

3-1 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—

廣井利明^{1,(2)}, 齊木雅一¹, 加藤公栄¹

キーワード ホスホン酸, 亜りん酸, 水溶性りん酸, 液状複合肥料, 分光光度法

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、根や葉からオルトリン酸よりもすばやく吸収され、亜りん酸及び亜りん酸塩入りの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入り肥料に比べて着果や収量が増加したことなどが報告されており、亜りん酸を用いた葉面散布用の肥料が日本各地で流通するようになってきている¹⁾。

肥料分析法(1992年)²⁾には肥料中の水溶性りん酸測定の公定法として、水溶性成分を抽出(4.2.1.C.b)した後、バナドモリブデン酸アンモニウム法(4.2.3.E.a)により発色し、吸光度を測定する方法が記載されている。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硝酸(1+1)を加えて煮沸する方法がとられているが、亜りん酸又は亜りん酸塩入り肥料の場合では充分酸化されず、定量値が低くなる傾向がある。

水溶液中の亜りん酸イオンは強い還元剤であることから³⁾、酸化方法を変更して比較検討を行ったところ「王水で煮沸及び濃縮する方法(以下、王水酸化法)」により、亜りん酸がオルトリン酸に酸化され、良好な結果が得られた。そこで、この方法について妥当性の確認を実施したのでその概要を報告する。

2. 材料および方法

1) 材料

亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした市販の液状複合肥料14点を収集した。試験に用いるまで密封容器で室温暗所に保存した。

亜りん酸、尿素、水酸化カリウム、ほう酸(以上、特級試薬を使用)及び水を原料として用い、亜りん酸の含有量を P_2O_5 としてそれぞれ、0.2, 4, 10, 20, 30, 40及び50%となるように作成した調製試料7点をそれぞれ密封容器に入れ室温暗所に保存した。なお、この調製試料はNとして約2.9~5.4%, K_2O として約2.9~4.3%, B_2O_3 として約0.3%含有する。

2) 装置および器具

- (1) 分光光度計 : 島津製作所製 UV-1200
- (2) 上下転倒式回転振り混ぜ機 : 池田理化製

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

² (現) 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) ホットプレート : アズワン製 EC-1200N

3) 試薬

(1) 発色試薬溶液: 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、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 1,000 mL とした。

(2) フェノールフタレイン溶液: フェノールフタレイン 1 g をエタノール(95) 100 mL に溶かした。

(3) リン酸標準液: リン酸二水素カリウムを $105 \pm 2^\circ\text{C}$ 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 1,000 mL に移し入れ、硝酸 2~3 mL を加え、水を標線まで加えてリン酸標準液 (10 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) を調製した。リン酸標準液 (10 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) 50 mL を全量フラスコ 1,000 mL にとり、硝酸 2~3 mL を加え、水を標線まで加えてリン酸標準液 (0.5 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) を調製した。

(4) 塩酸、硝酸、硫酸及びアンモニア水は特級試薬を用いた。

4) 定量方法 (図 1 参照)

(1) バナドモリブデン酸アンモニウム法水溶性りん酸分析法(肥料分析法 4.2.3) (以下、「公定法」という) 分析試料 5 g を全量フラスコ 500 mL に正確にとり、水約 400 mL を加え 1 分間 30~40 回転の回転振り混ぜ機で 30 分間振り混ぜたのち、標線まで水を加えて直ちにろ紙 3 種でろ過して試料溶液とした。

試料溶液の一定量 (P_2O_5 として 0.5~6 mg) を全量フラスコ 100 mL に正確にとり、硝酸 (1+1) 4 mL を加えて煮沸し、フェノールフタレイン溶液を指示薬としてアンモニア水 (1+1) で中和し、硝酸 (1+2) を加えて微酸性とし、適量の水で希釈して発色試薬溶液 20 mL を加え、標線まで水を加えて振り混ぜ、約 30 分間放置後、測定波長 420 nm の吸光度を測定した。

