

1 ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による液状肥料中の 効果発現促進材の測定

青山恵介¹

キーワード ICP-OES, 液状肥料, 効果発現促進材

1. はじめに

植物の成長を促進させる効果がある材料として、効果発現促進材(Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo)を添加した肥料が流通しており、添加した場合はその使用量を保証票に記載する必要がある。効果発現促進材の分析方法としては、Ca, Fe, Co, Cu 及び Zn については原子吸光分析装置, Mo については分光光度計を用いる方法が肥料分析法¹⁾及び肥料等試験法²⁾に記載されているが、ICP 発光分光分析装置(ICP-OES)を用いた方法についてはこれまで検討されていない。

平成 26 年度に液状肥料中の水溶性主成分(W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO 及び W-B₂O₃)について検討した結果³⁾, ICP 発光分光分析法による一斉分析法が確立された。本検討では、水溶性主成分に続き、効果発現促進材について検討したので報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

分析用試料として、いずれも流通している液状複合肥料(13 点)、家庭園芸用複合肥料(液状肥料)(12 点)及び液体微量要素複合肥料(5 点)を用いた。

2) 試薬等の調製

- (1) カルシウム標準液(Ca 1 mg/mL): カルシウム標準液(Ca: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (2) 鉄標準液(Fe 1 mg/mL): 鉄標準液(Fe: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (3) コバルト標準液(Co 1 mg/mL): コバルト標準液(Co: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (4) 銅標準液(Cu 1 mg/mL): 銅標準液(Cu: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (5) 亜鉛標準液(Zn 1 mg/mL): 亜鉛標準液(Zn: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (6) モリブデン標準液(Mo 1 mg/mL): モリブデン標準液(Mo: 1000 µg/mL) (和光純薬工業;JCSS)
- (7) 混合標準液: (1)~(6)の標準液を標準原液とし、各標準原液を混合・希釈して各元素濃度が 200 µg/mL の混合標準を調製した。また、この混合標準液を希釈し、塩酸濃度が(1+23)となるように適宜塩酸(1+5)を加えて検量線用混合標準液を調製した。
- (8) 水: JIS K 0211 に規定する超純水(比抵抗値 18 MΩ cm 以上)
- (9) 塩酸: 精密分析用

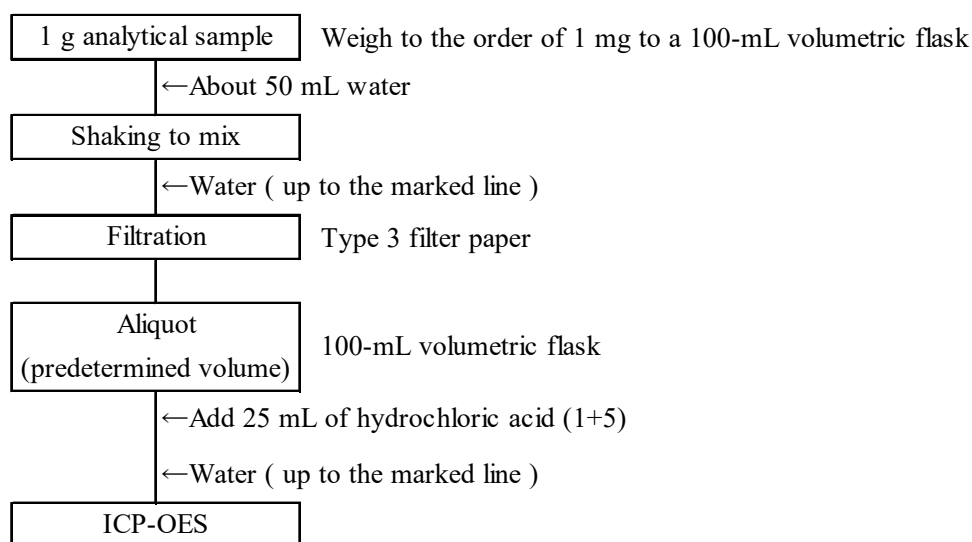
3) 装置及び器具

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

- (1) ICP 発光分光分析装置 (ICP-OES)：島津製作所 ICPS-8100 (横方向観測方式, シーケンシャル形分光器)
- (2) 超純水製造装置：Millipore Elix UV5
- (3) マイクロピペット：Eppendorf
- (4) 全量フラスコ
- (5) 全量ピペット
- (6) ろ紙 3 種

4) 分析方法

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 を加えて振り混ぜた後水で定容し, ろ紙 3 種でろ過した. ろ液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり, 塩酸 (1+5) 25 mL を加えて水で定容した後, Table 1 の測定条件で ICP-OES を用いて定量した. 分析フローシートは Scheme 1 のとおり.



