

1-2 燃焼法による肥料中の窒素全量測定

— 共同試験成績 —

相澤真理子¹, 関根優子², 白井裕治²

キーワード 窒素全量, 有機質肥料, 無機質肥料, 燃焼法, 共同試験

1. はじめに

平成 19 年度に汚泥肥料中の窒素全量の測定の迅速化及び簡便化を目的とし、燃焼法について、ISO/IEC 17025¹⁾で要求されている方法の妥当性確認として公定法(肥料分析法(1992年版))²⁾との比較試験を行うとともに、併行試験、定量下限の確認を実施し、満足する結果が得られた³⁾。また、試験所間比較について共同試験を実施し、満足する成績であったことを報告⁴⁾し、平成 19 年度肥料等技術検討会の審議を受け、燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量試験法は肥料等試験法に収載された⁵⁾。

更に、燃焼法による窒素全量試験法の適用範囲の拡大を目的とし、汚泥肥料と同様に有機質肥料及び無機質肥料について、公定法との比較試験を行うとともに、併行試験、定量下限の確認を実施し、満足する結果が得られた^{6, 7)}。燃焼法全窒素測定装置は、純粋な酸素ガス中にて試料を高温で燃焼させ、遊離する窒素酸化物及び窒素を還元銅により還元して窒素ガスとし、熱伝導度検出器(TCD)で測定する。しかしながら、燃焼温度は装置により異なり、窒素と二酸化炭素の分離方法としてクロマトグラフを用いる方式と吸着管を用いる方式がある。このため、燃焼法全窒素測定装置の特徴により測定値に差がないことを確かめる必要がある。今回、ISO/IEC 17025 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⁸⁾を参考に燃焼法による有機質肥料及び無機質肥料中の窒素全量試験法の共同試験を実施し、機種間も含む試験室間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) 共同試験用試料の調製

流通している肥料について、有機質肥料として魚かす粉末、蒸製毛粉、なたね油かす及びその粉末、無機質肥料として化成肥料(硝酸性窒素含有)、化成肥料(尿素含有)、指定配合肥料(有機質肥料含有)及び石灰窒素各1点(計7点)約 500 g をビニール袋に入れて密封し、共同試験用試料の調製時まで常温で保存した。超遠心粉砕機(Retsch ZM100, Retsch ZM1, Fritsch P-14)で目開き 500 µm のふるいを全通するまで粉砕し、よく混合して共同試験用試料を調製した。

共同試験用試料約 0.5 g づつをポリエチレン袋に入れ密封した。一対のブラインド試料を提供するため、乱数を付して各種類の肥料を 2 袋(計 14 点)参加試験室に送付した。

また、本試験前に各試験室において装置の分析条件を確認するために、化成肥料及び石灰窒素につい

¹ 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

² 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

て予備試験用試料を共同試験用試料と同様に調製し、約 5 g をポリエチレン袋に密封した。共同試験用試料と同時にそれぞれ1袋(2点)送付した。

2) 装置

各試験室に設置している燃焼法全窒素測定装置を使用した。

3) 窒素全量の測定

分析試料 0.05~0.5 g を 0.1 mg の桁まで燃焼用容器に量りとり、燃焼法全窒素測定装置を用いて分析試料中の窒素全量を算出した。(図 1)

測定にあたって、試料量、プログラム及びパラメータの設定は、各試験室燃焼法全窒素測定装置の仕様及び操作方法に従った。また、共同試験用試料のうち、化成肥料、指定配合肥料及び石灰窒素は、りん酸(P_2O_5)、アルカリ金属(Na,K)、アルカリ土類金属(Ca,Mg)等の含有量が高く、充填剤の汚染や石英製部品等の損傷をまねく可能性がある。これらの影響を防ぐために、共同試験用試料と同時に酸化タングステン(元素分析用)を送付し、試験室の判断により試料に添加することを認めた⁹⁾。



図1 燃焼法による肥料中の窒素全量試験法のフローシート

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¹⁰⁾の均質性試験に従い、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) に従い、必要に応じて酸化タングステンを添加し、分析した。

5) 共同試験

試験に参加した 12 試験室と使用した燃焼法全窒素測定装置の型式及び窒素・二酸化炭素分離方式は以下のとおりであり、それぞれの試験室において送付した 14 試料について 3) に従って試験を実施した。

