4. 主成分、保証成分等

4.1 窒素

4.1.1 窒素全量

4.1.1.a ケルダール法

(1) 概要

この試験法は硝酸性窒素を含まない肥料に適用する。この試験法の分類は Type C であり、その記号は 4.1.1.a -2017 又は T-N.a-1 とする。

分析試料に硫酸、硫酸カリウム及び硫酸銅(II)五水和物を加え、ケルダール法で前処理して窒素全量(T-N)をアンモニウムイオンにし、水酸化ナトリウム溶液を加えて水蒸気蒸留する。分離したアンモニアを 0.25 mol/L 硫酸で捕集し、余剰の硫酸を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で(中和)滴定し、分析試料中の窒素全量(T-N)を求める。又は、分離したアンモニアをほう酸溶液で捕集し、アンモニウムイオンを 0.25 mol/L 硫酸で(中和)滴定し、分析試料中の窒素全量(T-N)を求める。なお、この試験法の性能は**備考 8** に示す。

(2) 試薬 試薬は、次による。

a) 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液(1): 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり、冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし、密栓して 4 日間～5 日間放置する。その上澄み液 5.5 mL～11 mL を共栓保存容器にとり、水 1000 mL を加える。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質のアミド硫酸をデシケーター中に 2 kPa 以下で約 48 時間放置して乾燥した後、約 2.5 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水で溶かし、250 mL 全量フラスコに移し入れ、標線まで水を加える(1)。この液一定量を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、指示薬としてブロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が緑色になるまで滴定する。次の式によって 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクターを算出する。

0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター(f_1)
$= (W_1 \times A \times 0.01/97.10) \times (V_1/V_2) \times (1000/V_3) \times (1/C_1)$

W_1: 採取したアミド硫酸の質量(g)
A: アミド硫酸の純度(%(質量分率))
V_1: 分取したアミド硫酸溶液の容量(mL)
V_2: アミド硫酸溶液の定容量(250 mL)
V_3: 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)
C_1: 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

b) 硫酸: JIS K 8951 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

c) 0.25 mol/L 硫酸(1): 硫酸約 14 mL を予め水 100 mL を入れたビーカーに加えて良くかき混ぜ、水で 1000 mL とする。

標定: 0.25 mol/L 硫酸一定量(2)を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、メチルレッド－メチレンブルー混合溶液数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色(3)になるまで滴定する。次の式(1)によって 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量

を算出する。又は、次の式(2)によって 0.25 mol/L 硫酸のファクターを算出する。

0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(B)

$= V_4/V_5$ ・・・・・ (1)

0.25 mol/L 硫酸のファクター(f_2)

$= (f_1 \times C_1 \times V_4/V_5)/(C_2 \times 2)$ ・・・・・ (2)

V_4: 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

V_5: 標定に供した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

C_1: 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

C_2: 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)

d) ほう酸溶液(40 g/L): JIS K 8863 に規定するほう酸 40 g を水に溶かして 1000 mL とする。

e) 分解促進剤(4): JIS K 8962 に規定する硫酸カリウムと JIS K 8983 に規定する硫酸銅(II)五水和物(5)を 9 対 1 の割合で混合する。

f) 水酸化ナトリウム溶液(200 g/L～500 g/L)(1): JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム 100 g～250 g を水に溶かして 500 mL とする。

g) ブロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL): JIS K 8842 に規定するブロモチモールブルー0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95)20 mL で溶かし、水で 100 mL とする。

h) メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL): JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95)100 mL に溶かす。

i) メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL): JIS K 8897 に規定するメチレンブルー0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95)100 mL に溶かす。

j) メチルレッド－メチレンブルー混合溶液: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)2 容量に対し、メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL)1 容量を加える。

k) ブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL): JIS K 8840 に規定するブロムクレゾールグリーン 0.5 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95)100 mL に溶かす。

l) メチルレッド－ブロムクレゾールグリーン混合溶液: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)に同量のブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 5 mL～10 mL

(3) 青紫色から暗青色を経て灰緑色になった時を終点とする。

(4) 錠剤が市販されている。

(5) 必要に応じて粉末にする。

備考 1. (2)**a**)の 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液又は 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いることもできる。

備考 2. (2)**c**)の 0.25 mol/L 硫酸に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.25 mol/L 硫酸を用いることもできる。

