

2 肥料中のほう素の測定法の改良

山西正将¹

キーワード ほう素, 分光光度法, アゾメチン H

1. はじめに

平成 29 年度に ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による固形肥料中のく溶性主成分の測定¹⁾が検討されたが、く溶性ほう素において方法間比較による真度の確認結果が肥料等試験法で示す基準を満たさなかった。その原因として、有機物を原料に使用した肥料において、試料液が着色したことにより、吸光光度法であるアゾメチン H 法による分析値が実際のほう素含有量よりも過大となったためと考察され、試料液の着色による吸光度を補正した結果、アゾメチン H 法と ICP-OES 法との間での相関が改善したとの報告があった。

有機物を含む肥料中のく溶性ほう素を対象に、昨年度に引き続いて着色による吸光度を補正する方法を検討し、単一試験室での妥当性確認を進めるうち、有機物を原料に使用した肥料中の水溶性ほう素の試験においても同様の事象が確認されたため、有機物を原料として使用した肥料中の水溶性ほう素試験を追加して検討した。

また、ICP-OES 法による固形肥料中の水溶性主成分の測定²⁾の検討において、有機物を原料として使用していない肥料の一部でも試料液の着色の影響が確認されたため、有機物を原料として使用していない肥料も測定対象に追加し検討した。

また、現在液状肥料中の水溶性主成分の内、りん酸、加里、マンガンについては平成 27 年度に簡易抽出法の適用が検討³⁾されたが、ほう素については検討されていないため、液状肥料についての簡易抽出法を併せて検討した。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料の調製

(1) 流通試料

く溶性ほう素 (C-B₂O₃) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) を保証する市販の肥料を試験品として収集し、固形肥料については目開き 500 μm の網ふるいを通過するまでそれぞれ粉砕機で粉砕して分析用試料とし、液状肥料についてはそのまま分析用試料とした。分析用試料は使用時までポリ袋又はポリ容器に密封して常温保管した。

(2) 自家調製肥料

添加回収試験用として、Table 1 に示した材料を目開き 500 μm の網ふるいを通るまでそれぞれ粉砕機で粉砕し、Table 2 に示す配合設計により各材料をポリエチレン袋に入れて混合し、各試験品の B₂O₃ 濃度を任意の濃度に調製した。

¹ 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 (現) 肥飼料安全検査部

Material	Organic materials	C(W)-B ₂ O ₃
A Sodium tetraborate decahydrate(Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O)		36.51 ^{a)}
B Byproduct organic fertilizer of vegetable origin	Byproduct organic fertilizer of vegetable origin	N.D. ^{b)}
C Castor pomace	Castor pomace	N.D. ^{b)}
D Designated blended fertilizer	Byproduct mixed fertilizer, dried microbes, fish meal, rapeseed meal and soybean meal	N.D. ^{b)}

a) Theoretical value

b) Measured value by ICP-OES

No. of samples	The mixing ratio of the materials				Design component ^{a)}
	A	B	C	D	C(W)-B ₂ O ₃
1	28.00	40.00	22.00	10.00	10.22
2	14.00	40.00	36.00	10.00	5.11
3	2.80	48.00	37.20	12.00	1.02
4	0.56	49.60	37.44	12.40	0.20

a) Design components of citrate soluble and water soluble boron in the sample

2) 装置及び器具

- (1) 分光光度計: SHIMADZU UV-1800
- (2) 恒温上下転倒式回転振り混ぜ機: ADVANTEC THM062FB
- (3) ホットプレート: SIBATA NP-6 及びアサヒ理化製作所 AHS-500

3) 試薬

- (1) 水: 水精製装置(東洋製作所 RFD240NA)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 の水
- (2) 塩酸: JIS K 8180 精密分析用(富士フイルム和光純薬)
- (3) 硫酸: JIS K 8951 精密分析用(富士フイルム和光純薬)
- (4) くえん酸溶液: JIS K 8283 特級試薬 くえん酸一水和物(富士フイルム和光純薬) 20 g を水に溶かして 1000 mL とした.
- (5) エチレンジアミン四酢酸塩溶液: JIS K 8107 特級試薬 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物(関東化学) 37.2 g を水に溶かして 1000 mL とした.
- (6) 酢酸アンモニウム溶液: JIS K 8359 特級試薬 酢酸アンモニウム(富士フイルム和光純薬) 250 g を水に溶かして 500 mL とし, 硫酸(1+4)で pH を 5.2±0.1 に調整した.
- (7) アゾメチン H 溶液: アゾメチン H(同仁化学研究所) 0.6 g 及び JIS K 9502 特級試薬 L(+)-アスコルビン酸(富士フイルム和光純薬) 2 g に水を加え, 35 °C~40 °C に加温して溶かし, 冷却後水を加えて 100 mL とした.
- (8) ほう素標準液(B₂O₃ 2.5 mg/mL)(吸光光度法用): JIS K 8863 特級試薬 ほう酸(富士フイルム和光純薬)をデシケーター中に約 24 時間放置して乾燥した後, 4.441 g を秤量皿にとり, 少量の水で溶かし,

全量フラスコ 1000 mL に移し入れ、標線まで水を加える。

(9) ほう素標準液(B_2O_3 0.05 mg/mL) (吸光光度法用): ほう素標準液(B_2O_3 2.5 mg/mL) (吸光光度法用)の一定量の水で正確に 50 倍に希釈する。

(10) ほう素標準液(B_2O_3 0.005 mg/mL) (吸光光度法用): ほう素標準液(B_2O_3 0.05 mg/mL) (吸光光度法用)の一定量の水で正確に 10 倍に希釈する。

(11) ほう素標準液(B 1000 μ g/mL) (ICP-OES 法用): JCSS ほう素標準液(B:1000 μ g/mL) (富士フィルム和光純薬)

(12) ほう素標準液(B 0.05 μ g/mL ~10 μ g/mL) (ICP-OES 法用): (11)の標準液を希釈し、塩酸(1+23)となるように塩酸(1+5)を加えて検量線用標準液を調製した。

