

1 アンモニア性窒素, 硝酸性窒素, く溶性加里及び水溶性加里の分析法の

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 —

奥西茉楠¹, 義本将之², 八木寿治³, 増井亮太³, 相良麻由³, 青山恵介⁴

キーワード 菌体りん酸肥料, 汚泥肥料, アンモニア性窒素, 硝酸性窒素, く溶性加里, 水溶性加里

1. はじめに

肥料の品質の確保等に関する法律施行規則の一部改正(令和 5 年 10 月施行)¹⁾により, 資源の有効活用を目的として, 下水汚泥, し尿汚泥や工場の排水処理汚泥を原料とし, これまで汚泥肥料として区分されていた肥料のうち, その生産工程及び品質が管理され, 一定の成分量を保証できる場合に「菌体りん酸肥料」として登録を取得し, 他の化成肥料等と混合して使用可能となった. この改正に伴い, 菌体りん酸肥料は汚泥肥料と異なり, 事業者が分析結果を基に保証成分を定めることが可能となった.

しかし, これまで汚泥肥料で管理が必要な肥料の主成分は全て全量として定義されるもののみであり, くえん酸可溶性成分や水溶性成分など, 全量以外の主成分について肥料等試験法²⁾の適用確認が十分になされていなかった.

そこで本課題では, アンモニア性窒素(以下, 「A-N」という.)の蒸留法, 硝酸性窒素(以下, 「N-N」という.)のフェノール硫酸法, く溶性加里(以下, 「C-K₂O」という.)及び水溶性加里(以下, 「W-K₂O」という.)のフレイム原子吸光法について, 菌体りん酸肥料への適用性を確認するため単一試験室による妥当性確認を実施したので報告する.

加えて, 本課題の過程で, 一部の汚泥肥料と W-K₂O を含有するその他の肥料と混合したときに, W-K₂O の分析値が設計値よりも 20 %程度低くなる事例が認められた³⁾. そこで, 分析値の低下要因について検討をおこなった. また, 肥料等試験法に収載されている ICP 発光分光分析法(以下, 「ICP-OES 法」という.)に, 内標準を新たに使用した上で C-K₂O 及び W-K₂O の分析法の妥当性確認⁴⁾を行った. これらについては別途報告する.

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

(1) 調製肥料の原料

汚泥肥料 10 点(Table 1-1), 試薬(Table 1-2)及び化成肥料(Table 1-3)を調製肥料の原料として使用した. 汚泥肥料は, 定温乾燥器を用いて 40 °C で 70 時間以上又は 65 °C で 5 時間以上乾燥した. その後, 目開き 500

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 (現)農薬検査部

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名古屋センター

⁴ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

μm のふるいを通過するまで遠心型粉碎機で粉碎した後、ポリエチレン製の袋又はポリプロピレン製の容器に密封して常温保管した。

なお、検討時点では菌体りん酸肥料の流通が少なく、入手が困難であったことから、菌体りん酸肥料の代わりに原料として使用できる資源や生産方法が同等な汚泥肥料を用いた。

Table 1-1 List of selected sludge fertilizers

Abbreviation	Analysis value(%) ^{a)}				Type of the material
	A-N	N-N	C-K ₂ O	W-K ₂ O	
A1	0.08	< LOQ ^{b)}	0.36	-	Sewerage sludge
A2	-	-	0.38	-	
B1	< LOQ	< LOQ	0.25	-	Excrement sewage sludge
B2	< LOQ	< LOQ	0.20	-	
C1	< LOQ	< LOQ	0.07	0.06	Industrial sewage sludge
D1	-	-	0.37	-	Ashes of burning of sewage sludge
E1	0.12	0.30	0.52	-	Sewerage sludge, Excrement sewage sludge, Industrial sewage sludge, Raw materials of vegetable or animal
E2	1.28	0.02	0.09	< LOQ	
E3	0.37	< LOQ	0.13	-	
E4	-	-	0.98	-	

a) Mass fraction

b) under LOQ (Minimum Limit of Quantification)

A-N: 0.07 % (Testing Methods for Fertilizers(2025) 4.1.2.a)

N-N: 0.01 % (Testing Methods for Fertilizers(2025) 4.1.3.c)

C-K₂O: 0.05 % (Testing Methods for Fertilizers(2025) 4.3.2.a)

W-K₂O: 0.04 % (Testing Methods for Fertilizers(2025) 4.3.3.a)

Table 1-2 List of selected reagents

Chemical name	Formula	Grade	Type of fertilizer or subordinate material
Ammonium sulfate	(NH ₄) ₂ SO ₄	JIS K 8960	Ammonium sulfate
Sodium nitrate	NaNO ₃	JIS K 8562	Sodium nitrate
Urea	CO(NH ₂) ₂	JIS K 8731	Urea
Calcium hydrogenphosphate dihydrate	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	Guaranteed reagent	Superphosphate
Potassium sulfate	K ₂ SO ₄	JIS K 8962	Potassium sulfate
Potassium chloride	KCl	JIS K 8121	Potassium chloride
Potassium dihydrogenphosphate	KH ₂ PO ₄	JIS K 9007	Potassium phosphate
Dipotassium hydrogenphosphate	K ₂ HPO ₄	JIS K 9017	Potassium phosphate
Calcium sulfate dihydrate	CaSO ₄ ·2H ₂ O	JIS K 8963	Composition uniformity promoting material

Table 1-3 List of selected complex fertilizers

Abbreviation	Materials
F1	Superphosphate, Ammonium phosphate, Urea, Potassium chloride
F2	Ammonium sulfate, Urea, Ammonium phosphate, Potassium chloride, Caustic calcined magnesite, Borate fertilizer, Fused microelement fertilizer
F3	Ammonia sulfate, Ammonium phosphate, Superphosphate, Potassium chloride, Humic acid
F4	Ammonium phosphate, Superphosphate, Potassium chloride

(2) 調製肥料

A-N (Table 2-1), C-K₂O (Table 2-3) 及び W-K₂O (Table 2-4) については, 設計成分量が 0.50 % (質量分率) ~10.00 % (質量分率), N-N (Table 2-2) については 0.50 % (質量分率) ~5.00 % (質量分率) となるように各配合設計に従って汚泥肥料に試薬を混合し, 4 濃度ずつ合計 16 点の試料を調製した. そのうち, 各成分の高濃度側の 3 試料については真度及び精度の評価, 最も濃度が低い試料は定量下限の推定に用いた. 設計成分量是用いた汚泥肥料の分析値 (Table 1-1), 試薬の分子式及び純度 (試薬ラベル又は分析証明書に記載) から算出した理論値を用いて濃度を設計した. ICP-OES 法とフレイム原子吸光法を用いた方法間比較には, Table 2-5 のとおり, 汚泥肥料 4 点, 化成肥料 4 点及びこれらを混合した調製肥料 12 点の計 20 点を用いた.

