

6 窒素試験法の性能評価

— 共同試験成績 —

平田絵理香¹, 添田英雄², 吉村英美², 八木啓二²,

キーワード アンモニア性窒素, 硝酸性窒素, 蒸留法, フェノール硫酸法, 共同試験

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. FAMIC では, 肥料取締法令で定められた肥料の主要な成分^{2~4)}に係る定量及び量の算出方法を定めた試験方法(以下, 「公定法」という.)^{4~6)}について, その性能を調査しつつ, 公定法との整合性に配慮しながら肥料等試験法⁷⁾に収載し, ホームページに掲載している.

肥料等試験法⁷⁾に収載されたアンモニア性窒素の蒸留法及び硝酸性窒素のフェノール硫酸法では, 加藤らが単一試験室における妥当性確認 (SLV: Single Laboratory Validation) を実施^{8, 9)}している. 加えて, 室間再現精度は既報の外部精度試験等の結果によって, 複数試験室における妥当性確認 (MLV: Multi Laboratory Validation) を実施⁸⁾し, 暫定的に評価していた.

今回, 国際的に標準とされる複数試験室の妥当性確認 (HCV: Harmonized Collaborative Validation) 方法による評価を行うため, 主要な成分の窒素 (N) として規定²⁾されているアンモニア性窒素及び硝酸性窒素の共同試験を実施したので, その概要を報告する.

なお, 本共同試験において調製した共同試験用試料の均質性試験は, 農林水産省の「平成 30 年度肥料中の主成分の均質性確認調査委託事業 (肥料中の窒素成分及びりん酸成分の分析)」(以下, 「委託事業」という)¹⁰⁾で実施された.

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料の調製

肥料として流通している塩化アンモニア, 硫酸アンモニア, 硝酸アンモニア及びアンモニア性窒素又は硝酸性窒素を含む化成肥料 (7 種類) を目開き 500 μm の網ふるいを通過するまで粉碎・混合した. このうち, 試験項目ごとに 5 種類の肥料を選択した. アンモニア性窒素の試料として塩化アンモニア及び硫酸アンモニアを各約 0.95 g, 3 種類の化成肥料を各約 1.9 g, 硝酸性窒素の試料として硝酸アンモニア及び 4 種類の化成肥料を各約 1.9 g, それぞれねじ式ポリ容器に肥料の種類ごとに 44 個充填して密封した.

同じ試験項目に使用する試料 220 個 (44 個 \times 5 種類) に乱数表を用いてランダムに番号を貼付し, 試料を識別した. これらの識別した各種類の試料から乱数表を用いて無作為に 10 個ずつ抜き取り, 試験項目ごとに 50 個 (10 個 \times 5 種類) を均質性試験用試料とした. 次に, 試験項目ごとに 5 種類肥料グループから無作為に 2 個

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター (現) 肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