4) 分析方法

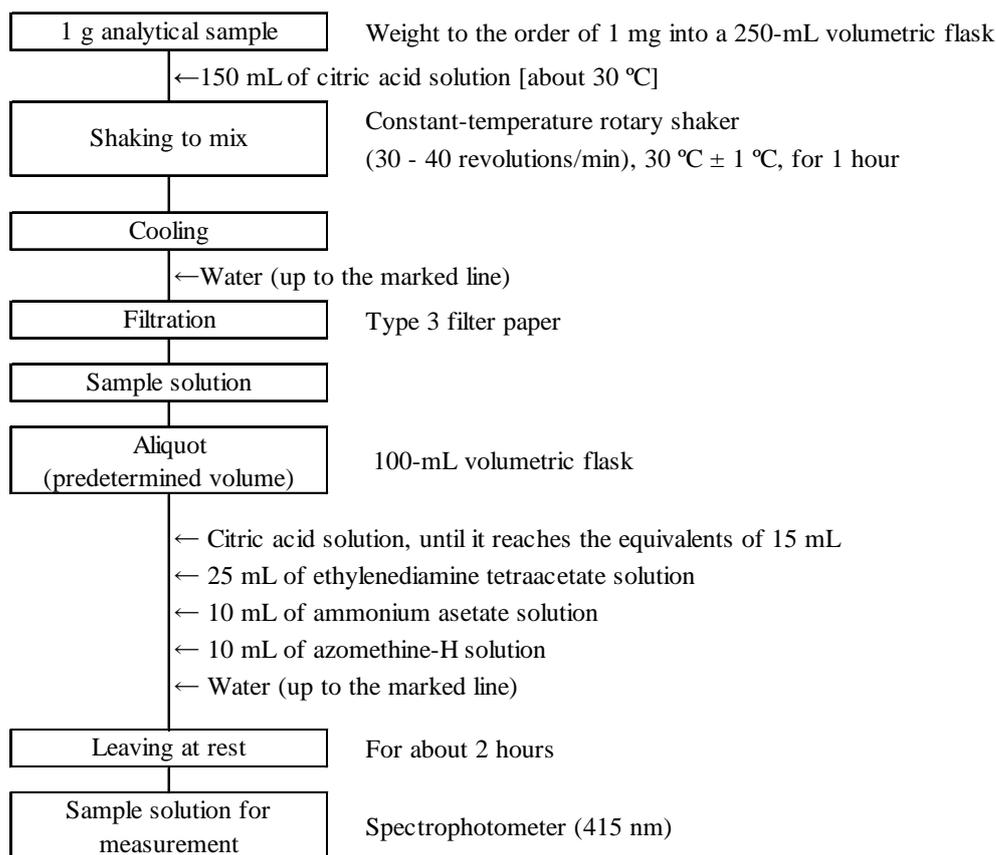
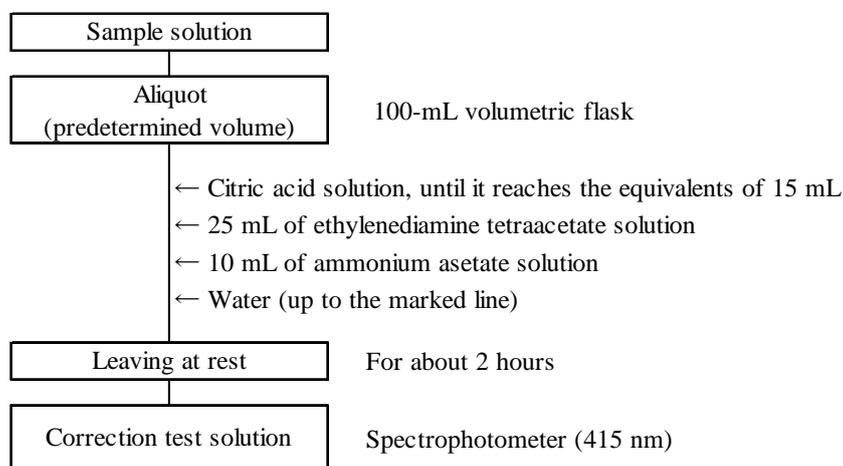
(1) アゾメチン H 法による固形肥料中のく溶性ほう素の測定

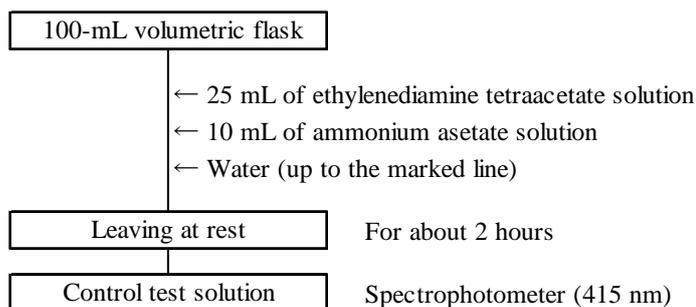
分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 250 mL に入れ、約 30 °C に加温したくえん酸溶液 150 mL を加え、30~40 回転/分 (30 °C \pm 1 °C) で 1 時間振り混ぜた。速やかに冷却後、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり、くえん酸溶液が 15 mL 相当量になるよう同溶液を加え、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL、アゾメチン H 溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加えた後、約 2 時間放置したものを測定用試料溶液とした (Scheme 1)。

また、測定用試料溶液と同量の試料液を別の全量フラスコ 100 mL にとり、くえん酸溶液が 15 mL 相当量になるよう同溶液を加え、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを補正用試験液とした (Scheme 2)。

別の全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを対照用試験液とした (Scheme 3)。

対照用試験液を対照として測定用試料溶液及び補正用試験液の波長 415 nm の吸光度を測定し、測定用試料溶液の吸光度から補正用試験液の吸光度を減算して測定溶液の吸光度とし、同様に対照用試験液を対照に測定した検量線から分析試料中のく溶性ほう素 (C- B_2O_3) を算出した。

Scheme 1 Analytical procedure for citrate soluble boron in fertilizer (C-B₂O₃) (1)Scheme 2 Analytical procedure for citrate soluble boron in fertilizer (C-B₂O₃) (2)



