

アミノ酸を含む水試料中の全窒素定量共同実験

技術委員会

1. はじめに

工場・事業所排水、生活排水、畜産排水、農業に関連する水など中に含まれる窒素は、無機態及び／又は有機態化合物である。無機態では、硝酸 NO_3^- 、亜硝酸 NO_2^- 、アンモニア NH_4^+ 、などがイオンとして溶存するとともに、遷移金属の窒化物など水に不溶性の窒素化合物もありうる。有機態では、窒素はたんぱく質など生命体の基本物質中に必ず含まれ、より具体的には、たんぱく質を構成するアミノ酸を初めとする窒素化合物として存在する。アミノ酸とは、アミノ基とカルボキシル基の両方の官能基を持つ化合物であり $\text{RCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ の構造を持つ。水中の窒素化合物は、化学的及び微生物学的作用によって“有機態⇔無機態”移行を含めてさまざまなに変化することも知られている。

閉鎖性水域の水質改善を図るため、平成 13 年に策定された第 5 次水質総量規制において、富栄養化の原因物質である“全窒素”が追加された¹⁾。平成 16 年から、埼玉県を含め全 20 都府県において、既設の工場・事業所にも“全窒素”の測定が義務付けされている。さらに、平成 18 年度に第 6 次水質総量規制が策定され、平成 19 年度から削減計画（目標：平成 21 年度）が進行している²⁾。市町村により、工場・事業所排水について“全窒素”立入検査が行われるケースも多々ある。“全窒素”は頻度多く測定され、定量値の信頼性確保は重要である。

“全窒素”とは、あらゆる形態の窒素化合物の全量と云う意味であり、分析手順の中でさまざまな窒素化合物を一つの窒素化合物（典型的には硝酸イオン）に変換した後に、定量操作を行っている。要約すれば、有機態窒素化合物から硝酸イオンに変換する操作を各ラボが再現性よく行うことが信頼性担保のベースである。しかし、これまでの報告において、例えばアミノ酸のような有機態窒素化合物を用いて共同実験を行ったものは見当たらない。アミノ酸を水に溶解した試料を共同実験試料として、どの程度の所間再現性があるかを把握することは極めて重要なことである。

埼玉県環境計量協議会技術委員会は、測定値の精度を向上させ、信頼性を高めることを目的として、分析共同実験を行い会員の技術向上を図ることを使命としている。平成 19 年度第 2 回のテーマは、上述の観点から“アミノ酸を含む水試料中の全窒素定量共同実験”とした。

2. 共同実験の実施内容

2. 1 共同実験配布試料

(1) 試料 A

関東化学製 L-アラニン { $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ = 89.09、純度（乾燥後）：min 99.0%} 4.30g をイオン交換純水 15L に溶解した。引き続きかき混ぜながら個々の容器（250mL の PE 瓶）に小分けして、各社配布の共同実験試料とした。調製目標濃度は次の計算により 45.1mg-N/L になる。

$$\begin{array}{ccccccc} 4.30\text{g} & \times & 14.007 & \div & 89.09 & \times & 1000 \div 15 = 45.1 \text{ mg-N/L} \\ \text{(採取量)} & & \text{(N の原子量)} & & \text{(試薬の分子量)} & & \text{(単位換算)} \quad \text{(溶解水の量)} \end{array}$$

(2) 試料 B

関東化学製グリシン ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$ = 75.07、純度：min 99.0%) 4.43g をイオン交換純水 15L に溶解した。引き続きかき混ぜながら個々の容器（250mL の PE 瓶）に小分けして、各社配布の共同実験試料とした。調製目標濃度は次の計算により 55.1mg-N/L になる。

$$\begin{array}{ccccccc} 4.43\text{g} & \times & 14.007 & \div & 75.07 & \times & 1000 \div 15 = 55.1 \text{ mg-N/L} \\ \text{(採取量)} & & \text{(N の原子量)} & & \text{(試薬の分子量)} & & \text{(単位換算)} \quad \text{(溶解水の量)} \end{array}$$

