

肥料研究報告

第12号

2019年

Research Report of Fertilizer

Vol. 12

2019



独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
Food and Agricultural Materials Inspection Center
(Incorporated Administrative Agency)

Saitama, Japan

はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)は、農林水産行政と密接に連携しつつ、農業生産資材(肥料, 農薬, 飼料及び土壌改良資材)や食品を対象として科学的な検査・分析を行い、農業生産資材の安全の確保, 食品等の品質の改善・表示の適正化等に技術で貢献することを使命に掲げ、検査業務に取り組んでいます。

肥料及び土壌改良資材については、肥料取締法に定められている肥料の登録及び仮登録の申請に関する業務, 肥料事業者等への立入検査に関する業務, 肥料公定規格の設定等に関する業務と、地力増進法に定められている土壌改良資材の立入検査業務等を行うことで、肥料等の品質の保全に貢献しています。これらの調査・検査における分析については、要求される性能を有する方法を用いて、精度管理を適切に行い、信頼できる分析値を得ることが重要となります。

このため、FAMICでは日進月歩する分析機器を導入した迅速・効率的な分析法の開発と妥当性の確認, 肥料認証標準物質の設定及び安定性に関する試験, 全国肥料品質保全協議会と共同での外部精度管理試験などの調査研究に取り組んでいます。

「肥料研究報告」は、これらの試験法の妥当性の確認や試験成績の信頼性の確保に関する調査研究のほか、農林水産省からの要請によるクライテリアアプローチの導入に必要な既存の試験法の性能調査, 肥料由来の有害成分の土壌中での挙動や作物への吸収調査に加え、既存の分析方法の改良や肥料に用いられる原材料等の顕微鏡写真の集積など、日頃の業務の中から見いだされた課題に検討を加え、得られた知見を取り纏めたものです。

最後に、本研究報告が肥料の品質の保全の一助となることを期待するとともに、関係各位の皆様には、FAMICの技術レベルの向上のために、引き続き御指導, 御鞭撻を賜りますよう、お願い申し上げます。

2019年12月

独立行政法人農林水産消費安全技術センター
理事長 木内 岳志

肥料研究報告 第 12 号

- 2019 -

目 次

<試験法等の検討及び妥当性確認>

- 1 汎用的な機器を用いた肥料中のけい酸の抽出方法
..... 八木寿治, 佐久間健太 1
- 2 肥料中のほう素の測定法の改良
..... 山西正将 10
- 3 ICP-OES 法による固形肥料中の水溶性主成分の測定法の開発
..... 船木紀夫 28
- 4 ICP-MS 法による肥料中の有害成分の測定
..... 坂井田里子, 大島舞弓, 青山恵介, 白井裕治 52
- 5 液体クロマトグラフタンデム質量分析(LC-MS/MS)法による堆肥等中のクロピラリドの測定法の改良
..... 中村信仁, 小塚健志, 白井裕治 69
- 6 窒素試験法の性能評価 - 共同試験成績 -
..... 平田絵理香, 添田英雄, 吉村英美, 八木啓二 84
- 7 リン酸試験法の性能評価 - 共同試験成績 -
..... 平原稔夫, 阿部進, 恵智正宏 94
- 8 加里試験法の性能評価 - 共同試験成績 -
..... 顯谷久典, 加藤公栄 109

<調査・試験業務>

- 9 汚泥肥料の連用によるカドミウム等の土壌への蓄積, 作物への吸収試験(継続)
..... 青山恵介, 松尾信吾, 小塚健志, 村山和晃, 八木寿治,
齋藤晴文, 佐久間健太, 阿部文浩 123

<試験成績の信頼性確保関連>

- 10 2018年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析
..... 加藤まどか, 義本将之, 恵智正宏, 山岡孝生, 神川孝文, 平田絵理香,
白井裕治, 引地典雄 136
- 11 2018年度 肥料認証標準物質の開発 - 汚泥発酵肥料 FAMILIC-C-18 の調製 -
..... 清水昭, 坂井田里子, 加藤まどか, 大島舞弓,
中村信仁, 秋元里乃, 白井裕治 160
- 12 2018年度 肥料認証標準物質の開発 - 高度化成肥料 FAMILIC-A-13, 普通化成肥料 FAMILIC-B-14,
汚泥発酵肥料 FAMILIC-C-12-2 及び高度化成肥料 FAMILIC-A-17 の長期安定性評価 -
..... 稲葉茂幸, 川口伸司, 神川孝文, 船木紀夫, 山西正将,
井上直, 白井裕治 175

<ノート>

- 13 肥料鑑定データベースの拡充 - 顕微鏡観察 -
..... 平田絵理香, 添田英雄, 吉村英美, 八木啓二 195

<資料>

- 14 試験紙による肥料成分の検出
- 肥料中のアンモニア性窒素及びりん酸含有量の測定手法の検討 -
..... 神戸センター 肥料検査課 208

Research Report of Fertilizer Volume 12

– 2019–

Index

<Development and Validation for Determination Methods>

1	Extraction Method for the Silicic Acid in the Fertilizer using a General-Purpose Equipment Toshiharu YAGI, kenta SAKUMA	1
2	Improved Determination Method of Boron (B_2O_3) in Fertilizer Masayuki YAMANISHI	10
3	Simultaneous Determination of Water-soluble Principal Ingredients (W- P_2O_5 , W- K_2O , W- MgO , W- MnO and W- B_2O_3) in Fertilizer using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) Norio FUNAKI	28
4	Determination of Harmful components in Fertilizers using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (ICP-MS) Satoko SAKAIDA, Mayu OSHIMA, Keisuke AOYAMA, Yuji SHIRAI	52
5	Improvement of Microanalysis Determination of Clopyralid in Compost and Composted Sludge Fertilizer by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) Nobuhito NAKAMURA, Kenji KOZUKA, Yuji SHIRAI	69
6	Performance Evaluation of Determination Method for Nitrogen in Fertilizer : Harmonized Collaborative Validation Erika HIRATA, Hideo SOETA, Hidemi YOSHIMURA, Keiji YAGI	84
7	Performance Evaluation of Determination Method for Phosphoric Acid in Fertilizer : Harmonized Collaborative Validation Toshio HIRABARA, Shin ABE, Masahiro ECHI	94
8	Performance Evaluation of Determination Methods for Potassium in Fertilizer : Harmonized Collaborative Validation Hisanori ARAYA, Kimie KATO	109

< Investigation and Research >

- 9 Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report)-Winter 2017 and Summer 2018-
... Keisuke AOYAMA, Shingo MATSUO, Kenji KOZUKA, Kazuaki MURAYAMA,
Toshiharu YAGI, Harufumi SAITO, Kenta SAKUMA, Fumihiko ABE 123

< Assurance Practices for Reliable Analytical Data >

- 10 Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements in Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2018
..... Madoka KATO, Masayuki YOSHIMOTO, Masahiro ECHI, Takao YAMAOKA,
Takafumi KAMIKAWA, Erika HIRATA, Yuji SHIRAI, Norio HIKICHI 136
- 11 Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components, Organic Carbon and Harmful Components : Sludge Fermented Fertilizer (FAMIC-C-18)
..... Akira SHIMIZU, Satoko SAKAIDA, Madoka KATO, Mayu OSHIMA,
Nobuhito NAKAMURA, Satono AKIMOTO, Yuji SHIRAI 160
- 12 Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements: High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-13 and FAMIC-A-17), Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-14) and Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12-2)
..... Shigeyuki INABA, Shinji KAWAGUCHI, Takafumi KAMIKAWA,
Norio FUNAKI, Masayuki YAMANISHI, Tadashi INOUE, Yuji SHIRAI 175

< Note >

- 13 Observation for Sludge Fertilizer and Compost with a Stereomicroscope ; Expanding Database for Detection Method of Fertilizer by Microscopy
..... Erika HIRATA, Hideo SOETA, Hidemi YOSHIMURA, Keiji YAGI 195

< Information >

- 14 Detection of Fertilizer Components Using Test Paper : Examination of Measurement Method of Ammonium Nitrogen and Phosphate Contents in Fertilizer
..... Kobe Regional Center Fertilizer Inspection Section 208

1 汎用的な機器を用いた肥料中のけい酸の抽出方法

八木寿治¹, 佐久間健太¹

キーワード 振とう恒温水槽, 可溶性けい酸, 水溶性けい酸, 肥料, 単一試験室による妥当性確認

1. はじめに

鉍さいけい酸質肥料等中の可溶性けい酸試験法及び液体けい酸加里肥料中の水溶性けい酸試験法は、公定法である肥料分析法¹⁾や妥当性が確認された方法を収載している肥料等試験法²⁾に記載されている。これら試験法の中で、抽出操作は、可溶性けい酸試験法は恒温上下転倒式回転振り混ぜ機による方法が規定されており、水溶性けい酸試験法は、上下転倒式回転振り混ぜ機による方法が規定されている³⁾。両回転振り混ぜ機は肥料以外の分析法には用いられていないこと及び、恒温上下転倒式回転振り混ぜ機は特注品であることから、回転振り混ぜ機を用いない抽出方法の開発について、肥料業者や分析機関から要望が寄せられていた。

一方、独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)では近年、回転振り混ぜ機を用いない抽出方法の検討を進めている。液状肥料の水溶性主成分の簡易抽出方法⁴⁾、固形肥料の水溶性主成分の垂直往復振とう機を用いた抽出方法⁵⁾、固形肥料の可溶性主成分の振とう恒温水槽を用いた抽出方法⁶⁾について検討を行い、いずれも満足する結果を得た。今回は、鉍さいけい酸質肥料等中の可溶性けい酸(S-SiO₂)についての振とう恒温水槽による抽出方法と、液体けい酸加里肥料中の水溶性けい酸(W-SiO₂)についての簡易抽出方法を検討したので、その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

可溶性けい酸の試験には、分析用試料として、いずれも流通している熔成りん肥 2 点、熔成けい酸りん肥 3 点、加工鉍さいりん酸肥料 1 点、混合りん酸肥料 5 点、混合加里肥料 4 点、鉍さいけい酸質肥料 7 点、軽量気泡コンクリート粉末肥料 2 点、けい酸加里肥料 1 点(計 25 点)を、目開き 212 μm のふるいを全通するまで粉碎したものをを用いた。また、水溶性けい酸の試験には、液体けい酸加里肥料 3 点をそのまま用いた。

2) 試薬

(1) 水: 水精製装置(Merck Millipore Elix Advantage 5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 の水。

(2) 1/6 mol/L 水酸化ナトリウム溶液: ISO/IEC 17025 対応容量分析用 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液(関東化学)500 mL に水 2500 mL を加えて調製した。調製した溶液を、容量分析用 アミド硫酸溶液(関東化学)を用いて標定し使用した。

(3) 塩酸: JIS K 8180 特級試薬(関東化学)。

(4) 塩化カリウム: JIS K 8121 特級試薬(関東化学)。

(5) 塩化カリウム溶液: JIS K 8101 特級エタノール(関東化学)250 mL を水 750 mL に加えて混合し、塩化カリウム 150 g を加えて溶かした。指示薬としてメチルレッド溶液(0.1 g/100 mL)数滴を加え、溶液の色が赤色になるまで塩酸を滴下して酸性とし、1日間放置後 1/6 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で中和した。

¹ 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

- (6) ふっ化カリウム溶液: JIS K 8815 特級試薬 ふっ化カリウム(関東化学) 58 g を水 1000 mL に溶かした.
- (7) メチルレッド溶液(0.1 g/100 mL): JIS K 8896 メチルレッド 0.10 g を JIS K 8102 エタノール(95) 100 mL に溶かした.
- (8) フェノールフタレイン溶液(1 g/100 mL): JIS K 8799 フェノールフタレイン 1 g を JIS K 8102 エタノール(95) 100 mL に溶かした.
- (9) その他の試薬: 肥料等試験法²⁾に従った.

