

3 亜りん酸(塩)を含む固形肥料中のく溶性りん酸の測定

— 亜りん酸の酸化方法の改良 —

阿部文浩¹, 佐々木徳幸², 平原稔夫²

キーワード 亜りん酸, 亜りん酸塩, 固形肥料, く溶性りん酸, 分光光度法

1. はじめに

亜りん酸及び亜りん酸塩(以下, 亜りん酸等という.)を含む肥料の多くは従来液状であり, 葉面散布用の肥料として流通している. 近年, 亜りん酸等を含む固形肥料で液状では成分とならない, く溶性りん酸を保証した肥料が肥料登録され流通している. しかし, 現状では, 亜りん酸等を含んだ肥料中のく溶性りん酸の試験法が定まっていない.

すでに, 液状肥料の水溶性りん酸については「亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定として検討¹⁾され「バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(亜りん酸又はその塩を含む液状肥料)」が肥料等試験法²⁾に記載されている. 亜りん酸等を含む肥料中のく溶性りん酸の測定をこの試験法に準じて, 抽出液中の亜りん酸等を塩酸及び硝酸で加熱酸化した場合, 抽出液に含まれるくえん酸を完全には分解することができず, 定量値に影響を与える³⁾ことがある. 亜りん酸等を含む固形肥料中のく溶性りん酸の定量に際しては, 定量値に影響を与えないまでにくえん酸を分解する必要がある. このことから, 試料液に硝酸及び硫酸を加えて加熱して亜りん酸の酸化とくえん酸の分解を同時に行い, 水溶性りん酸等の定量で使用する発色試薬溶液により発色定量する方法を検討し, 単一試験室での妥当性確認を行ったので, その結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

試料の調製にあたっては Table 1 に示した, JIS 規格に規定されている試薬特級及び FAMIC 肥料認証標準物質 A-10 並びに A-13 を用いた. 亜りん酸カルシウム一水和物($\text{CaHPO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)は肥料等試験法に掲載の水溶性りん酸の抽出方法ではほとんど溶解しないが, くえん酸溶液には溶解する物質である. 認証標準物質についてはいずれもく溶性りん酸の認証値が設定されている. 亜りん酸カルシウム一水和物, 硫酸アンモニウム及び硫酸カリウムは, 混合前に乳鉢を用いて目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎した.

配合設計の作成にあたっては, 亜りん酸カルシウム一水和物の量が質量分率 100 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 5 %, 2 % 及び 0.4 % となるように Table 2 のとおり各試薬等の量を決定し, く溶性りん酸($\text{C-P}_2\text{O}_5$)として質量分率 51.40 % ~ 0.206 % 含有する試験品 1 ~ 11 を調製した. 試験品は材料をポリエチレン袋に入れてよく混合したのち密封し常温で保管した.

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 (現) 肥飼料安全検査部

² 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

Material		C-P ₂ O ₅ ^{a)}
A	Calassium phosphonate (CaHPO ₃)	51.40 ^{b)}
B	Fertilizer certificated reference material A-10	10.05 ^{c)}
C	Fertilizer certificated reference material A-13	10.79 ^{c)}
D	Ammonium sulfate	0.00
E	Potassium sulfate	0.00

a) Content of citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)

b) Theoretical value

c) Certified value

Number of analytical sample	The mixing ratio of the materials					Content of C-P ₂ O ₅ ^{b)}	PO ₃ ³⁻ -drived ^{c)}
	A ^{a)}	B ^{a)}	C ^{a)}	D ^{a)}	E ^{a)}		
1	100	0	0	0	0	51.40	51.40
2	60	40	0	0	0	34.86	30.84
3	50	50	0	0	0	30.73	25.70
4	40	0	60	0	0	27.03	20.56
5	30	40	30	0	0	22.68	15.42
6	20	40	40	0	0	18.62	10.28
7	20	0	0	40	40	10.28	10.28
8	10	0	0	45	45	5.14	5.14
9	5	0	0	47.5	47.5	2.57	2.57
10	2	0	0	49	49	1.03	1.03
11	0.4	0	0	49.8	49.8	0.206	0.206

a) These are substances which are shown in Table 1.

b) Citric acid-soluble phosphorus (P₂O₅) derived from phosphate-group and phosphonate-group

c) Phosphorus (P₂O₅) derived from phosphonate-group

2) 試薬

(1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水.