2. 2 共同実験参加事業所

表1の31事業所からの参加が得られた。

表1 共同実験(水試料中の全窒素分析)参加事業所

番号	事業所名	番号	事業所名
1	浅野テクノロジー(株)	17	(株)ジャパンエナジー 精製技術センター
2	エヌエス環境(株) 東京技術センター	18	大日本インキ環境エンジニアリング(株) 戸田事業所
3	(株)宇部三菱セメント研究所 埼玉センター	19	(株)高見沢分析化学研究所
4	(財)化学物質評価研究機構	20	寺木産業(株)
5	(株)環境管理センター 北関東支社	21	(株)テルナイト 東京技術センター
6	(株)環境技研	22	(株)東京久栄
7	(株)環境工学研究所	23	東芝ナノアナリシス(株) 第一分析評価センター
8	(株)環境総合研究所	24	東邦化研(株)
9	(株)環境テクノ	25	内藤環境管理(株)
10	関東化学(株) 草加工場 検査部	26	日本化学産業(株) 分析センター 技術課
11	(株)関東環境科学	27	日本総合住生活(株) 技術開発研究所
12	協和化工(株)	28	(株)ビー・エム・エル 総合研究所
13	共和技術(株) JEPテクノセンター	29	三菱マテリアル資源開発(株) 環境技術センター
14	(社)埼玉県環境検査研究協会	30	(株)メデカジャパン・ラボラトリー
15	埼玉ゴム工業(株) 環境メッシュ	31	山根技研(株)
16	(株)産業分析センター		

2. 3 実験要領

(1) 送付試料

2.1で調製した試料A及びBを、各事業所宛に各1本送付した。

(2) 分析項目及び分析方法

配布した水試料中の全窒素濃度の報告を求めることとした。分析方法は特に指定せず、日頃採用している方法で行って欲しいと要請した。なお、試料A及びBについて、日を変えて2回繰り返し測定を行った結果(濃度)を報告してもらった。

(3) 実験条件のアンケート調査

共同実験に参加した会員各事業所には、実験条件に関するアンケート調査を実施した。

3. 実験結果と考察

3. 1 データ整理

3. 1. 1 回答内容

会員各事業所による試料の測定結果は、表2のとおりであった。なお、表1と表2の並び方は特に対応のないランダムの関係である。

表2 水試料中の全窒素定量共同実験結果一覧

分析機関	試料Aの測定結果(mg/L)				試料Bの測定結果(mg/L)				分析日	
	1回目	2回目	平均	範囲	1回目	2回目	平均	範囲	1回目	2回目
	L-1	46.8	46.6	46.70	0.2	57.1	57.3	57.20	0.2	2/12
L-2	44.1	45.6	44.85	1.5	55.4	54.8	55.10	0.6	1/31	2/14
L-3	43.2	44.5	43.85	1.3	54.1	54.6	54.35	0.5	2/5	2/19
L-4	45.3	45.2	45.25	0.1	57.0	56.9	56.95	0.1	1/25	2/1
L-5	43.4	43.0	43.20	0.4	51.4	51.7	51.55	0.3	1/31	2/5
L-6	48.1	50.2	49.15	2.1	55.6	57.0	56.30	1.4	2/13	2/19
L-7	45.4	46.8	46.10	1.4	57.2	55.7	56.45	1.5	2/12	2/19
L-8	49.8	46.6	48.20	3.2	59.4	58.1	58.75	1.3	2/14	2/18
L-9	49.5	48.8	49.15	0.7	58.2	57.5	57.85	0.7	2/12	2/14
L-10	45.1	45.3	45.20	0.2	55.0	55.5	55.25	0.5	1/25	1/29
L-11	44.8	43.8	44.30	1.0	53.2	52.5	52.85	0.7	1/28	2/5
L-12	44.7	45.0	44.85	0.3	55.6	54.7	55.15	0.9	2/7	2/19
L-13	50.7	50.7	50.70	0.0	59.7	59.7	59.70	0.0	2/26	2/27
L-14	44.6	45.2	44.90	0.6	54.7	55.0	54.85	0.3	1/28	1/31
L-15	42.1	43.1	42.60	1.0	53.6	53.3	53.45	0.3	1/24	2/1
L-16	52.3	50.8	51.55	1.5	60.0	60.8	60.40	0.8	1/31	2/5
L-17	47.6	44.4	46.00	3.2	56.0	56.2	56.10	0.2	2/28	2/29
L-18	38.4	39.3	38.85	0.9	46.2	47.6	46.90	1.4	1/23	1/24
L-19	45.9	46.1	46.00	0.2	58.2	58.6	58.40	0.4	1/30	1/30
L-20	44.9	44.5	44.70	0.4	54.9	55.6	55.25	0.7	1/29	1/30
L-21	44.7	44.1	44.40	0.6	53.6	53.5	53.55	0.1	1/29	1/30
L-22	36.4	36.9	36.65	0.5	41.6	42.8	42.20	1.2	1/24	1/25
L-23	40.4	40.4	40.40	0.0	50.1	50.4	50.25	0.3	1/28	2/1
L-24	46.1	46.1	46.10	0.0	55.7	57.6	56.65	1.9	1/25	2/1
L-25	44.6	44.9	44.75	0.3	54.6	54.9	54.75	0.3	1/30	2/1
L-26	45.9	45.7	45.80	0.2	58.0	57.2	57.60	0.8	1/25	2/1
L-27	41.6	41.0	41.30	0.6	52.5	51.5	52.00	1.0	1/25	2/6
L-28	42.7	43.7	43.20	1.0	53.0	54.2	53.60	1.2	1/28	1/29
L-29	47.2	46.6	46.90	0.6	59.8	60.2	60.00	0.4	1/25	1/30
L-30	39.7	41.3	40.50	1.6	48.2	49.0	48.60	0.8	2/7	2/14
L-31	43.2	42.8	43.00	0.4	52.7	53.0	52.85	0.3	2/23	2/27
総平均	44.8	44.8	44.81		54.6	54.8	54.67			

