

4 硫黄を含む肥料のひ素分析における前処理方法の改良

— 単一試験室における妥当性確認 —

佐久間健太¹

キーワード ひ素, 硫黄, 原子吸光, 水素化物

1. はじめに

肥料の公定規格¹⁾では含有を許される有害成分の最大量等が定められており、ひ素についても含有許容量が定められている。肥料の公定規格では「硫黄及びその化合物」という種類の肥料の定めがあり、単体の硫黄のみならず、硫酸鉄や亜炭に硫酸を反応させたもの等が原料として使用することができることとなっている。また、肥料を使用しやすくしたり、効能を上げたりする目的で肥料には様々な材料(副資材)を使用することが認められており、硫黄及びその化合物には主に凝灰岩やゼオライトのような鉱物や腐植酸由来の有機物質が副資材として使用されることがある。肥料中のひ素の分析に関しては、肥料等試験法²⁾に記載されているとおり、分析試料を硝酸-硫酸-過塩素酸で分解する前処理方法がとられているが、硫黄及びその化合物として登録された硫黄(以下、「硫黄資材」とする。)に対して同法を適用すると、特に高純度の硫黄製品については硫黄が加熱によって液状化し、分解容器内に固形分が無くなるため突沸しやすくなり、分解液が容器の外に飛散することがあるため、分析値及び精度の低下の要因となる。また、硫黄自体は酸では分解されないため、分解操作終了後も硫黄が単体のまま分解容器内に残留することから、「抽出が適切に行われているかどうか判断に迷う」「分析操作が困難である」といった意見があがっていた。

そのため、肥料等試験法のひ素分析の前処理方法である「湿式灰化-塩酸煮沸」と同等の抽出性能を有していると考えられる「強熱による乾式灰化-塩酸煮沸」による前処理を行う分析法³⁾を参考にし、分解・抽出した溶液について水素化物発生原子吸光法への適用を検討し、単一試験室における妥当性確認を行ったので概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

硫黄及びその化合物のうち、硫黄を原料として使用している以下の肥料及び一般に流通している以下の土壌改良資材を用いた。なお、入手出来た試料量が少なかったため、目開き 500 μm のふるいを通過するまで乳鉢で粉碎したものを分析用試料とした。また、ベントナイトについては粉状の製品であったため、500 μm のふるいを全通することを確認してから使用した。

- (1) 硫黄資材-1: 石油を精製する際に副産される硫黄に、副資材として主に緑色凝灰岩を使用している硫黄資材
- (2) 硫黄資材-2: 石油を精製する際に副産される硫黄に、副資材として主に凝灰岩及び腐植酸を使用している硫黄資材
- (3) 硫黄資材-3: 石油を精製する際に副産される硫黄に、副資材として粘土、凝灰岩及びニトロフミン酸を使用している硫黄資材

¹ 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

- (4) 硫黄資材-4 及び硫黄資材-5: 石油を精製する際に副産される硫黄のみを原料として使用した硫黄資材
- (5) ゼオライト
- (6) ベントナイト

2) 試薬等の調製

- (1) 硝酸: 有害金属測定用(富士フィルム和光純薬)
- (2) 硫酸: 有害金属測定用(富士フィルム和光純薬)
- (3) 過塩素酸: 有害金属測定用(富士フィルム和光純薬)
- (4) 塩酸: 有害金属測定用(富士フィルム和光純薬)
- (5) 塩酸(1+100): (4)の塩酸の体積1と水の体積100とを混合したもの。
- (6) ひ素標準原液(As 100 µg/mL): JCSS(富士フィルム和光純薬)。
- (7) ひ素標準液(As 1 µg/mL): (6)のひ素標準原液(As 100 µg/mL)の一定量を(5)の塩酸(1+100)で正確に希釈し、ひ素標準液(As 1 µg/mL)を調製した。
- (8) ひ素標準液(As 0.1 µg/mL): (7)のひ素標準液(As 1 µg/mL)の一定量を(5)の塩酸(1+100)で正確に希釈し、ひ素標準液(As 0.1 µg/mL)を調製した。
- (9) 硝酸マグネシウム六水和物: 試薬特級(富士フィルム和光純薬)
- (10) エタノール(95): 試薬特級(富士フィルム和光純薬)
- (11) 硝酸マグネシウム・エタノール溶液: (9)の硝酸マグネシウム六水和物 20 g を(10)のエタノール(95) 100 mL に溶かしたもの。
- (12) 亜硫酸水: SO₂として質量分率 5.0 %以上のもの 和光特級(富士フィルム和光純薬)。
- (13) アンモニア水: 試薬特級(富士フィルム和光純薬)
- (14) よう化カリウム: 試薬特級(富士フィルム和光純薬)
- (15) よう化カリウム溶液: (14)のよう化カリウム 20 g を水に溶かして 100 mL としたもの。
- (16) 水酸化ナトリウム: 試薬特級(富士フィルム和光純薬)
- (17) 水酸化ナトリウム溶液: (16)の水酸化ナトリウム 5 g を水に溶かして 1000 mL としたもの。
- (18) テトラヒドロほう酸ナトリウム: 原子吸光分析用(関東化学)
- (19) テトラヒドロほう酸ナトリウム溶液: (18)のテトラヒドロほう酸ナトリウム 4 g を(17)の水酸化ナトリウム溶液に溶かして 1000 mL としたもの。
- (20) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水。

