

2 ICP-OES を用いた肥料中の可溶性りん酸の分析法の開発

青山恵介¹

キーワード 肥料, 可溶性りん酸, ICP-OES

1. はじめに

誘導結合プラズマ発光分光分析装置(ICP-OES)を用いた肥料の分析法については、2011年に汚泥肥料中の有害重金属の分析法¹⁾、2015年に液状肥料中の水溶性主成分の分析法²⁾、2016年に液状肥料中の効果発現促進材の分析法³⁾、2017年にチタンの分析法⁴⁾、2018年に固形肥料中の可溶性主成分の分析法⁵⁾、2019年に固形肥料中の水溶性主成分の分析法⁶⁾、そして2020年に肥料中の可溶性石灰及び可溶性苦土の分析法⁷⁾が、それぞれFAMICから報告され、肥料等試験法⁸⁾に記載されている。

そこで本検討では、アンモニアアルカリ性くえん酸アンモニウム溶液可溶性りん酸(ペーテルマンくえん酸塩溶液可溶性りん酸ともいう)(可溶性りん酸(S-P₂O₅)(以下、SPという))の測定についてICP-OESを用いた分析法(以下、本法という)を開発し、単一試験室による妥当性確認を行った。さらに、肥料の品質の確保等に関する法律⁹⁾が令和元年12月に改正され、それまで生産する事が認められていなかった特殊肥料と普通肥料を混合した肥料(特殊肥料等入り指定混合肥料)を生産する事が可能となったことから、特殊肥料等入り指定混合肥料への適用についても検討したので報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

Table 1 に示した肥料については、500 μm のふるいを通過するまで粉砕機で粉砕したものを分析用試料とした。牛糞堆肥及びバーク堆肥については、乾燥器を用いて 65 °C で 5 時間以上乾燥させた後、500 μm のふるいを通過するまで粉砕機で粉砕したものを分析用試料とした。その他、肥料認証標準物質 FAMIC-B-14 を用いた。

Table 1 Samples

Kind of fertilizers	Number	Materials
Chemical fertilizer	13	Ammonia, Ammonia chloride, Ammonia phosphate, Ammonium sulfate, Ammonium nitrate, Borate fertilizer, By-product magnesium fertilizer, Canola oil, residue, Coated urea fertilizer,
Mixed fertilizer	4	Dried cells, Fermented rice bran, Fishmeal, Lightly baked magnesium, Liquid compound fertilizer, Magnesium sulfate, Manganese sulfate, Potassium chloride, Potassium sulphate,
Superphosphate	2	Steamed bone powder, Steamed feather meal, Steamed leather powder, Superphosphate,
Triple superphosphate	1	Urea

2) 試薬等の調製

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- (2) 硝酸: 富士フィルム和光純薬 精密分析用
- (3) アンモニア水: 富士フィルム和光純薬 特級(NH₃ 28%(質量分率))

¹ 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

- (4) くえん酸一水和物：富士フィルム和光純薬 特級
- (5) ペーテルマンくえん酸塩溶液：JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 173 g を水に加えて溶かし、窒素 42 g に相当するアンモニア水を冷却しながら徐々に加え、水を加えて 1000 mL とした。
- (6) 塩酸：富士フィルム和光純薬 精密分析用
- (7) 塩酸(1+23)：(6)の塩酸の体積 1 と水の体積 23 とを混合したもの。
- (8) ベリリウム標準液(Be 1000 mg/L)：富士フィルム和光純薬 JCSS
- (9) ベリリウム標準液(Be 100 mg/L)：ベリリウム標準液(Be 1000 mg/L) 10 mL を 100 mL 全量フラスコにとり、標線まで塩酸(1+23)を加える。
- (10) りん標準液(P 10 000 mg/L)：シグマアルドリッチ ICP 用
- (11) りん標準液(P 1000 mg/L)：りん標準液(P 10 000 mg/L) 50 mL を 500 mL 全量フラスコにとり、塩酸(1+23)を標線まで加えて混合した。
- (12) りん標準液(100 mg/L)：りん標準液(P 10 000 mg/L) 5 mL を 500 mL 全量フラスコにとり、塩酸(1+23)を標線まで加えて混合した。
- (13) 検量線用標準液(P 10 mg/L~200 mg/L)：りん標準液(P 1000 mg/L) 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL, 15 mL 及び 20 mL を 100 mL 全量フラスコにとり、さらにベリリウム標準液(Be 100 mg/L)を各全量フラスコに 10 mL ずつ加えた後、塩酸(1+23)を標線まで加えて混合した。なお、調製した検量線用標準液の濃度は P として 10 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L 及び 200 mg/L であり、それぞれ内標準として Be を 10 mg/L 含有する。
- (14) 検量線用標準液(P 0.5 mg/L~5 mg/L)：りん標準液(P 100 mg/L) 0.5 mL, 1 mL, 2 mL 及び 5 mL を 100 mL 全量フラスコにとり、さらにベリリウム標準液(Be 100 mg/L)を各全量フラスコに 10 mL ずつ加えた後、塩酸(1+23)を標線まで加えて混合した。なお、調製した検量線用標準液の濃度は P として 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L 及び 5 mg/L であり、それぞれ内標準として Be を 10 mg/L 含有する。
- (15) 検量線用空試験液：塩酸(1+23)を使用した。