3) 装置及び器具

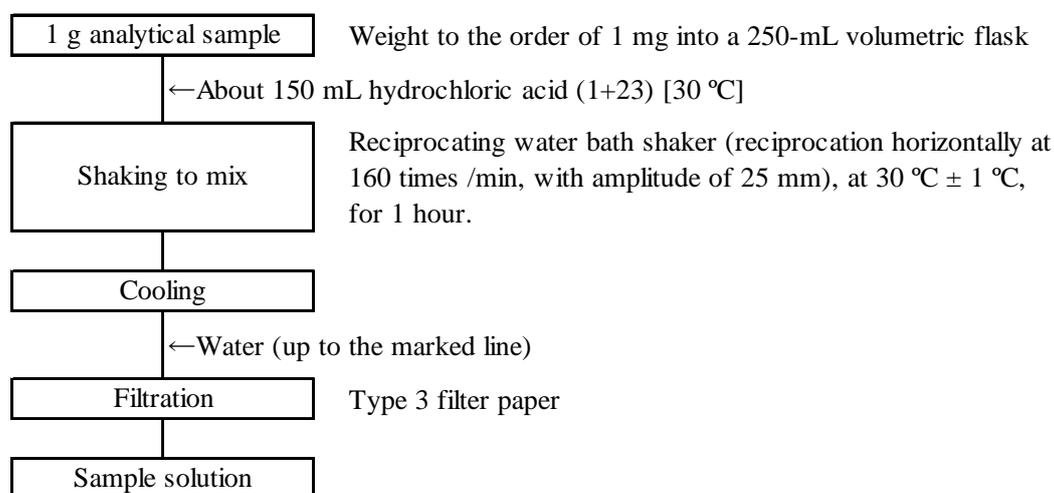
- (1) 電子天びん: sartorius CPA423S
- (2) 振とう恒温水槽: タイテック MM-10(ツメクランプ CF-0250 を用い全量フラスコ 250 mL を水面に対して垂直に固定した)
- (3) (恒温)上下転倒式回転振り混ぜ機: 三喜製作所 RS-12
- (4) ホットプレート: 柴田科学 NP-6, ADVANTEC HTP552AA
- (5) アスピレーター: AS ONE AS-01
- (6) 電動ビュレット: 京都電子工業 APB-620
- (7) 電位差自動滴定装置: 京都電子工業 CHA-600-12, AT-610

4) 分析方法

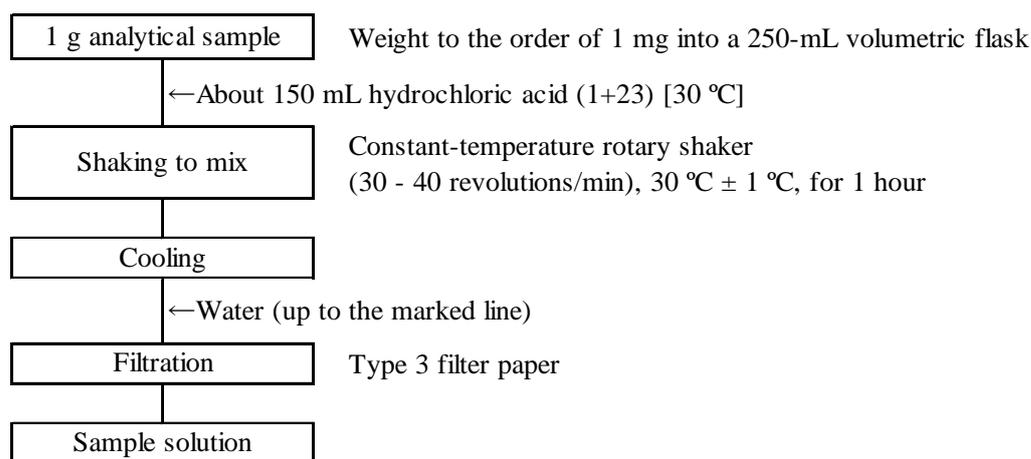
可溶性けい酸の測定は, 試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり, 全量フラスコ 250 mL に入れ, 30 °C に加温した塩酸(1+23) 150 mL を加え, 30 °C の振とう恒温水槽で 1 時間振り混ぜ冷却した後, 水で定容し, ろ紙 3 種でろ過し試料溶液とした(Scheme 1). また, 方法間比較による真度の評価に使用した従来の恒温上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出手順を Scheme 2 に示した.

一方, 水溶性けい酸の測定は, 試料 5 g を 1 mg の桁まではかりとり, 全量フラスコ 500 mL に入れ, 水 400 mL を加え, 振り混ぜた後水で定容し, ろ紙 3 種でろ過し試料溶液とした(Scheme 3). また, 方法間比較による真度の評価に使用した従来の上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出手順を Scheme 4 に示した.

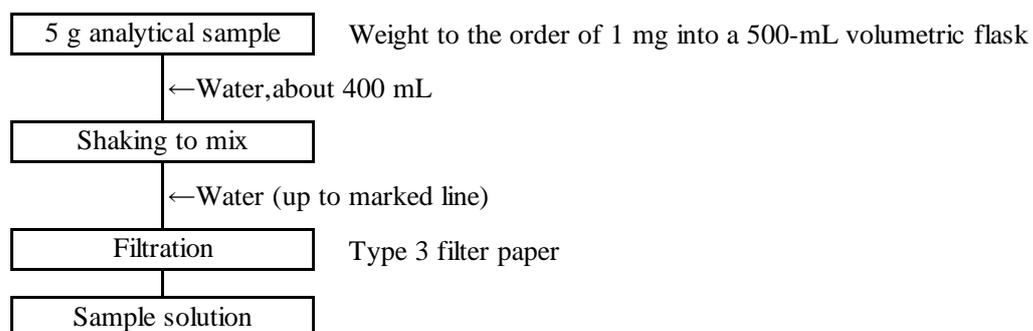
これらの試料溶液について, 滴定法(Scheme 5)の手順でそれぞれ測定した.



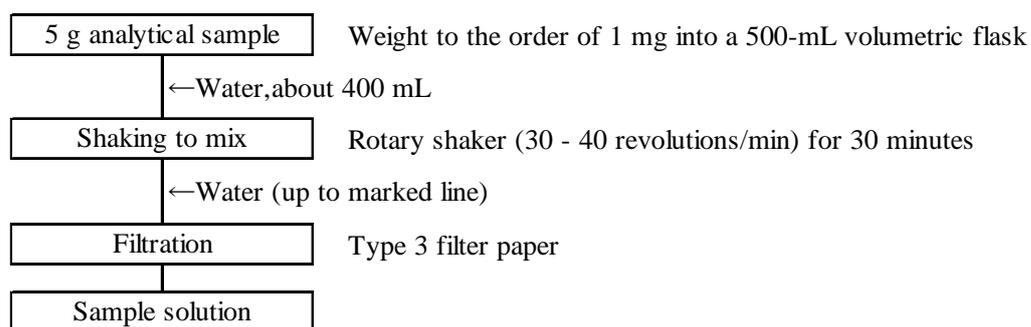
Scheme 1 The flow sheet of extraction procedure using reciprocating water bath shaker



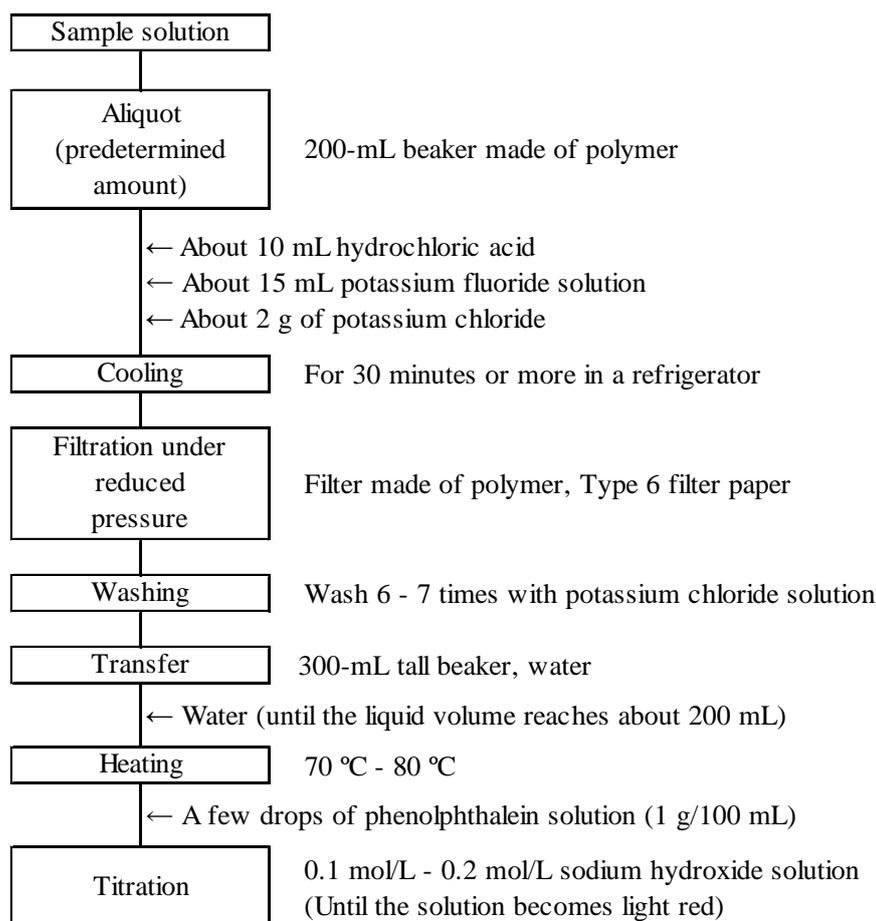
Scheme 2 The flow sheet of extraction procedure using constant-temperature rotary shaker



Scheme 3 The flow sheet of simple extraction procedure



Scheme 4 The flow sheet of extraction procedure using rotary shaker



Scheme 5 Flow sheet for soluble silicic acid and water-soluble silicic acid in fertilizers (measurement procedure)

3. 結果及び考察

1) 振とう恒温水槽の機器設定の確認

可溶性けい酸について振とう恒温水槽を用いた抽出における機器設定の条件の検討を行った。サンプルの固着が発生しやすい溶成りん肥及び鉍さいけい酸質肥料を用いて、振とう回数 160 往復/分において振幅条件を 10 mm, 20 mm, 30 mm 及び 40 mm と変えて分析を行い、全量フラスコへの固着状況及び定量値への影響の確認を行った。結果を Table 1 に示した。振幅 10 mm では固着及び抽出不足による定量値への影響が認められたが、振幅 20 mm 以上では固着及び定量値への影響は認められなかった。さらに、振幅 25 mm における抽出を確認するため、メディアンが既知の鉍さいけい酸質肥料 1 点を用いて、可溶性けい酸(S-SiO₂)について定量した結果を Table 2 に示した。z スコアが 2 以下であり十分満足する結果であった。