3. 1. 2 外れ値及びZスコア

各事業所が報告した試料 A の平均値をヒストグラムとして図 1 に示した。表 3 には JIS Z 8402:1999 による Grubbs の標準化係数及び Z スコアを載せ、統計計算のまとめは表 4 に示した。Grubbs 検定の外れ値はなかったが、Z スコアとして L-22 及び L-16 が 3 を超えた。

表3 試料A(全データ)-Grubbsの標準化係数とZスコア

ラボ番号	平均(mg/L) x_i	標準化係数 (STANDARDIZE)	Zスコア
L-1	46.70	0.586	0.861
L-2	44.85	0.013	0.000
L-3	43.85	-0.298	-0.465
L-4	45.25	0.137	0.186
L-5	43.20	-0.499	-0.768
L-6	49.15	1.346	2.000
L-7	46.10	0.400	0.581
L-8	48.20	1.051	1.558
L-9	49.15	1.346	2.000
L-10	45.20	0.121	0.163
L-11	44.30	-0.158	-0.256
L-12	44.85	0.013	0.000
L-13	50.70	1.827	2.721
L-14	44.90	0.028	0.023
L-15	42.60	-0.685	-1.047
L-16	51.55	2.090	3.117
L-17	46.00	0.369	0.535
L-18	38.85	-1.848	-2.791
L-19	46.00	0.369	0.535
L-20	44.70	-0.034	-0.070
L-21	44.40	-0.127	-0.209
L-22	36.65	-2.531	-3.814
L-23	40.40	-1.368	-2.070
L-24	46.10	0.400	0.581
L-25	44.75	-0.019	-0.047
L-26	45.80	0.307	0.442
L-27	41.30	-1.089	-1.651
L-28	43.20	-0.499	-0.768
L-29	46.90	0.648	0.954
L-30	40.50	-1.337	-2.023
L-31	43.00	-0.561	-0.861
Σ	1305.60		

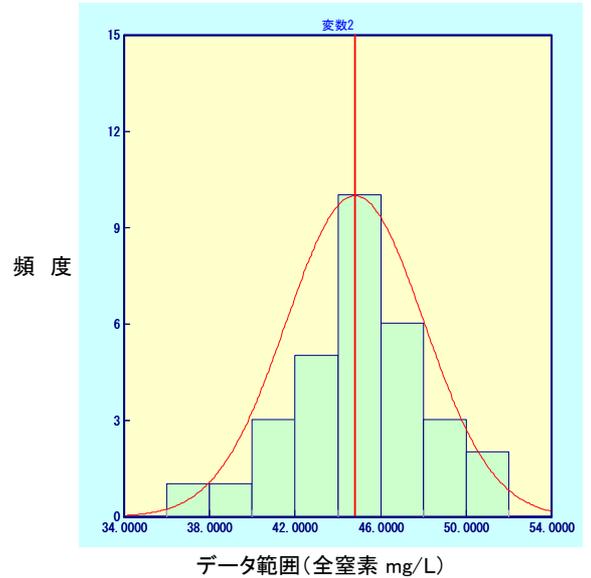


図1 試料A(全データ)のヒストグラム

Grubbs検定の棄却限界値

外れ値が1つの場合の基準(31;0.05)=2.924

外れ値が1つの場合の基準(31;0.01)=3.253

表4 試料A-統計量計算結果

データ数	n	31	中央値	\tilde{x}	44.85
平均値	\bar{x}	44.81	第3四分位数	Q_3	46.10
最大値	max	51.55	第1四分位数	Q_1	43.20
最小値	min	36.65	四分位範囲	IQR	2.90
範囲	R	14.90			0.7413 IQR
標準偏差	s	3.22			2.15
変動係数	(%)	7.2			
分散	s^2	10.4			
ゆがみ	b_1	-0.27			
とがり	b_2	0.73			