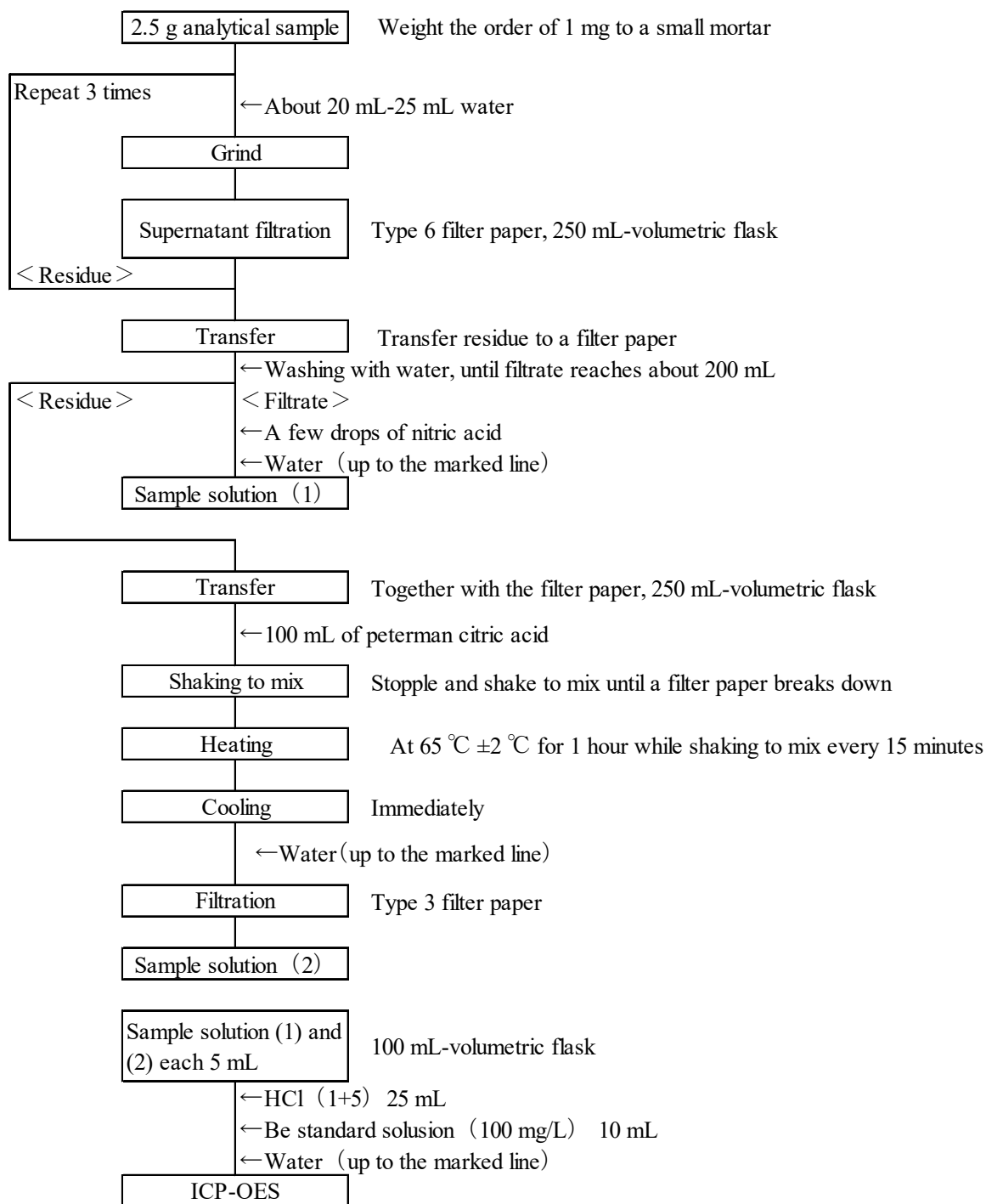
3) 器具及び装置

- (1) ICP-OES: 島津製作所 ICPE-8100(横方向観測方式, シーケンシャル形分光器)
- (2) 分光光度計: 島津製作所 UV-1800
- (3) 超遠心粉碎機: Retsch ZM-200
- (4) ウォーターバス: Thermo Fisher Scientific FSGPD28
- (5) 小型乳鉢
- (6) ろ紙 6 種
- (7) ろ紙 3 種

4) 分析方法

分析試料 2.5 g を小型乳鉢に入れ、水約 20 mL~25 mL を加えすりつぶし、その上澄み液をろ紙 6 種で 250 mL 全量フラスコにろ過した。さらに水約 20 mL~25 mL を加える操作からろ過までの操作を合計 3 回繰り返した後、小型乳鉢内の不溶解物を水でろ紙上に移し入れ、ろ液が約 200 mL になるまで水でろ紙上の不溶解物を洗浄した。ろ液に少量の硝酸を加え、更に標線まで水を加え、試料溶液 (1) とした。ろ紙上の不溶解物をろ紙とともに別の 250 mL 全量フラスコに移し入れ、ペーテルマンくえん酸塩溶液 100 mL を加えて栓をし、ろ紙が崩れるまで振り混ぜた。さらに全量フラスコを 65 °C±2 °C の水浴中で