振とう回数、振幅が抽出に影響を与えることは、杉村が報告した「汎用的な機器を用いた肥料中のく溶性主成分の抽出方法」⁶⁾により確認されており、今回の検討とは抽出溶媒及び測定対象成分が異なるが、160 往復/分、振幅 20 mm～40 mm では固着が認められず、定量値への影響がなかったことが確認されている。その後、余裕をみて振幅 25 mm で検討が進められ、最終的に肥料等試験法には 160 往復/分、振幅 25 mm～40 mm の条件が記載された。

以上のことから、く溶性主成分との同時並行の抽出操作が行われることも想定し、今回の検討においても、振とう恒温水槽の振とう回数及び振幅の機器設定をそれぞれ 160 往復/分、振幅 25 mm とすることとした。

Table 1 Relation between the adherence situation in sample, quantitative value and amplitude

Amplitude (mm)	Slag silicate fertilizer		Molten fertilizer	
	Quantitative value ^{a)} (%) ^{b)}	Adherence situation	Quantitative value (%) ^{b)}	Adherence situation
10	35.58	Admitted	25.20	Admitted
20	37.10	—	27.24	—
30	37.02	—	27.16	—
40	37.10	—	27.11	—

a) Mean value ($n = 2$)

b) Mass fraction

Table 2 Aptitude test result for equipment condition

Sample	S-SiO ₂ mean ^{a)} (%) ^{b)}	Standard deviation (%) ^{b)}	Median (%) ^{b)}	z -score
Slag silicate fertilizer	37.29	0.29	37.22	0.11

a) Mean value ($n = 3$) (reciprocation horizontally at 160 times /min, with amplitude of 25 mm)

b) Mass fraction

2) 方法間比較による真度の評価

可溶性けい酸(S-SiO₂)について、試料 25 点を用いて、恒温上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出方法と本法との測定値の相関並びに本法の 95 % 予測区間を回帰直線の周囲に描き Figure 1 に示した。

可溶性けい酸(S-SiO₂) ($y=0.250+0.987x$, $r=0.999$)の傾きの 95 % 信頼区間は 0.964~1.010, 切片の 95 % 信頼区間は -0.366~0.865 であり、肥料等試験法に示されている真度評価の推奨範囲と照らし合わせたところ、性能パラメータは真度評価の推奨範囲内であった。

また、水溶性けい酸(W-SiO₂)は濃度の異なる試料 3 点を用いて、上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出方法と、手振り振とうによる簡易抽出方法によりそれぞれ 4 点併行で試験を実施し、 F 検定により等分散性を確認した後、 t 検定により対応する平均値を比較した (Table 3)。いずれの濃度においても有意な差は認められなかった。

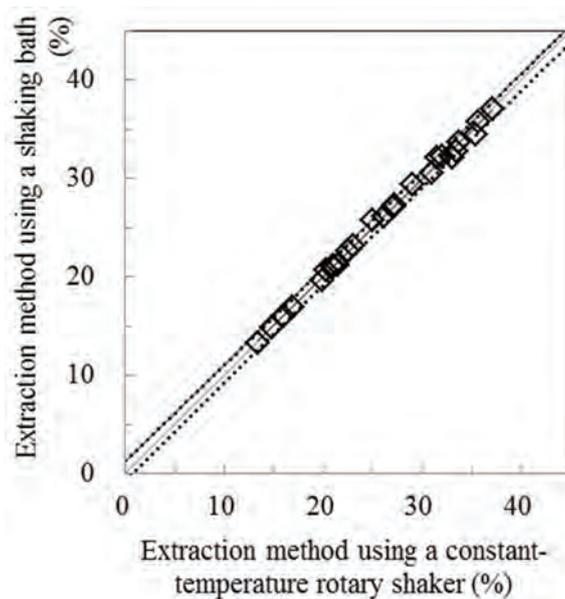


Figure 1 Comparison of extraction method using a constant-temperature rotary shaker and using a reciprocating water bath shaker

Heavy line: Regression line

Dotted lines: Upper and Lower limit of 95 % prediction interval

Thin line: $y = x$

%: Mass fraction

Table 3 Test result using samples of 3 different concentration for evaluating trueness

Sample ^{a)} Number	New test method		Validated test method		F-test		t-test	
	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	s ^{d)} (%) ^{c)}	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	s ^{d)} (%) ^{c)}	Variance ratio	Critical value ^{e)}	t-value	Critical value ^{f)}
1	16.31	0.17	16.22	0.08	4.66	9.28	0.92	2.45
2	22.76	0.15	22.74	0.13	1.26	9.28	0.20	2.45
3	25.45	0.13	25.45	0.09	2.01	9.28	0.10	2.45

a) Liquid potassium silicate fertilizer

b) Mean value ($n = 4$)

c) Mass fraction

d) Standard deviation

e) $F(3,3;0.05)$

f) $t(6;0.05)$

3) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため、混合りん酸肥料、鉍さいけい酸質肥料及び2種類の液体けい酸加里肥料を用いて、2濃度の可溶性けい酸(S-SiO₂)、水溶性けい酸(W-SiO₂)を2点併行で日を変えて5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。

混合りん酸肥料の可溶性けい酸(S-SiO₂)の平均値は質量分率 11.82 %で、併行相対標準偏差は 0.8 %、中間相対標準偏差は 1.4 %であった。また、鉍さいけい酸質肥料の可溶性けい酸(S-SiO₂)の平均値は質量分率 37.22 %で、併行相対標準偏差は 0.4 %、中間相対標準偏差は 0.4 %であった。

液体けい酸加里肥料 1 の水溶性けい酸(S-SiO₂)の平均値は質量分率 15.98 %で、併行相対標準偏差は 0.8 %、中間相対標準偏差は 1.0 %であった。また、液体けい酸加里肥料 2 の水溶性けい酸(S-SiO₂)の平均値は質量分率 25.28 %で、併行相対標準偏差は 0.2 %、中間相対標準偏差は 0.5 %であった。

相対標準偏差のうち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)の目安と照らし合わせたところ、相対標準偏差は目安以内であった。このことから、可溶性けい酸(S-SiO₂)の抽出については、恒温上下転倒式回転振り混ぜ機を用いない振とう恒温水槽による抽出が、また、水溶性けい酸(W-SiO₂)については手振りによる簡易抽出方法が十分な方法であることが確認された。

Table 4 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation

Test day	(% (Mass fraction))							
	S-SiO ₂				W-SiO ₂			
	Mixed phosphate fertilizer		Slag manganese fertilizer		Liquid potassium silicate fertilizer 1		Liquid potassium silicate fertilizer 2	
1	12.06	12.07	37.39	37.34	15.75	16.02	25.50	25.44
2	11.77	11.59	37.22	37.05	15.97	15.92	25.22	25.14
3	11.67	11.80	37.03	37.05	16.02	15.95	25.21	25.24
4	11.79	11.78	37.08	37.49	15.93	15.87	25.23	25.13
5	11.74	11.92	37.36	37.20	16.33	16.07	25.42	25.30

Table 5 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

Component	Sample	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)} (%)
S-SiO ₂	Mixed phosphate fertilizer	11.82	0.09	0.8	1.5	0.16	1.4	2.5
	Slag manganese fertilizer	37.22	0.15	0.4	1.0	0.17	0.4	2.0
W-SiO ₂	Liquid potassium silicate fertilizer 1	15.98	0.12	0.8	1.5	0.15	1.0	2.5
	Liquid potassium silicate fertilizer 2	25.28	0.06	0.2	1.0	0.13	0.5	2.0

a) Mean value ($n =$ Sample number of parallel test (2) \times Number of Test days (5))

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation)

shown in Testing Methods for Fertilizers

4. まとめ

鉍さいけい酸質肥料等中の可溶性けい酸(S-SiO₂)について振とう恒温水槽を用いた抽出方法と、液体けい酸加里肥料中の水溶性けい酸(W-SiO₂)について簡易抽出方法を検討したところ、次の結果が得られた。

(1) 恒温上下転倒式回転振り混ぜ機を用いない抽出方法として、振とう恒温水槽を用いて抽出可能な機器条件を確認したところ、振とう回数 160 往復/分及び振幅 25 mm 以上の機器条件の場合、既存の抽出方法と同程度の性能であることを確認した。

(2) 可溶性けい酸(S-SiO₂)について分析用試料 25 点を用いて、恒温上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出方法と本法の測定値を比較したところ、相関係数は $r = 0.999$ を示し、強い相関を示した。

(3) 水溶性けい酸(W-SiO₂)について異なる濃度の分析用試料 3 点を用いて、上下転倒式回転振り混ぜ機を用いた抽出方法と本法との結果から、等分散性が確認されるとともに濃度毎の t 検定を実施したところ両側有意水準 5% で有意な差は認められなかった。

(4) 可溶性けい酸(S-SiO₂)について、併行精度及び中間精度の確認を行った結果、併行相対標準偏差は 0.4 % ~ 0.8 %、中間相対標準偏差は 0.4 % ~ 1.4 % であった。また、水溶性けい酸(W-SiO₂)について、併行精度及び中間精度の確認を行った結果、併行相対標準偏差は 0.2 % ~ 0.8 %、中間相対標準偏差は 0.5 % ~ 1.0 % であった。いずれも肥料等試験法に示されている精度の目安を満たしていた。

以上のことから、可溶性けい酸(S-SiO₂)の抽出については、恒温上下転倒式回転振り混ぜ機を用いない振とう恒温水槽による抽出が、また、水溶性けい酸(W-SiO₂)については手振りによる簡易抽出方法が十分な方法であることが確認された。

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),財団法人日本肥糧検定協会,(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(2018)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2018.pdf>
- 3) 川口伸司,水溶性けい酸試験法の性能調査—ふっ化カリウム法—,肥料研究報告, **8**, 174~175 (2015)
- 4) 川口伸司,液状肥料中の水溶性成分の簡易抽出方法,肥料研究報告, **9**, 10~20 (2016)
- 5) 川口伸司,汎用的な機器を用いた固形肥料中の水溶性主成分の抽出方法,肥料研究報告, **10**, 1~8 (2017)
- 6) 杉村靖,汎用的な機器を用いた肥料中の可溶性主成分の抽出方法,肥料研究報告, **11**, 1~13 (2018)

Extraction Method for the Silicic Acid in the Fertilizer using a General-Purpose Equipment

Toshiharu YAGI¹, kenta SAKUMA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

The Japanese Official Methods of Analysis of Fertilizer provides several determination methods using the (constant-temperature) upside down rotary shaker (hereinafter : rotary shaker) as the extractor. However, the rotary shaker is a custom order apparatus. This study describes development and validation of extraction method for the soluble silicic acid and water-soluble silicic acid in the fertilizer using commercially reciprocating water bath shaker or simple extraction procedure. The values of S-SiO₂ measured in 25 analytical samples by extraction method using a reciprocating water bath shaker were compared with ones using a rotary shaker. The former values were achieved and correlated highly with the latter values (Line of regression and correlation coefficient ($r = 0.999$, $y = 0.250+0.987x$)). The values of W-SiO₂ measured a quadruple test using 3 different concentrative analytical samples by extraction method using a reciprocating water bath shaker were compared with ones using an rotary shaker. As the result, significant difference was not confirmed in homoscedasticity of the results of 2 groups and t -test for each concentration under the two-sided significant level of 5 %. S-SiO₂ and W-SiO₂ were conducted a duplicate test per 5 test days using two analytical samples, respectively. As the result, total mean values (mass fraction) of S-SiO₂ were 11.82 % and 37.22 %, repeatability relative standard deviation (RSD_r) were 0.8 % and 0.4 %, and intermediate relative standard deviation (RSD_I) 1.4 % and 0.4 %, respectively. Total mean values (mass fraction) of W-SiO₂ were 15.98 % and 25.28 %, RSD_r were 0.8 % and 0.2 %, RSD_I were 1.0 % and 0.5 %, respectively. These extraction methods are valid for the determination of the soluble silicic acid and water-soluble silicic acid in the fertilizer.