Scheme 3 Analytical procedure for citrate soluble
and water soluble boron in fertilizer (C(W)-B₂O₃) (3)

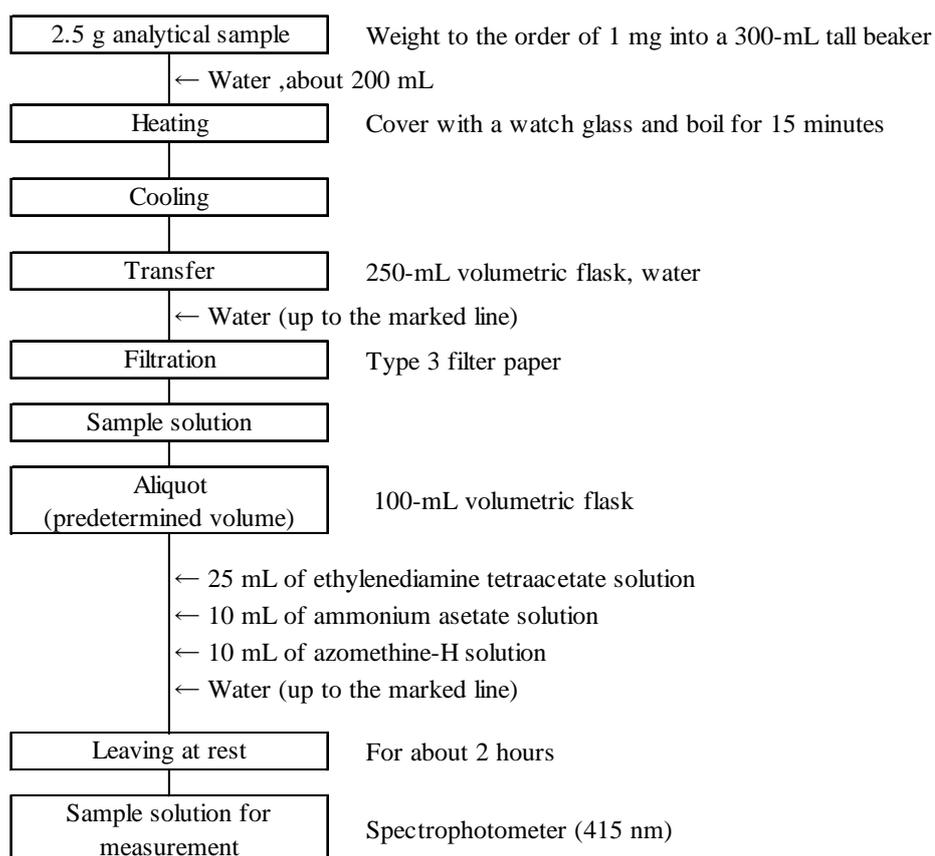
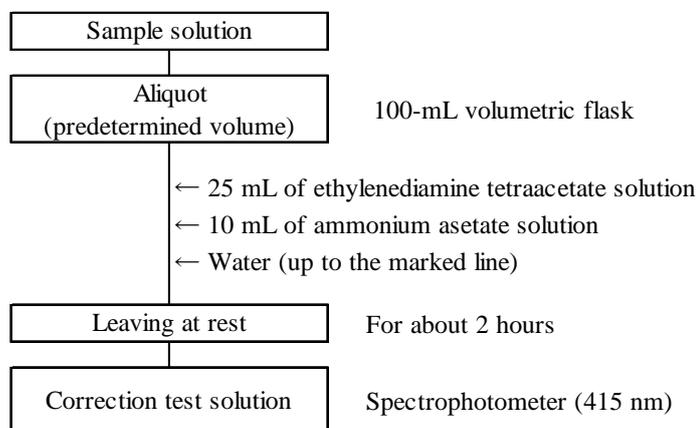
(2) アゾメチン H 法による固形肥料中の水溶性ほう素の測定

分析試料 2.5 g を 1 mg の桁まではかりとり、トールビーカー 300 mL に入れ、水約 200 mL を加え、時計皿で覆い、ホットプレート上で加熱して約 15 分間煮沸した。速やかに冷却後、水で全量フラスコ 250 mL に移し込み、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL、アゾメチン H 溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加えた後、約 2 時間放置したものを測定用試料溶液とした (Scheme 4)。

また、測定用試料溶液と同量の試料液を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを補正用試験液とした (Scheme 5)。

別の全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを対照用試験液とした (Scheme 3)。

対照用試験液を対照として測定用試料溶液及び補正用試験液の波長 415 nm の吸光度を測定し、測定用試料溶液の吸光度から補正用試験液の吸光度を減算して測定溶液の吸光度とし、同様に対照用試験液を対照に測定した検量線から分析試料中の水溶性ほう素 (W-B₂O₃) を算出した。

Scheme 4 Analytical procedure for water soluble boron in solid fertilizer (W-B₂O₃) (1)Scheme 5 Analytical procedure for water soluble boron in fertilizer (W-B₂O₃) (2)