(**3**) **器具及び装置** 器具及び装置は、次のとおりとする。

a) **水蒸気蒸留装置**

b) **分解フラスコ**: ケルダールフラスコ

c) **蒸留フラスコ**: 水蒸気蒸留装置に連結できるケルダールフラスコ又は丸底フラスコ

(**4**) **試験操作**

(**4.1**) **ケルダール分解** 分解は、次のとおり行う。

a) 分析試料 0.5 g～5 g を 1 mg の桁まではかりとり、300 mL～500 mL 分解フラスコに入れる。

b) 分解促進剤 5 g～10 g を加え、更に硫酸 20 mL～40 mL を加えて振り混ぜ(6)、穏やかに加熱する。

c) 泡が生じなくなってから硫酸の白煙が発生するまで加熱する。

d) 有機物が完全に分解するまで強熱する(7)。

e) 放冷後、少量の水を加えて良く振り混ぜ、水で 250 mL～500 mL 全量フラスコに移し入れ(8)、更に振り混ぜる。

f) 冷却した後、標線まで水を加え、分解液とする。

注(**6**) 一夜放置するとよい。

(**7**) 溶液の色が変化しなくなってから、更に 2 時間以上加熱する。

(**8**) 測定で試料溶液を全量使用する場合は、全量フラスコに移し入れる操作は必要ない。

備考 3. (**4.1**)の操作で得た分解溶液は、附属書 B に示した成分にも適用できる。

備考 4. 難分解性アミノ酸を含む魚粉等の場合は、分析試料 0.5 g～1 g、分解促進剤 10 g 及び硫酸 30 mL～40 mL とする。

備考 5. 石灰窒素の場合は、(**4.1**)**b**)の操作の前に、少量の水を入れて潤す。硫酸を加えた際、発泡するので注意する。

(**4.2**) **蒸留** 蒸留は、次のとおり行う。具体的な蒸留操作は、測定に使用する水蒸気蒸留装置の操作方法による。

a) 0.25 mol/L 硫酸の一定量(9)を受器(10)にとり、メチルレッドーメチレンブルー混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。又は、ほう酸溶液(40 g/L)の一定量(9)を受器(10)にとり、メチルレッドーブロムクレゾールグリーン混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。

b) 分解液の一定量を 300 mL 蒸留フラスコにとり、水酸化ナトリウム溶液(200 g/L～500 g/L)適量(11)を加え、この蒸留フラスコを水蒸気蒸留装置に速やかに連結する。

c) 水蒸気を蒸留フラスコに送り、蒸留フラスコ内の溶液を加熱し、留出速度 5 mL/min～7 mL/min で蒸留を行う。

d) 120 mL～160 mL が留出したら蒸留を止める。

e) 受器内の溶液と接した水蒸気蒸留装置の部分を少量の水で洗い、洗液を留出液と合わせる。

注(**9**) 5 mL～20 mL

(**10**) 受器は水蒸気蒸留装置の留出液の出口を 0.25 mol/L 硫酸又はほう酸溶液(40 g/L)に浸せる 200

mL～300 mL 三角フラスコ又はビーカーを用いる。

（**11**） 溶液を強アルカリ性にするために十分な量。青色が生ずる。

（**4.3**） **測定** 測定は、次のとおり行う。

（**4.3.1**） （**4.2**）で 0.25 mol/L 硫酸を用いた場合

a） 留出液を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色(3)になるまで滴定する。

b） 次の式によって分析試料中の窒素全量（T-N）を算出する。

分析試料中の窒素全量（T-N）（%（質量分率））

$= (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (14.01/W_3) \times (100/1000)$

$= (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (1.401/W_3)$

B： 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量

V_6： （**4.2**）**a**）において受器にとった 0.25 mol/L 硫酸の容量（mL）

V_7： 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量（mL）

C_1： 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度（mol/L）

f_1： 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター

V_8： （**4.1**）**f**）における分解液の定容量（mL）

V_9： （**4.2**）**b**）において蒸留に供した分解液の分取量（mL）

W_3： 分析試料の質量（g）

（**4.3.2**） （**4.2**）でほう酸溶液（40 g/L）を用いた場合

a） 留出液を 0.25 mol/L 硫酸で溶液の色がうすい紅色(12)になるまで滴定する。

b） 次の式によって分析試料中の窒素全量（T-N）を算出する。

分析試料中の窒素全量（T-N）（%（質量分率））

$= V_{10} \times C_2 \times 2 \times f_2 \times (V_{11}/V_{12}) \times (14.01/W_2) \times (100/1000)$

