

## 11 汚泥肥料及びたい肥中の有機炭素試験法の妥当性確認

—ニクロム酸酸化操作の評価—

白井裕治<sup>1</sup>, 関根優子<sup>1</sup>, 廣井利明<sup>1</sup>

キーワード 汚泥肥料, たい肥, 有機炭素, ニクロム酸酸化法

### 1. はじめに

安心・安全な肥料の流通を確保するため、肥料の主成分、有害成分等の試験は不可欠である。独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)においては、検査に係る分析法の開発、検討等も行っており、新たに妥当性が確認された試験法、迅速試験法等を加えて、肥料の品質管理等に活用できる「肥料等試験法」<sup>1)</sup>を策定し、ホームページに掲載している。試験法の妥当性確認は ISO/IEC 17025 (JIS Q 17025:2006)<sup>2)</sup>の要求事項である比較試験、繰返し性試験、定量下限の確認等を IUPAC<sup>3, 4)</sup>のプロトコルを参考に実施している。また、肥料等試験法の策定にあたっては、肥料分析法<sup>5)</sup>との整合性が保たれるように留意して書き換えも順次実施している。

肥料分析法では有機炭素試験法のニクロム酸酸化操作の加熱操作において水冷方式による凝縮器を用いて還流しているが、水量の調整等熟練を要し、また、凝縮器は一般には市販されていない。肥料等試験法の策定にあたり、水銀試験法に使用されている試料分解フラスコを用いて、空冷による簡便な加熱操作を採用することを考えた。軽微な修正であるが、ISO/IEC 17025 における試験法の妥当性確認の要求事項に関して試験を実施したので、その概要を報告する。なお、既報の燃焼法による炭素全量試験法と比較した。

### 2. 材料及び方法

#### 1) 装置及び器具

- (1) ホットプレート
- (2) 試料分解フラスコ: ほうけい酸ガラス製全量フラスコ 100 mL (全高 180 mm, 口径 13 mm)
- (3) 燃焼法全窒素全炭素測定装置: 住化分析センター製 SUMIGRAPH NC-220F

#### 2) 試薬

肥料等試験法(2010)<sup>1)</sup>に従って調製した。

#### 3) ニクロム酸酸化法の試験操作

(1) 分析試料 0.05 g を 0.1 mg の桁まではかりとり、試料分解フラスコに入れ、ニクロム酸カリウム—硫酸溶液 25 mL を加えた。200 °C のホットプレート上で加熱し、45 分間～1 時間煮沸し、放冷後、標線まで水を加え、これを試料溶液とした。

<sup>1</sup> 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

(2) 試料溶液の 20 mL を三角フラスコ 100 mL にとり、ニクロム酸イオンの褐色がこの溶液からほぼ消失するまで 0.2 mol/L 硫酸アンモニウム鉄(II) 溶液を滴加した. N-フェニルアントラニル酸溶液数滴を加え, 溶液の色が暗赤紫色から青緑色になるまで 0.2 mol/L 硫酸アンモニウム鉄(II) 溶液で滴定した.

(3) 空試験溶液 20 mL を三角フラスコ 100 mL に入れ, (1)~(2)の操作を実施した. 肥料等試験法(2010)<sup>1)</sup>に従って分析試料中の有機炭素量を算出した.