Key words reciprocating water bath shaker, soluble silicic acid, water-soluble silicic acid, fertilizer, single-laboratory method validation

(Research Report of Fertilizer, **12**, 1~9, 2019)

2 肥料中のほう素の測定法の改良

山西正将¹

キーワード ほう素, 分光光度法, アゾメチン H

1. はじめに

平成 29 年度に ICP 発光分光分析 (ICP-OES) 法による固形肥料中のく溶性主成分の測定¹⁾が検討されたが、く溶性ほう素において方法間比較による真度の確認結果が肥料等試験法で示す基準を満たさなかった。その原因として、有機物を原料に使用した肥料において、試料液が着色したことにより、吸光光度法であるアゾメチン H 法による分析値が実際のほう素含有量よりも過大となったためと考察され、試料液の着色による吸光度を補正した結果、アゾメチン H 法と ICP-OES 法との間での相関が改善したとの報告があった。

有機物を含む肥料中のく溶性ほう素を対象に、昨年度に引き続いて着色による吸光度を補正する方法を検討し、単一試験室での妥当性確認を進めるうち、有機物を原料に使用した肥料中の水溶性ほう素の試験においても同様の事象が確認されたため、有機物を原料として使用した肥料中の水溶性ほう素試験を追加して検討した。

また、ICP-OES 法による固形肥料中の水溶性主成分の測定²⁾の検討において、有機物を原料として使用していない肥料の一部でも試料液の着色の影響が確認されたため、有機物を原料として使用していない肥料も測定対象に追加し検討した。

また、現在液状肥料中の水溶性主成分の内、りん酸、加里、マンガンについては平成 27 年度に簡易抽出法の適用が検討³⁾されたが、ほう素については検討されていないため、液状肥料についての簡易抽出法を併せて検討した。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料の調製

(1) 流通試料

く溶性ほう素 (C-B₂O₃) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) を保証する市販の肥料を試験品として収集し、固形肥料については目開き 500 μm の網ふるいを通過するまでそれぞれ粉砕機で粉砕して分析用試料とし、液状肥料についてはそのまま分析用試料とした。分析用試料は使用時までポリ袋又はポリ容器に密封して常温保管した。

(2) 自家調製肥料

添加回収試験用として、Table 1 に示した材料を目開き 500 μm の網ふるいを通るまでそれぞれ粉砕機で粉砕し、Table 2 に示す配合設計により各材料をポリエチレン袋に入れて混合し、各試験品の B₂O₃ 濃度を任意の濃度に調製した。

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 (現) 肥飼料安全検査部

Material	Organic materials	C(W)-B ₂ O ₃
A Sodium tetraborate decahydrate(Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O)		36.51 ^{a)}
B Byproduct organic fertilizer of vegetable origin	Byproduct organic fertilizer of vegetable origin	N.D. ^{b)}
C Castor pomace	Castor pomace	N.D. ^{b)}
D Designated blended fertilizer	Byproduct mixed fertilizer, dried microbes, fish meal, rapeseed meal and soybean meal	N.D. ^{b)}

a) Theoretical value

b) Measured value by ICP-OES

No. of samples	The mixing ratio of the materials				Design component ^{a)}
	A	B	C	D	C(W)-B ₂ O ₃
1	28.00	40.00	22.00	10.00	10.22
2	14.00	40.00	36.00	10.00	5.11
3	2.80	48.00	37.20	12.00	1.02
4	0.56	49.60	37.44	12.40	0.20

a) Design components of citrate soluble and water soluble boron in the sample

2) 装置及び器具

- (1) 分光光度計: SHIMADZU UV-1800
- (2) 恒温上下転倒式回転振り混ぜ機: ADVANTEC THM062FB
- (3) ホットプレート: SIBATA NP-6 及びアサヒ理化製作所 AHS-500

3) 試薬

- (1) 水: 水精製装置(東洋製作所 RFD240NA)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 の水
- (2) 塩酸: JIS K 8180 精密分析用(富士フイルム和光純薬)
- (3) 硫酸: JIS K 8951 精密分析用(富士フイルム和光純薬)
- (4) くえん酸溶液: JIS K 8283 特級試薬 くえん酸一水和物(富士フイルム和光純薬) 20 g を水に溶かして 1000 mL とした.
- (5) エチレンジアミン四酢酸塩溶液: JIS K 8107 特級試薬 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物(関東化学) 37.2 g を水に溶かして 1000 mL とした.
- (6) 酢酸アンモニウム溶液: JIS K 8359 特級試薬 酢酸アンモニウム(富士フイルム和光純薬) 250 g を水に溶かして 500 mL とし, 硫酸(1+4)で pH を 5.2±0.1 に調整した.
- (7) アゾメチン H 溶液: アゾメチン H(同仁化学研究所) 0.6 g 及び JIS K 9502 特級試薬 L(+)-アスコルビン酸(富士フイルム和光純薬) 2 g に水を加え, 35 °C~40 °C に加温して溶かし, 冷却後水を加えて 100 mL とした.
- (8) ほう素標準液(B₂O₃ 2.5 mg/mL)(吸光光度法用): JIS K 8863 特級試薬 ほう酸(富士フイルム和光純薬)をデシケーター中に約 24 時間放置して乾燥した後, 4.441 g を秤量皿にとり, 少量の水で溶かし,

全量フラスコ 1000 mL に移し入れ、標線まで水を加える。

(9) ほう素標準液(B_2O_3 0.05 mg/mL) (吸光光度法用): ほう素標準液(B_2O_3 2.5 mg/mL) (吸光光度法用)の一定量の水で正確に 50 倍に希釈する。

(10) ほう素標準液(B_2O_3 0.005 mg/mL) (吸光光度法用): ほう素標準液(B_2O_3 0.05 mg/mL) (吸光光度法用)の一定量の水で正確に 10 倍に希釈する。

(11) ほう素標準液(B 1000 μ g/mL) (ICP-OES 法用): JCSS ほう素標準液(B:1000 μ g/mL) (富士フィルム和光純薬)

(12) ほう素標準液(B 0.05 μ g/mL ~10 μ g/mL) (ICP-OES 法用): (11)の標準液を希釈し、塩酸(1+23)となるように塩酸(1+5)を加えて検量線用標準液を調製した。

4) 分析方法

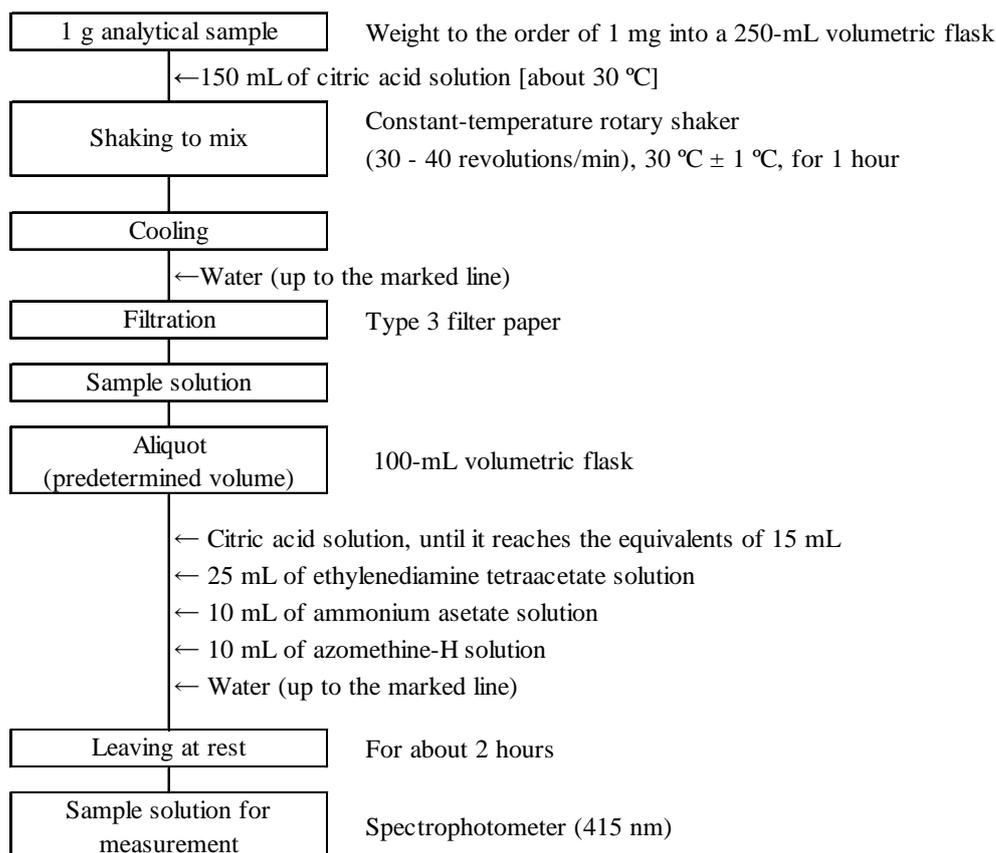
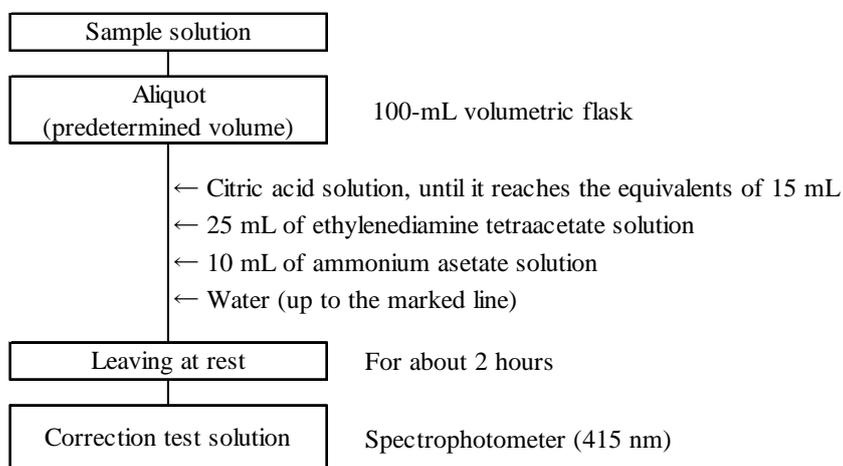
(1) アゾメチン H 法による固形肥料中のく溶性ほう素の測定