Scheme 1 Method flow sheet of Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo in liquid fertilizer

Table 1 Analysis wavelength

Element	Wavelength (nm)
Ca	393.366
Fe	259.940
Co	228.616
Cu	327.396
Zn	213.856
Mo	202.030

3. 結果及び考察

1) 分光干渉の確認

Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo について, それらの元素における分光干渉を確認した. また, 肥料の主要成分

として含まれる P, K, Mg, Mn 及び B による分光干渉についても確認した³⁾。

元素濃度が 100 µg/mL の各々の標準液を Table 1 に示した波長を用いて ICP-OES で分析した結果、分光干渉は定量限界(ブランク溶液 ($n = 10$) の 10σ) 未満であり、効果発現促進材の定量に影響しないことがわかった。したがって、各元素の ICP-OES における分析波長は Table 1 のとおりとした。

2) 検量線の直線性

2.2) に従って調製した Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の混合標準液を ICP-OES で測定し、絶対検量線法により検量線を作成したところ、0.1 µg/mL ~ 20 µg/mL の範囲で直線性 ($r^2 = 0.999$ 以上) を示した。

3) 添加回収試験による真度の評価

液状肥料に質量分率 0.01 % 及び 0.1 % 相当量の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo 標準液を添加した試料を用いて、本法にしたがって 3 点併行で添加回収試験を行った。結果は Table 2 のとおり、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 106 %, 94 % ~ 96 %, 95 % ~ 98 %, 93 % ~ 95 %, 92 % ~ 96 % 及び 95 % ~ 98 % であった。いずれも肥料等試験法¹⁾に示されている添加濃度における真度(回収率)の目標以内であり、満足な結果が得られた。

Table 2 Spiking and recovery tests

Element	Sample	Spike level (%) ^{a)}	Recovery ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
Ca	Fertilizer-1	0.1	106	1.9	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	106	4.4	92 ~ 108
Fe	Fertilizer-1	0.1	94	1.0	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	96	2.0	92 ~ 108
Co	Fertilizer-1	0.1	98	2.0	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	95	1.3	92 ~ 108
Cu	Fertilizer-1	0.1	95	0.2	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	93	1.7	92 ~ 108
Zn	Fertilizer-1	0.1	96	3.0	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	92	1.0	92 ~ 108
Mo	Fertilizer-1	0.1	98	1.1	94 ~ 106
	Fertilizer-2	0.01	95	0.4	92 ~ 108

a) Mass fraction

b) Mean Value ($n=3$)

c) Relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) show in Testing methods of Fertilizers

4) 方法間比較による真度の評価

試料 12 点(液状複合肥料, 家庭園芸用複合肥料及び液体微量要素複合肥料)を用いて、肥料等試験法と本法の分析値を比較した。肥料等試験法は, Ca, Fe, Co, Cu 及び Zn については原子吸光法, Mo はチオシアネートナトリウム吸光光度法により分析した。

Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の肥料等試験法及び本法の分析値における回帰直線及び 95 % 予測区間を Fig 1 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 3 に示した。肥料等

試験法では、傾き(b)の95%信頼区間に1が含まれ、切片(a)の95%信頼区間に原点(0)が含まれ、相関係数(r)が0.99以上を推奨している。Table 3に示した結果において、Fe、Co及びCuの傾き(b)の95%信頼区間が1を含んでいないが、それ以外については推奨の範囲内であり、Fig 1の肥料等試験法と本法の分析値とを評価しても同等であった。