Table 2-1 Proportion of prepared fertilizers(A-N)

Sample	Preparation ratio(%) ^{a)}							Design concentration of A-N ^{b)} (%) ^{a)}
	Sludge fertilizer			Ammonium sulfate	Potassium sulfate	Potassium chloride	Calcium sulfate dihydrate	
	B1	B2	C1					
A-N-1			36.00	47.40	2.00	2.00	2.60	10.00
A-N-2		40.00		23.70	2.00	2.00	12.30	5.00
A-N-3	50.00			4.74	2.00	2.00	21.26	1.00
A-N-4	50.00			2.36	2.00	2.00	23.64	0.50

a) Mass fraction

b) Calculation based on A-N analysis value of B1, B2 and C1 (< LOQ) and the theoretical value (21.20 %) of (NH₄)₂SO₄ (99.5 % as purity of reagent)

Table 2-2 Proportion of prepared fertilizers(N-N)

Sample	Preparation ratio(%) ^{a)}							Design concentration of N-N ^{b)} (%) ^{a)}
	Sludge fertilizer			Sodium nitrate	Potassium sulfate	Potassium chloride	Calcium sulfate dihydrate	
	A1	B1	E3					
N-N-1	40.00			30.65	2.00	2.00	5.35	5.00
N-N-2			45.00	18.40	2.00	2.00	12.60	3.00
N-N-3		50.00		6.15	2.00	2.00	19.85	1.00
N-N-4		50.00		3.04	2.00	2.00	22.96	0.50

a) Mass fraction

b) Calculation based on N-N analysis value of A1, B1 and E3 (< LOQ) and the theoretical value (16.48 %) of NaNO₃ (99.0 % as purity of reagent)

Table 2-3 Proportion of prepared fertilizers(C-K₂O)

Sample	Preparation ratio(%) ^{a)}							Design concentration of C-K ₂ O ^{b)} (%) ^{a)}	
	Sludge fertilizer		Ammonium sulfate	Sodium nitrate	Urea	Calcium hydrogen-phosphate dihydrate	Potassium sulfate		Calcium sulfate dihydrate
	C1	E2							
C-K-1	26.00		20.00	10.00	5.00	10.00	18.50	10.50	10.00
C-K-2	35.00		20.00	10.00	5.00	10.00	9.35	10.65	5.05
C-K-3		30.00	20.00	10.00	5.00	10.00	1.80	23.20	1.00
C-K-4	21.00		20.00	10.00	5.00	10.00	0.90	33.10	0.50

a) Mass fraction

b) Calculation based on C-K₂O analysis value of C1 (0.07 %) and E2 (0.09 %) and the theoretical value (54.05 %) of K₂SO₄ (99.8 %(C-K-1,C-K-3 and C-K-4) or 99.5 %(C-K-2) as purity of reagent)

Table 2-4 Proportion of prepared fertilizers(W-K₂O)

Sample	Preparation ratio(%) ^{a)}							Design concentration of W-K ₂ O ^{b)} (%) ^{a)}	
	Sludge fertilizer		Ammonium sulfate	Sodium nitrate	Urea	Calcium hydrogen-phosphate dihydrate	Potassium sulfate		Calcium sulfate dihydrate
	C1	E2							
W-K-1	20.00		20.00	10.00	5.00	10.00	18.52	16.48	10.00
W-K-2	35.00		20.00	10.00	5.00	10.00	9.35	10.65	5.05
W-K-3		30.00	20.00	10.00	5.00	10.00	1.85	23.15	1.00
W-K-4	25.00		20.00	10.00	5.00	10.00	0.90	29.10	0.50

a) Mass fraction

b) Calculation based on W-K₂O analysis value of C1 (0.06 %) and E2 (< LOQ) and the theoretical value (54.05 %) of K₂SO₄ (99.8 %(W-K-1,W-K-3 and W-K-4) or 99.5 %(W-K-2) as purity of reagent)

Table 2-5 Proportion of prepared fertilizers for 2.5) (1)

No.	Sludge fertilizer	Preparation ratio(%) ^{a)}	Complex fertilizer	Preparation ratio(%) ^{a)}
1	D1	0	F1	100
2	D1	25	F1	75
3	D1	50	F2	50
4	D1	75	F3	25
5	D1	100	F4	0
6	A2	0	F2	100
7	A2	25	F2	75
8	A2	50	F2	50
9	A2	75	F2	25
10	A2	100	F2	0
11	E1	0	F3	100
12	E1	25	F3	75
13	E1	50	F3	50
14	E1	75	F3	25
15	E1	100	F3	0
16	E4	0	F4	100
17	E4	25	F4	75
18	E4	50	F4	50
19	E4	75	F4	25
20	E4	100	F4	0

