

6. その他の制限事項に係る試験

6.1 ジシアンジアミド性窒素

6.1.a 高速液体クロマトグラフ法(1)

(1) 概要

この試験法は石灰窒素及びそれを含む肥料に適用する。この試験法の分類は Type B であり、その記号は 6.1.a-2017 又は Dd-N.a-1 とする。

メタノールを分析試料に加えてジシアンジアミド(Dd)を抽出し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)に導入し、アミノプロピルシリカゲルカラムで分離し、波長 215 nm で測定し、分析試料中のジシアンジアミド性窒素(Dd-N)を求める。なお、この試験法の性能は備考 4 に示す。

(2) 試薬 試薬は、次による。

- a) **メタノール**: JIS K 8891 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- b) **メタノール**: 高速液体クロマトグラフの溶離液に使用するメタノールは高速液体クロマトグラフ用又は同等の品質の試薬。
- c) **アセトニトリル**: 高速液体クロマトグラフ用又は同等の品質の試薬。
- d) **ジシアンジアミド標準液(1 mg/mL)⁽¹⁾**: ジシアンジアミド[C₂H₄N₄]⁽²⁾0.1 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量のメタノールを加えて溶かし、全量フラスコ 100 mL に移し入れ、標線まで同溶媒を加える。冷蔵庫で保存し、調製後 6 ヶ月間以上経過したものは使用しない。
- e) **ジシアンジアミド標準液(0.1 mg/mL)**: ジシアンジアミド標準液(1 mg/mL) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線までメタノールを加える。
- f) **検量線用ジシアンジアミド標準液(10 µg/mL～50 µg/mL)**: 使用時にジシアンジアミド標準液(0.1 mg/mL)の 5 mL～25 mL を全量フラスコ 50 mL に段階的にとり、標線までメタノールを加える。
- g) **検量線用ジシアンジアミド標準液(1 µg/mL～10 µg/mL)**: 使用時に検量線用ジシアンジアミド標準液(20 µg/mL)の 2.5 mL～25 mL を全量フラスコ 50 mL に段階的にとり、標線までメタノールを加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) ジシアンジアミドとして 98 % (質量分率)以上の純度の試薬が市販されている。

備考 1. ジシアンジアミドは富士フイルム和光純薬及び関東化学よりジシアノジアミドとして市販されている。

(3) 装置 装置は、次のとおりとする。

- a) **高速液体クロマトグラフ**: JIS K 0124 に規定する高速液体クロマトグラフで次の要件を満たすもの。
 - 1) **カラム**: 内径 4 mm～6 mm、長さ 150 mm～250 mm のステンレス鋼のカラム管にアミノ基又はアミノプロピル基を化学結合したシリカゲルを充てんしたもの。
 - 2) **カラム槽**: カラム槽温度を 30 °C～45 °C で調節できるもの。
 - 3) **検出部**: 吸光光度検出器で波長 215 nm 付近で測定できるもの。
- b) **垂直往復振とう機**: フラスコ用アダプターを用いて全量フラスコ 250 mL を 300 往復/分(振幅 40 mm)で垂直往復振とうさせられるもの。
- c) **高速遠心分離機**: 8000×g～10000×g で遠心分離可能なもの。

備考 2. カラムは Hibar LiChrosorb NH₂、Inertsil NH₂、Unison UK-Amino、Mightysil NH₂、Shim-pack CLC-NH₂、Shodex NH-5A、Unisil Q NH₂ 等の名称で市販されている。

(4) 試験操作

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL～300 mL に入れる。
- b) 直ちにメタノール 100 mL を加え⁽³⁾、300 往復/分(振幅 40 mm)で約 10 分間振り混ぜる。
- c) 静置後、上澄み液を共栓遠心沈殿管⁽⁴⁾ 1.5 mL にとる。
- d) 遠心力 8000×g～10000×g で約 5 分間遠心分離する⁽⁵⁾。
- e) 上澄み液 1 mL を試料溶液とする。

注(3) 空気中に放置すると定量値が高くなるので、直ちにメタノールを加える。

(4) ポリプロピレン製の共栓遠心沈殿管で測定に影響しないもの

(5) 回転半径 7.2 cm～8.9 cm 及び回転数 10000 rpm で遠心力 8100×g～10000×g 程度となる。

備考 3. (4.1)c)～e)の操作に代えて、PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過し、ろ液を試料溶液としてもよい。

(4.2) **測定** 測定は、JIS K 0124 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用する高速液体クロマトグラフの操作方法による。

a) **高速液体クロマトグラフの測定条件:** 高速液体クロマトグラフの測定条件の一例を以下に示す。これを参考にして設定する。

- 1) **カラム:** アミノ基又はアミノプロピル基を化学結合したシリカゲルカラム(内径 4 mm～6 mm、長さ 150 mm～250 mm、粒径 5 μm)
- 2) **カラム槽温度:** 30 °C～40 °C
- 3) **溶離液:** アセトニトリル-メタノール(6+1)
- 4) **流量:** 1 mL/min
- 5) **検出器:** 吸光光度検出器、測定波長 215 nm

b) 検量線の作成

- 1) 各検量線用ジシアンジアミド標準液 10 μL を高速液体クロマトグラフに注入し、波長 215 nm のクロマトグラムを記録し、ピーク面積又は高さを求める。
- 2) 各検量線用ジシアンジアミド標準液の濃度と波長 215 nm のピーク面積又は高さとの検量線を作成する。

c) 試料の測定

- 1) 試料溶液を 10 μL を b) 1)と同様に操作する。
- 2) 検量線からジシアンジアミド(Dd)量を求め、分析試料中のジシアンジアミド(Dd)濃度を算出する。
- 3) 次の式によってジシアンジアミド性窒素(Dd-N)を算出する。

分析試料中のジシアンジアミド性窒素(Dd-N) (% (質量分率))

$$=A \times (MW_1/MW_2)$$

$$=A \times 0.6664$$

A: 分析試料中のジシアンジアミド(Dd) (% (質量分率))

MW_1 : 窒素の4原子量(56.027)

MW_2 : ジシアンジアミドの分子量(84.080)

備考 4. 石灰窒素(3点)及び石灰窒素入り配合肥料(2点)を用いて回収試験を実施した結果、ジシアンジアミドとして6%(質量分率)及び0.6%(質量分率)の濃度レベルでの回収率は94.9%~105.1%及び95.6%~103.5%であった。

また、試験法の妥当性確認のための共同試験の成績及び解析結果を表1に示す。

なお、この試験法の定量下限は0.01%(質量分率)程度である。

表1 ジシアンジアミド性窒素試験法の妥当性確認のための共同試験成績の解析結果

試料名	試験室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	s_R ⁶⁾ (%) ³⁾	RSD_R ⁷⁾ (%)
石灰窒素1	9	0.0321	0.0010	3.2	0.0012	3.8
石灰窒素2	10	0.159	0.002	1.3	0.006	3.8
石灰窒素3	11	0.245	0.002	0.7	0.008	3.3
配合肥料1	11	0.124	0.001	0.7	0.002	2.0
配合肥料2	11	0.410	0.007	1.6	0.008	1.9

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) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 室間再現標準偏差

7) 室間再現相対標準偏差

参考文献

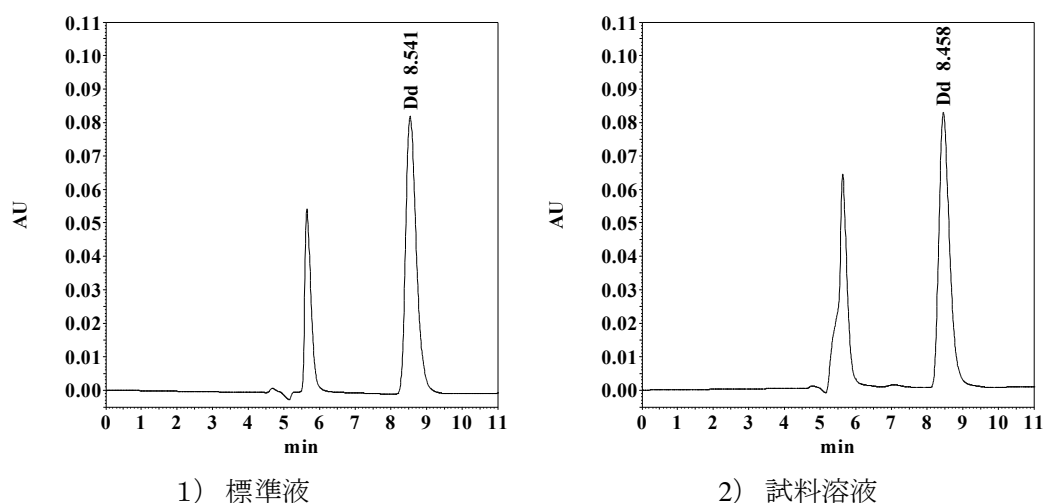
- 1) 齊木雅一, 浅尾美由起: 石灰窒素等中のジシアンジアミド性窒素測定 —高速液体クロマトグラフ法—, 肥料研究報告, **2**, 25~31 (2009)
- 2) 齊木雅一, 義本将之: 石灰窒素等中のジシアンジアミド性窒素測定 —共同試験成績—, 肥料研究報告, **2**, 32~37 (2009)

- (5) ジシアンジアミド性窒素試験法フローシート 石灰窒素及び石灰窒素を含む肥料中のジシアンジアミド性窒素試験法のフローシートを次に示す。

分析試料 1.00 g	共栓三角フラスコ 200 mL~300 mL
← メタノール 100 mL	
振り混ぜ	垂直往復振とう機(300往復/分、振幅40 mm)、10分間
静置	
遠心分離	共栓遠心沈殿管、8000×g~10000×g、5分間
試料溶液	上澄み液
測定	高速液体クロマトグラフ

図 石灰窒素及び石灰窒素を含有する肥料中のジシアンジアミド性窒素試験法フローシート

参考 検量線用ジシアンジアミド標準液及び試料溶液(石灰窒素)の HPLC クロマトグラム例を次に示す。



参考図 ジシアンジアミドの HPLC クロマトグラム

- 1) ジシアンジアミド標準液(ジシアンジアミド 100 ng 相当量(10 µg/mL, 10 µL))
- 2) 試料溶液(石灰窒素)

HPLC の測定条件

カラム: Hibar LiChrosorb NH₂(内径 4.6 mm、長さ 25 cm、粒径 5 µm)

その他の条件は(4.2 a) HPLC の測定条件の例示のとおり

6.1.b 高速液体クロマトグラフ法(2)

(1) 概要

この試験法は肥料に適用する。ただし、石灰窒素は適用範囲から除く。この試験法の分類は Type B であり、その記号は 6.1.b-2017 又は Dd-N.b-1 とする。

分析試料に水を加えてジシアンジアミドを抽出し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)に導入し、弱酸性イオン交換カラムで分離し、波長 190 nm で測定し、分析試料中のジシアンジアミド性窒素(Dd-N)を求める。この方法の性能は備考 6 に示す。

この方法によって、ビウレット性窒素(B-N)、尿素性窒素(U-N)、グアニジン性窒素(Gd-N)及びグアニル尿素性窒素(GU-N)が同時に測定できる(備考 5 参照)。

(2) 試薬 試薬及び水は、次による。

- a) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- b) リン酸二水素カリウム: JIS K 9007 に規定する特級又は同等の品質のもの。
- c) リン酸: JIS K 9005 に規定する特級又は同等の品質のもの。
- d) ジシアンジアミド性窒素標準液(Dd-N 2 mg/mL)⁽¹⁾: ジシアンジアミド[C₂H₄N₄]⁽²⁾0.300 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水を加えて溶かし、全量フラスコ 100 mL に移し入れ、標線まで水を加える。
- e) 検量線用ジシアンジアミド性窒素標準液(Dd-N 200 µg/mL)⁽¹⁾: ビウレット性窒素標準液(B-N 2 mg/mL) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- f) 検量線用ジシアンジアミド性窒素標準液(Dd-N 50 µg/mL~100 µg/mL)⁽¹⁾: ジシアンジアミド性窒素標準液(Dd-N 200 µg/mL) 25 mL~50 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- g) 検量線用ジシアンジアミド性窒素標準液(Dd-N 1 µg/mL~50 µg/mL)⁽¹⁾: 使用時にジシアンジアミド性窒素標準液(Dd-N 100 µg/mL)を 1 mL~50 mL を 100 mL 全量フラスコに段階的にとり、標線まで水を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) ジシアンジアミドとして 98 % (質量分率)以上の純度の試薬が市販されている。

備考 1. ジシアンジアミドは東京化成工業より市販されている。また、富士フィルム和光純薬及び関東化学よりジシアノジアミドとして市販されている。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) 高速液体クロマトグラフ: JIS K 0124 に規定する高速液体クロマトグラフで次の要件を満たすもの。
 - 1) カラム: 内径 7.5 mm、長さ 100 mm のステンレス鋼のカラム管に粒径 5 µm~10 µm の弱酸性イオン交換樹脂を充てんしたもの。
 - 2) カラム槽: カラム槽温度を 30 °C~45 °C で調節できるもの。
 - 3) 検出器: 吸光光度検出器で波長 190 nm 付近で測定できるもの。
- b) マグネチックスターラー
- c) 高速遠心分離機: 8000×g~10000×g で遠心分離可能なもの。

備考 2. カラムは Asahipak ES-502C 7C 等の名称で市販されている。

(4) 試験操作

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

(4.1.1) 粉状分析用試料

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れる。
- b) 水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜる。
- c) 静置後、上澄み液⁽³⁾を共栓遠心沈殿管⁽⁴⁾ 1.5 mL にとる。
- d) 遠心力 $8000 \times g \sim 10000 \times g$ で約 5 分間遠心分離し⁽⁵⁾、上澄み液を試料溶液とする。

注 (3) 試料溶液中のジシアンジアミド性窒素(Dd-N)濃度が検量線の上限を超えるおそれがある場合は、上澄み液の一定量を水で希釈する。

(4) ポリプロピレン製の共栓遠心沈殿管で測定に影響しないもの。

(5) 回転半径 7.2 cm \sim 8.9 cm 及び回転数 10000 rpm で遠心力 $8100 \times g \sim 10000 \times g$ 程度となる。

(4.1.2) 液状分析用試料

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れる。
- b) 水約 50 mL を加えて、振り混ぜる。
- c) 標線まで水を加え⁽⁶⁾、共栓遠心沈殿管⁽⁴⁾ 1.5 mL にとる。
- d) 遠心力 $8000 \times g \sim 10000 \times g$ で約 5 分間遠心分離し⁽⁵⁾、上澄み液を試料溶液とする。

注 (6) 試料溶液中のジシアンジアミド性窒素(Dd-N)濃度が検量線の上限を超えるおそれがある場合は、定容した溶液の一定量を水で希釈する。

備考 3. (4.1.1)c \sim d)又は(4.1.2)c \sim d)の操作に代えて、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過し、ろ液を試料溶液としてもよい。

(4.2) **測定** 測定は、JIS K 0124 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用する高速液体クロマトグラフの操作方法による。

a) **高速液体クロマトグラフの測定条件:** 測定条件の一例を以下に示す。これを参考にして設定する。

- 1) **カラム:** 弱酸性イオン交換樹脂カラム(内径 4.0 mm \sim 7.5 mm、長さ 100 mm \sim 150 mm、粒径 5 μm \sim 10 μm)
- 2) **カラム槽温度:** 40 $^{\circ}\text{C}$
- 3) **溶離液⁽¹⁾:** りん酸二水素カリウム 3.92 g 及びりん酸 0.12 g を水に溶かして 1000 mL とする。親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過する。
- 4) **流量:** 0.6 mL/min
- 5) **注入量:** 10 μL
- 6) **検出器:** 吸光光度検出器、測定波長 190 nm

備考 4. 溶離液は、りん酸二水素カリウム 19.6 g 及びりん酸 0.584 g を水に溶かして 500 mL とし、冷蔵保存

し、使用時にその一定量を 10 倍に希釈し、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過して調製してもよい。

b) 検量線の作成

- 1) 各検量線用標準液 10 μL を高速液体クロマトグラフに注入し、波長 190 nm のクロマトグラムを記録し、ピーク高さを求める。
- 2) 各検量線用標準液のジシアンジアミド性窒素(Dd-N)濃度と波長 190 nm のピーク高さとの検量線を作成する。

c) 試料の測定

- 1) 試料溶液 10 μL を b) 1) と同様に操作する。
- 2) ピーク高さから検量線よりジシアンジアミド性窒素(Dd-N)量を求め、分析試料中のジシアンジアミド性窒素(Dd-N)を算出する。

備考 5. この試験法ではビウレット性窒素(B-N)、尿素性窒素(U-N)、ジシアンジアミド性窒素(Dd-N)、グアニジン性窒素(Gd-N)及びグアニル尿素性窒素標準液(GU-N)の同時測定が可能である。その場合は、5.10.a 備考 5 を参照のこと。

備考 6. 真度の評価のため、アセトアルデヒド縮合尿素肥料、化成肥料、配合肥料、液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料各 1 銘柄を用いて添加回収試験を実施した結果、3 % (質量分率)、1.5 % (質量分率)及び 0.3 % (質量分率)の添加レベルでの平均回収率はそれぞれ 96.3 %～96.3 %、94.5 %～99.7 %及び 88.9 %～100.6 %であった。

精度の評価のため、配合肥料、化成肥料及び家庭園芸用複合肥料を用いて日を変えての反復試験の試験成績について一元配置分散分析を用いて解析し、中間精度及び併行精度を算出した結果を表 1 に示す。また、試験法の妥当性確認のための共同試験の成績及び解析結果を表 2 に示す。

なお、この試験法の定量下限は 0.01 % (質量分率)程度である。

表1 ジシアンジアミド性窒素の日を変えての反復試験成績の解析結果

試料名	反復試験 日数(T) ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	$s_{I(T)}$ ⁶⁾ (%) ³⁾	$RSD_{I(T)}$ ⁷⁾ (%)
配合肥料	5	3.03	0.02	0.5	0.02	0.5
化成肥料	5	1.45	0.01	0.9	0.02	1.6
家庭園芸用複合肥料	5	0.145	0.001	0.9	0.003	2.3

1) 2点併行試験を実施した試験日数

2) 平均値 (試験日数(T) \times 併行試験数(2))

3) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 中間標準偏差

7) 中間相対標準偏差

表2 ジシアンジアミド性窒素試験法の妥当性確認のための共同試験成績の解析結果

試料名	試験 室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	s_R ⁶⁾ (%) ³⁾	RSD_R ⁷⁾ (%)
化成肥料1	10	0.0464	0.0023	5.0	0.0148	31.9
化成肥料2	12	0.206	0.011	5.1	0.031	15.2
化成肥料3	12	1.69	0.05	2.8	0.12	7.0
化成肥料4	10	2.76	0.07	2.6	0.12	4.4

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

参考文献

- 1) 恵智正宏, 木村康晴, 白井裕治: 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の尿素性窒素, ビウレット性窒素等の測定 - 単一試験室の妥当性確認 -, 肥料研究報告, **10**, 72~85 (2017)
- 2) 船木紀夫, 木村康晴: 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の尿素性窒素, ビウレット性窒素等の測定 - 共同試験成績 -, 肥料研究報告, **10**, 86~100 (2017)

- (5) **試験法フローシート** 肥料中のジシアンジアミド性窒素試験法のフローシートを次に示す。

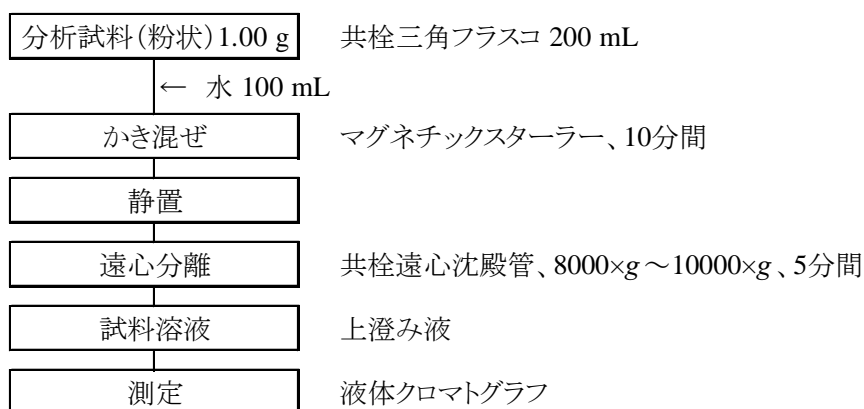


図1 肥料中のジシアンジアミド性窒素試験法のフローシート(抽出操作(4.1.1)及び測定)

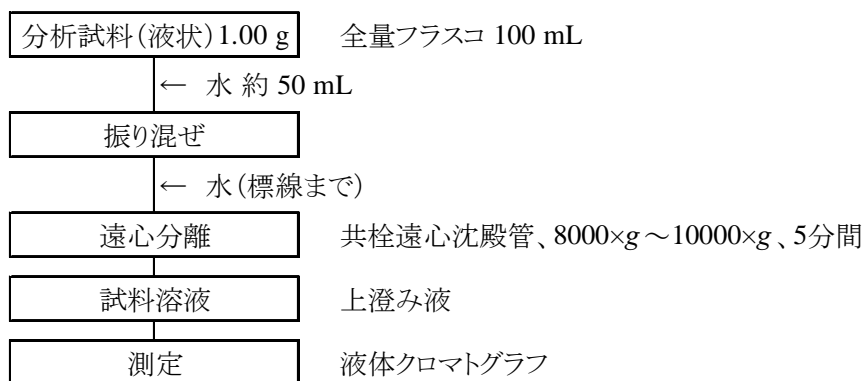
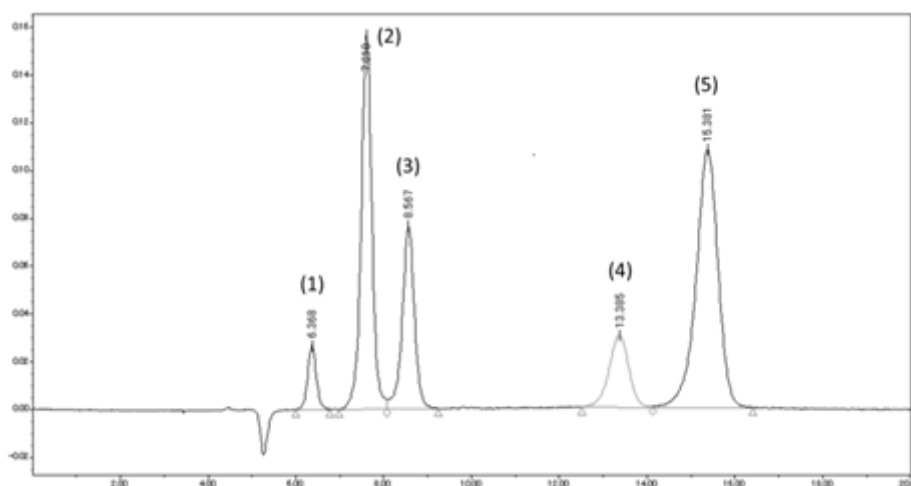


図2 肥料中のジシアンジアミド性窒素試験法のフローシート(抽出操作(4.1.2)及び測定)

参考 ジシアンジアミド性窒素の検量線用標準液のクロマトグラム例を次に示す。



参考図 検量線用混合標準液(各 10 mg/L)の HPLC クロマトグラム

ピーク名

- (1) 尿素性窒素 (2) ビウレット性窒素 (3) ジシアンジアミド性窒素
 (4) グアニジン性窒素 (5) グアニル尿素性窒素

HPLC の測定条件

カラム: Asahipak ES-502C 7C(内径 7.5 mm、長さ 100 mm、粒径 9 μm)

