

### 3 硝酸性窒素分析のためのフェノール硫酸法の改良と性能評価

— 室間共同試験による妥当性確認 —

白澤優子<sup>1</sup>, 加藤公栄<sup>1</sup>

**キーワード** 上下転倒式回転振り混ぜ機, 垂直往復振とう機, 硝酸性窒素, 肥料, 共同試験

#### 1. はじめに

市場のグローバル化が進む中, 適合性評価に係る手続きが国際貿易の障害となることが無いように, WTO/TBT 協定では国際規格を用いることが義務づけられており, 我が国においても ISO/IEC 17025 (JIS Q 17025)<sup>1)</sup>を踏まえた分析結果の信頼性確保が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 分析を行う際には国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. また, 肥料の品質の確保等に関する法令で定められた肥料の主成分<sup>2~4)</sup>に係る定量及び量の算出方法については, 農林水産省告示<sup>4~6)</sup>により肥料等試験法<sup>7)</sup>が指定されている. このため, 肥料等試験法は妥当性が確認されている必要がある.

現在, 肥料等試験法に記載されているフェノール硫酸法を用いた硝酸性窒素の分析法について, 白澤ら<sup>8)</sup>が固形肥料については垂直往復振とう機を用いた試料溶液調製の方法を, 液状肥料については手振り混ぜを行う試料溶液調製方法を検討し, 改良した分析法について, 単一試験室における妥当性 (SLV: Single Laboratory Validation) を確認<sup>8)</sup>している. 今回, 改良した分析法について, 国際的に標準とされる室間共同試験による妥当性確認 (HCV: Harmonized Collaborative Validation) を実施したので, その概要を報告する.

#### 2. 材料及び方法

##### 1) 均質性確認用試料及び共同試験用試料の調製

①試験用試料の選定: 今般の肥料法制度の改正を踏まえ, 本共同試験では分析用試料として硝酸性窒素を保証成分量としている肥料の他に, 硝酸性窒素を含有しているが保証成分量としていなかった比較的有機質の多い肥料を事前に探索し, 該当した堆肥 1 銘柄を固形肥料の試料に含めた. 固形肥料として, 配合肥料 (無機配合肥料), 化成肥料 1 (数字は番号. 以下同じ) (無機化成肥料), 化成肥料 2 (効果発現促進材として硝酸石灰を添加), また液状肥料として, 液状複合肥料 1 (有機入り複合肥料), 家庭園芸用複合肥料 1 及び液状複合肥料 2 (効果発現促進材として硝酸石灰を添加) を使用した. その含有する硝酸性窒素の量が流通肥料の保証成分量として多い濃度範囲を網羅するように選定した.

②固形肥料の試料調製: 硝酸ソーダ, 化成肥料 (2 種類), 配合肥料, 堆肥を目開き 500  $\mu\text{m}$  の網ふるいを通過するまで粉碎後, 均質になるようによく混合した. 次に, 5 種類の肥料について, 円筒ポリ容器に約 1.9 g 充填したものを各 56 個作成し, 各容器に乱数表を用いてランダムに番号 (1~280) を貼付したものを試料とした. これらの識別した 5 種類の試料から乱数表を用いてランダムに 10 個ずつ抜き取り均質性確認用試料とした.

③液状肥料の試料調製: 液状窒素肥料, 液状複合肥料 (2 種類), 家庭園芸用複合肥料 (2 種類) をねじ式ポリ容器に約 0.76 g 分注したものを各 56 個作成し, 各容器に乱数表を用いてランダムに番号 (1~280) を貼付し

<sup>1</sup> 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

たものを試料とした。

また、固形肥料及び液状肥料の各 5 種類の試料から無作為にそれぞれ 2 個ずつ抽出したものを共同試験用試料とし、以下の試験室に送付した。

(共同試験参加試験室)