a) Mass fraction

2) 試薬等の調製

- (1) 水: 純水精製装置(東洋製作所 RFD240NA 又は MILLIPORE Elix Advantage 5 若しくは Milli-Q IX7005(五十音順))を用いて精製した. JIS K 0557 に規定する A3 の水
- (2) 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液: 容量分析用(富士フイルム和光純薬)
- (3) 0.25 mol/L 硫酸: 容量分析用(富士フイルム和光純薬)
- (4) 塩酸: 金属分析用(関東化学)又は有害金属測定用(富士フイルム和光純薬)(五十音順)
- (5) 塩酸: 精密分析用(富士フイルム和光純薬)
- (6) 塩酸(1+5): (5)の塩酸の体積 1 と水の体積 5 とを混合したもの.
- (7) 塩酸(1+23): (5)の塩酸の体積 1 と水の体積 23 とを混合したもの.
- (8) 酸化マグネシウム: 特級(関東化学)
- (9) メチルレッド: 特級(関東化学)
- (10) メチレンブルー: 特級(関東化学)
- (11) エタノール(95): 特級(富士フイルム和光純薬)
- (12) メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL): メチルレッド 0.1 g をエタノール(95) 100 mL に溶かした.
- (13) メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL): メチレンブルー 0.1 g をエタノール(95) 100 mL に溶かした.
- (14) メチルレッドー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 容量を加えた.
- (15) 硝酸性窒素標準液($\text{NO}_3\text{-N}$ 1000 $\mu\text{g/mL}$): JCSS(富士フイルム和光純薬)
- (16) 硝酸塩標準液(N-N 0.01 mg/mL): 硝酸性窒素標準液($\text{NO}_3\text{-N}$ 1000 $\mu\text{g/mL}$)の一定量の水で希釈し, 硝酸塩標準液(N-N 0.01 mg/mL)を調製した.
- (17) 硫酸銅(II)五水和物: 特級(関東化学)
- (18) 硫酸銀(I): 特級(関東化学)
- (19) 硫酸銅ー硫酸銀溶液: 硫酸銅(II)五水和物 5 g を水 900 mL に溶かし, 硫酸銀(I) 4 g を加えて溶かした後, 1000 mL とした.
- (20) フェノール: 特級(関東化学)
- (21) 硫酸: 有害金属測定用(関東化学)
- (22) フェノール硫酸: フェノール 15 g を硫酸 100 mL に溶かし, 80 °C~100 °C の水浴中で 2 時間加熱し, 放冷した.
- (23) アンモニア水: 特級(NH_3 28 % (質量分率), 富士フイルム和光純薬)
- (24) 水酸化カルシウム: 特級(関東化学)
- (25) 塩基性炭酸マグネシウム: 鹿 1 級(関東化学)
- (26) カリウム標準液(K:1000 $\mu\text{g/mL}$): JCSS 化学分析用(関東化学)又は JCSS(富士フイルム和光純薬)(五十音順)
- (27) 検量線用カリウム標準液(K:4 $\mu\text{g/mL}$ ~40 $\mu\text{g/mL}$)(フレイム原子吸光法用): カリウム標準液(K:1000 $\mu\text{g/mL}$)を段階的に全量フラスコにとり, 調製する容量の 1/10 容量の干渉抑制剤溶液を加えた. さらに, 標線まで水を加えて, 1 mL に K として 4 μg ~40 μg を含有する標準液を 5 濃度調製した. なお, 検量線用空試験液は, 調製する容量の 1/10 容量の干渉抑制剤溶液を全量フラスコにとり, 標線まで水を加えた.
- (28) 検量線用カリウム標準液(K:1 $\mu\text{g/mL}$ ~60 $\mu\text{g/mL}$)(ICP-OES 法用): カリウム標準液(K:1000 $\mu\text{g/mL}$)を段階的に全量フラスコにとり, 標線まで塩酸(1+23)を加えて, 1 mL に K として 1 μg ~60 μg を含有する標準

液を 6 濃度調製した. なお, 検量線用空試験液は塩酸(1+23)を用いた.

(29) くえん酸一水和物: 特級(関東化学)

(30) くえん酸溶液 (20 mg/mL): くえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1000 mL とした.

(31) 炭酸カルシウム: 特級(関東化学)

(32) 干渉抑制剤溶液: 炭酸カルシウム 12.5 g を 2000 mL ビーカーにはかりとり, 少量の水を加え, 塩酸 105 mL を徐々に加え, 少時加熱した. 冷却した後, 水を加えて 1000 mL とした.

3) 装置及び器具

(1) 遠心型粉碎機: Retsch ZM-200

(2) 水蒸気蒸留装置

(3) 電動ビュレット: 京都電子工業 APB-620

(4) 電位差滴定装置: 京都電子工業 CHA-600-12 AT-610

(5) 分光光度計: 島津製作所 UV mini-1240

(6) 水浴: ヤマト科学 BM100

(7) 上下転倒式回転振り混ぜ機: 池田理化 EFN00-KT

(8) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC THM062FA 若しくは THM062FB 又は三喜製作所 RS-12(五十音順)

(9) 原子吸光分析装置: 日立ハイテクノロジーズ Z-2310(偏光ゼーマン補正法)

(10) ICP 発光分光分析装置: 島津製作所 ICPE-9820(縦横方向観測方式, マルチタイプ)

4) 分析方法

A-N, N-N, C-K₂O 及び W-K₂O の抽出及び測定は, Table 3-1 及び Table 3-2 のとおり肥料等試験法の各分析法を用いた. ICP 発光分光分析装置(以下, 「ICP-OES」という.)の測定条件は Table 4 のとおり. なお, 参考のため, 各分析法のフローシートを Scheme 1~Scheme 5 に示した. C-K₂O 及び W-K₂O は, (4.2) で得られた測定値(K)に換算係数(1.205)を乗じて分析試料中の C-K₂O 及び W-K₂O 濃度を算出した.

