4.2.4 水溶性りん酸

4.2.4.a バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法

(1) 概要

この試験法は亜りん酸等の硝酸による加水分解では発色しない物質を含有しない肥料に適用する。この試験法の分類は Type B であり、その記号は 4.2.4.a-2025 又は W-P.a-2 とする。

分析試料に水を加えて抽出し、硝酸(1+1)を加えて加熱し、非オルトりん酸をオルトりん酸イオンに加水分解し、バナジン(V)酸アンモニウム、モリブデン(VI)酸アンモニウム及び硝酸と反応して生ずるりんバナドモリブデン酸塩の吸光度を測定し、分析試料中の水溶性りん酸($W\text{-}P_2O_5$)を求める。なお、この試験法の性能は**備考 9** に示す。

(2) 試薬 試薬は、次による。

a) 硝酸: JIS K 8541 に規定する特級(HNO_3 60 %(質量分率))又は同等の品質の試薬。

b) アンモニア水: JIS K 8085 に規定する特級(NH_3 28 %(質量分率))又は同等の品質の試薬。

c) 発色試薬溶液(1): 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 に規定するモリブデン(VI)酸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 とする(2)。

d) フェノールフタレイン溶液(1 g/100 mL): 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 に溶かす。

e) 五酸化りん標準液(P_2O_5 10 mg/mL)(1): JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウムを 105 °C±2 °C で約 2 時間加熱し、デシケーター中で放冷した後、19.17 g をひょう量皿にはかりとる。少量の水で溶かし、1000 mL 全量フラスコに移し入れ、硝酸 2 mL～3 mL を加え、標線まで水を加える。

f) 五酸化りん標準液(P_2O_5 0.5 mg/mL)(1): 五酸化りん標準液(P_2O_5 10 mg/mL)50 mL を 1000 mL 全量フラスコにとり、硝酸 2 mL～3 mL を加え、標線まで水を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 褐色瓶に入れて保存する。

備考 1. (2)の五酸化りん標準液に換えて、国家計量標準にトレーサブルなりん標準液(P 100 μg/mL、1000 μg/mL 又は 10000 μg/mL)を用いて検量線用りん標準液を調製することもできる。この場合、検量線用りん標準液の濃度(P)又は(**4.3**)で得られた測定値(P)に換算係数(2.292)を乗じて分析試料中の水溶性りん酸($W\text{-}P_2O_5$)を算出する。

(3) 装置 装置は、次のとおりとする。

a) 抽出機器: 次の上下転倒式回転振り混ぜ機又は垂直往復振り混ぜ機。

aa) 上下転倒式回転振り混ぜ機: 250 mL～500 mL 全量フラスコを毎分 30 回転～40 回転で上下転倒して回転できるもの。

ab) 垂直往復振り混ぜ機: フラスコ用アダプターを用いて 250 mL 全量フラスコを毎分 300 往復(振幅 40 mm)で垂直往復振り混ぜできるもの。

b) ホットプレート: 表面温度 250 °C まで調節可能なもの。

c) 分光光度計: JIS K 0115 に規定する分光光度計。

(4) 試験操作

(4.1) 抽出 抽出は、次のとおり行う。

(4.1.1) 粉状分析用試料

(4.1.1.1) 上下転倒式回転振り混ぜ機を用いる場合

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

b) 水約 400 mL を加え、毎分 30 回転～40 回転で約 30 分間振り混ぜる。

c) 標線まで水を加える。

d) ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とする。

備考 2. (**4.1.1.1**)**a**)の操作で、分析試料 2.5 g を 1 mg の桁まではかりとり、250 mL 全量フラスコに入れてもよい。その場合は b)の操作で水約 200 mL を加える。