(3) アゾメチン H 法による液状肥料中の水溶性ほう素の測定

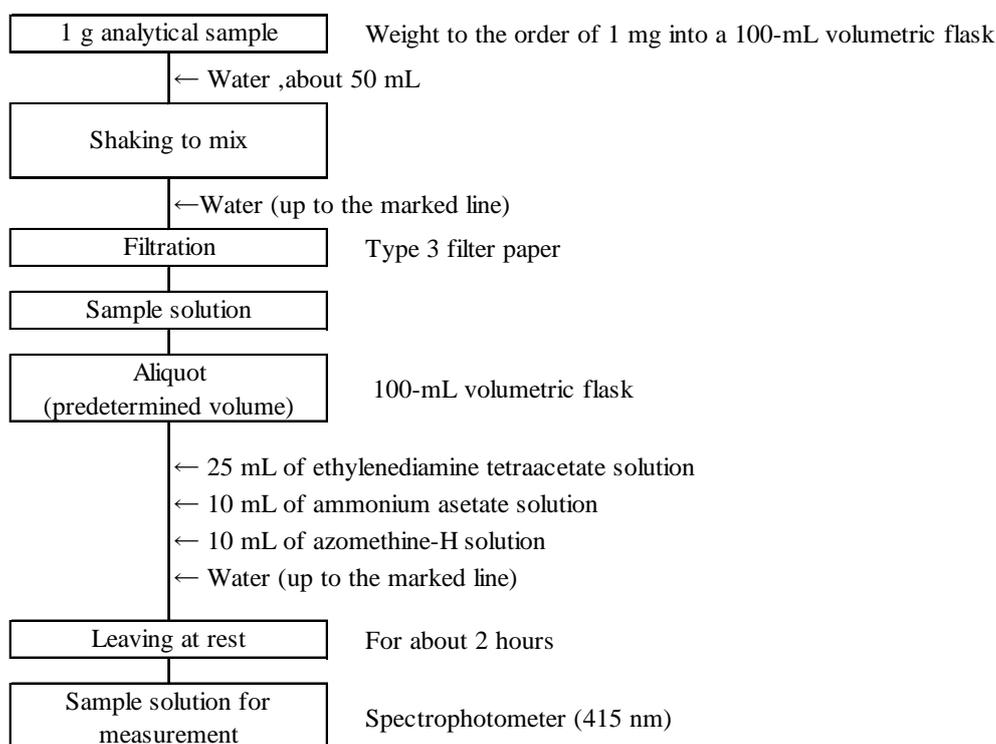
分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れ、水約 50 mL を加え、振り混ぜ、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL、アゾメチン H 溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加えた後、約 2 時間放置し測定用試料溶液とした (Scheme 6)。

また、測定用試料溶液と同量の試料液を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したもの

を補正用試験液とした (Scheme 5).

別の全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え, 標線まで水を加え, 約 2 時間放置したものを対照用試験液とした (Scheme 3).

対照用試験液を対照として測定用試料溶液及び補正用試験液の波長 415 nm の吸光度を測定し, 測定用試料溶液の吸光度から補正用試験液の吸光度を減算して測定溶液の吸光度とし, 同様に対照用試験液を対照に測定した検量線から分析試料中の水溶性ほう素 ($W-B_2O_3$) を算出した.



Scheme 6 Analytical procedure for water soluble boron in liquid fertilizer ($W-B_2O_3$) (1)

3. 結果及び考察

1) エチレンジアミン四酢酸塩溶液, 酢酸アンモニウム溶液及びくえん酸溶液の添加の有無による吸光度の変化の確認

エチレンジアミン四酢酸塩のキレート効果により, アゾメチン H ほう酸塩の吸光度が低下することが知られている⁴⁾. 同様に, エチレンジアミン四酢酸塩溶液及び酢酸アンモニウム溶液の添加が有機物等由来の吸光度に影響を及ぼすと考えられたため, (1) 水溶性ほう素試験法の試料溶液の一定量を全量フラスコ 100 mL にとり, 標線まで水を加えた溶液, (2) 同試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり, エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え, 標線まで水を加えた溶液, (3) 同試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり, くえん酸溶液を 15 mL を加え, エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え, 標線まで水を加えた溶液, それぞれ約 2 時間放置後に 415 nm における吸光度を測定した結果を Fig.1 に示した. 化成肥料 2 点, 配合肥料 1 点, 混合堆肥複合肥料 2 点 (計 5 点) の市販品を用いた結果, エチレンジアミン四酢酸塩溶液及び酢酸アンモニウム溶液の添加による試料溶液由来の吸光度への影響が認められた. 一方, くえん酸溶液の添加による試料溶液由来の吸光度への影

響はほとんど認められなかった。

また、(4)全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え、標線まで水を加えた溶液、(5)全量フラスコ 100 mL にくえん酸溶液 15mL, エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え、標線まで水を加えた溶液、それぞれ約 2 時間放置後に 415 nm における吸光度を測定し、結果を Table 3 に示した。平均値を算出し対応のある *t* 検定を実施したところ、くえん酸溶液の有無による有意な差は認められなかったが、エチレンジアミン四酢酸塩溶液及び酢酸アンモニウム溶液を添加した溶液は水のみ吸光度より低値となった。

以上の結果から考えられたく溶性及び水溶性ほう素試験法における各測定溶液の吸光度変化の概要及び補正方法を Fig.2 に示した。

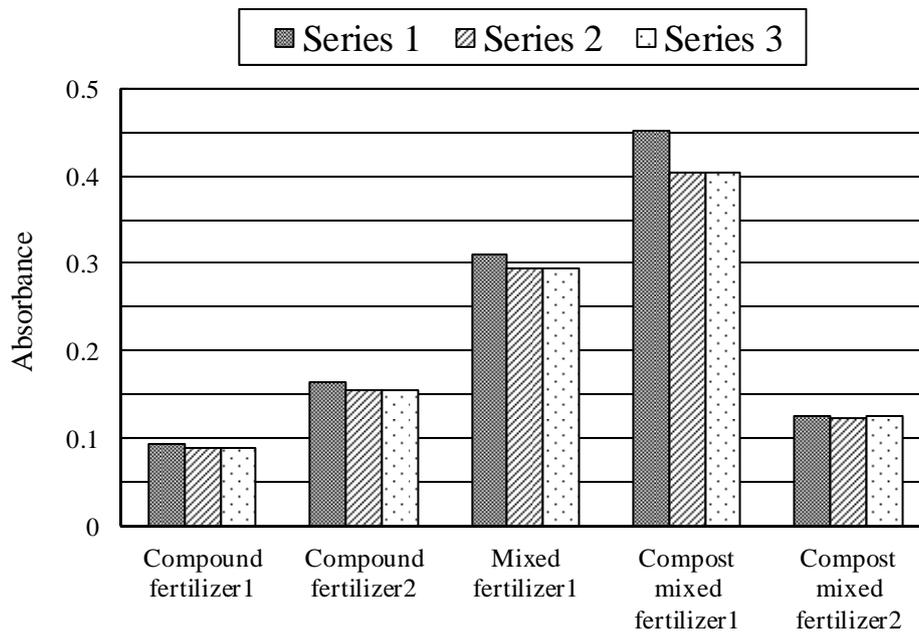


Fig.1 Influence on absorbance of the sample solution by added reagents

Series 1: 25mL of sample solution added

Series 2: 25mL of sample solution, ammonium acetate solution and EDTA solution added