$= V_{10} \times C_2 \times f_2 \times (V_{11}/V_{12}) \times (2.802/W_2)$

V_{10}： 滴定に要した 0.25 mol/L 硫酸の容量（mL）

C_2： 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度（0.25 mol/L）

f_2： 0.25 mol/L 硫酸のファクター

V_{11}： （**4.1**）**f**）における分解液の定容量（mL）

V_{12}： （**4.2**）**b**）において蒸留に供した分解液の分取量（mL）

W_2： 分析試料の質量（g）

注（**12**） 緑色からうすい紅色になった時を終点とする。

備考 6. 自動滴定装置を用いて（**2**）**a**）**標定**、（**2**）**c**）**標定**及び（**4.3**）の滴定操作を実施することができる。滴定プログラム及び終点判定パラメーターの設定並びに受器等の容器は、使用する自動滴定装置の仕様及び

操作方法による。

備考 7. (**4**)の試験操作に代えて自動窒素測定装置(ケルダール分解方式)を用いて分析試料中の窒素量を測定することができる。装置のプログラム及びパラメーターの設定並びに容器等は、使用する自動窒素測定装置の仕様及び操作方法による。ただし、予め硝酸性窒素を含まない肥料を用いて(**4**)の試験操作との比較試験を行い、窒素全量の定量値に差がないことを確認する。

備考 8. 真度の評価のため、調製試料を用いて回収試験を実施した結果、窒素全量(T-N)として 10 %(質量分率)～20 %(質量分率)及び 1 %(質量分率)～5 %(質量分率)の含有量レベルでの平均回収率はそれぞれ 98.5 %～100.6 %及び 97.1 %～99.2 %であった。

肥料認証標準物質値付けのための共同試験成績(ケルダール法の報告値に限る)について 3 段枝分かれ分散分析を用いて解析し、併行精度、中間精度及び室間再現精度を算出した結果を表 1 に示す。

なお、この試験法の定量下限は、固形肥料で 0.09 %(質量分率)及び液状肥料で 0.02 %(質量分率)程度と推定された。

表1　肥料認証標準物質の窒素全量の値付けのための共同試験成績の解析結果

肥料認証標準物質の名称	試験室数[1)]	平均値[2)] (%)[3)]	s_r[4)] (%)[3)]	RSD_r[5)] (%)	$s_{I(T)}$[6)] (%)[3)]	$RSD_{I(T)}$[7)] (%)	s_R[8)] (%)[3)]	RSD_R[9)] (%)
FAMIC-A-10	8(1)	14.68	0.07	0.5	0.07	0.5	0.13	0.9

1) 有効試験室数(外れ値を報告した試験室数)
2) 平均値 (n=有効試験室数×試験日数(2)×併行試験数(3))
3) 質量分率
4) 併行標準偏差
5) 併行相対標準偏差
6) 中間標準偏差
7) 中間相対標準偏差
8) 室間再現標準偏差
9) 室間再現相対標準偏差

参考文献

1) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.27~31, 養賢堂, 東京 (1988)

2) 飼料分析基準研究会: 飼料分析法・解説 -2009- I, p.28~33, 独立行政法人農林水産消費安全技術センター, 埼玉 (2009)

3) 久保田貴志, 押田智子, 矢内こずえ, 井上 譲, 松井精司, 松本孝春, 石黒瑛一, 安井明美: ケルダール法における魚粉中の全窒素測定条件の検討及び燃焼法との比較, 分析化学, **60**, 67~74 (2011)

4) 加藤公栄, 千田正樹, 渡部絵里菜: 窒素全量試験法の性能調査 －ケルダール法－, 肥料研究報告, **5**, 156~166 (2012)