Table 3-1 Methods^{a)} used for the evaluation

Component	Methods	Extraction procedure	Distillation or Coloring procedure	Measurement procedure
A-N	4.1.2.a Distillation method	(4.1.1)	(4.2)	(4.3)
N-N	4.1.3.c Phenol sulfuric acid method	(4.1.1.1)	(4.2)	(4.3)
C-K ₂ O	4.3.2.a Flame atomic absorption spectrometry or flame photometry	(4.1.1)	-	(4.2)
W-K ₂ O	4.3.3.a Flame atomic absorption spectrometry or flame photometry	(4.1.2.1)	-	(4.2)

a) Testing Methods for Fertilizers (2025)

Table 3-2 Methods^{a)} used for comparison as a validated method

Component	Methods	Extraction procedure	Measurement procedure
C-K ₂ O	4.3.2.d ICP Optical Emission Spectrometry	(4.1.1)	(4.2)
W-K ₂ O	4.3.3.d ICP Optical Emission Spectrometry	(4.1.2.1)	(4.2)

a) Testing Methods for Fertilizers (2025)

Table 4 Measuring condition of ICP-OES

Wavelength ^{a)} (nm)	P 178.287 (I) ^{a)} Au 242.795 (I) ^{a)}
High frequency output (kW)	1.2
Plasma gas (L/min)	14
Auxiliary gas (L/min)	1.2
Carrier gas (L/min)	0.7
Observation direction	Axial and Radial
Observation height	Low position

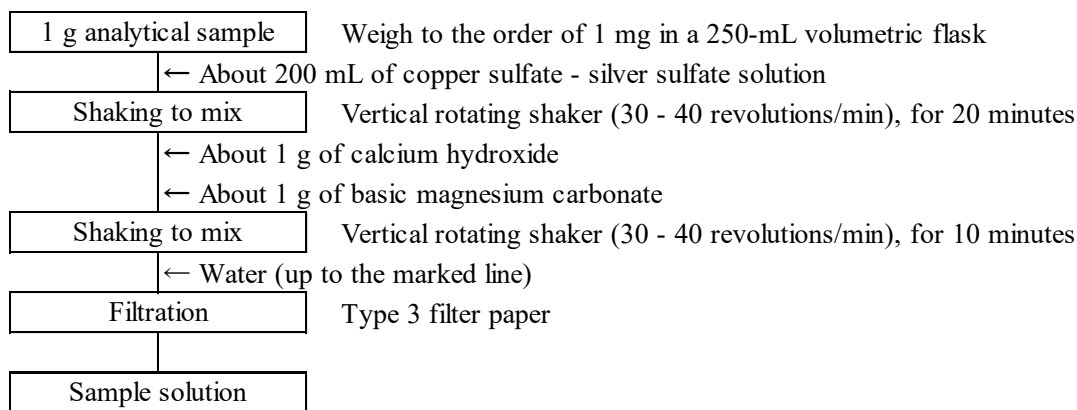
a) I: Atomic beam

2.5 g analytical sample	Weigh to the order of 1 mg and put in a 250-mL volumetric flask
	← About 150 mL of hydrochloric acid (1+23)
Shaking to mix	Vertical rotating shaker (30 - 40 revolutions/min), for 30 minutes
	← Water (up to the marked line)
Sample solution	

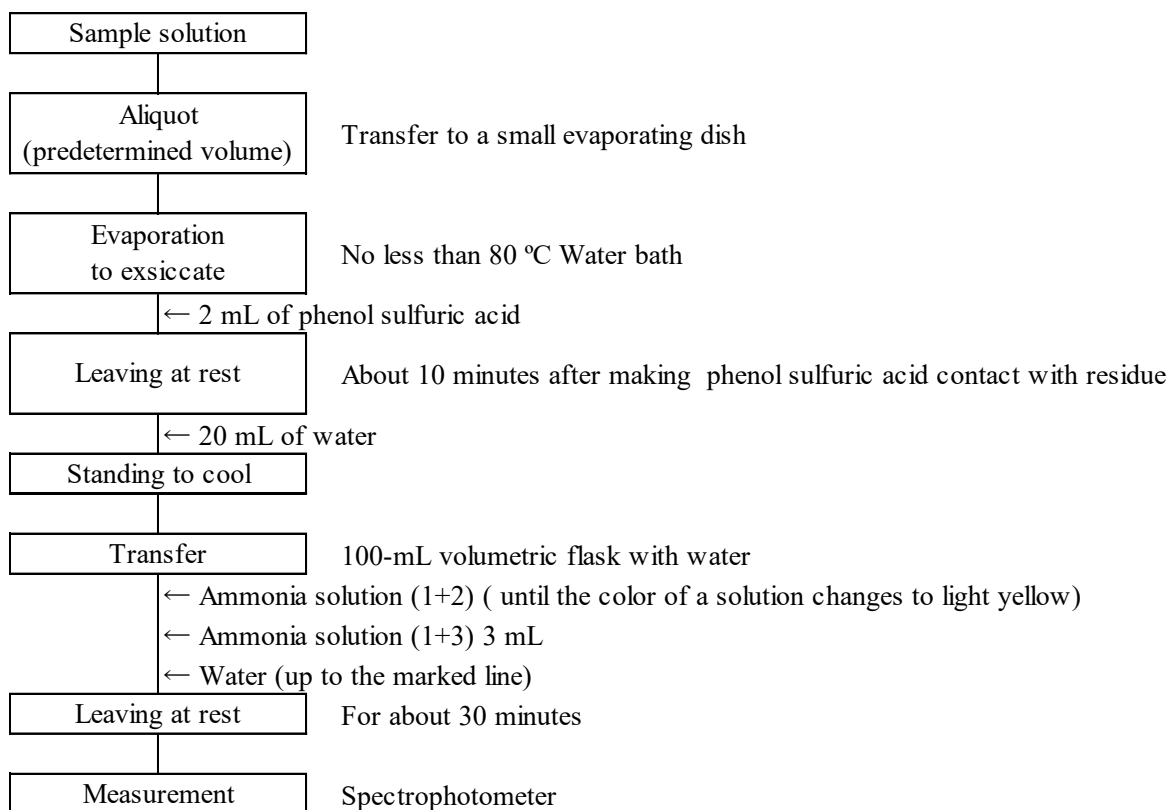
Scheme 1-1 Flow sheet for ammoniacal nitrogen in fertilizers by 4.1.2.a
(Extraction procedure (4.1.1))