ずつ抽出したものを一試験室に送付する共同試験用試料とし、参加試験室数に必要な試料を準備した。

均質性試験用試料は委託事業¹⁰⁾の受託分析機関に送付した。均質性試験により、試料の均質性が確認された後、共同試験用試料を共同試験参加試験室に送付した。

2) 装置及び器具

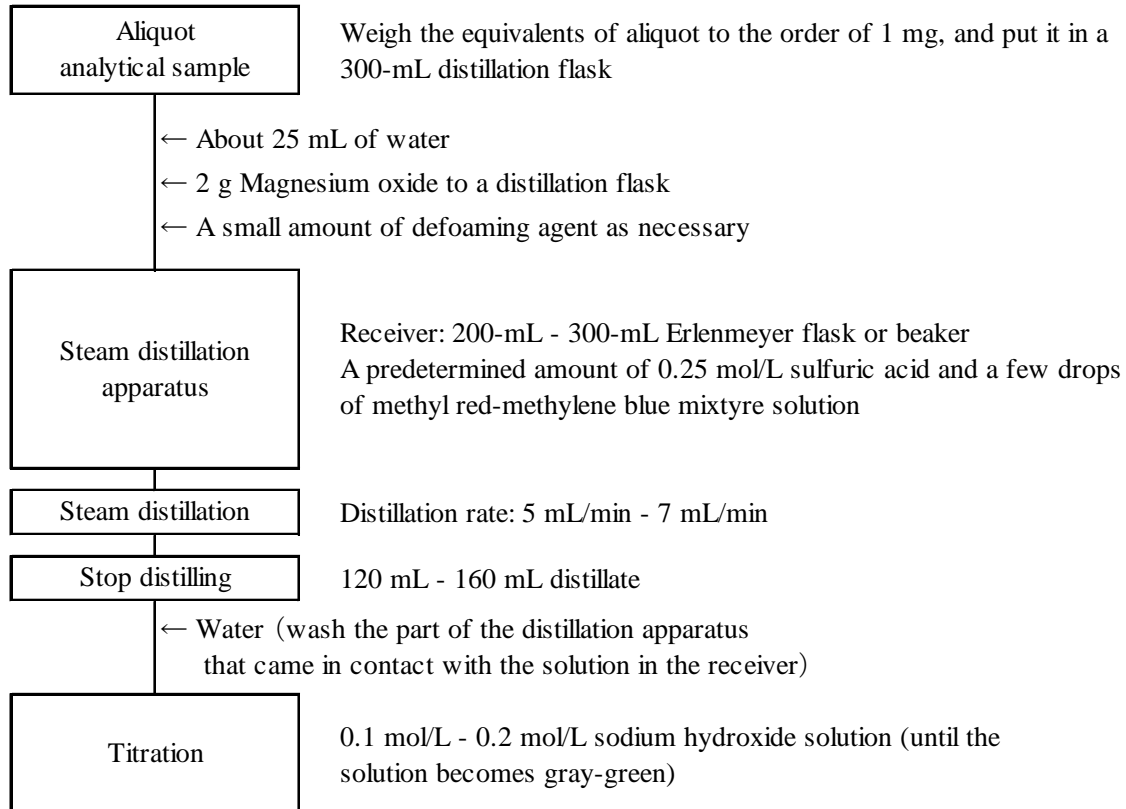
各試験室に設置している回転振り混ぜ機、水蒸気蒸留装置、85 °C 以上で水浴のできる恒温水槽及び分光光度計を使用した。

3) 試験方法

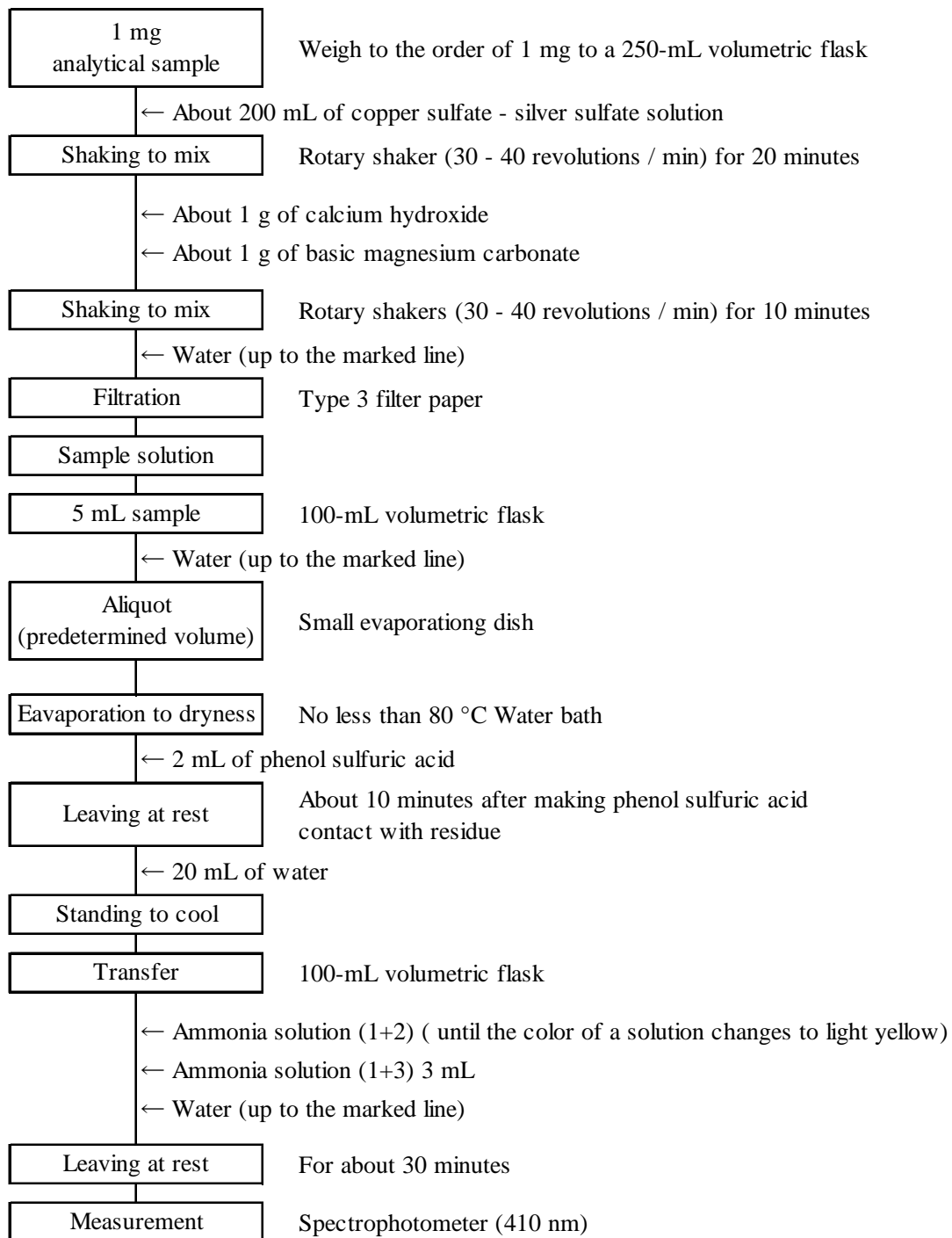
アンモニア性窒素及び硝酸性窒素の抽出及び測定は、Table 1 のとおり肥料等試験法⁷⁾の各試験方法を用いた。なお、参考のため、各試験方法のフローシート(Scheme 1~2)を示した。