(5) 窒素全量試験法フローシート 肥料中の窒素全量試験法のフローシートを次に示す。

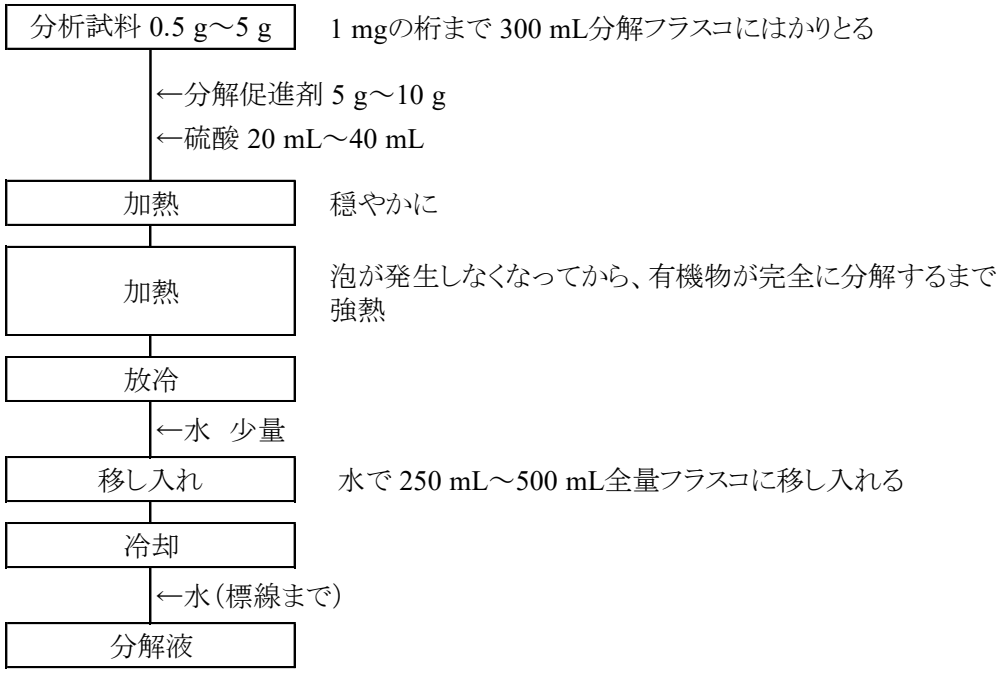


図1 肥料中の窒素全量試験法フローシート(ケルダール分解操作)

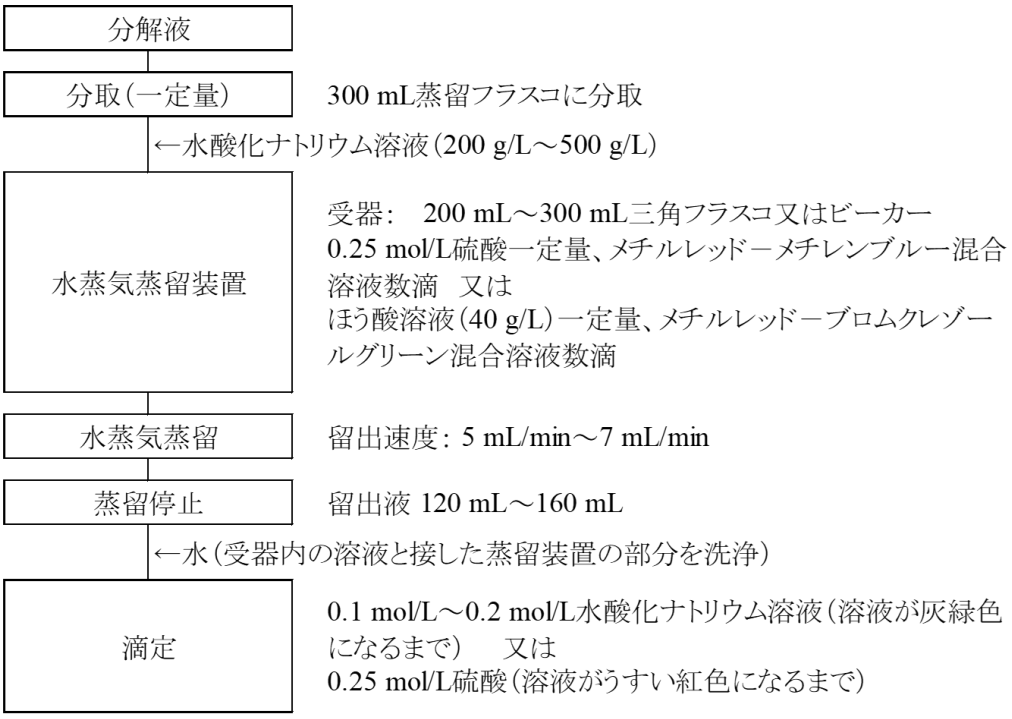


図2 肥料中の窒素全量試験法フローシート(蒸留及び測定操作)