

3-2 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 —

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, 共同試験

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。

この酸化方法を「王水で煮沸及び濃縮する方法」に変更することにより、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ため、この方法により液状複合肥料を分析対象として繰返し性、定量下限の確認等のISO/IEC 17025³⁾で要求されている試験室内の妥当性確認の試験を実施し、満足する結果が得られた⁴⁾。更に同基準の要求事項である試験所間の比較試験について、IUPACの共同試験プロトコル⁵⁾を参考に亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸試験法の共同試験を実施し、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) 試料の採取, 調製等

市販の亜りん酸又は亜りん酸塩を原料とした液状複合肥料(計5点)を収集し、試験品として室温暗所に保管した。それぞれの試験品をよく振り混ぜた後、ただちに試料約10gをポリ容器に入れ、共同試験用試料とした。一対のブラインド試料を提供するため、それぞれの液状複合肥料の共同試験用試料の容器に2シリーズの番号のラベルを付けた。共同試験用試料(10点)を参加試験室に送付した。

2) 装置

分解装置はガスバーナーにより加熱する砂浴又はホットプレートを用いた。砂浴の温度は放射温度計で測

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

定し、規定の温度範囲になるようガス量及びけい砂の量を調整した。

分光光度計は各試験室に設置されている装置を使用した。

3) 試料溶液の調製

(1) 抽出

分析試料 5 g を全量フラスコ 500 mL にとり、水約 400 mL を加え 1 分間 30～40 回転の振り混ぜ機で 30 分間振り混ぜ、標線まで水を加え直ちにろ紙 3 種でろ過した。ろ液 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加え、試料溶液とした。(図 1)

(2) 発色

試料溶液 10 mL (P_2O_5 として 0.5～6 mg) をトールビーカー 200 mL にとり、塩酸 3 mL 及び硝酸 1 mL を加え、時計皿で覆い、200～250℃の砂浴又は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、フェノールフタレイン溶液 (1 g/100 mL) 1～2 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) を加えて中和後、溶液の淡い赤紫色が消失するまで硝酸 (1+2) を加えて微酸性とし、適量の水を加えて希釈し、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 分間放置した。(図 1)

4) 水溶性りん酸の測定

発色操作により生じたりんバナドモリブデン酸塩の吸光度 (波長 420 nm) を測定した。測定にあたっては、各試験室の分光光度計の操作方法に従った。

5) 均質性の確認

共同試験用試料の均質性を確認するため、IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁶⁾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 3)～4)に従って分析した。

6) 共同試験

次の 12 試験室において、送付した 10 試料を 3)～4)に従って共同試験を実施した。

- ・ 朝日工業株式会社 関東工場
- ・ 大塚化学株式会社
- ・ 晃栄化学工業株式会社
- ・ 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 本部肥飼料安全検査部、札幌センター、仙台センター、名古屋センター、神戸センター大阪事務所及び福岡センター
- ・ 北海三共株式会社
- ・ 米山化学工業株式会社 大阪工場

(50 音順)

