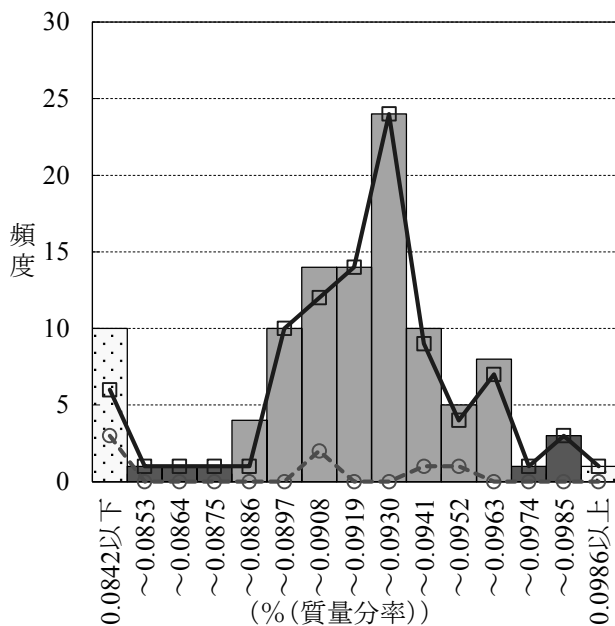


図3-7 液状複合肥料中の水溶性マンガン
の分析成績

満足
 不満足
 ICP-OES法
 疑わしい
 フレーム原子吸光法

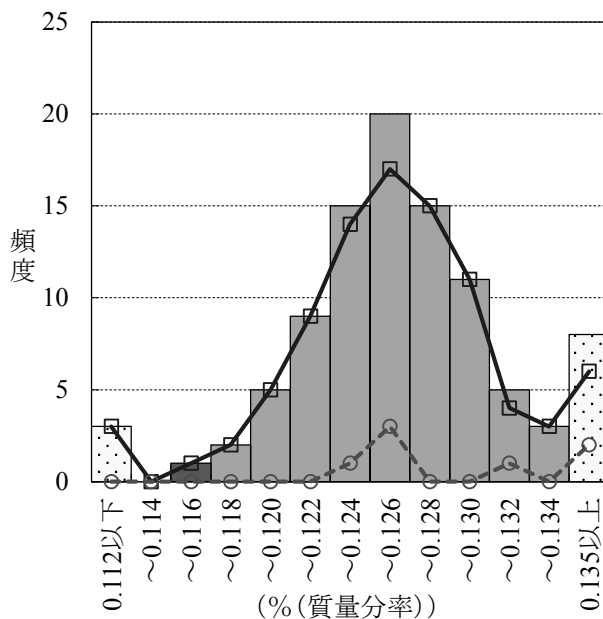


図3-8 液状複合肥料中の水溶性ほう素の
分析成績

満足
 不満足
 ICP-OES法
 疑わしい
 アゾメチンH法

(9) 液状複合肥料中の水溶性カルシウム(W-Ca)

参加 95 試験室のうち、87 試験室がフレーム原子吸光法、6 試験室が ICP 発光分光分析法を用い、しゅう酸アンモニウム法と EDTA 法を各 1 試験室が用いた。試験成績の度数分布を図 3-9 に示す。平均値は 0.223 % (質量分率)、Median は 0.224 % (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。「不満足」と評価された試験室は全体の 5 % にあたる 5 試験室が該当し、フレーム原子吸光法が 4 試験室、EDTA 法が 1 試験室であった。

(10) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)

参加 62 試験室のうち、44 試験室がふっ化カリウム法、14 試験室が過塩素酸法、2 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 32.42 % (質量分率) と Median 32.34 % (質量分率) であり、「満足」と評価された試験室は全体の 84 % 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 試験室であり、ふっ化カリウム法が 1 試験室、過塩素酸法が 1 試験室であった。ふっ化カリウム法及び過塩素酸法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

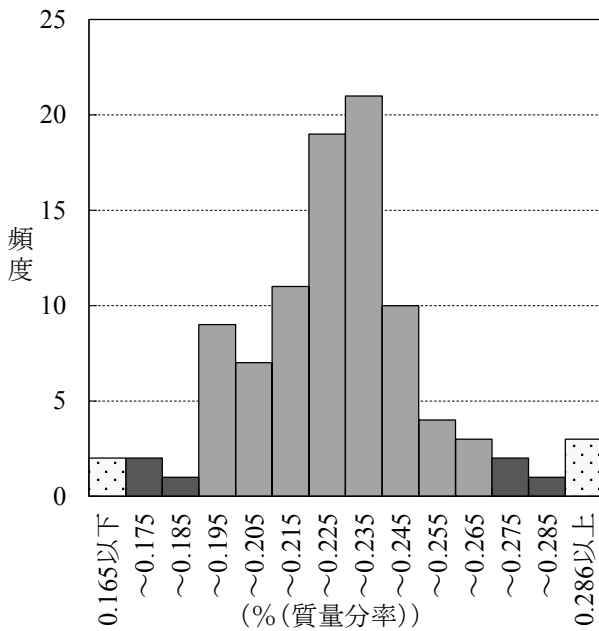


図3-9 液状複合肥料中の水溶性カルシウムの分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい □ 不満足

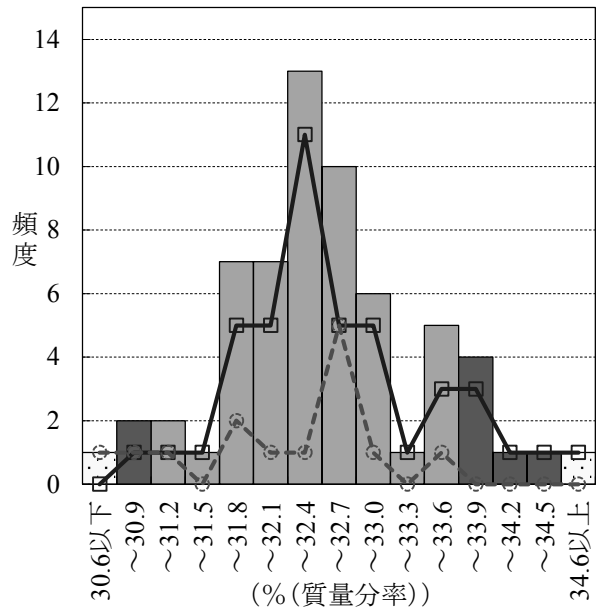


図4-1 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸の分析成績

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

(11) 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、57 試験室がフレイム原子吸光法、16 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 50.37 % (質量分率) と Median 50.43 % (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。「不満足」と評価された試験室は全体の 5 % にあたる 4 試験室が該当し、2 試験室が EDTA 法を用い、フレイム原子吸光法と ICP 発光分光分析法を用いた試験室が各 1 試験室であった。フレイム原子吸光法及び 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。

フレイム原子吸光法を用いた 57 試験室、EDTA 法を用いた 1 試験室及び ICP 発光分光分析法を用いた 2 試験室の合計 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 41.11 % (質量分率)、Median が 40.99 % (質量分率) であり、「不満足」と評価された試験室は全体の 2 % にあたる 1 試験室であった。一方、S-MgO の平均値が 6.55 % (質量分率) と Median が 6.59 % (質量分率) であり、「不満足」と評価された試験室は、全体の 10 % にあたる 6 試験室であった。

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。

(12) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性苦土(C-MgO)

参加 80 試験室のうち、72 試験室がフレイム原子吸光法を用い、EDTA 法及び ICP 発光分光分析法を各 4 試験室が用いた。試験成績の度数分布を図 4-5 に示す。平均値が 4.89 % (質量分率) と Median が 4.87 % (質量分率) であり、「満足」と評価された試験室は全体の 91 % であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 4 % にあたる 3 試験室が該当し、内訳はフレイム原子吸光法が 2 試験室、ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった。

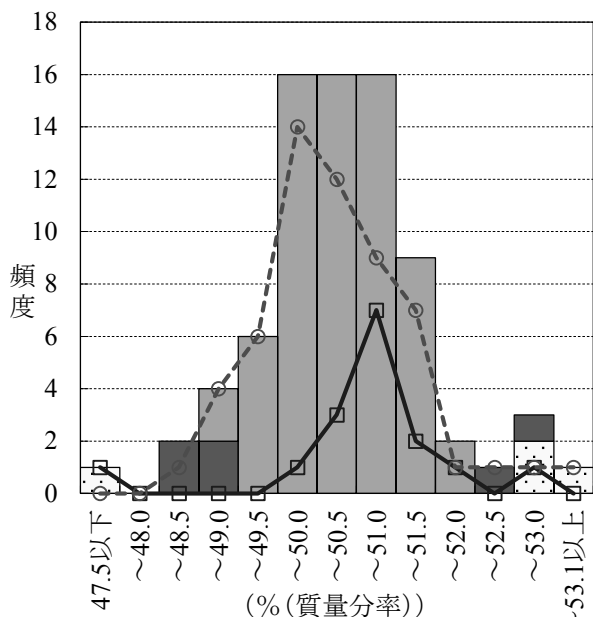


図4-2 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分の分析成績

満足 疑わしい 不満足

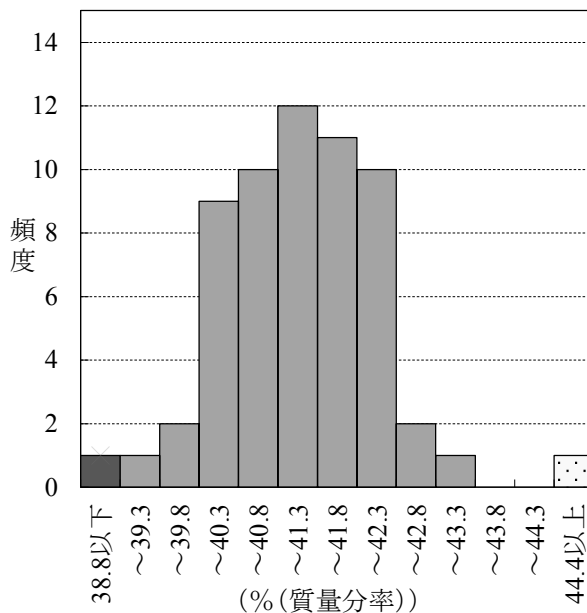


図4-3 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性石灰の分析成績

満足 疑わしい 不満足

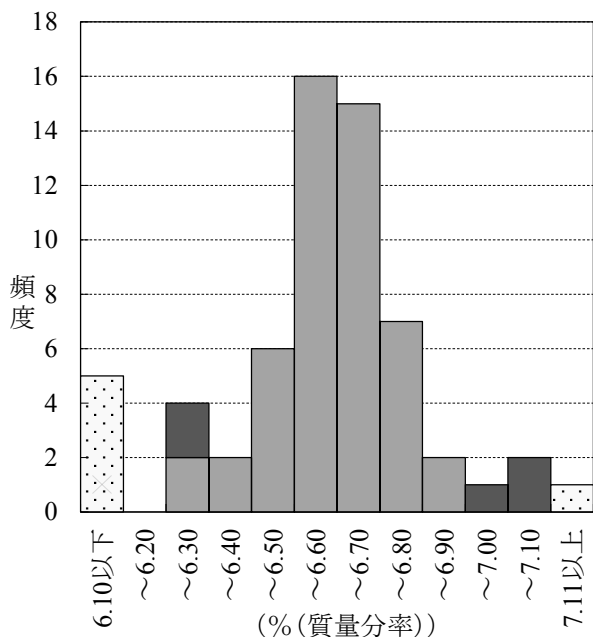


図4-4 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性苦土の分析成績

満足 疑わしい 不満足

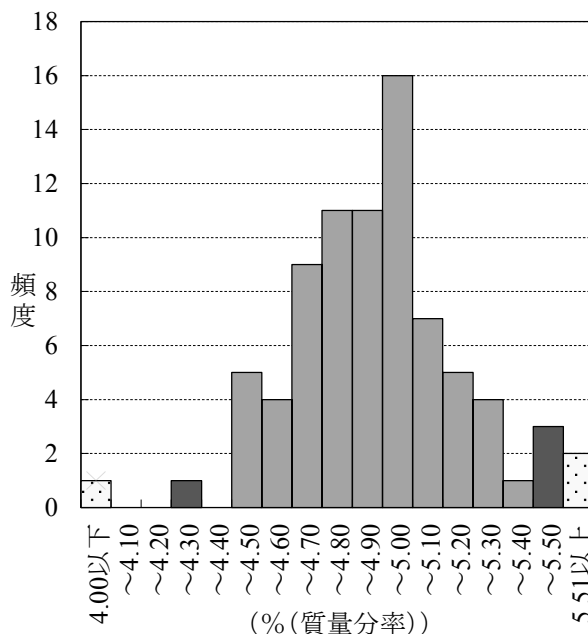


図4-5 鉍さいけい酸質肥料中の不溶性苦土の分析成績

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、水溶性リン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、試験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、121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 ($|z| \geq 3$) 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。その結果水溶性りん酸は、420 nm を用いた試験室が 95 試験室 (79 %)、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 26 試験室 (21 %) であり、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 $0.236 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg}$ で最小、400 nm で $0.379 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg}$ 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⁷⁾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 $0.002 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg} \sim 0.006 \text{ abs} \cdot 100 \text{ mL} / \text{P}_2\text{O}_5\text{-mg}$ と小さい値であった。これらの結果は 2013 年度及び 2014 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 (P_2O_5 か P か PO_4) について、回答された試験室数、そのうち試験成績が z スコアにより不満足と評価された試験室数及び回答された試験室数に対する不満足と評価された試験室数の割合を示した。水溶性りん酸は 84 試験室が検量線法、29 試験室が示差法を用い、93 試験室が P_2O_5 として濃度調製した標準液、23 試験室が P として濃度調製した標準液、4 試験室が PO_4 として濃度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は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の割合は、 P_2O_5 が 4 %、P が 17 %、及び PO_4 が 75 % であった。これまでの調査によると、2013 年度は水溶性りん酸について、 P_2O_5 が 4 % に対して P が 38 % と顕著な差が確認されている⁸⁾。2014 年度は水溶性りん酸について、 P_2O_5 が 8 % に対して P が 19 %、水溶性りん酸について P_2O_5 が 2 % に対して P が 19 % であり、P で調製した試験室において不満足の割合が高い傾向が確認されており⁹⁾、2015 年度も同様の傾向が見られた。

表7 水溶性りん酸の測定波長と試験成績

測定波長 (nm)	試験室数			検量線傾き	
	回答数	内不満足数	不満足 の割合(%)	中央値 ^{a)}	$NIQR$ ^{a)}
420	95	8	8	0.236	0.005
415	3	0	0	0.267	0.004
410	14	3	21	0.304	0.006
400	3	0	0	0.379	0.002
その他	6	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	不満足割合(%)
水溶性りん酸	検量線法	96	10	10
	示差法	25	1	4
	P ₂ O ₅ ^{a)}	93	4	4
	P ^{b)}	23	4	17
	PO ₄ ^{c)}	4	3	75

a) P₂O₅で換算した濃度で標準液を調製

b) Pで換算した濃度で標準液を調製

c) PO₄で換算した濃度で標準液を調製

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、145試験室(全体の93%)から回答があった。85試験室(全体の57%)が内部品質管理を実施しており、60試験室(全体の40%)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、35試験室(全体の24%)が認証標準物質、49試験室(全体の34%)が過去の共通試料を用いていた(複数回答可)。

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。水溶性りん酸の測定では、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9%に対し、実施していない場合は6試験室及び11%となり、不満足割合がわずかに高かったが大きな差は見られなかった。

なお、参考として、肥料認証標準物質(普通化成肥料 FAMILIC-B-10 及び FAMILIC-B-14)における水溶性りん酸の内部品質管理試験成績を表11に示した。水溶性りん酸については27試験室のうち全ての試験成績が警戒線以内であった。昨年度は、水溶性りん酸については29試験室のうち、2試験室の試験成績が処置線を越えていたが、今年度は処置線を越えた報告は見られなかった。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¹⁰⁾。

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	85	35	49	13
内部品質管理試験不実施	60	-	-	-
無回答	5	-	-	-