3) 装置及び器具

- (1) 原子吸光光度計: 島津製作所 AA-7000F
- (2) 水素化物発生装置: HVG-1
- (3) ホットプレート: 柴田科学 NP-6
- (4) 砂浴: ガス量及びけい砂の量を調整し、砂浴温度を 360 °C 以上にできるようにしたもの
- (5) 電気炉: Yamato FO 810
- (6) 全量フラスコ
- (7) 全量ピペット
- (8) ろ紙 3 種

4) 検討方法

多様な試料に対応する分析法である必要があることから、前処理方法の異なる次の3つの分析方法について実施し、回収率を比較した。

(1) 分析法の比較

肥料等試験法²⁾(湿式分解法)、第9版食品添加物公定書³⁾におけるヒ素試験法を参考とした方法(乾式灰化法)及び JIS K 8088 で規定されているアンモニア水で抽出する方法⁴⁾(アンモニア水抽出法)のいずれが硫黄資材に対して適用可能か調べるため、分析用試料(硫黄資材 1, 2 及び 3)を用いて分析を行った。

① 湿式分解法(肥料等試験法のヒ素の分析法)

分析試料 2.00 g を 300 mL トールビーカーに入れ、少量の水と馴染ませた後硝酸約 10 mL 及び硫酸約 5 mL を加え、トールビーカーを時計皿で覆い一夜放置した。170 °C ~ 220 °C のホットプレート又は砂浴上で穏やかに 30 分間以上加熱し、泡が生じなくなった後、ホットプレート又は砂浴の温度を 300 °C 以上にして窒素酸化物(黄褐色煙)の発生が収まるまで加熱した。放冷後、過塩素酸約 5 mL を加え、トールビーカーを時計皿で覆い、300 °C 以上のホットプレート又は砂浴上で 2~3 時間加熱して分解した。時計皿をずらし、ホットプレート又は砂浴上で加熱を続けて液量が 2 mL 以下になるまで濃縮した。放冷後、塩酸(1+10)約 5 mL 及び水約 20 mL を加え、トールビーカーを時計皿で覆い、穏やかに加熱して溶かした。放冷後、水で 100 mL 全量フラスコに移し入れ、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。