同時に、りん酸標準液 (0.5 mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{mL}$) 1~12 mL を別の全量フラスコ 100 mL に段階的にとり、以下「適量の水で希釈して～」と同様に操作して検量線を作成した。

(2) バナドモリブデン酸アンモニウム法りん酸全量分析法(肥料分析法 4.2.3 で硫酸分解液を使用する方法)による水溶性りん酸分析法(以下、「硫酸分解法」という)

(1) で調製した試料溶液 40~70 mL を分解フラスコに正確にとり、分解促進剤(硫酸銅 1 部と硫酸カリウム 9 部とを混合したもの約 10 g) を加え、次に硫酸 30 mL を加えよく振り混ぜて分解台に移し、硫酸の白煙が発生するまで加熱し、溶液の色が変化しなくなってから、更に 2 時間加熱したのち放冷した。この試料液を 250 mL の全量フラスコに水で移し込み、標線まで水を加えて直ちに乾燥ろ紙でろ過して試料溶液とした。

試料溶液の一定量 (P_2O_5 として 0.5~6 mg) を全量フラスコ 100 mL に正確にとり、フェノールフタレイン溶液を指示薬としてアンモニア水 (1+1) で中和し、硝酸 (1+2) を加えて微酸性とし、適量の水で希釈して発色試薬溶液 20 mL を加え、標線まで水を加えて振り混ぜ、約 30 分間放置後、測定波長 420 nm の吸光度を測定した。

同時に、りん酸標準液について(1)と同様に操作して検量線を作成した。

(3) 王水酸化法

(1) で調製した試料溶液の一定量 (P_2O_5 として 0.5~6 mg) をトールビーカー 100~200 mL に正確にとり、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加え、時計皿で覆い、200~250°C のホットプレート上で加熱し、液量が 1~3 mL になるまで濃縮した。放冷後、水で全量フラスコ 100 mL に移し込み、フェノールフタレイン溶液を指示

薬としてアンモニア水(1+1)で中和し、硝酸(1+2)を加えて微酸性とし、発色試薬溶液 20mL を加え、標線まで水を加えて振り混ぜ、約 30 分間放置後、測定波長 420 nm の吸光度を測定した。