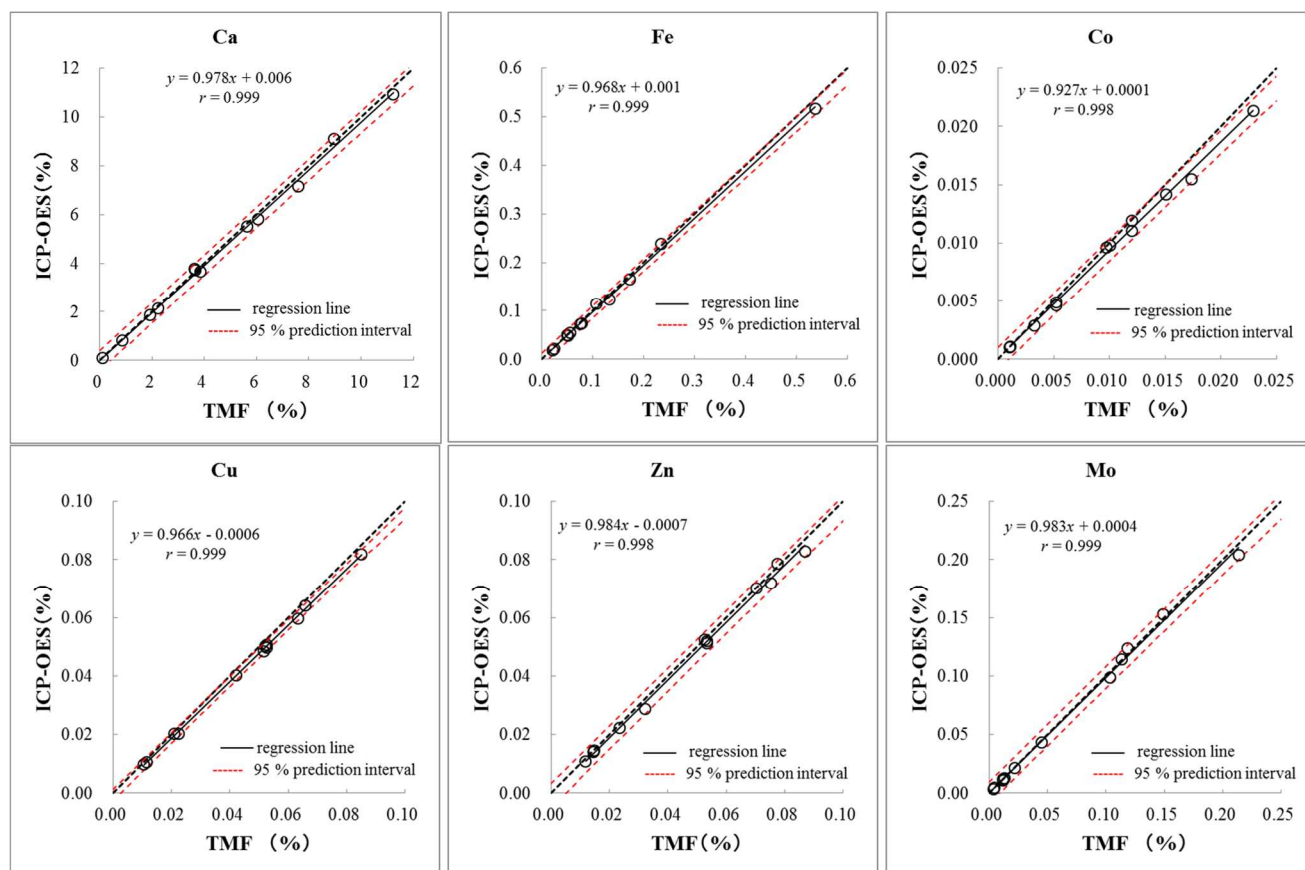


Fig 1 Comparison between ICP-OES and Testing Methods for Fertilizers (TMF) mass fraction (%)

Table 3 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and TMF

Element	95 % confidence interval		correlation coefficient (r)
	inclination (b)	intercept (a)	
Ca	0.943 ~ 1.013	-0.192 ~ 0.204	0.999
Fe	0.943 ~ 0.993	-0.004 ~ 0.006	0.999
Co	0.888 ~ 0.966	0.000 ~ 0.001	0.998
Cu	0.946 ~ 0.986	-0.002 ~ 0.000	0.999
Zn	0.944 ~ 1.025	-0.003 ~ 0.002	0.998
Mo	0.946 ~ 1.020	-0.003 ~ 0.004	0.999

5) 中間精度及び併行精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため、液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料について、Ca, Fe, Co,

Cu, Zn 及び Mo を 2 点併行で日を変えて 7 回試験を実施して得られた結果を Table 4 に示した. また, この結果から一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 5 に示した. 液状複合肥料の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の平均値は質量分率 2.14 %, 0.145 %, 0.0554 %, 0.0643 %, 0.0677 % 及び 0.124 %, 併行相対標準偏差は 0.7 %, 0.6 %, 1.7 %, 0.9 %, 0.6 % 及び 0.5 %, 中間相対標準偏差は 2.1 %, 1.1 %, 4.4 %, 1.7 %, 0.7 % 及び 1.2 % であった. また, 家庭園芸用複合肥料の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の平均値は質量分率 0.103 %, 0.0485 %, 0.0105 %, 0.00976 %, 0.0107 % 及び 0.00359 %, 併行相対標準偏差は 0.9 %, 0.5 %, 3.3 %, 0.6 %, 2.3 % 及び 0.3 %, 中間相対標準偏差は 1.0 %, 0.9 %, 4.8 %, 3.4 %, 4.2 % 及び 4.0 % であった.

この濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法²⁾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)の目安以内であった.

Table 4 Repeatability test results on different days (mass fraction (%))

Sample	Element	Test day							
		1	2	3	4	5	6	7	
Fertilizer-3	Ca	2.18	2.14	2.16	2.11	2.12	2.19	2.07	
		2.19	2.14	2.15	2.11	2.10	2.23	2.11	
	Fe	0.146	0.143	0.143	0.143	0.143	0.145	0.148	
		0.147	0.143	0.145	0.144	0.143	0.146	0.145	
	Co	0.0573	0.0548	0.0546	0.0596	0.0527	0.0547	0.0583	
		0.0562	0.0549	0.0543	0.0571	0.0510	0.0533	0.0574	
	Cu	0.0637	0.0642	0.0642	0.0649	0.0635	0.0667	0.0643	
		0.0636	0.0645	0.0647	0.0635	0.0625	0.0658	0.0634	
	Zn	0.0673	0.0676	0.0682	0.0680	0.0679	0.0681	0.0681	
		0.0666	0.0670	0.0680	0.0674	0.0681	0.0672	0.0677	
	Mo	0.121	0.125	0.125	0.124	0.123	0.126	0.125	
		0.123	0.125	0.126	0.123	0.123	0.125	0.125	
	Fertilizer-4	Ca	0.104	0.0988	0.105	0.104	0.104	0.103	0.103
			0.104	0.0978	0.103	0.104	0.1041	0.102	0.102
Fe		0.0483	0.0481	0.0483	0.0484	0.0482	0.0491	0.0495	
		0.0487	0.0480	0.0487	0.0488	0.0486	0.0491	0.0490	
Co		0.0108	0.0106	0.0109	0.0108	0.0100	0.0101	0.0106	
		0.0109	0.0100	0.0109	0.0112	0.0102	0.00982	0.00962	
Cu		0.0101	0.00982	0.00914	0.0100	0.00953	0.0101	0.00975	
		0.0100	0.00973	0.00914	0.00987	0.00962	0.0101	0.00972	
Zn		0.0112	0.0107	0.0103	0.0103	0.0104	0.0116	0.0106	
		0.0114	0.0107	0.0104	0.0103	0.0103	0.0107	0.0107	
Mo		0.00386	0.00370	0.00364	0.00345	0.00354	0.00346	0.00352	
		0.00384	0.00371	0.00360	0.00346	0.00355	0.00345	0.00353	

Table 5 Repeatability and intermediate precision

Sample	Element	Total mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate precision		
			s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
Fertilizer-3	Ca	2.14	0.02	0.7	2	0.05	2.1	3.5
	Fe	0.145	0.001	0.6	3	0.002	1.1	4.5
	Co	0.0554	0.0010	1.7	4	0.0024	4.4	6.5
	Cu	0.0643	0.0006	0.9	4	0.0011	1.7	6.5
	Zn	0.0677	0.0004	0.6	4	0.0005	0.7	6.5
	Mo	0.124	0.001	0.5	3	0.001	1.2	4.5
Fertilizer-4	Ca	0.103	0.001	0.9	3	0.001	1.0	4.5
	Fe	0.0485	0.0003	0.5	4	0.0005	0.9	6.5
	Co	0.0105	0.0003	3.3	4	0.0005	4.8	6.5
	Cu	0.00976	0.00006	0.6	4	0.00033	3.4	6.5
	Zn	0.0107	0.0003	2.3	4	0.0004	4.2	6.5
	Mo	0.00359	0.00001	0.3	6	0.00014	4.0	9

a) $n=14$ (2 repetition \times 7 days)

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability relative standard deviation

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate relative standard deviation

6) 定量下限等の確認

ブランク試料を ICP-OES で 10 回分析し、得られた分析値の標準偏差を 10 倍して定量下限を推定し、また、標準偏差を $2 \times t(n-1, 0.05)$ 倍として検出下限を推定し²⁾、液状肥料中の Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo で質量分率 0.0005 % 及び 0.0002 % と推定された。

更に、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、液状肥料に Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo として濃度が質量分率 0.0005 % 相当量の各元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った。なお、試料採取量は 10 g、ろ液の分取量は 50 mL とした。結果は Table 6 のとおり、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 102 %, 88 %, 95 %, 86 %, 89 % 及び 95 % であり、いずれの成分も肥料等試験法に示されている目安以内であり満足な結果が得られた。