Sample solution	
Aliquot	Equivalents of 20 mg - 100 mg as N, 300-mL distillation flask
	← No less than 5 g of magnesium oxide
Steam distillation apparatus	Receiver: 200-mL - 300-mL Erlenmeyer flask or beaker A predetermined amount of 0.25-mol/L sulfuric acid and a few drops of methyl red-methylene blue mixture solution
Steam distillation	Distillation rate: 5 mL/min~7 mL/min
Stop distilling	120 mL - 160 mL distillate
	← Water (wash the part of the distillation apparatus that came in contact with the solution in the receiver)
Titration	0.1-mol/L - 0.2-mol/L sodium hydroxide solution (until the solution becomes gray-green)

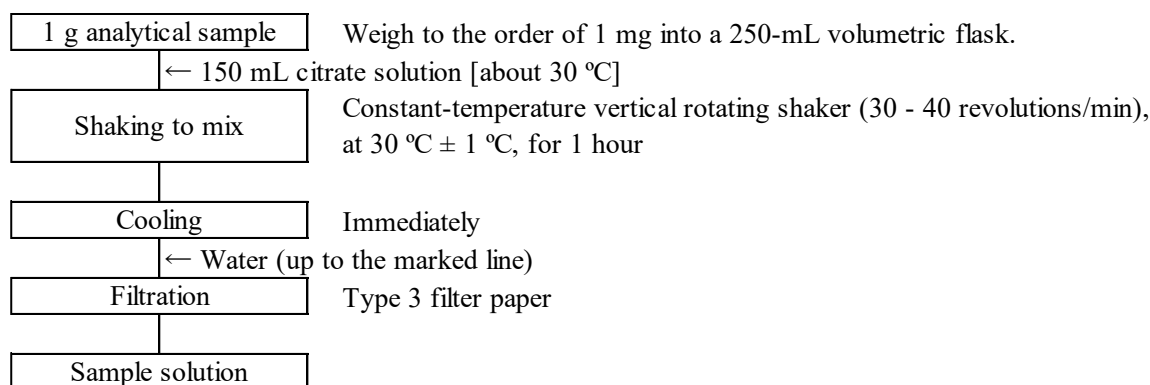
Scheme 1-2 Flow sheet for ammoniacal nitrogen in fertilizers by 4.1.2.a
(Distillation and measurement procedure (4.2,4.3))



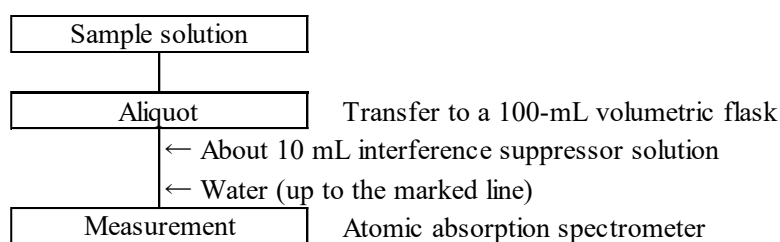
Scheme 2-1 Flow sheet for nitrate nitrogen in fertilizers by 4.1.3.c
 (Extraction procedure (4.1.1.1))



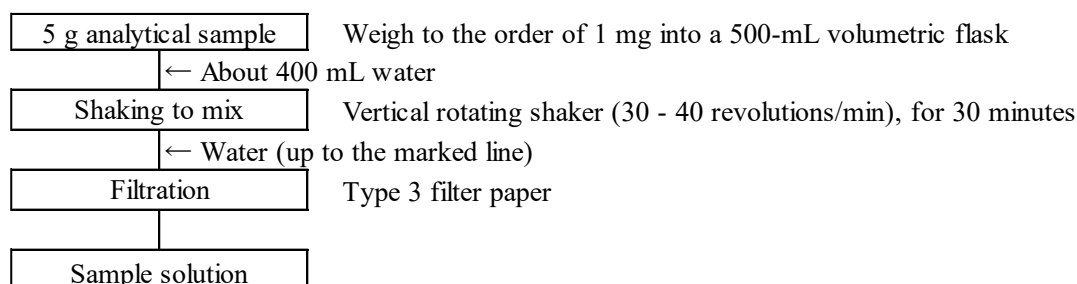
Scheme 2-2 Flow sheet for nitrate nitrogen in fertilizers by 4.1.3.c
 (Coloring and measurement procedure (4.2,4.3))



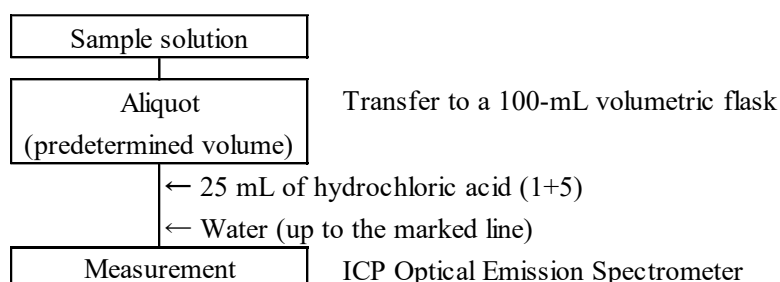
Scheme 3-1 Flow sheet for citric acid-soluble potassium in fertilizers by 4.3.2.a and 4.3.2.d
(Extract procedure (4.1.1))



Scheme 3-2 Flow sheet for citric acid-soluble potassium and water-soluble potassium in fertilizers
by 4.3.2.a and 4.3.3.a (Measurement procedure (4.2))



Scheme 4 Flow sheet for water-soluble potassium in fertilizers by 4.3.3.a and 4.3.3.d
(Extraction procedure (4.1.2.1))



Scheme 5 Flow sheet for citric acid-soluble potassium and water-soluble potassium in fertilizers
by 4.3.2.d and 4.3.3.d (Measurement procedure(4.2))

5) 検討方法

(1) 真度の評価 (妥当性確認された方法による分析値との比較)

C-K₂O 及び W-K₂O について, 肥料等試験法附属書 A⁵⁾ (3.4.2) の手順に従い真度を評価するため, 2. 1)(2) Table 2-5 に示した調製肥料等 20 点について, Table 3-1 に示したフレーム原子吸光法及び Table 3-2 に示した既に妥当性が確認されている ICP-OES 法により分析を行い, 2 方法による分析値の相関図を作成した. また, 回帰直線の傾き(b), 切片(a)及び相関係数(r)を算出し, 更に信頼区間を求めた.