その他の条件は(4.2) a) HPLC 測定条件の例示のとおり

6.2 塩素

6.2.a イオンクロマトグラフ法

(1) 概要

この試験法は硫酸加里、重炭酸加里、硫酸加里苦土、魚かす粉末、魚かす、堆肥に適用する。この試験法の分類は Type D であり、その記号は 6.2.a-2017 又は Cl.a-1 とする。

分析試料に水を加えて塩化物イオンを抽出し、イオンクロマトグラフ(IC)に導入し、イオン交換カラムで分離した後、電気伝導度検出器で測定し、分析試料中の塩素(Cl)を求める。なお、この試験法の性能は備考 3 に示す。

(2) 試薬等 試薬及び水は、次による。

- a) 水: JIS K 0557 に規定する A4 の水。
- b) 1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液: イオンクロマトグラフィー用のもの。
- c) フタル酸: 純度 98 % (質量分率) 以上の試薬。
- d) 6-アミノヘキサン酸⁽¹⁾: 純度 97 % (質量分率) 以上の試薬。
- e) フェニルボロン酸: 純度 97 % (質量分率) 以上の試薬。
- f) 塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 1 mg/mL): 国家計量標準にトレーサブルな塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 1000 mg/L)。
- g) 塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 100 µg/mL)⁽²⁾: 塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 1 mg/mL) の一定量を全量フラスコにとり、標線まで水を加える。
- h) 検量線用塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 5 µg/mL ~ 50 µg/mL)⁽²⁾: 塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 100 µg/mL) 5 mL ~ 50 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- i) 検量線用塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 1 µg/mL ~ 2 µg/mL)⁽²⁾: 検量線用塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 20 mg/L) 5 mL ~ 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- j) サプレッサー法用溶離液⁽²⁾: 1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液 6.4 mL を全量フラスコ 1000 mL にとり、標線まで水を加え、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター (孔径 0.5 µm 以下) でろ過する⁽²⁾。
- k) ノンサプレッサー法用溶離液⁽²⁾: フタル酸 0.349 g、6-アミノヘキサン酸 0.380 g、フェニルボロン酸 0.732 g を全量フラスコ 1000 mL にとり、水約 500 mL 加えて溶かし標線まで水を加え、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター (孔径 0.5 µm 以下) でろ過する⁽³⁾。

注(1) 別名 6-アミノ-*n*-カプロン酸ともいう。

(2) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(3) 事前に 10 倍濃度液を調製し、その都度 10 倍希釈して使用してもよい。

備考 1. (2) の塩化物イオン標準液に換えて、国家計量標準にトレーサブルな塩化物イオン標準液 (Cl⁻ 0.1 mg/mL) を用いて検量線用塩化物イオン標準液を調製することもできる。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) マグネチックスターラー
- b) 遠心分離機: 1700×*g* で遠心分離可能なもの。
- c) イオンクロマトグラフ: JIS K 0127 に規定するイオンクロマトグラフで次の要件を満たすもの。

- 1) **カラム**: サプレッサー法に使用する場合、内径 4.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm に第 4 級アンモニウム基を結合したポリビニルアルコール系多孔質粒子を充填したもの⁽⁴⁾。
ノンサプレッサー法に使用する場合、内径 4.6 mm、長さ 100 mm に第 4 級アンモニウム基を結合した親水性ポリメタクリレート系ゲルを充填したもの⁽⁵⁾。
- 2) **カラム槽**: カラム槽温度を 40 °C に調節できるもの。
- 3) **サプレッサー**: 陽イオン交換膜又は樹脂を用いたものであること。
- 4) **検出部**: 電気伝導度検出器。
- d) **メンブレンフィルター**: 孔径 0.45 μm 以下、親水性 PTFE 製

注(4) Shodex IC SI-52 4E 等の名称で市販されている。

(5) Shodex IC NI-424 等の名称で市販されている。

(4) 試験操作

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れる。
- b) 水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜる。
- c) 静置後、上澄み液を共栓遠心沈殿管 50 mL にとる。
- d) 遠心力約 1700 $\times g$ で約 5 分間遠心分離し⁽⁶⁾、上澄み液を抽出液とする。
- e) 抽出液の一定量を取り、水で正確に 20 倍希釈する⁽⁷⁾。
- f) メンブレンフィルター(孔径 0.45 μm 以下)でろ過し、試料溶液とする。

注(6) ローター半径 16.5 cm 及び回転数 3000 rpm で遠心力 1700 $\times g$ 程度となる。

(7) 検量線を越える場合には 20 倍以上で希釈する。

備考 2. (4.1)c) 及び d) の操作に代えて、ろ紙 3 種を用いてろ過し、ろ液を抽出液としてもよい。

(4.2) **測定** 測定は、JIS K 0127 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用するイオンクロマトグラフの操作方法による。

a) **イオンクロマトグラフの測定条件**: 測定条件の一例を以下に示す。これを参考にして設定する。

aa) サプレッサー法

- 1) **カラム**: 第 4 級アンモニウム基を結合したポリビニルアルコール系多孔質粒子カラム(内径 4 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm)
- 2) **カラム槽温度**: 40 °C
- 3) **溶離液**: (2j) により調製したもの。
- 4) **流量**: 0.8 mL/min
- 5) **注入量**: 20 μL
- 6) **検出器**: 電気伝導度検出器

ab) ノンサプレッサー法

- 1) **カラム**: 第4級アンモニウム基を結合した親水性ポリメタクリレート系ゲルカラム(内径 4.6 mm、長さ 100 mm)
- 2) **カラム槽温度**: 40 °C
- 3) **溶離液**: (2)k)により調製したもの。
- 4) **流量**: 1.0 mL/min
- 5) **注入量**: 20 µL
- 6) **検出器**: 電気伝導度検出器

b) 検量線の作成

- 1) 各検量線用標準液 20 µL をイオンクロマトグラフに注入し、電気伝導度のクロマトグラムを記録し、ピーク面積を求める。
- 2) 各検量線用標準液の濃度と電気伝導度のピーク面積との検量線を作成する。
検量線の作成は、試料の測定時に行う。

c) 試料の測定

- 1) 試料溶液 20 µL を **b) 1)**と同様に操作する。
- 2) ピーク面積から検量線より塩化物イオン濃度を求め、分析試料中の塩素(Cl)を算出する。

備考 3. 硫酸加里、硫酸加里苦土、重炭酸加里、牛ふん堆肥及び魚かす粉末に塩素として 1.8 % (質量分率)～33.4 % (質量分率)の塩化ナトリウムを添加した試料を用いてサブレッサー法で添加回収試験を行った結果、33.4 % (質量分率)、10 % (質量分率)～13.4 % (質量分率)及び 1.8 % (質量分率)～9.1 % (質量分率)の塩素としての添加レベルで平均回収率は 100.8 %、98.6 %～101.1 %及び 96.2 %～103.2 %であり、ノンサブレッサー法では 100.2 %、96.4 %～97.2 %及び 93.3 %～101.4 %であった。

精度の評価のため、硫酸加里、硫酸加里苦土、重炭酸加里、牛ふん堆肥及び魚かす粉末を用いて日を変えての反復試験の試験成績について一元配置分散分析を用いて解析し、中間精度及び併行精度を算出した結果を表 1 に示す。

なお、この試験法の定量下限は 0.1 % (質量分率)程度である。

表1 日を変えての塩素反復試験成績の解析結果

測定方法	試料名	反復試験 日数(T) ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	$s_{I(T)}$ ⁶⁾ (%) ³⁾	$RSD_{I(T)}$ ⁷⁾ (%)
サプレッサー法	硫酸加里	5	9.93	0.01	0.1	0.03	0.3
	魚かす粉末	5	6.13	0.03	0.5	0.07	1.1
ノンサプレッサー法	硫酸加里	5	4.86	0.01	0.2	0.08	1.7
	硫酸加里苦土	5	4.89	0.02	0.4	0.06	1.2
	重炭酸加里	5	4.85	0.02	0.4	0.06	1.3
	牛ふん堆肥	5	13.15	0.04	0.3	0.16	1.2

1) 2点併行試験を実施した試験日数

2) 平均値 (試験日数(T) × 併行試験数(2))

3) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 中間標準偏差

7) 中間相対標準偏差

参考文献

- 1) 坂井田里子, 藤田真理子, 白井裕治: イオンクロマトグラフ(IC)法による肥料中の塩素の測定, 肥料研究報告, **8**, 50~60 (2015)

- (5) **試験法フローシート** 肥料中の塩素試験法のフローシートを次に示す。

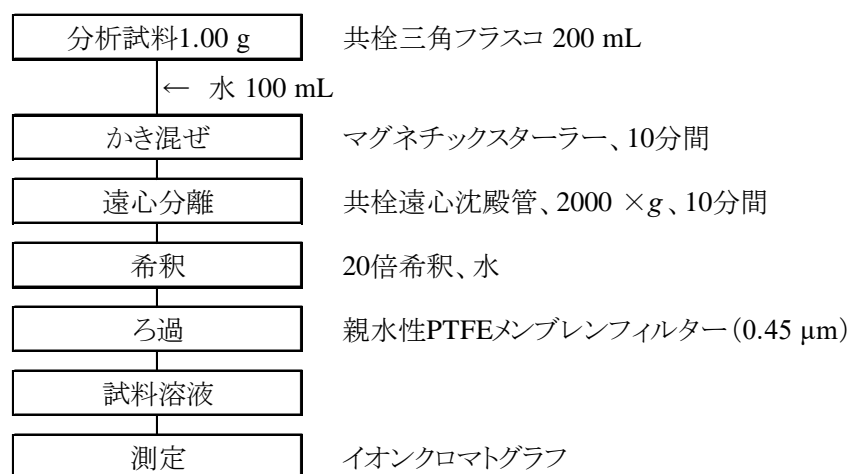
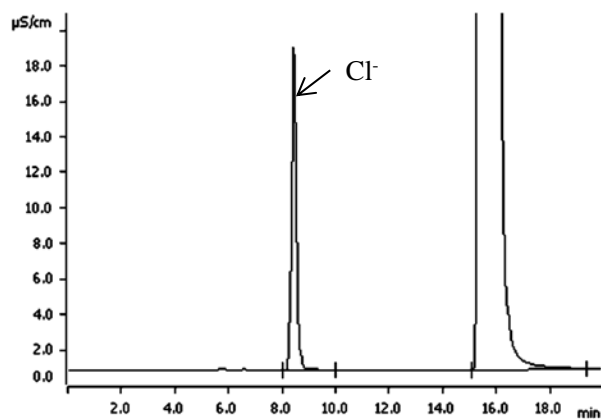
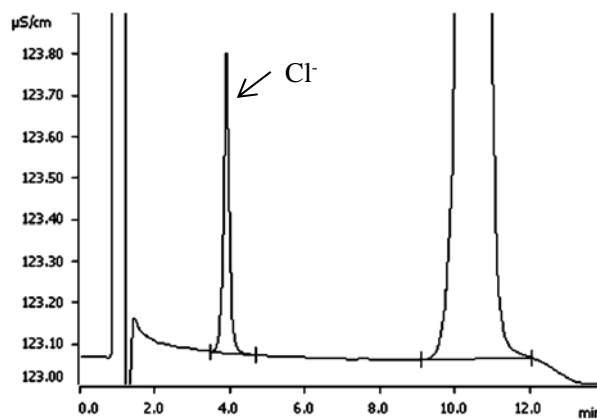


図 肥料中の塩素試験法フローシート

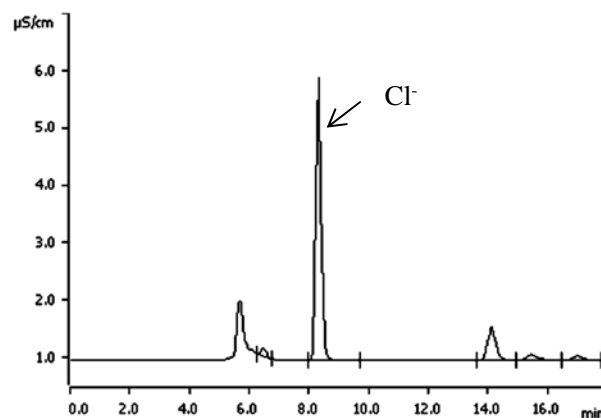
参考 試料溶液(硫酸加里苦土及び魚かす粉末)の IC クロマトグラム例を次に示す。



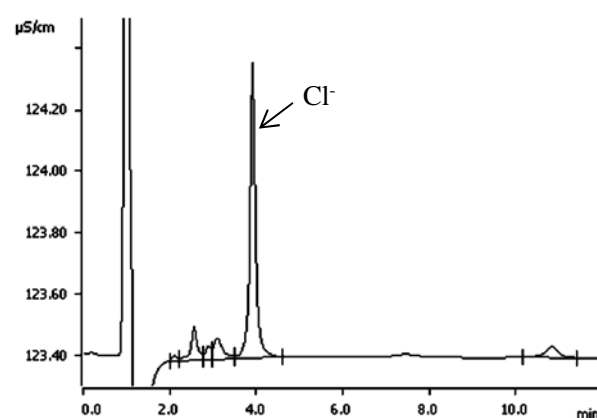
(A) 硫酸加里苦土のクロマトグラム
(サプレッサー法)



(B) 硫酸加里苦土のクロマトグラム
(ノンサプレッサー法)



(C) 魚かす粉末のクロマトグラム
(サプレッサー法)



(D) 魚かす粉末のクロマトグラム
(ノンサプレッサー法)

参考図 塩化物イオンの IC クロマトグラム
(ピーク: 1.塩化物イオン(Cl⁻))

6.2.b 硝酸銀法

(1) 概要

この試験法は硫酸加里、重炭酸加里及び硫酸加里苦土に適用する。この試験法の分類は Type E であり、その記号は 6.2.b-2017 又は Cl.b-1 とする。

分析試料に水を加えて塩化物イオンを抽出し、0.1 mol/L 硝酸銀標準液で滴定(沈殿)し、分析試料中の塩素(Cl)を求める。

(2) 試薬 試薬及び水は、次による。

- a) **水**: JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- b) **硝酸**: JIS K 8541 に規定する特級(HNO₃ 60 % (質量分率)) 又は同等の品質の試薬。
- c) **0.1 mol/L 硝酸銀溶液⁽¹⁾**: JIS K 8550 に規定する硝酸銀 17 g をビーカー2000 mL にはかりとり、水 1000 mL を加えて溶かし、着色瓶に貯蔵する。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質の塩化ナトリウムを 600 °C±25 °C で 1 時間加熱し、デシケーター中で放冷した後、約 1.5 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水で溶かし、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、標線まで水を加えて塩化ナトリウム溶液とする⁽¹⁾。0.1 mol/L 硝酸銀溶液の使用日毎に、塩化ナトリウム溶液 10 mL を三角フラスコ 200 mL にとり、指示薬としてクロム酸カリウム溶液(5 g/100 mL) 数滴を加え、0.1 mol/L 硝酸銀溶液で溶液の色が赤褐色になるまで滴定する。次の式によって 0.1 mol/L 硝酸銀溶液のファクターを算出する。

$$\begin{aligned} & \text{0.1 mol/L 硝酸銀溶液のファクター}(f) \\ & = W_1 \times (A/100) \times (1/58.44) \times (V_1/V_2) \times (1000/V_3) \times (1/C) \\ & = (W_1 \times A/V_3) \times (4/58.44) \end{aligned}$$

W_1 : 採取した塩化ナトリウムの質量(g)

A : 塩化ナトリウムの純度(% (質量分率))

V_1 : 分取した塩化ナトリウム溶液の容量(10 mL)

V_2 : 塩化ナトリウム溶液の定容量(250 mL)

V_3 : 滴定に要した 0.1 mol/L 硝酸銀溶液の容量(mL)

C : 0.1 mol/L 硝酸銀溶液の設定濃度(0.1 mol/L)

- d) **クロム酸カリウム(5 g/100 mL)⁽¹⁾**: JIS K 8312 に規定するクロム酸カリウム 5 g を水 100 mL に溶かす。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) **マグネチックスターラー**
- b) **pH 試験紙**: 指示薬を紙に染み込ませ、乾燥させたもので、pH 1～pH 11 の範囲を測定でき、pH 1 間隔の変色表が添付されているもの。

備考 1. pH 試験紙は UNIV 試験紙等の名称で市販されている。

(4) 試験操作**(4.1) 抽出** 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れる。
- b) 水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜる。
- c) ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とする。

(4.2) 測定 測定は、次のとおり行う。

- a) 試料溶液 25 mL をトールビーカー 200 mL にとる。
- b) pH 試験紙で溶液の pH を確認し、塩基性の場合は硝酸(1+10)で中和する。
- c) 指示薬としてクロム酸カリウム溶液(5 g/100 mL) 数滴を加え、0.1 mol/L 硝酸銀溶液で溶液の色が赤褐色になるまで滴定する。
- d) 次の式によって分析試料中の塩素(Cl)を算出する。

$$\begin{aligned} & \text{分析試料中の塩素(\% (質量分率))} \\ & = V_4 \times C \times f \times (35.45) / W_2 \times (100/1000) \times (V_5 / V_6) \\ & = V_4 \times f \times (35.45/25) / W_2 \end{aligned}$$

 V_4 : 試料溶液の滴定に要した 0.1 mol/L 硝酸銀溶液の容量(mL) C : 0.1 mol/L 硝酸銀溶液の設定濃度(0.1 mol/L) f : 0.1 mol/L 硝酸銀溶液のファクター V_5 : (4.1 b)における抽出に供した水の液量(100 mL) V_6 : (4.2 a)において滴定に供した試料溶液の分取量(25 mL) W_2 : 分析試料の質量(g)**参考文献**

- 1) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.199~201, 養賢堂, 東京 (1988)

(5) 試験法フローシート 硫酸加里等中の塩素試験法のフローシートを次に示す。

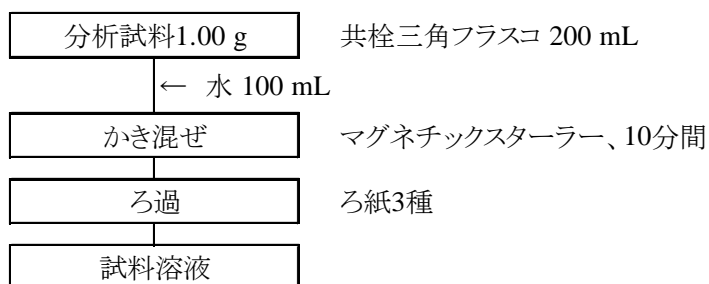


図1 硫酸加里等中の塩素試験法フローシート(抽出操作)

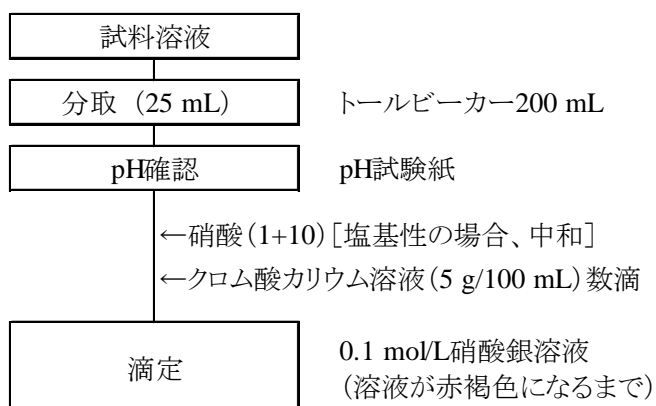


図2 硫酸加里等中の塩素試験法フローシート(測定操作)

6.3 尿素性窒素

6.3.a ウレアーゼ法

(1) 概要

この試験法は尿素を含む肥料又はアセトアルデヒド縮合尿素等の尿素化合物に適用する。ただし、加熱により分解する石灰窒素等の化合物を含む肥料には適用できない場合がある。この試験法の分類は Type D であり、その記号は 6.3.a-2017 又は U-N.a-1 とする。

水を分析試料に加えて抽出し、ウレアーゼを抽出液の一定量に加えて尿素をアンモニウムイオンに加水分解する。水酸化ナトリウム溶液を加えて溶液をアルカリ性にして水蒸気蒸留する。分離したアンモニアを 0.25 mol/L 硫酸で捕集し、余剰の硫酸を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で(中和)滴定し、別途ウレアーゼ空試験及びウレアーゼ未分解空試験の滴定値を補正して分析試料中の尿素性窒素(U-N)を求める。又は、分離したアンモニアをほう酸溶液で捕集し、アンモニウムイオンを 0.25 mol/L 硫酸で(中和)滴定し、同様に補正して分析試料中の尿素性窒素(U-N)を求める。なお、この試験法の性能は備考 11 に示す。

(2) 試薬 試薬は、次による。

- a) **0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液⁽¹⁾**: 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり、冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし、密栓して 4～5 日間放置する。その上澄み液 5.5 mL～11 mL を共栓保存容器にとり、水 1000 mL を加える。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質のアミド硫酸をデシケーター中に 2 kPa 以下で約 48 時間放置して乾燥した後、約 2.5 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水で溶かし、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、標線まで水を加える⁽¹⁾。この液一定量を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、指示薬としてプロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が緑色になるまで滴定する。次の式によって 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクターを算出する。

$$0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター}(f_i) \\ = (W_1 \times A \times 0.01/97.095) \times (V_1/V_2) \times (1000/V_3) \times (1/C_1)$$

W_1 : 採取したアミド硫酸の質量(g)

A : アミド硫酸の純度(%(質量分率))

V_1 : 分取したアミド硫酸溶液の容量(mL)

V_2 : アミド硫酸溶液の定容量(250 mL)

V_3 : 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

- b) **酸化マグネシウム**: JIS K 8432 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
 c) **硫酸**: JIS K 8951 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
 d) **0.25 mol/L 硫酸⁽¹⁾⁽²⁾**: 硫酸約 14 mL をあらかじめ水 100 mL を入れたビーカーに加えて良くかき混ぜ、水で 1000 mL とする。

標定: 0.25 mol/L 硫酸一定量⁽³⁾を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、メチルレッドーメチレンブルー混合溶液数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。

次の式(1)によって0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量を算出する。又は、次の式(2)によって0.25 mol/L 硫酸のファクターを算出する。

$$\begin{aligned} & \text{0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(B)} \\ & = V_4/V_5 \quad \dots\dots (1) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \text{0.25 mol/L 硫酸のファクター}(f_2) \\ & = (f_1 \times C_1 \times V_4/V_5)/(C_2 \times 2) \quad \dots\dots (2) \end{aligned}$$

V_4 : 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

V_5 : 標定に供した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)

- e) **ほう酸溶液(40 g/L)**: JIS K 8863 に規定するほう酸 40 g を水に溶かして 1000 mL とする。
- f) **ウレアーゼ**: ウレアーゼ 0.5 g で尿素 0.25 g を完全に分解する試薬。
- g) **水酸化ナトリウム溶液(5 g/L)⁽¹⁾**: JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム 5 g を水に溶かして 1000 mL とする。
- h) **塩酸**: JIS K 8180 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- i) **プロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8842 に規定するプロモチモールブルー0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 20 mL で溶かし、水で 100 mL とする。
- j) **メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- k) **メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8897 に規定するメチレンブルー0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- l) **メチルレッドーメチレンブルー混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) 2 容量に対し、メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL) 1 容量を加える。
- m) **ブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)**: JIS K 8840 に規定するブロムクレゾールグリーン 0.5 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- n) **メチルレッドーブロムクレゾールグリーン混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) に同量のブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 肥料分析法(1992年版)の標準硫酸液 0.5 M(1/2 硫酸)溶液に対応する。