15分ごとに振り混ぜながら1時間加熱した。速やかに冷却した後、標線まで水を加えた。ろ紙3種でろ過し、試料溶液(2)とした。試料溶液(1)及び試料溶液(2)からそれぞれ5 mLを100 mL全量フラスコに入れ、ベリリウム標準液(Be 100 mg/L)を10 mL加え、さらに塩酸(1+5)を25 mL加え、標線まで水を加えたものを試料溶液とし、ICP-OESを用いてPの濃度を定量した。なお、ICP-OESによる定量は、Pは178.287 nm、Beは234.861 nmの波長について分析し、P濃度と指示値の比P/Beを用いて検量線を作成し、試料中のPの濃度を求め、換算係数2.2914を乗じて分析試料中のりん酸(P_2O_5)濃度を求めた。Scheme 1に本法のフローシートを示した。



Scheme 1 Flow sheet for citrate-soluble phosphoric acid in fertilizers by ICP-OES

3. 結果及び考察

1) 検量線の直線性

P の濃度が 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L 及び 200 mg/L の検量線用標準液を ICP-OES でランダムに 2 回測定し, P の濃度と指示値の比 P/Be による検量線を Fig. 1 のとおり作成した. 決定係数 (r^2) が 0.999 以上であり, 切片の 95 %信頼区間に原点が含まれていた.