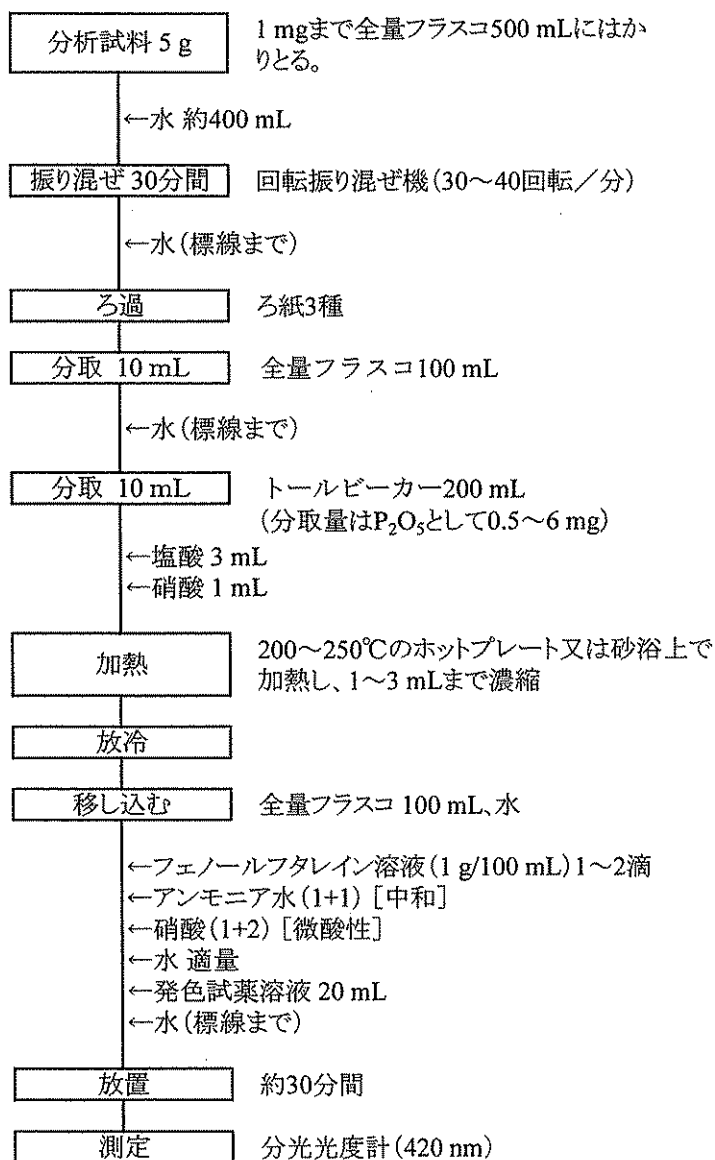


図1 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸試験操作手順

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰り返し2回×10試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表1に示した。いずれの試料においても、F値が $F(9,10;0.05)$ を下回ったことから、有意水準5%において試料間に有意な差は認められなかった⁶⁾。また、試料間の相対標準偏差は0.2~0.3%であり、全ての分析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。

表1 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の均質性確認試験の結果

試料名	平均定量値 ¹⁾ (%)	相対標準偏差 ²⁾ (%)	F値 ³⁾	F値限界 ⁴⁾
液状複合肥料 1	33.35	0.2	2.42	3.02
液状複合肥料 2	17.89	0.2	1.67	3.02
液状複合肥料 3	7.96	0.3	2.53	3.02
液状複合肥料 4	11.84	0.3	2.18	3.02
液状複合肥料 5	23.77	0.3	1.51	3.02

- 1) 10試料2点併行分析の総平均定量値
- 2) 試料間の相対標準偏差
- 3) 一元分散分析値により算出された分散比
- 4) F(9,10;0.05)

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表2に示した。各系列の分析試料の試験結果をIUPACの共同試験プロトコル^{5, 7)}に従って統計処理した。Cochran テスト及び Grubbs テストを用いて試験成績の外れ値の検定をしたところ、12 試験室の試験成績のうち液状複合肥料 4 及び 5 で各 1 試験室の試験成績が外れ値と判別された。

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した平均値、室内繰返しの標準偏差(SD_T)、相対標準偏差(RSD_T)及び HorRat 値(Ho_T)並びに室間再現の標準偏差(SD_R)、相対標準偏差(RSD_R)及び HorRat 値(Ho_R)を表3に示した。HorRat 値は分析方法の精度の評価をするために用いられており、Ho_Tは RSD_T/RSD_T(P)及び Ho_Rは RSD_R/RSD_R(P)により求められる。なお、RSD_R(P)は平均定量値から Horwitz 修正式⁸⁾により求め、RSD_T(P)は Horwitz 式に係数(1/2)を乗じて求めた^{9, 10)}。外れ値を除外した試験成績の SD_T、RSD_T、SD_R及び RSD_Rは 0.08~0.25%、0.3~1.5%、0.30~0.59%及び 1.7~3.8%であった。また、Ho_T及び Ho_Rは 0.27~1.05 及び 0.70~1.31 であり、いずれも 2 を下回っていた¹¹⁾。

4. まとめ

12 試験室において5銘柄(10点)の液状複合肥料を用いて亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の共同試験を実施し、本分析法の評価を行った。その結果、室間再現精度(相対標準偏差)は 1.7~3.8%であった。また、その評価に用いる HorRat 値は 0.70~1.31 であり、2 を下回っていた。このことから、試験室間の比較による本分析法の室間再現精度は満足する成績であった。

既報により測定範囲、繰返し精度等が検討されており、本試験法は亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された。このことから、2007 年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は肥料等試験法(2008)に記載された¹²⁾。

表2 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸の共同試験成績 (%)