備考 3. (**4.1.1.1**)の操作で得た試料溶液は、附属書 B に示した成分にも適用できる。

(4.1.1.2) 垂直往復振り混ぜ機を用いる場合

a) 分析試料 2.5 g を 1 mg の桁まではかりとり、250 mL 全量フラスコに入れる。

b) 水約 200 mL を加え、毎分 300 往復(振幅 40 mm)で約 30 分間振り混ぜる。

c) 標線まで水を加える。

d) ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とする。

備考 4. (**4.1.1.2**)の操作で得た試料溶液は、附属書 B に示した成分にも適用できる。

(4.1.2) 液状分析用試料(簡易抽出)

a) 分析試料 1 g[(3)]を 1 mg の桁まではかりとり、100 mL 全量フラスコに入れる。

b) 水約 50 mL を加え、振り混ぜる。

c) 標線まで水を加える。

d) ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とする。

注(3) 家庭園芸用肥料などでりん酸含有量が低い場合は、分析試料の採取量を 10 g とする。

備考 5. (**4.1.2**)の操作で得た試料溶液は、附属書 B に示した成分にも適用できる。

備考 6. (**4.1.1.1**)**d**)、(**4.1.1.2**)**d**)及び(**4.1.2**)**d**)の試料溶液が着色して定量に影響がある場合は、以下の脱色操作を行う。試料溶液の一定量を 100 mL 全量フラスコにとり、塩酸(1+1)数滴を加えて酸性とし、活性炭 0.1 g 以下を加える。5 分間程度放置した後、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、ろ液を(**4.2**)**a**)の試料溶液とする。この試料溶液においても着色が認められる場合は、放置時間を 5 分間程度から 20 時間程度に延長する。なお、次の方法により、活性炭に含まれるりんが溶出して定量値に影響を与えないことを事前に確認しておく必要がある。

活性炭に含まれるりんの確認: **備考 6** の「試料溶液の一定量」を水に変えて脱色操作を実施し、(**4.2**)以下の操作を行い、吸光度を測定する。別に調製した検量線用空試験液の吸光度と比較し、同じ又はそれ以下であることを確認する。

活性炭にりんが含まれ吸光度が高くなる場合は、脱色操作を実施した試料溶液と、水に活性炭を加えて脱色操作を実施した溶液をそれぞれ同量分取して、(**4.2**)以下の操作により吸光度を測定して差し引き補正する。

(**4.2**) **発色** 発色は、次のとおり行う。

a) 試料溶液の一定量(P_2O_5として 0.5 mg～6 mg 相当量)を 100 mL 全量フラスコにとる。

b) 硝酸(1+1)4 mL を加え(4)、加熱して煮沸する(5)。

c) 冷却した後、フェノールフタレイン溶液(1 g/100 mL)1 滴～2 滴を加え、溶液の色が淡い赤紫色になるまでアンモニア水(1+1)を加えて中和する。

d) 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、適量の水を加える(6)。

e) 発色試薬溶液 20 mL を加え、更に標線まで水を加えた後、約 30 分間放置する(4)。

備考 7. **a**)の操作で使用する全量フラスコは、りん酸発色操作用フラスコとして区別し、他の用途に用いないようにする。

注(**4**) 硝酸(1+1)を加えることによって溶液が濁る場合は、**e**)の操作を行った後、遠心力約 1700×*g* で約 5 分間遠心分離(7)する。

(**5**) 非オルトりん酸を含有しない場合は、**b**)の操作を行わなくてもよい。

(**6**) 水を加えないと、発色試薬溶液を加えた際に沈殿物を生ずる場合がある。

(**7**) 回転半径 16.5 cm 及び回転数 3000 rpm で遠心力 1700×*g* 程度となる。

(**4.3**) **測定** 測定は、JIS K 0115 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用する分光光度計の操作方法による。

a) **分光光度計の測定条件** 分光光度計の測定条件は、以下を参考にして設定する。

分析波長: 420 nm

b) **検量線の作成**

1) 五酸化りん標準液(P_2O_5 0.5 mg/mL)1 mL～12 mL を 100 mL 全量フラスコに段階的にとる。

2) 適量の水を加え(6)、(**4.2**)**e**)と同様の操作を行って P_2O_5 0.5 mg/100 mL～6 mg/100 mL の検量線用五酸化りん標準液とする。