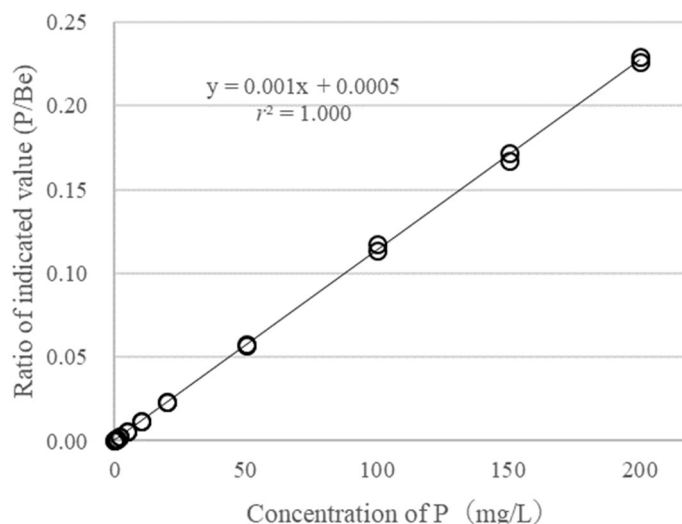


Fig. 1 Calibration curve of P

2) 真度の評価

(1) 肥料認証標準物質を用いた真度の評価

本法の真度を評価するため, 肥料認証標準物質 FAMIC-B-14 を 3 点併行により分析した. 結果は Table 2 のとおり, 平均値は認証値に対する警戒限界の範囲内であり, 肥料等試験法附属書 A に示されている真度の目標を満たしていた.

Table 2 The estimation of trueness using certified reference materials

Ingredients	Certified reference material	Mean ^{a)} % (Mass fraction)	Certified value % (Mass fraction)	Warning limit for the certified value % (Mass fraction)	
				9.01	~ 9.36
SP	FAMIC-B-14	9.23	9.18	9.01	~ 9.36

a) Mean value ($n=3$)

(2) 妥当性が確認された試験法との比較による真度の評価

Table 1 に示した試料について, 本法と肥料等試験法に記載されているバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法により分析を行い, 異なる 2 つの分析法による分析値の相関図を作成して, 本法の真度を評価した. 相関図は Fig. 2 のとおり. さらに, 回帰直線の傾き, 切片及び相関係数を算出し, さらに予測区間を確認した結果, 回帰直線の相関係数は 0.99 以上であり回帰直線の傾きの 95 %信頼区間に 1 が含まれ, 切片の 95 %信頼区間に 0 が含まれており肥料等試験法附属書 A に示されている真度の目標を満たしていた.

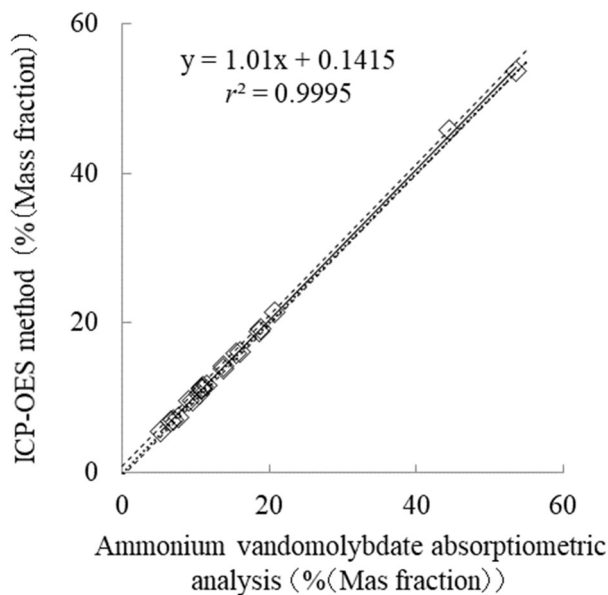


Fig. 2 Comparison of the measurements in between two methods

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

3) 特殊肥料等入り指定混合肥料への適用

特殊肥料等入り指定混合肥料についても分析値を元に保証票に成分量を表示することが可能であることから、本法が特殊肥料等入り指定混合肥料に含まれるSPの分析への適用が可能か検討した。特殊肥料等入り指定混合肥料として牛ふん堆肥に過りん酸石灰 A を混合した調製試料と、バーク堆肥に過りん酸石灰 B を混合した調製試料を用いて検討した。なお、調製試料の原料の混合割合及び分析結果は Table 3 及び Table 4 のとおりであり、原料及び調製試料の分析は本法により実施した。