- ・ 片倉コープアグリ株式会社 旭川工場
- ・ サンアグロ株式会社 砂川工場
- ・ 清和肥料工業株式会社 いわき工場
- ・ 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 肥料検査課
- ・ 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 肥飼料検査課
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター 肥飼料検査課
- ・ 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 肥料検査課
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター 肥料検査課
- ・ 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 肥料鑑定課
- ・ 福栄肥料株式会社 石巻工場
- ・ ホクレン肥料株式会社 北見工場
- ・ ホクレン肥料株式会社 釧路工場
- ・ ホクレン肥料株式会社 空知工場

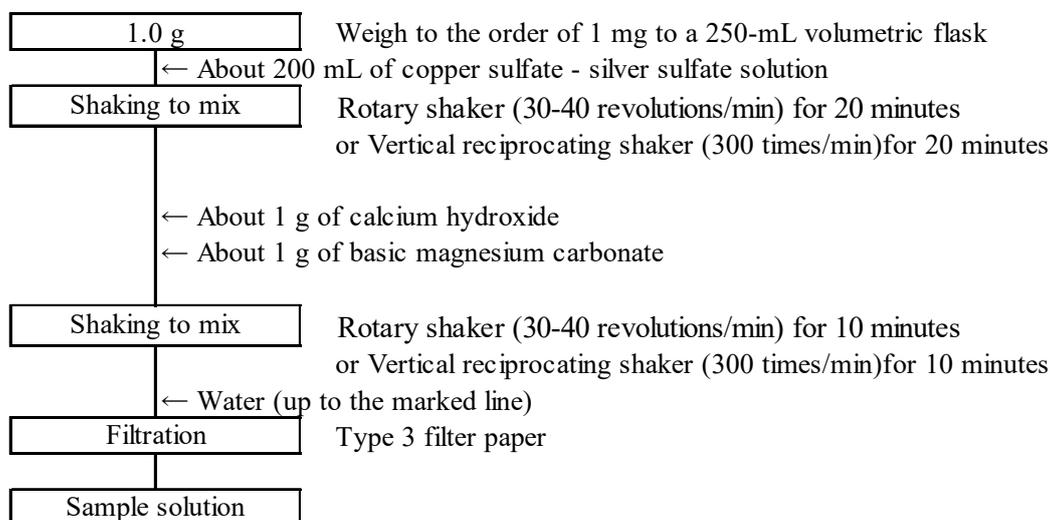
(敬称略 50 音順)

## 2) 装置

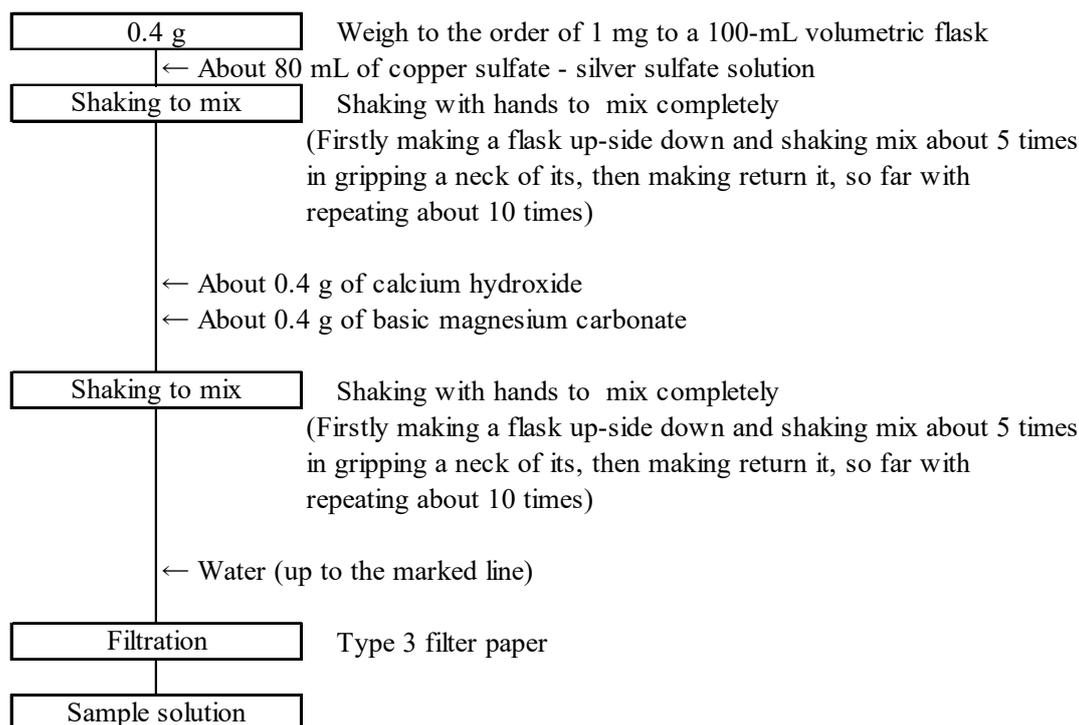
化学天秤、上下転倒式回転振り混ぜ機(または垂直往復振とう機)、水浴、分光光度計、は各試験室が保有しているものを使用した。