試験室 ¹⁾	液状複合肥料 1		液状複合肥料 2		液状複合肥料 3	
A	32.36	32.64	17.48	17.19	7.52	7.83
B	34.40	34.89	18.60	18.51	8.39	8.85
C	34.07	34.11	17.95	18.06	7.45	7.46
D	33.42	33.54	17.91	17.93	8.12	8.10
E	33.82	34.01	18.07	18.03	7.69	7.73
F	33.21	32.53	17.72	17.74	8.01	7.80
G	32.99	33.21	17.76	17.68	8.00	8.01
H	33.88	33.39	17.85	17.70	7.96	7.93
I	33.46	33.46	17.87	17.93	8.11	8.15
J	33.74	33.44	18.15	18.05	8.18	8.16
K	33.40	33.87	18.05	18.10	8.07	8.03
L	33.67	33.89	17.92	18.03	8.08	8.08
試験室	液状複合肥料 4		液状複合肥料 5		使用した分光光度計	
A	11.40	11.69	23.34	23.48	HITACHI U-2800	
B	12.50	12.91	25.23	25.10	SHIMADZU UV-mini1240	
C	11.76	11.62	24.42	24.55	SHIMADZU UV-160A	
D	11.95 ²⁾	12.82 ²⁾	24.08	24.06	SHIMADZU UV-160A	
E	11.85	11.90	24.31	24.42	SHIMADZU ASC-5	
F	11.39	11.70	23.58	23.68	SHIMADZU UV-2400PC	
G	11.98	11.91	23.89	23.91	SHIMADZU UV-1200	
H	11.83	11.87	23.84	23.78	HITACHI U-2000A	
I	12.01	12.01	23.99	24.11	SHIMADZU UV-mini1240	
J	12.13	12.13	24.05	24.26	SHIMADZU UV-mini1240	
K	11.96	12.02	24.05	24.01	SHIMADZU UV-1600	
L	11.92	11.96	40.26 ²⁾	24.06 ²⁾	SHIMADZU UV-mini1240	

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) Cochranテストによる外れ値

表3 共同試験成績の解析結果

試料の種類	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%)	SD _r ³⁾ (%)	RSD _r ⁴⁾ (%)	Ho _r ⁵⁾	SD _R ⁶⁾ (%)	RSD _R ⁷⁾ (%)	Ho _R ⁸⁾
液状複合肥料 1	12	33.56	0.25	0.7	0.63	0.59	1.8	1.02
液状複合肥料 2	12	17.93	0.08	0.5	0.36	0.30	1.7	0.70
液状複合肥料 3	12	7.99	0.12	1.5	1.05	0.31	3.8	1.31
液状複合肥料 4	11	11.93	0.13	1.1	0.80	0.33	2.8	1.01
液状複合肥料 5	11	24.10	0.08	0.3	0.27	0.47	2.0	0.96

1) 解析に用いた試験室数

2) 総平均値(n =試験室数×繰り返し数(2))

3) 室内標準偏差

4) 室内相対標準偏差

5) 室内繰返しHorRat値

6) 室間標準偏差

7) 室間相対標準偏差

8) 室間再現HorRat値

謝 辞

共同試験にご協力頂いた朝日工業株式会社関東工場, 大塚化学株式会社, 晃栄化学工業株式会社, 財団法人日本肥糧検定協会, 北海三共株式会社及び米山化学工業株式会社大阪工場の各位に謝意を表します。

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 (1995)
- 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) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (1999)
- 4) 廣井利明, 齊木雅一, 加藤公栄: 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定 ー発色方法の改良ー, 肥料研究報告, **1**, 25~33 (2008)
- 5) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 6) Thompson, M., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **65** (9), 2123~2144 (1993)
- 7) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 8) Thompson, M. : Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 10) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 11) Codex Alimentarius: "Recommendation for a checklist of information required to evaluate method of analysis and submitted to the Codex Committee on Method of Analysis and Sampling for endorsement", Vol.13, p.129 (1994)
- 12) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法 (2008)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2008.html>

Determination of Water-Soluble Phosphoric Acid in Liquid Mixed Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry: A Collaborative Study

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

A collaborative study was performed to evaluate the method for determining water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer containing phosphonic acid or phosphonate by spectrophotometry. 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 using the color development with an ammonium vanadomolybdate reagent according to the Official Method of Analysis of Fertilizers published in December 1992. Ten samples of commercial liquid mixed fertilizer were sent to 12 collaborators. The samples were analyzed as blind duplicates. The standard deviation (SD_r) and the relative standard deviation (RSD_r) for repeatability in analyses ranged from 0.08 to 0.25% and from 0.3 to 1.5%, respectively. The standard deviation (SD_R) and the relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility in analyses ranged from 0.30 to 0.59% and from 1.7 to 3.8%, respectively. The HorRat values ($RSD_R/\text{predicted } RSD_R$) ranged from 0.70 to 1.31. These results demonstrate that the spectrophotometry has acceptable precision and is suitable for determination of water-soluble phosphoric acid in liquid mixed fertilizer including phosphonic acid or phosphonate.

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

(Research Report of Fertilizer, 1, 34~40, 2008)