牛ふん堆肥と過りん酸石灰 A を混合した調製試料については Table 3 のとおり、SP の設計値が 5.34% (質量分率) に対して分析値は 5.16 % (質量分率)、回収率は 97 %であった。バーク堆肥と過りん酸石灰 B を混合した調製試料については Table 4 のとおり、SP の設計値が 3.12 % (質量分率) に対して分析値は 3.11 % (質量分率)、回収率は 100 %であった。いずれの調製試料においても分析して得られた回収率は、肥料等試験法附属書 A で定められている真度の目標を満たしていた。したがって、これらの原料を混合した場合であっても、本法が十分な性能を有していることが確認された。

Table 3 Analysis result of fertilizer prepared by mixing cow dung compost and superphosphate

Materials	Raw material analysis value	Blending ratio (%)	Raw material analysis value × Blending ratio (%) ^{a)}
Cow dung compost	3.83 ± 0.16 ^{b)}	90	3.45
Superphosphate A	18.9 ± 0.1 ^{b)}	10	1.89
	Desing value of adjustment sample		5.34
	Analysis value of adjustment sample		5.16 ± 0.2 ^{b)}
	Recovery rate		97 %

a) Mass fraction

b) Mean($n=3$) ± Standard Deviation

Table 4 Analysis result of fertilizer prepared by mixing composted bark and superphosphate

Materials	Raw material analysis value	Blending ratio (%)	Raw material analysis value × Blending ratio (%) ^{a)}
Composted bark	1.31 ± 0.01 ^{b)}	90	1.18
Superphosphate B	19.4 ± 0.6 ^{b)}	10	1.94
Desing value of adjustment sample			3.12
Analysis value of adjustment sample			3.11 ± 0.03 ^{b)}
Recovery rate			100 %

a) Mass fraction

b) Mean($n=3$) ± Standard Deviation

4) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するため、化成肥料 A、過りん酸石灰及び化成肥料 B を 2 点併行で日を変えて 5 回分析を行った結果は Table 5 のとおり。さらに、一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を求めた結果は Table 6 のとおり。併行相対標準偏差は 0.7 %~1.9 %、中間相対標準偏差は 0.8 %~2.0 %であり、肥料等試験法附属書 A に示されている精度の目安以下であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 5 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation (% (Mass fraction))

Test day	Compound fertilizer A		Superphosphate		Compound fertilizer B	
1	5.30	5.47	18.85	18.78	53.18	53.97
2	5.48	5.44	19.45	18.68	53.00	53.44
3	5.42	5.36	19.24	19.33	53.67	54.31
4	5.53	5.51	18.96	18.14	53.30	53.23
5	5.44	5.39	18.90	19.16	53.57	53.20

Table 6 Statistical analysis result of repeatability test

Sample	Mean ^{a)} % (Mass fraction)	Repeatability precision			Intermediate precision		
		s_r ^{b)} % (Mass fraction)	RSD_r ^{c)} (%)	$CRSD_r$ ^{d)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{e)} % (Mass fraction)	$RSD_{I(T)}$ ^{f)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)
Compound fertilizer A	5.43	0.06	1.2	2	0.07	1.3	3.5
Superphosphate	18.95	0.37	1.9	1.5	0.38	2.0	2.5
Compound fertilizer B	53.49	0.37	0.7	1	0.41	0.8	2

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

b) Repeatability standard deviation

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of Repeatability precision(Repeatability relative standard deviation)

e) Intermediate standard deviation

f) Intermediate relative standard deviation

g) Criteria of Intermediate precision(Intermediate relative standard deviation)

5) 定量下限等の確認

P の濃度が 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L 及び 5 mg/L の検量線用標準液を ICP-OES で測定して作成した検量線を用いて定量下限及び検出下限を推定した。検量線の残差の標準偏差又は回帰直線から推定した濃度ゼロにおけるシグナルの標準偏差と検量線の傾きを用いて定量下限及び検出下限を推定した結果, 0.02 % (質量分率) 及び 0.01 % (質量分率) 程度と推定された。これは, 肥料の公定規格で定められている含有すべき主成分の最小量である家庭園芸用複合肥料の 0.1 % (質量分率) に対して 1/5 程度の濃度であった。