同時に、りん酸標準液について(1)と同様に操作して検量線を作成した。

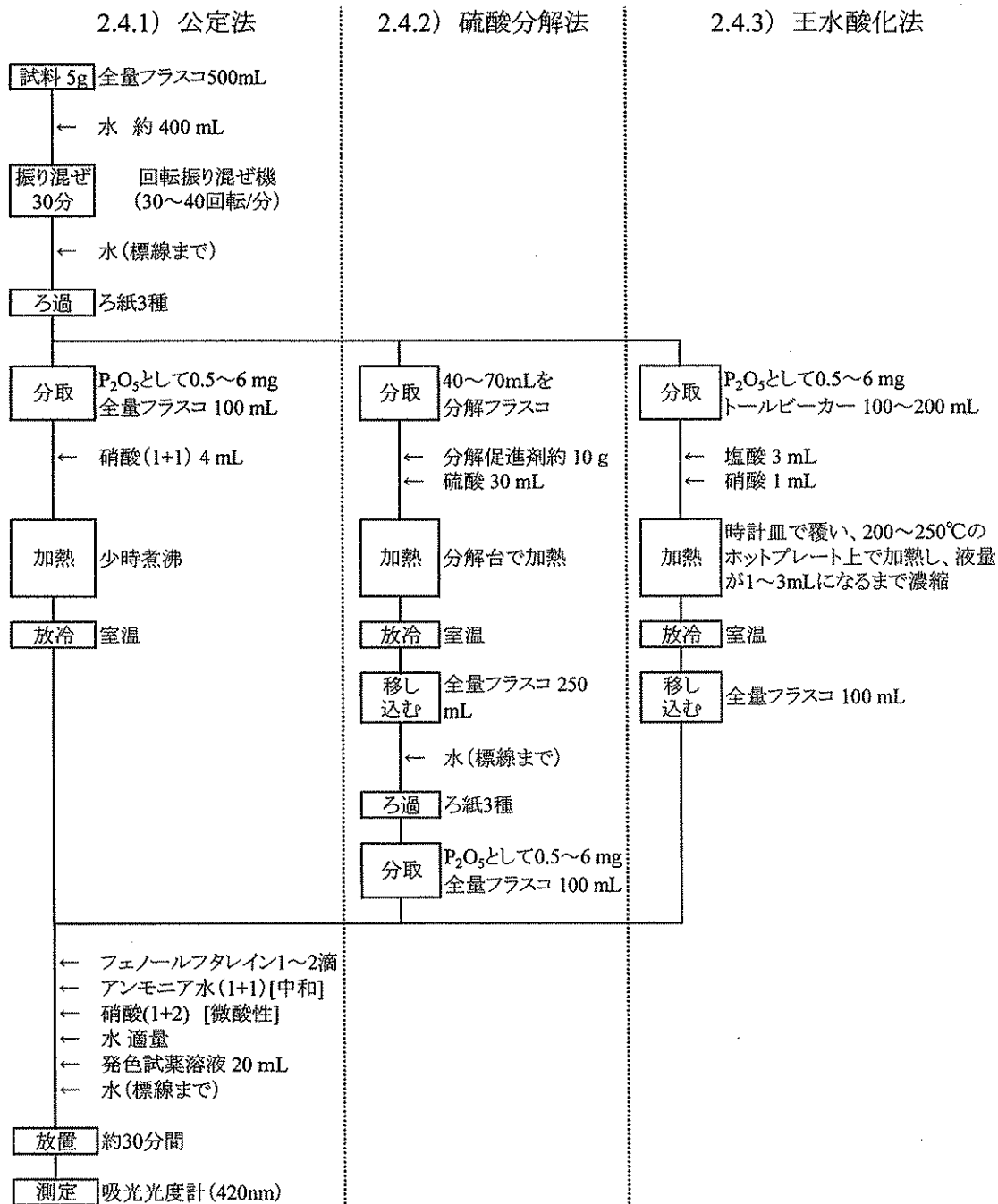


図 1 公定法、硫酸分解法及び王水酸化法の定量方法

2. 結果および考察

1) 酸化方法の比較

亜りん酸をオルトリン酸に酸化させるため、公定法の「硝酸(1+1)4 mLで煮沸する方法」を、酸化力の強い酸を用いる方法に変えることによって定量が可能かどうかについて、以下のとおり検討した。

市販の液状複合肥料 3 点及び亜りん酸含有量を P_2O_5 として 4 及び 0.2% に調製した試料を用いて、現行分析法による操作のうち、試料液を 100 mL の全量フラスコを使用し硝酸 (1+1) 4 mL で煮沸するところを、100~200 mL のトルビーカーを使用し硝酸、王水又は硫酸-硝酸 (1+1) を加え、それぞれ煮沸濃縮して調製した試料溶液により定量値を比較した。また、既存の分析方法として、肥料分析法のりん酸全量の定量に採用されており亜りん酸の定量も可能と考えられる硫酸分解法 (上記 2.4.2)) による水溶性りん酸定量値についても比較した。

その結果、表 1 のとおり、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加えて煮沸濃縮する方法が、0.2% の低濃度の亜りん酸も定量可能であり、加える酸が最も少量な方法となった。この方法により以下の検討を行うこととした。

表 1 各種の酸化方法による定量結果

試料 番号	WP 設計 成分量 (%)	酸化方法					
		硝酸(1+1) 4mL 5分間煮沸 (公定法)	硝酸10mL 煮沸濃縮	塩酸30mL+ 硝酸10mL 煮沸濃縮	塩酸3mL+ 硝酸1mL 煮沸濃縮	硫酸1mL+ 硝酸1mL 煮沸濃縮	硫酸30mL
				(王水酸化法)		(硫酸分解法)	
1	38.32	0.09 ^{a)} (0) ^{b)}	4.52 (12)	39.55 (103)	39.42 (103)	39.30 (103)	39.66 (103)
2	34.37 ^{c)}	6.93 (20)	11.57 (34)	34.57 (101)	34.71 (101)	34.44 (100)	34.62 (101)
3	28.77	0.05 (0)	5.40 (19)	29.11 (101)	29.32 (102)	28.95 (101)	29.03 (101)
4	4	0.01 (0)	0.26 (6)	4.05 (101)	4.04 (101)	4.06 (102)	4.06 (101)
5	0.2	0.00 0	0.02 (9)	0.20 (102)	0.21 (103)	0.04 (22)	0.21 (106)