(3) 5 mL～10 mL

(4) 青紫色から暗青色を経て灰緑色になった時を終点とする。

備考 1. (2)a)の 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液又は 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いることもできる。

備考 2. (2)d)の 0.25 mol/L 硫酸に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.25 mol/L 硫酸を用いることもできる。

備考 3. ウレアーゼは、ナタマメ由来の精製品が市販されている。冷蔵庫に保存しておいても活性が落ちることがあるので、使用前に JIS K 8731 に規定する尿素を用いて同様に試験してその活性を確認することを推奨する。

(3) **器具及び装置** 器具及び装置は、次のとおりとする。

a) **抽出装置:** 次の回転振り混ぜ機又はマグネチックスターラー

aa) **回転振り混ぜ機:** 全量フラスコ 500 mL を 30~40 回転/分で上下転倒して回転させられるもの。

ab) **マグネチックスターラー**

b) **水蒸気蒸留装置**

c) **蒸留フラスコ:** 水蒸気蒸留装置に連結できるケルダールフラスコ又は丸底フラスコ

d) **水浴:** 40 °C~45 °C に調節できるもの。

(4) **試験操作**

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

(4.1.1) **回転振り混ぜ機を用いる場合**

a) 分析試料 5.00 g をはかりとり、全量フラスコ 500 mL に入れる。

b) 水約 400 mL を加え、30~40 回転/分で約 30 分間振り混ぜる。

c) 標線まで水を加える。

d) ろ紙 3 種でろ過し、抽出液とする。

備考 4. (4.1.1) a) の操作で、分析試料 2.50 g をはかりとり、全量フラスコ 250 mL に入れても良い。

備考 5. (4.1.1) の操作は、4.2.4.a の(4.1.1.1)と同様の操作である。

(4.1.2) **マグネチックスターラーを用いる場合**

a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れる。

b) 水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜる。

c) ろ紙 3 種でろ過し、抽出液とする。

備考 6. (4.1.2) の操作は、6.3.c の(4.1)と同様の操作である。

(4.2) **ウレアーゼによる加水分解** 加水分解は、次のとおり行う。

a) 抽出液の一定量(U-Nとして 10 mg 相当量以上、Nとして 10 mg~100 mg 相当量)を蒸留フラスコ 300 mL に入れる。

b) 水を加えて液量を約 50 mL とする。

c) メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)数滴加え、溶液の色がうすい黄赤色になるまで水酸化ナトリウム溶液(5 g/L)又は塩酸(1+200)を加える⁽⁶⁾。

d) 抽出液中の尿素を分解するために十分な量のウレアーゼを加え⁽⁷⁾⁽⁸⁾、密栓して 40 °C~45 °C の水浴中で加温する。

e) 放冷して試料溶液とする。

f) 抽出液空試験として、別の蒸留フラスコを用いて a) の操作を実施し⁽⁹⁾、未分解試験溶液を調製する。

g) ウレアーゼ空試験として、別の蒸留フラスコを用いて**b)**、**d)**及び**e)**の操作を実施し⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾、空試験溶液を調製する。

注(6) pH 5.6～pH 5.8

- (7) ウレアーゼの添加量の一例を**備考 10**に示す。
- (8) ウレアーゼが容器の壁面についた場合、少量の水で洗い落とす。
- (9) 試料溶液の調製と同量の抽出液を分取する。
- (10) 試料溶液の調製と同量のウレアーゼを加える。

(4.3) 蒸留 蒸留は、次のとおり行う。具体的な蒸留操作は、測定に使用する水蒸気蒸留装置の操作方法による。

- a) 0.25 mol/L 硫酸の一定量⁽¹¹⁾を受器⁽¹²⁾にとり、メチルレッドーメチレンブルー混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。又は、ほう酸溶液(40 g/L)の一定量⁽¹¹⁾を受器⁽¹²⁾にとり、メチルレッドーブROMクレゾールグリーン混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。
- b) 試料溶液の入った蒸留フラスコに酸化マグネシウム 2 g～3 g を加え⁽¹³⁾、この蒸留フラスコを水蒸気蒸留装置に連結する。
- c) 水蒸気を蒸留フラスコに送り、蒸留フラスコ内の溶液を加熱し、留出速度 5 mL/min～7 mL/min で蒸留を行う。
- d) 120 mL～160 mL が留出したら蒸留を止める。
- e) 受器内の溶液と接した水蒸気蒸留装置の部分を少量の水で洗い、洗液を留出液と合わせる。
- f) 未分解試験溶液を **a)～e)**と同様に操作して未分解試験溶液よりの留出液を得る。
- h) 空試験溶液を **a)～e)**と同様に操作して空試験溶液よりの留出液を得る。

注(11) 5 mL～20 mL

- (12) 受器は水蒸気蒸留装置の留出液の出口を 0.25 mol/L 硫酸又はほう酸溶液(40 g/L)に浸せる三角フラスコ 200 mL～300 mL 又はビーカー200 mL～300 mL を用いる。
- (13) 必要に応じて、少量のシリコーン油を加える。

備考 7. (4.3)b)の操作は、容器内のアンモニアガスが放出しないように素早く実施する。

(4.4) 測定 測定は、次のとおり行う。

(4.4.1) (4.3)で 0.25 mol/L 硫酸を用いた場合

- a) 留出液を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。
- b) 未分解試験溶液よりの留出液を **a)**と同様に操作して滴定する。
- c) 空試験溶液よりの留出液を **a)**と同様に操作して滴定する。
- d) 次の式によって分析試料中の尿素性窒素(U-N)を算出する。

$$\begin{aligned} & \text{分析試料中の尿素性窒素(U-N) (\% (質量分率))} \\ & = ((B \times V_6 - V_7) - (B \times V_6 - V_8) - (B \times V_6 - V_9)) \times C_1 \times f_1 \times (V_{10}/V_{11}) \times (14.007/W_2) \times (100/1000) \\ & = (- (B \times V_6) - (V_7 - V_8 - V_9)) \times C_1 \times f_1 \times (V_{10}/V_{11}) \times (1.4007/W_2) \end{aligned}$$

- B : 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量
 V_6 : (4.3) a)において受器にとった 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)
 V_7 : (4.4.1) a)において滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)
 V_8 : (4.4.1) b)において滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)
 V_9 : (4.4.1) c)において滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)
 C_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)
 f_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター
 V_{10} : (4.1.1) c)における抽出液の定容量(mL) 又は(4.1.2) b)における水の添加量(mL)
 V_{11} : (4.2) a)において加水分解に供した抽出液の分取量(mL)
 W_2 : (4.1.1) a) 又は(4.1.2) a)における分析試料の質量(g)

(4.4.2) (4.3)でほう酸溶液(40 g/L)を用いた場合

- 留出液を 0.25 mol/L 硫酸で溶液の色がうすい紅色⁽¹⁴⁾になるまで滴定する。
- 未分解試験溶液よりの留出液を a)と同様に操作して滴定する。
- 空試験溶液よりの留出液を a)と同様に操作して滴定する。
- 次の式によって分析試料中の尿素性窒素(U-N)を算出する。

分析試料中の尿素性窒素(U-N) (% (質量分率))

$$= (V_{12} - V_{13} - V_{14}) \times C_2 \times 2 \times f_2 \times (V_{10}/V_{11}) \times (14.007/W_2) \times (100/1000)$$

$$= (V_{12} - V_{13} - V_{14}) \times C_2 \times f_2 \times (V_{10}/V_{11}) \times (2.8014/W_2)$$

- V_{12} : (4.4.2) a)において滴定に要した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)
 V_{13} : (4.4.2) b)において滴定に要した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)
 V_{14} : (4.4.2) c)において滴定に要した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)
 C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)
 f_2 : 0.25 mol/L 硫酸のファクター
 V_{10} : (4.1.1) c)における抽出液の定容量(mL) 又は(4.1.2) b)における水の添加量(mL)
 V_{11} : (4.2) a)において加水分解に供した抽出液の分取量(mL)
 W_2 : (4.1.1) a) 又は(4.1.2) a)における分析試料の質量(g)

注(14) 緑色からうすい紅色になった時を終点とする。

備考 8. 酸化マグネシウムを用いることにより、抽出液中に炭酸塩に由来する二酸化炭素のために終点が見にくい場合は、蒸留終了後抽出液を 1~2 分間煮沸し、冷却した後滴定するとよい。

備考 9. 自動滴定装置を用いて(2) a) **標定**、(2) d) **標定**及び(4.4)の滴定操作を実施することができる。滴定プログラム及び終点判定パラメーターの設定並びに受器等の容器は、使用する自動滴定装置の仕様及び操作方法による。

備考 10. ウレアーゼの添加量及び滴定量の一例を次に示す。

尿素有量が推定できる場合、(4.2) a)における抽出液の分取量中の尿素の量は次式により算出さ

れる。

抽出液の分取量中の尿素の推定量(mg)

$$= (D_1/100) \times W_2 \times (V_{11}/V_{10})$$

D_1 : 分析試料中の尿素の推定量(% (質量分率))

V_{10} : (4.1.1 c) 又は (4.1.2 c) における抽出液の定容量(mL)

V_{11} : (4.2 a) において加水分解に供した抽出液の分取量(mL)

W_2 : (4.1.1 a) 又は (4.1.2 a) における分析試料の質量(g)

尿素の含有量が推定できない場合は、尿素化合物の尿素性窒素の含有許容量又は表示成分量の窒素全量からアンモニア性窒素及び硝酸性窒素を差し引いた窒素量を尿素性窒素(U-N)の含有量の最大量付近として見積もる。この場合、(4.1.1) 又は (4.1.1) の操作後の (4.2 a) における抽出液の分取量中の尿素の見積量は次式により算出される。

抽出液の分取量中の尿素の見積量(mg)

$$= (D_2/100) \times (60.056/(14.007 \times 2)) \times W_2 \times (V_{11}/V_{10})$$

$$= (D_2/100) \times 2.1438 \times W_2 \times (V_{11}/V_{10})$$

D_2 : 分析試料中の尿素性窒素(U-N)の見積量(% (質量分率))

V_{10} : (4.1.1 c) 又は (4.1.2 c) における抽出液の定容量(mL)

V_{11} : (4.2 a) において加水分解に供した抽出液の分取量(mL)

W_2 : (4.1.1 a) 又は (4.1.2 a) における分析試料の質量(g)

ウレアーゼは「0.5 g 以下で尿素 0.25 g を完全に分解するもの」と規定されていることから、尿素 1 mg の分解にはウレアーゼ 2 mg 程度必要となる。抽出液の分取量中の尿素の推定量又は見積量を約 43 mg (尿素性窒素として約 20 mg) とした場合、ウレアーゼは約 86 mg 必要となる。ウレアーゼ(力価 130 unit~150 unit) 0.2 g を加えた場合、尿素性窒素(U-N)として 10 mg~100 mg 相当量を含む抽出液を加水分解することができる。

なお、尿素性窒素として約 20 mg 分取した際、試料溶液からの留出液の滴定値((4.4.1 a) 又は (4.4.2 a))と未分解試験溶液よりの留出液の滴定値((4.4.1 b) 又は (4.4.2 b))の差は、滴定液として 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合は 14 mL 程度、0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合は 7 mL 程度、0.25 mol/L 硫酸を用いた場合は 3 mL 程度と推定される。

備考 11. 真度の評価のため、硫黄、化成肥料、イソブチルアルデヒド縮合尿素及びホルムアルデヒド加工尿素入り複合肥料各 1 点に尿素を添加して調製した試料を用いて添加回収試験を行った結果、1.58 % (質量分率)~39.96 % (質量分率)の添加レベルでの平均回収率は 98.7 %~103.7 %であった。

精度の評価のため、尿素及び UF 入り化成肥料各 1 点を用いて、日を変えての反復試験の試験成績について一元配置分散分析を用いて解析し、併行精度及び中間精度を算出した結果を表 1 に示す。

この試験法の定量下限は、0.4 % (質量分率)程度である。

表1 尿素性窒素の日を変えての反復試験成績の解析結果

試料名	反復試験 日数(T) ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	$s_{I(T)}$ ⁶⁾ (%) ³⁾	$RSD_{I(T)}$ ⁷⁾ (%)
尿素	5	43.17	0.36	0.8	0.43	1.0
UF入り化成肥料	5	2.39	0.07	2.9	0.12	5.2

- | | |
|------------------------------|-------------|
| 1) 2点併行試験を実施した試験日数 | 5) 併行相対標準偏差 |
| 2) 平均値(試験日数(T)×併行試験数(2)) | 6) 中間標準偏差 |
| 3) 質量分率 | 7) 中間相対標準偏差 |
| 4) 併行標準偏差 | |

参考文献

- 1) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.56~59, 養賢堂, 東京 (1988)
- 2) 藤田敏文, 加藤公栄, 新見豊和, 木村康晴, 伊藤浩平, 白井裕治: 尿素性窒素試験法(ウレアーゼ法)の性能調査, ビウレット性窒素等の測定 - 単一試験室の妥当性確認 -, 肥料研究報告, **10**, 195~207 (2017)

- (5) **尿素性窒素試験法フローシート** 肥料中の尿素性窒素試験法のフローシートを次に示す。

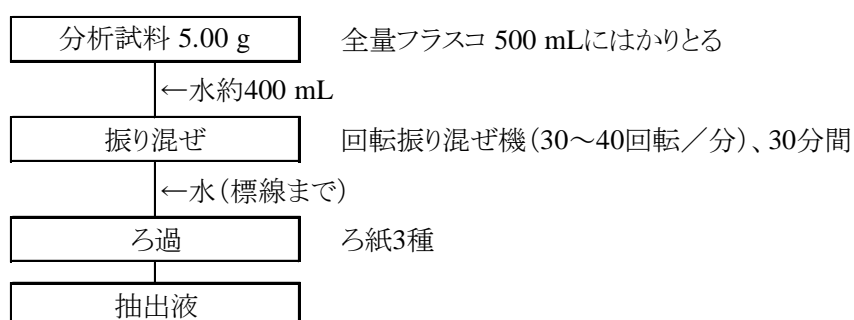


図1-1 尿素性窒素試験法フローシート(抽出操作(4.1.1))

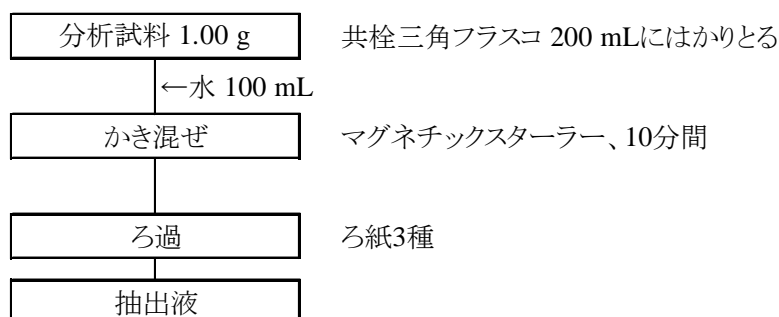


図1-2 尿素性窒素試験法フローシート(抽出操作(4.1.2))

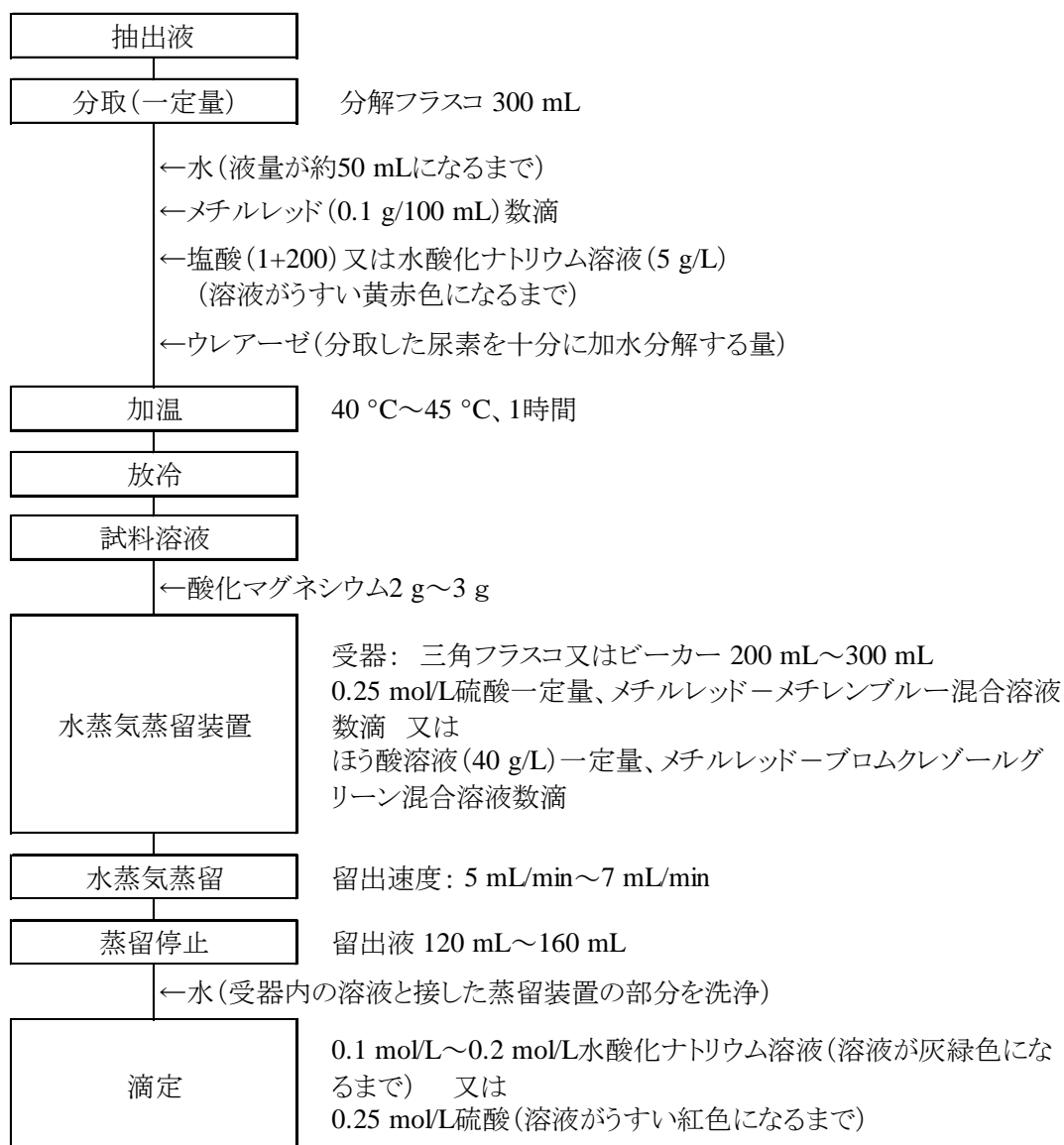


図2 尿素性窒素試験法フローシート(ウレアーゼによる加水分解、蒸留及び測定操作)

6.3.b 高速液体クロマトグラフ法

(1) 概要

この試験法は肥料に適用する。この試験法の分類は Type B であり、その記号は 6.3.b-2017 又は U-N.b-1 とする。

分析試料に水を加えて尿素を抽出し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)に導入し、弱酸性イオン交換カラムで分離し、波長 190 nm で測定し、分析試料中の尿素性窒素(U-N)を求める。この方法の性能は備考 5 に示す。

この方法によって、ピロリジン性窒素(B-N)ジシアンジアミド性窒素(Dd-N)、グアニジン性窒素(Gd-N)及びグアニル尿素性窒素(GU-N)が同時に測定できる(備考 4 参照)。

(2) 試薬 試薬及び水は、次による。

- a) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- b) リン酸二水素カリウム: JIS K 9007 に規定する特級又は同等の品質のもの。
- c) リン酸: JIS K 9005 に規定する特級又は同等の品質のもの。
- d) 尿素性窒素標準液(U-N 2 mg/mL)⁽¹⁾: JIS K 8731 に規定する尿素 0.429 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水を加えて溶かし、全量フラスコ 100 mL に移し入れ、標線まで水を加える。
- e) 検量線用尿素性窒素標準液(U-N 200 µg/mL): 尿素性窒素標準液(U-N 2 mg/mL) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- f) 検量線用尿素性窒素標準液(U-N 50 µg/mL~100 µg/mL): 尿素性窒素標準液(U-N 200 µg/mL) 25 mL~50 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- g) 検量線用尿素性窒素標準液(U-N 1 µg/mL~50 µg/mL): 使用時に尿素性窒素標準液(U-N 0.1 mg/mL) を 1 mL~50 mL を 100 mL 全量フラスコに段階的にとり、標線まで水を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) 高速液体クロマトグラフ: JIS K 0124 に規定する高速液体クロマトグラフで次の要件を満たすもの。
 - 1) カラム: 内径 7.5 mm、長さ 100 mm のステンレス鋼のカラム管に粒径 5 µm~10 µm の弱酸性イオン交換樹脂を充てんしたもの。
 - 2) カラム槽: カラム槽温度を 30 °C~45 °C で調節できるもの。
 - 3) 検出器: 吸光光度検出器で波長 190 nm 付近で測定できるもの。
- b) マグネチックスターラー
- c) 高速遠心分離機: 8000×g~10000×g で遠心分離可能なもの。

備考 1. カラムは Asahipak ES-502C 7C 等の名称で市販されている。

(4) 試験操作

(4.1) 抽出 抽出は、次のとおり行う。

(4.1.1) 粉状分析用試料

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れる。

- b) 水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜる。
- c) 静置後、上澄み液⁽²⁾を共栓遠心沈殿管⁽³⁾ 1.5 mL にとる。
- d) 遠心力 $8000 \times g \sim 10000 \times g$ で約 5 分間遠心分離⁽⁴⁾、上澄み液を試料溶液とする。

注 (2) 試料溶液中の尿素性窒素(U-N)濃度が検量線の上限を超えるおそれがある場合は、上澄み液の一定量を水で希釈する。

(3) ポリプロピレン製の共栓遠心沈殿管で測定に影響しないもの。

(4) 回転半径 7.2 cm \sim 8.9 cm 及び回転数 10000 rpm で遠心力 $8100 \times g \sim 10000 \times g$ 程度となる。

(4.1.2) 液状分析用試料

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れる。
- b) 水約 50 mL を加えて、振り混ぜる。
- c) 標線まで水を加え⁽⁵⁾、共栓遠心沈殿管⁽³⁾ 1.5 mL にとる。
- d) 遠心力 $8000 \times g \sim 10000 \times g$ で約 5 分間遠心分離⁽⁴⁾、上澄み液を試料溶液とする。

注 (5) 試料溶液中の尿素性窒素(U-N)濃度が検量線の上限を超えるおそれがある場合は、定容した溶液の一定量を水で希釈する。

備考 2. (4.1.1)c)~d) 又は (4.1.2)c)~d) の操作に代えて、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過し、ろ液を試料溶液としてもよい。

(4.2) 測定 測定は、JIS K 0124 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用する高速液体クロマトグラフの操作方法による。

a) **高速液体クロマトグラフの測定条件:** 測定条件の一例を以下に示す。これを参考にして設定する。

- 1) **カラム:** 弱酸性イオン交換樹脂カラム(内径 4.0 mm \sim 7.5 mm、長さ 100 mm \sim 150 mm、粒径 5 μm \sim 10 μm)
- 2) **カラム槽温度:** 40 $^{\circ}\text{C}$
- 3) **溶離液⁽¹⁾:** りん酸二水素カリウム 3.92 g 及びりん酸 0.12 g を水に溶かして 1000 mL とする。親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過する。
- 4) **流量:** 0.6 mL/min
- 5) **注入量:** 10 μL
- 6) **検出器:** 吸光光度検出器、測定波長 190 nm