表10 内部品質管理試験状況とリン酸の試験成績

管理試料の有無及び 管理試料の種類	試験室数		
	回答数	内不満足数	不満足割合(%)
使用	69	6	9
うち認証標準物質 ^{a)}	33	1	3
過去の共通試料 ^{a)}	39	5	13
独自の管理試料 ^{a)}	7	0	0
未使用 ^{b)}	53	6	11

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水溶性りん酸の試験成績

肥料認証標準物質	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
普通化成肥料 FAMIC-B-10	13	13	0	0
普通化成肥料 FAMIC-B-14	14	14	0	0
合計	27	27	0	0

6. 総 括

2015年度外部精度管理のための共同試験は、液状複合肥料9成分に129試験室、鉍さいけい酸質肥料3成分に82試験室が参加した。各成分において、平均値 Mean と中央値 Median は近い値であっ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。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77%~91%、「不満足 ($|z| \geq 3$)」と評価された試験室の割合は3%~17%であった。複数の試験法による報告で7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、硝酸性窒素(N-N)においてフェノール硫酸法とデバルダ合金法の方法間で有意な差が認められた(有意水準5%)。肥料等試験法では尿素を含む肥料中の硝酸性窒素(N-N)の測定において、デバルダ合金法は適用範囲外であるため注意が必要である。また、内部品質管理に関わる調査では、約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。昨年度と比較して、今年度は肥料認証標準物質が適正に使用されていることが推察された。

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、サンアグロ株式会社大阪工場及び株式会社テツゲン室蘭支店肥料工場の関係者各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) 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, Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **65** (9), 2123~2144 (1993)
- 5) 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)
- 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/shikenhoh_2014.pdf >
- 7) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.108~114, 養賢堂, 東京 (1988)
- 8) 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)
- 9) 伊藤浩平, 千田正樹, 船水悦子, 平原稔夫, 筒井久司, 恵智正宏, 豊留夏紀, 白井裕治, 今川俊明: 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, 肥料研究報告, **8**, 68~94 (2015)
- 10) 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 2015

Kohei ITO¹, Masanori HASEGAWA¹, Toshifumi FUJITA², Masaki CHIDA², Toshio HIRABARA³, Hisashi TSUTSUI⁴, Takafumi KAMIKAWA⁵, Keiji YAGI⁶, 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

⁷ Japan Fertilizer and Feed Inspection Association

A proficiency testing of analytical laboratories was conducted in fiscal year 2015, using reference materials of liquid compound fertilizer and ground silicate slag fertilizer based on ISO/IEC 17043, “Conformity assessment—General requirements for proficiency testing”. Total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), nitrate nitrogen (N-N), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), water-soluble magnesium (W-MgO), water-soluble manganese (W-MnO), water-soluble boron (W-B₂O₃) and water-soluble calcium (W-Ca) were analyzed using a liquid 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 129 participants which received a liquid compound fertilizer sample, 92~126 results were returned for each element. From the 82 participants which received a silicate slag fertilizer sample, 62~80 results were returned for each element. Data analysis was conducted according to the harmonized protocol for proficiency testing, revised cooperatively by the international standardizing organizations IUPAC, ISO, and AOAC International (2006). The ratios of the number of *z* scores between -2 and +2 to that of all scores were 77 %~91 % and the results from the satisfactory participants were almost normally distributed. The mean and the median of all elements slightly differed from each other. Where more than 7 results were returned, no significant distribution difference was observed between the different methods used except for 1 element (N-N).

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

(Research Report of Fertilizer, **9**, 110-135, 2016)

10 2015年度 肥料認証標準物質の開発

—汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12 の再認証—

秋元里乃¹, 阿部 進², 八木寿治¹, 長谷川正憲¹,
佐久間健太¹, 白井裕治¹

キーワード 認証標準物質, 汚泥発酵肥料, 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 Q17025:2005)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, 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承認を得ているところである. FAMIC-C-12 が 2016 年 6 月に有効期限を迎えるため, 新たな認証標準物質を調製することとなるが, 在庫本数が十分にあり, 認証値設定時 (2012 年 8 月) からの長期安定性試験にも問題がないことが確認されていることから, 同試料を有効活用することとした. しかし, 2012 年の認証値の決定のための解析にあたり, 水銀については室間再現標準偏差が十分小さいのに更に外れ値検定をしていた. また, 鉛については参加試験室数の 2/9 を超える⁶⁾ 試験室を外れ値検定で除外していたため, 水銀及び鉛の不確かさが小さく, 品質管理として使用しにくいとの意見があった.

そのため, この水銀及び鉛について再度共同試験を実施し, その試験成績を解析して再認証し, 内容物が同じであることから肥料認証標準物質の名称を FAMIC-C-12-2 に変更し, 認証値及び拡張不確かさ等の修正を行ったのでその概要を報告する.

2. 材料及び方法

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) 仙台センター

1) FAMIC-C-12

FAMIC-C-12の基材は、新潟県内の18カ所の下水処理場(高分子凝集剤使用が90%，一部ポリ鉄併用及び石灰使用)から発生する下水汚泥(86%)を主原料とし、5カ所の食品工業汚泥(10%)と、動物質原料(廃鶏)とを混合して45日間発酵させた市販の汚泥発酵肥料であり、2012年4月に生産されたものを購入して乾燥、粉碎、瓶詰めした後γ線滅菌したものである。

なお、2012年に均質性を確認していることから、今回は均質性確認試験を省略した。

2) 共同試験

再認証を行うため、参加試験室FAMICの6試験室及び分析機関6試験室(計12試験室)において共同試験を実施した。各試験室にFAMIC-C-12(約120g褐色瓶入り)を2本送付し、試験成分毎に3点併行試験を実施日及び配付試料の瓶を変えて2回実施した。水銀及び鉛については有効数字4桁目を四捨五入し、有効数字3桁で報告し、水分については小数第2位を四捨五入して小数第1位までを報告することとした。

なお、共同試験室は農林水産省において平成20年度から平成23年度にかけて行われた「汚泥肥料中の有害物質のサンプリング手法の開発委託事業」に参加した分析機関であり、汚泥肥料の分析に当たり十分な精度管理を行っている下記試験室である。(五十音順)

一般社団法人 新潟県環境衛生中央研究所

一般財団法人 日本食品分析センター

株式会社 那須環境技術センター

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

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

平成理研 株式会社

表1 肥料認証標準物質Cの試験成分及び試験法

試験成分	試験項目番号 ^{a)}	試験法の概要
水分(H ₂ O)	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
水銀(Hg)	5.1.a	還元気化原子吸光法
鉛(Pb)	5.6.a	フレイム原子吸光法

a) 肥料等試験法(2014)の試験項目番号

3) 試験項目及び分析方法

試験項目は水銀及び鉛とした(表1)。また、参考情報として記載するため、水分も試験項目とした。各試験項

目の試験法として肥料等試験法(2014)⁷⁾を用いた。

3. 結果及び考察

1) 共同試験結果

各試験室から報告された共同試験成績を表2に示した。試験成績の外れ値を検出するために、2日間にわたる測定を室内精度としてプールしてコクラン(Cochran)の検定及びグラブズ(Grubbs)の検定を実施した⁸⁾。なお、コクラン(Cochran)の検定及びグラブズ(Grubbs)の検定により有意水準1%で除外される値はなかった。

試験室 ^{a)}	水分						質量分率 (%)					
A	12.0	12.0	12.0	11.6	11.5	11.6						
B	10.3	10.8	10.7	11.0	11.1	10.9						
C	9.9	9.7	9.8	9.7	10.1	9.7						
D	11.5	11.4	11.3	11.4	11.3	11.2						
E	12.2	12.1	12.1	12.1	12.2	12.1						
F	11.7	11.8	11.7	11.6	11.7	11.6						
G	12.2	12.3	12.1	11.5	11.4	11.8						
H	12.5	12.6	12.5	12.3	12.5	12.4						
I	11.5	11.5	11.5	11.4	11.4	11.4						
J	11.5	11.4	11.4	12.0	11.9	11.5						
K	11.4	11.4	11.5	11.6	11.6	11.7						
L	12.8	12.3	12.3	12.3	12.4	12.4						

a) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

試験室 ^{a)}	水銀						鉛						(mg/kg)
A	0.490	0.508	0.476	0.506	0.493	0.507	37.0	37.2	37.5	37.7	37.9	37.6	
B	0.468	0.471	0.451	0.477	0.479	0.482	34.9	36.4	35.5	35.1	34.7	34.7	
C	0.555	0.526	0.518	0.538	0.530	0.514	34.9	34.9	34.6	35.6	34.9	34.1	
D	0.474	0.467	0.468	0.481	0.486	0.483	34.9	34.9	34.3	35.3	35.2	35.4	
E	0.525	0.505	0.501	0.559	0.536	0.540	34.6	36.0	34.9	35.9	34.3	34.6	
F	0.481	0.468	0.496	0.517	0.484	0.451	35.7	35.4	35.6	35.2	35.1	35.3	
G	0.411	0.451	0.427	0.481	0.466	0.469	37.2	37.1	37.1	37.2	37.7	37.7	
H	0.470	0.483	0.530	0.502	0.490	0.522	36.4	36.4	36.4	36.4	36.4	36.2	
I	0.500	0.505	0.511	0.490	0.482	0.481	35.7	35.4	35.7	36.9	36.2	36.2	
J	0.487	0.524	0.500	0.503	0.528	0.483	34.7	34.7	35.0	35.9	35.5	35.2	
K	0.495	0.502	0.488	0.518	0.483	0.449	35.8	36.1	36.0	35.1	34.9	34.7	
L	0.493	0.486	0.469	0.497	0.500	0.491	36.1	36.0	35.8	37.9	37.7	37.4	

2) 共同試験成績の評価

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 ($CRSD_R$) を表3に示した. また, 認証値設定時(2012年8月)の共同試験成績について同様に解析した結果を同表に示した. 2015年に実施した水分, 水銀及び鉛の平均値は2012年の平均値に対して99%~102%であり, これらの成分の変動は認められなかった. 水銀及び鉛の室間再現相対標準偏差はいずれも大きくなったが, 肥料等試験法⁷⁾における室間再現相対標準偏差の目安 ($CRSD_R$) 以内であった.

表3 共同試験成績の解析結果

試験項目	試験実施年	試験室数 ^{a)}	平均値 ^{b)}	s_w ^{c)}	s_R ^{d)}	RSD_R ^{e)}	$CRSD_R$ ^{f)}
			(%) ^{g)}	(%) ^{g)}	(%) ^{g)}	(%)	(%)
水分 (H ₂ O)	2015	12	11.6	0.20	0.74	6.4	3
	2012	11	11.7	0.17	0.81	6.9	3
			(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)	(%)
水銀 (Hg)	2015	12	0.492	0.02	0.03	5.5	22
	2012	11	0.481	0.02	0.02	5.0	22
鉛 (Pb)	2015	12	35.8	0.53	1.06	3.0	11
	2012	8	35.4	0.68	0.88	2.5	11

a) 解析に用いた試験室数

b) 平均値 (n =試験室数×併行分析回数(3))

c) 室内標準偏差

d) 室間再現標準偏差

e) 室間再現相対標準偏差

f) 肥料等試験法における室間再現相対標準偏差の目安

g) 質量分率 (%)

3) 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拡張不確かさを表4-1及び4-2に示した. また, ISO Guide 33:2000 (JIS Q 0033:2002)⁹⁾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. 同様に, FAMIC-C-12の認証書に記載されている認証値, 拡張不確かさ及び参考データを同表に示した.

(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)¹⁰⁾ 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) を有効数字1桁に丸めた後, 包含係数 (k) を乗じて求め ((b)式), 肥料等試験法における定量下限の桁に丸めた. 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. なお, 2日間にわたる測定をプールせずに解析したところ, 平均値及び拡張不確かさは同じ値となることを確認した.

$$\text{標準不確かさ}(u) = \sqrt{\frac{(s_R^2 - s_W^2) + \frac{s_W^2}{n}}{p}} \quad \dots (a)$$

$$\text{拡張不確かさ}(U_{95\%}) = k \times u \quad \dots (b)$$

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) 認証値等の決定方法

水銀及び鉛について、FAMIC-C-12-2 の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¹¹⁾表示した。参考データの室内標準偏差(s_W)及び室間再現標準偏差(s_R)も同様に拡張不確かさの桁数に丸めて表示した。よって、FAMIC-C-12-2 のこれらの桁数はFAMIC-C-12 の桁数と異なることとなった。水分については肥料等試験法における室間再現相対標準偏差の目安($CRSD_R$)以内でないことから認証せずに参考情報として提供することとした。

表 4-1 認証書に記載を要する項目

試験成分	標準物質の 名称 ^{a)}	表示する項目		参考データ		
		参考値 (%) ^{f)}	拡張不確かさ ^{b)} (%) ^{f)}	s_W ^{c)} (%) ^{f)}	s_R ^{d)} (%) ^{f)}	試験室数 ^{e)}
水分(H ₂ O) ^{g)}	FAMIC-C-12-2	11.6	0.4	0.2	0.7	12
	FAMIC-C-12	11.7	0.5	0.17	0.81	11

a) 認証書に記載した認証標準物質

b) 包含係数($k=2$)

c) 室内標準偏差

d) 室間再現標準偏差

e) 解析に用いた試験室数

f) 質量分率

g) 参考情報として提供

表 4-2 認証書に記載を要する項目

試験成分	標準物質の 名称 ^{a)}	認証する項目		参考データ		
		認証値 (mg/kg)	拡張不確かさ ^{b)} (mg/kg)	s_W ^{c)} (mg/kg)	s_R ^{d)} (mg/kg)	試験室数 ^{e)}
水銀(Hg)	FAMIC-C-12-2	0.49	0.01	0.02	0.03	12
	FAMIC-C-12	0.481	0.009	0.02	0.02	11
鉛(Pb)	FAMIC-C-12-2	36	1	0.5	1	12
	FAMIC-C-12	35.4	0.4	0.68	0.88	8

脚注は表4-1を参照

4) 警戒限界及び処置限界の比較

ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)²⁾では、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おり、認証標準物質を用いた試験成績の真度評価の一例として、当センターにおいて採用している内部品質管理方法を「本認証標準物質の使い方」として紹介している。

今回の再共同試験成績により求められた妥当性確認の基準と、現在示している基準とを比較し、表5に示した。結果、下方警戒限界(LWL)及び下方処置限界(LAL)はほぼ同じとなり、幾分か上方警戒限界(UWL)及び上方処置限界(UAL)が高くなった。これにより、今回の再共同試験参加試験室の水銀及び鉛の平均値はすべて警戒限界の範囲内となった。

(1) 警戒限界(WL)及び処置限界(AL)の算出方法

内部品質管理のために実施した併行試験の繰返し数(n)、認証値(μ)、共同試験の結果より得られた室内標準偏差(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¹²⁾。

品質管理成績が処置限界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。2回連続してその品質管理成績が警戒限界(WL)の範囲を超えた場合は、2回目の試験を不適合とし、再試験を実施することが望まれる⁹⁾。

$$\text{技能評価のための標準偏差}(\sigma) = \sqrt{(s_R^2 - s_W^2) + \frac{s_W^2}{n}} \quad \dots (a)$$

$$\text{平均値に対する警戒限界(WL)} = \mu \pm 2 \times \sigma \quad \dots (b)$$

$$\text{平均値に対する処置限界(AL)} = \mu \pm 3 \times \sigma \quad \dots (c)$$

表5 肥料認証標準物質を用いた内部品質管理の試験成績の管理限界(例)^{a)}

項目	標準物質の 名称 ^{b)}	単位	認証値又は 参考値 ^{c)}	LAL ^{d)}	LWL ^{d)}	UWL ^{d)}	UAL ^{d)}
水銀(Hg)	FAMIC-C-12-2	(mg/kg)	0.49	0.42	0.44	0.54	0.56
	FAMIC-C-12	(mg/kg)	0.481	0.423	0.442	0.519	0.539
鉛(Pb)	FAMIC-C-12-2	(mg/kg)	36	33	34	38	39
	FAMIC-C-12	(mg/kg)	35.4	33.2	34.0	36.9	37.6
水分 ^{e)}	FAMIC-C-12-2	(%) ^{e)}	11.6	9.4	10.2	13.0	13.8
	FAMIC-C-12	(%) ^{e)}	11.7	9.3	10.1	13.3	14.1

a) 内部品質管理試験として2点併行試験を実施して得られた平均値の管理限界

b) 対象となる認証標準物質

c) 水分の平均値は参考情報として提供

d) LAL: 下方処置限界, LWL: 下方警戒限界, UWL: 上方警戒限界, UAL: 上方処置限界

e) 質量分率

5) 認証標準物質の有効期限

現在販売している FAMILC-C-12(汚泥発酵肥料)において、初期認証のための試験日から現在までの約3年の安定性は FAMILC 神戸センターにおいて長期安定性確認試験の実施により確認されている。また、FAMILC-C-09(汚泥発酵肥料)についてはその安定性を約4年半確認した¹³⁾。このことから、本認証標準物質候補の有効期限を4年半後の2020年6月に設定することとした。