Table 1 Component and Measurement

Component	Testing Methods for Fertilizers (2018)	
	Measurement	
Ammoniac nitrogen (A-N)	4.1.2.a (4.3.1)	Distillation method When 0.25 mol/L sulfuric acid is used in (4.2):
Nitrate nitrogen (N-N)	4.1.3.c (4.3)	Phenol sulfuric acid method Measurement



Scheme 1 Flow sheet for ammoniac nitrogen in fertilizers



Scheme 2 Flow sheet for nitrate nitrogen in fertilizers

4) 共同試験用試料の均質性試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル(2006)¹¹⁾の均質性試験に従い, 1)により抽出した均質性試験用試料合計 100 試料を委託事業¹⁰⁾の受託分析機関において, 各試料につき 2 点併行で, 各試験項目に対応する肥料等試験法⁷⁾により分析を行った.

5) 共同試験

試験に参加した 13 試験室は以下のとおりである。それぞれの試験室において 1) により配付された合計 20 試料(アンモニア性窒素のみ, 硝酸性窒素のみの試験室には 10 試料)を, 各試料に対応する 3) の試験方法に従って分析した。

- ・ エムシー・ファーティコム株式会社 宇部工場
- ・ 小野田化学工業株式会社 小野田工場
- ・ 片倉コープアグリ株式会社 日出工場
- ・ ジェイカムアグリ株式会社 黒崎工場
- ・ ジェイカムアグリ株式会社 水俣工場
- ・ 玉名化学株式会社 研究室
- ・ 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
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部
- ・ 菱東肥料株式会社 本社工場

(50 音順)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

委託事業¹⁰⁾の受託分析機関から報告された 10 種類の試料を 2 点併行で分析した均質性試験の成績の総平均値(\bar{x})及びその成績について一元配置分散分析から得られた統計量を用いて算出した併行標準偏差(s_r), 試料間標準偏差(s_{bb}), 併行精度を含む試料間標準偏差(s_{b+r})を Table 2 に示した。さらに, 肥料等試験法⁷⁾に示されている室間再現精度の目安($CRSD_R$)及びそれらから(式 1)により算出した推定室間再現標準偏差($\hat{\sigma}_R$)も Table 2 に示した。