Series 3: 25mL of sample solution, ammonium acetate solution, EDTA solution and citric acid solution added

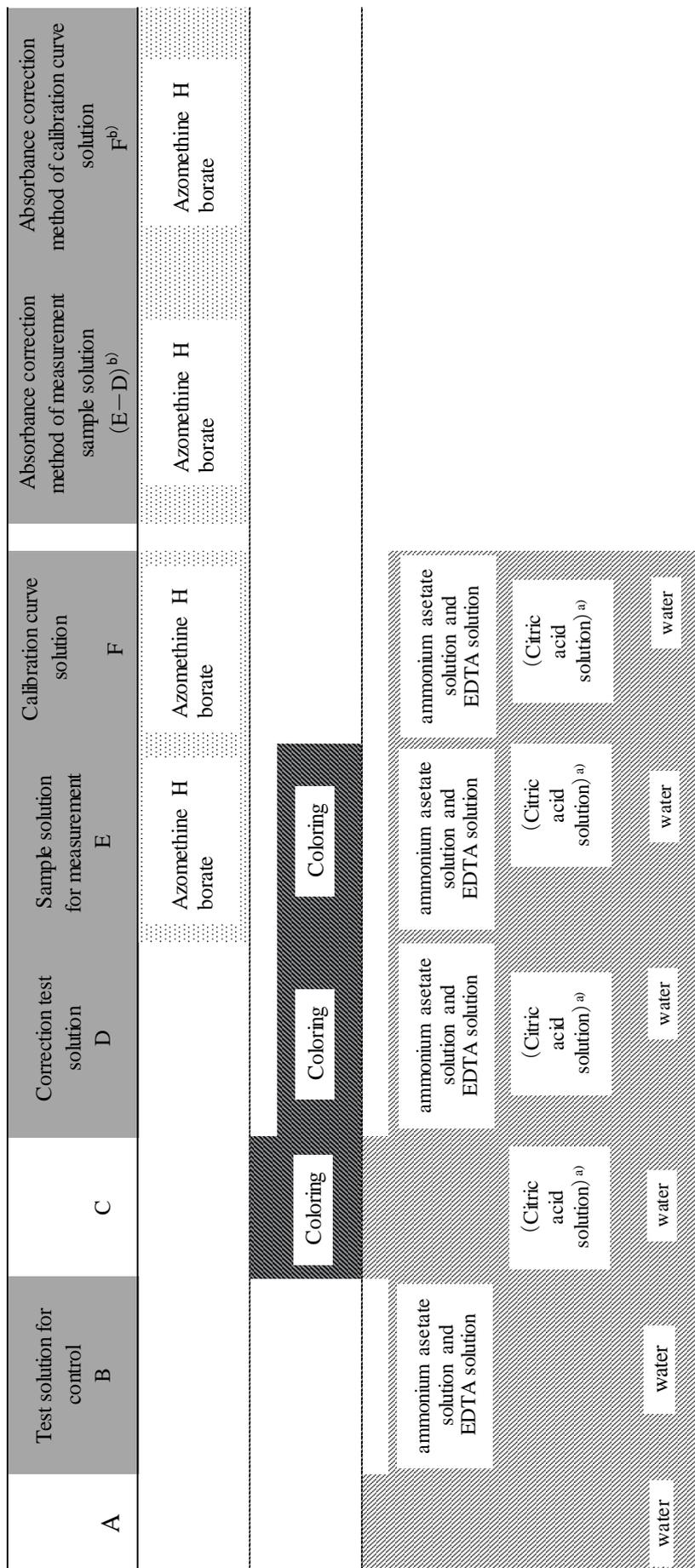
Table 3 Influence on absorbance of control test solution by citric acid

Absorbance (415 nm) ^{a)}		
Reagent solution ^{b)} added	Reagent solution ^{b)} and citric acid solution added	<i>t</i> test
-0.0012 (0.0001) ^{c)}	-0.0012 (0.0001) ^{c)}	<i>P</i> = 0.70

a) Mean value (*n* = 5)

b) Ammonium acetate solution and EDTA solution

c) Standard deviation



a) Not used when measuring water soluble boron

b) Measure absorbance with B as control

Fig.2 Outline for change in absorbance of each measurement solution and correction method

2) 液状肥料における着色による影響の確認

着色が見られた Table 4 に示す液状肥料を用いて、Scheme 6 により試料溶液を調製し、対照用試験液を対照として補正用試験液の吸光度を測定した。その結果、試料溶液の着色による吸光度が確認され、分析値に影響を及ぼす可能性が十分に考えられた。

また、当該肥料は有機物を原料に使用されていないため、液状肥料についても有機物を含むかどうかにかかわらず本法を適用することとした。

Table 4 Absorbance of control test solution in liquid fertilizer

Sample	Absorbance ^{a)b)}	Raw materials
Home garden-use mixed fertilizer 1	0.02184	Urea,potassium hydroxide,boric acid,calcium nitrate,ferric nitrate,gluconic acid,malic acid,sorbitol,ethylenediaminetetraacetic acid tetrasodium,trimethyl dodecyl ammonium chloride,water

a) 25 mL of sample solution

b) Mean value($n=3$)

3) 真度の確認

(1) 方法間比較による真度の評価

本法の真度確認のため、く溶性ほう素については試料 33 点(化成肥料 20 点, 配合肥料 8 点, 成形複合肥料 2 点, 混合堆肥複合肥料 2 点, 家庭園芸用複合肥料 1 点), 水溶性ほう素については試料 26 点(化成肥料 11 点, 配合肥料 10 点, 混合堆肥複合肥料 1 点, 家庭園芸用複合肥料 2 点, 指定配合肥料 2 点)を用いて、ICP-OES 分析法と本法を回帰分析により比較した。