なお、今後も継続的に安定性試験を実施し、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落とすなどの処置を行うこととする。

6) 認証書の作成等

JIS Q 0031の要求事項を参考にして認証書を作成した。なお、肥料取締法の告示改正により、公定法が肥料分析法から肥料等試験法へと変更になることに伴い、認証書の内容に多くの変更が生じるが、内容物が同じであることから肥料認証標準物質の名称を FAMILC-C-12-2 に変更し、認証値及び拡張不確かさ等の修正をおこない、改訂履歴を示すこととする。また、本認証標準物質の使い方を参考資料として別冊とした。

4. まとめ

2015年度は肥料認証標準物質(汚泥発酵肥料)FAMILC-C-12の在庫試料を有効活用すべく、その認証値の再認証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及びラベルを作成した。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(平成27年12月25日開催)の審議を受け承認されたため、2016年4月より肥料認証標準物質 FAMILC-C-12-2として販売を開始した。

試験成績の信頼性維持が求められる中、標準物質を使用した内部品質管理が重要視されている。しかし、肥料の標準物質は、国内には他に作製している例はなく、国外で利用されている肥料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いない¹⁴⁾。このことから、当センターが作成する肥料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再認証にあたり、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 安井明美博士及び内藤成弘博士、公益財団法人日本肥糧検定協会今川俊明博士、並びに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一般社団法人新潟県環境衛生中央研究所、一般財団法人日本食品分析センター、株式会社那須環境技術センター、公益財団法人日本肥糧検定協会関西支部及び本部、並びに平成理研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(FAMILC):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) Horwitz, W. , Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Collaborative Studies, Pure & Appl. Chem., **60** (6), 855-864 (1988)
- 7) 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>
- 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 a 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的な方法」)
- 9) ISO Guide 33 (2000): “Uses of certified reference materials” (JIS Q 0033 : 2002, 「認証標準物質の使い方」)
- 10) 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」)
- 11) 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」)
- 12) 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」)
- 13) 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)
- 14) 久保田正明 編著, 化学分析・試験に役立つ標準物質活用ガイド, p.215~223, 丸善, 東京(2009)

Re-authentication of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components and Harmful Elements: Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12-2)

Satono AKIMOTO¹, Shin ABE², Toshiharu YAGI¹, Masanori HASEGAWA¹,
Kenta SAKUMA¹ 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) Sendai Regional Center

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has developed a certified reference material (CRM). Composted sludge fertilizer (FAMIC-C-12) was created in 2012. Since it was found that the uncertainty about the mercury and the lead of the certified reference material had been estimated too small, it was decided to re-authenticate conducting joint test again for these. A collaborative study carried out in 12 laboratories, and re-certification for mercury and lead FAMIC-C-12 from the analysis and the results. It changed its name to FAMIC-C-12-2. At that time, also adds a change for rounding such as numeric, was revised a certificate. 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), composted sludge fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 31, ISO Guide 35, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **9**, 136-144, 2016)

11 2015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,
高度化成肥料 FAMIC-A-13 及び普通化成肥料 FAMIC-B-14 の長期安定性評価—

稲葉茂幸¹, 木村康晴¹, 伊藤 潤¹, 神川孝文¹

藤田 卓¹, 青山恵介¹, 恵智正宏², 白井裕治³

キーワード 認証標準物質, 肥料, 主成分, 有害成分, ISO Guide 35, 長期安定性

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 FAMIC-B-14) 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 B-14」「標準物質 C-12」という.) を調製^{3~6)}, 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)⁷⁾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)⁸⁾を参考に解析を行った上で ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁹⁾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. 2015 年度は, 標準物質 A-10, 標準物質 B-10, 標準物質 C-12, 標準物質 A-13 及び 2015 年 3 月に認証を行った標準物質 B-14 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)⁸⁾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神戸センター (現) 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, A-13 及び B-14 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¹⁰⁾(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、50 ヶ月後(A-10 除く)及び 56 ヶ月後。標準物質 C-12 は、認証値設定のための共同試験実施時、8 ヶ月後、14 ヶ月後、20 ヶ月後、26 ヶ月後、32 ヶ月後及び 38 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時、7 ヶ月後、13 ヶ月後、19 ヶ月後及び 25 ヶ月後。標準物質 B-14 は、認証値設定のための共同試験実施時、4 ヶ月後及び 10 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, 熔成微量要素複合肥料, リン酸, アンモニア	窒素全量, アンモニア性窒素, く溶性りん酸, 水溶性加里, く溶性苦土, く溶性マンガン, く溶性ほう素(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, 熔成微量要素複合肥料, リン酸, アンモニア	窒素全量, アンモニア性窒素, く溶性りん酸, 水溶性加里, く溶性苦土, く溶性マンガン, く溶性ほう素(全7成分)	2018年 6月末
FAMIC -B-14	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, ニッケル(全7成分)	2019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, 2014 年 10 月～11 月(標準物質 A-10 を除く)及び 2015 年 6 月～7 月の計 10 回(標準物質 A-10 は 9 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, 2014 年 10 月～11 月, 2015 年 4～5 月及び 2015 年 10～11 月の計 7 回, 標準物質 A-13 を 2013 年 9 月～11 月, 2014 年 4 月～5 月, 2014 年 10 月～11 月, 2015 年 4～5 月及び 2015 年 10～11 月の計 5 回, 標準物質 B-14 を 2014 年 12 月～2015 年 1 月, 2015 年 4 月～5 月及び 2015 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 標準物質 A-13 及び標準物質 B-14 の在庫から, それぞれランダムに抜き取った各 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, A-13 及び B-14 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 ^{a)}	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

a) 肥料等試験法の試験項目番号

表2B 標準物質B-10, B-14の試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目 番号 ^{a)}	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／パーテルマンくえん 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
ひ素(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

標準物質B-14は水銀, 鉛を除く。

表2C 標準物質C-12の試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目 番号 ^{a)}	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
ひ素(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, 標準物質 A-13 及び標準物質 B-14 の試験成分の安定性試験成績を表 3A①～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 56 ヶ月後並びに標準物質 C-12 の試験期間の 38 ヶ月後並びに標準物質 A-13 の試験期間の 25 ヶ月後並びに標準物質 B-14 の試験期間の 10 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¹⁾. その結果, 標準物質 A-10, 標準物質 B-10, 標準物質 C-12, 標準物質 A-13 及び標準物質 B-14 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	13.56
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
56	14.57	14.62	10.68	10.74	10.04	10.04	13.41	13.49

経過月	表3A① (続き)				(質量分率 %)	
	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	0.210
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
56	3.25	3.39	0.391	0.397	0.205	0.209

経過月	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 %)							
	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	13.12
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
19	14.87	14.93	10.72	10.77	10.72	10.76	13.02	13.11
25	14.74	15.06	10.39	10.70	10.67	10.80	13.12	13.27

経過月	表3A② (続き)				(質量分率 %)	
	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	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
19	3.17	3.22	0.363	0.363	0.201	0.203
25	3.11	3.19	0.345	0.367	0.207	0.214

表3B① 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
56	8.20	8.46	8.08	8.11	6.97	7.00	8.71	8.73

表3B① (続き)

(mg/kg)

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
56	2.51	2.54	5.86	5.87	0.784	0.788	44.7	45.1	26.8	28.3

表3B② 標準物質B-14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	7.94	8.09	9.13	9.14	6.66	6.74	8.18
4	7.98	7.98	9.18	9.23	6.77	6.79	8.15	8.16
10	7.96	8.01	9.12	9.13	6.65	6.67	8.28	8.29

表3B② (続き)

(mg/kg)

経過月	砒素 (As)		カドミウム (Cd)		ニッケル (Ni)	
	0	3.01	3.23	3.92	4.11	36.7
4	2.96	3.07	4.26	4.27	37.7	37.7
10	2.93	2.96	4.15	4.19	36.9	37.8

表3C 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
32	4.79	4.80	8.62	8.63	0.583	0.588	5.62	5.66	20.1	20.3
38	4.80	4.81	8.72	8.76	0.610	0.614	5.90	5.95	20.2	20.4

表3C (続き)

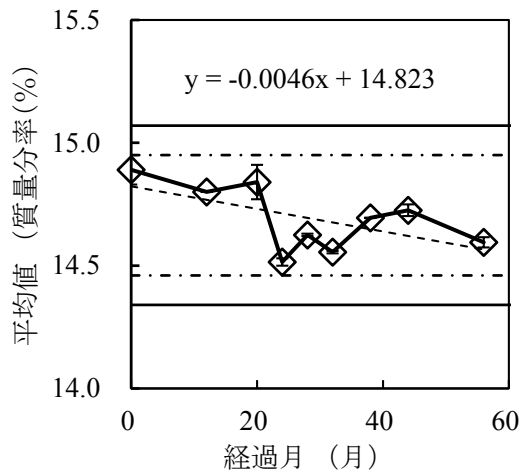
(mg/kg)

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
32	561	575	1,000	1,004	22.4	22.9	1.82	1.82
38	570	571	985	996	22.7	22.9	1.77	1.79

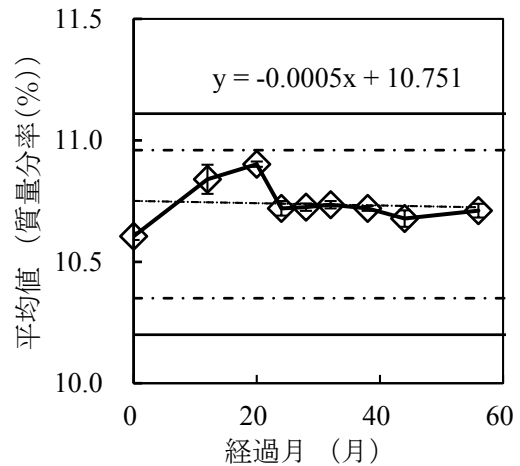
表3C (続き)

(mg/kg)

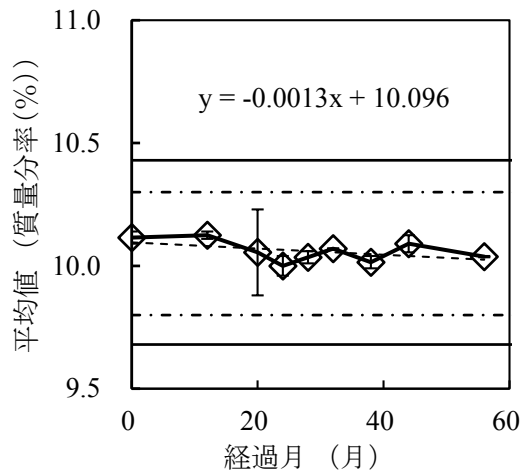
経過月	水銀 (Hg)		ニッケル (Ni)		クロム (Cr)		鉛 (Pb)	
	0	0.464	0.470	73.3	74.3	78.6	81.2	36.4
8	0.448	0.478	74.2	74.6	80.5	80.5	35.1	35.1
14	0.443	0.473	78.3	78.7	75.4	79.4	36.1	36.9
20	0.511	0.514	72.7	74.3	81.8	82.9	35.3	35.3
26	0.501	0.503	73.3	73.4	86.6	88.5	35.4	35.9
32	0.462	0.479	77.3	77.4	80.4	81.2	36.0	36.0
38	0.506	0.514	74.7	74.9	79.1	79.4	35.3	35.8



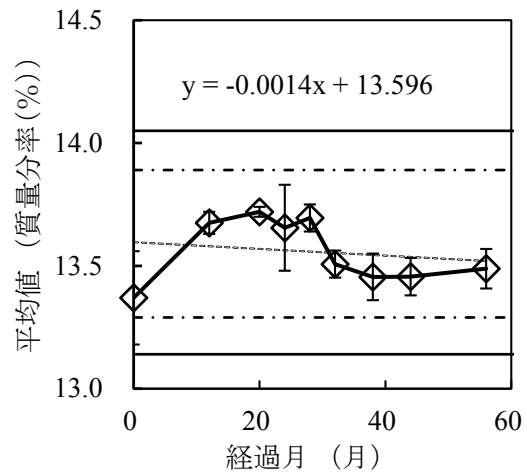
1. 標準物質A10(窒素全量)



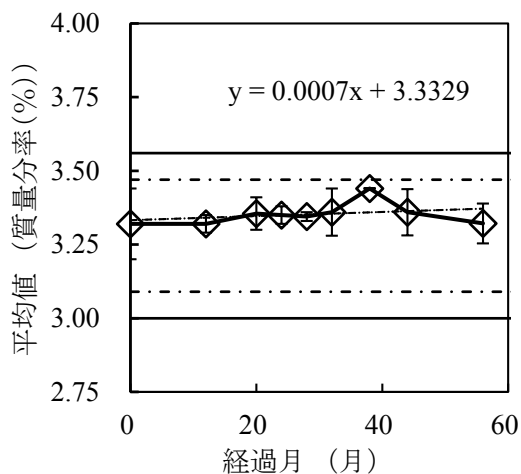
2. 標準物質A10(アンモニア性窒素)



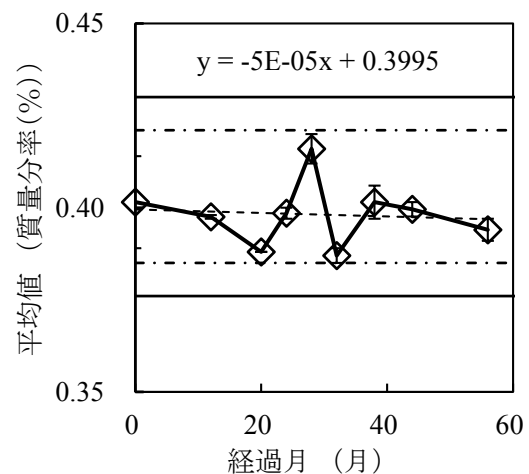
3. 標準物質A10(く溶性りん酸)



4. 標準物質A10(水溶性加里)



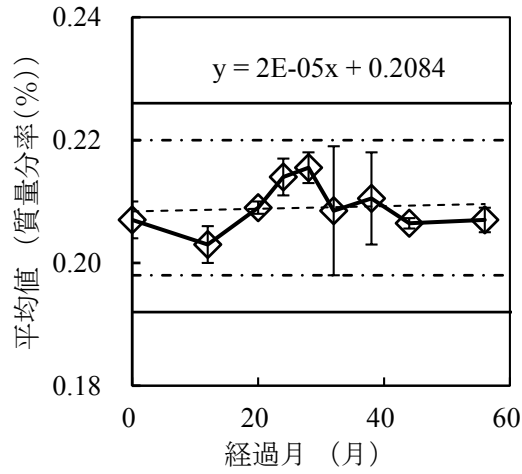
5. 標準物質A10(く溶性苦土)



6. 標準物質A10(く溶性マンガ)