備考 3. 溶離液は、りん酸二水素カリウム 19.6 g 及びりん酸 0.584 g を水に溶かして 500 mL とし、冷蔵保存し、使用時にその一定量を 10 倍に希釈し、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過して調製してもよい。

b) 検量線の作成

- 1) 各検量線用標準液 10 μL を高速液体クロマトグラフに注入し、波長 190 nm のクロマトグラムを記録し、ピーク高さを求める。

- 2) 各検量線用標準液の尿素性窒素(U-N)濃度と波長 190 nm のピーク高さとの検量線を作成する。

c) 試料の測定

- 1) 試料溶液 10 μ L を b) 1) と同様に操作する。
2) ピーク高さから検量線より尿素性窒素(U-N)量を求め、分析試料中の尿素性窒素(U-N)を算出する。

備考 4. この試験法ではビウレット性窒素(B-N)、尿素性窒素(U-N)、ジシアンジアミド性窒素(Dd-N)、グアニジン性窒素(Gd-N)及びグアニル尿素性窒素標準液(GU-N)の同時測定が可能である。その場合は、**5.10.a 備考 5**を参照のこと。

なお、ホルムアルデヒド加工尿素(UF)を含む複合肥料中の尿素性窒素(U-N)の分析にHPLC用カラムとしてAsahipak ES-502C 7Cを用いた場合、尿素性窒素(U-N)のピークとUF由来の成分の夾雑成分のピークが分離されず、尿素性窒素(U-N)の測定ができない。この場合、HPLC用カラムをPRP-X200に変えることによって尿素性窒素(U-N)のピークと夾雑成分のピークが分離され、UFを含む複合肥料中の尿素性窒素(U-N)を分析できる。ただし、HPLC用カラムとしてPRP-X200カラムを用いた場合、尿素性窒素(U-N)とビウレット性窒素(B-N)等との同時測定はできない。

備考 5. 真度の評価のため、アセトアルデヒド縮合尿素肥料、化成肥料、配合肥料、液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料各1銘柄を用いて添加回収試験を実施した結果、6% (質量分率)、3% (質量分率)及び0.6% (質量分率)の添加レベルでの平均回収率はそれぞれ98.3%~102.9%、98.9%~105.2%及び92.3%~99.9%であった。

精度の評価のため、配合肥料、化成肥料及び家庭園芸用複合肥料を用いて日を変えての反復試験の試験成績について一元配置分散分析を用いて解析し、中間精度及び併行精度を算出した結果を表1に示す。また、試験法の妥当性確認のための共同試験の成績及び解析結果を表2に示す。

なお、この試験法の定量下限は0.03% (質量分率)程度である。

表1 尿素性窒素の日を変えての反復試験成績の解析結果

試料名	反復試験 日数(T) ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	$s_{I(T)}$ ⁶⁾ (%) ³⁾	$RSD_{I(T)}$ ⁷⁾ (%)
配合肥料	5	6.24	0.03	0.5	0.05	0.8
化成肥料	5	3.01	0.03	0.7	0.04	1.4
家庭園芸用複合肥料	5	0.315	0.003	0.9	0.005	0.9

1) 2点併行試験を実施した試験日数

2) 平均値 (試験日数(T) \times 併行試験数(2))

3) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 中間標準偏差

7) 中間相対標準偏差

表2 尿素性窒素試験法の妥当性確認のための共同試験成績の解析結果

試料名	試験 室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	s_R ⁶⁾ (%) ³⁾	RSD_R ⁷⁾ (%)
化成肥料1	8	0.296	0.011	3.6	0.012	4.1
化成肥料2	10	0.589	0.015	2.6	0.024	4.1
化成肥料3	10	3.08	0.04	1.1	0.06	2.0
化成肥料4	10	6.03	0.11	1.7	0.20	3.4
化成肥料5	10	46.5	0.6	1.4	1.3	2.8

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) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 室間再現標準偏差

7) 室間再現相対標準偏差

参考文献

- 1) 恵智正宏, 木村康晴, 白井裕治: 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の尿素性窒素, ビウレット性窒素等の測定 - 単一試験室の妥当性確認 -, 肥料研究報告, **10**, 72~85 (2017)
- 2) 船木紀夫, 木村康晴: 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の尿素性窒素, ビウレット性窒素等の測定 - 共同試験成績 -, 肥料研究報告, **10**, 86~100 (2017)

(5) **試験法フローシート** 肥料中の尿素性窒素試験法のフローシート例を次に示す。

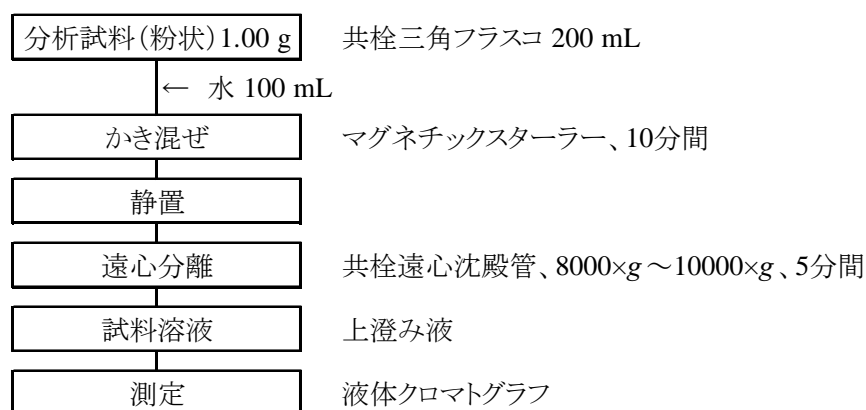


図1 肥料中の尿素性窒素試験法のフローシート(抽出操作(4.1.1)及び測定)

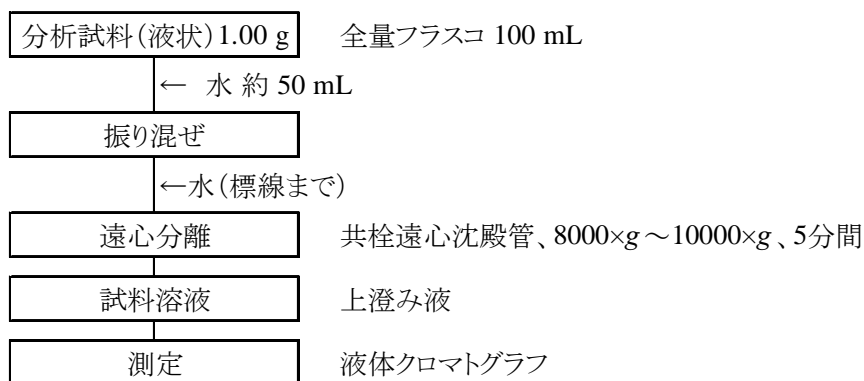
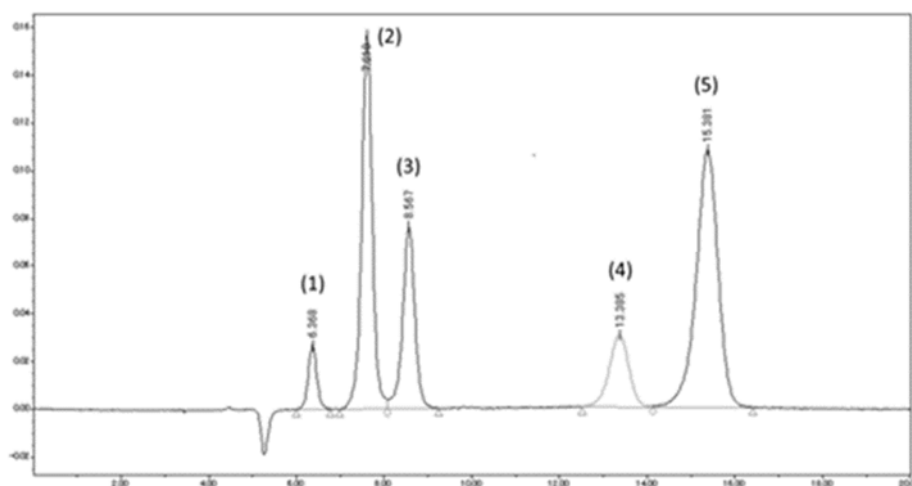


図2 肥料中の尿素性窒素試験法のフローシート(抽出操作(4.1.2)及び測定)

参考 尿素性窒素の検量線用標準液のクロマトグラムを次に示す。



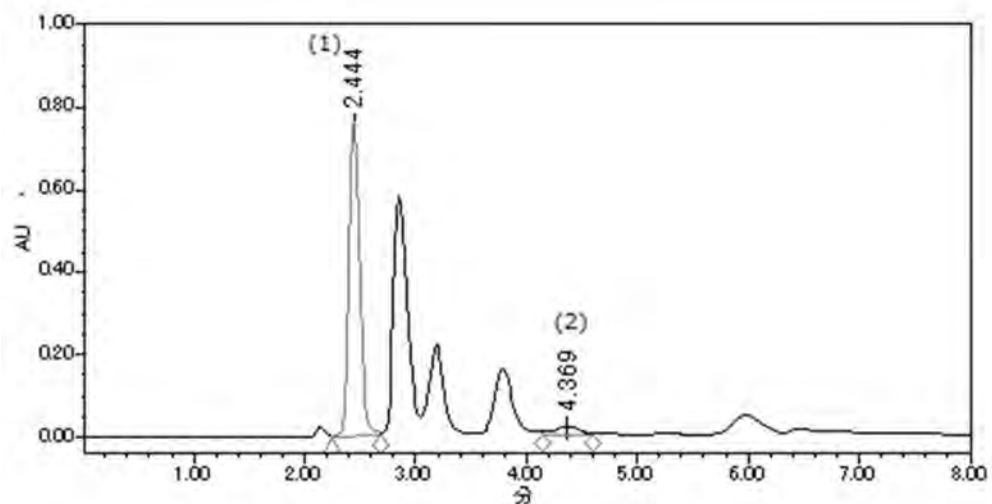
参考図1 検量線用混合標準液(各 10 mg/L)の HPLC クロマトグラム
ピーク名

- (1) 尿素性窒素 (2) ビウレット性窒素 (3) ジシアンジアミド性窒素
(4) グアニジン性窒素 (5) グアニル尿素性窒素

HPLC の測定条件

カラム: Asahipak ES-502C 7C(内径 7.5 mm、長さ 100 mm、粒径 9 μm)

その他の条件は(4.2) a) HPLC 測定条件の例示のとおり



参考図2 検量線用尿素性窒素標準液(20 mg/L)及びホルムアルデヒド加工尿素肥料の
HPLC クロマトグラム

ピーク名

(1)尿素性窒素 (2)ビウレット性窒素

HPLC の測定条件

カラム: PRP-X200(内径 4.1 mm、長さ 150 mm、粒径 10 μm)

その他の条件は(4.2) a)HPLC 測定条件の例示のとおり

6.3.c *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド吸光光度法

(1) 概要

この試験法は尿素性窒素を含む肥料に適用する。ただし、イソブチルアルデヒド縮合尿素肥料、ホルムアルデヒド加工尿素肥料、石灰窒素、汚泥肥料等及び特殊肥料は除く。この試験法の分類は Type D であり、その記号は 6.3.c-2018 又は U-N.c-1 とする。

分析試料に水を加えて尿素を抽出し、ジメチルアミノベンズアルデヒドと反応して生ずる呈色を吸光度で測定し、分析試料中の尿素性窒素(U-N)を求める。この方法の性能は備考 3 に示す。

(2) 試薬 試薬及び水は、次による。

- a) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- b) 発色試薬溶液⁽¹⁾: JIS K 8496 に規定する *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド 20 g を JIS K 8101 に規定するエタノール(99.5) 1000 mL 及び JIS K 8180 に規定する塩酸 100 mL に溶かし一夜放置する⁽²⁾。
- c) 尿素性窒素標準液(U-N 2 mg/mL)⁽¹⁾: JIS K 8731 に規定する尿素 0.429 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水を加えて溶かし、全量フラスコ 100 mL に移し入れ、標線まで水を加える。
- d) 尿素性窒素標準液(U-N 200 µg/mL)⁽¹⁾: 尿素性窒素標準液(U-N 2 mg/mL) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 褐色瓶に入れて保存する。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) 分光光度計: JIS K 0115 に規定する分光光度計。
- b) マグネチックスターラー

(4) 試験操作

(4.1) 抽出 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、三角フラスコ 200 mL に入れる。
- b) 水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜる。
- c) 静置後、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とする。

備考 1. (4.1) の操作は、6.3.a の (4.1.2) と同様の操作である。

備考 2. (4.1)c) の試料溶液が着色して定量に影響がある場合は、活性炭 0.5 g 程度を加え、ろ紙 3 種でろ過し、着色が除去できたものを試料溶液とする。

(4.2) 発色 発色は、次のとおり行う。

- a) 試料溶液の一定量(U-N として 0.5 mg～5 mg 相当量)を全量フラスコ 50 mL にとる。
- b) 発色試薬溶液 20 mL を加え、更に標線まで水を加えた後、約 30 分間放置する。

(4.3) 測定 測定は、JIS K 0115 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用する分光光度計の操

作方法による。

a) **分光光度計の測定条件** 分光光度計の測定条件は、以下を参考にして設定する。

分析波長：450 nm

b) **検量線の作成**

- 1) 尿素性窒素標準液(U-N 200 µg/mL) 2.5 mL～25 mLを全量フラスコ 50 mL に段階的にとる。
- 2) (4.2)b)と同様の操作を行って U-N 0.5 mg/50 mL～5 mg/50 mL の検量線用尿素性窒素標準液とする。
- 3) 別の全量フラスコ 50 mL について、2)と同様の操作を行って検量線用空試験液とする。
- 4) 検量線用空試験液を対照として検量線用尿素性窒素標準液の波長 450 nm の吸光度を測定する。
- 5) 検量線用尿素性窒素標準液の尿素性窒素(U-N)濃度と吸光度との検量線を作成する。

c) **試料の測定**

- 1) (4.2)b)の溶液について、b)4)と同様の操作を行って吸光度を測定する。
- 2) 検量線から尿素性窒素(U-N)量を求め、分析試料中の尿素性窒素(U-N)を算出する。

備考 3. 真度の評価のため、化成肥料、甲殻類質肥料粉末及び調製試料を用いて添加回収試験を実施した結果、尿素性窒素(U-N)として 20 % (質量分率)、10 % (質量分率)及び 3 % (質量分率)の添加レベルでの平均回収率はそれぞれ 100.0 %～102.4 %、100.5 %～102.0 %及び 98.0 %～103.3 %であった。

精度の評価のため、尿素、指定配合肥料及び化成肥料を用いて日を変えての反復試験の試験成績について一元配置分散分析を用いて解析し、中間精度及び併行精度を算出した結果を表 1 に示す。

なお、この試験法の定量下限は 0.2 % (質量分率)である。

表1 尿素性窒素の日を変えての反復試験成績の解析結果

試料名	反復試験 日数(T) ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	$s_{1(T)}$ ⁶⁾ (%) ³⁾	$RSD_{1(T)}$ ⁷⁾ (%)
尿素	7	45.9	0.89	1.9	0.91	2.0
指定配合肥料	7	7.45	0.16	2.1	0.20	2.7
化成肥料	7	1.12	0.02	2.2	0.03	2.9

1) 2点併行試験を実施した試験日数

2) 平均値 (試験日数(T)×併行試験数(2))

3) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 中間標準偏差

7) 中間相対標準偏差

参考文献

- 1) 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法，p.60～62，養賢堂，東京（1988）
- 2) 高橋伸英：吸光光度法による肥料中の尿素性窒素の測定，肥料研究報告，**11**，54～62（2018）

(5) 試験法フローシート 肥料中の尿素性窒素試験法のフローシートを次に示す。

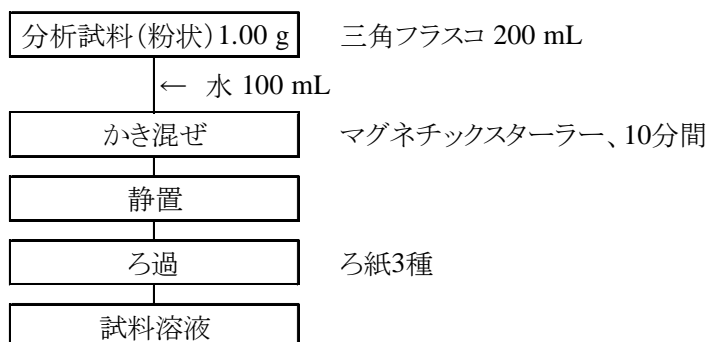


図1 肥料中の尿素性窒素試験法フローシート(抽出操作)

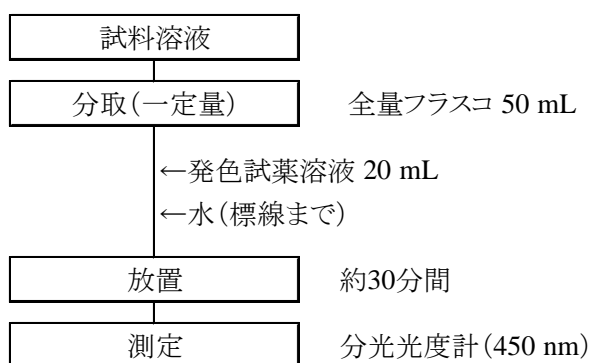


図2 肥料中の尿素性窒素試験法フローシート(測定操作)

6.4 グアニジン性窒素

6.4.a 高速液体クロマトグラフ法

(1) 概要

この試験法は肥料に適用する。この試験法の分類は Type B であり、その記号は 6.4.a-2017 又は Gd-N.a-1 とする。

分析試料に水を加えてグアニジンを抽出し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)に導入し、弱酸性イオン交換カラムで分離し、波長 190 nm で測定し、分析試料中のグアニジン性窒素(Gd-N)を求める。この方法の性能は備考 6 に示す。

この方法によって、ピウレット性窒素(B-N)、ジシアンジアミド性窒素(Dd-N)、尿素性窒素(U-N)及びグアニル尿素性窒素(GU-N)が同時に測定できる(備考 5 参照)。

(2) 試薬 試薬及び水は、次による。

- a) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- b) リン酸二水素カリウム: JIS K 9007 に規定する特級又は同等の品質のもの。
- c) リン酸: JIS K 9005 に規定する特級又は同等の品質のもの。
- d) グアニジン性窒素標準液(Gd-N 2 mg/mL)⁽¹⁾: グアニジン硫酸塩[C₂H₁₀N₆・H₂SO₄]⁽²⁾0.515 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水を加えて溶かし、全量フラスコ 100 mL に移し入れ、標線まで水を加える。
- e) 検量線用グアニジン性窒素標準液(Gd-N 200 µg/mL)⁽¹⁾: グアニジン性窒素標準液(Gd-N 2 mg/mL) 10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- f) 検量線用グアニジン性窒素標準液(Gd-N 50 µg/mL~100 µg/mL)⁽¹⁾: グアニジン性窒素標準液(Gd-N 200 µg/mL) 25 mL~50 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- g) 検量線用グアニジン性窒素標準液(Gd-N 1 µg/mL~50 µg/mL)⁽¹⁾: 使用時にグアニジン性窒素標準液(Gd-N 100 µg/mL)を 1 mL~50 mL を 100 mL 全量フラスコに段階的にとり、標線まで水を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) グアニジン硫酸塩として 98 % (質量分率)以上の純度の試薬が市販されている。

備考 1. グアニジン硫酸塩は富士フィルム和光純薬及び関東化学及び東京化成工業より市販されている。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) 高速液体クロマトグラフ: JIS K 0124 に規定する高速液体クロマトグラフで次の要件を満たすもの。
 - 1) カラム: 内径 7.5 mm、長さ 100 mm のステンレス鋼のカラム管に粒径 5 µm~10 µm の弱酸性イオン交換樹脂を充てんしたもの。
 - 2) カラム槽: カラム槽温度を 30 °C~45 °C で調節できるもの。
 - 3) 検出器: 吸光光度検出器で波長 190 nm 付近で測定できるもの。
- b) マグネチックスターラー
- c) 高速遠心分離機: 8000×g~10000×g で遠心分離可能なもの。

備考 2. カラムは Asahipak ES-502C 7C 等の名称で市販されている。

(4) 試験操作

(4.1) 抽出 抽出は、次のとおり行う。

(4.1.1) 粉状分析用試料

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れる。
- b) 水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜる。
- c) 静置後、上澄み液⁽³⁾を共栓遠心沈殿管⁽⁴⁾ 1.5 mL にとる。
- d) 遠心力 $8000 \times g \sim 10000 \times g$ で約 5 分間遠心分離し⁽⁵⁾、上澄み液を試料溶液とする。

注 (3) 試料溶液中のグアニジン性窒素 (Gd-N) 濃度が検量線の上限を超えるおそれがある場合は、上澄み液の一定量を水で希釈する。

(4) ポリプロピレン製の共栓遠心沈殿管で測定に影響しないもの。

(5) 回転半径 7.2 cm \sim 8.9 cm 及び回転数 10000 rpm で遠心力 $8100 \times g \sim 10000 \times g$ 程度となる。

(4.1.2) 液状分析用試料

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れる。
- b) 水約 50 mL を加えて⁽⁶⁾、振り混ぜる。
- c) 標線まで水を加え、共栓遠心沈殿管⁽⁴⁾ 1.5 mL にとる。
- d) 遠心力 $8000 \times g \sim 10000 \times g$ で約 5 分間遠心分離し⁽⁵⁾、上澄み液を試料溶液とする。

注 (6) 試料溶液中のグアニジン性窒素 (Gd-N) 濃度が検量線の上限を超えるおそれがある場合は、定容した溶液の一定量を水で希釈する。

備考 3. (4.1.1) c)~d) 又は (4.1.2) c)~d) の操作に代えて、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過し、ろ液を試料溶液としてもよい。

(4.2) 測定 測定は、JIS K 0124 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用する高速液体クロマトグラフの操作方法による。

a) 高速液体クロマトグラフの測定条件: 測定条件の一例を以下に示す。これを参考にして設定する。

- 1) **カラム:** 弱酸性イオン交換樹脂カラム(内径 4.0 mm \sim 7.5 mm、長さ 100 mm \sim 150 mm、粒径 5 μm \sim 10 μm)
- 2) **カラム槽温度:** 40 $^{\circ}\text{C}$
- 3) **溶離液⁽¹⁾:** りん酸二水素カリウム 3.92 g 及びりん酸 0.12 g を水に溶かして 1000 mL とする。親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過する。
- 4) **流量:** 0.6 mL/min
- 5) **注入量:** 10 μL
- 6) **検出器:** 吸光光度検出器、測定波長 190 nm

備考 4. 溶離液は、りん酸二水素カリウム 19.6 g 及びりん酸 0.584 g を水に溶かして 500 mL とし、冷蔵保存し、使用時にその一定量を 10 倍に希釈し、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm

以下)でろ過して調製してもよい。

b) 検量線の作成

- 1) 各検量線用標準液 10 μL を高速液体クロマトグラフに注入し、波長 190 nm のクロマトグラムを記録し、ピーク高さを求める。
- 2) 各検量線用標準液のグアニジン性窒素(Gd-N)濃度と波長 190 nm のピーク高さとの検量線を作成する。

c) 試料の測定

- 1) 試料溶液 10 μL を **b) 1)**と同様に操作する。
- 2) ピーク高さから検量線よりグアニジン性窒素(Gd-N)量を求め、分析試料中のグアニジン性窒素(Gd-N)を算出する。