- ・ゲルハルトジャパン株式会社(デュマサーム, 二酸化炭素吸着管)
- ・株式会社ジェイ・サイエンス・ラボ(PROTEIN CORDER JM3000N, 二酸化炭素吸着管)
- ・鈴木仁三株式会社(PROTEIN CORDER JM3000N, 二酸化炭素吸着管)
- ・株式会社住化分析センター 大阪事業所(SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ)
- ・株式会社住化分析センター 東京営業所(SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ)
- ・株式会社 LECO ジャパン合同会社(TruSpec N 型, 二酸化炭素吸着管)
- ・DKSH ジャパン株式会社テクノロジー事業部門科学機器部(varioMAX CN, 二酸化炭素吸着管)
- ・財団法人日本肥糧検定協会 本部 (SUMIGRAPH NC-90A, クロマトグラフ)
- ・財団法人日本肥糧検定協会 関西支部 (SUMIGRAPH NC-90A, クロマトグラフ)
- ・独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所 食品分析研究領域分析ユニット (LECO 製 FP-528 型, 二酸化炭素吸着管)
- ・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 (SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ)

本部 肥飼料安全検査部 肥料鑑定課 (SUMIGRAPH NC-220F, クロマトグラフ)

(50 音順)

3. 結果及び考察

1) 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¹⁰⁾の新たな統計手法により均質性の確認を行った。まず、この手法により均質性を確認する際の要求事項である、分析誤差(σ_{an})の大きさの条件($\sigma_{an}/\sigma_p < 0.5$, σ_p : 目標標準偏差)が満たされていることを確認した。つぎに、均質性試験の成績から判定基準(次式)に用いる統計量¹¹⁾を算出し表 1 に示した。算出した各共同試験用試料の統計量がこの判断基準を満たし、更に、試料間の相対標準偏差は 0.2~0.9 % であることから、全ての共同試験用試料が共同試験に用いるための均質性を有することを確認した。

$$s^2_{sam} > F_1 \sigma^2_{all} + F_2 s^2_{an}$$

s^2_{sam} : 試料間の純分散(負の値の場合は、0 とする)

s^2_{an} : 併行分散

σ^2_{all} : 許容可能な試料間の分散 ($\sigma^2_{all} = (0.3 \times \sigma_p)^2$; σ_p は Horwitz の式⁹⁾により算出)

F_1, F_2 : 10 試料を 2 点併行で測定した場合のファクター

($F_1=1.88, F_2 = 1.01$; critical values for homogeneity testing(Appendix 1))

表1 窒素全量の均質性確認試験の結果

試料名	平均測定値 ¹⁾ (%)	標準偏差 ²⁾ (%)	相対標準偏差 ³⁾ (%)	s^2_{sam}	$F_1 \sigma^2_{all} + F_2 s^2_{an}$
魚かす粉末	8.14	0.04	0.5	0 ⁴⁾	1.24E-02
蒸製毛粉	13.28	0.04	0.3	1.16E-03	2.25E-02
なたね油かす及びその粉末	6.17	0.01	0.2	0 ⁴⁾	6.18E-03
化成肥料(硝酸性窒素含有)	8.83	0.04	0.5	9.29E-04	1.19E-02
化成肥料(尿素含有)	18.52	0.16	0.9	0 ⁴⁾	7.53E-02
指定配合肥料(有機質肥料含有)	13.57	0.08	0.6	0 ⁴⁾	2.91E-02
石灰窒素	19.96	0.05	0.2	1.03E-04	3.60E-02

1) 10試料2点併行分析の総平均測定値

2) 試料間の標準偏差

3) 試料間の相対標準偏差

4) s^2_{sam} の算出値が負の値であったので0とした。

表2 肥料中の窒素全量の共同試験成績

(%)