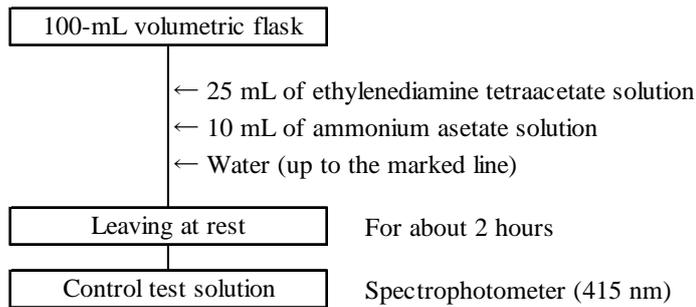
分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 250 mL に入れ、約 30 °C に加温したくえん酸溶液 150 mL を加え、30~40 回転/分 (30 °C \pm 1 °C) で 1 時間振り混ぜた。速やかに冷却後、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり、くえん酸溶液が 15 mL 相当量になるよう同溶液を加え、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL、アゾメチン H 溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加えた後、約 2 時間放置したものを測定用試料溶液とした (Scheme 1)。

また、測定用試料溶液と同量の試料液を別の全量フラスコ 100 mL にとり、くえん酸溶液が 15 mL 相当量になるよう同溶液を加え、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを補正用試験液とした (Scheme 2)。

別の全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを対照用試験液とした (Scheme 3)。

対照用試験液を対照として測定用試料溶液及び補正用試験液の波長 415 nm の吸光度を測定し、測定用試料溶液の吸光度から補正用試験液の吸光度を減算して測定溶液の吸光度とし、同様に対照用試験液を対照に測定した検量線から分析試料中のく溶性ほう素 (C- B_2O_3) を算出した。

Scheme 1 Analytical procedure for citrate soluble boron in fertilizer (C-B₂O₃) (1)Scheme 2 Analytical procedure for citrate soluble boron in fertilizer (C-B₂O₃) (2)



Scheme 3 Analytical procedure for citrate soluble
and water soluble boron in fertilizer (C(W)-B₂O₃) (3)

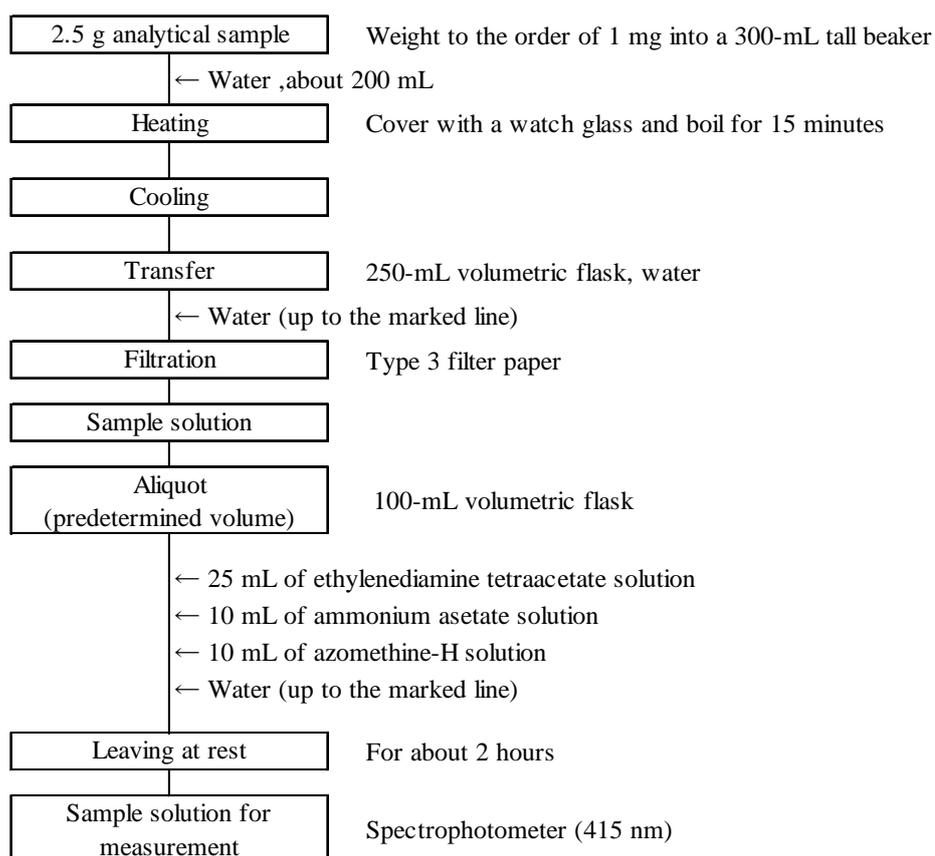
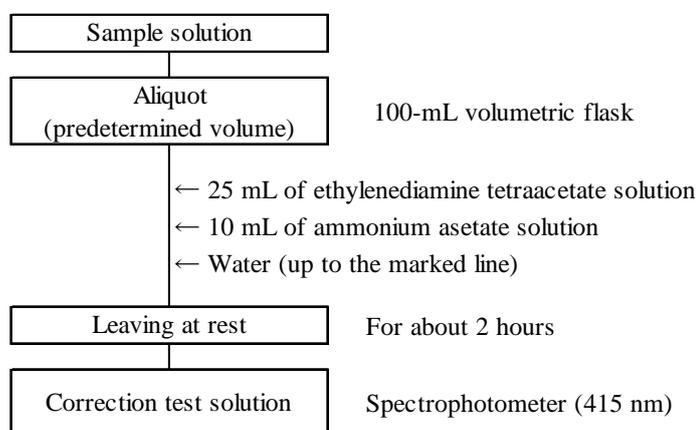
(2) アゾメチン H 法による固形肥料中の水溶性ほう素の測定

分析試料 2.5 g を 1 mg の桁まではかりとり、トールビーカー 300 mL に入れ、水約 200 mL を加え、時計皿で覆い、ホットプレート上で加熱して約 15 分間煮沸した。速やかに冷却後、水で全量フラスコ 250 mL に移し込み、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL、アゾメチン H 溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加えた後、約 2 時間放置したものを測定用試料溶液とした (Scheme 4)。

また、測定用試料溶液と同量の試料液を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを補正用試験液とした (Scheme 5)。

別の全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したものを対照用試験液とした (Scheme 3)。

対照用試験液を対照として測定用試料溶液及び補正用試験液の波長 415 nm の吸光度を測定し、測定用試料溶液の吸光度から補正用試験液の吸光度を減算して測定溶液の吸光度とし、同様に対照用試験液を対照に測定した検量線から分析試料中の水溶性ほう素 (W-B₂O₃) を算出した。

Scheme 4 Analytical procedure for water soluble boron in solid fertilizer (W-B₂O₃) (1)Scheme 5 Analytical procedure for water soluble boron in fertilizer (W-B₂O₃) (2)

(3) アゾメチン H 法による液状肥料中の水溶性ほう素の測定

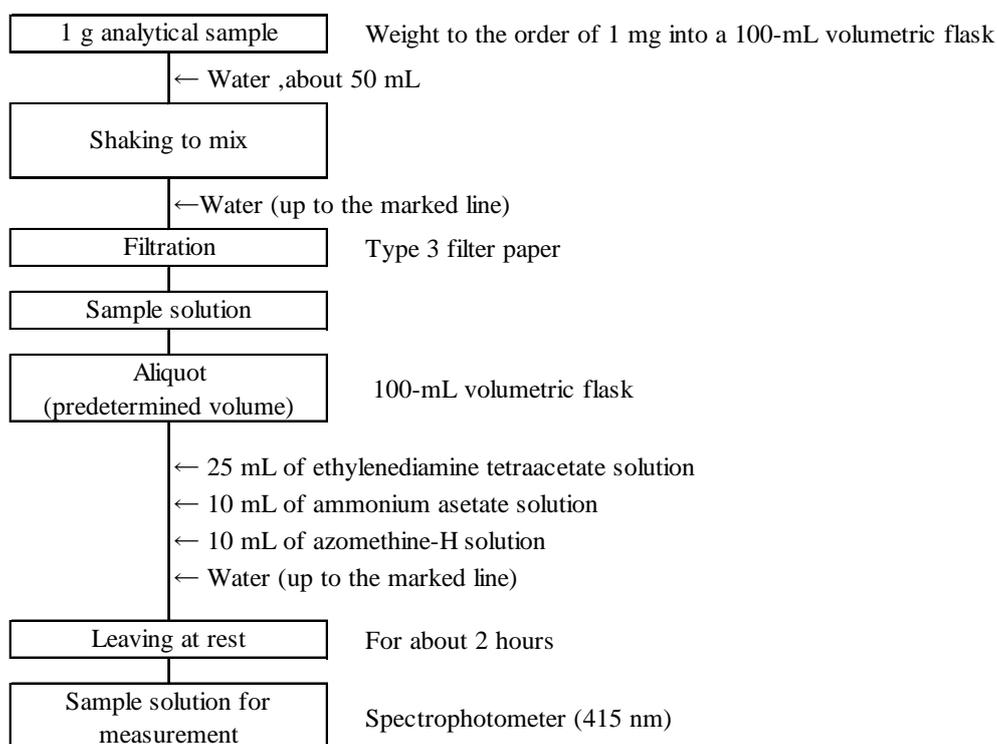
分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 100 mL に入れ、水約 50 mL を加え、振り混ぜ、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過し、試料溶液とした。試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL、アゾメチン H 溶液 10 mL を順次加え、更に標線まで水を加えた後、約 2 時間放置し測定用試料溶液とした (Scheme 6)。

また、測定用試料溶液と同量の試料液を別の全量フラスコ 100 mL にとり、エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL、酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え、標線まで水を加え、約 2 時間放置したもの

を補正用試験液とした (Scheme 5).

別の全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液 10 mL を加え, 標線まで水を加え, 約 2 時間放置したものを対照用試験液とした (Scheme 3).

対照用試験液を対照として測定用試料溶液及び補正用試験液の波長 415 nm の吸光度を測定し, 測定用試料溶液の吸光度から補正用試験液の吸光度を減算して測定溶液の吸光度とし, 同様に対照用試験液を対照に測定した検量線から分析試料中の水溶性ほう素 ($W-B_2O_3$) を算出した.