試料 B の平均値のヒストグラムを図 2 に示した。表 5 には JIS Z 8402:1999 による Grubbs の標準化係数及び Z スコアを載せ、統計計算のまとめは表 6 に示した。L-22 の標準化係数だけが棄却限界値を超え、Grubbs 検定の外れ値となった。Z スコアとしても L-22 だけが 3 を超えた。

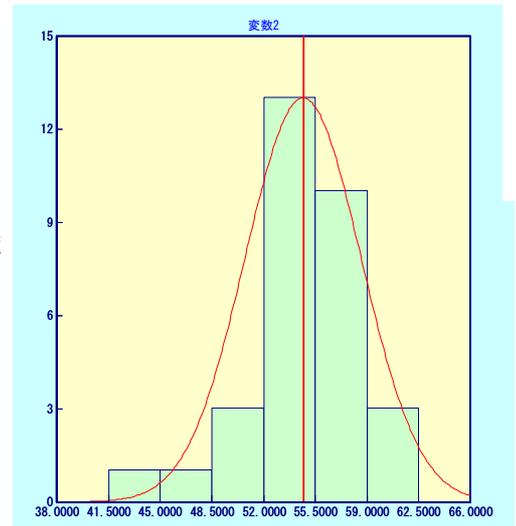
表5 試料B(全データ)－Grubbsの標準化係数とZスコア

ラボ 番号	平均(μ g/L) x_i	標準化係数 (STANDARDIZE)	Zスコア
L-1	57.20	0.645	0.705
L-2	55.10	0.109	-0.017
L-3	54.35	-0.082	-0.275
L-4	56.95	0.582	0.619
L-5	51.55	-0.797	-1.237
L-6	56.30	0.416	0.395
L-7	56.45	0.454	0.447
L-8	58.75	1.041	1.237
L-9	57.85	0.811	0.928
L-10	55.25	0.147	0.034
L-11	52.85	-0.465	-0.790
L-12	55.15	0.122	0.000
L-13	59.70	1.284	1.564
L-14	54.85	0.045	-0.103
L-15	53.45	-0.312	-0.584
L-16	60.40	1.463	1.804
L-17	56.10	0.365	0.327
L-18	46.90	-1.985	-2.835
L-19	58.40	0.952	1.117
L-20	55.25	0.147	0.034
L-21	53.55	-0.287	-0.550
L-22	42.20	-3.185	-4.451
L-23	50.25	-1.129	-1.684
L-24	56.65	0.505	0.516
L-25	54.75	0.020	-0.137
L-26	57.60	0.748	0.842
L-27	52.00	-0.682	-1.083
L-28	53.60	-0.274	-0.533
L-29	60.00	1.360	1.667
L-30	48.60	-1.551	-2.251
L-31	52.85	-0.465	-0.790
Σ	1593.40		

←最大値

←最小値(*)

頻度



データ範囲(全窒素 mg/L)

図2 試料B(全データ)のヒストグラム

Grubbs検定の棄却限界値

外れ値が1つの場合の基準(31;0.05)=2.924

外れ値が1つの場合の基準(31;0.01)=3.253

表6 試料B(全データ)－統計量計算結果

データ数	n	31	中央値	\tilde{x}	55.15
平均値	\bar{x}	54.67	第3四分位数	Q_3	57.08
最大値	max	60.40	第1四分位数	Q_1	53.15
最小値	min	42.20	四分位範囲	IQR	3.93
範囲	R	18.20	0.7413 IQR		2.91
標準偏差	s	3.92			
変動係数	(%)	7.2			
分散	s^2	15.3			
ゆがみ	b_1	-1.24			
とがり	b_2	2.40			

外れ値 (L-22) 除きの試料 B の平均値のヒストグラムを図 3 に示した。表 7 には外れ値除きのデータについての JIS Z 8402:1999 による Grubbs の標準化係数及び Z スコアを載せ、統計計算のまとめは表 8 に示した。