備考 5. この試験法ではビウレット性窒素(B-N)、尿素性窒素(U-N)、ジシアンジアミド性窒素(Dd-N)、グアニジン性窒素(Gd-N)及びグアニル尿素性窒素標準液(GU-N)の同時測定が可能である。その場合は、**5.10.a 備考 5**を参照のこと。

備考 6. 真度の評価のため、グアニル尿素肥料様調製試料 1 銘柄を用いて添加回収試験を実施した結果、3.71 % (質量分率)、1.85 % (質量分率)及び 0.371 % (質量分率)の添加レベルでの平均回収率はそれぞれ 91.2 %、94.0 %及び 100.0 %であった。

精度の評価のため、グアニル尿素肥料を用いて日を変えての反復試験の試験成績について一元配置分散分析を用いて解析し、中間精度及び併行精度を算出した結果を表 1 に示す。また、試験法の妥当性確認のための共同試験の成績及び解析結果を表 2 に示す。

なお、この試験法の定量下限は 0.02 % (質量分率)程度である。

表1 グアニジン性窒素の日を変えての反復試験成績の解析結果

試料名	反復試験	平均値 ²⁾	s_r ⁴⁾	RSD_r ⁵⁾	$s_{I(T)}$ ⁶⁾	$RSD_{I(T)}$ ⁷⁾
	日数(T) ¹⁾	(%) ³⁾	(%) ³⁾	(%)	(%) ³⁾	(%)
グアニル尿素肥料	5	1.81	0.01	0.8	0.04	2.0

1) 2点併行試験を実施した試験日数

2) 平均値 (試験日数(T) \times 併行試験数(2))

3) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 中間標準偏差

7) 中間相対標準偏差

表2 グアニジン性窒素試験法の妥当性確認のための共同試験成績の解析結果

試料名	試験 室数 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	s_R ⁶⁾ (%) ³⁾	RSD_R ⁷⁾ (%)
化成肥料1	12	4.91	0.18	3.7	0.29	5.8
化成肥料2	12	3.94	0.16	4.2	0.27	6.8
化成肥料3	11	3.03	0.06	2.0	0.12	4.0
化成肥料4	11	2.05	0.05	2.6	0.09	4.2
グアニル尿素肥料	11	5.13	0.21	4.0	0.19	3.6

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) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 室間再現標準偏差

7) 室間再現相対標準偏差

参考文献

- 1) 恵智正宏, 木村康晴, 白井裕治: 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の尿素性窒素, ビウレット性窒素等の測定 - 単一試験室の妥当性確認 -, 肥料研究報告, **10**, 72~85 (2017)
- 2) 船木紀夫, 木村康晴: 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の尿素性窒素, ビウレット性窒素等の測定 - 共同試験成績 -, 肥料研究報告, **10**, 86~100 (2017)

(5) **試験法フローシート** 肥料中のグアニジン性窒素試験法のフローシート例を次に示す。

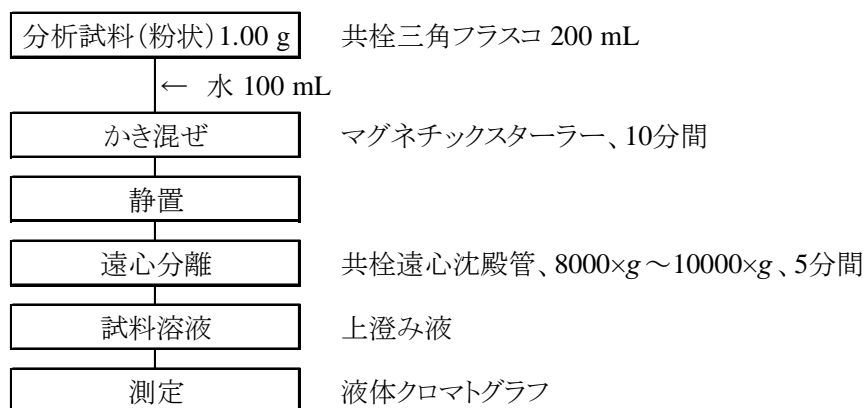


図1 肥料中のグアニジン性窒素試験法のフローシート(抽出操作(4.1.1)及び測定)

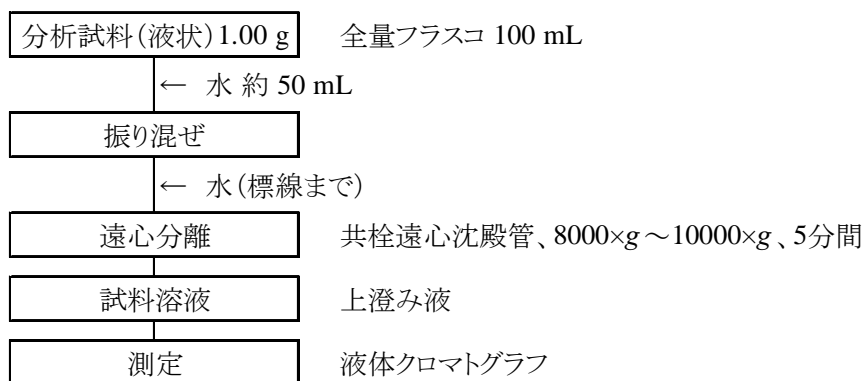
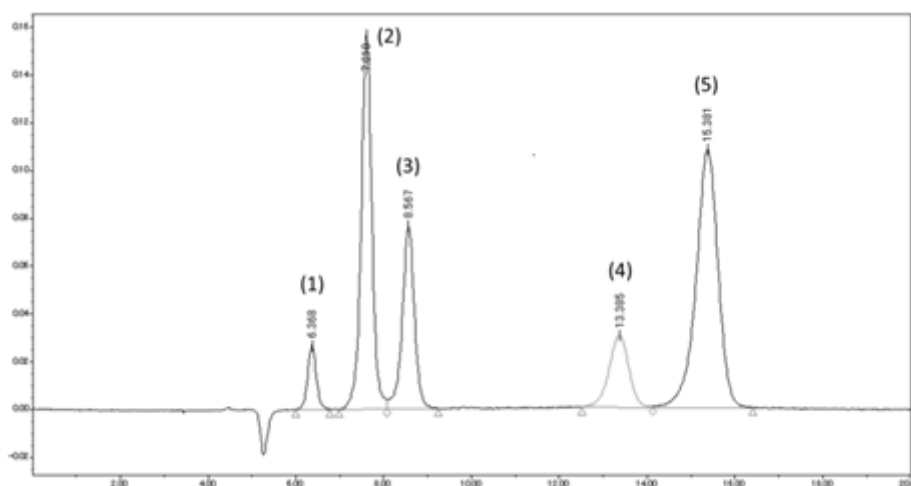


図2 肥料中のグアニジン性窒素試験法のフローシート(抽出操作(4.1.2)及び測定)

参考 グアニジン性窒素の検量線用標準液のクロマトグラムを次に示す。



参考図 検量線用混合標準液(各 10 mg/L)の HPLC クロマトグラム

ピーク名

- (1) 尿素性窒素 (2) ビウレット性窒素 (3) ジシアンジアミド性窒素
 (4) グアニジン性窒素 (5) グアニル尿素性窒素

HPLC の測定条件

カラム: Asahipak ES-502C 7C(内径 7.5 mm、長さ 100 mm、粒径 9 μm)

その他の条件は(4.2) a) HPLC 測定条件の例示のとおり

6.5 冷緩衝液可溶性窒素(水に溶ける窒素)

6.5.a 冷緩衝液法

(1) 概要

この試験法はホルムアルデヒド加工尿素肥料に適用する。この試験法の分類は Type A (Def-M) であり、その記号は 6.5.a-2017 又は Buf(C)-N.a-1 とする。

りん酸塩溶液(冷緩衝液)を分析試料に加えて抽出し、硫酸銅(Ⅱ)五水和物、硫酸及び硫酸カリウムを加え、ケルダール法で前処理して冷緩衝液可溶性窒素をアンモニウムイオンにし、水酸化ナトリウム溶液を加えて水蒸気蒸留する。分離したアンモニアを 0.25 mol/L 硫酸で捕集し、余剰の硫酸を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で(中和)滴定し、分析試料中の冷緩衝液可溶性窒素(水に溶ける窒素)を求める。又は、分離したアンモニアをほう酸溶液で捕集し、アンモニウムイオンを 0.25 mol/L 硫酸で(中和)滴定し、分析試料中の冷緩衝液可溶性窒素(水に溶ける窒素)を求める。

(2) 試薬 試薬は、次による。

a) **0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液⁽¹⁾**: 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり、冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし、密栓して 4～5 日間放置する。その上澄み液 5.5 mL～11 mL を共栓保存容器にとり、水 1000 mL を加える。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質のアミド硫酸をデシケーター中に 2 kPa 以下で約 48 時間放置して乾燥した後、約 2.5 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水で溶かし、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、標線まで水を加える⁽¹⁾。この液一定量を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、指示薬としてプロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が緑色になるまで滴定する。次の式によって 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクターを算出する。

$$\begin{aligned} &0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター}(f_i) \\ &= (W_1 \times A \times 0.01/97.095) \times (V_1/V_2) \times (1000/V_3) \times (1/C_1) \end{aligned}$$

W_1 : 採取したアミド硫酸の質量(g)

A : アミド硫酸の純度(%(質量分率))

V_1 : 分取したアミド硫酸溶液の容量(mL)

V_2 : アミド硫酸溶液の定容量(250 mL)

V_3 : 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

b) **硫酸**: JIS K 8951 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

c) **0.25 mol/L 硫酸⁽¹⁾⁽²⁾**: 硫酸約 14 mL をあらかじめ水 100 mL を入れたビーカーに加えて良くかき混ぜ、水で 1000 mL とする。

標定: 0.25 mol/L 硫酸一定量⁽³⁾を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、メチルレッドーメチレンブルー混合溶液数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。次の式(1)によって 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量を算出する。又は、次の式(2)によって 0.25 mol/L 硫酸のファクターを算出する。

$$0.25 \text{ mol/L 硫酸 } 1 \text{ mL に相当する } 0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(B)} \\ = V_4/V_5 \quad \dots\dots (1)$$

$$0.25 \text{ mol/L 硫酸のファクター}(f_2) \\ = (f_1 \times C_1 \times V_4/V_5)/(C_2 \times 2) \quad \dots\dots (2)$$

V_4 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

V_5 : 標定に供した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)

- d) **ほう酸溶液(40 g/L)**: JIS K 8863 に規定するほう酸 40 g を水に溶かして 1000 mL とする。
- e) **水酸化ナトリウム溶液(200 g/L~500 g/L)⁽¹⁾**: JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム 100 g~250 g を水に溶かして 500 mL とする。
- f) **プロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8842 に規定するプロモチモールブルー 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 20 mL で溶かし、水で 100 mL とする。
- g) **メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- h) **メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8897 に規定するメチレンブルー 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- i) **メチルレッド-メチレンブルー混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) 2 容量に対し、メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL) 1 容量を加える。
- j) **ブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)**: JIS K 8840 に規定するブロムクレゾールグリーン 0.5 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- k) **メチルレッド-ブロムクレゾールグリーン混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) に同量のブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)を加える。
- l) **りん酸塩溶液**: JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウム 3.63 g 及び JIS K 9020 に規定するりん酸水素二ナトリウム 5.68 g を水 1000 mL に溶かす⁽⁵⁾。使用に際して、液温を約 25 °C に調整する(冷緩衝液)

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 肥料分析法(1992年版)の標準硫酸液 0.5 M(1/2 硫酸)溶液に対応する。

(3) 5 mL~10 mL

(4) 青紫色から暗青色を経て灰緑色になった時を終点とする。

(5) pH 7.0±pH 0.2

備考 1. (2)a)の 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液又は 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いることもできる。

備考 2. (2)c)の 0.25 mol/L 硫酸に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.25 mol/L 硫酸を用いることもできる。

- (3) **器具及び装置** 器具及び装置は、次のとおりとする。
- a) **回転振り混ぜ機**: 全量フラスコ 250 mL を 30~40 回転/分で上下転倒して回転させられるもの。
 - b) **水蒸気蒸留装置**
 - c) **分解フラスコ**: 水蒸気蒸留装置に連結できるケルダールフラスコ

(4) **試験操作**

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料⁽⁶⁾ 1.00 g をはかりとり、全量フラスコ 250 mL に入れる。
- b) リン酸塩溶液 200 mL を加え、30~40 回転/分で 30 分間振り混ぜる。
- c) 標線まで水を加える。
- d) ろ紙 3 種でろ過し、抽出液とする。

注(6) 分析用試料は**備考 3**により調製する。

備考 3. 目開き 850 μm のふるいを通すまで、試験品を乳鉢、乳棒等を用いて押し砕く。

備考 4. 加水分解のおそれのない分析試料の場合は、リン酸溶液に代えて水を用いてもよい。

備考 5. (4.1) b)~d)の操作における溶液の温度は 26 $^{\circ}\text{C}$ 以下とする。

(4.2) **ケルダール分解** 分解は、次のとおり行う。

- a) 試料溶液の一定量(冷緩衝液可溶性窒素として 0.5 g 相当量以下)を分解フラスコ 300 mL に入れる。
- b) JIS K 8962 に規定する硫酸銅(II)五水和物⁽⁷⁾ 0.1 g を加え、更に硫酸 5 mL を加えて振り混ぜ、徐々に加熱して水分を蒸発させる。
- c) 放冷後、JIS K 8962 に規定する硫酸カリウム 1 g を加え、加熱して分解する。
- d) 更に 30 分間強熱する。
- e) 放冷後、液量が約 30 mL になるまで振り混ぜながら水を加え、冷却して分解液とする。

注(7) 必要に応じて粉末にする。

(4.3) **蒸留** 蒸留は、次のとおり行う。具体的な蒸留操作は、測定に使用する水蒸気蒸留装置の操作方法による。

- a) 0.25 mol/L 硫酸の一定量⁽⁸⁾を受器⁽⁹⁾にとり、メチルレッド-メチレンブルー混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。又は、ほう酸溶液(40 g/L)の一定量⁽⁸⁾を受器⁽⁹⁾にとり、メチルレッド-ブロムクレゾールグリーン混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。
- b) 水酸化ナトリウム溶液(200 g/L~500 g/L)適量⁽¹⁰⁾を分解液に加え、この分解フラスコを水蒸気蒸留装置に速やかに連結する。
- c) 水蒸気を蒸留フラスコに送り、蒸留フラスコ内の溶液を加熱し、留出速度 5 mL/min~7 mL/min で蒸留を行う。
- d) 120 mL~160 mL が留出したら蒸留を止める。
- e) 受器内の溶液と接した水蒸気蒸留装置の部分を少量の水で洗い、洗液を留出液と合わせる。

注(8) 5 mL~20 mL

- (9) 受器は水蒸気蒸留装置の留出液の出口を 0.25 mol/L 硫酸又はほう酸溶液(40 g/L)に浸せる三角フラスコ 200 mL~300 mL 又はビーカー200 mL~300 mL を用いる。
- (10) 溶液を強アルカリ性にするために十分な量。青色が生ずる。

(4.4) 測定 測定は、次のとおり行う。

(4.4.1) (4.3)で 0.25 mol/L 硫酸を用いた場合

- a) 留出液を 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。
- b) 次の式によって分析試料中の冷緩衝液可溶性窒素を算出する。

$$\begin{aligned} & \text{分析試料中の冷緩衝液可溶性窒素(\% (質量分率))} \\ & = (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (14.007/W_2) \times (100/1000) \\ & = (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (1.4007/W_2) \end{aligned}$$

B : 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量

V_6 : (4.2) a)において受器にとった 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

V_7 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

f_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター

V_8 : (4.1) c)における抽出液の定容量(mL)

V_9 : (4.2) a)においてケルダール分解に供した抽出液の分取量(mL)

W_2 : 分析試料の質量(g)

(4.4.2) (4.3)でほう酸溶液(40 g/L)を用いた場合

- a) 留出液を 0.25 mol/L 硫酸で溶液の色がうすい紅色⁽¹¹⁾になるまで滴定する。
- b) 次の式によって分析試料中の冷緩衝液可溶性窒素を算出する。

$$\begin{aligned} & \text{分析試料中の冷緩衝液可溶性窒素(\% (質量分率))} \\ & = V_{10} \times C_2 \times 2 \times f_2 \times (V_{11}/V_{12}) \times (14.007/W_2) \times (100/1000) \\ & = V_{10} \times C_2 \times f_2 \times (V_{11}/V_{12}) \times (2.8014/W_2) \end{aligned}$$

V_{10} : 滴定に要した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)

f_2 : 0.25 mol/L 硫酸のファクター

V_{11} : (4.1) c)における抽出液の定容量(mL)

V_{12} : (4.2) a)においてケルダール分解に供した抽出液の分取量(mL)

W_2 : 分析試料の質量(g)

注(11) 緑色からうすい紅色になった時を終点とする。

備考 6. 自動滴定装置を用いて(2)a)標定、(2)c)標定及び(4.4)の滴定操作を実施することができる。滴定プログラム及び終点判定パラメーターの設定並びに受器等の容器は、使用する自動滴定装置の仕様及び操作方法による。

参考文献

1) 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法, p.67~68, 養賢堂, 東京 (1988)

(5) **冷緩衝液可溶性窒素試験法フローシート** ホルムアルデヒド加工尿素肥料中の冷緩衝液可溶性窒素試験法のフローシートを次に示す。

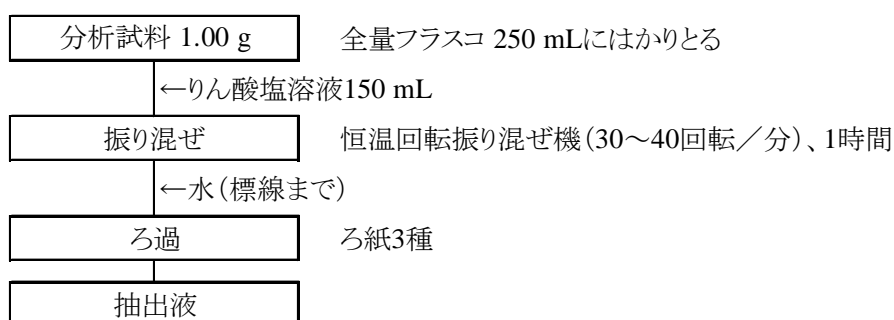


図1 ホルムアルデヒド加工尿素肥料中の冷緩衝液可溶性窒素試験法フローシート (抽出操作)

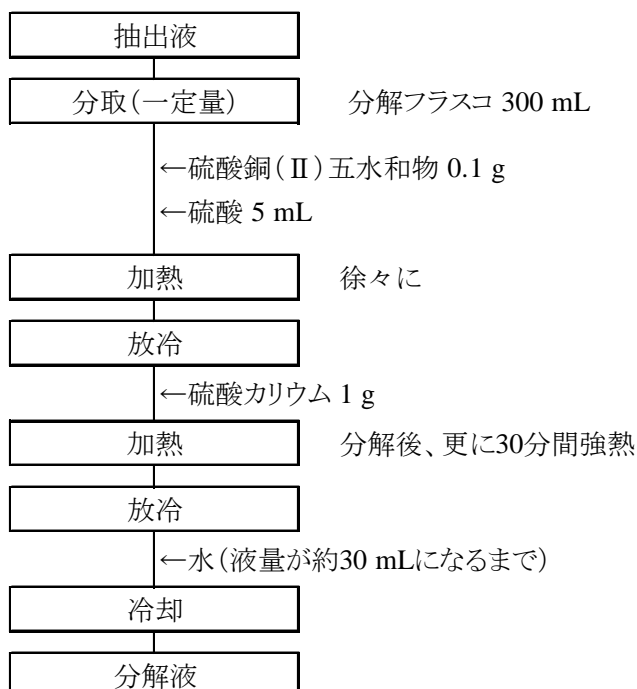


図2 ホルムアルデヒド加工尿素肥料中の冷緩衝液可溶性窒素試験法フローシート (ケルダール分解操作)

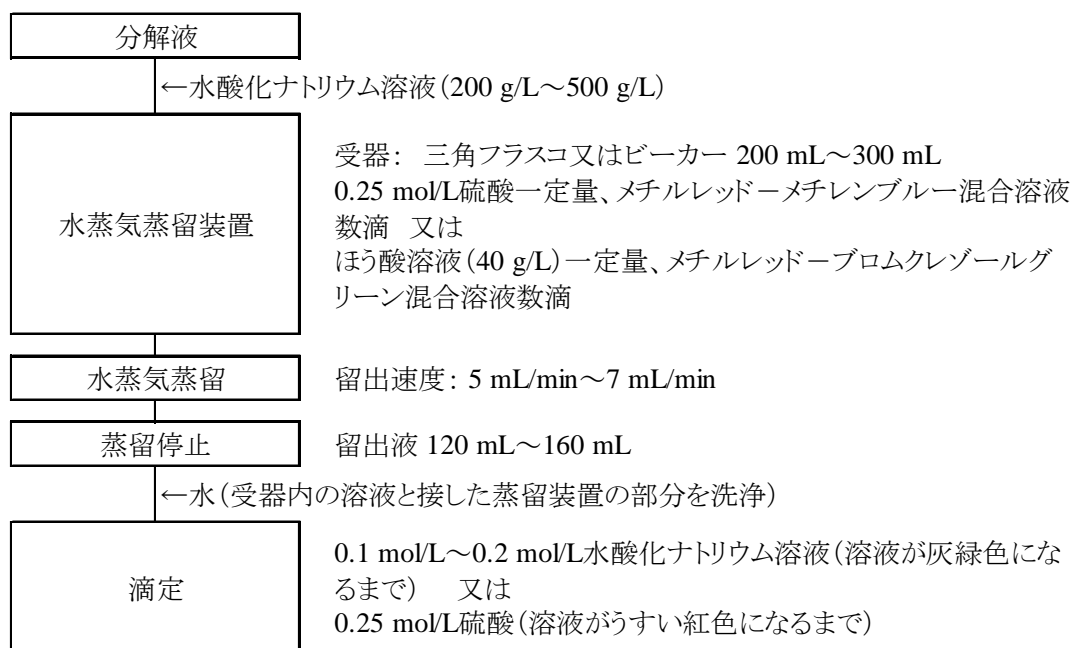


図3 ホルムアルデヒド加工尿素肥料中の冷緩衝液可溶性窒素試験法フローシート
(蒸留及び測定操作)

6.6 熱緩衝液可溶性窒素(熱水に溶出する窒素)

6.6.a 熱緩衝液法

(1) 概要

この試験法はメチロール尿素重合肥料に適用する。この試験法の分類は Type A (Def-M) であり、その記号は 6.6.a-2017 又は Buf(H)-N.a-1 とする。

熱りん酸塩溶液(熱緩衝液)を分析試料に加えて熱緩衝液可溶性窒素を溶離し、不溶解物を硫酸カリウム及び硫酸銅(II)五水和物及び硫酸を加え、ケルダール法で前処理して熱緩衝液不溶性窒素をアンモニウムイオンにし、水酸化ナトリウム溶液を加えて水蒸気蒸留する。分離したアンモニアを 0.25 mol/L 硫酸で捕集し、余剰の硫酸を 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で(中和)滴定し、分析試料中の熱緩衝液不溶性窒素を求める。又は、分離したアンモニアをほう酸溶液で捕集し、アンモニウムイオンを 0.25 mol/L 硫酸で(中和)滴定し、分析試料中の熱緩衝液不溶性窒素を求める。別途 4.1.1 により測定した窒素全量(T-N)から熱緩衝液不溶性窒素を差し引き、熱緩衝液可溶性窒素(熱水に溶出する窒素)を算出する。