Scheme 6 Analytical procedure for water soluble boron in liquid fertilizer ($W-B_2O_3$) (1)

3. 結果及び考察

1) エチレンジアミン四酢酸塩溶液, 酢酸アンモニウム溶液及びくえん酸溶液の添加の有無による吸光度の変化の確認

エチレンジアミン四酢酸塩のキレート効果により, アゾメチン H ほう酸塩の吸光度が低下することが知られている⁴⁾. 同様に, エチレンジアミン四酢酸塩溶液及び酢酸アンモニウム溶液の添加が有機物等由来の吸光度に影響を及ぼすと考えられたため, (1) 水溶性ほう素試験法の試料溶液の一定量を全量フラスコ 100 mL にとり, 標線まで水を加えた溶液, (2) 同試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり, エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え, 標線まで水を加えた溶液, (3) 同試料溶液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり, くえん酸溶液を 15 mL を加え, エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え, 標線まで水を加えた溶液, それぞれ約 2 時間放置後に 415 nm における吸光度を測定した結果を Fig.1 に示した. 化成肥料 2 点, 配合肥料 1 点, 混合堆肥複合肥料 2 点 (計 5 点) の市販品を用いた結果, エチレンジアミン四酢酸塩溶液及び酢酸アンモニウム溶液の添加による試料溶液由来の吸光度への影響が認められた. 一方, くえん酸溶液の添加による試料溶液由来の吸光度への影

響はほとんど認められなかった。

また、(4)全量フラスコ 100 mL にエチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え、標線まで水を加えた溶液、(5)全量フラスコ 100 mL にくえん酸溶液 15mL, エチレンジアミン四酢酸塩溶液 25 mL, 酢酸アンモニウム溶液を加え、標線まで水を加えた溶液、それぞれ約 2 時間放置後に 415 nm における吸光度を測定し、結果を Table 3 に示した。平均値を算出し対応のある *t* 検定を実施したところ、くえん酸溶液の有無による有意な差は認められなかったが、エチレンジアミン四酢酸塩溶液及び酢酸アンモニウム溶液を添加した溶液は水のみ吸光度より低値となった。

以上の結果から考えられたく溶性及び水溶性ほう素試験法における各測定溶液の吸光度変化の概要及び補正方法を Fig.2 に示した。

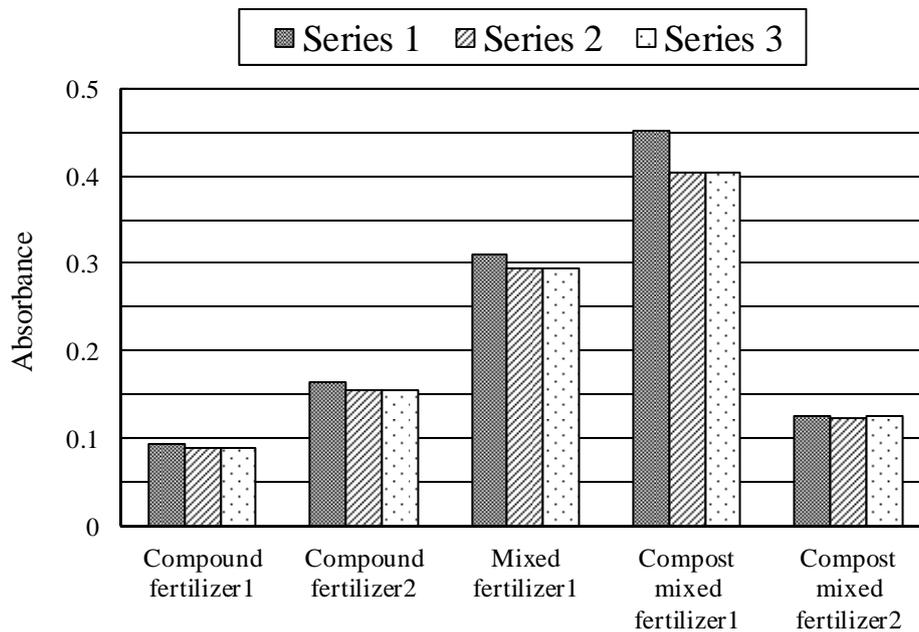


Fig.1 Influence on absorbance of the sample solution by added reagents

Series 1: 25mL of sample solution added

Series 2: 25mL of sample solution, ammonium acetate solution and EDTA solution added

Series 3: 25mL of sample solution, ammonium acetate solution, EDTA solution and citric acid solution added

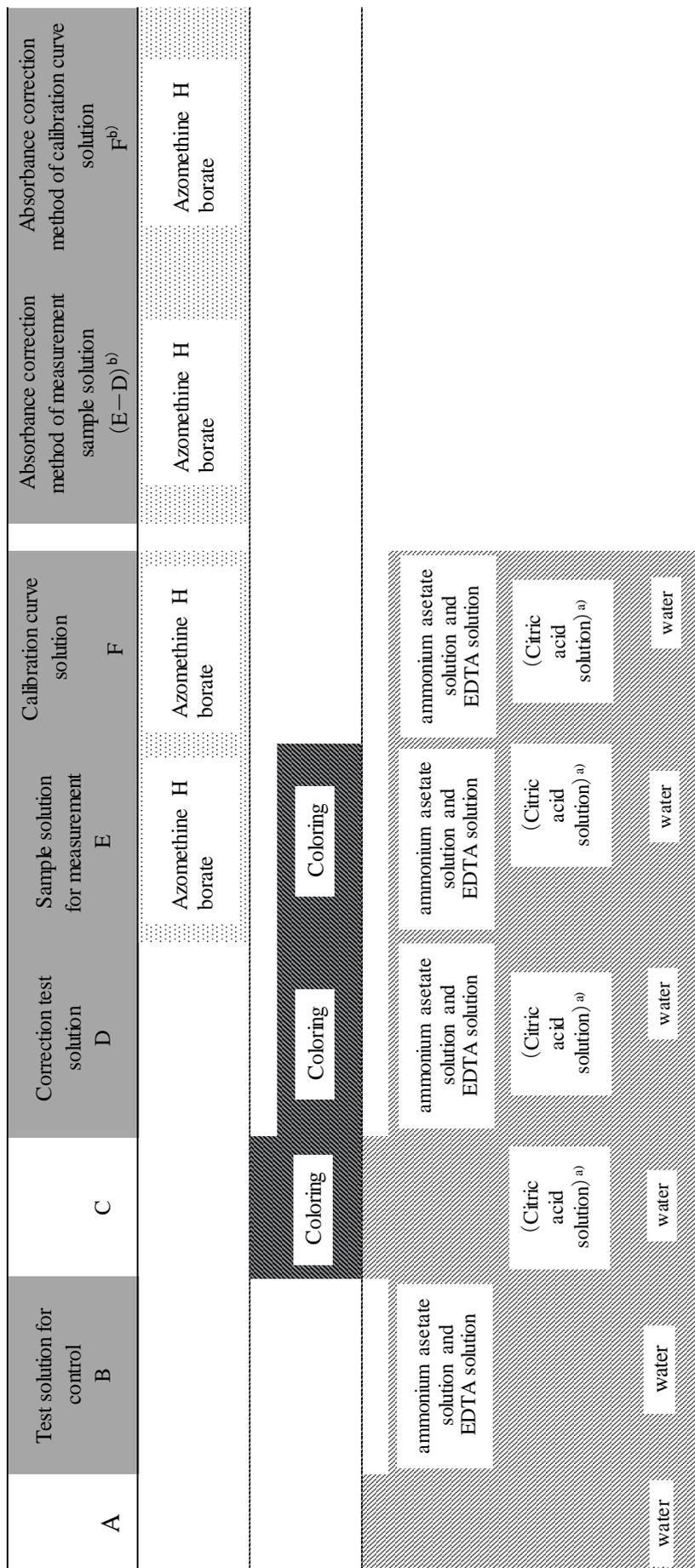
Table 3 Influence on absorbance of control test solution by citric acid

Absorbance (415 nm) ^{a)}		
Reagent solution ^{b)} added	Reagent solution ^{b)} and citric acid solution added	<i>t</i> test
-0.0012 (0.0001) ^{c)}	-0.0012 (0.0001) ^{c)}	<i>P</i> = 0.70

a) Mean value (*n* = 5)

b) Ammonium acetate solution and EDTA solution

c) Standard deviation



a) Not used when measuring water soluble boron

b) Measure absorbance with B as control

Fig.2 Outline for change in absorbance of each measurement solution and correction method

2) 液状肥料における着色による影響の確認

着色が見られた Table 4 に示す液状肥料を用いて、Scheme 6 により試料溶液を調製し、対照用試験液を対照として補正用試験液の吸光度を測定した。その結果、試料溶液の着色による吸光度が確認され、分析値に影響を及ぼす可能性が十分に考えられた。

また、当該肥料は有機物を原料に使用されていないため、液状肥料についても有機物を含むかどうかにかかわらず本法を適用することとした。

Table 4 Absorbance of control test solution in liquid fertilizer

Sample	Absorbance ^{a)b)}	Raw materials
Home garden-use mixed fertilizer 1	0.02184	Urea,potassium hydroxide,boric acid,calcium nitrate,ferric nitrate,gluconic acid,malic acid,sorbitol,ethylenediaminetetraacetic acid tetrasodium,trimethyl dodecyl ammonium chloride,water

a) 25 mL of sample solution

b) Mean value($n=3$)

3) 真度の確認

(1) 方法間比較による真度の評価

本法の真度確認のため、く溶性ほう素については試料 33 点(化成肥料 20 点, 配合肥料 8 点, 成形複合肥料 2 点, 混合堆肥複合肥料 2 点, 家庭園芸用複合肥料 1 点), 水溶性ほう素については試料 26 点(化成肥料 11 点, 配合肥料 10 点, 混合堆肥複合肥料 1 点, 家庭園芸用複合肥料 2 点, 指定配合肥料 2 点)を用いて、ICP-OES 分析法と本法を回帰分析により比較した。

ICP-OES 法の測定値に対する本法の測定値の回帰直線及び 95% 予測区間を Fig.2 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 5 に示した。

肥料等試験法⁵⁾の妥当性確認方法の基準では、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 0 が含まれ、相関係数(r)が 0.99 以上であることを推奨しており、本法はこの基準を満たしていた。

また、高濃度ほう素を含有する試料及び液状肥料については、試料数が少なかったため、ICP-OES 法と本法により流通肥料 8 点(ほう酸肥料 1 点, ほう酸塩肥料 1 点, 熔成微量要素複合肥料 1 点, 混合微量要素肥料 2 点, 家庭園芸用複合肥料 1 点, 液状複合肥料 2 点)について、く溶性及び水溶性ほう素測定値を比較し、それぞれ 4 点併行試験を実施した結果を Table 6 に示した。

2 群の成績の等分散性を確認し、試験品毎に t 検定を実施した結果、両側有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

この結果から、本法は ICP-OES 法と同等の真度を有していると考えられた。

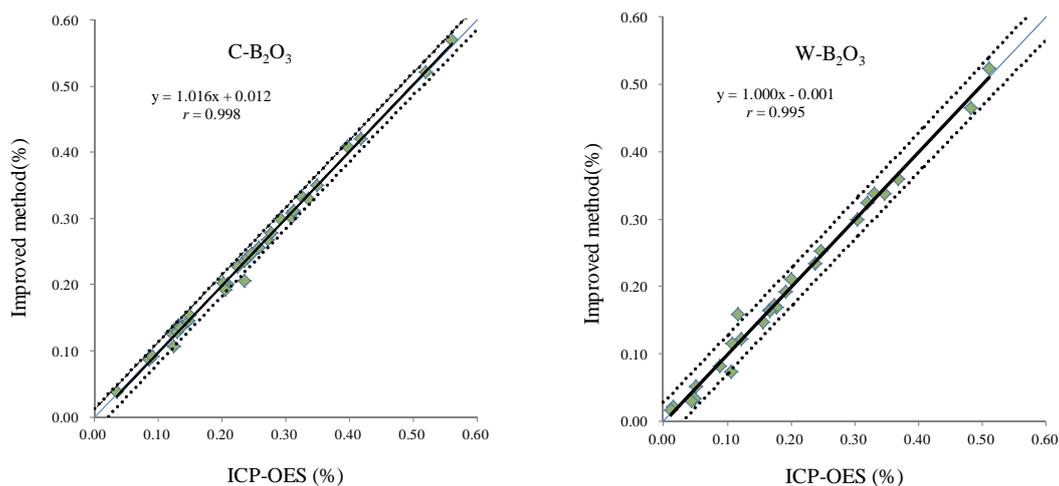


Fig.3 Comparison between Improved method and ICP-OES mass fraction(%)
 Heavy line: Regression line
 Dotted lines: Upper and Lower limit of 95 % prediction interval
 Thin line: $y=x$