ICP-OES 法の測定値に対する本法の測定値の回帰直線及び 95% 予測区間を Fig.2 に示した。また、95% 信頼区間の傾き(b), 切片(a), 及び回帰直線の相関係数(r)を Table 5 に示した。

肥料等試験法⁵⁾の妥当性確認方法の基準では、傾き(b)の 95 %信頼区間に 1 が含まれ、切片(a)の 95 %信頼区間に 0 が含まれ、相関係数(r)が 0.99 以上であることを推奨しており、本法はこの基準を満たしていた。

また、高濃度ほう素を含有する試料及び液状肥料については、試料数が少なかったため、ICP-OES 法と本法により流通肥料 8 点(ほう酸肥料 1 点, ほう酸塩肥料 1 点, 熔成微量要素複合肥料 1 点, 混合微量要素肥料 2 点, 家庭園芸用複合肥料 1 点, 液状複合肥料 2 点)について、く溶性及び水溶性ほう素測定値を比較し、それぞれ 4 点併行試験を実施した結果を Table 6 に示した。

2 群の成績の等分散性を確認し、試験品毎に t 検定を実施した結果、両側有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

この結果から、本法は ICP-OES 法と同等の真度を有していると考えられた。

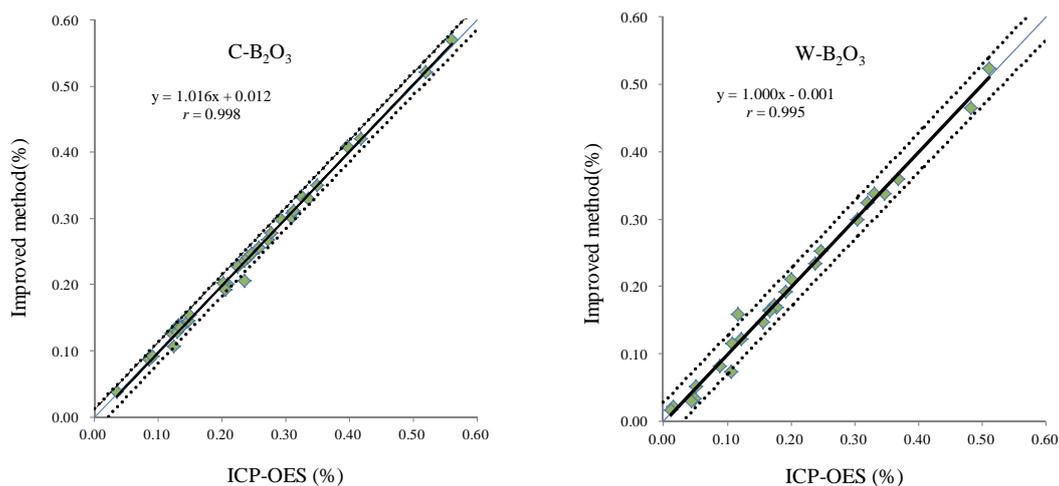


Fig.3 Comparison between Improved method and ICP-OES mass fraction(%)
 Heavy line: Regression line
 Dotted lines: Upper and Lower limit of 95 % prediction interval
 Thin line: $y=x$

Table 5 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between Absorptiometry with correction and ICP-OES

	95% confidence interval				Correlation coefficient (r)
	Inclination (b)		Intercept (a)		
C-B ₂ O ₃	0.991	~ 1.04	-0.011	~ 0.002	0.998
W-B ₂ O ₃	0.959	~ 1.04	-0.011	~ 0.008	0.995

Table 6 Test result using samples of 3 different concentration for evaluating trueness

Component	Sample	Improved method		Conventional method ^{a)}		<i>F</i> test		<i>t</i> test	
		Mean ^{b)}	<i>s</i> ^{d)}	Mean ^{b)}	<i>s</i> ^{d)}	Variance ratio	Critical value ^{e)}	<i>t</i> -value	Critical value ^{f)}
		(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}				
C-B ₂ O ₃	Micronutrient mixture 1	1.96	0.04	1.99	0.04	1.23	9.28	1.11	2.45
	Fritted micronutrient mixture	11.15	0.16	11.48	0.26	2.61	9.28	2.19	2.45
	Borate fertilizer	40.06	0.15	39.96	0.41	7.84	9.28	0.47	2.45
W-B ₂ O ₃	Micronutrient mixture 1	1.97	0.01	1.97	0.02	1.65	9.28	0.42	2.45
	Micronutrient mixture 2	12.52	0.03	12.53	0.09	8.99	9.28	0.22	2.45
	Boric acid fertilizer	56.45	0.54	56.77	0.42	1.65	9.28	0.93	2.45
W-B ₂ O ₃ ^{g)}	Fruid mixed fertilizer 1	0.018	0.0005	0.018	0.001	8.25	9.28	0.99	2.45
	Fruid mixed fertilizer 2	0.128	0.001	0.127	0.001	1.68	9.28	1.15	2.45
	Home garden-use mixed fertilizer 1	4.134	0.033	4.188	0.034	1.09	9.28	2.27	2.45

a) ICP-OES

b) Mean value ($n = 4$)

c) Mass fraction

d) Standard deviation

e) $F(3,3;0.05)$ f) $t(6;0.05)$

g) Liquid fertilizer

(2) 添加回収試験による真度の評価

本法の真度を確認するため、2.1) (2) Table 2 の試験品 1~4 について、本法でく溶性及び水溶性ほう素の分析を 3 点併行で行い、その結果を Table 7 及び Table 8 に示した。

試験の結果、く溶性ほう素は 0.20 % ~ 10.22 % の設計で回収率 97 % ~ 106 %、相対標準偏差は 1.5 % ~ 4.8 %、固形肥料中の水溶性ほう素は回収率 99 % ~ 103 %、相対標準偏差は 0.5 % ~ 2.9 %、液状肥料中の水溶性ほう素は回収率 93 % ~ 102 %、相対標準偏差は 0.3 % ~ 0.9 % であり、全ての成分及び濃度レベルにおいて、回収率は肥料等試験法⁵⁾が示している目安を満たしていた。