(2) 真度の評価 (回収試験)

肥料等試験法附属書 A (3.4.3) の手順に従い真度を評価するため, 2. 1)(2) に示した調製肥料を用いて Table 3-1 に示した分析法により, 各試料 3 点併行で分析した.

(3) 精度の評価

肥料等試験法附属書 A (3.5.2) の手順に従い併行精度及び中間精度を評価するため, 2. 1)(2) に示した調製肥料を用いて Table 3-1 に示した分析法により, 各試料 2 点併行で日を変えて 5 回分析を行った.

(4) 定量下限等の推定

肥料等試験法附属書 A (3.6.1) 及び (3.7.1) の手順に従い定量下限及び検出下限の推定を行うため, 定量下限付近の濃度として 2. 1)(2) に示した調製肥料を用いて Table 3-1 に示した分析法により, 各試料 7 点併行で分析した.

3. 結果及び考察

1) 真度の評価(妥当性確認された方法による分析値との比較)

2. 5)(1) に従い, 調製肥料等 20 点を用いて, 妥当性が確認されている ICP-OES 法とフレーム原子吸光法による C-K₂O 及び W-K₂O の分析値の相関図及び回帰直線を Figure 1 に示した. C-K₂O 及び W-K₂O のいずれにおいても ICP-OES 法とフレーム原子吸光法との分析値に強い正の相関が認められた. なお, 回帰直線の傾き(b)及び切片(a)の 95 %信頼区間と相関係数(r)を Table 5 に示した. 肥料等試験法附属書 A では回帰直線の傾きの 95 %信頼区間に 1 が含まれ, 切片の 95 %信頼区間に 0 が含まれ, 相関係数は 0.99 以上であることを推奨している. C-K₂O において, 回帰直線の傾きの 95 %信頼区間に 1 が含まれていないが, その他の条件は満たしていた.

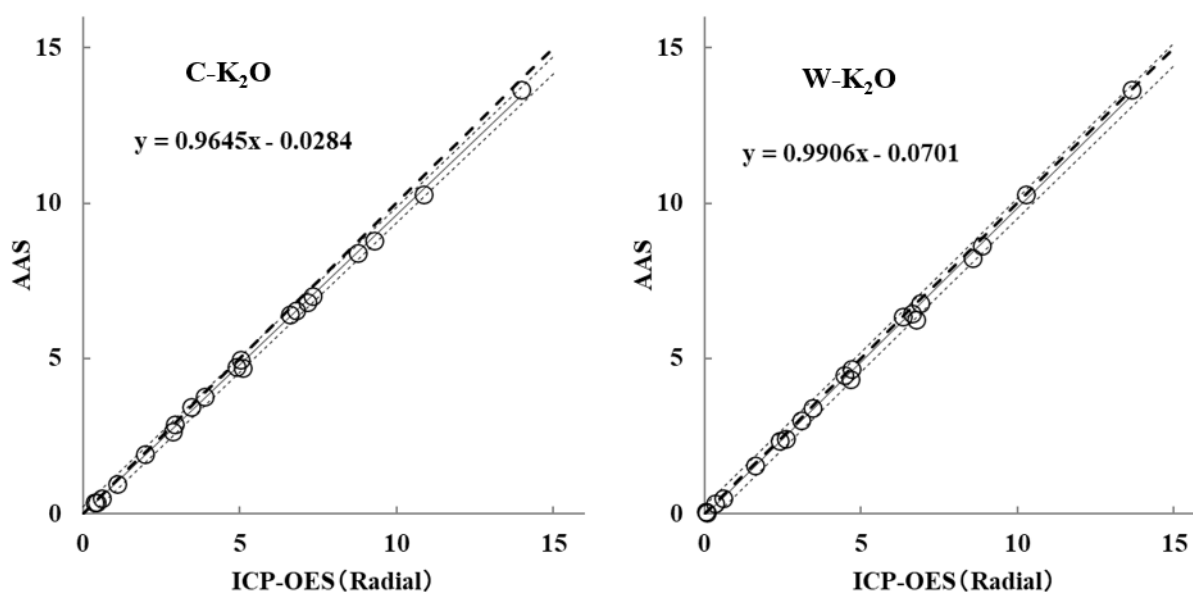


Figure 1 Comparison of analytical values between ICP-OES and AAS (% (mass fraction))

Thin line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Dashed line: $y=x$

Table 5 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line of Figure 1

Component	95 % confidence interval				Correlation coefficient(r)
	Inclination(b)		Intercept(a)		
C-K ₂ O	0.950	- 0.979	-0.117	- 0.060	1.000
W-K ₂ O	0.972	- 1.009	-0.182	- 0.042	0.999

2) 真度の評価(回収試験)

各成分につき濃度の異なる 3 つの試料を 3 点併行で分析した平均値を求め、試料の成分設計値に対する割合を求めて真度を評価した結果を Table 6 に示した。その結果、全ての試料で肥料等試験法附属書 A に示される各濃度レベルにおける真度の目標を満たした。

なお、一部の汚泥肥料で W-K₂O を含有する肥料と混合したときに W-K₂O の分析値が設計値よりも低くなる事例が認められたが、調査³⁾の結果、混合した肥料中の加里が試料の固体部分に何らの作用により残留しており、この事例は試料由来の要因と推察された。