## 3) 分析方法

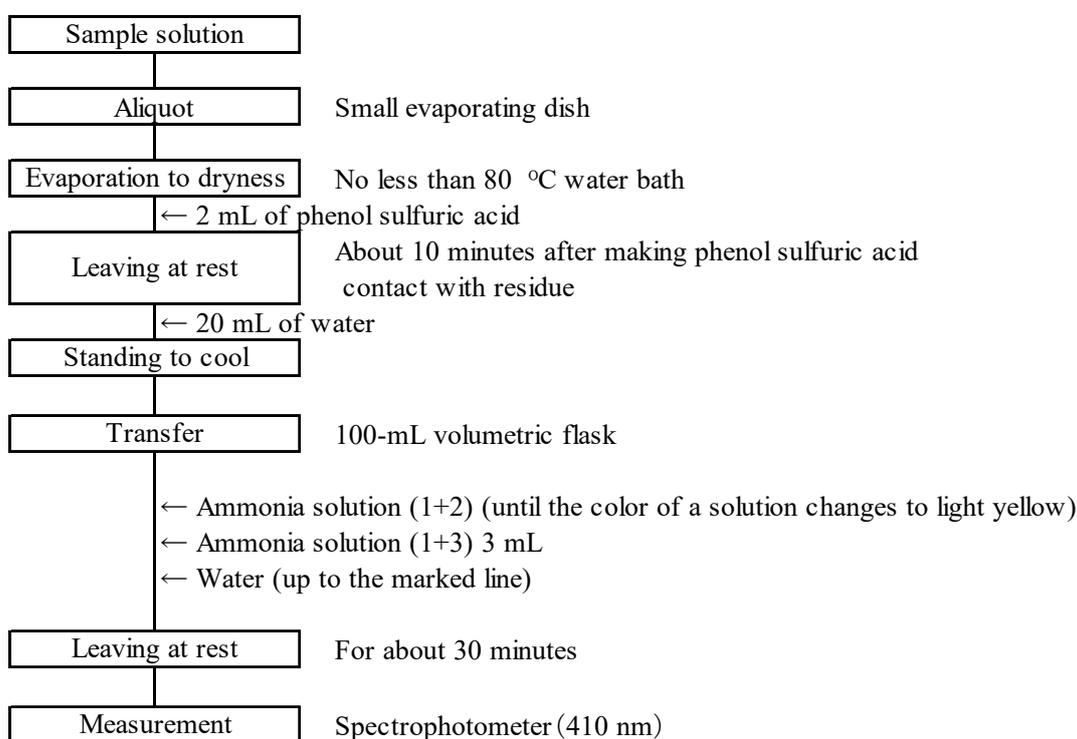
肥料等試験法 4.1.3 硝酸性窒素 4.1.3.c フェノール硫酸法により測定した。なお、参考のため、フローシートを Scheme 1 に示した。