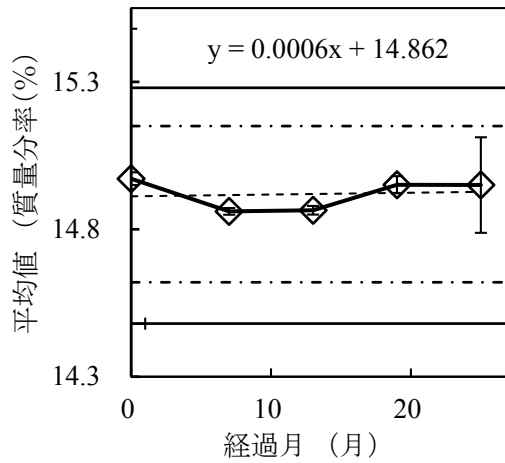
図 1A① 標準物質 A10 のモニタリング試験成績

◇: 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

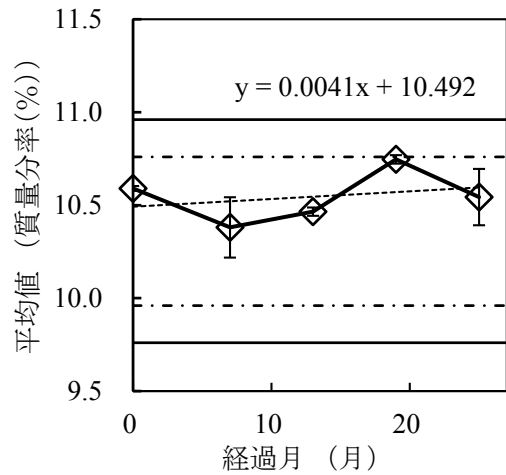


7. 標準物質A10(く溶性ほう素)

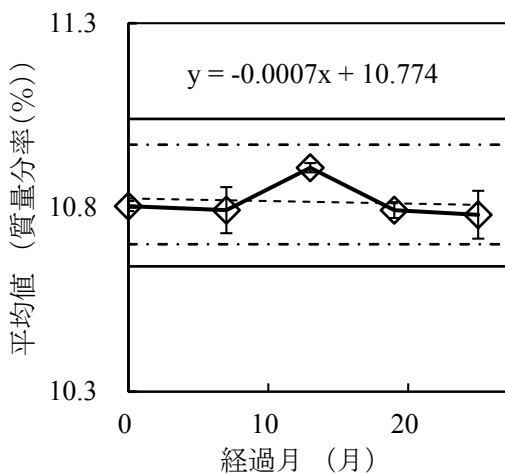
図 1A① (続き)



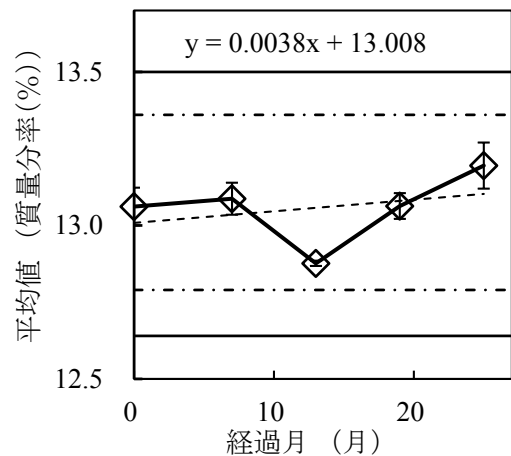
1. 標準物質A13(窒素全量)



2. 標準物質A13(アンモニア性窒素)



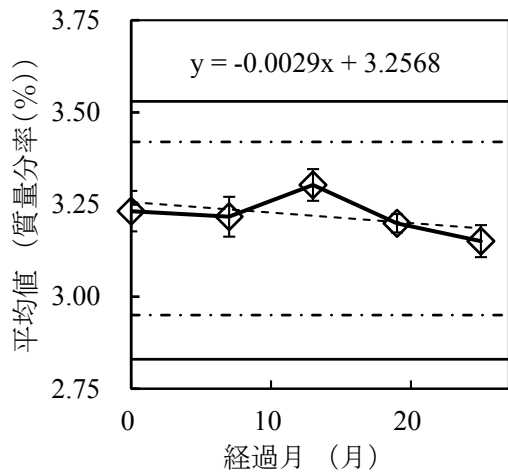
3. 標準物質A13(く溶性りん酸)



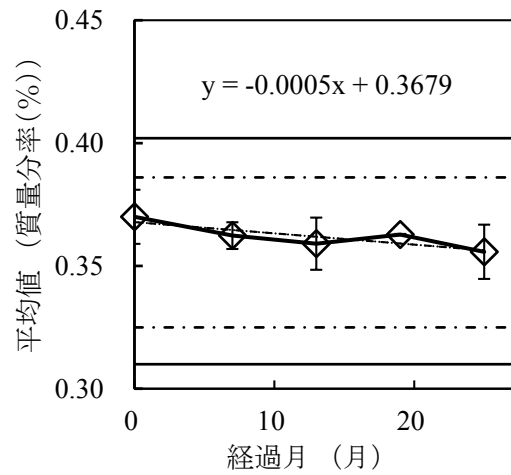
4. 標準物質A13(水溶性加里)

図 1A② 標準物質 A13 のモニタリング試験成績

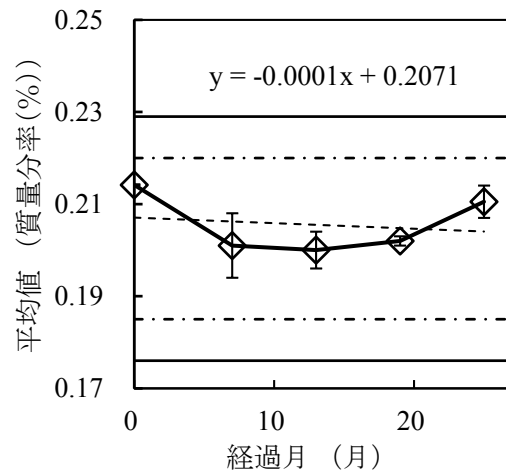
(脚注は図 1A①参照)



5. 標準物質A13(く溶性苦土)

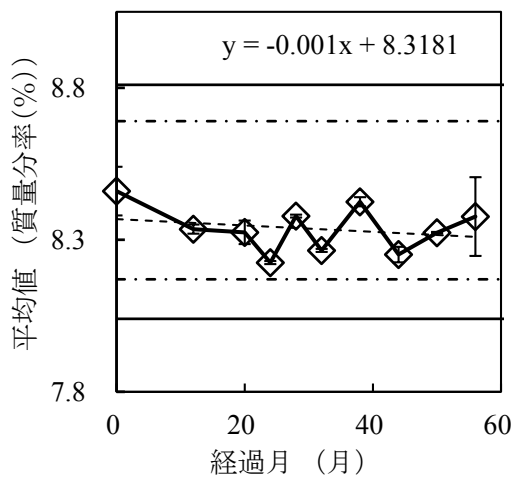


6. 標準物質A13(く溶性マンガン)

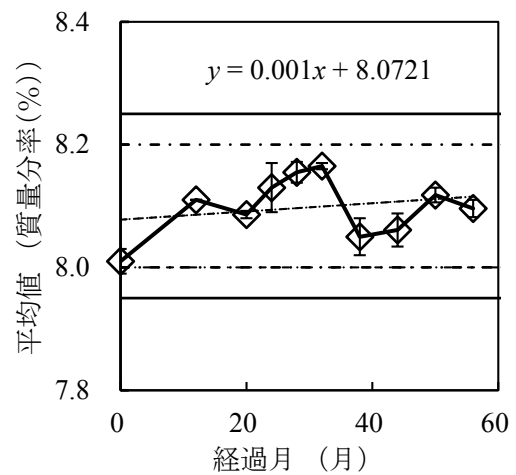


7. 標準物質A13(く溶性ほう素)

図 1A② (続き)

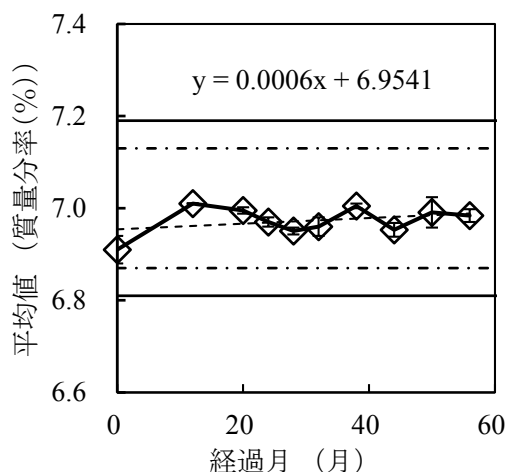


1. 標準物質B10(アンモニア性窒素)

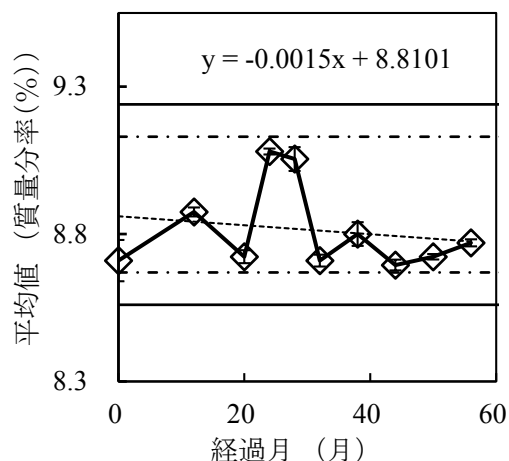


2. 標準物質B10(可溶性りん酸)

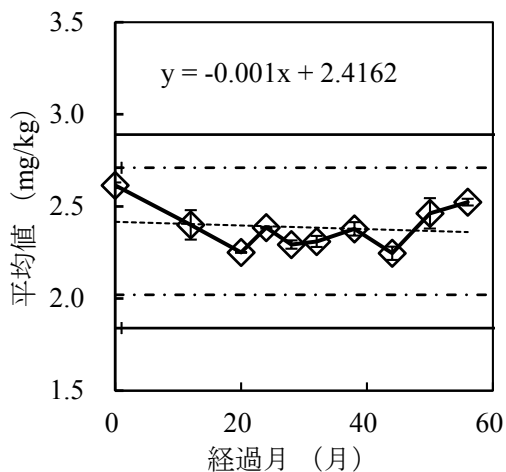
図 1B① 標準物質 B10 のモニタリング試験成績
(脚注は図 1A①参照)



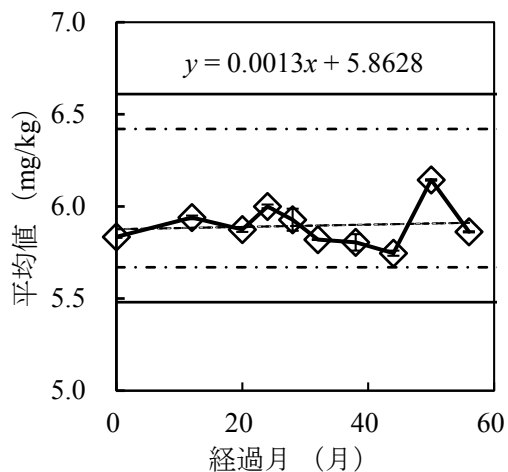
3. 標準物質B10(水溶性りん酸)



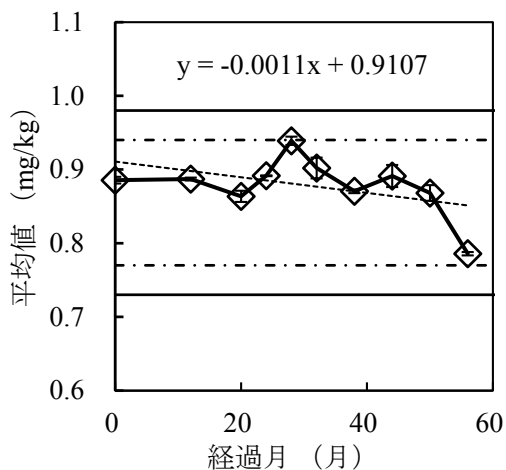
4. 標準物質B10(水溶性加里)



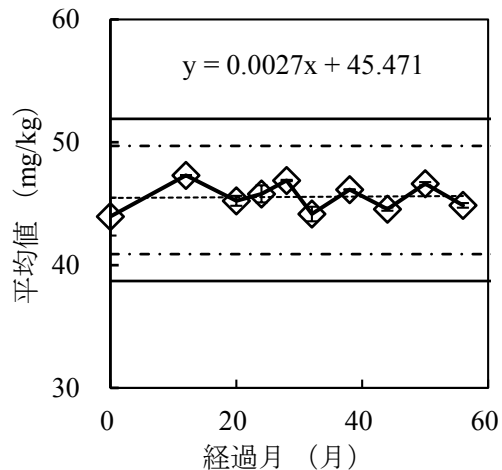
5. 標準物質B10(砒素)



6. 標準物質B10(カドミウム)

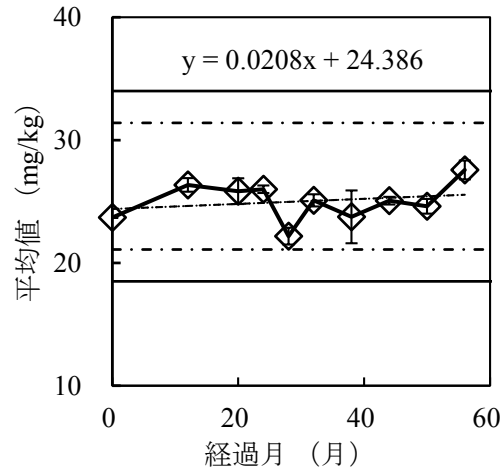


7. 標準物質B10(水銀)



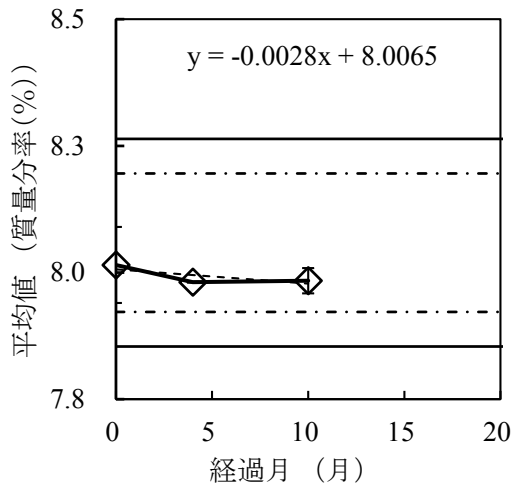
8. 標準物質B10(ニッケル)

図 1B① (続き)

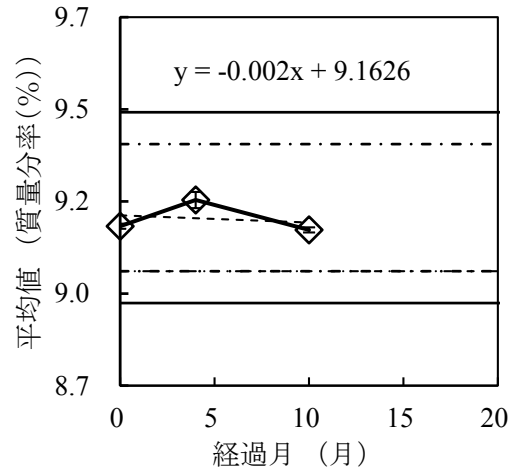


9. 標準物質B10(鉛)

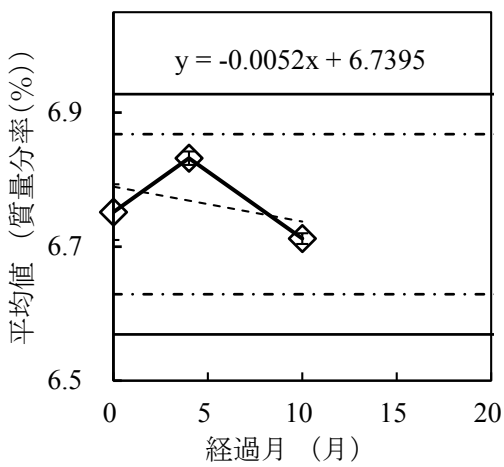
図 1B① (続き)



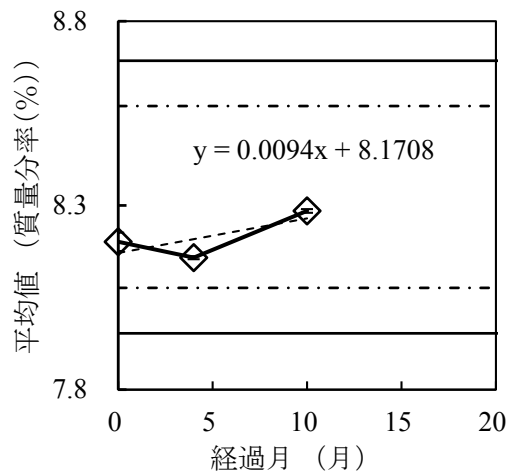
1. 標準物質B14(アンモニア性窒素)