表 7 試料 B (外れ値除き) - Grubbs の標準化係数と Z スコア

ラボ番号	平均(μ g/L) x_i	標準化係数 (STANDARDIZE)	Z スコア
L-1	57.20	0.657	0.737
L-2	55.10	0.004	-0.037
L-3	54.35	-0.230	-0.313
L-4	56.95	0.579	0.645
L-5	51.55	-1.101	-1.344
L-6	56.30	0.377	0.405
L-7	56.45	0.424	0.460
L-8	58.75	1.140	1.308
L-9	57.85	0.860	0.976
L-10	55.25	0.050	0.018
L-11	52.85	-0.697	-0.866
L-12	55.15	0.019	-0.018
L-13	59.70	1.436	1.657
L-14	54.85	-0.074	-0.129
L-15	53.45	-0.510	-0.645
L-16	60.40	1.653	1.915
L-17	56.10	0.315	0.331
L-18	46.90	-2.549	-3.057
L-19	58.40	1.031	1.179
L-20	55.25	0.050	0.018
L-21	53.55	-0.479	-0.608
L-22	50.25	-1.506	-1.823
L-23	56.65	0.486	0.534
L-24	54.75	-0.105	-0.166
L-25	57.60	0.782	0.884
L-26	52.00	-0.961	-1.179
L-27	53.60	-0.463	-0.589
L-28	60.00	1.529	1.768
L-29	48.60	-2.020	-2.431
L-30	52.85	-0.697	-0.866
L-31	52.85	-0.697	-0.866
Σ	1551.20		

←最大値
←最小値

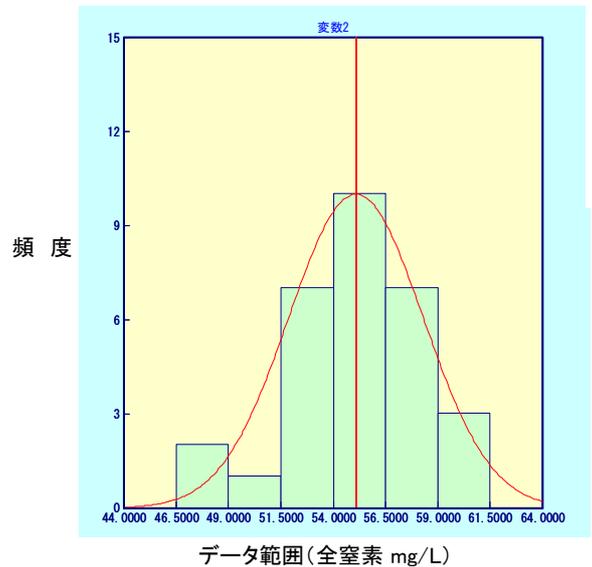


図 3 試料 B (外れ値除き) のヒストグラム

Grubbs 検定の棄却限界値

外れ値が 1 つの場合の基準(30;0.05)=2.908

外れ値が 1 つの場合の基準(30;0.01)=3.236

表 8 試料 B (外れ値除き) - 統計量計算結果

データ数	n	30	中央値	\bar{x}	55.20
平均値	\bar{x}	55.09	第 3 四分位数	Q_3	57.14
最大値	max	60.40	第 1 四分位数	Q_1	53.48
最小値	min	46.90	四分位範囲	IQR	3.66
範囲	R	13.50	0.7413 IQR		2.72
標準偏差	s	3.21			
変動係数 (%)		5.8			
分散	s^2	10.3			
ゆがみ	b_1	-0.59			
とがり	b_2	0.41			

3. 1. 3 繰り返し精度及び再現精度の算出

繰り返し精度 (同じ事業所で繰り返し分析した値の一致の程度) 及び再現精度 (異なる事業所間で測定した値の一致の程度) を算出するため、事業所を因子として分散分析を行った。試料 A の全データについての分散分析表を表 9 に示した。また、試料 B の全データについての分散分析表を表 10 に、外れ値除きデータについて表 11 に示した。

表 9~11 で算出された分析精度及びこれらから導かれる許容差のまとめを表 12 に示す。繰り返し精度は、平均値 45~55mg/L に対し 0.6~0.8mg/L (相対繰り返し精度として 1.0~1.8%) であり、AOAC インターナショナル (以下 AOACI) が共同実験の妥当性確認に用いている

Horwitz の式から求めた規準 (相対繰り返し精度として 5.0%) を大きくクリアーした。結果、算出される許容差は 1.6~2.3mg/L と小さく、どのラボでも安定したデータを出していると言える。再現精度・許容差については、外れ値除きの場合、平均値 45~55mg/L に対し再現精度：3.0~3.2mg/L (相対再現精度として 5.4~7.1%) であり、Horwitz の式から求めた規準 (相対再現精度として 8.0%) をクリアーしていた。再現許容差：8.4~8.9mg/L は問題なく、精度面から評価して全窒素の分析方法は妥当である。

