

ビウレット性窒素
硫酸銅法の分析法と妥当性の確認試験の結果
＜JFFIA 7-BN＞

【分析法】

1. 概要

この分析法はビウレット性窒素(B-N)を 0.1～1.2 % (質量分率) 程度含有する尿素に適用する。この分析法の識別記番号は JFFIA 7-BN。

分析試料に水を加えて溶かし、その一定量に過剰の銅および水酸化ナトリウムを加えてビウレット銅の錯体を作り、発色させた赤紫色の吸光度を測定して分析試料中のビウレット性窒素の量を求める。

この分析法は、肥料分析法 (1992) に記載されている硫酸銅法と同法であるが、分析対象は尿素のみとする。

2. 装置・器具

- 1) 分光光度計：JIS K 0115 に規定する分光光度計。
- 2) 遠心分離機：3200×*g* で遠心分離可能なもの。

3. 試薬等

- 1) 水：水道水を水精製装置で精製した JIS K 0557 に規定する A3 の水を用いる。
- 2) 硫酸銅(II)五水和物：JIS K 8983 に規定する特級又は同等の品質の試薬。
- 3) 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。
- 4) 硫酸銅(II)五水和物液：硫酸銅(II)五水和物 15 g を水に溶かして 1000 mL とし、必要があればろ過する。
- 5) 水酸化ナトリウム液：水酸化ナトリウム 40 g を水に溶かして 1000 mL とする。
- 6) ビウレット性窒素標準液(B-N 4 mg/mL)：ビウレット (C₂H₅N₃O₂) (110℃で恒量になるまで乾燥したもの) 0.9812 g を 100 mL 全量フラスコにとり、水に溶かして正確に 100 mL とする。

4. 試料溶液の調製

- 1) 分析試料 5～10 g (B-N として 20～60 mg がよい) を 1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れる。
- 2) 水約 50 mL を加えて試料を完全に溶かす。

5. 発色

(5.1) 試料の発色

- 1) 4.2) の試料液に水酸化ナトリウム液を 20mL 加え、更に硫酸銅(II)五水和物液を 20 mL 加えて発色させる。
- 2) 標線まで水を加えてよく振り混ぜる。
- 3) 約 30 分放置後、上澄み液を遠心沈殿管 100 mL にとる。
- 4) 遠心力約 3200×*g* で約 5 分間遠心分離し、上澄み液を測定溶液とする。

(5.2) 検量線用標準液の発色

- 1) ビウレット性窒素標準液(B-N 4 mg/mL)の 2.5～15 mL を 100mL 全量フラスコに段階的にとり、(5.1) 1) ～4) 同様の操作を行って、検量線用標準液とする。
- 2) ビウレット性窒素標準液を入れずに (5.1) 1) ～4) と同様の操作を行って検量線用空試験液とする。

6. 測定

測定は、JIS K 0115 及び次のとおり行う。なお、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。

(6.1) 分光光度計の測定条件

分析波長：540 nm

(6.2) 検量線の作成

- 1) (5.2) 2) で発色した検量線用空試験液を対照として、(5.2) 1) で発色した検量線用標準液の波長 540 nm の吸光度を測定する。
- 2) 検量線用標準液のビウレット性窒素濃度と吸光度との検量線を作成する。

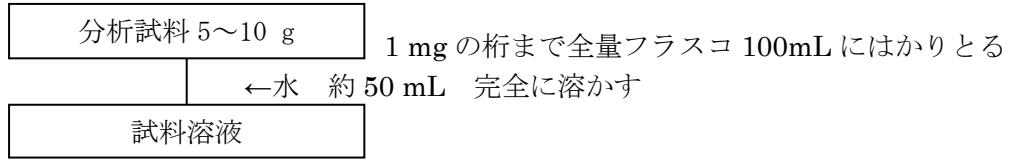
(6.3) 試料の測定

- 1) (5.1) 4) で遠心分離した測定溶液について、(6.2) 1) と同様の操作を行って吸光度を測定する。
- 2) 検量線から分析試料中のビウレット性窒素の量 (B-N) を算出する。