(2) くえん酸溶液(20 mg/mL): JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1000 mL とした.

(3) 硝酸: JIS K 8541 に規定する試薬.

(4) 硫酸: JIS K 8951 に規定する試薬.

(5) フェノールフタレイン溶液: JIS K 8799 に規定するフェノールフタレイン 1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かした.

(6) アンモニア水: JIS K 8085 に規定する試薬.

(7) りん酸標準液(P₂O₅ 10 mg/mL): JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウムを 105 °C ± 2 °C で約 2 時間加熱し, デシケーター中で放冷した後, 19.17 g をひょう量皿にはかりとった. 少量の水で溶かし, 全量フラ

スコ 1000 mL に移し入れ, 硝酸 2 mL~3 mL を加え, 標線まで水を加えた.

(8) りん酸標準液(P_2O_5 0.5 mg/mL): りん酸標準液(P_2O_5 10 mg/mL) 50 mL を全量フラスコ 1000 mL にとり, 硝酸 2 mL~3 mL を加え, 標線まで水を加えた.

(9) 発色試薬溶液 a: JIS K 8747 に規定するバナジン(V)酸アンモニウム 1.12 g を水に溶かし, 硝酸 250 mL を加えた後, JIS K 8905 に規定するセモリブデン酸六アンモニウム四水和物 27 g を水に溶かして加え, 更に水を加えて 1000 mL とした.

3) 器具及び装置

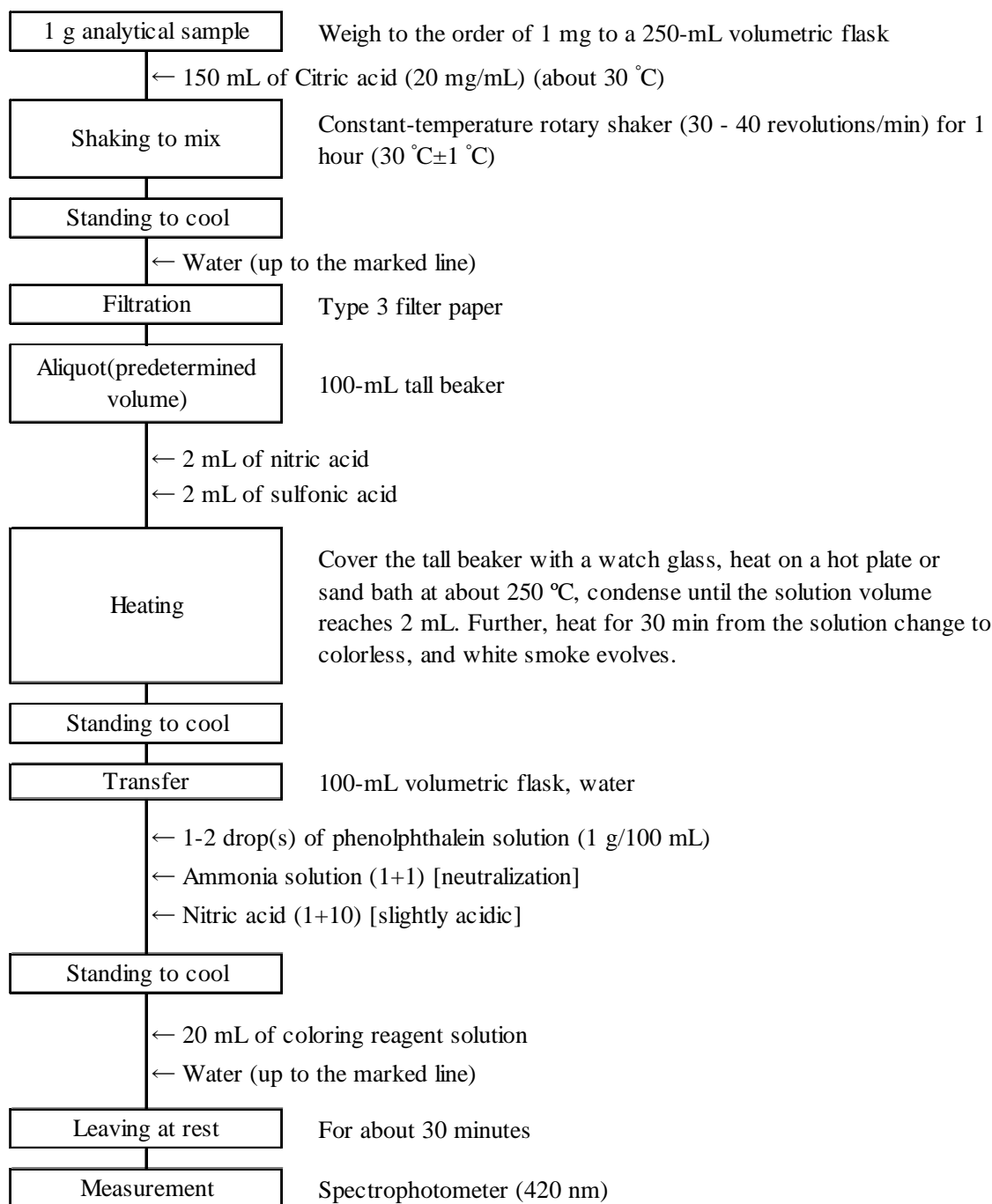
- (1) 電子天びん: METTLER TOLEDO MS403S
- (2) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC THM062FA
- (3) ホットプレート: アサヒ理化製作所 APS-500
- (4) 分光光度計: 島津製作所 UV-1800