試験室 ¹⁾	魚かす粉末		蒸製毛粉		なたね油かす及びその粉末	
A ²⁾	8.47	8.42	13.39	13.40	6.31	6.33
B	8.33	8.25	13.36	13.38	6.23	6.15
C ²⁾	8.40	8.41	13.25	13.34	6.70	6.24 ³⁾
D ²⁾	8.81	8.79 ⁴⁾	14.33	13.59 ³⁾	6.64	6.48
E ²⁾	8.31	8.37	13.26	13.31	6.22	6.22
F ²⁾	8.35	8.29	13.32	13.33	6.22	6.20
G ²⁾	8.39	8.35	13.44	13.74	6.31	6.25
H ²⁾	8.48	8.47	13.76	13.81	5.96	5.87
I	8.28	8.27	13.45	13.25	6.30	6.23
J	8.11	8.13	13.10	12.84	5.65	5.68
K ²⁾	8.36	8.44	13.29	13.34	6.31	6.15
L ²⁾	8.79	8.80 ⁴⁾	13.91	13.86	6.57	6.42
試験室	化成肥料(硝酸性窒素含有)		化成肥料(尿素含有)		指定配合肥料	
A	9.35	9.40	18.69	18.62	14.14	14.24
B	9.30	9.25	18.49	18.47	14.27	14.16
C	9.43	9.30	17.80	17.92	13.92	13.87
D	9.28	9.96 ³⁾	19.15	19.26	14.98	15.08
E	9.11	9.10	17.88	17.86	13.69	14.04
F	9.18	9.10	18.22	18.23	13.75	13.82
G	9.29	9.05	17.87	17.67	13.42	13.31
H	9.56	9.61	18.49	18.42	14.03	13.97
I	9.16	9.16	18.84	18.88	14.53	14.31
J	10.00	9.83	18.93	18.52 ³⁾	13.78	14.09
K	9.28	9.22	18.05	18.10	13.91	13.77
L	9.15	9.20	18.30	18.28	14.23	14.10
試験室	石灰窒素					
A	20.13	20.12				
B	20.06	20.02				
C	20.22	20.24				
D	18.48	18.22 ⁵⁾				
E	19.91	19.91				
F	19.87	19.70				
G	19.72	19.89				
H	15.43	15.51 ⁵⁾				
I	19.84	19.95				
J	19.38	19.85 ³⁾				
K	19.84	19.92				
L	20.95	20.65 ⁴⁾				

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) 酸化タングステンを添加した試験室

3) Cochranテストによる外れ値

4) Grubbsテストによる外れ値

5) 有効ではない理由が明らかたため除外した値

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。なお、石灰窒素について、予備試験用試料の窒

素全量は20.5%程度であったが、D試験室では平均値18.6%、H試験室では15~16%と低い測定値が得られたため、当該2試験室の試験成績をあらかじめ除外して10試験室の試験成績を用いることとした。各系列の分析試料の試験成績をIUPACの共同試験プロトコル^{8, 12)}に従って統計処理した。試験成績の外れ値を検出するためにCochranの検定及びGrubbsの検定を実施したところ、12試験室の試験成績のうち魚かす粉末で2試験室、蒸製毛粉で1試験室、なたね油かす及びその粉末で1試験室、化成肥料(硝酸性窒素含有)で1試験室及び化成肥料(尿素含有)で1試験室、また、石灰窒素では10試験室のうち、2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、併行の標準偏差(SD_F)、相対標準偏差(RSD_F)及びHorRat値(HorRat_F)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(HorRat_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、HorRat_FはRSD_F/RSD_R(P)及びHorRat_RはRSD_R/RSD_R(P)により求められる¹³⁾。なお、RSD_R(P)は平均定量値からHorwitz式の修正式¹²⁾により求め、RSD_F(P)はHorwitz式に係数(1/2)を乗じて求めた^{14, 15)}。外れ値を除外した試験成績の平均値は6.21~19.96%であり、そのSD_F及びSD_Rは0.04~0.12%及び0.10~0.45%であり、RSD_F及びRSD_Rは0.3~1.1%及び0.8~4.0%であった。また、RSD_F及びRSD_Rの評価に用いるHorRat_F及びHorRat_Rは0.28~0.74及び0.37~1.33であり、いずれも2以下であった¹⁶⁾。

表3 共同試験成績の解析結果

試料名	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%)	SD _F ³⁾ (%)	RSD _F ⁴⁾ (%)	HorRat _F ⁵⁾	SD _R ⁶⁾ (%)	RSD _R ⁷⁾ (%)	HorRat _R ⁸⁾
魚かす粉末	10	8.34	0.04	0.4	0.29	0.10	1.3	0.43
蒸製毛粉	11	13.42	0.10	0.7	0.55	0.26	2.0	0.72
なたね油かす及びその粉末	11	6.21	0.07	1.1	0.71	0.25	4.0	1.33
化成肥料(硝酸性窒素含有)	11	9.32	0.07	0.8	0.56	0.25	2.7	0.93
化成肥料(尿素含有)	11	18.34	0.06	0.3	0.28	0.45	2.5	1.05
指定配合肥料(有機質肥料含有)	12	14.06	0.12	0.9	0.65	0.42	3.0	1.11
石灰窒素	8	19.96	0.07	0.4	0.31	0.17	0.8	0.37