均質性の判定は, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル(2006)¹¹⁾の手順を参考に実施した。まず, 試験成績の等分散性を確認するため, 試験成績について Cochran の検定を実施した。その結果, すべての成分において外れ値は認められなかったため, これらの成績について一元配置分散分析を実施し, 併行標準偏差(s_r)及び試料間標準偏差(s_{bb})を求め, (式 2)により併行標準偏差(s_r)を評価した。10 試料全てにおいて併行標準偏差(s_r)が十分に小さかった($s_r < 0.5\hat{\sigma}_R$)ことから, 次に, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル(2006)¹¹⁾の判定式(式 3)を用いて均質性の判定を行った。その結果, 10 試料全てが判定式(式 3)を満たしていた。このことから, 全ての共同試験用試料は均質であることを確認した。なお, 参考のため, (式 4)によって併行精度を含む試料間標準偏差(s_{b+r})を算出したところ, いずれの成分も推定室間標準偏差($\hat{\sigma}_R$)と比較して十分に小さい値であった。

$$\hat{\sigma}_R = CRSD_R \times \bar{x} / 100 \quad \dots (式 1)$$

$$s_r < 0.5\sigma_p = 0.5\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 2)$$

$$s_{bb}^2 \leq F1(0.3\sigma_R)^2 + F2 s_r^2 \quad \dots (式 3)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_r^2 + s_{bb}^2} \quad \dots (式 4)$$

$\hat{\sigma}_R$: 推定室間再現標準偏差

$CRSD_R$: 肥料等試験法⁷⁾に示されている室間再現精度(室間再現相対標準偏差(%))の目安

\bar{x} : 総平均値

s_r : 併行標準偏差

σ_p : 妥当性確認を行う目的に適合した標準偏差

s_{bb} : 試料間標準偏差

s_{b+r} : 併行精度を含む試料間標準偏差

F1, F2 : 均質性判定のためのパラメータ (試料数 10, 2 点併行の場合, F1=1.88 F2=1.01)

Table 2 Harmogeneity test results of ammoniac nitrogen and nitrate nitrogen

Component	Sample	No. of sample ^{a)}	\bar{x} ^{b)} (%) ^{c)}	s_r ^{d)} (%) ^{c)}	s_{bb} ^{e)} (%) ^{c)}	s_{bb}^2 ^{e)} (%) ^{c)}	s_{b+r} ^{f)} (%) ^{c)}	$CRSD_R$ ^{g)} (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{h)} (%) ^{c)}	$0.5\hat{\sigma}_R$ (%) ^{c)}	$0.3\hat{\sigma}_R$ (%) ^{c)}	critical value ⁱ⁾
Ammoniac nitrogen (A-N)	Ammonium chloride	10	25.22	0.18	0.04	0.002	0.19	2.5	0.63	0.32	0.19	0.101
	Ammonium sulfate	10	21.11	0.17	0.09	0.008	0.19	3	0.63	0.32	0.19	0.096
	Compound fertilizer 1	10	5.43	0.09	0.00	0.000	0.09	4	0.22	0.11	0.07	0.017
	Compound fertilizer 2	10	4.09	0.04	0.00	0.000	0.04	4	0.16	0.08	0.05	0.006
	Compound fertilizer 3	10	1.96	0.02	0.00	0.000	0.02	4	0.08	0.04	0.02	0.001
Nitrate nitrogen (N-N)	Ammonium nitrate	10	17.63	0.08	0.13	0.017	0.15	3	0.53	0.26	0.16	0.054
	Compound fertilizer 4	10	13.60	0.05	0.15	0.022	0.15	3	0.41	0.20	0.12	0.030
	Compound fertilizer 5	10	4.86	0.02	0.02	0.000	0.03	4	0.19	0.10	0.06	0.007
	Compound fertilizer 6	10	3.63	0.01	0.036	0.001	0.04	4	0.15	0.07	0.044	0.004
	Compound fertilizer 7	10	1.13	0.01	0.010	0.000	0.02	4	0.05	0.02	0.014	0.001

a) Number of the samples used for analysis

b) Grand mean value ($n = 10 \times$ number of repetition (2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Standard deviation of sample-to-sample

f) Standard deviation of sample-to-sample including repeatability $s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$

g) The aim of Relative standard deviation of reproducibility in Testing Methods for Fertilizers 2018

h) The estimated standard deviation of reproducibility calculated based on $CRSD_R$ ^{g)}

i) The value for the test : $F1(0.3\hat{\sigma}_R)^2 + F2s_r^2$

F1=1.88, F2=1.01 (The number of samples (10), The number of repetition (2))