4) 試験方法

分析試料 1 g を (1 mg の桁まで) はかりとり, 全量フラスコ 250 mL に入れ約 30 °C に加温したくえん酸溶液 150 mL を加え, 30~40 回転/分, 30 °C ± 1 °C で 1 時間振り混ぜ, 放冷した後, 標線まで水を加えた. ろ紙 3 種でろ過して試料液とした.

試料液の一定量をトールビーカー 100 mL に入れ, 硝酸 2 mL 及び硫酸 2 mL を加え混合した後, 時計皿で覆い, 約 250 °C のホットプレートで加熱して, 液量が約 2 mL になるまで濃縮した. 無色となり白煙が生じてから更に約 30 分間加熱した. 放冷後, 全量フラスコ 100 mL に水で移して冷却し, フェノールフタレイン溶液を 1~2 滴加え, 溶液の色が淡い赤紫色になるまでアンモニア水(1+1)を加えた. その後, 溶液の淡い赤紫色が消失するまで硝酸(1+10)を加えて微酸性とし室温まで放冷した.

発色試薬溶液 20 mL を加え, 標線まで水を加えた後, 約 30 分間放置し分光光度計で波長 420 nm の吸光度を測定した. (Scheme 1 参照)



Scheme 1 The flow sheet for citric acid-soluble phosphorus (P_2O_5) in solid fertilizers containing phosphonic acid, etc.

3. 結果及び考察

1) くえん酸濃度がく溶性りん酸への測定値に及ぼす影響及び硝酸・硫酸処理の効果

亜りん酸等を含む肥料中のく溶性りん酸測定を水溶性りん酸の試験法に準じて、抽出液中の亜りん酸等を塩酸-硝酸(3+1)で加熱酸化したところ、設計値より下回る測定値が認められた。このことから、抽出液に含まれるくえん酸が影響するものと考え、トールビーカー100 mL にりん酸標準液(1 mg 相当量)を入れ、くえん酸一水和物(以下、くえん酸という。) (0 g~0.4 g 相当量)を段階的に加え、それぞれに水 10 mL 程度、塩酸 3 mL、硝酸 1

mLを加えて約 250 °Cのホットプレート上で加熱し、液量が 2 mL~3 mL まで濃縮し、以下本法に従ってりん酸測定した結果を Fig. 1 に示した。その結果、くえん酸量 0.3 g 及び 0.4 g でりん酸の測定値は下がった。このことから、く溶性りん酸の含有量が低く、発色に供する抽出液の分取量が多くなる場合、それに伴ってくえん酸量が多くなり、く溶性りん酸測定値が低くなるおそれが認められた。

よって、くえん酸を硝酸及び硫酸により加熱分解することを検討することとした。トールビーカー100 mL にくえん酸 0 g~0.36 gを段階的に入れ、それぞれにりん酸標準液をりん酸として 1 mg 相当量、水約 5 mL、硝酸 2 mL 及び硫酸 2 mLを加えて約 250 °Cのホットプレート上で加熱した。加熱は液量が 2 mL で無色となり白煙が生じてから 30 分以上とした。結果を Fig. 1 に示した。この処理により、くえん酸の量が 0.36 g までりん酸の測定値に影響を与えなかった。