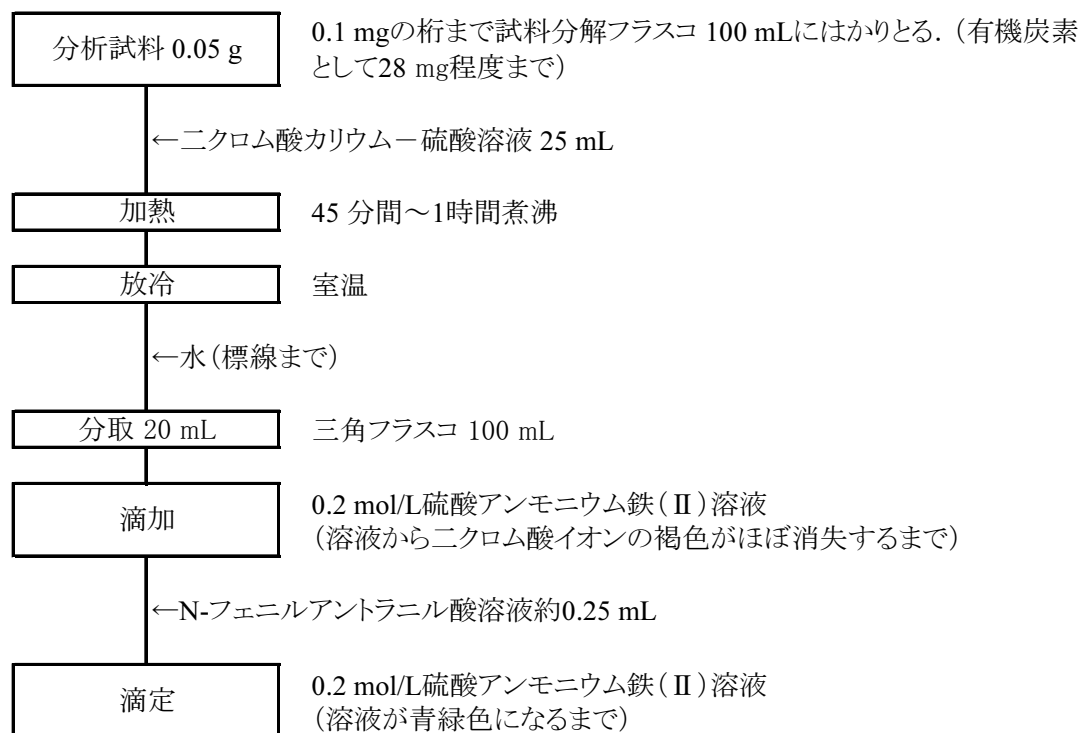


図1 汚泥肥料、たい肥等中の有機炭素試験法フローシート

#### 4) 燃焼法の試験操作

DL-アスパラギン酸標準品(純度 99.0 % 以上)を用い, 以下の条件で炭素全量を測定して検量線を作成した後, 分析試料 0.1~0.5 g を量り, 同様に分析試料中の炭素全量を測定した.

表 1 燃焼法全炭素全窒素測定装置の測定条件

燃焼ガス	高純度酸素, 純度 99.9995 % 以上, 流量 200 mL/min
キャリアガス	高純度ヘリウム, 純度 99.9999 % 以上, 流量 80 mL/min
分離カラム	シリカゲル系ステンレスカラム
検出部	熱伝導度検出器(TCD)
測定サイクル	ページ時間 60 秒, 循環燃焼時間 300 秒, 計測時間 270 秒
温度条件	反応炉:870 °C, 還元炉温度:600 °C, カラム槽温度:70 °C, 検出器温度:100 °C

### 3. 結果及び考察

#### 1) 煮沸時間の確認

煮沸時間を 15, 30, 45 及び 60 分間と変えたニクロム酸酸化法による汚泥発酵肥料 2 銘柄中の有機炭素の測定値を図 2 に示した. 汚泥発酵肥料 A 及び B とも煮沸時間 45 分までは煮沸時間が長くなるにつれて有機炭素の測定値が高くなる傾向を示したが, その後一定の測定値を示した. このことから, ニクロム酸酸化法における煮沸時間は 45~60 分間が適当と考えられた.

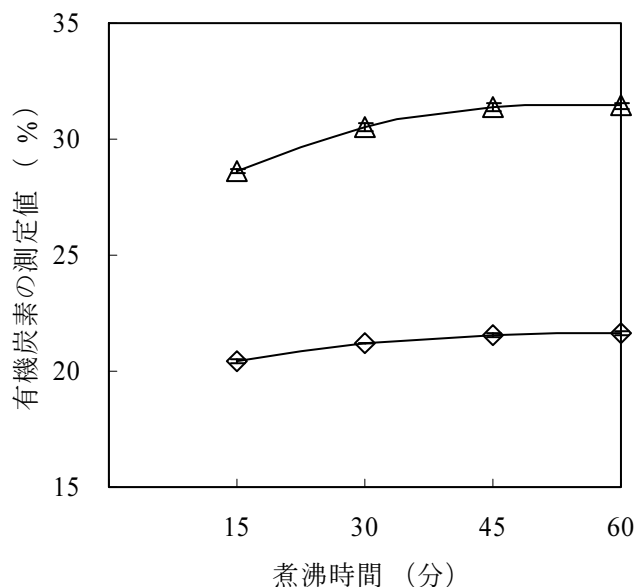


図2 有機炭素の加熱時間と測定値 ( $n=2$ )  
エラーバーはそれぞれの測定値を示す.