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を Table 3-1 及び 3-2 に示した. 各系列の分析試料の結果を IUPAC の共同試験プロトコル(2006)¹¹⁾に従って統計処理した. 試験成績の外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施した. なお, 試験室はアンモニア性窒素のみを分析した試験室が 1 試験室, 硝酸性窒素のみを分析した試験室が 1 試験室であったため, 各試験項目の分析試験室は 12 試験室である. その結果, 12 試験室の試験成績のうち, アンモニア性窒素については 5 種類の試料のうち, 1 種類の試料で 2 試験室の報告値, 2 種類の試料で各 1 試験室の報告値が Cochran の検定又は Grubbs の検定により外れ値として判定された. 一方, 硝酸性窒素については 5 種類の試料のうち, 1 種類の試料で 2 試験室の報告値が Cochran の検定により外れ値として判定された. 硝酸性窒素では Grubbs の検定により外れ値と判定された結果はなかった.

Table 3-1 Individual result of ammoniac nitrogen (A-N)

(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Ammonium chloride		Ammonium sulfate		Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2		Compound fertilizer 3	
A	25.27	25.24	21.05	21.03	5.56	5.56	4.16	4.14	1.95	1.94
B	25.55	25.54	21.35	21.35	5.60	5.54	4.17	3.98	1.96	1.92
C	25.27	25.16	21.10	21.05	5.55	5.54	4.21	3.91	1.96	1.83
D	25.19	25.13	21.02	20.92	5.64	5.63	4.28	4.28	1.99	1.98
E	25.23	25.14	21.09	21.05	5.58	5.54	4.18	4.17	1.97	1.96
F	25.33	25.28	21.14	21.07	5.46	5.44	4.11	4.00	1.95	1.94
G	24.95	24.73	20.87	20.76	5.49	5.33	4.06	3.84	1.96	1.85
H	25.16	24.52	20.89	20.82	5.58	5.43	4.17	4.11	1.99	1.99
I	25.30	25.21	21.14	21.09	5.60	5.49	4.18	3.98	1.96	1.94
J	24.84	24.84	20.91	20.90	5.57	5.56	4.22	4.21	1.98	1.97
K	25.91	25.87	21.78 ^{d)}	21.71 ^{d)}	5.73	5.73	4.38	4.37	2.19 ^{d)}	2.17 ^{d)}
L	25.38	24.85	21.30 ^{c)}	21.03 ^{c)}	5.72 ^{c)}	5.21 ^{c)}	4.18	4.13	1.94	1.85

a) Mass fraction

b) Laboratory identification

c) Outlier of Cochran test

d) Outlier of Grubbs test

Table 3-2 Individual result of nitrate nitrogen (N-N)

(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Ammonium nitrate		Compound fertilizer 4		Compound fertilizer 5		Compound fertilizer 6		Compound fertilizer 7	
A	17.17	16.79	13.73	13.48	4.71	4.42	3.79	3.71	1.18	1.17
B	18.68	18.46	14.38	14.24	5.11	5.07	3.85	3.85	1.17	1.17
C	18.97	18.75	14.73	14.49	5.22	5.21	3.99	3.98	1.23	1.22
D	17.40	17.40	13.80	13.60	5.40	5.40	3.75	3.75	1.15	1.10
E	18.24	18.14	13.96	13.86	5.22	5.20	3.85	3.81	1.20	1.18
F	18.33	18.32	14.40	14.17	5.14	5.10	3.80	3.77	1.16	1.15
G	17.30	17.10	13.88	13.48	5.10	5.02	3.84	3.74	1.23	1.14
H	18.40	18.20	14.30	14.14	5.06	4.98	3.92	3.91	1.20	1.20
I	19.06	18.90	14.80	14.59	5.63 ^{c)}	5.20 ^{c)}	4.14	4.01	1.26	1.21
J	17.79	17.75	13.89	13.85	4.82	4.79	3.85	3.81	1.14	1.13
K	18.23	18.17	13.94	13.77	4.92	4.85	4.00	3.89	1.20	1.19
L	17.74	17.59	13.85	13.43	5.53 ^{c)}	4.35 ^{c)}	3.91	3.85	1.26	1.19