表9 試料A(全データ)の分散分析表 単位:mg/L

要因	平方和	自由度	不偏分散 (V)	分散比	検定	P値(上側)
A:事業所L	623.7642	30	20.79214	30.389	**	$\sigma_e^2 + 2\sigma_b^2$
誤差e	21.21	31	0.68419			σ_e^2
合計	644.9742	61				

$$\text{繰り返し精度} : \sigma_w = \sqrt{V_e} = \sqrt{0.684} = 0.83 \text{ mg/L}$$

$$\text{室間準精度} : \sigma_b \text{ として}$$

$$\text{再現精度} : \sigma_L = \sqrt{(\sigma_b^2 + \sigma_w^2)/r} = \sqrt{\{(V_L - V_e)/2 + V_e/2\}} = \sqrt{(V_L/2)} = 3.22 \text{ mg/L}$$

表10 試料B(全データ)の分散分析表 単位:mg/L

要因	平方和	自由度	不偏分散 (V)	分散比	検定	P値(上側)
A:事業所L	920.0984	30	30.66995	88.982	**	$\sigma_e^2 + 2\sigma_b^2$
誤差e	10.685	31	0.34468			σ_e^2
合計	930.7834	61				

$$\text{繰り返し精度} : \sigma_w = \sqrt{V_e} = \sqrt{0.345} = 0.59 \text{ mg/L}$$

$$\text{室間準精度} : \sigma_b \text{ として}$$

$$\text{再現精度} : \sigma_L = \sqrt{(\sigma_b^2 + \sigma_w^2)/r} = \sqrt{\{(V_L - V_e)/2 + V_e/2\}} = \sqrt{(V_L/2)} = 3.92 \text{ mg/L}$$

表11 試料B(外れ値除き)の分散分析表 単位:mg/L

要因	平方和	自由度	不偏分散 (V)	分散比	検定	P値(上側)
A:事業所L	598.5968	29	20.64127	62.141	**	$\sigma_e^2 + 2\sigma_b^2$
誤差e	9.965	30	0.33217			σ_e^2
合計	608.5618	59				

$$\text{繰り返し精度} : \sigma_w = \sqrt{V_e} = \sqrt{0.332} = 0.58 \text{ mg/L}$$

$$\text{室間準精度} : \sigma_b \text{ として}$$

$$\text{再現精度} : \sigma_L = \sqrt{(\sigma_b^2 + \sigma_w^2)/r} = \sqrt{\{(V_L - V_e)/2 + V_e/2\}} = \sqrt{(V_L/2)} = 3.21 \text{ mg/L}$$

表12 分析精度及び許容差のまとめ

単位:mg/L

	項目	記号	全データ	外れ値除き	Horwitzの式から求めた規準**)
試料A	平均値	\bar{x}	45.02		
	繰り返し精度	σ_w	0.83		
	相対繰り返し精度	RSD _r %	1.84%		5.0%
	再現精度	σ_L	3.21		
	相対再現精度	RSD _R %	7.13%		8.0%
	繰り返し許容差 ^{*)}	$D_2(0.95)\sigma_w$	2.30		
	再現許容差 ^{*)}	$D_2(0.95)\sigma_L$	8.89		
試料B	平均値	\bar{x}	54.94	55.40	
	繰り返し精度	σ_w	0.60	0.59	
	相対繰り返し精度	RSD _r %	1.09%	1.06	5.0%
	再現精度	σ_L	3.86	3.04	
	相対再現精度	RSD _R %	7.03%	5.49	8.0%
	繰り返し許容差 ^{*)}	$D_2(0.95)\sigma_w$	1.66	1.63	
	再現許容差 ^{*)}	$D_2(0.95)\sigma_L$	10.69	8.42	

注*) 許容差の算出における $D_2(0.95)$ は、 $n=2$ の場合の2.77を用いた。

***) 荒木恵美子:「正しいデータを得るための発注の仕方」, <http://www.jsac.or.jp/abstract/nousui2007/araki2007.pdf>, [F. M. Garfield et.al, "Quality assurance Principles for Analytical Laboratories", 3rd Ed, AOACI(2000).]を参考に、濃度0.01%の値を引用した。

3. 2 ユーデンプロットによる考察

試料Aの結果を横軸に試料Bの結果を縦軸に、各分析所のデータをプロットし、図6のとおりユーデンプロットを作成した。また、前回の全りん共同実験のユーデンプロットとの重ね合わせを、それぞれの平均値を50に規格化して(各ラボの定量値を全ラボの平均値で割り、50を掛けた)図7に示す。