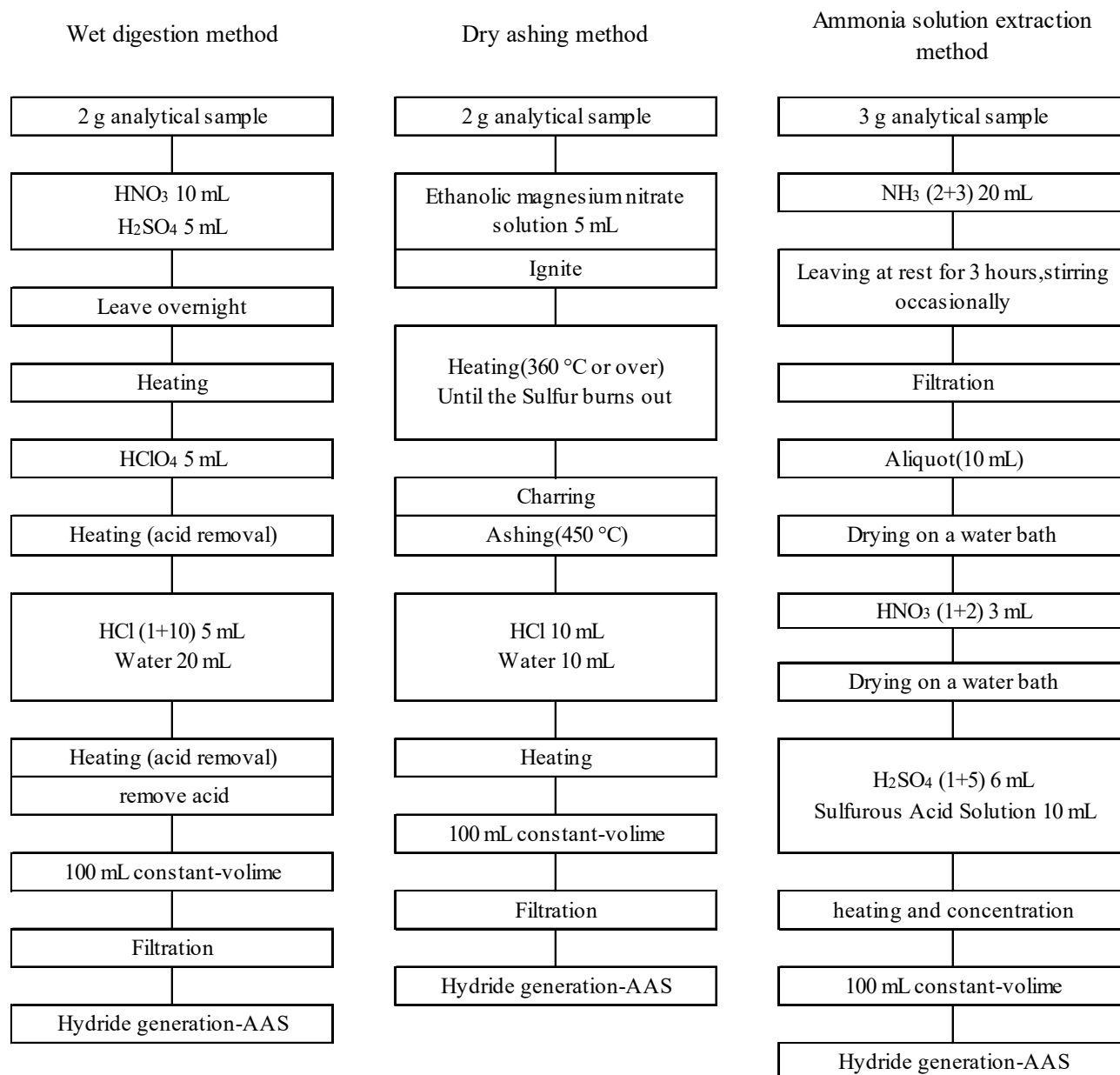
② 乾式灰化法

分析試料 2.00 g を 200 mL ビーカーに入れ、硝酸マグネシウム・エタノール溶液 5 mL を加えて軽く振り混ぜ、分析試料とよく馴染ませた後、点火棒等を用いて点火し、エタノールが無くなり火が消えるまで放置した。放冷後、砂浴又はホットプレートで硫黄が発火するまで(360 °C 以上)加熱した後、硫黄が全て分解されて硫黄酸化物(黄褐色煙)の発生が収まるまで加熱を続けた。放冷後、電気炉に入れ、穏やかに加熱して炭化させた後、450 °C ± 5 °C で 8~16 時間強熱して灰化させた。放冷後、少量の水で試料を潤してから塩酸約 10 mL 及び水約 10 mL を加えて時計皿で覆い、加熱溶解した。放冷後、水で 100 mL 全量フラスコに移し、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過したものを試料溶液とした。なお、灰化時に添加する硝酸マグネシウム・エタノール溶液の濃度及び添加量については粉乳中のヒ素を測定する際の灰化時に添加する硝酸マグネシウムの添加量の最適量を検討した文献⁵⁾を参考にし、硝酸マグネシウムの濃度は 200 g/L、添加量は約 5 mL とした。

③ アンモニア水抽出法(JISK8088 で定められている抽出法を用いた方法)