Table 6 Result of spike-recovery test

Component	Sample	Design concentration of component (%) ^{a)}	Analysis value (%) ^{a)}	Mean of analysis value (%) ^{a)}	Recovery rate ^{b)} (%)	Recovery rate as target of the trueness ^{c)} (%)
A-N	A-N-1	10.00	9.82	9.87	98.7	97~103
			9.83			
			9.95			
	A-N-2	5.00	4.97	4.97	99.3	96~104
			4.95			
			4.98			
	A-N-3	1.00	1.00	1.00	99.6	96~104
			1.01			
			0.99			
N-N	N-N-1	5.00	5.15	5.09	101.9	96~104
			5.08			
			5.05			
	N-N-2	3.00	3.08	3.08	102.8	96~104
			3.08			
			3.09			
	N-N-3	1.00	1.01	1.00	100.1	96~104
			0.99			
			1.01			
C-K ₂ O	C-K-1	10.00	10.03	10.14	101.4	97~103
			10.26			
			10.12			
	C-K-2	5.05	5.05	5.08	100.5	96~104
			5.09			
			5.09			
	C-K-3	1.00	1.02	1.02	101.6	96~104
			1.01			
			1.01			
W-K ₂ O	W-K-1	10.00	10.16	10.27	102.7	97~103
			10.22			
			10.43			
	W-K-2	5.05	4.96	4.95	98.1	96~104
			4.95			
			4.94			
	W-K-3	1.00	0.96	0.96	96.4	96~104
			0.94			
			1.00			

a) Mass fraction

b) (Mean of analysis value) / (Design concentration of component) ×100

c) Shown in Testing Methods for Fertilizers (2025) Annex A

3) 併行精度及び中間精度の評価

異なる 2 濃度の試料を 2 点併行で日を変えて 5 回分析を行った結果を Table 7 に示した. また, 得られた結果を基に, 一元配置分散分析を行った結果を Table 8 に示した. いずれの成分及び試料においても, 併行相対標準偏差及び中間相対標準偏差は, 肥料等試験法附属書 A に示される精度の目安の許容範囲内であった.

Table 7 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation
(% (Mass fraction))

Component	Sample	Test day				
		1	2	3	4	5
A-N	A-N-2	4.97	4.89	4.94	4.81	4.95
		4.95	4.94	4.88	4.84	4.95
	A-N-3	1.01	1.01	1.01	1.02	1.00
		1.00	0.99	0.99	1.03	0.99
N-N	N-N-1	5.15	5.16	4.92	5.03	5.04
		5.08	5.18	4.97	5.00	5.02
	N-N-3	1.01	1.06	1.02	1.02	1.02
		0.99	1.05	1.03	1.02	1.03
C-K ₂ O	C-K-2	5.03	5.20	5.20	5.13	5.05
		5.22	5.19	5.40	5.10	5.09
	C-K-3	1.05	1.01	1.05	1.05	1.00
		1.03	1.00	1.05	1.06	0.98
W-K ₂ O	W-K-2	5.23	5.27	5.16	5.11	5.03
		5.15	5.12	5.12	5.12	5.13
	W-K-3	1.05	1.01	1.00	1.01	0.96
		1.05	1.00	0.97	1.03	1.00

Table 8 Statistical analysis of repetition of the test results for estimating precision

Component	Sample	Mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability precision			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)} (%)
A-N	A-N-2	4.91	0.028	0.6	2	0.057	1.2	3.5
	A-N-3	1.00	0.010	1.0	2	0.015	1.5	3.5
N-N	N-N-1	5.06	0.030	0.6	2	0.091	1.8	3.5
	N-N-3	1.03	0.0085	0.8	2	0.021	2.1	3.5
C-K ₂ O	C-K-2	5.16	0.090	1.7	2	0.11	2.1	3.5
	C-K-3	1.03	0.011	1.1	2	0.031	3.0	3.5
W-K ₂ O	W-K-2	5.14	0.062	1.2	2	0.065	1.3	3.5
	W-K-3	1.01	0.016	1.6	2	0.029	2.9	3.5

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

b) Mass Fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability precision(repeatability relative standard deviation)
 shown in testing Method for Fertilizers 2025 Annex A

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate precision(intermediate relative standard deviation)
 shown in testing Method for Fertilizers 2025 Annex A

4) 定量下限等の推定

A-N, N-N, C-K₂O 及び W-K₂O の各成分が 0.50 % (質量分率) となるよう混合した調製肥料を 7 点併行で分析し, 得られた併行相対標準偏差を用いて定量下限及び検出下限を推定した結果を Table 9 に示した. この結果, 菌体りん酸肥料を配合した肥料中の A-N の蒸留法の定量下限は 0.08 % (質量分率) 程度, 検出下限は 0.03 % (質量分率) 程度, N-N のフェノール硫酸法の定量下限は 0.07 % (質量分率) 程度, 検出下限は 0.03 % (質量分率) 程度, C-K₂O のフレイム原子吸光法の定量下限は 0.09 % (質量分率) 程度, 検出下限は 0.04 % (質量分率) 程度, W-K₂O のフレイム原子吸光法の定量下限は 0.08 % (質量分率) 程度, 検出下限は 0.03 % (質量分率) 程度と推定された. 菌体りん酸肥料を使用した肥料の多くは, 公定規格⁶⁾主成分別表第一で含有すべき主成分の最小量を示しており, いずれの成分も最小量は 1.0 % (質量分率) である. 肥料等試験法附属書 A において, 主成分の定量下限は含有すべき主成分の最小量の 1/5 以下であることを推奨しており, 推定された定量下限は各成分とも推奨値の 0.2 % (質量分率) 以下を満たしていた.