3) 別の 100 mL 全量フラスコについて、**2**)と同様の操作を行って検量線用空試験液とする。

4) 検量線用空試験液を対照として検量線用五酸化りん標準液の波長 420 nm の吸光度を測定する(8)。

5) 検量線用五酸化りん標準液の五酸化りん濃度と吸光度との検量線を作成する。

c) **試料の測定**

1) (**4.2**)**e**)の溶液について、**b**)**4**)と同様の操作を行って吸光度を測定する(8)。

2) 検量線から五酸化りん(P_2O_5)量を求め、分析試料中の水溶性りん酸(W-P_2O_5)を算出する。

注(**8**) (**4.2**)**e**)の操作で発色試薬溶液を加えた後、6 時間以内に測定する。

備考 8. (**4.2**)**a**)の操作の後、ペーテルマンくえん酸塩溶液 2 mL を加えて、**4.2.2.a** の(**4.2**)**c**)～(**4.3**)の操作を行い、別の可溶性りん酸の測定液と同時に測定することもできる。

（**4.2**）**a**）の操作の後、くえん酸溶液 17 mL を加えて、**4.2.3.a** の（**4.2**）**c**）～（**4.3**）の操作を行い、別のく溶性りん酸の測定液と同時に測定することもできる。

備考 9. 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、水溶性りん酸（W-P_2O_5）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 100.5 %～101.2 %及び 99.0 %～101.7 %であった。肥料（12 点）を用いて垂直往復振り混ぜ機による抽出の測定値（y_i：0.292 %（質量分率）～40.40 %（質量分率））及び上下転倒式回転振り混ぜ機による抽出の測定値（x_i）を比較した結果、回帰式は y=-0.041+0.999x であり、その相関係数（r）は 1.000 であった。液状肥料（12 点）を用いて簡易抽出の測定値（y_i： 1.92 %（質量分率）～12.21 %（質量分率））及び上下転倒式回転振り混ぜ機による抽出の測定値（x_i）を比較した結果、回帰式は y=0.005+1.005x であり、その相関係数（r）は 0.999 であった。

精度の評価のため、指定配合肥料、化成肥料、調製肥料（菌体りん酸肥料を含む）（2 点）、汚泥肥料及び液状複合肥料（2 点）を用いた日を変えての分析結果について、一元配置分散分析を用いて解析し、併行精度及び中間精度を算出した結果を表 1-1、1-2 及び表 1-3 に示す。試験法の妥当性確認のための共同試験の成績及び解析結果を表 2 に示す。また、肥料認証標準物質値付けのための共同試験成績について 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 3 に示す。

なお、この試験法の定量下限は、固形肥料で 0.03 %（質量分率）、菌体りん酸肥料を含む固形肥料で 0.1 %（質量分率）、及び液状肥料で 0.004 %（質量分率）程度と推定された。

表1-1　水溶性りん酸の日を変えた試験成績の解析結果（固形肥料）

試料名	日数[1] T	平均値[2] (%)[3]	併行精度 s_r[4] (%)[3]	併行精度 RSD_r[5] (%)	中間精度 $s_{I(T)}$[6] (%)[3]	中間精度 $RSD_{I(T)}$[7] (%)
指定配合肥料	7	13.77	0.03	0.2	0.06	0.5
化成肥料	7	1.19	0.01	0.5	0.01	0.5

1） 2点併行分析を実施した日数
2） 平均値（n＝日数（T）×併行数（2））
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

表1-2　水溶性りん酸の日を変えた試験成績の解析結果（菌体りん酸肥料を含む固形肥料、汚泥肥料）

試料名	日数[1] T	平均値[2] (%)[3]	併行精度 s_r[4] (%)[3]	併行精度 RSD_r[5] (%)	中間精度 $s_{I(T)}$[6] (%)[3]	中間精度 $RSD_{I(T)}$[7] (%)
調製肥料1	5	1.18	0.02	1.4	0.03	2.3
調製肥料2	5	5.05	0.02	0.5	0.17	3.3
汚泥肥料	5	0.29	0.01	3.7	0.02	7.2

脚注は表1-1参照

表1-3　水溶性りん酸の日を変えた試験成績の解析結果（液状肥料）

試料名	日数[1] T	平均値[2] (%)[3]	併行精度 s_r[4] (%)[3]	併行精度 RSD_r[5] (%)	中間精度 $s_{I(T)}$[6] (%)[3]	中間精度 $RSD_{I(T)}$[7] (%)
液状複合肥料1	7	12.19	0.02	0.2	0.05	0.4
液状複合肥料2	7	2.88	0.01	0.2	0.02	0.5