分析試料 3.00 g を 200 mL ビーカーに入れ、アンモニア水(2+3) 20 mL を加えて 15 分に 1 回程度軽く振り混ぜる作業を行いながら、3 時間放置した。ろ紙(5 種 C)を用いてろ過し、ろ液 10 mL を蒸発皿にとり、水浴上で加熱して蒸発乾固した。硝酸(1+2) 3 mL を加えて水浴上で加熱して蒸発乾固し、更に硫酸(1+5) 6 mL 及び亜硫酸水 10 mL を加え、約 2 mL になるまで水浴上で加熱して濃縮した。放冷後、水で 100 mL 全量フラスコに移し、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過したものを試料溶液とした。

各分析方法のフローシートは Scheme のとおり。



Scheme Flow of the arsenic analysis method examined in this examination

(2) 真度評価

自然汚染試料を必要量確保することが困難だったため、真度を推定するためにひ素の含有量が定量下限未満であることを確認した硫黄資材 5 に試料中のひ素の濃度がそれぞれ 5 mg/kg, 25 mg/kg 及び硫黄資材のひ素の含有許容量である 50 mg/kg となるようにひ素標準液を添加し、水浴上で乾固させた試料を用いて、各濃度につき 3 点併行で添加回収試験を行った。

(3) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を推定するため、硫黄資材 5 に試料中のひ素の濃度がそれぞれ 5 mg/kg 及び 25 mg/kg となるよう標準液を添加し、水浴上で乾固させた試料を用いて、各濃度につきそれぞれ 2 点併行で日を変えて 5 日間分析を行った。

(4) 定量下限等の推定

硫黄資材 5 に試料中のひ素の濃度が 0.1 mg/kg になるようにひ素標準液を添加した硫黄資材について、7 点併行で試験を実施し、肥料等試験法附属書 A の妥当性確認の手順に従って定量下限及び検出下限を推定した。

3. 結果及び考察

1) 各分析法による分析結果の比較

JIS K 8088 で規定されているアンモニア水で抽出する方法が硫黄資材に対して適用可能か調べるため、肥料等試験法²⁾でひ素が定量された分析用試料(硫黄資材 1, 2 及び 3)に対して、湿式分解法とアンモニア水抽出法により試験を実施し、得られたひ素の測定値を比較した。結果は Table 1 のとおり、アンモニア水抽出法によるひ素の測定値が湿式分解法でのひ素の測定値に比べて低くなった。

Table 1 The comparison of arsenic values by Wet digestion method and Ammonia solution extraction method

Sample	Wet digestion method ^{a)}	Ammonia solution ^{a)} extraction method	Ammonia solution extraction method/Wet digestion method
	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)
Sulfur fertilizer-1	2.1	0.3	14.3
Sulfur fertilizer-2	3.8	N.D.	-
Sulfur fertilizer-3	5.5	2.4	43.6

a)Single measurement value

次に、同様の硫黄資材に対して、硝酸マグネシウムを添加した後灰化・塩酸煮沸をする方法(以下、「本法」とする。)を用いて試験を実施し、得られたひ素の測定値を上述の湿式分解法で得られたひ素の測定値と比較した。結果は Table 2 のとおり、良好な結果が得られた。本法は湿式分解法と異なり、硫黄が加熱により完全に分解するため、硫黄中のひ素を確実に抽出することが出来る。さらに、酸による分解や濃縮の工程がないため、酸が突沸することによる分析値及び精度の低下を招くリスクが低くなる。これらのことから、本法は従来の湿式分解法での問題点を解消することが出来ると考えられたため、今後の検討では本法を採用することとした。

Table 2 The comparison of arsenic values by Wet digestion method and Dry ashing method

Sample	Wet digestion method ^{a)}	Dry ashing method ^{a)}	Dry ashing method/ Wet digestion method
	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)
Sulfur fertilizer-1	2.1	2.2	104.8
Sulfur fertilizer-2	3.8	3.7	97.4
Sulfur fertilizer-3	5.5	5.8	105.5

a)Single measurement value

なお、湿式分解法でひ素の測定値が定量下限未満となった硫黄資材(硫黄資材 4 及び 5)に対しても本法を用いて試験を実施したところ、Table 3 のとおり、いずれの試料に対しても定量下限、又は定量下限付近の値となった。

Table 3 Result of quantitative value of arsenic in arsenic-free fertilizers

Sample	Wet digestion method ^{a)}	Dry ashing method ^{a)}
	(mg/kg)	(mg/kg)
Sulfur fertilizer-4	N.D.	0.1
Sulfur fertilizer-5	N.D.	N.D.