(2) 試薬 試薬は、次による。

- a) **0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液⁽¹⁾**: 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり、冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし、密栓して 4~5 日間放置する。その上澄み液 5.5 mL~11 mL を共栓保存容器にとり、水 1000 mL を加える。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質のアミド硫酸をデシケーター中に 2 kPa 以下で約 48 時間放置して乾燥した後、約 2.5 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水で溶かし、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、標線まで水を加える⁽¹⁾。この液一定量を三角フラスコ 200 mL~300 mL にとり、指示薬としてプロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)数滴を加え、0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が緑色になるまで滴定する。次の式によって 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクターを算出する。

$$0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター}(f_1) \\ = (W_1 \times A \times 0.01/97.095) \times (V_1/V_2) \times (1000/V_3) \times (1/C_1)$$

W_1 : 採取したアミド硫酸の質量(g)

A : アミド硫酸の純度(%(質量分率))

V_1 : 分取したアミド硫酸溶液の容量(mL)

V_2 : アミド硫酸溶液の定容量(250 mL)

V_3 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

- b) **硫酸**: JIS K 8951 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

- c) **0.25 mol/L 硫酸⁽¹⁾⁽²⁾**: 硫酸約 14 mL をあらかじめ水 100 mL を入れたビーカーに加えて良くかき混ぜ、水で 1000 mL とする。

標定: 0.25 mol/L 硫酸一定量⁽³⁾を三角フラスコ 200 mL~300 mL にとり、メチルレッドーメチレンブルー混合溶液数滴を加え、0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。次の式(1)によって 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量

を算出する。又は、次の式(2)によって 0.25 mol/L 硫酸のファクターを算出する。

$$\begin{aligned} &0.25 \text{ mol/L 硫酸 } 1 \text{ mL に相当する } 0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量 (B)} \\ &= V_4/V_5 \quad \dots\dots (1) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &0.25 \text{ mol/L 硫酸のファクター } (f_2) \\ &= (f_1 \times C_1 \times V_4/V_5)/(C_2 \times 2) \quad \dots\dots (2) \end{aligned}$$

V_4 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

V_5 : 標定に供した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)

- d) **ほう酸溶液(40 g/L)**: JIS K 8863 に規定するほう酸 40 g を水に溶かして 1000 mL とする。
- e) **分解促進剤⁽⁵⁾**: JIS K 8962 に規定する硫酸カリウムと JIS K 8983 に規定する硫酸銅(Ⅱ)五水和物⁽⁶⁾を 9 対 1 の割合で混合する。
- f) **水酸化ナトリウム溶液(200 g/L~500 g/L)⁽¹⁾**: JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム 100 g~250 g を水に溶かして 500 mL とする。
- g) **プロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8842 に規定するプロモチモールブルー 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 20 mL で溶かし、水で 100 mL とする。
- h) **メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- i) **メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8897 に規定するメチレンブルー 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- j) **メチルレッド-メチレンブルー混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) 2 容量に対し、メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL) 1 容量を加える。
- k) **ブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)**: JIS K 8840 に規定するブロムクレゾールグリーン 0.5 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- l) **メチルレッド-ブロムクレゾールグリーン混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) に同量のブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)を加える。
- m) **熱りん酸塩溶液**: JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウム 3.63 g 及び JIS K 9020 に規定するりん酸水素二ナトリウム 5.68 g を水 1000 mL に溶かす⁽⁷⁾。使用に際して、沸騰するまで加熱する(熱緩衝液)。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 肥料分析法(1992年版)の標準硫酸液 0.5 M(1/2 硫酸)溶液に対応する。

(3) 5 mL~10 mL

(4) 青紫色から暗青色を経て灰緑色になった時を終点とする。

(5) 錠剤が市販されている。

(6) 必要に応じて粉末にする。

(7) pH 7.0±pH 0.2

備考 1. (2) a) の 0.1 mol/L ~ 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液又は 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いることもできる。

備考 2. (2) c) の 0.25 mol/L 硫酸に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.25 mol/L 硫酸を用いることもできる。

(3) **器具及び装置** 器具及び装置は、次のとおりとする。

a) **水浴:** 水を沸騰させることができるもの。

b) **水蒸気蒸留装置**

c) **分解フラスコ:** 水蒸気蒸留装置に連結できるケルダールフラスコ

d) **蒸留フラスコ:** 水蒸気蒸留装置に連結できるケルダールフラスコ又は丸底フラスコ

(4) **試験操作**

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

a) 分析試料⁽⁸⁾ 1.00 g をはかりとり、トールビーカー 300 mL に入れる。

b) 熱りん酸塩溶液 100 mL を加え、静かにかき混ぜる。

c) トールビーカーを時計皿で覆い、沸騰水浴中で 10 分ごとにかき混ぜながら 30 分間加熱する。

d) 直ちにろ紙 3 種でろ過し、容器を熱りん酸塩溶液 100 mL で不溶解物を全てろ紙上に移し入れ、更に熱水で不溶解物を洗浄する。

注(8) 分析用試料は**備考 3**により調製する。

備考 3. 目開き 850 μ m のふるいを通過するまで、試験品を乳鉢及び乳棒を用いて押し砕く。

(4.2) **ケルダール分解** 分解は、次のとおり行う。

a) (4.1) d) の不溶解物をろ紙ごとを分解フラスコ 300 mL ~ 500 mL に入れる。

b) 分解促進剤 5 g ~ 10 g を加え、更に硫酸 20 mL ~ 40 mL を加えて振り混ぜ、穏やかに加熱する。

c) 泡が生じなくなつてから硫酸の白煙が発生するまで加熱する。

d) 有機物が完全に分解するまで強熱する⁽⁹⁾。

e) 放冷後、少量の水を加えて良く振り混ぜ、水で全量フラスコ 250 mL ~ 500 mL に移し入れ⁽¹⁰⁾、更に振り混ぜる。

f) 放冷後、標線まで水を加え、分解液とする。

注(9) 溶液の色が変化しなくなつてから、更に 2 時間以上加熱する。

(10) 測定で試料溶液を全量使用する場合は、全量フラスコに移し入れる操作は必要ない。

(4.3) **蒸留** 蒸留は、次のとおり行う。具体的な蒸留操作は、測定に使用する水蒸気蒸留装置の操作方法による。

a) 0.25 mol/L 硫酸の一定量⁽¹¹⁾を受器⁽¹²⁾にとり、メチルレッド-メチレンブルー混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。又は、ほう酸溶液(40 g/L)の一定量⁽¹¹⁾を受器⁽¹²⁾にとり、メチルレッド-ブロムクレゾールグリーン混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。

- b) 分解液の一定量を蒸留フラスコ 300 mL にとり、水酸化ナトリウム溶液(200 g/L～500 g/L) 適量⁽¹³⁾を加え、この蒸留フラスコを水蒸気蒸留装置に速やかに連結する。
- c) 水蒸気を蒸留フラスコに送り、蒸留フラスコ内の溶液を加熱し、留出速度 5 mL/min～7 mL/min で蒸留を行う。
- d) 120 mL～160 mL が留出したら蒸留を止める。
- e) 受器内の溶液と接した水蒸気蒸留装置の部分を少量の水で洗い、洗液を留出液と合わせる。

注(11) 5 mL～20 mL

- (12) 受器は水蒸気蒸留装置の留出液の出口を 0.25 mol/L 硫酸又はほう酸溶液(40 g/L)に浸せる三角フラスコ 200 mL～300 mL 又はビーカー200 mL～300 mL を用いる。
- (13) 溶液を強アルカリ性にするために十分な量。青色が生ずる。

(4.4) **測定** 測定は、次のとおり行う。

(4.4.1) (4.3)で 0.25 mol/L 硫酸を用いた場合

- a) 留出液を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。
- b) 次の式によって分析試料中の熱緩衝液不溶性窒素を算出する。
- c) 別途 4.1.1 により測定した窒素全量(T-N)から熱緩衝液不溶性窒素を差し引いて熱緩衝液可溶性窒素を求める⁽¹⁴⁾。

分析試料中の熱緩衝液不溶性窒素(% (質量分率))

$$= (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (14.007/W_2) \times (100/1000)$$

$$= (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (1.4007/W_2)$$

B: 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量

*V*₆: (4.2) a)において受器にとった 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

*V*₇: 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

*C*₁: 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

*f*₁: 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター

*V*₈: (4.2) f)における分解液の定容量(mL)

*V*₉: (4.3) b)において蒸留に供した抽出液の分取量(mL)

*W*₂: 分析試料の質量(g)

注(14) 窒素全量(T-N)及び熱緩衝液不溶性窒素は数値の丸めを実施しない生データを用いる。

(4.4.2) (4.3)でほう酸溶液(40 g/L)を用いた場合

- a) 留出液を 0.25 mol/L 硫酸で溶液の色がうすい紅色⁽¹⁵⁾になるまで滴定する。
- b) 次の式によって分析試料中の熱緩衝液不溶性窒素を算出する。
- c) 別途 4.1.1 により測定した窒素全量(T-N)から熱緩衝液不溶性窒素を差し引いて熱緩衝液可溶性窒素を求める。

分析試料中の熱緩衝液不溶性窒素(% (質量分率))

$$= V_{10} \times C_2 \times 2 \times f_2 \times (V_{11}/V_{12}) \times (14.007/W_2) \times (100/1000)$$

$$= V_{10} \times C_2 \times f_2 \times (V_{11}/V_{12}) \times (2.8014/W_2)$$

V_{10} : 滴定に要した 0.25 mol/L 硫酸の容量 (mL)

C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度 (0.25 mol/L)

f_2 : 0.25 mol/L 硫酸のファクター

V_{11} : (4.2)f)における分解液の定容量 (mL)

V_{12} : (4.3)b)において蒸留に供した抽出液の分取量 (mL)

W_2 : 分析試料の質量 (g)

注(15) 緑色からうすい紅色になった時を終点とする。

備考 4. 自動滴定装置を用いて(2)a)標定、(2)c)標定及び(4.4)の滴定操作を実施することができる。滴定プログラム及び終点判定パラメーターの設定並びに受器等の容器は、使用する自動滴定装置の仕様及び操作方法による。

参考文献

- 1) 越野正義: 第二改訂詳解肥料分析法, p.68~69, 養賢堂, 東京 (1988)
- (5) 熱緩衝液可溶性窒素試験法フローシート メチロール尿素重合肥料中の熱緩衝液可溶性窒素試験法のフローシートを次に示す。

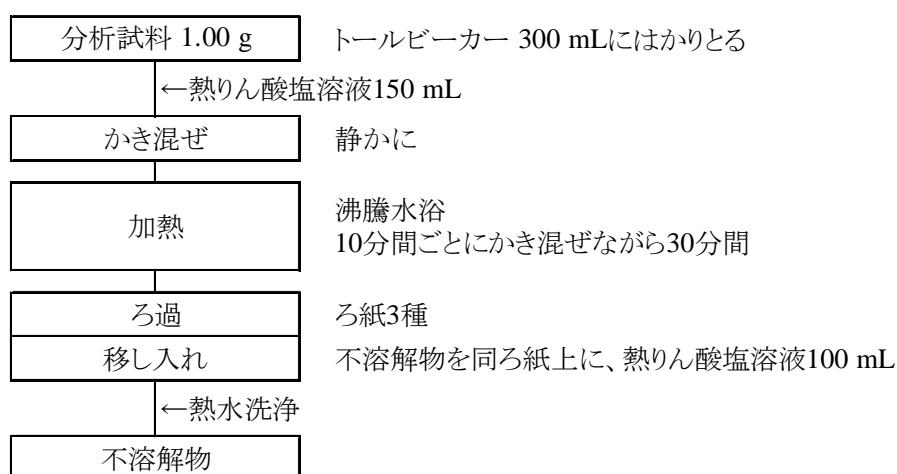


図1 メチロール尿素重合肥料中の熱緩衝液可溶性窒素試験法フローシート (抽出操作)

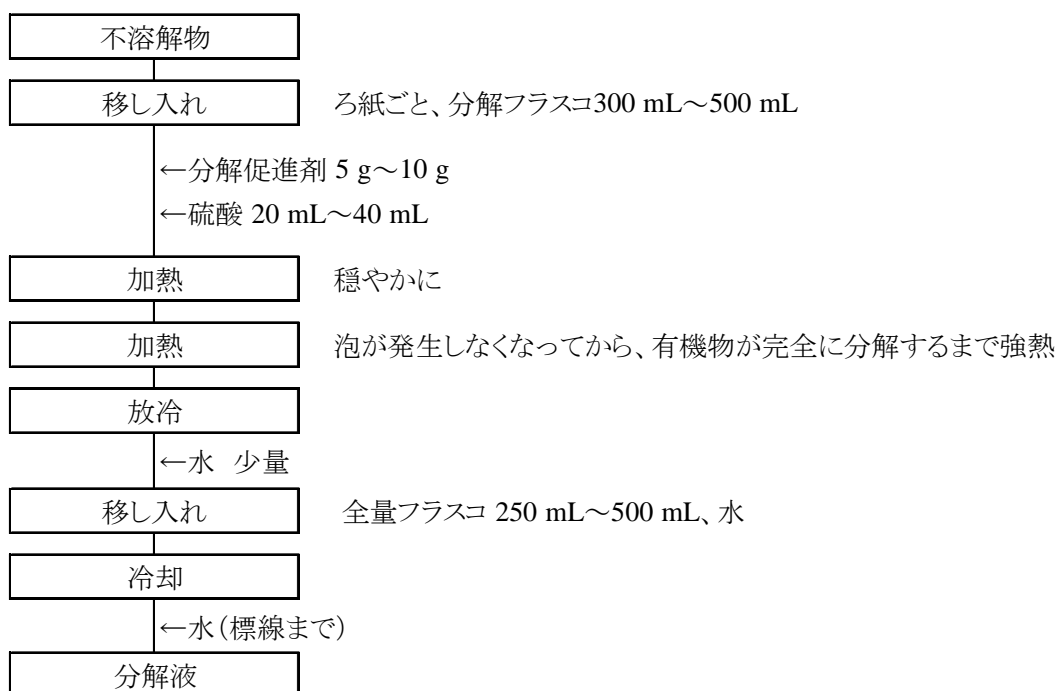


図2 メチロール尿素重合肥料中の熱緩衝液可溶性窒素試験法フローシート
(ケルダール分解操作)

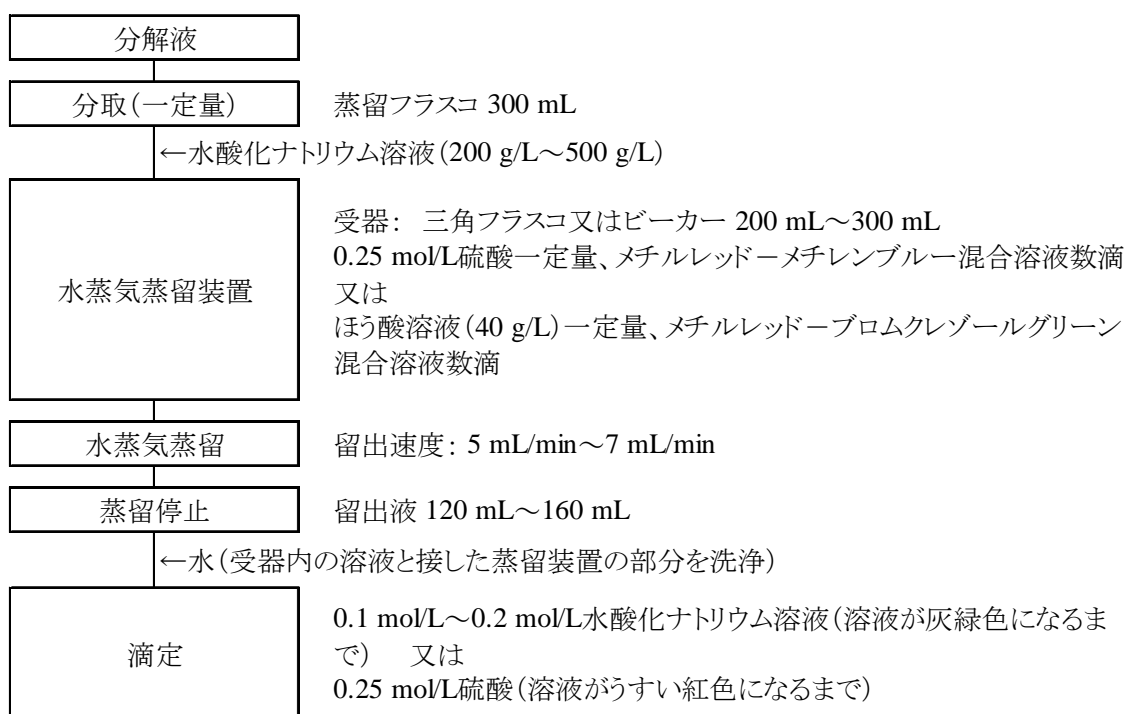


図3 メチロール尿素重合肥料中の熱緩衝液可溶性窒素試験法フローシート
(蒸留及び測定操作)

6.7 窒素の活性係数

6.7.a 緩衝液法

(1) 概要

この試験法はホルムアルデヒド加工尿素肥料に適用する。この試験法の分類は Type A (Def-M) であり、その記号は 6.7.a-2017 又は AI-N.a-1 とする。

分析試料に水を加えて冷水可溶性窒素を溶離し、不溶解物を硫酸カリウム及び硫酸銅(Ⅱ)五水和物及び硫酸を加え、ケルダール法で前処理して冷水不溶性窒素をアンモニウムイオンにし、水酸化ナトリウム溶液を加えて水蒸気蒸留する。分離したアンモニアを 0.25 mol/L 硫酸で捕集し、余剰の硫酸を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で(中和)滴定し、分析試料中の冷水不溶性窒素を求める。又は、分離したアンモニアをほう酸溶液で捕集し、アンモニウムイオンを 0.25 mol/L 硫酸で(中和)滴定し、分析試料中の冷水可溶性窒素を求める。別途、熱りん酸塩溶液(熱緩衝液)を分析試料に加えて熱緩衝液可溶性窒素を溶離し、以下同様の操作を行って分析試料中の熱緩衝液不溶性窒素を求める。冷水不溶解物から熱緩衝液不溶性窒素を差し引いた値を冷水不溶解物で除して窒素の活性係数を算出する。

(2) 試薬 試薬は、次による。

a) **0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液⁽¹⁾**: 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり、冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし、密栓して 4～5 日間放置する。その上澄み液 5.5 mL～11 mL を共栓保存容器にとり、水 1000 mL を加える。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質のアミド硫酸をデンシケーター中に 2 kPa 以下で約 48 時間放置して乾燥した後、約 2.5 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。少量の水で溶かし、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、標線まで水を加える⁽¹⁾。この液一定量を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、指示薬としてプロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL) 数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が緑色になるまで滴定する。次の式によって 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクターを算出する。

$$\begin{aligned} &0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター}(f_1) \\ &= (W_1 \times A \times 0.01/97.095) \times (V_1/V_2) \times (1000/V_3) \times (1/C_1) \end{aligned}$$

W_1 : 採取したアミド硫酸の質量(g)

A : アミド硫酸の純度(%(質量分率))

V_1 : 分取したアミド硫酸溶液の容量(mL)

V_2 : アミド硫酸溶液の定容量(250 mL)

V_3 : 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

b) **硫酸**: JIS K 8951 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

c) **0.25 mol/L 硫酸⁽¹⁾⁽²⁾**: 硫酸約 14 mL をあらかじめ水 100 mL を入れたビーカーに加えて良くかき混ぜ、水で 1000 mL とする。

標定: 0.25 mol/L 硫酸一定量⁽³⁾を三角フラスコ 200 mL～300 mL にとり、メチルレッドーメチレンブルー混合溶液数滴を加え、0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。

次の式(1)によって0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量を算出する。又は、次の式(2)によって0.25 mol/L 硫酸のファクターを算出する。

$$\begin{aligned} & \text{0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(B)} \\ & = V_4/V_5 \quad \dots\dots (1) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \text{0.25 mol/L 硫酸のファクター}(f_2) \\ & = (f_1 \times C_1 \times V_4/V_5)/(C_2 \times 2) \quad \dots\dots (2) \end{aligned}$$

V_4 : 滴定に要した 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)

V_5 : 標定に供した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

C_1 : 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)

C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)

- d) **ほう酸溶液(40 g/L)**: JIS K 8863 に規定するほう酸 40 g を水に溶かして 1000 mL とする。
- e) **分解促進剤⁽⁵⁾**: JIS K 8962 に規定する硫酸カリウムと JIS K 8983 に規定する硫酸銅(Ⅱ)五水和物⁽⁶⁾を 9 対 1 の割合で混合する。
- f) **水酸化ナトリウム溶液(200 g/L～500 g/L)⁽¹⁾**: JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム 100 g～250 g を水に溶かして 500 mL とする。
- g) **プロモチモールブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8842 に規定するプロモチモールブルー 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 20 mL で溶かし、水で 100 mL とする。
- h) **メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- i) **メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL)**: JIS K 8897 に規定するメチレンブルー 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- j) **メチルレッドーメチレンブルー混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) 2 容量に対し、メチレンブルー溶液(0.1 g/100 mL) 1 容量を加える。
- k) **ブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)**: JIS K 8840 に規定するブロムクレゾールグリーン 0.5 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かす。
- l) **メチルレッドーブロムクレゾールグリーン混合溶液**: メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL) に同量のブロムクレゾールグリーン溶液(0.5 g/100 mL)を加える。
- m) **熱りん酸塩溶液**: JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウム 1.43 g 及び JIS K 9020 に規定するりん酸水素二カリウム 9.10 g を水 1000 mL に溶かす⁽⁷⁾。使用に際して、沸騰するまで加熱する(熱緩衝液)。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 肥料分析法(1992年版)の標準硫酸液 0.5 M(1/2 硫酸)溶液に対応する。

(3) 5 mL～10 mL

(4) 青紫色から暗青色を経て灰緑色になった時を終点とする。

(5) 錠剤が市販されている。

(6) 必要に応じて粉末にする。

(7) pH 7.5±pH 0.2

備考 1. (2) a) の 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液又は 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いることもできる。

備考 2. (2) c) の 0.25 mol/L 硫酸に換えて、ISO/IEC 17025 対応の 0.25 mol/L 硫酸を用いることもできる。

(3) **器具及び装置** 器具及び装置は、次のとおりとする。

a) **水浴:** 水を沸騰させることができるもの。

b) **水蒸気蒸留装置**

c) **分解フラスコ:** 水蒸気蒸留装置に連結できるケルダールフラスコ

d) **蒸留フラスコ:** 水蒸気蒸留装置に連結できるケルダールフラスコ又は丸底フラスコ

(4) **試験操作**

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。(4.1.1) f) 及び(4.1.2) d) の不溶解物をそれぞれ(4.2) **ケルダール分解** に供する。