脚注は表1-1参照

表2　水溶性りん酸試験法の妥当性確認のための共同試験成績の解析結果

試料名	試験室数[1]	平均値[2] (%)[3]	s_r[4] (%)[3]	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (%)[3]	RSD_R[7] (%)
化成肥料1	11(0)	48.43	0.26	0.5	0.34	0.7
重過りん酸石灰	11(0)	36.21	0.29	0.8	0.47	1.3
化成肥料2	11(0)	12.67	0.14	1.1	0.25	2.0
化成肥料3	10(1)	2.82	0.02	0.6	0.05	1.7
化成肥料4	11(0)	0.91	0.01	1.4	0.07	7.2

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×試料数（2））
3）質量分率
4）併行標準偏差
5）併行相対標準偏差
6）室間再現標準偏差
7）室間再現相対標準偏差

表3　肥料認証標準物質の水溶性りん酸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-B-10	9(2)	7.00	0.03	0.4	0.03	0.5	0.07	1.0
FAMIC-B-14	15(1)	6.70	0.03	0.5	0.03	0.5	0.06	1.0

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.108~114, 養賢堂, 東京 (1988)

2）加藤公栄, 高橋佐貴子, 白井裕治：吸光度分析による窒素, りん酸及びほう素試験法の妥当性確認 －検量線の評価－, 肥料研究報告, **2**, 137~144 (2009)

3）須永善行, 杉村 靖, 吉田一郎, 小西範英：りん酸試験法の性能調査 －バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法－, 肥料研究報告, **5**, 167~179 (2012)

4）川口伸司：液状肥料中の水溶性成分の簡易抽出方法, 肥料研究報告, **9**, 10~20 (2016)

5）川口伸司：汎用的な機器を用いた固形肥料中の水溶性主成分の抽出方法, 肥料研究報告, **10**, 1~8 (2017)

6）平原稔夫, 阿部 進, 惠智正宏：りん酸試験法の性能調査 －共同試験成績－, 肥料研究報告, **12**, 94

~108 (2019)
7) 田村千晃, 青山恵介: く溶性りん酸及び水溶性りん酸の分析法の適用範囲確認(菌体りん酸肥料等) －単一試験室による妥当性確認－, 肥料研究報告, **18**, 10~27 (2025)

(**5**) **水溶性りん酸試験法フローシート**　肥料中の水溶性りん酸試験法のフローシートを次に示す。

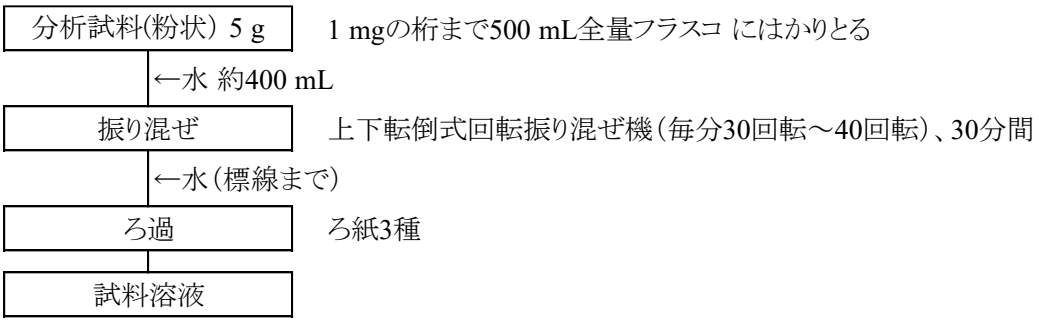


図1-1　肥料中の水溶性りん酸試験法フローシート (抽出操作(4.1.1.1))