Table 5 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between Absorptiometry with correction and ICP-OES

	95% confidence interval				Correlation coefficient (r)
	Inclination (b)		Intercept (a)		
C-B ₂ O ₃	0.991	~ 1.04	-0.011	~ 0.002	0.998
W-B ₂ O ₃	0.959	~ 1.04	-0.011	~ 0.008	0.995

Table 6 Test result using samples of 3 different concentration for evaluating trueness

Component	Sample	Improved method		Conventional method ^{a)}		<i>F</i> test		<i>t</i> test	
		Mean ^{b)}	<i>s</i> ^{d)}	Mean ^{b)}	<i>s</i> ^{d)}	Variance ratio	Critical value ^{e)}	<i>t</i> -value	Critical value ^{f)}
		(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}				
C-B ₂ O ₃	Micronutrient mixture 1	1.96	0.04	1.99	0.04	1.23	9.28	1.11	2.45
	Fritted micronutrient mixture	11.15	0.16	11.48	0.26	2.61	9.28	2.19	2.45
	Borate fertilizer	40.06	0.15	39.96	0.41	7.84	9.28	0.47	2.45
W-B ₂ O ₃	Micronutrient mixture 1	1.97	0.01	1.97	0.02	1.65	9.28	0.42	2.45
	Micronutrient mixture 2	12.52	0.03	12.53	0.09	8.99	9.28	0.22	2.45
	Boric acid fertilizer	56.45	0.54	56.77	0.42	1.65	9.28	0.93	2.45
W-B ₂ O ₃ ^{g)}	Fruid mixed fertilizer 1	0.018	0.0005	0.018	0.001	8.25	9.28	0.99	2.45
	Fruid mixed fertilizer 2	0.128	0.001	0.127	0.001	1.68	9.28	1.15	2.45
	Home garden-use mixed fertilizer 1	4.134	0.033	4.188	0.034	1.09	9.28	2.27	2.45

a) ICP-OES

b) Mean value ($n = 4$)

c) Mass fraction

d) Standard deviation

e) $F(3,3;0.05)$ f) $t(6;0.05)$

g) Liquid fertilizer

(2) 添加回収試験による真度の評価

本法の真度を確認するため、2.1) (2) Table 2 の試験品 1~4 について、本法でく溶性及び水溶性ほう素の分析を 3 点併行で行い、その結果を Table 7 及び Table 8 に示した。

試験の結果、く溶性ほう素は 0.20 % ~ 10.22 % の設計で回収率 97 % ~ 106 %、相対標準偏差は 1.5 % ~ 4.8 %、固形肥料中の水溶性ほう素は回収率 99 % ~ 103 %、相対標準偏差は 0.5 % ~ 2.9 %、液状肥料中の水溶性ほう素は回収率 93 % ~ 102 %、相対標準偏差は 0.3 % ~ 0.9 % であり、全ての成分及び濃度レベルにおいて、回収率は肥料等試験法⁵⁾が示している目安を満たしていた。

Table 7 Result of recovery test(solid fertilizer)

No. of sample	Design component ^{a)}	Recovery ^{b)}		Relative standard deviation		Criteria of the trueness ^{c)}
	C(W)-B ₂ O ₃	C-B ₂ O ₃	W-B ₂ O ₃	C-B ₂ O ₃	W-B ₂ O ₃	
1	10.22	99	99	1.5	1.1	97~103
2	5.11	97	101	2.3	0.5	96~104
3	1.02	99	103	1.9	2.9	96~104
4	0.20	106	102	4.8	2.6	94~106

a) %(mass fraction)

b) Mean value($n=3$)

c) Criteria of the trueness(recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

Table 8 Result of recovery test(Liquid fertilizer)

Spiked level ^{a)}	Sample	Recovery ^{b)}	Relative standard deviation	Criteria of the trueness ^{c)}
5.00	Fruid mixed fertilizer 1	102	0.3	96~104
0.10		99	0.9	94~106
0.01		93	0.3	92~108

a) %(mass fraction)

b) Mean value($n=3$)

c) Criteria of the trueness(recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

4) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するため、ほう酸肥料1点、ほう酸塩肥料1点、化成肥料2点、家庭園芸用複合肥料1点、液状複合肥料1点の計6点を用いて、く溶性及び水溶性ほう素の試験を2点併行で日を変えて5回実施して得られた結果をTable 9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 10に示した。

く溶性ほう素試験のほう酸塩肥料の平均値は質量分率で39.35%、併行相対標準偏差は1.2%、中間相対標準偏差は1.7%、化成肥料1の平均値は質量分率で0.12%、併行相対標準偏差は1.0%、中間相対標準偏差は4.7%であった。固形肥料における水溶性ほう素試験のほう酸肥料の平均値は質量分率で56.25%、併行相対標準偏差は0.8%、中間相対標準偏差は0.8%、化成肥料2の平均値は質量分率で0.29%、併行相対標準偏差は0.7%、中間相対標準偏差は0.8%であった。液状肥料における水溶性ほう素試験の家庭園芸用複合肥料1の平均値は質量分率で4.096%、併行相対標準偏差は0.6%、中間相対標準偏差は2.4%、液状複合肥料1の平均値は質量分率で0.018%、併行相対標準偏差は1.9%、中間相対標準偏差は2.4%、であった。

これらの濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法⁵⁾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)の目安の2倍以内であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 9 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation (%(mass fraction))

Component	Sample	Test day				
		1	2	3	4	5
C-B ₂ O ₃	Borate fertilizer	40.23	40.15	38.84	38.91	39.75
		39.55	39.97	38.67	39.03	38.38
	Compound fertilizer 1	0.12	0.11	0.12	0.11	0.12
		0.12	0.11	0.12	0.11	0.12
W-B ₂ O ₃	Boric acid fertilizer	56.52	56.87	55.97	56.39	56.51
		56.26	56.22	56.31	55.39	56.05
	Compound fertilizer 2	0.29	0.30	0.29	0.29	0.29
		0.29	0.29	0.29	0.29	0.30
W-B ₂ O ₃ ^{a)}	Home garden-use mixed fertilizer 1	3.982	4.130	4.076	4.151	4.213
		3.918	4.090	4.075	4.124	4.204
	Fruid mixed fertilizer 1	0.019	0.018	0.018	0.018	0.018
		0.018	0.018	0.017	0.018	0.017

a) Liquid fertilizer

Table 10 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

Component	Sample	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	Repeatability			Intermediate precision		
			s_r ^{d)} (%) ^{c)}	RSD_r ^{e)} (%)	$CRSD_r$ ^{f)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{g)} (%) ^{c)}	$RSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ⁱ⁾ (%)
C-B ₂ O ₃	Borate fertilizer	39.35	0.49	1.2	1	0.68	1.7	2
	Compound fertilizer 1	0.12	0.001	1.0	3	0.01	4.7	4.5
W-B ₂ O ₃	Boric acid fertilizer	56.25	0.43	0.8	1	0.43	0.8	2
	Compound fertilizer 2	0.29	0.002	0.7	3	0.002	0.8	4.5
W-B ₂ O ₃ ^{a)}	Home garden-use mixed fertilizer 1	4.096	0.03	0.6	2	0.10	2.4	3.5
	Fruid mixed fertilizer 1	0.018	0.0003	1.9	4	0.0004	2.4	6.5

a) Liquid fertilizer

b) Mean value ($n =$ sample number of parallel test (2) \times number of test days (5))

c) Mass fraction

d) Repeatability standard deviation

e) Repeatability relative standard deviation

f) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

g) Intermediate standard deviation

h) Intermediate relative standard deviation

i) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

5) 定量下限等の推定と確認

本法の定量下限を推定するため、先の試験で含有量が「含有すべき主成分の最小量」付近である化成肥料、配合肥料及び液状複合肥料各 1 点を用いてく溶性及び水溶性ほう素の試験を 7 点併行で実施した結果を Table 11 に示した。

その結果、化成肥料 3 の平均値は 0.07 %、標準偏差は 0.001 %、配合肥料 2 の平均値は 0.03 %、標準偏差は 0.001 %、液状複合肥料 3 の平均値は 0.020 %、標準偏差は 0.0003 %、のであった。なお、定量下限は標準偏差×10、検出下限は標準偏差×2× $t(n-1,0.05)$ を用いて算出したところ、く溶性ほう素試験法の定量下限は 0.01 %程度、検出下限は 0.005 %程度、固形肥料中の水溶性ほう素試験法の定量下限は 0.01 %程度、検出下限は 0.002 %程度、液状肥料中の水溶性ほう素試験法の定量下限は 0.003 %程度、検出下限は 0.001 %程度と推定された。

また、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、 B_2O_3 として濃度が固形肥料では 0.01 %相当量、液状肥料では 0.003 %相当量のほう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い、結果を Table 12 に示した。

その結果、添加回収率は 95~106 %で、いずれも肥料等試験法⁵⁾に示されている添加濃度における真度(回収率)の目安を満たしていた。

Table 11 Estimation of the lower limit of quantitation (LOQ)

Component	Sample	Mean ^{a)b)}	s_r ^{c)}	Estimated LOQ ^{d)}	Estimated LOD ^{e)}
C- B_2O_3	Compound fertilizer 3	0.07	0.001	0.01	0.005
W- B_2O_3	Mixed fertilizer 2	0.03	0.001	0.01	0.002
W- B_2O_3 ^{f)}	Fluid mixed fertilizer 3	0.020	0.0003	0.003	0.001

a) Mean value($n=7$)

b) % (mass fraction)

c) Repeatability standard deviation

d) Estimated lower limit of quantification($LOQ = s_r \times 10$)

e) Estimated lower limit of detection($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$)

f) Liquid fertilizer

Table 12 Result of confirming the lower limit of quantification(LOQ) by recovery test

Component	Sample	Spiked level ^{a)}	Recovery ^{b)}	Relative standard	Criteria of the trueness ^{c)}
C-B ₂ O ₃	Compound fertilizer 3	0.01	100	5.0	92~108
W-B ₂ O ₃	Mixed fertilizer 2	0.01	106	3.8	92~108
W-B ₂ O ₃ ^{d)}	Fruid mixed fertilizer 3	0.003	95	3.4	92~108

a) % (mass fraction)

b) Mean value($n=3$)

c) Criteria of the trueness(recovery) shown in Testing Methods of Fertilizers

d) Liquid fertilizer

4. まとめ

肥料中のく溶性及び水溶性ほう素の測定法について、試料溶液由来の着色による吸光度を補正する方法を検討し、単一試験室における妥当性確認試験を実施した。併せて、液状肥料においては簡易抽出法の適用が可能かどうかを確認し、次の結果を得た。