a) 定量値(%)

b) ()内の数値は設計成分量を100%としたときのそれぞれの酸による定量値の割合(%)

c) 試料番号2は亜りん酸以外から由来(りん酸水素二カリウム由来)の水溶性りん酸設計成分量が6.66%ある。

2) 加熱終了条件について

塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL で試料液を煮沸濃縮する際に、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、亜りん酸含有量を P_2O_5 として 30, 20 及び 0.2% に調製した試料を用い、加熱濃縮による試料液残量を数段階に変えた試料液を調製し定量値を比較した。加熱温度は、試料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、表 2 のとおり、試料液残量が約 0.5 mL~5 mL の場合に、設計成分量と同等程度の定量値となった。試料液を 5 mL 以下まで濃縮したことで、液温が上昇し、酸化力が強くなり、亜りん酸を全てオルトリン酸化できたと考えられる。また、乾固させた場合に低い定量値となったことから、本法では加熱濃縮による試料液残量を 1~3 mL とすることとした。

表 2 加熱終了時の試料液残量 0~20 mL における定量結果

試料 番号	WP 設計 成分 量 (%)	分 取 量 (mL)	加熱 開始 試料 液量 (mL)	加熱終了時の試料液残量							
				約 20 mL	約 10 mL	約 5 mL	約 3 mL	約 2 mL	約 1 mL	約 0.5 mL	0 mL (乾固)
1	30	2.5	6.5	—	—	30.32 ^{a)} (101) ^{b)}	30.32 (101)	30.09 (100)	30.32 (101)	30.09 (100)	26.98 (90)
2	20	10	14	—	4.5 (22)	20.07 (100)	20.17 (101)	20.07 (100)	20.07 (100)	20.07 (100)	19.43 (97)
3	20	5	9	—	—	19.90 (100)	20.20 (101)	20.29 (101)	20.29 (101)	20.12 (101)	17.39 (87)
4	0.2	60	64	0.09 (46)	0.20 (99)	0.20 (102)	0.20 (102)	0.20 (101)	0.20 (101)	0.20 (101)	0.20 (100)

a) 定量値(%)

b) ()内の数値は設計成分量を100%としたときのそれぞれの液量による定量値の割合(%)

3) 加熱温度について

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も強まるが、突沸の危険性も高まる。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。

亜りん酸含有量を P₂O₅として 30 及び 0.2%に調製した試料を用い、煮沸時の加熱温度を数段階に変えた試料液を調製し定量値を比較した。

その結果、表 3 のとおり、150~270℃では定量値に差はみられなかった。しかし、試料液を 1~3 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、また、270℃では突沸が見られ安全性の問題などがあるので、本法では加熱温度を 200~250℃とした。

表 3 加熱温度 150~270℃における定量結果

試料 番号	WP設計 成分量 (%)	分取量 (mL)	加熱温度						
			150℃	170℃	190℃	210℃	230℃	250℃	270℃
1	30	10	30.32 ^{a)} (101) ^{b)}	30.09 (100)	30.32 (101)	30.09 (100)	30.32 (101)	30.32 (101)	30.09 (100)
			加熱時間 ^{c)}	60	50	45	40	25	20
2	0.2	60	0.21 (103)	0.21 (103)	0.20 (102)	0.20 (102)	0.21 (103)	0.21 (103)	0.21 (103)
			加熱時間	600	400	310	260	90	85

a) 定量値(%)

b) ()内の数値は設計成分量を100%としたときのそれぞれの加熱温度による定量値の割合(%)

c) 加熱時間は、試料液を液量が1~3 mLとなるまで加熱濃縮するのに要したおよその時間(分)