2. 標準物質B14(可溶性りん酸)



3. 標準物質B14(水溶性りん酸)



4. 標準物質B14(水溶性加里)

図 1B② 標準物質 B14 のモニタリング試験成績
(脚注は図 1A①参照)

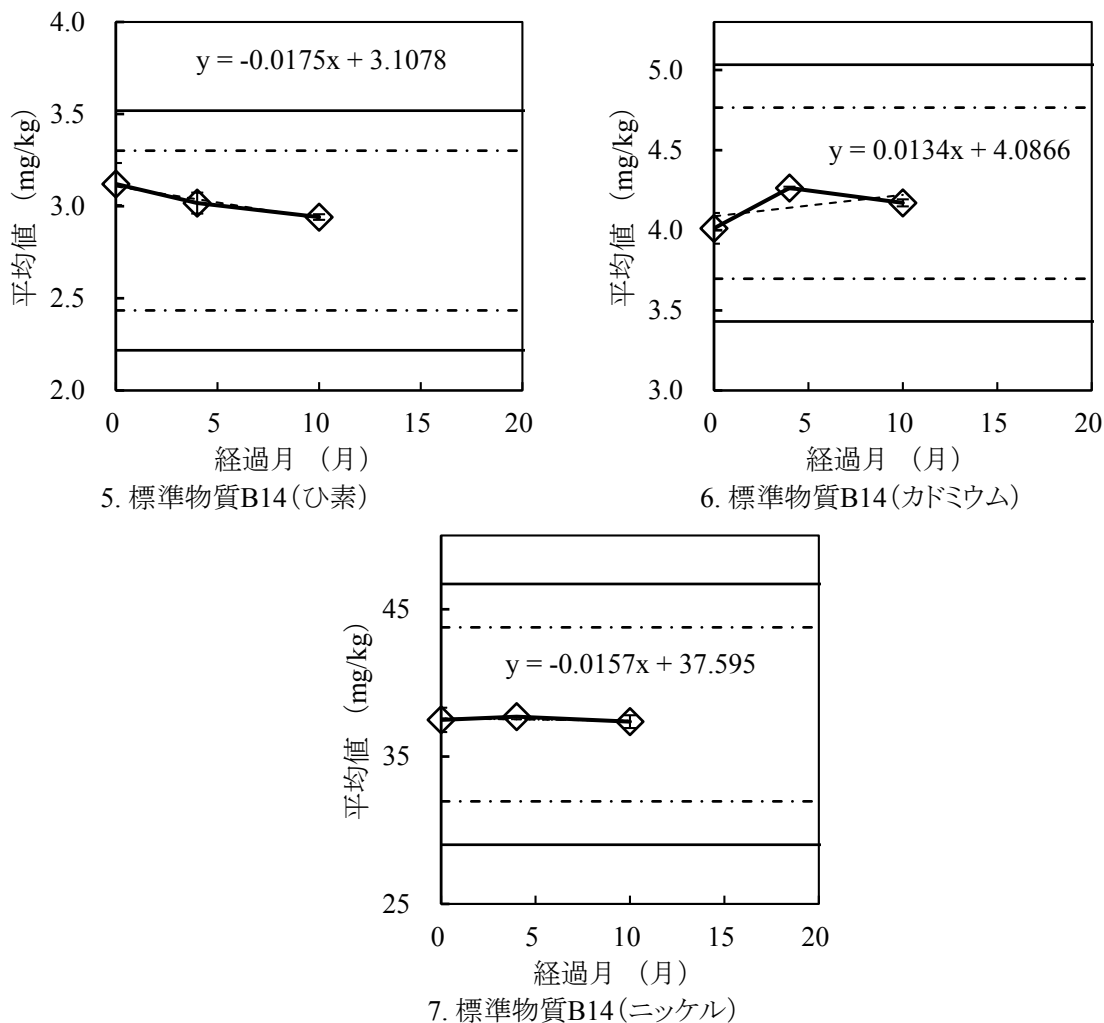


図 1B② (続き)

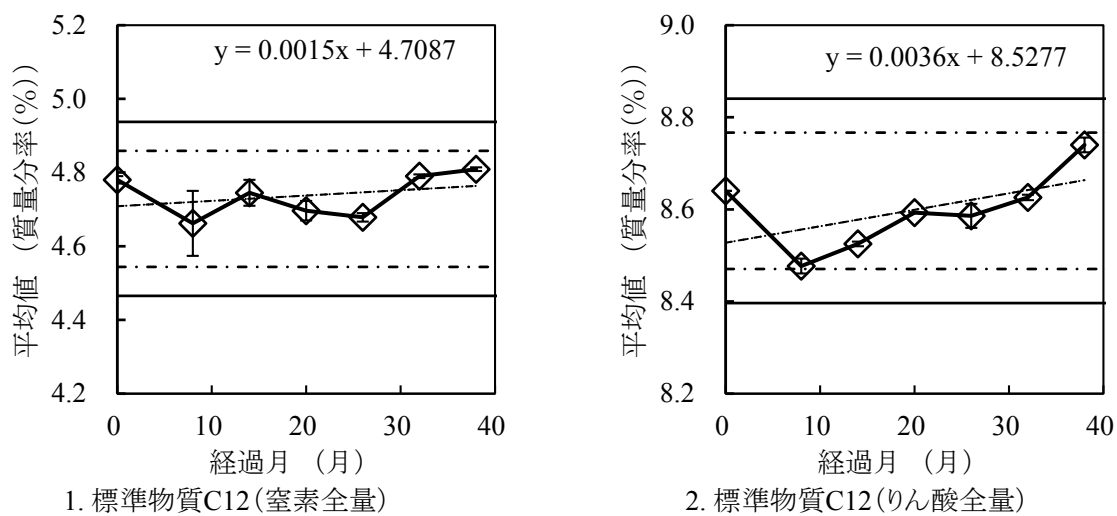
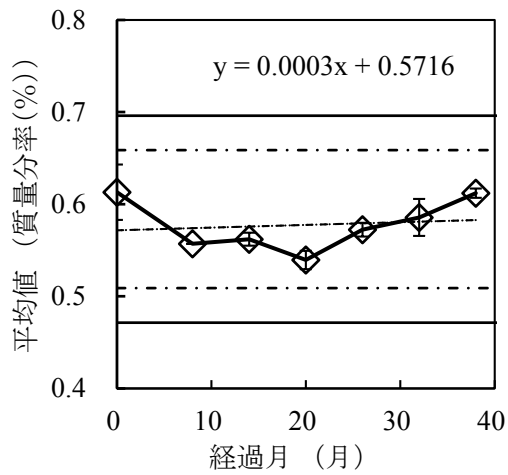
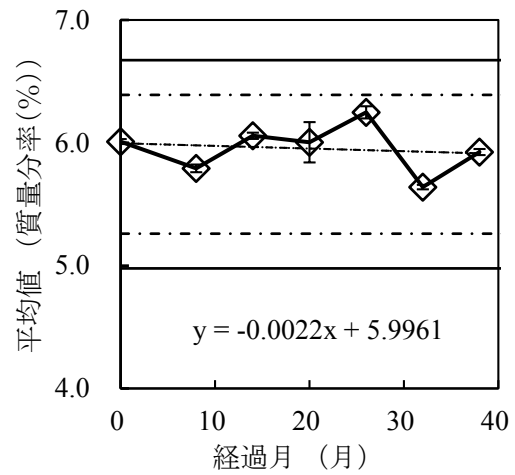


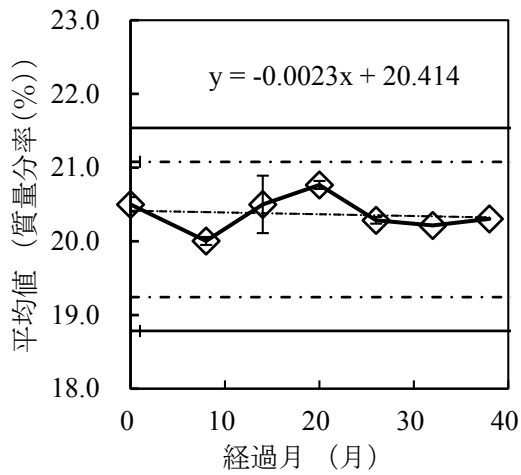
図 1C 標準物質 C12 のモニタリング試験成績
(脚注は図 1A①参照)



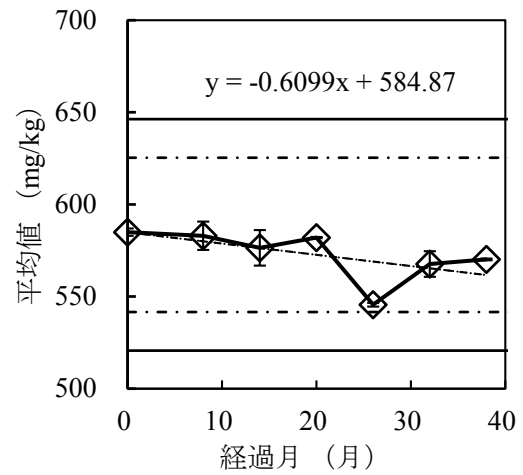
3. 標準物質C12(加里全量)



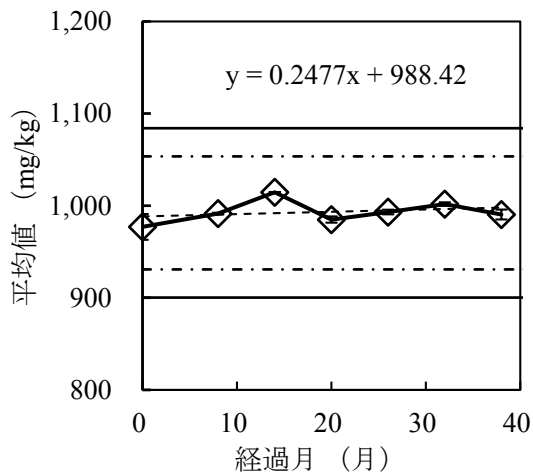
4. 標準物質C12(石灰全量)



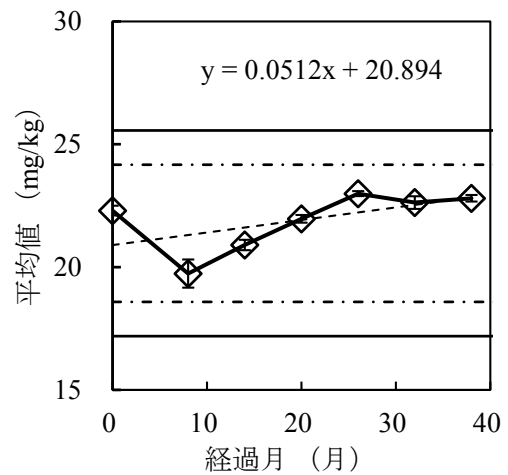
5. 標準物質C12(有機炭素)



6. 標準物質C12(銅)

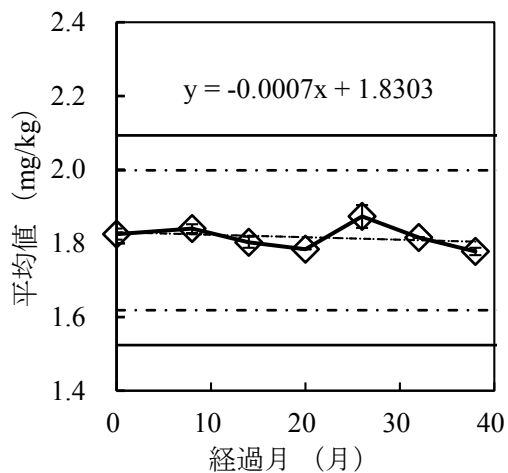


7. 標準物質C12(亜鉛)

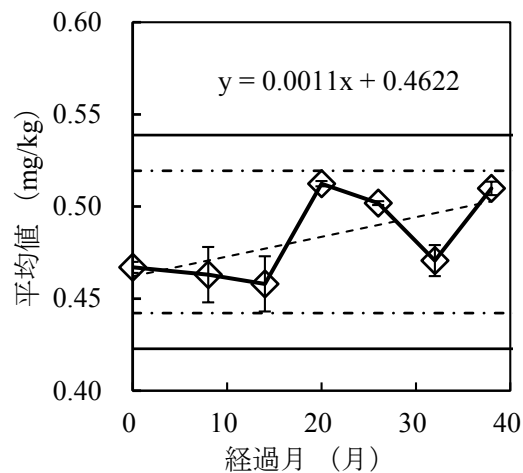


8. 標準物質C12(ヒ素)

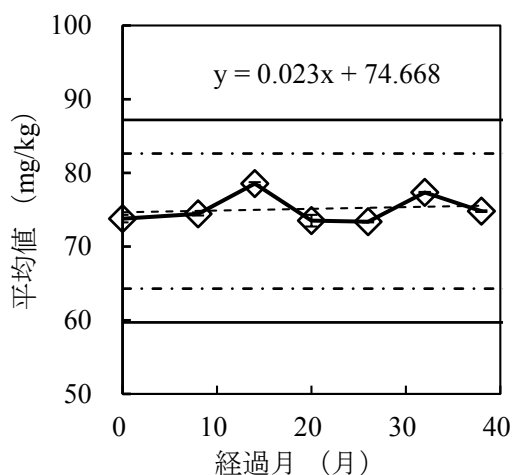
図 1C (続き)



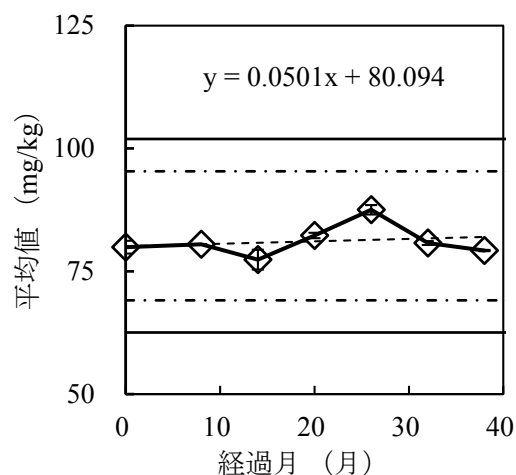
9. 標準物質C12 (カドミウム)



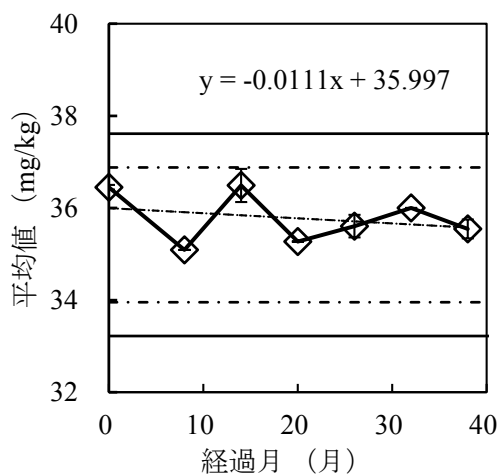
10. 標準物質C12 (水銀)



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 の認証値設定試験実施時(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, 50ヶ月後(標準物質 B-10 のみ)及び 56ヶ月後、標準物質 C-12 の認

証値設定試験実施時(0ヶ月), 8ヶ月後, 14ヶ月後, 20ヶ月後, 26ヶ月後, 32ヶ月後及び38ヶ月後並びに標準物質 A-13 の認証値設定試験実施時(0ヶ月), 7ヶ月後, 13ヶ月後, 19ヶ月後及び25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, 標準物質 C-12 及び標準物質 A-13 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, 標準物質 C-12 及び標準物質 A-13 の認証成分は, 各々認証値設定試験実施時から4年8ヶ月, 4年8ヶ月, 3年2ヶ月, 2年1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 B-14 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.