Scheme 1 The flow sheet of extraction procedure in solid fertilizer



Scheme 2 Simple extraction procedure (Shaking to mix completely) in liquid fertilizer



Scheme 3 Flow sheet for quantitation method of nitrate nitrogen in fertilizers

#### 4) 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル<sup>9)</sup>に従い, 1)により調製, 抽出した合計 50 試料について各試料に

つき 2 点併行で分析して均質性を確認した。

### 5) 共同試験

共同試験に参加した 13 試験室の各試験室で使用した分光光度計の型式及び測定波長, 並びに振り混ぜ機器の種類は Table 1 のとおり. それぞれの試験室に 1) により調製した計 20 試料(固形肥料として 10 試料, 液状肥料として 10 試料), その他に分析手順確認用試料として固形肥料と液状肥料を各 2 点, 並びに試験実施要領を配付し, 各試験室において 2021 年 11 月 4 日~2021 年 12 月 24 日の期間(追加で依頼した一部の試験室は 2022 年 1 月 14 日までの期間)に, 各試料に対応する 3) の分析法に従って分析した.

Table 1 Equipment used

Lab ID <sup>a)</sup>	Model of spectrophotometer	Shaker (Selected in preparing the sample solution in solid fertilizer)
A	SHIMADZU, UV-1800	Vertical reciprocating shaker
B	HITACHI, U-1900	(Constant temperature) upside down rotary shaker
C	SHIMADZU, UV-1800	(Constant temperature) upside down rotary shaker
D	HITACHI, U-1800	(Constant temperature) upside down rotary shaker
E	SHIMADZU, UV-1800	Vertical reciprocating shaker
F	JASCO, V-670	(Constant temperature) upside down rotary shaker
G	HITACHI, U-5100	(Constant temperature) upside down rotary shaker
H	SHIMADZU, UV-1800	Vertical reciprocating shaker
I	SHIMADZU, UV-1800	Vertical reciprocating shaker
J	SHIMADZU, UV-1850	(Constant temperature) upside down rotary shaker
K	HITACHI, UH5300	(Constant temperature) upside down rotary shaker
L	SHIMADZU, UVmini-1240	Vertical reciprocating shaker
M	SHIMADZU, UVmini-1240	Vertical reciprocating shaker

a) Laboratory identification (random order)

## 3. 結果及び考察

### 1) 共同試験用試料の均質性確認

固形肥料について各 5 種類の試料を 2 点併行で分析した総平均値( $\bar{x}$ ), 一元配置分散分析の統計量から算出した併行標準偏差( $s_r$ ), 試料間標準偏差( $s_{bb}$ ), 併行精度を含む試料間標準偏差( $s_{b+r}$ )を Table 2 に示した. さらに, 肥料等試験法に示されている室間再現精度の目安( $CRSD_R$ )及びそれらから算出(式 1)した推定室間再現標準偏差( $\hat{\sigma}_R$ )を同じく Table 2 に示した.

均質性の判定は, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコルの手順を参考に実施した. まず, 等分散性を確認するため, 分析結果について Cochran の検定を実施した. その結果, 2 試料の分析値が外れ値と判定され除外した. 外れ値除外後の分析結果について, 一元配置分散分析を実施し, 併行標準偏差( $s_r$ )及び試料間標準偏差( $s_{bb}$ )を求め, (式 3)により併行標準偏差( $s_r$ )を評価した. 次に, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコルの十分に均質の判定式(式 2)を用いて均質性の判定を行った. その結果, 全ての試料で判定式(式 2)を満たしていたことから, 共同試験用試料として妥当な均質性を有していることを確認した. なお, 参考のため, 併行精度

を評価する式(式 3)を下記に示す. また(式 4)によって併行精度を含む試料間標準偏差( $s_{b+r}$ )を算出したところ, いずれの試料も推定室間再現標準偏差( $\hat{\sigma}_R$ )と比較して小さい値であった.