a) Mass fraction

b) Laboratory identification

c) Outlier of Cochran test

3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した試験成績により算出^{12, 13)}した平均値, 併行標準偏差 (s_r) 及び併行相対標準偏差 (RSD_r), 並びに室間再現標準偏差 (s_R) 及び室間再現相対標準偏差 (RSD_R) を Table 4 に示した.

アンモニア性窒素の平均値は 1.94 % ~25.20 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 (s_r) は 0.04 % ~0.18 % (質量分率), 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 0.2 % ~2.4 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.05 % ~0.33 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 0.7 % ~3.2 % であった.

硝酸性窒素の平均値は 1.18 % ~18.04 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 (s_r) は 0.03 % ~0.17 % (質量分率), 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 0.7 % ~2.4 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.04 % ~0.24 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 2.7 % ~4.8 % であった.

いずれの併行相対標準偏差 (RSD_r) 及び室間再現相対標準偏差 (RSD_R) も肥料等試験法⁷⁾で妥当性確認の手順に示されている各濃度レベルにおける精度の目安の許容範囲内であることから, 各試験法の精度は肥料等試験法の性能規準に適合していることを確認した.

Table 4 Statistical analysis of Collaborative study results for ammoniac nitrogen and nitrate nitrogen

Component	Sample	Labs	Mean ^{b)}	s_r ^{d)}	RSD_r ^{e)}	$CRSD_r$ ^{f)}	s_R ^{g)}	RSD_R ^{h)}	$CRSD_R$ ⁱ⁾
		$p(q)$ ^{a)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%)	(%)	(%) ^{c)}	(%)	(%)
Ammoniac nitrogen (A-N)	Ammonium chloride	12	25.20	0.18	0.7	1	0.33	1.3	2.5
	Ammonium sulfate	10(2)	21.03	0.04	0.2	1.5	0.16	0.7	3
	Compound fertilizer 1	11(1)	5.55	0.05	1.0	2	0.09	1.7	4
	Compound fertilizer 2	12	4.14	0.10	2.4	2	0.13	3.2	4
	Compound fertilizer 3	11(1)	1.94	0.04	2.2	2	0.05	2.3	4
Nitrate nitrogen (N-N)	Ammonium nitrate	12	18.04	0.13	0.7	1.5	0.64	3.6	3
	Compound fertilizer 4	12	14.03	0.17	1.2	1.5	0.40	2.8	3
	Compound fertilizer 5	10(2)	5.04	0.07	1.4	2	0.24	4.8	4
	Compound fertilizer 6	12	3.87	0.05	1.2	2	0.10	2.7	4
	Compound fertilizer 7	12	1.18	0.03	2.4	2	0.04	3.4	4

a) Number of laboratories, where p =number of laboratories retained after outlier removed and (q) =number of outliers

b) Grand mean value of the results of duplicate sample which were reported from laboratories retained after outlier removed (n =The number of laboratories(p) \times The number of repetition(2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Relative standard deviation of repeatability

f) Rough standard of relative standard deviation of repeatability in Testing Methods for Fertilizer 2018

g) Standard deviation of reproducibility

h) Relative standard deviation of reproducibility

i) Rough standard of relative standard deviation of reproducibility in Testing Methods for Fertilizer 2018

4. まとめ

肥料等試験法⁷⁾に記載されたアンモニア性窒素の蒸留法及び硝酸性窒素のフェノール硫酸法について、12試験室で各5種類(10点)の試料を用いて共同試験を実施し、試験室間再現精度を調査した。

その結果、アンモニア性窒素は平均値 1.94 % ~25.20 % (質量分率) の範囲で室間再現相対標準偏差 (RSD_R) が 0.7 % ~3.2 %, 硝酸性窒素は平均値 1.18 % ~18.04 % (質量分率) の範囲で室間再現相対標準偏差 (RSD_R) が 2.7 % ~4.8 % であった。共同試験結果の併行相対標準偏差 (RSD_r) 及び室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は、肥料等試験法⁷⁾の妥当性確認の手順に示されている各濃度レベルにおける精度の目安の許容範囲内であり、満足する再現精度であった。