—△— 汚泥発酵肥料A —◇— 汚泥発酵肥料B

#### 2) 真度の確認

ニクロム酸酸化法及び燃焼法によるグルコース, セルロース及び汚泥発酵肥料 (2 銘柄) の有機炭素の測定値を表 2 に示した. ニクロム酸酸化法におけるグルコース及びセルロースの有機炭素の測定値は理論値 (40.0 % 及び 44.4 %) の 99.2~99.6 % であった. また, ニクロム酸酸化法によるグルコース, セルロース及び汚泥発酵肥料 (2 銘柄) の有機炭素の測定値と燃焼法による測定値を比較したところ, 前者の測定値は後者の測定値に対して 97.5~99.9 % とほぼ一致した.

ニクロム酸酸化法は, 有機炭素を過剰のニクロム酸で酸化し, 消費されなかったニクロム酸を硫酸第一鉄で滴定し, 有機炭素 (O-C) を求める方法である. このため, ニクロム酸酸化操作において, 加熱により液量が少なくなってニクロム酸が熱分解した場合, 熱分解したニクロム酸量に比例して有機炭素の測定値が大きくなることが報告されている<sup>6)</sup>. 今回の検討では, 試料分解フラスコの首長部での空冷による還流で液量を保つことによって, ニクロム酸が熱分解することを防止できた.

表2 有機炭素の回収率 (%)

	炭素率 <sup>1)</sup>	二クロム酸酸化法		燃焼法		平均値の比較 <sup>4)</sup>
		平均値 <sup>2)</sup>	回収率 <sup>3)</sup>	平均値 <sup>2)</sup>	回収率 <sup>3)</sup>	
グルコース [C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ]	40.0	39.7	99.2	40.0	100.0	99.2
セルロース [(C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>n</sub> ]	44.4	44.3	99.6	44.3	99.7	99.9
汚泥発酵肥料A	—	30.7	—	31.1	—	98.7
汚泥発酵肥料B	—	21.3	—	21.8	—	97.5

1) 構造式より算出した炭素含有率

2) 3点併行試験の平均値

3) (平均値/炭素率)×100

4) (二クロム酸酸化法による平均値/燃焼法による平均値)×100

## 3) 併行試験

汚泥発酵肥料(2 銘柄), し尿汚泥肥料(1 銘柄), 工業汚泥肥料(2 銘柄), たい肥(3 銘柄)及び動物の排泄物(1 銘柄)について, 有機炭素を3点併行で測定して得られた試験結果を表3に示した. 有機炭素の平均値が14.2~50.7%の範囲で, 標準偏差は0.04~0.6%, 相対標準偏差は0.1~2.6%と, 良好な併行精度が得られた.

表3 二クロム酸酸化法による汚泥肥料及びたい肥中の有機炭素の併行試験

肥料の種類	平均値 <sup>1)</sup> (%)	標準偏差 (%)	相対標準偏差 (%)
汚泥発酵肥料	30.7	0.4	0.1
汚泥発酵肥料	21.3	0.1	0.3
し尿汚泥肥料	34.0	0.04	0.1
工業汚泥肥料	38.5	0.1	0.3
工業汚泥肥料	50.7	0.2	0.5
たい肥	30.4	0.09	0.3
たい肥	38.3	0.6	1.6
たい肥	27.8	0.4	1.6
動物の排泄物	14.2	0.4	2.6

1) 3点併行試験の平均値

## 4) 定量下限の確認

下水汚泥肥料について, 有機炭素を7点併行で測定して得られた定量下限の確認試験結果を表4に示した. 平均値は4.97%であり, その標準偏差は0.15%であった. 定量下限は(標準偏差)×10, また, 検出下限は(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)として示される<sup>7)</sup>ので, 本法の定量下限及び検出下限は1.5%程度及び0.8%程度と推定された.

表4 定量下限確認試験の結果

試料名	平均定量値 <sup>1)</sup> (%)	標準偏差 (%)	定量下限の 推定 <sup>2)</sup> (%)	検出下限の 推定 <sup>3)</sup> (%)
下水汚泥肥料	4.97	0.15	1.5	0.8