$$\hat{\sigma}_R = CRSD_R \times \bar{x} / 100 \quad \dots (式 1)$$

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 2)$$

$$s_r < 0.5\sigma_p = 0.5\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 3)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_r^2 + s_{bb}^2} \quad \dots (式 4)$$

$\hat{\sigma}_R$ : 推定室間再現標準偏差

$CRSD_R$ : 肥料等試験法に示されている室間再現精度(室間再現相対標準偏差(%))の目安

$\bar{x}$ : 総平均値

$s_r$ : 併行標準偏差

$\sigma_p$ : 妥当性確認を行う目的に適合した標準偏差

$s_{bb}$ : 試料間標準偏差

$s_{b+r}$ : 併行精度を含む試料間標準偏差

Table 2 Homogeneity test results

Sample	No. of Sample	$\bar{x}$ <sup>b)</sup>	$CRSD_R$ <sup>d)</sup>	$\hat{\sigma}_R$ <sup>e)</sup>	$s_{bb}$ <sup>f)</sup>	$0.3\hat{\sigma}_R$ <sup>g)</sup>	$s_r$ <sup>h)</sup>	$0.5\hat{\sigma}_R$ <sup>i)</sup>	$s_{b+r}$ <sup>j)</sup>
	$p/q$ <sup>a)</sup>	(%) <sup>c)</sup>	(%)	(%) <sup>e)</sup>	(%) <sup>c)</sup>	(%) <sup>c)</sup>	(%) <sup>c)</sup>	(%) <sup>c)</sup>	(%) <sup>c)</sup>
Sodium nitrate	9 (1)	17.21	3	0.52	0.03	0.155	0.041	0.26	0.052
Formulated fertilizer	9 (1)	11.69	3	0.35	0 <sup>k)</sup>	0.105	0.064	0.18	0.064
Compound fertilizer 1	10 (0)	6.96	4	0.28	0 <sup>k)</sup>	0.084	0.045	0.14	0.045
Compound fertilizer 2	10 (0)	0.739	6	0.04	0 <sup>k)</sup>	0.013	0.005	0.02	0.005
Compost	10 (0)	0.178	6	0.01	0.001	0.003	0.004	0.01	0.004

a) The number of samples after exclusion ; ( ): The number of outliers from Cochran test

b) Grand mean value ( $n = 10 \times$  number of repetition(2))

c) Mass fraction

d) Criteria of precision for Reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2021

e) The estimated standard deviation of reproducibility calculated based on  $CRSD_R$

f) Standard deviation of sample-to-sample

g) The value for the test :  $s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R$

h) Repeatability standard deviation

i) Parameters for the determination of repeatability standard deviation ( $S_r$ )

j) Standard deviation of sample-to-sample including repeatability :  $s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$

k) When the variance between groups < the variance within a group,  $s_{bb}^2$  was considered as 0

## 2) 共同試験結果及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験結果を Table 3-1 及び 3-2 に示した. 試験室 G の結果については検量線

用標準液調製の手順に不備があると考えられたため、以降の統計解析には用いないこととした。試験室 G を外した 12 試験室の結果について、IUPAC の共同試験プロトコルに従って統計解析を実施した。まず外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施した。その結果、12 試験室のうち、固形肥料については、硝酸ソーダで 1 試験室、配合肥料で 1 試験室、化成肥料 1 で 1 試験室、化成肥料 2 で 1 試験室が、液状肥料については液状窒素肥料で 1 試験室、液状複合肥料で 2 試験室、家庭園芸用複合肥料 1 で 2 試験室、液状複合肥料 2 で 1 試験室が外れ値として判定された。

Table 3-1 Individual result of nitrate nitrogen (in Solid Fertilizer) (%)<sup>a)</sup>