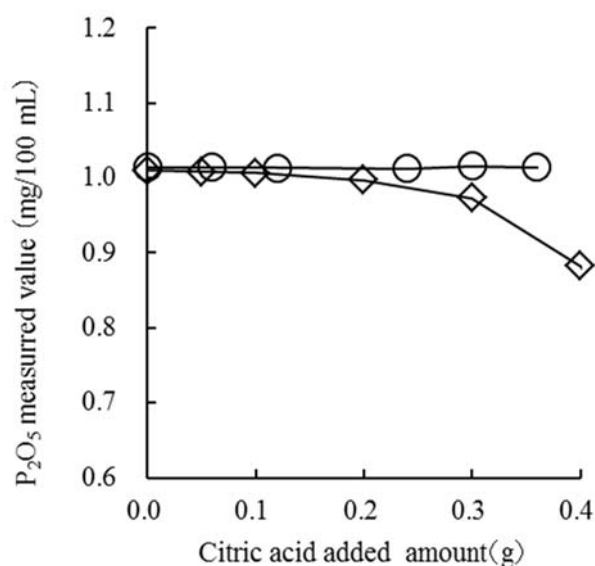


Fig.1 Effect of citric acid added amount on phosphorus (P₂O₅) measured value

- ◇: P₂O₅ measured value in the measurement solution obtained by treating with aqua regia
- : P₂O₅ measured value in the measurement solution obtained by treating nitric acid and sulfonic acid

2) 調製試料測定による真度の評価

本法の真度を確認するため、試験品 1~試験品 10 を用いてく溶性りん酸(C-P₂O₅)の試験を 3 点併行で実施した結果を Table 3 に示した。く溶性りん酸の設計値について、亜りん酸カルシウム一水和物は理論値を、肥料認証標準物質は認証値を用いた。

く溶性りん酸が質量分率 1.03 %~51.40 %で、回収率は 98.3 %~101.0 %であり、いずれの回収率もこれらの濃度範囲における肥料等試験法が示している真度(回収率)の目標以内であった。

Table 3 Result of trueness confirmation test for citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)

Number of analytical sample	Content of C-P ₂ O ₅ (%) ^{a)}	Mean value ^{b)} (%) ^{a)}	Mean recovery (%)	RSD _r ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
1	51.40	51.91	101.0	0.1	98~102
2	34.86	34.70	99.5	0.4	98~102
3	30.73	30.70	99.9	0.3	98~102
4	27.03	26.94	99.7	0.4	97~103
5	22.68	22.38	98.7	1.3	97~103
6	18.62	18.62	100.0	0.4	97~103
7	10.28	10.11	98.3	1.5	96~104
8	5.14	5.15	100.1	0.9	96~104
9	2.57	2.56	99.5	0.8	96~104
10	1.03	1.03	100.0	1.9	96~104

a) Mass fraction

b) Mean value of parallel test ($n = 3$)

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

3) 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、試験品 1 及び試験品 8 を用いて、く溶性りん酸(C-P₂O₅)の試験を 2 点併行で日を変えて 7 回実施して得られた結果を Table 4 に示した。また、この結果から一元配置の分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 5 に示した。

試験品 1 の平均値は質量分率で 51.68 % で、併行相対標準偏差は 0.5 %、中間相対標準偏差は 0.7 % であった。また、試験品 8 の平均値は質量分率で 5.16 % で、併行相対標準偏差は 1.2 %、中間相対標準偏差は 1.2 % であった。

これらの濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法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)の目安内であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 4 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation (% (Mass fraction))

Test days	Analytical sample			
	Analytical sample 1		Analytical sample 8	
1	50.66	51.51	5.20	5.17
2	51.97	51.88	5.19	5.14
3	51.83	51.83	5.15	5.17
4	51.90	51.88	5.01	5.13
5	51.79	51.38	5.13	5.25
6	51.65	51.76	5.09	5.22
7	51.70	51.77	5.24	5.18

Table 5 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

Number of analytical sample	Mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate precision		
		s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
1	51.68	0.26	0.5	1	0.34	0.7	2
8	5.16	0.06	1.2	2	0.06	1.2	3.5

a) Mean value ($n = \text{Sample number of parallel test (2)} \times \text{Number of Test days (7)}$)