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})^2} \quad \cdots (d)$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x} \quad \cdots (e)$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{T-2} \sum_{i=1}^T (y_i - \hat{y}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{T-2} \sum_{i=1}^T (y_i - b_0 - b_1 x_i)^2} \quad \cdots (f)$$

$$s_{b_1} = s / \sqrt{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})^2} \quad \cdots (g)$$

判定基準: $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$ \cdots 有意でない(安定)
 $|b_1| \geq s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$ \cdots 有意である(不安定)

T : 試験実施回数(A-10(9回), A-13(5回), B-10(10回), C-12(7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^{a)}成績の評価結果

試験成分	\bar{x} ^{b)} (mon.)	\bar{y} ^{c)} (%) ⁱ⁾	回帰分析結果			s_{b_1} ^{g)} ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 基準 ^{h)} ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 ⁱ⁾
			b_1 ^{d)}	b_0 ^{e)}	s ^{f)}			
			($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	(%) ⁱ⁾	(%) ⁱ⁾			
(標準物質A-10)								
窒素全量 (T-N)	28.2	14.69	-0.0046	14.82	0.11	0.002	0.006	○
アンモニア性窒素 (A-N)	28.2	10.74	-0.0005	10.75	0.09	0.002	0.005	○
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	28.2	10.06	-0.0013	10.10	0.04	0.001	0.002	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	28.2	13.56	-0.0014	13.60	0.14	0.003	0.007	○
く溶性苦土 (C-MgO)	28.2	3.35	0.0007	3.33	0.04	0.0008	0.0019	○
く溶性マンガン (C-MnO)	28.2	0.398	0.0000	0.400	0.009	0.0002	0.0005	○
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	28.2	0.209	0.0000	0.208	0.004	0.0001	0.0002	○
(標準物質A-13)								
窒素全量 (T-N)	12.8	14.870	0.0006	14.86	0.061	0.0031	0.0098	○
アンモニア性窒素 (A-N)	12.8	10.545	0.0041	10.492	0.152	0.0078	0.0247	○
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	12.8	10.765	-0.0007	10.774	0.060	0.0030	0.0097	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	12.8	13.057	0.0038	13.008	0.125	0.0064	0.0203	○
く溶性苦土 (C-MgO)	12.8	3.220	-0.0029	3.257	0.055	0.0028	0.0090	○
く溶性マンガン (C-MnO)	12.8	0.362	-0.00046	0.368	0.003	0.0002	0.00052	○
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	12.8	0.206	-0.0001	0.207	0.007	0.0004	0.0012	○
(標準物質B-10)								
アンモニア性窒素 (A-N)	30.4	8.29	-0.0010	8.32	0.08	0.001	0.003	○
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	30.4	8.10	0.0007	8.08	0.05	0.001	0.002	○
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	30.4	6.97	0.0006	6.95	0.03	0.001	0.001	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	30.4	8.76	-0.0015	8.81	0.15	0.003	0.007	○

- a) 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56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38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25ヶ月後までモニタリング
標準物質B-14は調製後の試験実施日から起算して10ヶ月後までモニタリング
- b) 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)
- c) 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(9) × 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(10) × 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(7) × 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(5) × 併行試験数(2))
標準物質B-14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))
- d) 回帰直線の傾き
- e) 回帰直線の切片
- f) 予測の標準誤差
- g) 回帰直線の傾きの標準誤差
- h) $s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$
- i) ○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
 $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$
- j) 表中の%は質量分率

表4-1 (続き)

試験成分	$\bar{x}^{b)}$ (mon.)	$\bar{y}^{c)}$ (%) ⁱ⁾	回帰分析結果			$s_{b_1}^{g)}$ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 基準 ^{h)} ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 ⁱ⁾
			$b_1^{d)}$	$b_0^{e)}$	$s^{f)}$			
			($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	(%) ⁱ⁾	(%) ⁱ⁾			
(標準物質B-14)								
アンモニア性窒素 (A-N)	4.7	7.99	0.0094	8.17	0.06	0.009	0.111	○
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	4.7	9.15	-0.0020	9.16	0.06	0.009	0.109	○
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	4.7	6.72	-0.0052	6.74	0.08	0.011	0.139	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	4.7	8.21	0.0094	8.17	0.06	0.009	0.111	○
(標準物質C-12)								
窒素全量 (T-N)	19.7	4.74	0.0015	4.71	0.06	0.002	0.005	○
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	19.7	8.60	0.0036	8.53	0.08	0.002	0.006	○
加里全量 (T-K ₂ O)	19.7	0.58	0.0003	0.57	0.03	0.001	0.002	○
石灰全量 (T-CaO)	19.7	5.95	-0.0022	6.00	0.21	0.01	0.02	○
有機炭素 (O-C)	19.7	20.37	-0.0023	20.41	0.27	0.01	0.02	○

表4-2 標準物質の安定性のモニタリング^{a)}成績の評価結果

試験成分	$\bar{x}^{b)}$ (mon.)	$\bar{y}^{c)}$ (mg/kg)	回帰分析結果			$s_{b_1}^{g)}$ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	判定 基準 ^{h)} ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	判定 ⁱ⁾
			$b_1^{d)}$	$b_0^{e)}$	$s^{f)}$			
			($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	(mg/kg)	(mg/kg)			
(標準物質B-10)								
ひ素 (As)	30.4	2.39	-0.0010	2.42	0.13	0.002	0.006	○
カドミウム (Cd)	30.4	5.90	0.0006	5.88	0.12	0.002	0.005	○
水銀 (Hg)	30.4	0.88	-0.0011	0.91	0.04	0.0007	0.0016	○
ニッケル (Ni)	30.4	45.6	0.0027	45.5	1.2	0.02	0.06	○
鉛 (Pb)	30.4	25.0	0.0208	24.4	1.6	0.03	0.07	○
(標準物質B-14)								
ひ素 (As)	4.7	3.0	-0.0175	3.1	0.0	0.00	0.05	○
カドミウム (Cd)	4.7	4.1	0.0134	4.1	0.2	0.02	0.27	○
ニッケル (Ni)	4.7	37.5	-0.0157	37.6	0.2	0.03	0.38	○
(標準物質C-12)								
銅全量 (T-Cu)	19.7	573	-0.6099	585	12.0	0.4	0.9	○
亜鉛全量 (T-Zn)	19.7	993	0.2477	988	12.7	0.4	1.0	○
ひ素 (As)	19.7	21.9	0.0512	20.9	1.1	0.0	0.1	○
カドミウム (Cd)	19.7	1.82	-0.0007	1.83	0.03	0.001	0.003	○
水銀 (Hg)	19.7	0.48	0.0011	0.46	0.02	0.001	0.002	○
ニッケル (Ni)	19.7	75.1	0.0230	74.7	2.2	0.1	0.2	○
クロム (Cr)	19.7	81.1	0.0501	80.1	3.4	0.1	0.3	○
鉛 (Pb)	19.7	35.8	-0.0111	36.0	0.6	0.02	0.05	○

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 6 ヶ月間、標準物質 C-12 は認証値設定から 2 年 11 ヶ月間、標準物質 A-13 は認証値設定から 1 年 7 ヶ月間の安定性が確認された。

4) ERM Application Note 1 に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 1¹²⁾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、標準物質 A-10 (7 成分)、標準物質 B-10 (9 成分)、標準物質 C-12 (13 成分) 及び標準物質 A-13 (7 成分) の 36 成分のうち 32 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 5 成分のうち、く溶性苦土の Δ_m (質量分率 0.07 %) 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 0.01 % 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 0.09 %) 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。アンモニア性窒素の Δ_m (質量分率 0.19 %) は、認証値 (10.36 %) に対して 2 % であり、拡張不確かさをわずか 0.06 % 超えていた程度であった。く溶性ほう素の Δ_m (質量分率 0.010 %) は、認証値 (0.203 %) に対して 5 % であり、拡張不確かさをわずか 0.005 % 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¹²⁾。

$$\Delta_m = |\bar{y}_{\text{meas}} - \mu| \quad \dots (h)$$

$$u_{\text{CRM}} = \frac{U_{95\%}}{2} \quad \dots (i)$$

$$u_{\text{meas}} = \sqrt{\frac{s_{(T)}^2 + \frac{s_r^2}{n}}{d}} \quad \dots (j)$$

$$u_{\text{C}(\Delta_m)} = \sqrt{u_{\text{meas}}^2 + u_{\text{CRM}}^2} \quad \dots (k)$$

$$U_{\text{C}(\Delta_m)} = 2u_{\text{C}(\Delta_m)} \quad \dots (l)$$

$$\Delta_m \leq U_{\text{C}(\Delta_m)} \quad \dots (m)$$

\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
 s_p : 併行標準偏差
 $u_{C(\Delta_m)}$: Δ_m の合成標準不確かさ
 T : 試験回数(A-10(9), A-13(5), B-10(10), C-12(7))
 n : 併行試験数(2)
 $U_{C(\Delta_m)}$: 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	$\bar{y}_{\text{meas}}^{\text{a)}$	$u_{\text{meas}}^{\text{b)}$	$\mu^{\text{c)}$	$u_{\text{CRM}}^{\text{d)}$	$\Delta_m^{\text{e)}$	$U_{C(\Delta_m)}^{\text{f)}$
(標準物質A-10)							
窒素全量 (T-N)	(%) ^{g)}	14.69	0.04	14.71	0.04	0.02	0.12
アンモニア性窒素 (A-N)	(%) ^{g)}	10.74	0.03	10.66	0.05	0.08	0.11
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	(%) ^{g)}	10.06	0.02	10.05	0.04	0.01	0.08
水溶性加里 (W-K ₂ O)	(%) ^{g)}	13.55	0.04	13.59	0.04	0.04	0.12
く溶性苦土 (C-MgO)	(%) ^{g)}	3.35	0.02	3.28	0.02	0.07	0.06
く溶性マンガン (C-MnO)	(%) ^{g)}	0.398	0.003	0.403	0.003	0.000	0.008
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	(%) ^{g)}	0.209	0.002	0.209	0.002	0.000	0.004
(標準物質A-13)							
窒素全量 (T-N)	(%) ^{g)}	14.87	0.00	14.83	0.05	0.04	0.09
アンモニア性窒素 (A-N)	(%) ^{g)}	10.55	0.01	10.36	0.07	0.19	0.13
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	(%) ^{g)}	10.77	0.00	10.79	0.02	0.02	0.03
水溶性加里 (W-K ₂ O)	(%) ^{g)}	13.06	0.01	13.07	0.04	0.01	0.08
く溶性苦土 (C-MgO)	(%) ^{g)}	3.22	0.00	3.18	0.04	0.04	0.08
く溶性マンガン (C-MnO)	(%) ^{g)}	0.362	0.000	0.356	0.005	0.000	0.009
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	(%) ^{g)}	0.206	0.000	0.203	0.003	0.010	0.005

- a) 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(9) × 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(10) × 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(7) × 繰返し数(2))
 内部品質管理試験成績(標準物質A-13)の総平均値(データ数 = 試験回数(5) × 繰返し数(2))
 b) 総平均値の標準不確かさ
 c) 認証値
 d) 認証値の標準不確かさ
 e) 平均値と認証値の差の絶対値
 f) 平均値と認証値の差の合成拡張不確かさ(包含係数: $k=2$)
 g) 質量分率

表5 続き

試験成分	単位	$\bar{y}_{\text{meas}}^{\text{a)}$	$u_{\text{meas}}^{\text{b)}$	$\mu^{\text{c)}$	$u_{\text{CRM}}^{\text{d)}$	$\Delta_{\text{m}}^{\text{e)}$	$U_{\text{C}(\Delta_{\text{m}})}^{\text{f)}$
(標準物質B-10)							
アンモニア性窒素 (A-N)	(%) ^{g)}	8.29	0.02	8.38	0.03	0.09	0.08
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	(%) ^{g)}	8.10	0.02	8.10	0.01	0.00	0.04
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	(%) ^{g)}	6.97	0.01	7.00	0.02	0.03	0.05
水溶性加里 (W-K ₂ O)	(%) ^{g)}	8.77	0.05	8.85	0.04	0.08	0.12
ひ素 (As)	(mg/kg)	2.39	0.04	2.36	0.05	0.03	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)	0.88	0.01	0.86	0.01	0.02	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)	25.0	0.5	26.2	0.7	1.2	1.8
(標準物質C-12)							
窒素全量 (T-N)	(%) ^{g)}	4.74	0.00	4.70	0.02	0.04	0.05
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	(%) ^{g)}	8.60	0.00	8.62	0.05	0.02	0.10
加里全量 (T-K ₂ O)	(%) ^{g)}	0.58	0.00	0.58	0.01	0.00	0.02
石灰全量 (T-CaO)	(%) ^{g)}	5.95	0.01	5.82	0.09	0.13	0.17
有機炭素 (O-C)	(%) ^{g)}	20.4	0.0	20.2	0.2	0.2	0.3
銅全量 (T-Cu)	(mg/kg)	573	0	583	6	10	12
亜鉛全量 (T-Zn)	(mg/kg)	993	0	992	9	1	17
ひ素 (As)	(mg/kg)	21.9	0.0	21.4	0.5	0.5	0.9
カドミウム (Cd)	(mg/kg)	1.82	0.00	1.81	0.03	0.01	0.06
水銀 (Hg)	(mg/kg)	0.483	0.001	0.481	0.005	0.002	0.009
ニッケル (Ni)	(mg/kg)	75	0	73	2	2	3
クロム (Cr)	(mg/kg)	81	0	82	2	1	4
鉛 (Pb)	(mg/kg)	35.8	0.0	35.4	0.2	0.4	0.4

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)、標準物質A(高度化成肥料FAMIC-A-13)及び標準物質B(普通化成肥料FAMIC-B-14)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、標準物質A-13及び標準物質B-14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)⁸⁾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、標準物質C-12及び標準物質A-13について認証値設定後、各々4年6ヶ月間、4年6ヶ月間、2年11ヶ月間、1年7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, 白井祐治, 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) 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, 白井祐治: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—, 肥料研究報告, **8**, 140~152 (2015)
- 7) 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」)
- 8) 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」)
- 9) 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」)
- 10) 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>
- 11) 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」)
- 12) 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) and Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-14)

Shigeyuki INABA¹, Yasuharu KIMURA¹, Jun ITOU¹, Takafumi KAMIKAWA¹,
Taku FUJITA¹, Keisuke AOYAMA¹, Masahiro ECHI² and Yuji SHIRAI³

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

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

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, 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 FAMIC-B-14) 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 and FAMIC-B-14 is certified for the concentrations of ammonium nitrogen (A-N), citrate-soluble phosphoric acid (S-P₂O₅), water-soluble phosphoric acid (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb) (only FAMIC-B-10), nickel (Ni) and mercury (Hg) (only FAMIC-B-10). 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) and high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-13) were stable for each four years six months after preparation and four years six months after preparation and two years eleven months after preparation and one year seven month after preparation. In addition, ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-14) had little examination number of times, but was the same results. 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), fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 35, long-term stability

(Research Report of Fertilizer, **9**, 145~169, 2016)

12 コマツナの生理障害

—銅—

五十嵐総一¹, 八木啓二¹, 添田英雄¹, 有隅孝子¹, 加島信一¹

キーワード 植害試験, コマツナ, 銅, 過剰症状, 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。今回は植物に対して銅(以下、「Cu」とする)の効果を目的に肥料材料として使用される試薬を対象に過剰症状確認試験を実施したので、その結果を報告する。

なお、Cuの欠乏症状は麦類で発生が認められているものの、その他作物ではあまり確認されておらず³⁾、植害試験においてコマツナの作物体における欠乏症状は発生する可能性が極めて低いと考えられること、及び誘発が困難なため、欠乏症状確認試験は省略することとした。

2. 材料及び方法

1) 供試土壌、肥料等

(1) 供試土壌

過剰症状確認試験用には灰色低地土を選定した。選定根拠として、灰色低地土はCuを固定する腐植が他の土壌と比較して少ないこと、及び土壌pHが過剰症状確認試験に適していることが挙げられる。

土壌中のCuの溶解・利用度はpHに大きな影響を受ける。過剰症状を発現させるためには供試土壌は概ねpH 5.0~pH 6.5⁴⁾である必要があり、さらに供試作物のコマツナの生育最適pHは5.5~6.5⁵⁾である。供試土壌はこの条件を満足している。土壌の理化学性を表1に示した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

表1 供試土壌の理化学性

土壌の種類	土性	水分 (%)	pH (土:H ₂ O=1:5)	電気伝導率 (mS/cm)	容積重 (g/500 mL風乾土)	最大容水量 (mg/100g乾土)	可給態りん酸 (mg/100g乾土)
灰色低地土	CL	9.8	6.13	0.07	528	64	11