7. 参考文献

農林水産省農業環境技術研究所 1992. 肥料分析法 1992 年版, p.127-129. 日本肥糧検定協会
越野正義 1988. 第二改訂詳解肥料分析法, p.87-91. 養賢堂

試料溶液の調製



発色・測定

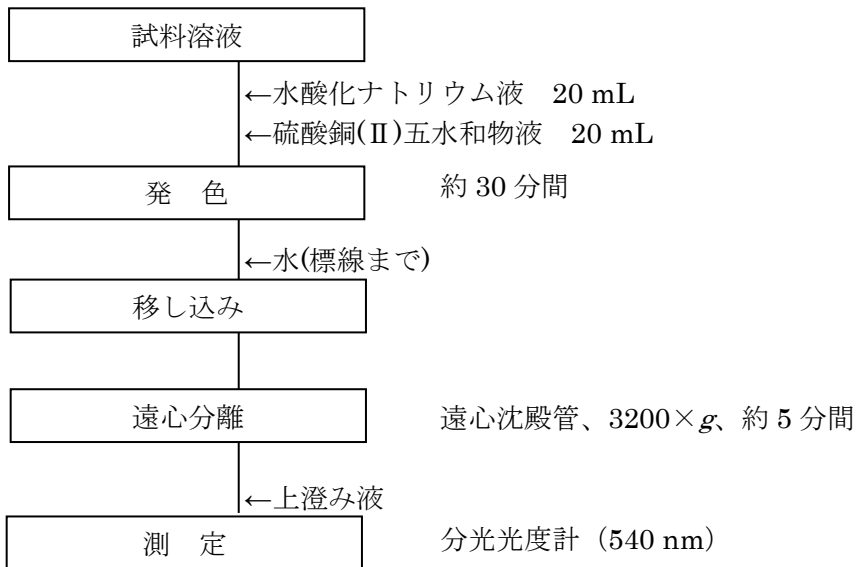


図 1 分析法のフローシート

【妥当性確認試験の結果】

1. 適用範囲

本分析法の適用範囲は表 1 のとおりである。妥当性の確認試験は、肥料等試験法（2019）別添 試験法の妥当性確認の手順によって行った。

表 1 適用範囲

成分名	適用試料	濃度範囲 (%) ¹⁾	妥当性を確認した試験室	試験方法
ビウレット性窒素	尿 素	0.1～1.2 程度 (B-N)	当協会本部	硫酸銅法

1) 質量分率

2. 選択性

被覆尿素は被覆材によって発色が妨害される場合があるため本分析法は適用しない。

3. 検量線

検量線用標準液で調製した 6 点および検量線用空試験溶液から吸光度を求めて検量線を作成した。

その結果、ビウレット性窒素 (B-N) は 100 mg/L～600 mg/L の範囲で直線性が確認でき、高い決定係数 (r^2) が得られた。

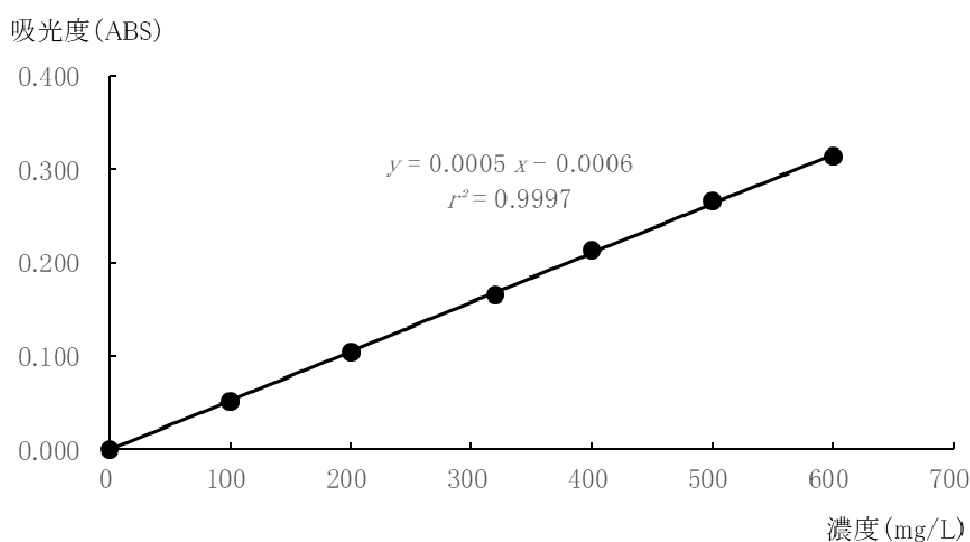


図 2 ビウレット性窒素の検量線の結果

4. 真度

本分析法で対象とした尿素 3 点を用いてビウレット性窒素を添加し、本分析法とすでに妥当性の確認がなされている肥料等試験法（2019）5.10.a 高速液体クロマトグラフ法との間で等分散性および結果の値の同等性の確認を行うため、4 点併行による試験を実施した。

その結果、*F*検定により両者の分析法の等分散性が確認できた。また、*t*検定により両者の分析法による結果は両者有意水準 5 % で有意な差が認められないことが確認できた。

表 2 方法間比較による異なる 3 濃度試料の等分散性と値の同等性の評価

成分名	試料	方法 ¹⁾	平均値 ²⁾ (%) ³⁾	等分散性		<i>t</i> 検定	
				分散比	境界値	<i>t</i> 値	境界値
ビウレット性窒素	尿素1	新たな方法	0.33	1.49	9.28	1.18	2.45