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

4) 定量下限等の確認

本法の定量下限を確認するため、試験品 11 を用いてく溶性りん酸(C-P₂O₅)の試験を 7 点併行で実施した結果を Table 6 に示した。平均定量値は、質量分率 0.203 % であり、その標準偏差は質量分率 0.011 % 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⁴⁾ので、本法の定量下限は質量分率 0.1 % 程度、検出下限は質量分率 0.04 % 程度と推定された。

Table 6 Estimation of the lower limit of quantitation (LOQ) of citric acid phosphorus (C-P₂O₅) (% (mass fraction))

Number of analytical sample	Content	Mean ^{a)}	s_r ^{b)}	LOQ ^{c)}	LOD ^{d)}
11	0.206	0.203	0.011	0.11	0.04

a) Mean value of the parallel test ($n=7$)

b) Repeatability Standard deviation

c) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

d) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$)

4. まとめ

亜りん酸等を含む固形肥料中のく溶性りん酸の定量法の単一試験室における妥当性確認を実施したところ次の結果を得た。

(1) くえん酸の分解について、くえん酸の量が 0.36 g までは硝酸 2 mL 及び硫酸 2 mL を加えて 250 °C で加熱することで、測定値に影響を与えなかった。

(2) 真度を確認するため、試験品 10 点を用いてく溶性りん酸 ($C-P_2O_5$) の試験を 3 点併行で実施したところ、く溶性りん酸が質量分率 1.03 %～51.40 %で、回収率は 98.3 %～101.0 %であり、いずれの回収率もこれらの濃度範囲における肥料等試験法が示している真度(回収率)の目標以内であった。

(3) 併行精度及び中間精度を確認するため、試験品 2 点を用いて、く溶性りん酸 ($C-P_2O_5$) の試験を 2 点併行で日を変えて 7 回実施したところ、平均値は質量分率で 51.68 %及び 5.16 %で、併行相対標準偏差は 0.5 %及び 1.2 %、中間相対標準偏差は 0.7 %及び 1.2 %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に示されている中間精度(中間相対標準偏差)及び併行精度(併行相対標準偏差)の目安内であった。

(4) 本法のく溶性りん酸定量下限は質量分率 0.1 %程度と推定された。

文 献

- 1) 廣井利明, 齋木雅一, 加藤公栄: 亜りん酸等入り肥料中の水溶性りん酸測定, 肥料研究報告, **1**, 25～33 (2008)
- 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 (2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>
- 3) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.108～114, 養賢堂, 東京(1988)
- 4) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)

Determination of Citric Acid-Soluble Phosphorus in Solid Fertilizer Containing Phosphonic Acid by Spectrophotometry

Fumihiro ABE¹, Noriyuki SASAKI² and Toshio HIRABARA²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

This spectrophotometry was developed for determination of citric acid-soluble phosphorus (as phosphorus oxide; C-P₂O₅) in solid fertilizer containing phosphonate (phosphite). Phosphonate ion and phosphate ion in fertilizer were extracted with 2 % citric acid solution. Phosphonate ion was oxidized to phosphate ion with nitric acid and sulfuric acid. C-P₂O₅ was spectrophotometrically determined by measuring phosphoric ion colored with an ammonium vanadomolybdate reagent according to Testing Methods for Fertilizers. As a result of 3 replicate analysis in 10 fertilizer samples prepared to contain 1.03 % ~ 51.68 % mass fraction as C-P₂O₅, the mean recoveries ranged from 98.3 % to 101.0 %. As a result of repetition test on 7 different days using two samples, the mean values were 51.68 % and 5.16 % mass fraction, repeatability relative standard deviation (*RSD_r*) were 0.5 % and 1.2 % and intermediate relative standard deviation (*RSD_{I(T)}*) were 0.7 % and 1.2 %, respectively. On the basis of 7 replicate analysis of W-P₂O₅, the limit of quantitative value (*LOQ*) was estimated at 0.1 % mass fraction. These results satisfying the criteria shown in Testing Methods for Fertilizers showed that the method is useful for the determination of C-P₂O₅ in solid fertilizer containing phosphonate.

Key words phosphonic acid, phosphonate, solid fertilizer, citric acid-soluble phosphoric acid,
spectrophotometry

(Research Report of Fertilizer, **8**, 17~25, 2015)