Table 7 Result of recovery test(solid fertilizer)

No. of sample	Design component ^{a)}	Recovery ^{b)}		Relative standard deviation		Criteria of the trueness ^{c)}
	C(W)-B ₂ O ₃	C-B ₂ O ₃	W-B ₂ O ₃	C-B ₂ O ₃	W-B ₂ O ₃	
1	10.22	99	99	1.5	1.1	97~103
2	5.11	97	101	2.3	0.5	96~104
3	1.02	99	103	1.9	2.9	96~104
4	0.20	106	102	4.8	2.6	94~106

a) %(mass fraction)

b) Mean value($n=3$)

c) Criteria of the trueness(recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

Table 8 Result of recovery test(Liquid fertilizer)

Spiked level ^{a)}	Sample	Recovery ^{b)}	Relative standard deviation	Criteria of the trueness ^{c)}
5.00	Fruid mixed fertilizer 1	102	0.3	96~104
0.10		99	0.9	94~106
0.01		93	0.3	92~108

a) %(mass fraction)

b) Mean value($n=3$)

c) Criteria of the trueness(recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

4) 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、ほう酸肥料1点、ほう酸塩肥料1点、化成肥料2点、家庭園芸用複合肥料1点、液状複合肥料1点の計6点を用いて、く溶性及び水溶性ほう素の試験を2点併行で日を変えて5回実施して得られた結果をTable 9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 10に示した。

く溶性ほう素試験のほう酸塩肥料の平均値は質量分率で39.35%、併行相対標準偏差は1.2%、中間相対標準偏差は1.7%、化成肥料1の平均値は質量分率で0.12%、併行相対標準偏差は1.0%、中間相対標準偏差は4.7%であった。固形肥料における水溶性ほう素試験のほう酸肥料の平均値は質量分率で56.25%、併行相対標準偏差は0.8%、中間相対標準偏差は0.8%、化成肥料2の平均値は質量分率で0.29%、併行相対標準偏差は0.7%、中間相対標準偏差は0.8%であった。液状肥料における水溶性ほう素試験の家庭園芸用複合肥料1の平均値は質量分率で4.096%、併行相対標準偏差は0.6%、中間相対標準偏差は2.4%、液状複合肥料1の平均値は質量分率で0.018%、併行相対標準偏差は1.9%、中間相対標準偏差は2.4%、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⁵⁾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)の目安の2倍以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 9 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation (% (mass fraction))

Component	Sample	Test day				
		1	2	3	4	5
C-B ₂ O ₃	Borate fertilizer	40.23	40.15	38.84	38.91	39.75
		39.55	39.97	38.67	39.03	38.38
	Compound fertilizer 1	0.12	0.11	0.12	0.11	0.12
		0.12	0.11	0.12	0.11	0.12
W-B ₂ O ₃	Boric acid fertilizer	56.52	56.87	55.97	56.39	56.51
		56.26	56.22	56.31	55.39	56.05
	Compound fertilizer 2	0.29	0.30	0.29	0.29	0.29
		0.29	0.29	0.29	0.29	0.30
W-B ₂ O ₃ ^{a)}	Home garden-use mixed fertilizer 1	3.982	4.130	4.076	4.151	4.213
		3.918	4.090	4.075	4.124	4.204
	Fruid mixed fertilizer 1	0.019	0.018	0.018	0.018	0.018
		0.018	0.018	0.017	0.018	0.017

a) Liquid fertilizer

Table 10 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

Component	Sample	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	Repeatability			Intermediate precision		
			s_r ^{d)} (%) ^{c)}	RSD_r ^{e)} (%)	$CRSD_r$ ^{f)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{g)} (%) ^{c)}	$RSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ⁱ⁾ (%)
C-B ₂ O ₃	Borate fertilizer	39.35	0.49	1.2	1	0.68	1.7	2
	Compound fertilizer 1	0.12	0.001	1.0	3	0.01	4.7	4.5
W-B ₂ O ₃	Boric acid fertilizer	56.25	0.43	0.8	1	0.43	0.8	2
	Compound fertilizer 2	0.29	0.002	0.7	3	0.002	0.8	4.5
W-B ₂ O ₃ ^{a)}	Home garden-use mixed fertilizer 1	4.096	0.03	0.6	2	0.10	2.4	3.5
	Fruid mixed fertilizer 1	0.018	0.0003	1.9	4	0.0004	2.4	6.5

a) Liquid fertilizer

b) Mean value ($n =$ sample number of parallel test (2) \times number of test days (5))

c) Mass fraction

d) Repeatability standard deviation

e) Repeatability relative standard deviation

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

g) Intermediate standard deviation

h) Intermediate relative standard deviation

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

5) 定量下限等の推定と確認

本法の定量下限を推定するため、先の試験で含有量が「含有すべき主成分の最小量」付近である化成肥料、配合肥料及び液状複合肥料各 1 点を用いてく溶性及び水溶性ほう素の試験を 7 点併行で実施した結果を Table 11 に示した。

その結果、化成肥料 3 の平均値は 0.07 %、標準偏差は 0.001 %、配合肥料 2 の平均値は 0.03 %、標準偏差は 0.001 %、液状複合肥料 3 の平均値は 0.020 %、標準偏差は 0.0003 %、のであった。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、く溶性ほう素試験法の定量下限は 0.01 %程度、検出下限は 0.005 %程度、固形肥料中の水溶性ほう素試験法の定量下限は 0.01 %程度、検出下限は 0.002 %程度、液状肥料中の水溶性ほう素試験法の定量下限は 0.003 %程度、検出下限は 0.001 %程度と推定された。

また、推定された定量下限付近の濃度における回収率を確認するため、 B_2O_3 として濃度が固形肥料では 0.01 %相当量、液状肥料では 0.003 %相当量のほう素標準液を添加した試料を用いて、本法に従って 3 点併行で添加回収試験を行い、結果を Table 12 に示した。

その結果、添加回収率は 95~106 %で、いずれも肥料等試験法⁵⁾に示されている添加濃度における真度(回収率)の目安を満たしていた。

Table 11 Estimation of the lower limit of quantitation (LOQ)