		従来法	0.33				
	尿素2	新たな方法	0.49	2.75	9.28	2.24	2.45
		従来法	0.48				
	尿素3	新たな方法	1.13	3.00	9.28	1.22	2.45
		従来法	1.12				

1) 新たな方法は、肥料分析法(1992)5.23.1硫酸銅法。従来法は、肥料等試験法(2019)5.10.a高速液体クロマトグラフ法。

2) 平均値は、4点併行の平均

3) 質量分率

5. 精度

併行精度および中間精度を確認するために、尿素 2 点を用いてビウレット性窒素を添加し、2 点併行で日を変えて 5 回の分析を行った。

分析結果を基に一元配置分散分析を行って得られた併行精度(併行相対標準偏差)および中間精度(中間相対標準偏差)は、肥料等試験法（2019）に示される目安以内であった。

表 3 日を変えての中間精度の評価の結果

成分名	試料	平均値 ¹⁾ (%) ⁸⁾	併行精度			中間精度		
			S_r ²⁾ (%) ⁸⁾	RSD_r ³⁾ (%)	$CRSD_r$ ⁴⁾ (%)	$S_{i(T)}$ ⁵⁾ (%) ⁸⁾	$RSD_{i(T)}$ ⁶⁾ (%)	$CRSD_{i(T)}$ ⁷⁾ (%)
ビウレット性窒素	尿素2	0.49	0.01	1.6	3.0	0.01	2.0	4.5
	尿素3	1.13	0.01	0.6	2.0	0.01	0.9	3.5

1) n=10(2点併行×試験5回)

2) 併行標準偏差

3) 併行相対標準偏差

4) 併行相対標準偏差の目安

5) 中間標準偏差

6) 中間相対標準偏差

7) 中間相対標準偏差の目安

8) 質量分率

6. 頑健性

発色時の水酸化ナトリウム濃度は 0.2 mol/L とすることでビウレット銅の錯体が確実に生成されるため、この濃度は変えないこと。

7. 結果の公表

本分析法ならびに妥当性の確認試験の結果の一部は、下記に公表されている。

肥料中の硝酸性窒素、マンガン、亜硝酸、ピウレット性窒素の吸光光度法における
分析の妥当性の確認について

篠村 善徳, 村手 祐子, 関根 健太郎, 澤 詩織, 引地 典雄, 今川 俊明
日本土壌肥料学会岡山大会講演要旨集 (2020)

以上