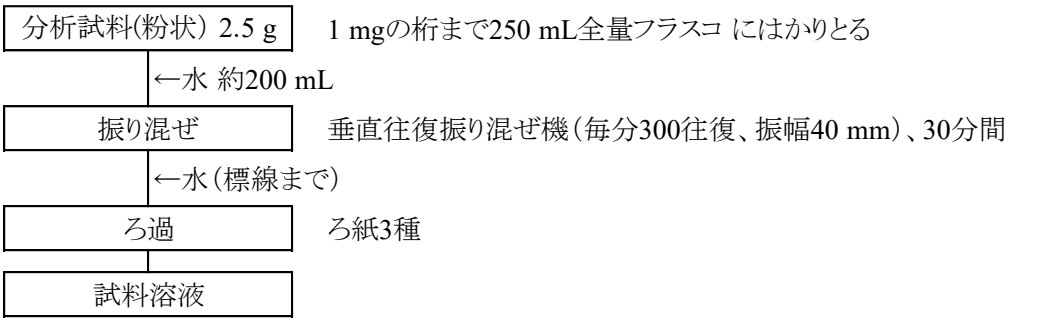


図1-2　肥料中の水溶性りん酸試験法フローシート (抽出操作(4.1.1.2))

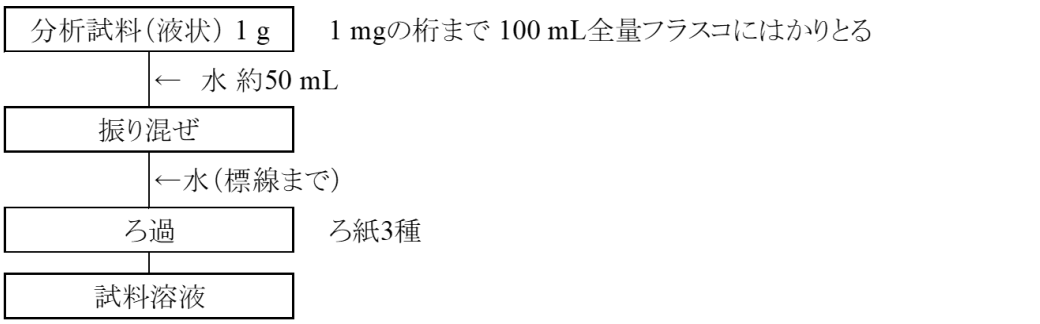


図1-3　肥料中の水溶性りん酸試験法フローシート (抽出操作(4.1.2))

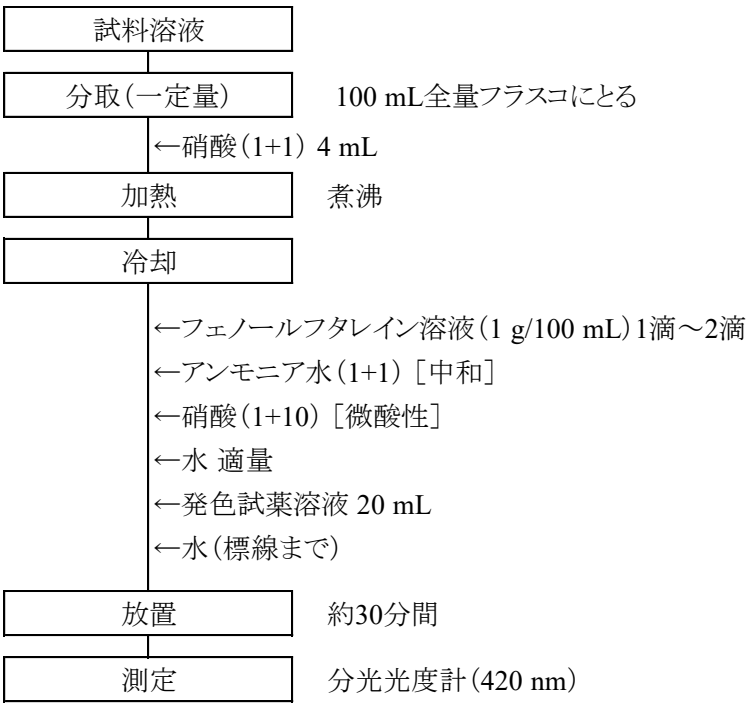


図2　肥料中の水溶性りん酸試験法フローシート（発色及び測定操作）