Lab ID <sup>b)</sup>	Sodium nitrate		Formulated fertilizer		Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2		Compost	
	A	16.75	16.77	11.39	11.55	6.88	6.94	0.743	0.735	0.195
B	16.40	16.40	11.20	11.00	6.80	6.80	0.700	0.700	0.150	0.167
C	16.84	16.69	11.72 <sup>d)</sup>	11.11 <sup>d)</sup>	6.94	6.96	0.740	0.721	0.183	0.188
D	16.12	16.20	11.06	11.02	6.76	6.76	0.667	0.660	0.190	0.190
E	16.62	16.64	11.28	11.18	6.80	6.78	0.702	0.700	0.162	0.162
F	15.09 <sup>d)</sup>	15.95 <sup>d)</sup>	11.21	11.17	6.93	6.85	0.710 <sup>d)</sup>	1.76 <sup>d)</sup>	0.196	0.200
G <sup>c)</sup>	17.85	17.92	12.06	12.21	9.24	9.27	1.18	1.26	0.554	0.620
H	16.49	16.71	11.72	11.51	6.90	6.86	0.753	0.737	0.202	0.198
I	16.26	16.38	11.32	11.37	6.91	6.91	0.716	0.723	0.167	0.166
J	15.95	15.90	11.20	11.07	6.62 <sup>d)</sup>	5.98 <sup>d)</sup>	0.716	0.718	0.169	0.178
K	16.51	16.05	11.32	11.28	6.97	6.77	0.692	0.734	0.191	0.183
L	17.24	17.15	11.77	11.91	7.08	7.12	0.753	0.746	0.187	0.183
M	16.02	16.22	11.28	11.37	6.58	6.44	0.690	0.716	0.130	0.145

a) Mass fraction

b) Laboratory identification (random order)

c) Not Adopted the result for flaw of analytical procedure

d) Outlier of Cochran test

e) Outlier of Single Grubbs test

f) Outlier of Paired Grubbs test

Lab ID <sup>b)</sup>	Liquid nitrogen fertilizer		Liquid mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 1		Liquid mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 2	
A	8.74	8.80	7.02	6.92	4.42	4.50	1.73	1.73	1.04	1.03
B	8.00	8.20	6.60	6.60	4.60	4.80	1.55 <sup>d)</sup>	1.75 <sup>d)</sup>	0.950	1.00
C	8.81	8.66	6.97	6.72	4.76 <sup>d)</sup>	4.28 <sup>d)</sup>	1.72	1.68	1.04	1.01
D	8.48	8.56	6.88	6.80	4.48	4.40	1.66	1.62	1.01	0.980
E	8.67	8.69	6.98	6.92	4.35	4.33	1.69	1.69	1.00	1.01
F	8.72	8.85	8.52 <sup>f)</sup>	7.74 <sup>f)</sup>	4.52 <sup>d)</sup>	5.25 <sup>d)</sup>	1.77	1.83	1.08	1.05
G <sup>c)</sup>	9.72	9.86	8.37	8.44	5.28	5.65	2.01	2.07	1.39	1.45
H	8.38	8.35	6.80	6.68	4.30	4.24	1.61	1.65	0.996	1.01
I	7.27 <sup>e)</sup>	7.61 <sup>e)</sup>	5.84 <sup>f)</sup>	6.21 <sup>f)</sup>	3.64	3.64	1.51	1.53	0.872	0.957
J	8.60	8.42	6.70	6.68	4.45	4.45	1.63	1.59	1.05	1.01
K	8.45	8.27	6.37	6.83	4.11	3.96	1.60	1.67	1.00	0.990
L	8.90	8.99	7.20	7.12	4.54	4.57	1.77	1.76	1.05	1.05
M	8.93	8.88	7.10	7.23	4.57	4.57	1.78	1.75	1.06	1.07

The foot note is shown in Table 3-1

### 3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した分析結果により算出<sup>10, 11)</sup>した平均値, 併行標準偏差 ( $s_r$ ) 及び併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ ), 並びに室間再現標準偏差 ( $s_R$ ) 及び室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) を Table 4-1 及び 4-2 に示した.