a)Single measurement value

肥料として利用される硫黄のほとんどは石油を精製する際に副産される硫黄である。一般的には石油中の硫黄化合物を取り除くための水素化脱硫によって生じた硫化水素を原料として単体の硫黄が生産されており、その製法から、高い純度の硫黄が得られることが知られている。本検討において使用した硫黄資材は全て石油から回収された硫黄であり、副資材を使用していない硫黄資材についてはひ素の含有がほとんど認められなかった。これらのことから、石油から回収された硫黄はひ素を含有する恐れはほぼないものと考えられた。そのため、硫黄資材 1, 2 及び 3 中のひ素に関しては副資材由来であると考え、副資材として利用されることのあるゼオライト及びベントナイト中のひ素についても試験を行った。

結果は Table 4 のとおり、一定量のひ素が検出される結果となった。以上のことから、肥料としての硫黄中に含まれているひ素の大部分は、硫黄以外の副資材由来であることが示唆された。

Table 4 Result of quantitative value of arsenic in subsidiary material for sulfur fertilizer

Sample	Wet digestion method ^{a)}	Dry ashing method ^{a)}	Dry ashing method/ Wet digestion method
	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)
Zeolite	3.4	3.4	100.0
Bentonite	4.8	4.5	93.8

a)Single measurement value

2) 添加回収試験による真度の評価

自然汚染試料を必要量確保することが困難だったため、ひ素の濃度が定量下限未満であることを確認した硫黄資材 5 に 5 mg/kg, 25 mg/kg 及び 50 mg/kg 相当量のひ素標準液を添加し、水浴上で乾固させた試料を用いて、添加回収試験を行った。結果は Table 5 のとおり、回収率は 98.9 %~101.6 %であり、肥料等試験法²⁾付属書 A で示した真度(回収率)の目標の範囲内であった。

Table 5 Result of recovery test

Spiked level (mg/kg)	Recovery rate (%)	Criteria of the trueness ^{a)} (%)
5	98.9	85~115
	100.8	
	99.5	
25	99.0	90~110
	100.0	
	99.6	
50	101.6	90~110
	101.5	
	100.0	

a) Criteria of the trueness shown in Testing Method of Fertilizers

2) 中間精度及び併行精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため、異なる 2 濃度になるようにひ素標準液を添加した硫黄資材について、2 点併行で日を変えて 5 回試験を実施した。得られた結果を Table 6 に示した。また、この結果から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 Table 7 に示した。ひ素濃度の平均値は 4.92 mg/kg 及び 24.8 mg/kg、併行相対標準偏差は 1.5 % 及び 1.4 %、中間相対標準偏差は 1.4 % 及び 1.9 % であった。

この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法²⁾付属書 A に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安以内であった。

Table 6 Individual result of repetition test of changing the date

Sample	Spiked level (mg/kg)	Test day				
		1	2	3	4	5
Sulfur fertilizer	5	4.84	4.87	4.84	4.96	4.90
		4.87	4.90	5.02	4.94	5.04
	25	24.6	25.0	25.0	24.6	24.2
		24.6	25.8	25.2	24.3	24.9

Table 7 Statistical analysis of repetition test result for estimating precision

Sample	Spiked level (mg/kg)	Mean ^{a)} (mg/kg)	Repeatability			Intermediate precision		
			s_r ^{b)} (mg/kg)	RSD_r ^{c)} (%)	$CRSD_r$ ^{d)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{e)} (mg/kg)	$RSD_{I(T)}$ ^{f)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)
Sulfur fertilizer	5	4.92	0.07	1.5	8	0.07	1.5	13
	25	24.8	0.34	1.4	6	0.48	1.9	9

- a) Mean value (n = sample number of parallel test (2) × number of test days (5))
 b) Repeatability standard deviation
 c) Repeatability relative standard deviation
 d) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers
 e) Intermediate standard deviation
 f) Intermediate relative standard deviation
 g) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

8) 定量下限等の推定

本法の定量下限等を確認するため、ひ素の濃度が 0.1 mg/kg になるようにひ素標準液を添加した硫黄資材について、7点併行で試験を実施した結果を Table 8 に示した。平均値は 0.118 mg/kg であり、その標準偏差は 0.008 mg/kg であった。なお、定量下限は標準偏差×10、検出下限は標準偏差×2× $t(n-1, 0.05)$ を用いて算出したところ、本法の定量下限は 0.08 mg/kg 程度、検出下限は 0.031 mg/kg 程度と推定された。