4) 王水酸化操作の発色への影響について

詳解肥料分析法(1973)⁴⁾では、王水分解液に塩化ニトロシル(NOCL)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おそれがあるとの記述がある。このため、王水酸化法で分析を実施する際、検量線用のりん酸標準液についても発色試薬溶液添加前に試料液と同様に王水酸化操作を行う必要がある可

能性がある。そのため、数段階の濃度のりん酸標準液を用いて、王水酸化操作の有無による発色後の吸光度を比較した。

その結果、表 4 のとおり、王水酸化操作の有無による吸光度の有意な差は認められなかった。このことから、王水酸化法による酸化操作では、酸化に用いる王水の量が 4 mLと少量であり、更に濃縮し揮発させているため、塩化ニトロシルの残存が少なく、りん酸の発色を妨げるような影響はないものと考えられる。

表 4 王水酸化操作の有無によるりん酸標準液吸光度の比較

りん酸標準液濃度 (mg/100mL)	王水酸化操作の有無	
	有 ^{a)}	無 ^{b)}
0	0.000 ^{c)}	0.000
2	0.458	0.457
4	0.909	0.908
6	1.346	1.346

a) 2.4) (3) の「100~200mLのトールピーカーに～」以下と同様の操作を行った

b) 2.4) (1) の「適量の水で希釈して～」以下と同様の操作を行った。

c) 3点併行分析成績の平均吸光度

5) 適用範囲の確認

王水酸化法が、各種の原料を使用した亜りん酸等入り肥料の定量に適用可能かどうか確認するため、市販の液状複合肥料 14 点を用いて王水酸化法及び硫酸分解法により、水溶性りん酸を測定して定量値を比較した。

その結果は図 2 であり、定量値の一次回帰式の回帰係数は 1.012 及び切片は -0.561 であった。また、その相関係数 (r) は 0.999 であり、王水酸化法での測定値 (11.1~39.2%) は硫酸分解法での測定値とほぼ一致した。いずれの分析法の分析値も、供試試料について水溶性りん酸設計成分量と近似していた。このことから、市販の液状複合肥料に含有する成分が、亜りん酸を含む水溶性りん酸の定量を阻害する状況は認められなかった。

6) 試験成績の精確さの確認

(1) 添加回収試験

王水酸化法による分析値の精確さを確認するため、添加回収試験を行った。2).(1)の調製試料を用いて繰り返し3回分析して得られた回収結果を表5に示した。各濃度の定量値の標準偏差(SD)は0.00~0.04%であり、平均回収率は100.8%~102.5%、その相対標準偏差(RSD)は0.1~1.7%であった。平成18年5月時点で農林水産大臣登録されている亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料の水溶性りん酸最大保証成分量(50%)及び最小保証成分量(0.5%)を下回る0.2%において、良好な正確さ(平均回収率)及び繰返し精度(相対標準偏差)が得られた。