(4.1.1) **冷水による抽出**

a) 分析試料⁽⁸⁾1.00 g をはかりとり、ビーカー50 mL に入れる。

b) 少量の JIS K 8101 に規定するエタノールを加えて潤し、25 °C±2 °C の水 20 mL を加え、かき混ぜる。

c) 5 分間ごとにかき混ぜながら 15 分間放置する。

d) 上澄み液をろ紙 2 種でろ過する。

e) 不溶解物を 25 °C±2 °C の水で 5 回洗浄し、上澄み液をろ過する。

f) 25 °C±2 °C の水で不溶解物を全てろ紙上に移し入れ、更に同温度の水で不溶解物をろ液が 250 mL になるまで洗浄する。

注(8) 分析用試料は**備考 3** により調製する。

備考 3. 目開き 850 µm のふるいを通過するまで、試験品を乳鉢、乳棒等を用いて押し砕く。

(4.1.2) **熱りん酸塩溶液による抽出**

a) 冷水不溶解物窒素 0.12 g 相当量の分析試料⁽⁸⁾をはかりとり、トールビーカー200 mL に入れる。

b) 熱りん酸塩溶液 100 mL を加え、かき混ぜる。

c) トールビーカーを時計皿で覆い、沸騰水浴中で 10 分ごとにかき混ぜながら 30 分間加熱する。

d) 直ちにろ紙 2 種でろ過し⁽⁹⁾、容器を沸騰した水で不溶解物を全てろ紙上に移し入れ、更に沸騰した水 100 mL で不溶解物を洗浄する。

注(9) ろ過操作に 4 分間以上の時間を要した場合は、新たに**備考 4** により抽出操作を実施する。

備考 4. (4.1.2) a)～c) の操作を実施した後、けい藻土 1 g を加えてかき混ぜ、(4.1.2) d) の操作を実施する。

(4.2) **ケルダール分解** 分解は、次のとおり行う。

- a) (4.1.1)f)及び(4.1.2)d)の不溶解物をろ紙ごとをそれぞれの分解フラスコ 300 mL～500 mL に入れる。
- b) 分解促進剤 5 g～10 g を加え、更に硫酸 20 mL～40 mL を加えて振り混ぜ、穏やかに加熱する。
- c) 泡が生じなくなつてから硫酸の白煙が発生するまで加熱する。
- d) 有機物が完全に分解するまで強熱する⁽¹⁰⁾。
- e) 放冷後、少量の水を加えて良く振り混ぜ、水で全量フラスコ 250 mL～500 mL に移し入れ⁽¹¹⁾、更に振り混ぜる。
- f) 冷却した後、標線まで水を加え、分解液とする。

注(10) 溶液の色が変化しなくなつてから、更に2時間以上加熱する。

(11) 測定で試料溶液を全量使用する場合は、全量フラスコに移し入れる操作は必要ない。

(4.3) 蒸留 蒸留は、次のとおり行う。具体的な蒸留操作は、測定に使用する水蒸気蒸留装置の操作方法による。

- a) 0.25 mol/L 硫酸の一定量⁽¹²⁾を受器⁽¹³⁾にとり、メチルレッドーメチレンブルー混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。又は、ほう酸溶液(40 g/L)の一定量⁽¹²⁾を受器⁽¹³⁾にとり、メチルレッドーブロムクレゾールグリーン混合溶液数滴を加え、この受器を水蒸気蒸留装置に連結する。
- b) 分解液の一定量を蒸留フラスコ 300 mL にとり、水酸化ナトリウム溶液(200 g/L～500 g/L)適量⁽¹⁴⁾を加え、この蒸留フラスコを水蒸気蒸留装置に速やかに連結する。
- c) 水蒸気を蒸留フラスコに送り、蒸留フラスコ内の溶液を加熱し、留出速度 5 mL/min～7 mL/min で蒸留を行う。
- d) 120 mL～160 mL が留出したら蒸留を止める。
- e) 受器内の溶液と接した水蒸気蒸留装置の部分を少量の水で洗い、洗液を留出液と合わせる。

注(12) 5 mL～20 mL

(13) 受器は水蒸気蒸留装置の留出液の出口を 0.25 mol/L 硫酸又はほう酸溶液(40 g/L)に浸せる三角フラスコ 200 mL～300 mL 又はビーカー200 mL～300 mL を用いる。

(14) 溶液を強アルカリ性にするために十分な量。青色が生ずる。

(4.4) 測定 測定は、次のとおり行う。

(4.4.1) (4.3)で 0.25 mol/L 硫酸を用いた場合

- a) 留出液を 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色⁽⁴⁾になるまで滴定する。
- b) 次の式(3)によって分析試料中の冷水不溶性窒素(N_1)及び熱緩衝液不溶性窒素(N_2)をそれぞれ算出する。
- c) 次の式(4)によって分析試料中の窒素の活性係数を求める⁽¹⁵⁾。

分析試料中の冷水不溶性窒素(N_1)又は熱緩衝液不溶性窒素(N_2)(% (質量分率))

$$\begin{aligned}
 &= (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (14.007/W_2) \times (100/1000) \\
 &= (B \times V_6 - V_7) \times C_1 \times f_1 \times (V_8/V_9) \times (1.4007/W_2) \quad \dots\dots (3)
 \end{aligned}$$

B : 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L～0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量

- V_6 : (4.2) a)において受器にとった 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)
 V_7 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量(mL)
 C_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度(mol/L)
 f_1 : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター
 V_8 : (4.2) f)における分解液の定容量(mL)
 V_9 : (4.3) b)において蒸留に供した抽出液の分取量(mL)
 W_2 : 分析試料の質量(g)

窒素の活性係数(%)

$$= ((N_1 - N_2) / N_1) \times 100 \quad \dots\dots (4)$$

N_1 : 冷水不溶性窒素(% (質量分率))

N_2 : 熱緩衝液不溶性窒素(% (質量分率))

注(15) 冷水不溶性窒素(N_1)又は熱緩衝液不溶性窒素(N_2)は数値の丸めを実施しない生データを用いる。

(4.4.2) (4.3)でほう酸溶液(40 g/L)を用いた場合

- a) 留出液を 0.25 mol/L 硫酸で溶液の色がうすい紅色⁽¹⁶⁾になるまで滴定する。
 b) 次の式(5)によって分析試料中の冷水不溶性窒素(N_1)及び熱緩衝液不溶性窒素(N_2)をそれぞれ算出する。
 c) (4.4.1)の式(4)によって分析試料中の窒素の活性係数を求める⁽¹⁴⁾。

分析試料中の冷水不溶性窒素(N_1)又は熱緩衝液不溶性窒素(N_2)(% (質量分率))

$$\begin{aligned}
 &= V_{10} \times C_2 \times 2 \times f_2 \times (V_{11} / V_{12}) \times (14.007 / W_2) \times (100 / 1000) \\
 &= V_{10} \times C_2 \times f_2 \times (V_{11} / V_{12}) \times (2.8014 / W_2) \quad \dots\dots (3)
 \end{aligned}$$

V_{10} : 滴定に要した 0.25 mol/L 硫酸の容量(mL)

C_2 : 0.25 mol/L 硫酸の設定濃度(0.25 mol/L)

f_2 : 0.25 mol/L 硫酸のファクター

V_{11} : (4.2) f)における分解液の定容量(mL)

V_{12} : (4.3) b)において蒸留に供した抽出液の分取量(mL)

W_2 : 分析試料の質量(g)

注(16) 緑色からうすい紅色になった時を終点とする。

備考 5. 自動滴定装置を用いて(2) a) 標定、(2) c) 標定及び(4.4)の滴定操作を実施することができる。滴定プログラム及び終点判定パラメーターの設定並びに受器等の容器は、使用する自動滴定装置の仕様及び操作方法による。

参考文献

1) 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法, p.68~69, 養賢堂, 東京 (1988)

(5) **窒素の活性係数試験法フローシート** ホルムアルデヒド加工尿素肥料の窒素の活性係数試験法のフローシートを次に示す。

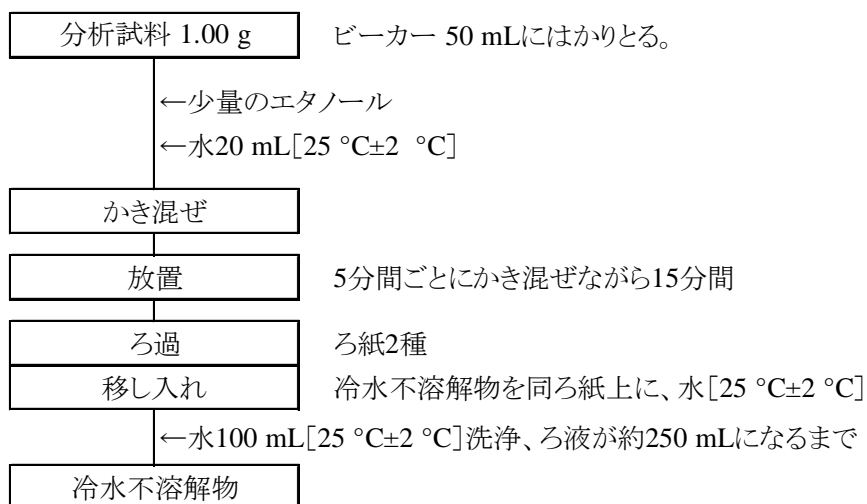


図1-1 ホルムアルデヒド加工尿素肥料の窒素の活性係数試験法フローシート
(冷水による抽出操作(4.1.1))

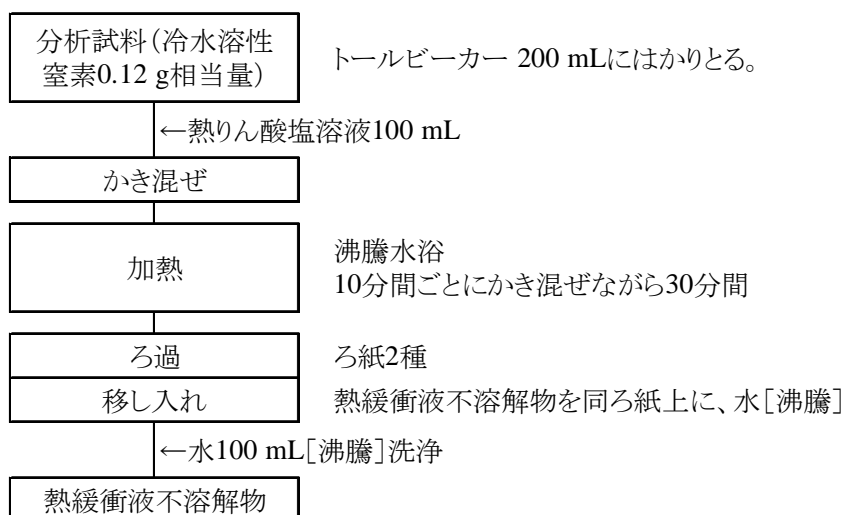


図1-2 ホルムアルデヒド加工尿素肥料の窒素の活性係数試験法フローシート
(熱りん酸塩溶液による抽出操作(4.1.2))

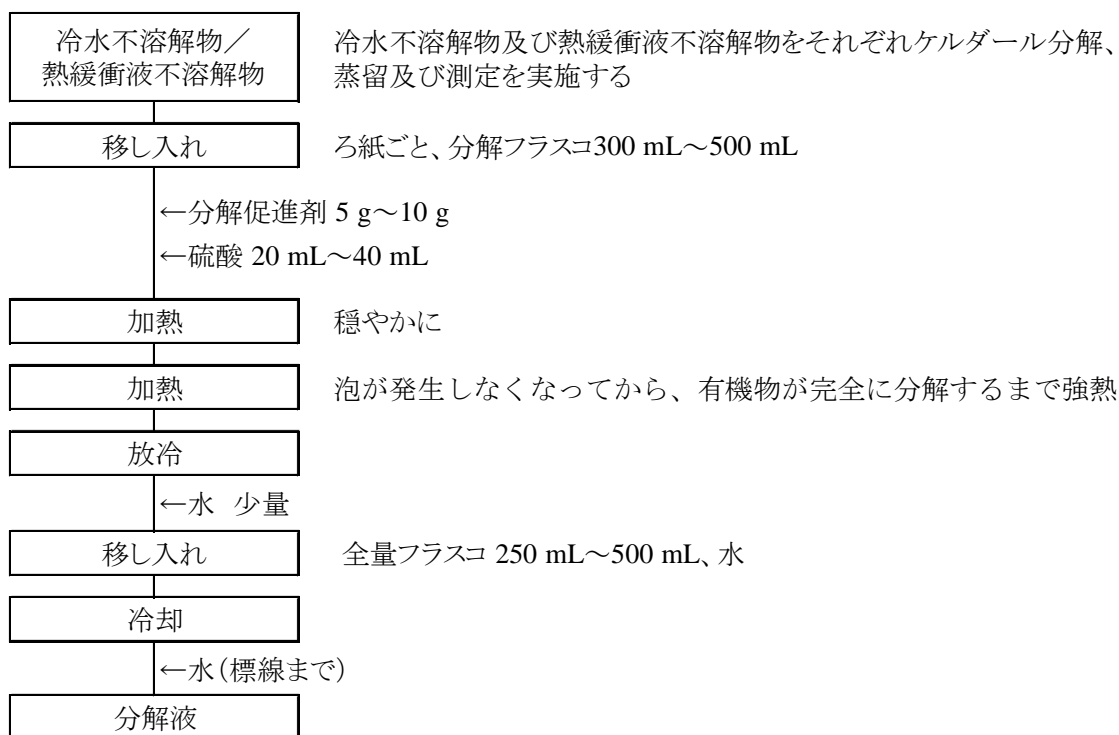


図2 ホルムアルデヒド加工尿素肥料の窒素の活性係数試験法フローシート
(ケルダール分解操作)

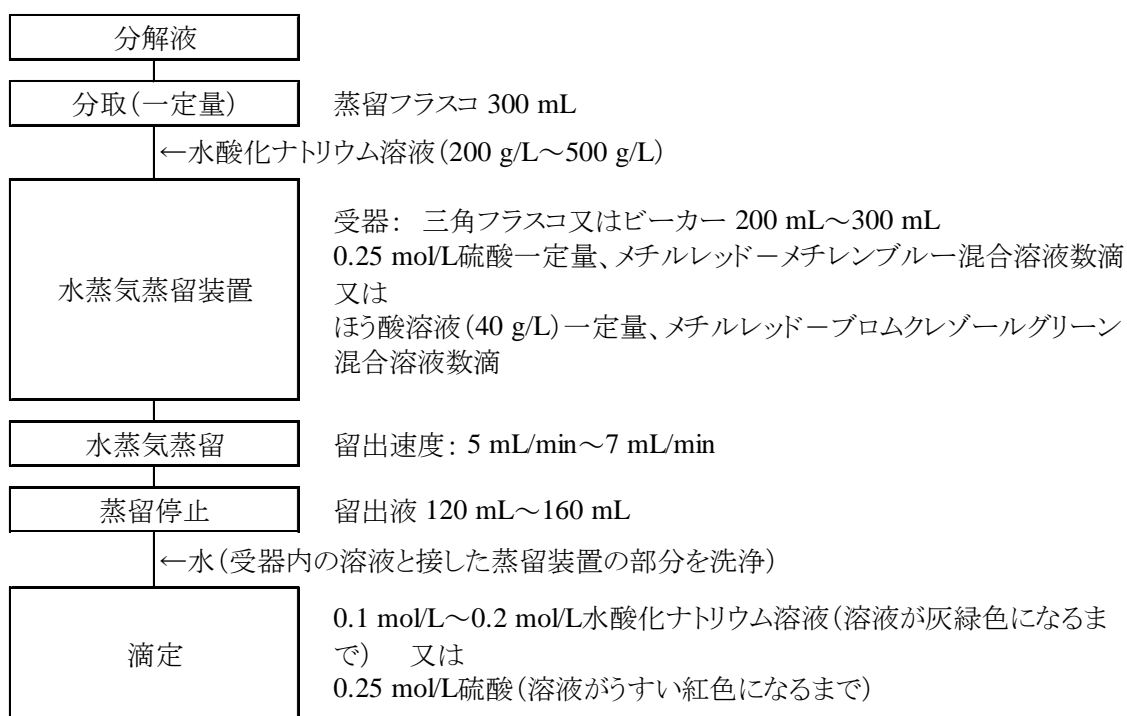


図3 ホルムアルデヒド加工尿素肥料の窒素の活性係数試験法フローシート
(蒸留及び測定操作)

6.8 初期溶出率

6.8.a 水中静置法

(1) 概要

この試験法は被覆肥料に適用する。この試験法の分類は Type A (Def-E) であり、その記号は 6.8.a-2017 又は SDR.a-1 とする。

初期溶出率は被覆肥料の速効性成分であり、対象成分として窒素全量(T-N)、アンモニア性窒素(A-N)、硝酸性窒素(N-N)、水溶性りん酸(W-P₂O₅)、水溶性加里(W-K₂O)及び水溶性苦土(W-MgO)がある。

試験品に水を加え、24 時間 30 °C の水中で保温静置し、対象成分の初期溶出量を求める。別途 4.1.1、4.1.2、4.1.3、4.2.4、4.3.3 又は 4.6.3 により該当する成分量を求める。対象成分の初期溶出量を該当する成分量で除して初期溶出率を算出する。

(2) 試薬 試薬は、次による。

- a) **窒素全量用試薬液**: 窒素全量を測定する場合 4.1.1 の各項の試薬。
- b) **アンモニア性窒素用試薬液**: アンモニア性窒素を測定する場合は 4.1.2 の各項の試薬。
- c) **硝酸性窒素用試薬液**: 硝酸性窒素を測定する場合は 4.1.3 の各項の試薬。
- d) **水溶性りん酸用試薬液**: 水溶性りん酸を測定する場合は 4.2.4 の各項の試薬。
- e) **水溶性加里用試薬液**: 水溶性加里を測定する場合は 4.3.3 の各項の試薬。
- f) **水溶性苦土用試薬液**: 水溶性苦土を測定する場合は 4.6.4 の各項の試薬。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) **恒温器**: 30 °C ± 1 °C もの。
- b) **窒素全量**: 窒素全量を測定する場合 4.1.1 の各項の器具及び装置。
- c) **アンモニア性窒素**: アンモニア性窒素を測定する場合は 4.1.2 の各項の器具及び装置。
- d) **硝酸性窒素**: 硝酸性窒素を測定する場合は 4.1.3 の各項の器具及び装置。
- e) **水溶性りん酸**: 水溶性りん酸を測定する場合は 4.2.4 の各項の器具及び装置。
- f) **水溶性加里**: 水溶性加里を測定する場合は 4.3.3 の各項の器具及び装置。
- g) **水溶性苦土**: 水溶性苦土を測定する場合は 4.6.4 の各項の器具及び装置。

(4) 試験操作

(4.1) 抽出 抽出は、次のとおり行う。

- a) 試験品 12.5 g をはかりとり、共栓付き三角フラスコ 300 mL に入れる⁽¹⁾。
- b) 30 °C ± 1 °C の水 250 mL を加え、30 °C ± 1 °C の恒温器に入れ、24 時間静置する⁽²⁾。
- c) ろ紙 3 種でろ過し⁽³⁾、ろ液を振り混ぜて試料溶液とする。

注(1) 粉碎操作を実施せず、均質化されていない試験品を用いるため、3～5 点併行で試験を実施し、定量値の信頼性を高めることが望ましい。

(2) 試験品が水中で振動すると初期溶出量が高く見積られるため、水は静かに加え、c) のろ過が終了するまで試料溶液を振り混ぜないこと。

(3) 不溶解物は三角フラスコに残すようにして、大部分の溶液をろ過する。

(4.2) 測定 対象成分の初期溶出量の測定は該当する a)～f) のそれぞれの項のとおり行う。なお、各成分の具体的な測定操作は対応する各項による。

- a) 窒素全量： 試料溶液の一定量をとり、4.1.1 の各項により窒素全量を定量し、初期溶出量とする。
- b) アンモニア性窒素： 試料溶液の一定量をとり、4.1.2 の各項によりアンモニア性窒素を定量し、初期溶出量とする。
- c) 硝酸性窒素： 試料溶液の一定量をとり、4.1.3 の各項により硝酸性窒素を定量し、初期溶出量とする。
- d) 水溶性りん酸： 試料溶液の一定量をとり、4.2.4 の各項により水溶性りん酸を定量し、初期溶出量とする。
- e) 水溶性加里： 試料溶液の一定量をとり、4.3.3 の各項により水溶性加里を定量し、初期溶出量とする。
- f) 水溶性苦土： 試料溶液の一定量をとり、4.6.4 の各項により水溶性苦土を定量し、初期溶出量とする。

(5) 初期溶出率の計算

- a) (4.2) で求めた対象成分の初期溶出量及び別途測定した⁽⁴⁾該当する成分量を用い、次の式によって初期溶出率(%)を算出する⁽⁵⁾。

初期溶出率(%)

$$= (C_1/C_2) \times 100$$

C₁: 対象成分の初期溶出量(%(質量分率))

C₂: 該当する成分量(%(質量分率))

注(4) 2.3 分析用試料の調製によって調製した分析用試料を用いて、4.1.1、4.1.2、4.1.3、4.2.4、4.3.3 又は4.6.4 により窒素全量(T-N)、アンモニア性窒素(A-N)、硝酸性窒素(N-N)、水溶性りん酸(W-P₂O₅)、水溶性加里(W-K₂O)又は水溶性苦土(W-MgO)を測定する。

(5) 初期溶出量及び該当する成分量は数値の丸めを実施しない生データを用いる。

参考文献

- 1) 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法，p.288~290，養賢堂，東京（1988）

(6) 初期溶出率試験法フローシート 被覆肥料の初期溶出率試験法のフローシートを次に示す。

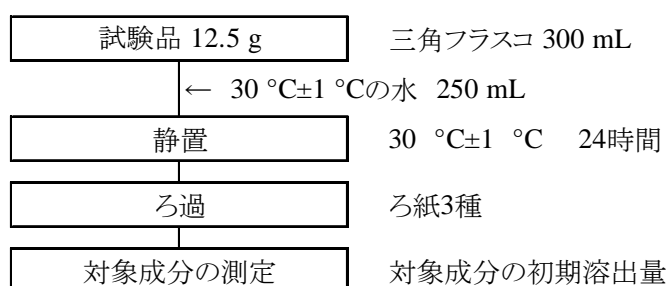


図 被覆肥料の初期溶出率試験法フローシート

6.9 腐植酸(酸不溶アルカリ可溶分)

6.9.a 重量法

(1) 概要

この試験法は腐植酸塩肥料に適用する。この試験法の分類は Type A (Def-M) であり、その記号は 6.9.a-2017 又は H-acid.a-1 とする。

分析試料に塩酸(1+9)を加えて酸溶解物を溶離し、不溶解物をろ過し、不溶解物の質量を測定し、分析試料中の酸不溶解物を求める。別途分析試料に塩酸(1+9)を加えて酸溶解物を溶離し、不溶解物に水酸化ナトリウム液(10 g/L)を加えてアルカリ溶解物を溶離し、不溶解物をろ過し、分析試料中の酸不溶アルカリ不溶解物を求める。酸溶解物から酸不溶アルカリ不溶解物を差し引き、腐植酸(酸不溶アルカリ可溶分)を算出する。

(2) 試薬 試薬は、次による。

- a) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- b) 水酸化ナトリウム: JIS K 8576 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

(3) 装置 装置は、次のとおりとする。

- a) 振とう機
- b) 乾燥器: 105 °C~110 °C に調節できるもの。
- c) るつぼ形ガラスろ過器: JIS R 3503 に規定するるつぼ形ガラスろ過器 1G4。予め 105 °C~110 °C の乾燥器で加熱した後、デシケーター中で放冷し、質量を 1 mg の桁まで測定しておく。
- d) 共栓はかり瓶⁽¹⁾: JIS R 3503 に規定する平形はかり瓶 50 mm×30 mm。予め 105 °C~110 °C の乾燥器で加熱乾燥した後、デシケーター中で放冷し、質量を 1 mg の桁まで測定しておく。