Component	Sample	Mean ^{a)b)}	s_r ^{c)}	Estimated LOQ ^{d)}	Estimated LOD ^{e)}
C- B_2O_3	Compound fertilizer 3	0.07	0.001	0.01	0.005
W- B_2O_3	Mixed fertilizer 2	0.03	0.001	0.01	0.002
W- B_2O_3 ^{f)}	Fluid mixed fertilizer 3	0.020	0.0003	0.003	0.001

a) Mean value($n=7$)

b) % (mass fraction)

c) Repeatability standard deviation

d) Estimated lower limit of quantification($LOQ = s_r \times 10$)

e) Estimated lower limit of detection($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$)

f) Liquid fertilizer

Table 12 Result of confirming the lower limit of quantification(LOQ) by recovery test

Component	Sample	Spiked level ^{a)}	Recovery ^{b)}	Relative standard	Criteria of the trueness ^{c)}
C-B ₂ O ₃	Compound fertilizer 3	0.01	100	5.0	92~108
W-B ₂ O ₃	Mixed fertilizer 2	0.01	106	3.8	92~108
W-B ₂ O ₃ ^{d)}	Fruid mixed fertilizer 3	0.003	95	3.4	92~108

a) % (mass fraction)

b) Mean value($n=3$)

c) Criteria of the trueness(recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

d) Liquid fertilizer

4. まとめ

肥料中のく溶性及び水溶性ほう素の測定法について、試料溶液由来の着色による吸光度を補正する方法を検討し、単一試験室における妥当性確認試験を実施した。併せて、液状肥料においては簡易抽出法の適用が可能かどうかを確認し、次の結果を得た。

(1) 測定溶液調製方法の検討を行い、試料溶液由来の着色による吸光度を補正する溶液の調製方法を決定した。

(2) 有機物を原料として使用していない一部の液状肥料で試料溶液由来の着色が見られたため、液状肥料についても吸光度を補正することとした。

(3) 真度確認のため、ICP-OES法と本法により、流通肥料計59点(く溶性ほう素33点、固形肥料の水溶性ほう素26点)を分析し、回帰分析による方法間比較を実施した。回帰直線の傾きは95%信頼区間に1が含まれ、切片の95%信頼区間に0が含まれ、相関係数が0.99以上であり、肥料等試験法⁵⁾に示されている推奨基準を満たしていた。

また、ほう素を高濃度含有する試料各3点について、ICP-OES法と本法により、4点併行試験を実施し、2群の成績の等分散性を確認し試験品毎に t 検定を実施した結果、両側有意水準5%で有意な差は認められなかった。添加回収試験を行った結果、全ての試料で添加回収率は肥料等試験法⁵⁾の目安を満たしていた。

(4) 中間精度及び併行精度を確認するため、各2種類の試料を用い、2点併行で日を変えて5回試験を行った結果、肥料等試験法⁵⁾に示されている併行精度及び中間精度の目安の許容内であった。

(5) ほう素を低濃度含有する肥料を用いた7点併行試験により定量下限を推定し、推定定量下限濃度の標準液添加により添加回収試験を行った結果、く溶性ほう素試験法の定量下限は0.01%程度、検出下限は0.005%程度、固形肥料の水溶性ほう素試験法の定量下限は0.01%程度、検出下限は0.002%程度、液状肥料の水溶性ほう素試験法の定量下限は0.003%程度、検出下限は0.001%程度であった。

文 献

- 1) 松尾信吾:ICP 発光分光分析法による固形肥料中のく溶性主成分の測定, 肥料研究報告, **11**, 14~28, (2018)
- 2) 船木紀夫:ICP-OES 法による固形肥料中の水溶性主成分の測定法の開発, 肥料研究報告, **12**, 28~51, (2019)
- 3) 川口伸司:液状肥料中の水溶性成分の簡易抽出方法, 肥料研究報告, **9**, 10~32, (2016)
- 4) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, p.184~187, 養賢堂, 東京(1988)
- 5) 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(2018)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2018.pdf>

Improved Determination Method of Boron(B_2O_3) in Fertilizer

Masayuki YAMANISHI¹

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

A spectrophotometry for determination of boron (B_2O_3) in fertilizer was improved by absorbance correction and validated as a single-laboratory validation. Extraction method was not been changed. The absorbance of the measurement solution measured using the control test solution as the basic point was corrected by the absorbance of the correction test solution. The values of C- B_2O_3 and W- B_2O_3 measured in solid fertilizer by the modified method were compared with those measured by ICP-OES (Line of regression and correlation coefficient; C- B_2O_3 ($r = 0.998$, $y = 0.012 + 1.016x$), W- B_2O_3 ($r = 1.000$, $y = -0.001 + 1.000x$)). The values of C- B_2O_3 measured a quadruple test using 3 different concentrative analytical samples by improved method were compared with those by ICP-OES. As the result, significant difference was not confirmed in homoscedasticity of the results of 2 groups and t-test for each concentration under the two-sided significant level of 5 %. As a result of 3 replicate analysis in 4 solid fertilizer samples prepared to contain 0.20 % ~ 10.22 % (mass fraction) of C- B_2O_3 or W- B_2O_3 , the mean recoveries ranged from 97 % to 106 %. Repeatability relative standard deviations were 0.5 % ~ 4.8 %. As a result of 3 replicate analysis of 3 liquid fertilizer samples spiked with W- B_2O_3 , the mean recoveries were 93 % ~ 102 %. Repeatability relative standard deviations were 0.3 % ~ 0.9 %. Intermediate relative standard deviations of there were 0.8 % ~ 4.7 %. The limits of quantitative value (*LOQ*) of C- B_2O_3 and W- B_2O_3 in solid fertilizer and W- B_2O_3 in liquid fertilizer were 0.01 % and 0.003 %, respectively. Those results indicated that the improved method were valid for the determination of boron (B_2O_3) in fertilizer.

Key words boron, spectrophotometry, azomethine H

(Research Report of Fertilizer, **12**, 10~27, 2019)