Table 6 Spiking and recovery test (minimum limit of quantification)

Element	Sample	Spike level (%) ^{a)}	Recovery ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	Criteria of the trueness ^{d)} (%)
Ca	Fertilizer-5	0.0005	102	11.8	85~115
Fe	Fertilizer-5	0.0005	88	4.3	85~115
Co	Fertilizer-5	0.0005	95	1.6	85~115
Cu	Fertilizer-5	0.0005	86	0.4	85~115
Zn	Fertilizer-5	0.0005	89	3.0	85~115
Mo	Fertilizer-5	0.0005	95	0.6	85~115

a) Mass fraction

b) Mean Value ($n=3$)

c) Relative standard deviation

d) Criteria of trueness (recovery) show in Testing method of Fertilizers

4. まとめ

ICP-OES による液状肥料中の効果発現促進材の分析法を検討したところ、次の結果を得た。

- 1) ICP-OES の分光干渉は効果発現促進材の定量に影響しないことがわかった。
- 2) Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の混合標準液を ICP-OES で分析し、絶対検量線法により検量線を作成したところ、 $0.1 \mu\text{g} \sim 20 \mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性 ($r^2=0.999$ 以上) を示した。
- 3) 2種類の肥料を用いて添加回収試験を実施したところ、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 106 %, 94 %~96 %, 95 %~98 %, 93 %~95 %, 92 %~96 % 及び 95 %~98 % であった。いずれも肥料等試験法に示されている添加濃度における真度(回収率)の目標以内であった。
- 4) 試料 12 点について、肥料等試験法及び本法により分析を行ったところ、本法と肥料等試験法の分析値は同等であった。
- 5) 本法の併行精度及び中間精度を確認したところ、肥料等試験法に示されている併行精度(併行相対標準偏差)及び中間精度(中間相対標準偏差)の目安以内であった。
- 6) 本法における効果発現促進材の定量下限は質量分率 0.0005 % と推定された。質量分率 0.0005 % 相当量を添加した試料を用いて添加回収試験を行ったところ、Ca, Fe, Co, Cu, Zn 及び Mo の回収率は 102 %, 88 %, 95 %, 86 %, 89 % 及び 95 % であり、いずれも肥料等試験法に示されている添加濃度における真度(回収率)の目標以内であった。

以上、ICP-OES による液状肥料中の効果発現促進材の分析法が確立できた。質量分率が 0.0005 % の低含有量の試料についても定量が可能であった。

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),日本肥糧検定協会,東京(1992)
- 2) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2015.pdf>

- 3) 青山恵介:ICP 発光分光分析(ICP-OES)法による液状肥料中の水溶性主成分の測定, 肥料研究報告, **8**, 1-9 (2015)

Simultaneous Determination Method for Effect-Development Promoting Agent (Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo) in Liquid Compound Fertilizer using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

Keisuke AOYAMA¹

Food and Agricultural Materials inspection Center, Kobe Regional Center

An ICP-OES method for simultaneous determination of effect-development promoting agents (Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo) in liquid compound fertilizer was developed and validated as a single-laboratory validation. Samples were extracted by shaking and diluted with water. After filtration, sample solution was added hydrochloric acid, and analyzed by ICP-OES. As a result of 3 replicate analysis of 2 fertilizer samples spiked with Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo at 0.01 % (mass fraction)~0.1 % each, the mean recoveries were 106 %, 94 %~96 %, 95 %~98 %, 93 %~95 %, 92 %~96 % and 95 %~98 %, respectively. Repeatability standard deviation of Ca, Fe, Co, Cu, Zn and Mo were 0.7 %~0.9 %, 0.5 %~0.6 %, 1.7 %~3.3 %, 0.6 %~0.9 %, 0.6 %~2.3 % and 0.3 %~0.5 % respectively. Intermediate relatives standard deviation of there were 1.0 %~2.1 %, 0.9 %~1.1 %, 4.4 %~4.8 %, 1.7 %~3.4 %, 0.7 %~4.2 % and 1.2 %~4.0 %, respectively. The limits of quantification of there were estimated 0.0005 %, each. Those results indicated that the developed method was valid for the determination of these effect-development promoting agents in a liquid compound fertilizer.

Key words ICP-OES, liquid compound fertilizer, effect-development promoting agent, single-laboratory validation

(Research Report of Fertilizer, **9**, 1-9, 2016)