4. まとめ

ICP-OES を用いた肥料中の可溶性りん酸の分析法について単一試験室による妥当性を確認したところ, 次の結果を得た。

- 1) P 濃度が 0.5 mg/L~200 mg/L の範囲で検量線を作成した結果, 決定係数 (r^2) が 0.999 以上であり, 切片の 95 % 信頼区間に原点が含まれていることを確認した。
- 2) 真度を評価するため, 肥料認証標準物質 FAMIC-B-14 を分析した結果, 肥料等試験法附属書 A に示されている真度の目標を満たしていた。また, 妥当性が確認された試験法であるバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法の測定値と比較した結果, 同等の試験法であることを確認した。
- 3) 特殊肥料等入り指定混合肥料を想定した調製試料を用いて分析した結果は, 可溶性りん酸の濃度の設計値に対する回収率は肥料等試験法附属書 A で定められている真度の目標を満たしていた。
- 4) 併行精度及び中間精度の推定を行った結果, 併行相対標準偏差は 0.7 %~1.9 %, 中間相対標準偏差は 0.8 %~2.0 % であり, 肥料等試験法附属書 A に示されている精度の目安以下であった。
- 5) 検量線を用いて定量下限及び検出下限を推定した結果, 0.02 % (質量分率) 及び 0.01 % (質量分率) 程度と考えられた。

以上のことから, 本法は肥料中の可溶性りん酸を測定するために, 十分な性能を有していることが確認された。

文 献

- 1) 恵智正宏, 井上智江, 田淵恵, 野村哲也: 汚泥肥料中のカドミウム, 鉛, ニッケル, クロム, 銅及び亜鉛の同時測定 - ICP 発光分光分析装置の適用 -, 肥料研究報告, **4**, 30~35 (2011)
- 2) 青山恵介: ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による液状肥料中の水溶性主成分の測定, 肥料研究報告, **8**, 1~8 (2015)
- 3) 青山恵介: ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による液状肥料中の効果発現促進材の測定, 肥料研究報告, **9**, 1~9 (2016)
- 4) 青山恵介: ICP 発光分光分析法によるチタンの測定, 肥料研究報告, **10**, 29~40 (2017)
- 5) 松尾信吾: ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による固形肥料中の可溶性主成分の測定, 肥料研究報告, **11**, 14~28 (2018)
- 6) 船木紀夫: ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による固形肥料中の水溶性主成分の測定, 肥料研究報告, **12**, 28~51 (2019)
- 7) 船木紀夫: ICP-OES 法による肥料中の可溶性石灰及び可溶性苦土の測定法の開発, 肥料研究報告, **13**, 1

～35(2020)

8) 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(2021)

< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2021.pdf >

9) 肥料の品質の確保等に関する法律, 昭和 25 年 5 月 1 日, 法律 127 号, 最終改正令和元年 12 月 4 日, 法律 62 号

Development of Determination Method of Citrate-soluble Phosphoric Acid in Fertilizers by ICP-OES

AOYAMA Keisuke¹

¹Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Kobe Regional Center

Regarding the analysis method of citrate-soluble phosphoric acid (S-P₂O₅) using ICP-OES, the performance of the analysis method by a single laboratory was confirmed.

Water was added to the analysis sample for extraction, then Peterman citrate solution was added for extraction, then equal amounts of each extract were mixed, and Be was added as an internal standard to analyze the sample solution using ICP-OES.

The analytical values obtained of this method were equivalent to Ammonium Vanadomolybdate Absorption Photometry listed in Testing Methods for Fertilizers.

The authenticity of this analysis method was confirmed using a fertilizer in which cow dung compost was mixed with superphosphate and a fertilizer in which bark compost was mixed with superphosphate. By the way, these fertilizers can be newly produced from December 2019. As a result of analyzing these fertilizers, the SP recovery rates were 97 % and 100 %, and it was possible to apply this analysis method to fertilizers produced by mixing these raw materials.

The repeatability standard deviation and intermediate relative standard deviation were calculated by analyzing the parallel analysis for 5 days, and the results were 0.7 %–1.9 % and 0.8 %–2.0 %. The lower limit of quantification was estimated to be about 0.02 % (mass fraction).

Key words Fertilizer, citrate-soluble phosphoric acid, ICP-MS

(Research Report of Fertilizer, 15, 24-32, 2022)