(2) 供試肥料

供試した Cu は表 2 に示す 3 試薬を使用した。

これらは肥料材料⁶⁾として流通肥料に使用実績のあるものを選定した。

表2 供試試薬

供試試薬名	化学式	規格
硫酸銅 (II) 五水和物	CuSO ₄ ·5H ₂ O	特級
硝酸銅 (II) 三水和物	Cu(NO ₃) ₂ ·3H ₂ O	特級
Cu(II)-EDTA	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₈ Na ₂ Cu·4H ₂ O	特級

(3) 供試作物

コマツナ(品種名:夏楽天)

(4) 試験規模

1/10000 a ノイバウエルポットを用い、1 試験区 1 連とした。

2) 試験方法

(1) Cu 濃度設定のための発芽試験

構成した各試験区の Cu 濃度は発芽試験による結果を根拠に設定した(表 3)。

硫酸銅(II)五水和物(以下、「硫酸銅」という。)については、予備試験において 2000 mg/pot 区で症状が十分確認できることが判っていたため、これに基づいて 1400 mg~1800 mg の範囲で設定した。

硫酸銅の予備試験において 2000 mg/pot 区は栽培後の乾物重が 1.1 g であり、作物体の分析に必要な乾物重 1.0 g をやや上回り、発芽率が 60 %であったことから、シャーレ発芽試験結果において発芽率が 60 %以上になった区の Cu 濃度を本試験に採用した。なお、発芽率 60 %以下で施用量の推定が困難場合は他供試試薬の発芽率を考慮し、設計を立てた。

なお、発芽試験は、は種後 6 日目に測定し、Cu 施用量及び土壌量は 1/10000 a ノイバウエルポット条件の 10 分の 1 スケールとした。窒素、りん酸及び加里源になる試料は施用せず、栽培条件は 2) (3)に準じた。

表3 は種6日目 発芽率 (%)^{a)}

供試試薬	試験区 (Cu mg/pot) ^{b)}					
	50	100	200	500	1000	2000
硝酸銅 (II) 三水和物	-	-	-	25	0	0
Cu(II)-EDTA	80	85	0	-	-	-

a) 発芽率は (発芽した個体 / は種数 20 粒)×100 によって算出

b) 1区1連にて実施

(2) 試験区の構成及び施用量

試験区の構成及び施用量を表4に示した。

試験区の構成は硫酸銅をCuとして1ポット当たり1400 mg～1800 mgの範囲で施用した3区、硝酸銅(II)三水和物(以下、「硝酸銅」という。)をCuとして1ポット当たり100 mg～400 mgの範囲で施用した3区、Cu(II)-EDTA(以下、「EDTA銅」という。)50 mg～150 mgの範囲で施用した3区及びCu無施用の標準区の計10区とした。

また、各試験区には窒素、りん酸、加里源として硫酸アンモニア、過りん酸石灰及び塩化加里を各々100 mg/potになるよう施用した。Cuの供試試薬において窒素源が含まれる場合は、窒素が100 mg/potになるように硫酸アンモニア施用によって窒素を補填し、Cuの供試試薬施用によって窒素が100 mg/potを超過する場合は硫酸アンモニアを施用しなかった。

表4 試験区の構成

	Cu施用量 (mg/pot)	硫酸 ^{a)} (mg/pot)	硝酸 ^{a)} (mg/pot)	EDTA ^{a)} (mg/pot)	供試試薬施用量 (g/pot)	供試試薬含有窒素量 (mg/pot)
硫酸銅	1400	2160	-	-	5.50	-
	1600	2471	-	-	6.29	-
	1800	2777	-	-	7.07	-
硝酸銅	100	-	99	-	0.38	44
	250	-	248	-	0.95	110
	400	-	396	-	1.52	176
EDTA銅	50	-	-	320	0.37	22
	100	-	-	640	0.74	44
	150	-	-	960	1.11	66
標準区	0	-	-	-	0	-

a) 銅以外の化学グループの施用量

(3) 栽培方法

耕種概要を表5に示した。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500 mL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)内で照度約30000 lx、照明時間12時間、気温昼間25℃、夜間15℃、湿度70%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5 耕種概要

施肥	播種	発芽率確認		収穫
		1回目	2回目	
平成26年7月25日	7月25日	7月28日	7月31日	8月15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, 葉体の Cu, 鉄(以下, 「Fe」とする.) 含有率(乾物当たり)について調査した.

(2) 収穫物の分析方法

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 で約 24 時間乾燥した. その後, 乾物重を測定し, 粉碎機で 0.5 mm メッシュを使用して粉碎した. 試料約 0.1 g ~ 1.0 g (生育不良となった試験区は乾物重 0.1 g 程度の試料しか供試できなかった.) を王水分解し, 分解液を希釈後, 原子吸光法によって各試験区の Cu, Fe 含有率(乾物当たり)を測定した.

3. 結 果

1) 銅の生理作用

植物の必須要素は多量要素と微量元素に大別される. 微量元素は, 光合成等の代謝過程における酵素の構成元素として, また, 酵素の活性化因子として重要な役割を果たしている. Cu はこの微量元素に属している元素であり, 葉緑素の形成に寄与する. なお, 土壌や肥料由来の Cu は Cu^+ もしくは Cu^{2+} として植物に吸収されることが知られている⁷⁾.

植物体内で Cu が過剰に蓄積された場合, 異常症状が下葉から発症する. これは植物体内の Cu が転流されにくい性質であるため, 下葉に銅が過剰蓄積されるためだと考えられている⁸⁾.

また, Cu は Fe と拮抗作用があるため植物体中に過剰な Cu が蓄積されると, Fe の吸収量が正常時と比較して劣ってしまい, 結果的に鉄欠乏症であるクロロシスを誘発する場合がある^{8,9)}.

2) 銅過剰障害

(1) 作物体及び跡地土壌の分析結果

銅過剰症状確認試験の作物体及び土壌における試験結果を表 6 に示した.

各試験区の発芽率は 60 % 以上が得られ, 2)(2) に記述した予備試験を踏まえた濃度設定はほぼ良好であったといえる. しかしながら, EDTA 銅 150 mg/pot 区は生育が著しく悪く, 乾物重が 0.1 g だったため, 作物体の分析に必要な量の 1.0 g を大きく下回った.

作物体の Cu の濃度については, 硫酸銅区及び EDTA 銅区が標準区を大きく上回る傾向にあった. 硝酸銅区においては標準区を上回ったものの, 硫酸銅区及び EDTA 銅区の傾向とは異なる結果となった. 作物体の Cu の吸収量も同様の傾向が窺われたが, EDTA 銅 150 mg/pot 区では生育が著しく悪かったため Cu 及び Fe の吸収量は標準区よりも低かった.

跡地土壌の pH は硫酸銅区が他区より低い傾向にあり, 最も酸性であることがわかった.

また, EC は硫酸銅区が他区より高い傾向にあることがわかった.

表6 試験結果

供試 試葉	Cu 負荷量 (mg/pot)	発芽率 ^{a)}		葉長 (cm)	生体 重 (g/pot)	乾物 重 (g/pot)	作物体の元素濃度		作物体の吸収量		異常 症状	跡地土壌	
		1回目 (%)	2回目 (%)				Cu ^{b)} (mg/kg)	Fe ^{b)} (mg/kg)	Cu ^{b)} (μ g/pot)	Fe ^{b)} (μ g/pot)		pH (H ₂ O) ^{c)}	EC ^{d)} (mS/cm)
硫酸 銅	1400	70	80	11	12	1.9	97	1700	184	3230	有	4.5	1.2
	1600	90	90	7.5	11	1.9	92	1370	175	2603	有	4.4	1.8
	1800	65	75	6.1	7	1.5	136	2170	204	3255	有	4.3	2.0
硝酸 銅	100	100	95	4.7	35	3.8	22	560	84	2128	無	5.6	0.5
	250	100	90	10.2	40	3.9	14	980	55	3822	無	6.3	0.2
	400	100	100	10.7	39	3.7	13	540	48	1998	無	6.3	0.2
EDTA 銅	50	100	100	6	21	2.5	47	1230	118	3075	有	5.6	0.5
	100	95	95	9.5	7	0.9	170	3740	153	3366	有	5.9	0.6
	150	90	85	6.5	1	0.1	229	4050	30	527	有	6.0	0.8
標準区	0	100	100	7.5	36	4.0	10	370	40	1480	無	5.3	0.4

a) 発芽率は(発芽した個体 / は種数 20 粒)×100 によって算出

b) 乾物値

c) pH(H₂O)は土壌1:水5の懸濁液を測定

d) EC(電気伝導率)は土壌1:水5の懸濁液を測定

(2) 異常症状の観察

硫酸銅を負荷した試験では次の2症状の特徴があった。

○ 下位葉の黄色化

は種後 12 日目頃から子葉に発現し、数日で枯死する個体が見られた。成長を続けた個体はその後、本葉第一葉へ黄色化が移行していき、は種後 21 日目には本葉第三葉まで進行した。本葉は 5 枚目まで生育し、この本葉第五葉及び第四葉には症状は発現しなかった。黄色化は下位葉の先端または中央付近から発現する特徴が見られた。

○ 生育抑制

標準区と比較すると硫酸銅の過剰施用によって発芽率及び生体重が低くなる結果が得られた。



(写真 1)

硫酸銅 1800 mg/pot 区 は種後 21 日目の様子。黄色化は古い葉である下位葉から新しい葉である上位葉へ順に進行していき、新葉には発現しなかった。



(写真 2)

は種後 21 日目。写真左は標準区の正常なコマツナの個体。正常な個体には黄色化は発現しなかった。

一方、硫酸銅 1800 mg/pot 区は子葉が脱落し、本葉第一葉の中央から葉先にかけて黄色化が著しく、一部が壊死するものもあった。



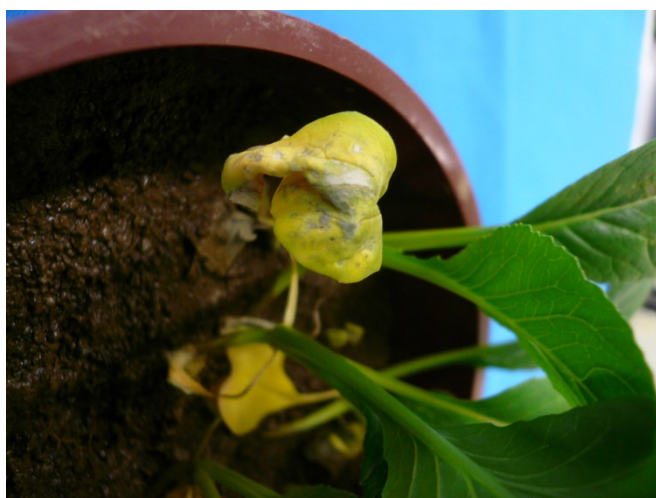
(写真 3)

硫酸銅 1800 mg/pot 区は種後 17 日目の症状が発現し始めている本葉第一葉の様子。新葉と比較すると葉の色が薄くなっており、一部壊死が見られる。子葉も黄色化が見られ、一部が脱落している。



(写真 4)

硫酸銅 1800 mg/pot は種後 18 日目の症状が進行した様子. 進行のスピードが速く, 1 日の変化が激しい. 部分的な壊死が増え, 黄色化が進行している.



(写真 5)

硫酸銅 1800 mg/pot は種後 20 日目には葉全体が丸まり, 枯死に至った.

硝酸銅を負荷した試験では初期の生育速度は標準区より劣っているように見えたが, 収穫後の生体重は標準区と比較してほぼ同等であり, 異常症状は観察されなかった.

また, 作物体中の Cu 吸収率は標準区とあまり大差が無く, 硝酸銅由来の Cu は硫酸銅区及び EDTA 銅区と比較して作物体にはほとんど移行しなかった.



(写真 6)

は種後 7 日目の様子. 標準区(左)に比べると硝酸銅 400 mg/pot 区(右)の生育は遅かった.



(写真 7)
 は種後 13 日目
 標準区(左)に比べると硝酸銅 400 mg/pot 区
 (右)の生育はやや劣った.



(写真 8)
 は種後 21 日目になると
 硝酸銅 400 mg/pot 区(右下)は標準区(右上)を
 上回った. 硝酸銅 400 mg/pot 区は標準区より窒素
 の供給量が多いことから葉色が濃緑色を呈している
 と考えられた.
 なお, 左上は硫酸銅 1800 mg/pot 区であり, 左
 下は EDTA 銅 150 mg/pot 区である.

EDTA 銅を添加した区では, 次の 2 症状が観察された.

○ 著しい生育不良

標準区と比較するとは種後 7 日目における生育は著しく悪かった. その後, 生育が止まる個体が見られたが, 生育スピードは遅いながらも成長を続ける個体も見られた.

○ 黄色化に伴う葉のモザイク症状

は種後 14 日目頃から黄色化見られ, 18 日目にはほぼ全体的な範囲で黄色化した. また, それに伴い, 本葉の葉縁の色が薄くなり, モザイク模様な症状を呈した.



(写真 9)

は種後 7 日目 EDTA 銅 150 mg/pot 区の様子. 発芽後に生育が止まっている個体や生育スピードは遅いものの成長を続ける個体が観察された.



(写真 10)

は種後 7 日目の様子. 左が標準区, 右が 150 mg/pot 区である. 標準区と比較すると生育が明確に劣った.



(写真 11)

は種後 10 日目 EDTA 銅 150 mg/pot 区において根が萎縮し, 倒れる個体が観察された.



(写真 12)

は種後 12 日目 EDTA 銅 100 mg/pot 区の様子。発芽後の枯死が見られなかった個体は生育速度が遅いものの成長を続けた。



(写真 13)

は種後 18 日目 EDTA 銅 100 mg/pot 区の様子。は種後 14 日目ごろから黄色化が発現しはじめ、18 日目には全体的に黄色化が明確に現れた。



(写真 14)

は種後 18 日目 EDTA 銅 100 mg/pot 区の様子。標準区(左)と比較すると EDTA 銅 100 mg/pot 区(右)の黄色化が顕著であった。本葉は葉縁及び葉脈間の色が薄くなっており、モザイク状の様な症状を呈した。

4. 考 察

(1) 作物体分析結果

作物体の分析結果は表 6 のとおりである。硫酸銅施用区及び EDTA 銅区では標準区より高い濃度で Cu が吸収されていた。一方で硝酸銅区では標準区との差は硫酸銅施用区及び EDTA 銅区ほどではなかった。Cu の吸収量も同様の傾向であった。

硫酸銅は施用後、土壤中では銅イオン及びカウンターイオンである硫酸イオン(SO_4^{2-})に解離する。銅イオンは土壤中の有機物や金属とキレートを形成し¹⁰⁾、植物に対する可給性は比較的低い形態になるといわれている¹¹⁾。そのため、植害試験において、過剰の Cu を施用した場合もほとんどの Cu が土壤に固定され、銅は作物体へほぼ吸収されないと予想された。

しかしながら、硫酸銅区では標準区と比較すると高い濃度で作物体中に Cu が吸収されていた。Cu の吸収量についても同様であった。これは、1/10000 a ノイバウエルポットを使用する閉鎖系の植害試験においては、露地栽培と比較するとコマツナの根が Cu と接触しやすい状況となるため Cu 吸収が促進されること、及び供試土壤は Cu の溶解・利用度が高くなる pH の範囲(概ね pH5.0~6.5)の酸性土壤であること、さらに供試土壤中の有機物が比較的少ないため植物に対して Cu の可給性が予想以上に高かったため、作物体の Cu を吸収する条件が揃っていたことが原因かと考えられる。

また、EDTA 銅区においても標準区以上の Cu が吸収されており、これは硫酸銅区より顕著なものであった。EDTA 銅は作物体への移動性が高いことが報告されており¹²⁾、植害試験の条件下でも EDTA 銅は作物体へ吸収されやすい可能性がある。