Table 9 Estimation of LOQ and LOD values

(% (Mass fraction))					
Component	Sample	Mean ^{a)}	Standard deviation	LOQ ^{b)}	LOD ^{c)}
A-N	A-N-4	0.51	0.0075	0.08	0.03
N-N	N-N-4	0.50	0.0064	0.07	0.03
C-K ₂ O	C-K-4	0.52	0.0084	0.09	0.04
W-K ₂ O	W-K-4	0.51	0.0075	0.08	0.03

a) Mean value ($n = 7$)b) Estimated minimum limit of quantification(Standard deviation $\times 10$)c) Estimated minimum limit of detection(Standard deviation $\times 2 \times t(n - 1, 0.05)$)

4. まとめ

分析法の適用範囲確認のため、菌体りん酸肥料を想定した汚泥肥料と試薬又は化成肥料を混合した調製肥料を用いて、A-N の蒸留法、N-N のフェノール硫酸法、C-K₂O 及び W-K₂O のフレイム原子吸光法における単一試験室の妥当性確認を実施したところ、次の結果を得た。

1) 真度評価のため、C-K₂O 及び W-K₂O の ICP-OES 法とフレイム原子吸光法の分析値の比較を行った。調製肥料等 20 点について、それぞれの分析法で得られた分析値の相関図及び回帰直線を作成したところ、強い相関が認められ、肥料等試験法附属書 A に示された真度の評価の推奨基準を概ね満たした。

2) 真度評価のため、異なる 3 濃度の調製肥料を 3 点併行分析した分析値の平均を求め、試料の成分設計値に対する割合を求めて評価したところ、いずれの成分においても肥料等試験法附属書 A に示される真度の目標を満たしていた。

3) 併行精度及び中間精度の評価のため、異なる 2 濃度の調製肥料を 2 点併行で日を変えて 5 回分析し評価したところ、いずれの成分においても肥料等試験法附属書 A に示される精度の目安の許容範囲内であった。

4) 定量下限及び検出下限の推定のため、含有成分量が 0.50 % (質量分率) となるように調製した調製肥料を用いて 7 点併行で分析したところ、菌体りん酸肥料を使用した肥料における A-N の蒸留法の定量下限は 0.08 % (質量分率) 程度、検出下限は 0.03 % (質量分率) 程度、N-N のフェノール硫酸法の定量下限は 0.07 % (質量分率) 程度、検出下限は 0.03 % (質量分率) 程度、C-K₂O のフレイム原子吸光法の定量下限は 0.09 % (質量分率) 程度、検出下限は 0.04 % (質量分率) 程度、W-K₂O のフレイム原子吸光法の定量下限は 0.08 % (質量分率) 程度、検出下限は 0.03 % (質量分率) 程度と推定された。

以上の結果から、A-N の蒸留法、N-N のフェノール硫酸法及び C-K₂O 並びに W-K₂O 分析法のフレイム原子吸光法は菌体りん酸肥料を使用した肥料へ適用可能であることが確認された。

文 献

- 1) 農林水産省令:肥料の品質の確保等に関する法律施行規則の一部を改正する省令, 令和 5 年 9 月 1 日, 農林水産省令第 43 号
- 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 (2025)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho/shikhenho_2025.pdf>

- 3) 奥西茉楠, 義本将之, 青山恵介: 汚泥肥料中の水溶性加里の回収率低下に関する要因調査ー事例報告ー, 肥料研究報告, **19**, 114~122 (2026)
- 4) 青山恵介: ICP-OES を用いた肥料中のく溶性加里及び水溶性加里の分析法の改良, 肥料研究報告, **19**, 105~113 (2026)
- 5) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2025) 附属書 A
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho/shikenho_2025_fuzokusho_A.pdf>
- 6) 農林水産省告示: 肥料の品質の確保等に関する法律に基づき普通肥料の公定規格を定める件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正令和 7 年 9 月 27 日, 農林水産省告示第 1299 号

**Performance Evaluation of Analytical Methods for Ammoniacal Nitrogen, Nitrate Nitrogen,
Citric Acid-soluble Potassium, Water-soluble Potassium Fertilizers
Such as Microbe Phosphate Fertilizers
- Single Laboratory Validation -**

OKUNISHI Manan¹, YOSHIMOTO Masayuki², YAGI Toshiharu³, MASUI Ryota³, SAGARA Mayu³ and
AOYAMA Keisuke⁴

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Sapporo Regional Center,
(Now) Agricultural Chemicals Inspection Center

² FAMIC, Sapporo Regional Center

³ FAMIC, Nagoya Regional Center

⁴ FAMIC, Kobe Regional Center

To verify whether the analytical methods for Ammoniacal nitrogen (A-N), Nitrate nitrogen (N-N), Citric acid-soluble potassium (C-K₂O), and Water-soluble potassium (W-K₂O) listed in the "Testing Methods for Fertilizers" are applicable to microbe phosphate fertilizers, we conducted a single-laboratory validation study using sludge fertilizer, which is similar to microbe phosphate fertilizer in terms of raw materials and production method.

To evaluate the trueness for C-K₂O and W-K₂O, we conduct comparison of measurement values by ICP-OES (validated method in Testing Methods for Fertilizers) and Flame atomic absorption spectrometry with 20 samples, it exhibited a strong correlation. We also prepared fertilizers at three concentration levels for each component and compared the designed component content with the average of analytical values obtained from three replicate analyses. The resulting ratios were 98.7 % - 99.6 % (A-N), 100.1 % - 102.8 % (N-N), 100.5 % - 101.6 % (C-K₂O), 96.4 % - 102.7 % (W-K₂O).

As a result of 5 tests on different days, repeatability as repeatability relative standard deviation (*RSD_r*) were 0.6 %-1.0 % (A-N), 0.6 %-0.8 % (N-N), 1.1 %-1.7 % (C-K₂O) and 1.2 %-1.6 % (W-K₂O), intermediate precision as intermediate relative standard deviation (*RSD_{I(T)}*) were 1.2 %-1.5 % (A-N), 1.8 %-2.1 % (N-N), 2.1 %-3.0 % (C-K₂O) and 1.3 %-2.9 % (W-K₂O).

On the basis of 7 replicate measurements of prepared fertilizers including 0.5 % of the target components, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.08 % (A-N), 0.07 % (N-N), 0.09 % (C-K₂O) and 0.08 % (W-K₂O) as a mass fraction.

These results fell within the standards in Annex A (The procedure to validate characteristics of testing methods) of Testing Methods for Fertilizers. Therefore, these analytical methods are applicable to the determination of fertilizers containing microbe phosphate fertilizers.

Key words microbe phosphate fertilizers, sludge fertilizers, ammoniacal nitrogen, nitrate nitrogen,
citric acid-soluble potassium, water-soluble potassium

(Research Report of Fertilizer, 19, 1-18, 2026)