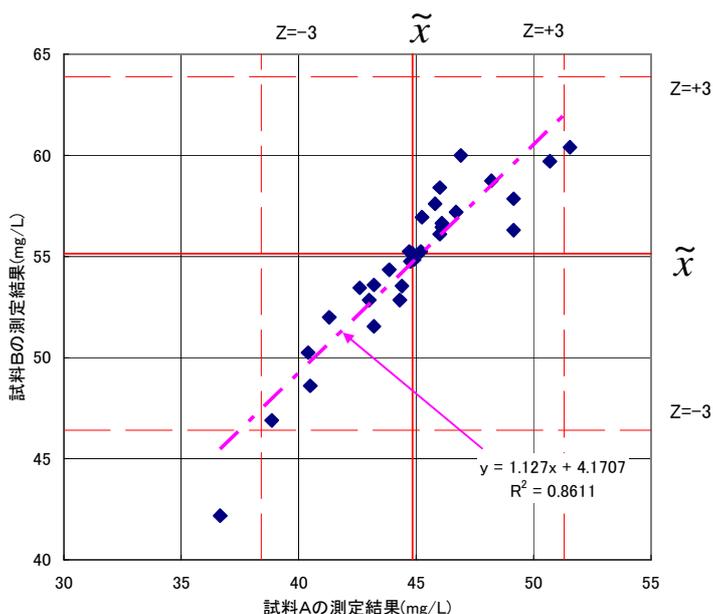


図6 ユーデンプロット(全データ)

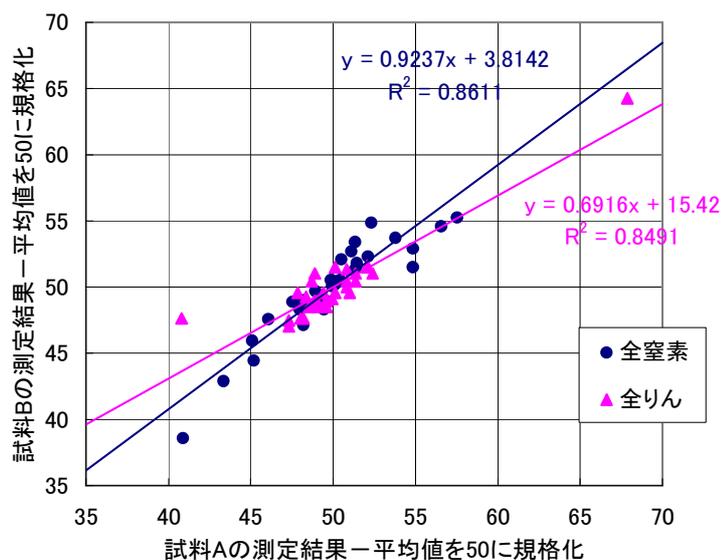


図7 全りんと全窒素のユーデンプロット重ね合わせ

図6及び7において、全窒素の結果は

「試料 A が高ければ試料 B も高く、試料 A が低ければ試料 B も低い」という系統誤差の傾向がはっきり現れている。一方、図 7 の全りんでは、外れ値以外のデータでは系統誤差が小さかった。参加ラボがほぼ同じで、主な分解法も同じ（ペルオキシ二硫酸カリウムによる加圧・加熱分解）でありながら、全窒素と全りんの分析で何が違うのであろうか。

系統誤差の原因として、①検量線用標準溶液の濃度の正確さなど各ラボのキャリブレーションの差に由来する（りん標準溶液に比べて窒素標準溶液は、各ラボによってばらついている）、②L-アラニン及びグリシンを分解して硝酸イオンに変換する完全さが各ラボで違うことによる（全りんの分析でアデノシン 5'-三りん酸の分解は各ラボで違いはなかったが、今回のアミノ酸の分解では違いが大きい）などを推察したが、確証がなく断定できない。今後の課題である。

3. 3 考察（アンケート回答と定量結果）

アンケート方式で訊ねた各事業所で採用している分析条件一覧は、表 13 のとおりであった。

(1) 分解方法及び窒素の形態変換・分離

各事業所が採用した分解方法は、1社がケルダール分解である他（30社）は、ペルオキシ二硫酸カリウムによる加圧・加熱分解法であった。臭素イオン、クロム、多量の有機物を含む場合は、これらが妨害して誤差になることから適用できないが、対抗の総和法に比べて操作が格段に簡便なペルオキシ二硫酸カリウムで分解し硝酸イオンの紫外吸収を測定する方法が専ら採用されている。3社において、硝酸イオンに変換した後に亜硝酸イオンに還元する方法が使われた。

(2) 検量線用標準物質

関東化学又は和光純薬製のさまざまな窒素標準物質が用いられた。固体では①特級試薬の硝酸カリウム、②純度 99.9%の硝酸カリウムが、水溶液では③水質試験用窒素標準液、④排水試験用窒素標準液、⑤アンモニウムイオン標準液（JCSS）、⑥イオンクロマトグラフィー用硝酸性窒素標準原液、⑦化学分析用硝酸性窒素標準原液があった。標準物質の信頼性は極めて重要であるが、特定の標準物質の使用と定量結果との因果関係はなさそうに見える。