1) 7点併行で測定して得られた値の平均値

2) 標準偏差×10

3) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

### 5) 試験所間比較試験

汚泥発酵肥料 2 銘柄を用いて試験所間比較試験を実施した試験成績及び解析結果を表 5 及び 6 に示した。汚泥発酵肥料 A は 12 試験室に報告を求め、汚泥発酵肥料 B は 6 試験室に報告を求めた。また、いずれも 3 点併行試験を実施した。その結果、汚泥発酵肥料 A 及び B の平均値は 30.7 % 及び 21.7 % であり、それらの併行標準偏差及び室間標準偏差は 0.2~0.8 % であり、それらの併行相対標準偏差及び室間相対標準偏差は 0.9~2.8 % であった。更に、RSD<sub>r</sub> 及び RSD<sub>R</sub> の評価に用いる併行 HorRat 値及び室間再現 HorRat 値は 0.82~1.73 及び 1.30~1.49 であり、いずれも 2 以下であった<sup>8)</sup>。

表5 汚泥肥料中の有機炭素の簡易共同試験成績 (%)

試験室 <sup>1)</sup>	汚泥発酵肥料A <sup>2)</sup>			汚泥発酵肥料B		
A	30.0	29.7	28.7	22.0	22.3	22.3
B	29.7	29.7	29.3	21.1	21.2	21.2
C	30.0	30.0	30.5	21.2	21.2	21.4
D	30.0	30.2	30.3	22.1	22.7	22.5
E	30.6	30.2	30.8	22.0	21.9	22.3
F	30.4	30.7	31.1	21.3	21.0	21.0
G	30.3	31.4	30.7			
H	31.2	31.2	30.6			
I	31.2	31.2	30.7			
J	30.9	31.1	31.9			
K	31.2	32.3	31.2			
L	32.2	32.3	30.8			

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) 認証標準物質C候補 (FAMIC-C-09) であり、認証値の値付けのために実施した共同試験の成績である。

表6 共同試験成績の解析結果

試料の種類	試験 室数 <sup>1)</sup>	平均値 <sup>2)</sup> (%)	SD <sub>r</sub> <sup>3)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>4)</sup> (%)	Ho <sub>r</sub> <sup>5)</sup>	SD <sub>R</sub> <sup>6)</sup> (%)	RSD <sub>R</sub> <sup>7)</sup> (%)	Ho <sub>R</sub> <sup>8)</sup>
汚泥発酵肥料A	12	30.7	0.5	1.6	1.73	0.8	2.7	1.49
汚泥発酵肥料B	6	21.7	0.2	0.9	0.82	0.6	2.8	1.30

1) 解析に用いた試験室数

2) 総平均値 (n=試験室数×併行試験点数(3))

3) 併行標準偏差

4) 併行相対標準偏差

5) 併行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

#### 4. まとめ

汚泥肥料及びたい肥中の有機炭素試験法の二クロム酸酸化操作において凝縮器による水冷方式に変えて試料分解フラスコによる空冷方式を用いる方法を検討したところ、次の結果を得た。

- 1) 煮沸時間は 45～60 分間煮沸することにより、有機炭素を十分に酸化することができた。
- 2) 試料分解フラスコによる空冷でも二クロム酸が自己分解することはなかった。
- 3) 汚泥肥料(5 銘柄)、たい肥(3 銘柄)及び動物の排泄物(1 銘柄)を用いて併行試験を実施したところ、併行標準偏差は 0.04～0.6 % であった。
- 4) 本法の定量下限は 1.5 % 程度と推定された。
- 5) 汚泥発酵肥料 2 銘柄を用いて試験所間比較試験を実施したところ、室間再現標準偏差は 0.6～0.8 % であり、室間再現相対標準偏差は 2.7～2.8 % であった。また、その評価に用いる室間再現 HorRat 値は 1.30～1.49 であり、いずれも 2 以下であった。

このことから、2009 年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法は前処理操作が改正され、肥料等試験法(2010)に収載された<sup>1)</sup>。なお、二クロム酸酸化法はクロムを使用するため、燃焼法による炭酸塩を多量に含む汚泥肥料中の有機炭素の測定方法の検討が今後の課題である。

#### 文 献

- 1) 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(2010)  
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9.html>>
- 2) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項)
- 3) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis, *Pure & Appl. Chem.*, **74** (5), 835~855 (2002)
- 4) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 5) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), p.21~22, p.34~37, p.70~71, 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 6) 丸本卓哉, 進藤晴夫, 東 俊雄:チューリン法による有機態炭素定量における簡易冷却器(水冷管)の効用について, 日本土壌肥料学雑誌, **49**(3), 250~252 (1978)
- 7) 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)
- 8) 環境省水・大気環境局水環境課:要調査項目等調査マニュアル(水質, 底質, 水生生物), p.8~11, (2008)