肥料等試験法附属書 A では有害成分の定量下限は規制値の 1/5 以下であることが要求されており、硫黄及びその化合物におけるひ素の規制値は 50 mg/kg であるため、本法は十分な定量下限を有していることを確認した。

Table 8 Calculated LOQ and LOD values

Sample	Spiked level (mg/kg)	Mean ^{a)} (mg/kg)	Standard deviation (mg/kg)	LOQ ^{b)} (mg/kg)	LOD ^{c)} (mg/kg)
Sulfur fertilizer	0.1	0.103	0.0081	0.081	0.031

- a) Mean value ($n = 7$)
 b) Standard deviation×10
 c) Standard deviation×2× $t(n - 1, 0.05)$

4. まとめ

硫黄資材中のひ素の分析法を検討し、単一試験室における妥当性確認試験を実施したところ、次の結果を得た。

- (1) 肥料として流通している硫黄(原油を精製する際に副産される)については、ひ素をほとんど含有していない可能性があることが分かった。

(2) 副資材を材料として使用した硫黄資材では、JIS K 8088 で規定されているアンモニア水のみによる抽出では硫黄資材のひ素を評価する方法として不十分であった。

(3) 第9版食品添加物公定書³⁾におけるヒ素試験法を参考にして新たに検討した乾式灰化法は、従来のひ素の分析法と同等の抽出能力があることを確認した。

(4) 真度を推定し評価するため、肥料として流通している硫黄を用いて添加回収試験を実施した。添加濃度 5 mg/kg～25 mg/kg に対して回収率は 98.9 %～101.6%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範囲内であった。

(5) 中間精度及び併行精度を推定し評価するため、肥料として流通している硫黄に対して 5 mg/kg 及び 25 mg/kg になるように標準液を添加した試料を用い、2 点併行で日を変えて 5 日間試験を実施した。測定結果の平均値は 4.9 mg/kg 及び 24.8 mg/kg、併行相対標準偏差は 1.5 %及び 1.4 %、中間相対標準偏差は 1.4 %及び 1.9 %であった。この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法附属書 A に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安範囲内であった。

(6) 本法の定量下限及び検出下限は 0.1 mg/kg 及び 0.03 mg/kg と推定され十分な性能を有していた。

以上の結果から、本法は硫黄資材中のひ素を測定するために、十分な性能を有していることが確認された。

文 献

- 1) 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 5 年 9 月 1 日, 農林水産省告示第 1053 号 (2023)
- 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 (2023)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo/shikengo_2023.pdf>
- 3) 厚生労働省:第 9 版食品添加物公定書
<<https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000641285.pdf>>
- 4) JIS K 8088:2010 硫黄(試薬)
- 5) 見城尚義, 阿蘇谷洋子, 野田勝彦, 高橋強:原子吸光法による粉乳中の微量ヒ素の定量法について, 分析化学, 17(2), 204～208 (1976)

Improved Determination Preprocessing Method for the Arsenic in Fertilizers Containing Sulfur

— Single Laboratory Validation —

SAKUMA Kenta¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Fertilizer and Feed Inspection Department

The analytical methods for Arsenic described in Testing Methods for Fertilizers (2023) and the sample was digested with nitric acid, sulfuric acid and perchloric acid. However, for sulfur fertilizers, we confirmed that there is a risk of the sample solution was suddenly boils during digesting with an acid. Therefore, we improved the preprocessing method to dry ashing proces with $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

As a result of 3 replicate analysis in fertilizer samples added arsenic standard solution at 5 mg/kg, 25 mg/kg and 50 mg/kg of arsenic ion, the mean recoveries were 99.5 %~101.1 %. As a result of 5 tests on different days, repeatability as repeatability relative standard deviation (RSD_r) were 1.4 %~1.5 %, intermediate precision as intermediate relative standard deviation ($RSD_{I(T)}$) were 1.4 %~1.9 %. On the basis of 7 replicate measurements of a sulfur with 0.1 mg/kg of arsenic ion, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.1 mg/kg. Those results, which had met condition of the criteria shown in Testing Methods for Fertilizers, indicated that the developed method was valid for the determination of arsenic in sulfur fertilizer.

Key words arsenic, sulfur, atomic absorption, hydride

(Research Report of Fertilizer, **17**, 50-59, 2024)