一方で、硝酸銅区では他区と比較すると標準区との銅濃度差はみられなかった。硫酸根が残るため跡地土壤の pH が標準区と比較して低くなった硫酸銅区とは対照に、硝酸銅区 pH の変化はそれほど見られなかった(表 6)。すなわち、硫酸銅区では跡地土壤の pH が低くなることで Cu の作物体への吸収が促進されたが、硝酸銅区では pH はほぼ変化がなかったため、硫酸銅区と比較すると、Cu の吸収が劣ったものと考えられる。

また、硝酸銅の硝酸イオンは作物体に吸収され、害症状を示すことなく栄養に供されたと推察されるため、硝酸銅による過剰症状を出すには大幅に施用量を増やす必要があると考えられた。

(2) Fe の吸収量について

作物体へ過剰に吸収された Cu の拮抗作用として鉄欠乏症状の誘発があると考えられている。そのため、作物体中の Fe 濃度を測定した結果、EDTA 銅 150 mg/pot 区では生育が著しく悪かったため Cu 及び Fe の吸収量は標準区よりも低かったものの、ほとんどの区で標準区以上の Fe が吸収されていた(表 6)。そのため、当該調査における異常症状は鉄欠乏症状には該当しないことが推察された。

なお、標準区と比較して全ての区で Fe が高濃度であった原因は不明であるが、硫酸銅区では跡地土壤の pH が低くなったことから、Fe の溶解・利用度が高まったことが一因ではないかと考えられる。

(3) 作物体 Cu 及び Fe 濃度の影響及び関係性

作物体に吸収された Cu 及び Fe が生育(生体重及び乾物重)に与えた影響について調査した(図 1, ~図 4)。その結果、作物体の Cu 及び Fe 濃度が高いほど生育は劣る傾向が見られた。つまり、Cu だけではなく、Fe の過剰吸収が生育不良の原因となった可能性が示唆された。

一方で、作物体 Cu 及び Fe 濃度の関係性について調査した。前述のとおり、作物体へ過剰に吸収された Cu の拮抗作用として鉄欠乏症状の誘発が考えられているが、本銅過剰症状確認試験結果では Fe はむしろ作物体へ吸収されており、さらに作物体 Cu 濃度と高い相関が確認された(図 5)。植害試験の条件下においては、銅過剰症状によって鉄過剰症状を誘発する可能性があると考えられた。

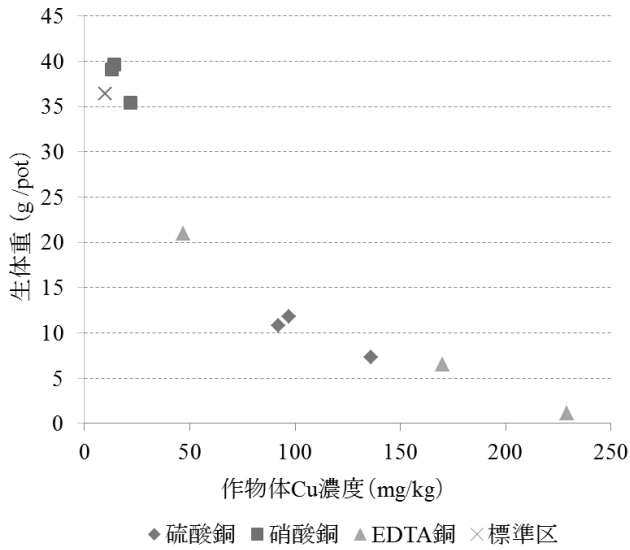


図1 作物体Cu濃度と生体重の分布

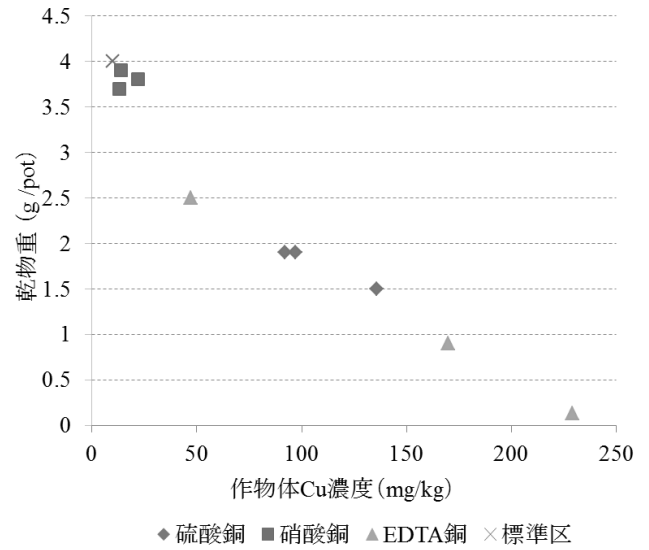


図2 作物体Cu濃度と乾物重の分布

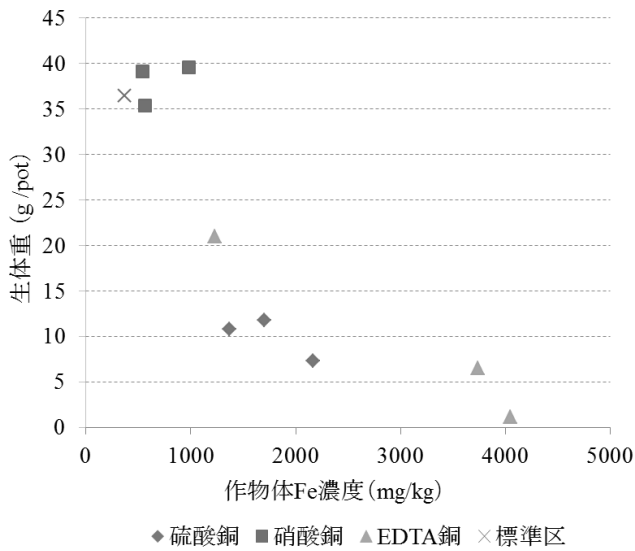


図3 作物体Fe濃度と生体重の分布

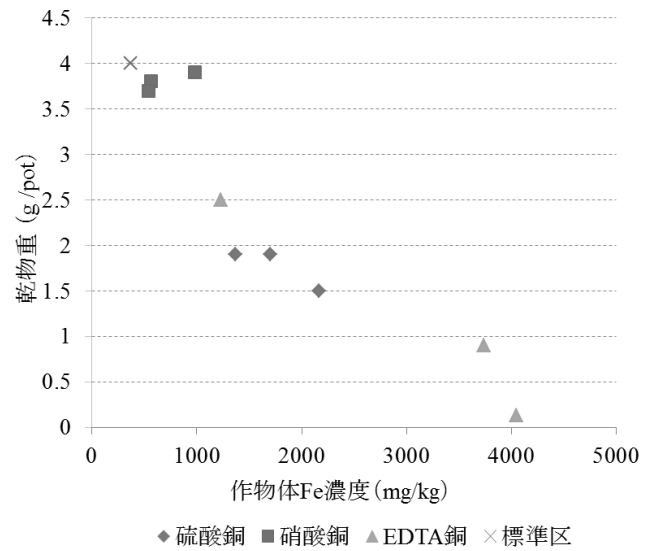


図4 作物体Fe濃度と乾物重の分布

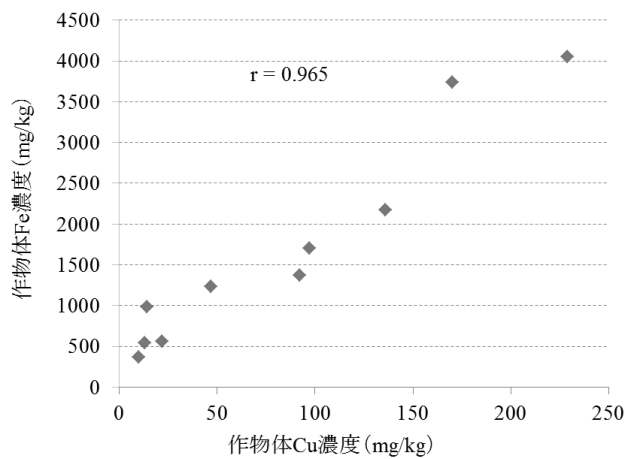


図5 作物体Cu及びFe濃度の関係性

(4) 異常症状の観察

硫酸銅区では下位葉の黄色化が観察された。は種後 12 日目頃から子葉に発現し、その後、本葉第一葉から第三葉の順に症状が確認された。Cu は作物体中において移動しにくい⁹⁾ため Cu の過剰症状は下位葉から生じると考えられており⁹⁾、本銅過剰症状確認試験の確認試験と矛盾がないものであった。

そのため、本調査の症状は Cu の過剰症状である可能性があると思われる。

加えて、硫酸銅区では硫酸イオンによる過剰症状の可能性もある。硫酸イオンは一般的に土壤コロイドに吸着されにくい¹³⁾と考えられているが、植物に対してはあまり吸収されないといわれている¹⁴⁾。

その一方で、植害試験における窒素の生理障害試験の報告¹⁵⁾では、本調査と供試土壤が異なるものの、同様の黄色化症状が発現している。同報では窒素(以下、「N」とする。)200 mg/pot 区～600 mg/pot 区で黄色化の症状が見られ、この原因はアンモニア害もしくは硫酸イオンの影響であることを示唆している。また、同報の供試試薬である硫酸アンモニアの施用量は N として 200 mg/pot～600 mg/pot、すなわち、硫酸アンモニア現物としての施用量は、943 mg/pot～2830 mg/pot、よって混入する硫酸は 700 mg/pot～2100 mg/pot になったと推測される。本銅過剰症状確認試験で混入した硫酸の量は 2160 mg/pot～2777 mg/pot(表 3)であり、窒素の生理障害試験の報告以上に高い範囲であったことから、植物に対する硫酸イオンの害が発現しやすい条件であったといえる。そのため、本銅過剰症状確認試験で観察された黄色化症状は Cu だけではなく、硫酸イオンによる影響が要因になったと考えられる。

また、一般的な作物体に対する Cu の過剰害の一つとして鉄欠乏症状による上位葉のクロロシスが挙げられるが、本銅過剰症状確認試験では観察されなかった。

次に、EDTA 銅による過剰症状は硫酸銅区の症状とは著しく異なるものであった。硫酸銅区では下位葉から黄色化が徐々に進行したのに対して、EDTA 銅区では、は種後 18 日目頃から作物体全体が急速に黄色化し、収穫時には葉がモザイク状を呈していた。また、発芽後に根が萎縮して倒れる個体も観察された。EDTA 銅区における作物体の Cu 濃度が標準区と比較して極端に高いため、Cu による影響が考えられるが、同様に Fe の濃度も非常に高濃度の値が検出された。並びに、EDTA 銅のキレート剤である EDTA による過剰害である可能性もある。そのため、EDTA 銅区では複合的な要因によって過剰症状が発現されたものと考えられるため、Cu の過剰症状を特定するには至らなかった。

一方で、硝酸銅区では栽培初期は標準区と比較してやや生育が遅いように見られたが、収穫時には標準区の生体重を追い越し、異常症状は特段確認されなかった。

5. 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、Cu の効果を目的に肥料材料として使用される試薬を対象に過剰症状確認試験を実施した。過剰症状確認試験では供試土壤として灰色低地土を用い、硫酸銅、硝酸銅及び EDTA 銅を段階的に施用し、21 日間栽培した。その結果、(1) 下葉の葉縁部黄化及び葉脈間脱色、(2) 生育抑制、(3) 根の伸長不良、(4) 葉のモザイク状の症状、以上 4 症状を確認した。いずれの症状も Cu、Fe、硫酸イオン及び EDTA の過剰症状であるものと推察されたが原因の特定には至らなかった。

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 26 年 9 月 1 日, 農林水産省告示第 1146 号 (2014)
 - 3) 一般財団法人日本土壌協会:土壌診断と対策 – 生理障害, 土壌病害中, コスト低減等対策 –, p.128 (2013)
 - 4) HENRY D. FOTH:土壌肥科学の基礎 江川友治監訳, p.189~191, 養賢堂, 東京 (1986)
 - 5) 農林水産省:都道府県施肥基準等
<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_sehi_kizyun/pdf/siryoy3.pdf>
 - 6) 農林水産省:肥料取締法施行規則, 農林水産省令第 47 号 (2014)
 - 7) ポケット肥料要覧 2013/2014 p.94~95 農林統計協会 (2015)
 - 8) 農林水産省:持続可能的農業を推進する静岡県土壌肥料ハンドブック, 第 3 部 4 作物の生理障害と対策
<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_sehi_kizyun/pdf/sdojo18.pdf>
 - 9) 独立行政法人農業環境技術研究所:植物の金属元素含量に関するデータ集録, p.167, 昭和 52 年 2 月 農林水産技術会議事務局 <<http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/hvymetal/14cumzn.pdf>>
 - 10) Hodgson, J.F., Lindsay, W.L., and Trierweiler, J.F.:Micronutrient cation complexing in soil solution. II. Complexing of zinc and copper in displacing solution from calcaceous soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 30, 723~726 (1966)
 - 11) 岩崎貢三:土壌中における銅の存在形態と植物による吸収, 移行に関する研究 (1990)
 - 12) 井上博道, 佐伯和利, 筑紫二郎:銅汚染土壌のファイトレメディエーションにおける EDTA の添加効果, 日本土壌肥科学雑誌, 74 (2), 169~174 (2003)
 - 13) 全国農業協同組合連合:施肥コストの低減
<https://www.zennoh.or.jp/activity/hiryo_sehi/pdf/qa_dojo.pdf>
 - 14) 藤原俊六郎, 安西徹郎, 小川吉雄, 加藤哲郎:土壌肥料用語辞典 第 2, p.67, 農文協, 東京 (2010)
 - 15) 阿部文浩, 恵智正宏:コマツナの生理障害 ー窒素ー, 肥料研究報告, 5, 147~155 (2012)

Physiological disorder of Komatsuna - Copper -

Souichi IGARASHI¹, Keiji YAGI¹, Hideo SOETA¹, Takako ARISUMI¹, Shinichi KASHIMA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka 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 copper excessive symptoms about Komatsuna (*Brassica rapa var. perviridis*) intentionally, was undertaken. Three of the reagents containing copper were chosen under this study. These were copper sulfate, copper nitrate, and copper(II)-EDTA, and are used generally to raise fertilizer quality for aiming at the purpose of copper's physiological effects against plants. As the copper excessive symptoms confirmation examination, it was observed (1) the border part of lower leaves turned yellow and the decoloration between veins of lower leaves, (2) the poor growth of leaves, (3) the extension failure of root, (4) showing symptom of tessellated leaves. These symptoms were regarded as the high salts obstacle such as sulfate ion, and EDTA in copper(II)-EDTA with excessive application amount. On the other hand, these were guessed to be due to the adsorption of copper and iron excessively against Komatsuna. Therefore it should pay attention the iron excessive symptoms as well as the copper excessive symptoms. However, it could not identify the direct causes of symptoms.

Key words vegetation test on the harm against plants, komatsuna, copper, excessive symptoms,
 yellowing of lower leaves

(Research Report of Fertilizer, 9, 170-184, 2016)

他誌掲載論文

- 1 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

Simultaneous determination of nitrous acid and thiocyanate in fertilizer by HPLC

伊藤浩平, 木村康晴, 長谷川正憲, 白井裕治

日本土壌肥科学雑誌, **87** (2), 120-124 (2016)

- 2 燃焼法による有機元素分析

Organic Elemental Analysis by Combustion Method

村上高行, 白井裕治

ぶんせき, **2015** (3), 108-114 (2015)

- 3 汚泥肥料中の種類と成分含有量の実態 -FAMIC の肥料検査成績から-

The type of sludge fertilizer and the analysis result of a component -The result of the fertilizer inspection in FAMIC -

水野和俊, 吉羽雅昭

日本土壌肥科学雑誌, **84** (4), 311-320 (2013)

肥料研究報告編集委員

委員長 池田 一樹

副委員長 荻野 喜江

會田 紀雄

白井 裕治

秋元 里乃

高橋 賢

阿部 文浩

野崎 友春

風間 鈴子

藤田 敏文

八木 寿治

肥料研究報告 第9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28年12月

編集 肥料研究報告編集委員会

印刷 名取印刷工業有限公司

東京都新宿区新小川町7番11号 名取第2ビル

TEL 03-3260-4767

リサイクル適性 (A)

この印刷物は、印刷用の紙へ
リサイクルできます。