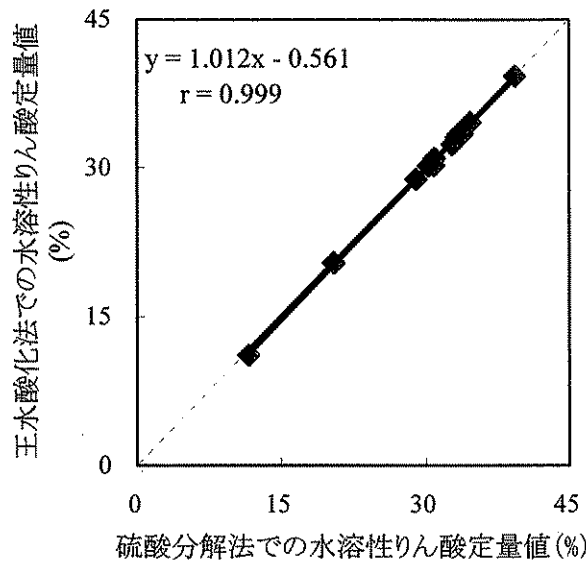


図2 硫酸分解法と王水酸化法による試料中の水溶性りん酸定量値の相関
 実線:双方の定量値による回帰直線(n=14) 破線:y=xの直線

表5 添加回収試験結果

添加濃度 (%)	平均定量値 ^{a)} (%)	標準偏差 (%)	平均回収率 ^{b)} (%)	相対標準偏差 (%)
0.2	0.21	0.00	102.5	1.7
4	4.03	0.01	100.8	0.2
10	10.11	0.01	101.1	0.1
20	20.30	0.04	101.5	0.2
30	30.36	0.02	101.2	0.1
40	40.73	0.03	101.8	0.1
50	50.54	0.04	101.1	0.1

a) 3点併行分析成績の平均定量値

b) 3点併行分析成績の平均回収率

(2) 定量下限確認試験

亜りん酸含有量をP₂O₅として0.2%とした調製試料を用い、分析法の定量下限を検討した。7点併行分析を実施した結果、表6を得た。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)として示されるので、本法の定量下限及び検出下限は0.01%程度及び0.005%程度と推定された。

表 6 定量下限確認試験の結果

平均定量値 ^{a)}	標準偏差	定量下限の推定 ^{b)}	検出下限の推定 ^{c)}
(%)	(%)	(%)	(%)
0.206	0.001	0.01	0.005

a) 7点併行分析成績の平均定量値

b) 標準偏差×10

c) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

3. まとめ

肥料分析法による水溶性りん酸分析法であるバナドモリブデン酸アンモニウム法では、亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした肥料については、亜りん酸由来のりん酸が水溶性りん酸として定量できなかった。そのため、発色操作中の「硝酸(1+1)で煮沸する方法」を、他の酸化方法に変更することにより、亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の定量方法を検討した結果、「試料液に塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加え 200~250°C で煮沸し、1~3 mL まで濃縮する方法」(王水酸化法)により亜りん酸をオルトリン酸に酸化させ定量することができた。

この王水酸化法により、5種類の原料を使用し、亜りん酸含有量を P_2O_5 として0.2~50%となるように作成した調製試料7点を使用して添加回収試験を実施した結果、各濃度の定量値の標準偏差(SD)は0.00~0.04%であり、平均回収率は100.8%~102.5%、その相対標準偏差(RSD)は0.1~1.7%の成績が得られ、また、定量下限は0.01%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 (1992)
- 2) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.28~37, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 3) 柴田雄次, 木村健二郎:無機化学全書 IV-6 リン P, p.145, 丸善株式会社, 東京 (1965)
- 4) 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, p.93, 養賢堂, 東京 (1973)

Development and Validation of Spectrophotometry for Determination of Water-Soluble Phosphoric acid in Liquid Mixed Fertilizer Containing Phosphonic Acid

Toshiaki HIROI^{1, (2)}, Masakazu SAIKI¹ and Kimie KATO¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

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

Simple spectrophotometry was developed and validated for determination of water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate. Fertilizer was extracted with water. The extract was digested with aqua regia (nitric acid-hydrochloric acid (1+3)) to oxidize phosphonic ion, after simple filtration. Water-soluble phosphoric acid was spectrophotometrically determined by measuring the color developed with an ammonium vanadomolybdate reagent according to the Official Method of Analysis of Fertilizers published in December 1992. The mean recoveries ranged from 100.8 to 102.5% to measure the phosphonic acid added to fertilizer as 0.2~50% P₂O₅. The standard deviation (SD) and the relative standard deviation (RSD) ranged from 0.00 to 0.04% and from 0.1 to 1.7%, respectively. The result of a quantification test indicated that the method was capable of measuring approximately 0.01% of phosphonic acid or phosphonate as P₂O₅ in a sample. These results show that the developed method has satisfactory sensitivity, precision and accuracy and is useful for the determination of water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate.

Key words phosphonic acid, phosphorous acid, water-soluble phosphoric acid, liquid mixed fertilizer, spectrophotometry

(Research Report of Fertilizer, 1, 25~33, 2008)