固形肥料については 5 種類の試料について統計解析した結果, 平均値は 0.178 % (質量分率) ~16.47 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 ( $s_r$ ) は 0.01 % (質量分率) ~0.13 % (質量分率), 併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) は 0.8 % ~3.1 %, 室間再現標準偏差 ( $s_R$ ) は 0.02 % (質量分率) ~0.37 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) は 2.2 % ~10.8 % であり, 液状肥料についても同様に平均値は 1.01 % (質量分率) ~8.61 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 ( $s_r$ ) は 0.02 % (質量分率) ~0.13 % (質量分率), 併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) は 1.0 % ~2.4 %, 室間再現標準偏差 ( $s_R$ ) は 0.05 % (質量分率) ~0.31 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) は 3.1 % ~7.2 % であった.

今回, 固形肥料及び液状肥料について, いずれの試料においても併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) 及び室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) も肥料等試験法附属書 A の妥当性確認の手順に示している各濃度レベルにおける精度の許容範囲内であったことから, 本法の精度は肥料等試験法の性能規準の要求事項に適合していた.

Table 4-1 Statistical analysis of Collaborative study results (in Solid Fertilizer)

Sample	Labs $p(q)^a$	Mean <sup>b)</sup> (%) <sup>c)</sup>	$s_r^d$ (%) <sup>c)</sup>	$RSD_r^e$ (%)	$2*CRSD_r^f$ (%)	$s_R^g$ (%) <sup>c)</sup>	$RSD_R^h$ (%)	$2*CRSD_R^i$ (%)
Sodium nitrate	11 (1)	16.47	0.13	0.8	3	0.37	2.3	6
Formulated fertilizer	11 (1)	11.33	0.09	0.8	3	0.25	2.2	6
Compound fertilizer 1	11 (1)	6.85	0.06	0.8	4	0.15	2.2	8
Compound fertilizer 2	11 (1)	0.716	0.01	1.7	6	0.03	3.7	12
Compost	12 (0)	0.178	0.01	3.1	6	0.02	10.8	12

a) Number of laboratories, where  $p$ =number of laboratories retained after outlier removed and  $(q)$ =number of outliers

b) Grand mean value of the results of duplicate sample which were reported from laboratory retained after outlier ( $n$ =The number of laboratories( $p$ ) $\times$ The number of repetition(2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Repeatability relative standard deviation

f) Criteria of repeatability relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizer 2021

g) Standard deviation of reproducibility

h) Reproducibility relative standard deviation

i) Criteria of reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizer 2021

Table 4-2 Statistical analysis of Collaborative study results (in Liquid Fertilizer)

Sample	Labs $p(q)^a$	Mean <sup>b)</sup> (%) <sup>c)</sup>	$s_r^d$ (%) <sup>c)</sup>	$RSD_r^e$ (%)	$2*CRSD_r^f$ (%)	$s_R^g$ (%) <sup>c)</sup>	$RSD_R^h$ (%)	$2*CRSD_R^i$ (%)
Liquid nitrogen fertilizer	11 (1)	8.61	0.09	1.0	4	0.27	3.1	8
Liquid mixed fertilizer 1	10 (2)	6.86	0.13	1.9	4	0.23	3.3	8
Home garden-use mixed fertilizer 1	10 (2)	4.35	0.06	1.5	4	0.31	7.2	8
Liquid mixed fertilizer 2	11 (1)	1.68	0.03	1.6	4	0.08	5.1	8
Home garden-use mixed fertilizer 2	12 (0)	1.01	0.02	2.4	4	0.05	4.5	8

The foot note is shown in Table 4-1

#### 4. まとめ

肥料等試験法に記載された硝酸性窒素のフェノール硫酸法による分析法について、13 試験室において固形肥料と液状肥料についてそれぞれ 5 種類(10 点)の試料を用いて国際的に標準とされる共同試験を実施し、室間再現性の評価を行った。

その結果、固形肥料については平均値 0.178 % (質量分率) ~16.47 % (質量分率) の範囲において、室間

再現相対標準偏差( $RSD_R$ )は2.2%~10.8%であり、液状肥料については平均値1.01%(質量分率)~8.61%(質量分率)の範囲において、室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )は3.1%~7.2%であり、肥料等試験法附属書Aに示されている各濃度レベルにおける精度の目安を満たした。