今回検討した試験法の性能は、既に単一試験室又は複数試験室による試験法の妥当性確認 (SLV 又は MLV) がされており、肥料等試験法⁷⁾の性能基準において蒸留法が Type C (MLV 及び SLV)、フェノール硫酸法が Type D (SLV) と評価されていた。以上の結果より、国際的に標準とされる複数試験室の妥当性確認 (HCV) がされた方法として、これらの試験法は肥料等試験法における性能規準の Type B (SLV 及び HCV) と評

価できることを確認した。

謝 辞

共同試験にご協力いただきましたエムシー・ファーターコム株式会社, 小野田化学工業株式会社, 片倉コープアグリ株式会社, ジェイカムアグリ株式会社, 玉名化学株式会社及び菱東肥料株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改正平成 28 年 3 月 24 日, 政令第 73 号(2016)
- 3) 農林水産省告示:肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 695 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号(1999)
- 4) 農林水産省告示:肥料取締法第十七条第一項第三号の規定に基づき, 肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件, 平成 12 年 1 月 27 日, 農林水産省告示第 96 号, 最終改正平成 28 年 3 月 30 日, 農林水産省告示第 884 号(2016)
- 5) 農林水産省告示:特殊肥料の品質表示基準, 平成 12 年 8 月 31 日農林水産省告示第 1163 号, 最終改正平成 30 年 2 月 9 日, 農林水産省告示第 329 号(2018)
- 6) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 30 年 9 月 5 日, 農林水産省告示第 1991 号(2018)
- 7) 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/shikengo_2018.pdf>
- 8) 加藤公栄, 千田正樹, 渡部絵里菜:アンモニア性窒素試験法の性能調査ー蒸留法ー, 肥料研究報告, 6, 130-138(2013)
- 9) 加藤公栄, 千田正樹, 渡部絵里菜:硝酸性窒素試験法の性能調査ーフェノール硫酸法ー, 肥料研究報告, 6, 148-155(2013)
- 10) 農林水産省:平成 30 年度肥料中の主成分の均質性確認調査委託事業(肥料中の窒素成分及びりん酸成分の分析) (2018)
- 11) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78**(1), 145~196 (2006)
- 12) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2) , 331~343 (1995)
- 13) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)

Performance Evaluation of Determination Method for Nitrogen in fertilizer: Harmonized Collaborative Validation

Erika HIRATA¹, Hideo SOETA², Hidemi YOSHIMURA² and Keiji YAGI²

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

² FAMIC, Fukuoka Regional Center

It has been verified performance that determination of ammoniac nitrogen by distillation method and nitrate nitrogen by phenol sulfuric acid method described in Testing Methods for Fertilizers. However, these methods only were verified by single laboratory validation or multi laboratory validation, were not evaluated by harmonized collaborative validation. Therefore, we conducted a collaborative study by means of international harmonized protocol to evaluate for determination of ammoniac nitrogen by distillation method and nitrate nitrogen by phenol sulfuric acid method in fertilizer. Five samples passed the test for homogeneity, respectively, were sent to 12 collaborators. These samples were analyzed as blind duplicated. After identification of outliers with Cochran test and Grubbs test, the mean values and the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) of determination of ammoniac nitrogen were reported 1.94 % ~ 25.20 % as a mass fraction and 0.7 % ~ 3.2 %, respectively. Those of determination of nitrate nitrogen were reported 1.18 % ~ 18.04 % as a mass fraction and 2.7 % ~ 4.8 %, respectively. These results indicated that each method has acceptable precision for determination of ammoniac nitrogen or nitrate nitrogen in these concentration ranges. In conclusion, those results demonstrated these methods were validated for the determination of ammoniac nitrogen and nitrate nitrogen in fertilizer by distillation method and phenol sulfuric method by harmonized collaborative validation.

Key words ammoniacal nitrogen, nitrate nitrogen, distillation method, phenol sulfuric acid method, harmonized collaborative validation

(Research Report of Fertilizer, **12**, 84~93, 2019)