注(1) 飼料分析法・解説-2009-に記載されているアルミニウム製ひょう量皿を用いてもよい。

- (2) 共栓遠心沈殿管 100 mL を 30~40 回転/分で上下転倒して回転させられる回転振り混ぜ機を用いてもよい。

(4) 試験操作

(4.1) 酸不溶解物

(4.1.1) 抽出 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、共栓遠心沈殿管 100 mL に入れる。
- b) 塩酸(1+9) 50 mL を加え、振とう機を用いて⁽²⁾1 時間振り混ぜる。
- c) 遠心力約 1700×g で約 5 分間遠心分離し⁽³⁾、上澄み液を除去する⁽⁴⁾。
- d) 水を加えてかき混ぜ⁽⁵⁾、遠心力約 1700×g で約 5 分間遠心分離し⁽³⁾、上澄み液を除去する⁽⁴⁾。
- e) d) の操作を 3 回繰り返す。

注(2) 回転振り混ぜ機を使用する場合は、30~40 回転/分に調整する。

- (3) 半径 16.5 cm 及び回転数 3000 rpm で遠心力 1700×g 程度となる。
- (4) 駒込ピペット等を用いて取り除く。
- (5) ガラス棒を用いてかき混ぜ、ガラス棒に付着した不溶解物を水で洗浄し、洗浄液を遠心沈殿管に加える。

(4.1.2) **測定** 測定は、次のとおり行う。

- a) 水で(4.1.1)e)の不溶解物を全てるつぼ形ガラスろ過器中に移し入れ、減圧ろ過する。
- b) 不溶解物をるつぼ形ガラスろ過器とともに乾燥器に入れ、105℃～110℃で3時間加熱する。
- c) 加熱後、速やかにデシケーターに移して放冷する。
- d) 放冷後、るつぼ形ガラスろ過器をデシケーターから取り出し、その質量を1mgの桁まで測定する。

(4.2) 酸不溶－アルカリ不溶解物

(4.2.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料1gを1mgの桁まではかりとり、共栓遠心沈殿管100mLに入れる。
- b) 塩酸(1+9)50mLを加え、振とう機⁽²⁾を用いて⁽²⁾1時間振り混ぜる。
- c) 遠心力約1700×gで約5分間遠心分離し⁽³⁾、上澄み液を除去する⁽⁴⁾。
- d) 水を加えてかき混ぜ⁽⁵⁾、遠心力約1700×gで約5分間遠心分離し⁽³⁾、上澄み液を除去する⁽⁴⁾。
- e) d)の操作を3回繰り返す。
- f) 水酸化ナトリウム溶液(10g/L)50mLを加え、振とう機を用いて⁽²⁾1時間振り混ぜる。
- g) 遠心力約1700×gで約5分間遠心分離し⁽³⁾、上澄み液を除去する⁽⁴⁾。
- h) 水を加えてかき混ぜ⁽⁵⁾、遠心力約1700×gで約5分間遠心分離し⁽³⁾、上澄み液を除去する⁽⁴⁾。
- i) h)の操作を3回繰り返す。

(4.2.2) **測定** 測定は、次のとおり行う。

- a) 不溶解物を共栓はかり瓶とともに乾燥器に入れて加熱する⁽⁶⁾。
- b) 放冷後、不溶解物を共栓はかり瓶に移し替える。
- c) 不溶解物を共栓はかり瓶とともに乾燥器に入れ、105℃～110℃で3時間加熱する。
- d) 加熱後、共栓はかり瓶に蓋をし、速やかにデシケーターに移して放冷する。
- e) 放冷後、共栓はかり瓶をデシケーターから取り出し、その質量を1mgの桁まで測定する。

注(6) (4.2.2)b)の操作が可能になる程度の温度で乾燥する。

(5) 腐植酸の計算

- a) 次の式によって腐植酸を算出する。

$$\begin{aligned} & \text{腐植酸}(\%(\text{質量分率})) \\ & = (A_1/W_1) \times 100 - (A_2/W_2) \times 100 \quad \dots\dots (1) \end{aligned}$$

A_1 : (4.1.2)d)で測定した酸不溶解物の質量(g)

W_1 : (4.1.1)a)で採取した分析試料の質量(g)

A_2 : (4.2.2)e)で測定した酸不溶アルカリ不溶解物の質量(g)

W_2 : (4.2.1)a)で採取した分析試料の質量(g)

参考文献

1) 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法, p.316~317, 養賢堂, 東京 (1988)

(5) **腐植酸試験法フローシート** 腐植酸試験法のフローシートを次に示す。

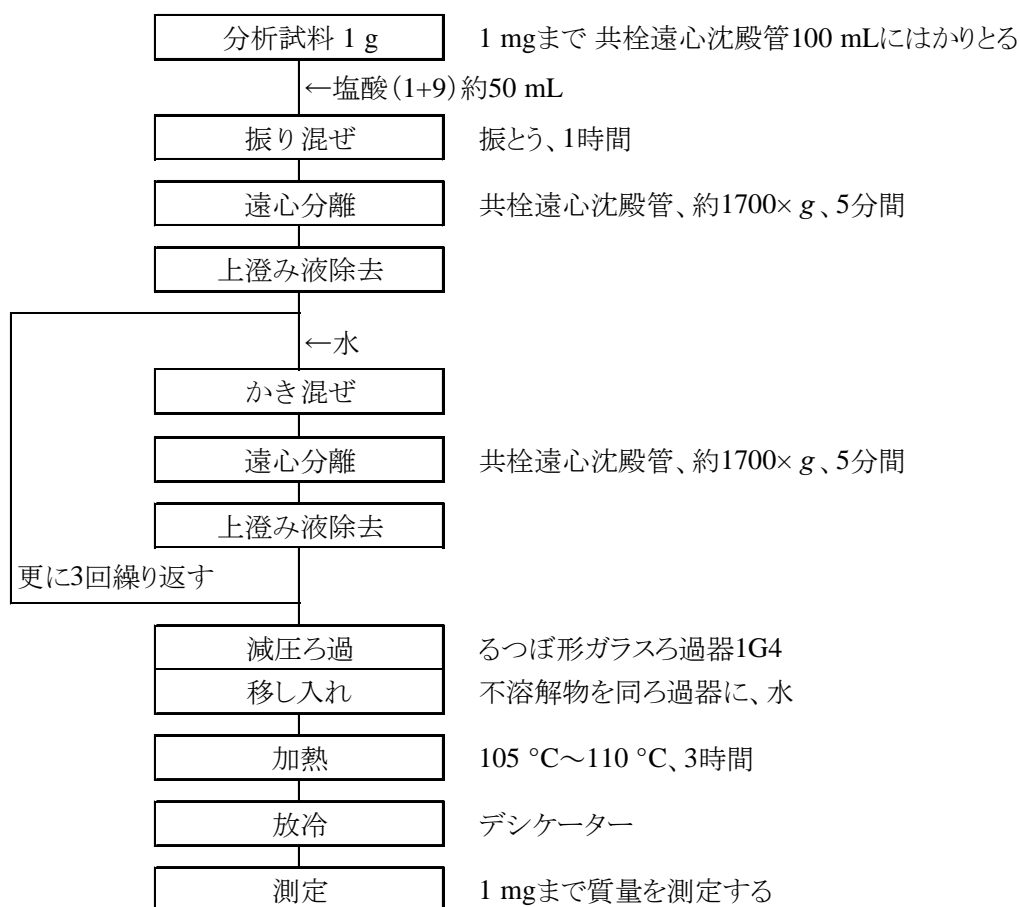


図1 腐植酸塩肥料中の腐植酸試験法フローシート
(酸不溶解物の試験操作(4.1))

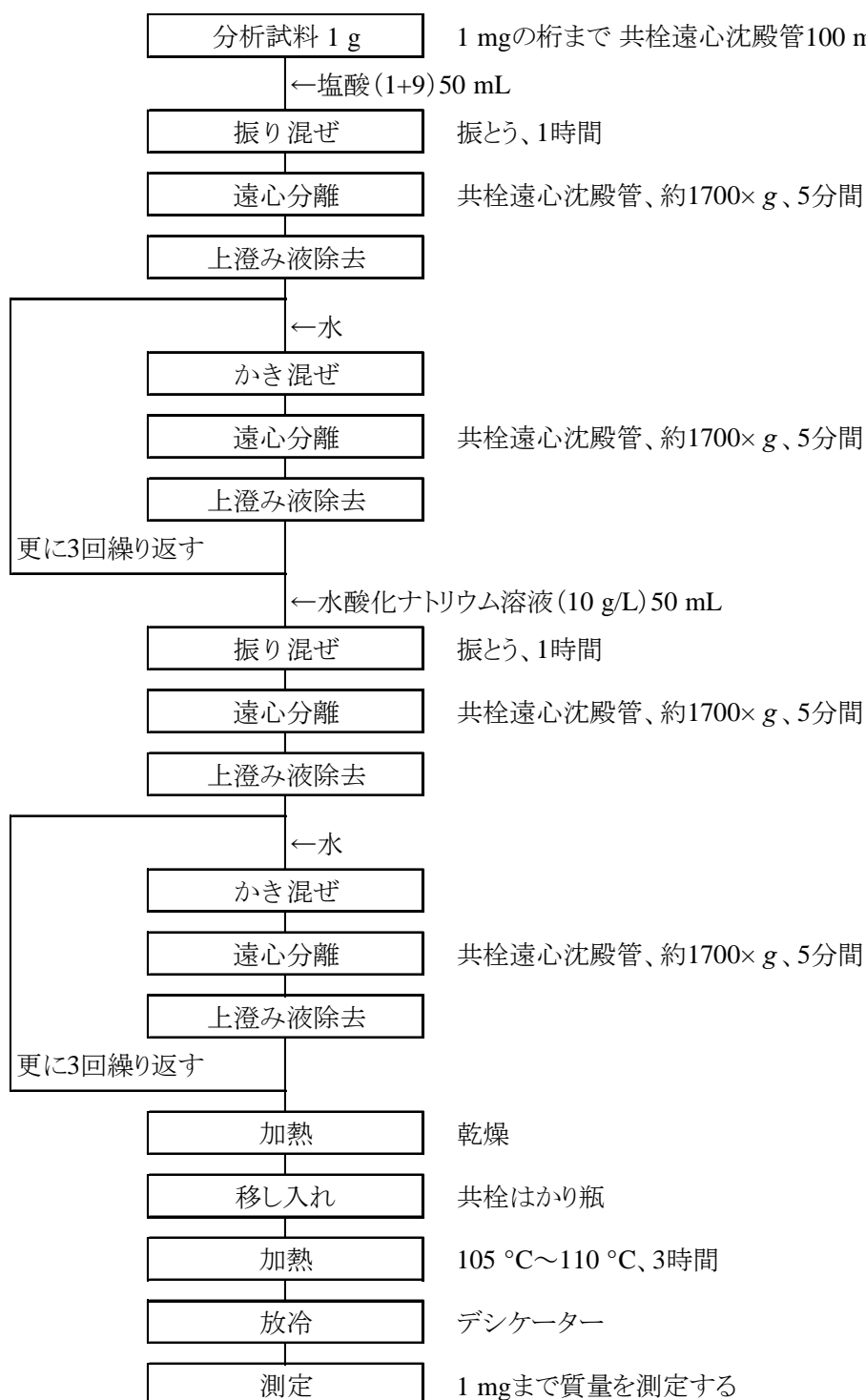


図2 腐植酸塩肥料中の腐植酸試験法フローシート
(酸不溶アルカリ不溶解物の試験操作(4.2))

6.10 硫酸

6.10.1 硫酸イオン

6.10.1.a イオンクロマトグラフ法

(1) 概要

この試験法は肥料に適用する。この試験法の分類は Type D であり、その記号は 6.10.1.a-2020 又は SO₄.a-1 とする。

分析試料に塩酸(1+35)を加えて硫酸イオンを抽出し、イオンクロマトグラフ(IC)に導入し、イオン交換カラムで分離した後、電気伝導度検出器で測定し、分析試料中の硫酸イオン(SO₄²⁻)を求める。なお、この試験法の性能は備考 1 に示す。

(2) 試薬等 試薬及び水は、次による。

- a) 水: JIS K 0557 に規定する A4 の水。
- b) 炭酸ナトリウム: JIS K 8625 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- c) 炭酸水素ナトリウム: JIS K 8622 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- d) 炭酸塩緩衝液⁽¹⁾⁽²⁾: 炭酸ナトリウム溶液 0.191 g 及び炭酸水素ナトリウム 0.143 g を水に溶かして 1000 mL とする。イオンクロマトグラフの溶離液に使用する場合は、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過する。
- e) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- f) 硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 1 mg/mL): 国家計量標準にトレーサブルな硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 1000 mg/L)。
- g) 硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 50 μg/mL)⁽¹⁾: 硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 1 mg/mL)の一定量を全量フラスコにとり、標線まで水を加える。
- h) 検量線用硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 2 μg/mL~5 μg/mL)⁽¹⁾: 硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 50 μg/mL)4 mL~10 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- i) 検量線用硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 0.2 μg/mL~1 μg/mL)⁽¹⁾: 検量線用硫酸イオン標準液(SO₄²⁻ 5 μg/mL)4 mL~20 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。

注(1) 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

(2) 炭酸塩緩衝液は、pH 6.9±pH 0.2 となる。炭酸塩緩衝液 1 L 中には、炭酸ナトリウム 1.8 mmol 及び炭酸水素ナトリウム 1.7 mmol を含む。

(3) 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

- a) 振とう機
- b) 遠心分離機: 1700×g で遠心分離可能なもの。
- c) イオンクロマトグラフ: JIS K 0127 に規定するイオンクロマトグラフで次の要件を満たすもの。
 - 1) カラム: 内径 4.0 mm 以上、長さ 7.5 mm、粒径 3.5 μm に第 4 級アンモニウム基又は第 4 級アルカノールアミン類を結合した多孔質粒子を充填したもの⁽²⁾。
 - 2) カラム槽: カラム槽温度を 25~45°C に調節できるもの。
 - 3) サプレッサー: 陽イオン交換膜又は樹脂を用いたものであること。
 - 4) 検出部: 電気伝導度検出器。

d) **メンブレンフィルター**: 孔径 0.45 μm 以下、親水性 PTFE 製

注(2) Shodex IC SI-90 4E 等の名称で市販されている。

(4) 試験操作

(4.1) **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

- a) 分析試料 1.00 g をはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mL に入れる。
- b) 塩酸(1+35) 100 mL を加え、振とう機を用いて約 300 往復/分(振幅 40 mm)で約 10 分間振とうする。
- c) 静置後、上澄み液を共栓遠心沈殿管 50 mL にとる⁽³⁾。
- d) 遠心力約 $1700 \times g$ で約 10 分間遠心分離し⁽⁴⁾、上澄み液を抽出液とする。
- e) 抽出液の一定量をとり、炭酸塩緩衝液で 100 倍に希釈する⁽⁵⁾⁽⁶⁾。
- f) メンブレンフィルター(孔径 0.45 μm 以下)でろ過し、試料溶液とする。

注(3) ポリプロピレン製等の容器で測定に影響しないものを用いてもよい。

- (4) ローター半径 16.5 cm 及び回転数 3000 rpm で遠心力 $1700 \times g$ 程度となる。
- (5) 検量線を越える場合には 100 倍以上で希釈する。
- (6) あらかじめ試料溶液がカラムの適用 pH 範囲内であることを確認すること。

(4.2) **測定** 測定は、サブレッサー法を用い JIS K 0127 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用するイオンクロマトグラフの操作方法による。

a) **イオンクロマトグラフの測定条件**: 測定条件の一例を以下に示す。これを参考にして設定する。

- 1) **カラム**: 第 4 級アンモニウム基を結合したポリビニルアルコール系多孔質粒子カラム(内径 4 mm、長さ 250 mm、粒径 9 μm)
- 2) **カラム槽温度**: 25 $^{\circ}\text{C}$
- 3) **溶離液**: 炭酸塩緩衝液
- 4) **流量**: 1.0 mL/min
- 5) **検出器**: 電気伝導度検出器

b) **検量線の作成**

- 1) 各検量線用標準液 20 μL をイオンクロマトグラフに注入し、電気伝導度のクロマトグラムを記録し、ピーク面積又はピーク高さを求める。
- 2) 各検量線用標準液の濃度と電気伝導度のピーク面積又はピーク高さとの検量線を作成する⁽⁷⁾。
検量線の作成は、試料の測定時に行う。

注(7) 検量線用標準液の濃度とピーク面積またはピーク高さとの関係が曲線になる場合は二次関数での検量線とする。

c) **試料の測定**

- 1) 試料溶液 20 μL を b) 1) と同様に操作する。
- 2) ピーク面積又はピーク高さから検量線より硫酸イオン濃度を求め、分析試料中の硫酸イオン(SO_4^{2-})を算

出する⁽⁸⁾。

注(8) 腐植酸加里肥料及びこれを含む肥料についてはピーク形状が変形している場合があるため、ピーク高さで算出すること。

備考 1. 真度の評価のため、調製肥料 6 点を用いて添加回収試験を行った結果、73 % (質量分率)、40 % (質量分率)、20 % (質量分率)、10 % (質量分率)、5 % (質量分率) 及び 1 % (質量分率) の硫酸イオンとしての添加レベルで平均回収率は 98.7 %、98.2 %、97.5 %、100.5 %、94.9 %、103.5 % であった。

精度の評価のため、重過りん酸石灰、硫酸苦土肥料、化成肥料、指定配合肥料及び石こうを用いて日を変えての反復試験の試験成績について一元配置分散分析を用いて解析し、中間精度及び併行精度を算出した結果を表に示す。

なお、この試験法の定量下限は 0.2 % (質量分率) 程度である。

表1 硫酸イオンの日を変えての反復試験成績の解析結果

試料名	反復試験 日数(T) ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	s_r ⁴⁾ (%) ³⁾	RSD_r ⁵⁾ (%)	$s_{I(T)}$ ⁶⁾ (%) ³⁾	$RSD_{I(T)}$ ⁷⁾ (%)
硫酸苦土肥料	5	56.8	0.5	0.8	0.7	1.3
石こう	5	47.2	0.4	0.8	0.8	1.8
指定配合肥料	5	27.3	0.2	0.8	0.5	1.7
化成肥料	5	9.09	0.03	0.3	0.10	1.2
重過りん酸石灰	5	3.62	0.02	0.5	0.08	2.1

1) 2点併行試験を実施した試験日数

2) 平均値 (試験日数(T) × 併行試験数(2))

3) 質量分率

4) 併行標準偏差

5) 併行相対標準偏差

6) 中間標準偏差

7) 中間相対標準偏差

(5) 試験法フローシート 肥料中の硫酸イオン試験法のフローシートを次に示す。

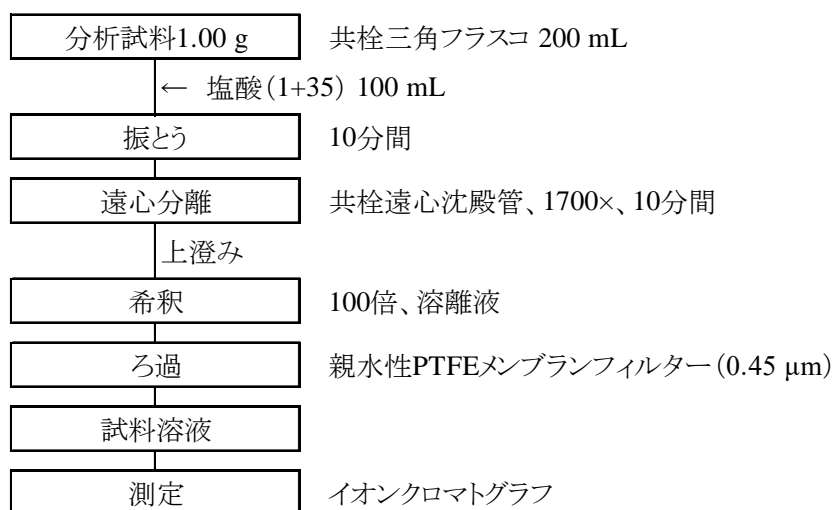
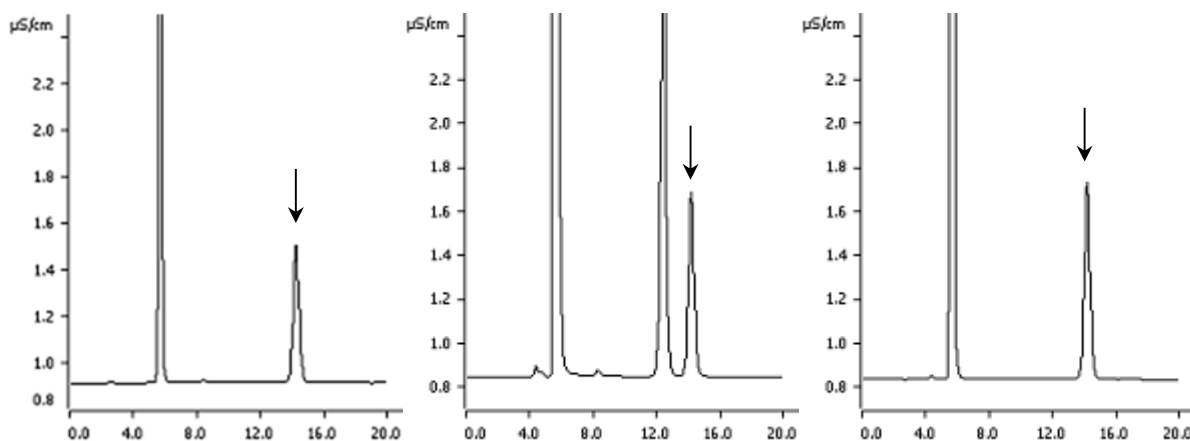


図1 肥料中の硫酸イオン試験法フローシート

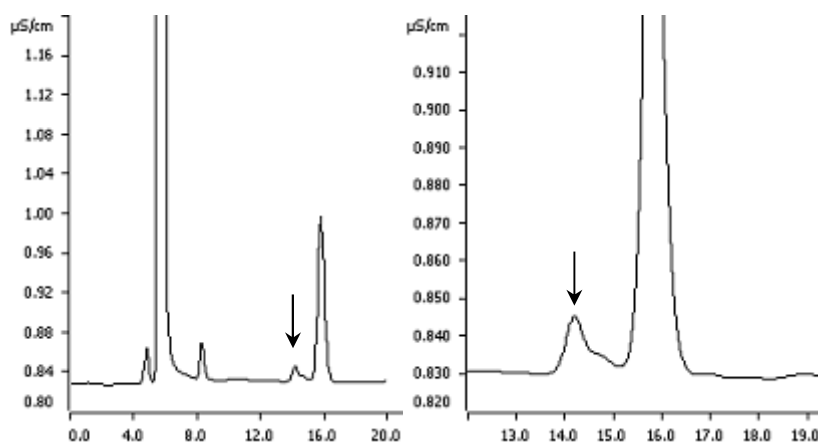
参考 試料溶液の IC クロマトグラムを次に示す。



(A) 硫酸アンモニアの
クロマトグラム

(B) 化成肥料の
クロマトグラム

(C) 石こうの
クロマトグラム



(D) 腐植酸加里肥料の
クロマトグラム

(E) 腐植酸加里肥料の
クロマトグラム(拡大)

参考図 硫酸イオンの IC クロマトグラム
(矢印: 硫酸イオン(SO₄²⁻))

6.10.2 硫酸塩

肥料分析法(1992年版)の5.29.2 硫酸塩の分析法による。

参考文献

- 1) 農林水産省農業環境技術研究所：肥料分析法(1992年版), p.145~147, 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 2) 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法, p.285~286, 養賢堂, 東京(1988)

6.11 二酸化炭素

肥料分析法(1992年版)の5.20 二酸化炭素の分析法による。

参考文献

- 1) 農林水産省農業環境技術研究所：肥料分析法(1992年版), p.121~123, 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 2) 越野正義：第二改訂詳解肥料分析法, p.259~261, 養賢堂, 東京(1988)