- 1) 解析に用いた試験室数
- 2) 平均値(n=試験室数×試料数(2))
- 3) 併行標準偏差
- 4) 併行相対標準偏差
- 5) 併行HorRat値
- 6) 室間再現標準偏差
- 7) 室間再現相対標準偏差
- 8) 室間再現HorRat値

4. まとめ

12試験室において7銘柄(14点)の有機質肥料及び無機質肥料を用いて窒素全量の共同試験を実施し、燃焼法による窒素全量試験法の評価を行った。その結果、室間再現精度(相対標準偏差)は0.8~4.0%であり、その評価に用いるHorRat値は0.37~1.33であり、2を下回っていた。このことから、試験所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、公定法との整合性当が検討されており、本試験法は有機質肥料及び無機質肥料

中の窒素全量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、2009 年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は適用範囲が汚泥肥料から肥料全般へと拡大され、肥料等試験法(2010)に収載された⁷⁾。

謝 辞

この試験の実施において独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所安井明美博士にはご指導頂きましたことを感謝いたします。また、共同試験用試料の均質性確認にご協力頂きました株式会社住化分析センター関係者各位、共同試験にご協力頂いたゲルハルトジャパン株式会社、株式会社ジェイ・サイエンス・ラボ、鈴木仁三株式会社、株式会社住化分析センター、株式会社 LECO ジャパン合同会社、DKSH ジャパン株式会社、財団法人肥糧検定協会及び独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (2005)
- 2) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.11~13, 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 3) 相澤真理子, 杉村靖, 高橋雄一, 大木純, 福地幸夫, 白井裕治, 引地典雄:燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定 -燃焼法全窒素測定装置の適用-, 肥料研究報告, **1**, 12~17, (2008)
- 4) 相澤真理子, 白井裕治:燃焼法による汚泥肥料中の窒素全量測定 -共同試験成績-, 肥料研究報告, **1**, 18~24, (2008)
- 5) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法 (2010)
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9.html>>
- 6) 相澤真理子, 白井裕治:燃焼法による有機質肥料中の窒素全量測定 -適用範囲拡大-, 肥料研究報告, **2**, 6~11, (2009)
- 7) 相澤真理子, 白井裕治:燃焼法による無機質肥料中の窒素全量測定 -適用範囲拡大-, 肥料研究報告, **3**, 1~10, (2010)
- 8) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 9) 内山一美, 前橋良夫:役に立つ有機微量元素分析, p.99, 株式会社みみずく舎, 東京(2008)
- 10) Thompson, M., R.Ellison, S.,Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 11) Fearn, T., Thompson, M., A new test for 'sufficient homogeneity', *Analyst*, **126**, 1414~1417 (2001)
- 12) 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)
- 13) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)
- 14) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC

INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)

- 15) 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)
- 16) 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)

Determination of Total Nitrogen content in Fertilizer by a Combustion Method: A Collaborative Study

Mariko AIZAWA¹, Yuko SEKINE² and Yuji SHIRAI²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

Twelve laboratories participated in a collaborative study to evaluate a combustion method to analyze the total nitrogen content of organic fertilizer and inorganic fertilizer. The samples of fertilizer were combusted at high temperature under high-purity oxygen. The nitrogen released from the sample was measured by thermal conductivity detection, as a proportion in weight of nitrogen in the sample. Fourteen samples of seven kinds of fertilizer were analyzed as blind duplicates. After removing the outlying data using Cochran and Grubbs outlier test, the mean values, standard deviations of repeatability (SD_r) and reproducibility (SD_R) ranged from 6.21 to 19.96 %, from 0.04 to 0.12 % and from 0.10 to 0.45 %, respectively. The relative standard deviations of repeatability (RSD_r) and reproducibility (RSD_R) ranged from 0.04 to 1.1 % and from 0.80 to 4.0, respectively. The HorRat values ($RSD_R/\text{predicted } RSD_R$) ranged from 0.37 to 1.33. These results indicate that the combustion method has acceptable within-laboratory and between-laboratory precision for determination of total nitrogen in fertilizer.

Key words total nitrogen, organic fertilizer, inorganic fertilizer, combustion method, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **3**, 11~18, 2010)