今回検討した、固形肥料について2種類の振り混ぜ機を使用する分析法、液状肥料については手振り混ぜを行う分析法は、すでに単一試験室による分析法の妥当性確認(SLV)がされていることから、本法は肥料等試験法における試験法分類 Type B(HCV 及び SLV)の結果が肥料等試験法附属書Aの要求事項を満たした試験法)に適合していることを確認した。

## 謝 辞

共同試験にご協力いただきました片倉コープアグリ株式会社 旭川工場、サンアグロ株式会社 砂川工場、清和肥料工業株式会社 いわき工場、福栄肥料株式会社 石巻工場、ホクレン肥料株式会社 北見工場、ホクレン肥料株式会社 釧路工場、ホクレン肥料株式会社 空知工場の各位に謝意を表します。

## 文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2017): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2018, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) 肥料の品質の確保等に関する法律施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改正令和 2 年 10 月 14 日, 農林水産省令第 308 号(2020)
- 3) 農林水産省告示:肥料の品質の確保等に関する法律施行規則第十一条第八項第三号の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1018 号(2021)
- 4) 農林水産省告示:肥料の品質の確保等に関する法律第十七条第一項第三号の規定に基づき、同法第四条第一項第三号並びに同条第二項第三号及び第四号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件, 平成 12 年 1 月 27 日, 農林水産省告示第 96 号, 最終改正令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1011 号(2021)
- 5) 農林水産省告示:特殊肥料の品質表示基準を定める件, 平成 12 年 8 月 31 日農林水産省告示第 1163 号, 最終改正令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1012 号(2021)
- 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等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1010 号(2021)
- 7) 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/shikhenho\\_2021.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2021.pdf) >
- 8) 白澤優子, 加藤公栄:フェノール硫酸法にける硝酸性窒素の試料溶液調製方法の改良, 肥料研究報告, **14**, 12~24(2021)
- 9) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78**(1), 145~196 (2006)
- 10) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2) , 331~343 (1995)

- 
- 11) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)

## Improved Determination and Performance Evaluation of Analysis Method for Nitrate Nitrogen by Phenol Sulfuric Acid : — Harmonized Collaborative Validation —

SHIRASAWA Yuko<sup>1</sup> and KATO Kimie<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Sapporo Regional Center

We conducted a collaborative study on analysis method for the nitrate nitrogen by phenol sulfuric acid due to evaluating performance of Testing Methods for Fertilizers 2021 test procedures, using (constant-temperature) upside down rotary shaker (hereinafter, referred to as rotary shaker) or commercially vertical reciprocating shaker and on simple extraction procedure shaking with hand (hereinafter, to as simple extraction method). In this collaborative study, all collaborators selected shaker for extraction of solid fertilizers, and performed simple extraction method of liquid one.

Each of five solid samples passed the test for homogeneity and five liquid samples, send to 13 collaborators as blind duplicates. In the test using solid samples, after identification of a result not adopted and outliers with Cochran test and Grubbs test, the mean values and the reproducibility relative standard deviation ( $RSD_R$ ) of determination of nitrate nitrogen were reported 0.178 % - 16.47 % as a mass fraction and 2.2 % - 10.8 %, respectively. In liquid one, those of determination of nitrate nitrogen were reported 1.01 % - 8.61 % as a mass fraction and 3.1 % - 7.2 %, respectively.

These results indicated that each method has acceptable precision for determination of nitrate nitrogen in these concentration ranges. In conclusion, those results demonstrated the validity of these methods for nitrate nitrogen in solid fertilizer using rotary shaker or commercially vertical reciprocating shaker and in liquid fertilizer on simple extraction method.

*Key words* upside down rotary shaker vertical reciprocating shaker nitrate nitrogen, fertilizer,  
Harmonized collaborative validation

(Research Report of Fertilizer, **15**, 33-43, 2022)