(3) 簡易、自動分析法

表 13 の分析装置欄には、連続流れ方式と呼ばれる自動化学分析装置（ビーエルテック製 SWAAT 型、TRAACS 型、AACS4 型×2）が 4 台ある。また、使い方の詳細は不明である（検量線の作成及び校正標準液が不要ともメーカーが謳っている）が、自動プログラム分析方式の装置（HACH 製 DR-4000U 型）も見られる。何れにせよ、L-アラニン及びグリシンを含む水溶液を共同実験試料として配布した今回の結果において、問題なかった。

表 1 3 全窒素定量共同実験の条件報告一覧

分析機関	分解方法	窒素の形態変換・分離	定量系	分析装置		検量線用標準		
				メーカー	型式	メーカー	種類	濃度 (mg/L)
L-1	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UVmini: 1240	和光	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-2	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2001	和光	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-3	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-1100	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-4	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換→ 亜硝酸イオンに還元	ナフチルエチレンジアミン 吸光度測定	ビーエル テック	SWAAT	和光	窒素標準液 (水質試験用)	1000
L-5	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2001	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-6	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2010	関東	窒素標準液 (水質試験用)	1000
L-7	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換→ 亜硝酸イオンに還元	ナフチルエチレンジアミン 吸光度測定	ビーエル テック	TRAACS-800	—	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-8	ケルダール分解	アンモニア蒸留	イオンクロマトグラフ法	ダイオネ クス	ICS-1500	和光	アンモニウムイオン標準液 (JCSS)	—
L-9	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2010	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-10	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UV-1600	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-11	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UV-2550	和光	窒素標準液 (排水試験用)	1000
L-12	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2000	和光	窒素標準液 (水質試験用)	1000
L-13	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UV-160A	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-14	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2000A	関東	硝酸性窒素標準原液 (イオンクロマトグラフ用)	100
L-15	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-3310	和光	硝酸カリウム (99.9%)	—
L-16	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UV-2450	関東	窒素標準液 (水質試験用)	1000
L-17	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UV-2200	関東	窒素標準液 (水質試験用)	1000
L-18	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日本分光	V-560	純正	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-19	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換→ 亜硝酸イオンに還元	ナフチルエチレンジアミン 吸光度測定	ビーエル テック	AACS4	関東	硝酸性窒素標準原液 (化学分析用)	—
L-20	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UV-1600	和光	窒素標準液 (排水試験用)	1000
L-21	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2800	—	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-22	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-1100	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-23	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-1800	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-24	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UV-2450	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-25	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	ビーエル テック	AACS4	和光	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-26	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	島津	UVmini: 1240	和光	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-27	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-1100	関東	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-28	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2800	和光	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-29	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	HACH	DR-4000	関東	窒素標準液 (水質試験用)	1000
L-30	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-1800	—	硝酸カリウム (特級試薬)	—
L-31	K ₂ S ₂ O ₈ 分解	硝酸イオンに変換	紫外吸収測定	日立	U-2000	和光	硝酸カリウム (特級試薬)	—

4. まとめ

L-アラニン及びグリシンを含む水溶液を共同実験試料として配布し、全窒素定量共同実験を行った。

- (1) 繰り返し精度は、良い数値（平均値 45～55mg/L に対し 0.6～0.8mg/L）であった。算出される許容差は小さく、どのラボでも安定したデータを出していると推察された。
- (2) 外れ値除きの所間再現精度は、平均値 45～55mg/L に対し再現精度：3.0～3.2mg/L（相対再現精度として 5.4～7.1%）であり、AOACI の共同実験妥当性の規準（Horwitz の式から求めた値：相対再現精度として 8.0%）を満たした。
- (3) ユーデン・プロットは、右上がりに相関性強く展開し、系統誤差の傾向がはっきり現れた。前回の全りんに比べて系統誤差が大きかったこととの違いの原因は、推察したものの確証がなく断定できなかった。
- (4) 連続流れ方式と呼ばれる自動化学分析装置及び自動プログラム分析方式の装置が、簡易、自動分析法として用いられたが遜色ないデータを得た。

参考文献

- 1) 環境庁、「“第5次水質総量規制の在り方について”に係る中央環境審議会答申及び第5次水質総量規制における総量規制基準等に係る中央環境審議会への諮問について」,
<http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=1721> (2000年).
- 2) 環境庁、「第6次水質総量規制の在り方について（答申）」,
<http://www.env.go.jp/council/toshin/t097-h1703.html> (2005年).

以上