(1) 測定溶液調製方法の検討を行い、試料溶液由来の着色による吸光度を補正する溶液の調製方法を決定した。

(2) 有機物を原料として使用していない一部の液状肥料で試料溶液由来の着色が見られたため、液状肥料についても吸光度を補正することとした。

(3) 真度確認のため、ICP-OES法と本法により、流通肥料計59点(く溶性ほう素33点、固形肥料の水溶性ほう素26点)を分析し、回帰分析による方法間比較を実施した。回帰直線の傾きは95%信頼区間に1が含まれ、切片の95%信頼区間に0が含まれ、相関係数が0.99以上であり、肥料等試験法⁵⁾に示されている推奨基準を満たしていた。

また、ほう素を高濃度含有する試料各3点について、ICP-OES法と本法により、4点併行試験を実施し、2群の成績の等分散性を確認し試験品毎に t 検定を実施した結果、両側有意水準5%で有意な差は認められなかった。添加回収試験を行った結果、全ての試料で添加回収率は肥料等試験法⁵⁾の目安を満たしていた。

(4) 中間精度及び併行精度を確認するため、各2種類の試料を用い、2点併行で日を変えて5回試験を行った結果、肥料等試験法⁵⁾に示されている併行精度及び中間精度の目安の許容内であった。

(5) ほう素を低濃度含有する肥料を用いた7点併行試験により定量下限を推定し、推定定量下限濃度の標準液添加により添加回収試験を行った結果、く溶性ほう素試験法の定量下限は0.01%程度、検出下限は0.005%程度、固形肥料の水溶性ほう素試験法の定量下限は0.01%程度、検出下限は0.002%程度、液状肥料の水溶性ほう素試験法の定量下限は0.003%程度、検出下限は0.001%程度であった。

文 献

- 1) 松尾信吾:ICP 発光分光分析法による固形肥料中のく溶性主成分の測定, 肥料研究報告, **11**, 14~28, (2018)
- 2) 船木紀夫:ICP-OES 法による固形肥料中の水溶性主成分の測定法の開発, 肥料研究報告, **12**, 28~51, (2019)
- 3) 川口伸司:液状肥料中の水溶性成分の簡易抽出方法, 肥料研究報告, **9**, 10~32, (2016)
- 4) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, p.184~187, 養賢堂, 東京(1988)
- 5) 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(2018)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2018.pdf>

Improved Determination Method of Boron(B_2O_3) in Fertilizer

Masayuki YAMANISHI¹

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

A spectrophotometry for determination of boron (B_2O_3) in fertilizer was improved by absorbance correction and validated as a single-laboratory validation. Extraction method was not been changed. The absorbance of the measurement solution measured using the control test solution as the basic point was corrected by the absorbance of the correction test solution. The values of C- B_2O_3 and W- B_2O_3 measured in solid fertilizer by the modified method were compared with those measured by ICP-OES (Line of regression and correlation coefficient; C- B_2O_3 ($r = 0.998$, $y = 0.012 + 1.016x$), W- B_2O_3 ($r = 1.000$, $y = -0.001 + 1.000x$)). The values of C- B_2O_3 measured a quadruple test using 3 different concentrative analytical samples by improved method were compared with those by ICP-OES. As the result, significant difference was not confirmed in homoscedasticity of the results of 2 groups and t-test for each concentration under the two-sided significant level of 5 %. As a result of 3 replicate analysis in 4 solid fertilizer samples prepared to contain 0.20 % ~ 10.22 % (mass fraction) of C- B_2O_3 or W- B_2O_3 , the mean recoveries ranged from 97 % to 106 %. Repeatability relative standard deviations were 0.5 % ~ 4.8 %. As a result of 3 replicate analysis of 3 liquid fertilizer samples spiked with W- B_2O_3 , the mean recoveries were 93 % ~ 102 %. Repeatability relative standard deviations were 0.3 % ~ 0.9 %. Intermediate relative standard deviations of there were 0.8 % ~ 4.7 %. The limits of quantitative value (LOQ) of C- B_2O_3 and W- B_2O_3 in solid fertilizer and W- B_2O_3 in liquid fertilizer were 0.01 % and 0.003 %, respectively. Those results indicated that the improved method were valid for the determination of boron (B_2O_3) in fertilizer.

Key words boron, spectrophotometry, azomethine H

(Research Report of Fertilizer, **12**, 10~27, 2019)

3 ICP-OES 法による固形肥料中の水溶性主成分の測定法の開発

船木紀夫¹

キーワード 水溶性りん酸, 水溶性加里, 水溶性苦土, 水溶性マンガン, 水溶性ほう素, ICP-OES, 固形肥料

1. はじめに

従来, 肥料の主成分の分析法には, 成分別にフレイム原子吸光法, 吸光光度法及び容量法等(以下「従来法」という。)の異なる測定方法が, 肥料分析法¹⁾及び肥料等試験法²⁾に用いられてきた。近年, 分析の簡便化及び迅速化などの観点から誘導プラズマ発光分光分析装置(ICP-OES)を用いた一斉分析法の開発及び妥当性の確認が望まれてきた。肥料の品質を保証する主成分は政令³⁾で成分全量, 有効成分及びアルカリ分等が規定されており, そのうち有効成分は農林水産省告示⁴⁾で可溶性成分, 可溶性成分及び水溶性成分で示されている。

ICP-OES 法を用いた肥料の分析法については, 2011 年に汚泥肥料中の有害重金属の分析法⁵⁾, 2015 年に液状肥料中の水溶性主成分の分析法⁶⁾, 2016 年に液状肥料中の効果発現促進材の分析法⁷⁾, 2017 年にチタンの分析法⁸⁾及び 2018 年に固形肥料中の可溶性主成分の分析法⁹⁾が, それぞれ FAMIC から報告され, 肥料等試験法に記載されている。

そこで今回は, 固形肥料中の水溶性主成分(以下, 水溶性りん酸は $W-P_2O_5$, 水溶性加里は $W-K_2O$, 水溶性苦土は $W-MgO$, 水溶性マンガンは $W-MnO$ 及び水溶性ほう素は $W-B_2O_3$ という。)を対象として ICP-OES 法への適用を検討したので, その結果を報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

(1) 流通肥料

流通している固形肥料について, 水溶性成分の含まれるもの 17 種類合計 39 点(化成肥料, 配合肥料, 家庭園芸用複合肥料, 加工りん酸肥料, 硫酸加里[※], 塩化加里[※], 重炭酸加里[※], 副産加里肥料[※], 混合加里肥料, 混合苦土肥料, 混合マンガン肥料, 硫酸マンガン肥料, ほう酸塩肥料, 混合堆肥複合肥料, 吸着複合肥料, 混合微量要素肥料及び指定配合肥料)を用いた。(以下, [※]を付したものをまとめて「カリウム塩」という。)

試料については, 目開き 500 μm のふるいを通すまで超遠心粉碎機にて粉碎したものを分析した。

(2) 調製肥料

添加回収試験用及び定量下限推定用として, $W-P_2O_5$, $W-K_2O$, $W-MgO$, $W-MnO$ 及び $W-B_2O_3$ の各成分が任意の濃度になるように Table1 に示した試薬から調製した。なお, 使用した試薬の規格等は 2) (20) ~ (27) に示した。これらの材料は配合の際に, 振動ミルにて目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎し, ポリエチレン袋に入れてよく混合した後ポリ容器に密封し, 分析に供するまでデシケーター内で保管した。

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

Table 1 Properties of material

	W-P ₂ O ₅ ^{a)}	W-K ₂ O ^{a)}	W-MgO ^{a)}	W-MnO ^{a)}	W-B ₂ O ₃ ^{a)}
A Potassium dihydrogen phosphate (KH ₂ PO ₄)	52.15	34.61			
B Magnesium acetate tetrahydrate ((CH ₃ COO) ₂ Mg·4H ₂ O)			18.79		
C Manganese sulfate monohydrate (MnSO ₄ ·H ₂ O)				41.97	
D Boric acid (H ₃ BO ₃)					56.30
E Ammonium sulfate	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
F Sucrose	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
G Potassium chloride (KCl)		63.18			
H Potassium sulfate (K ₂ SO ₄)		54.05			

a) Water soluble components (P₂O₅, K₂O, MgO, MnO, B₂O₃), theoretical value, mass fraction (%)

Table 2 The preparation of analytical samples

No. of sample ^{a)}	The mixing ratio of the materials								Component ^{c)}				
	A ^{b)}	B ^{b)}	C ^{b)}	D ^{b)}	E ^{b)}	F ^{b)}	G ^{b)}	H ^{b)}	W-P ₂ O ₅	W-K ₂ O	W-MgO	W-MnO	W-B ₂ O ₃
1	100.00								52.15	34.61			
2		100.00									18.79		
3			100.00									41.97	
4				100.00									56.30
5	35.00	50.00			7.50	7.50			18.25	12.11	9.40		
6	10.50	15.00			37.25	37.25			5.48	3.63	2.82		
7	3.15	4.50			46.18	46.18			1.64	1.09	0.846		
8			20.00	15.00	32.50	32.50						8.39	8.45
9			4.00	3.00	46.50	46.50						1.68	1.69
10			0.800	0.600	49.30	49.30						0.336	0.338
11			0.216	0.162	49.81	49.81						0.0907	0.0912
12	17.50	25.00	2.00	1.50	27.00	27.00			9.13	6.06	4.70	0.839	0.845
13							100.00			63.18			
14							100.00			54.05			
15	0.500				49.75	49.75			0.261	0.173			
16		1.10			49.45	49.45					0.207		

a) Number of prepared sample

b) These are materials which are shown in table 1

c) Designed value, mass fraction (%)

2) 試薬等の調製

(1) リン標準液 (P 10 mg/mL) (ICP-OES 用): TraceCERT® ICP 用りん標準液 (P:10 mg/mL) (SIGMA-ALDRICH)

(2) カリウム標準液 (K 1 mg/mL) (ICP-OES 法用): JCSS カリウム標準液 (K:1000 µg/mL) (富士フイルム和光純薬)

(3) マグネシウム標準液 (Mg 1 mg/mL) (ICP-OES 法用): JCSS マグネシウム標準液 (Mg:1000 µg/mL)

(富士フイルム和光純薬)

(4) マンガン標準液(Mn 1 mg/mL) (ICP-OES 法用): JCSS マンガン標準液(Mn:1000 µg/mL) (富士フイルム和光純薬)

(5) ほう素標準液(B 1 mg/mL) (ICP-OES 法用): JCSS ほう素標準液(B:1000 µg/mL) (富士フイルム和光純薬)

(6) 混合標準液(ICP-OES 法用): (1)~(5)の標準液を標準原液とし、各標準原液を混合・希釈して混合標準液(P 200 µg/mL, K 200 µg/mL, Mg 20 µg/mL, Mn 10 µg/mL 及び B 10 µg/mL)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)となるよう適宜塩酸(1+5)を加えて検量線用混合標準液を調製した。

(7) 水: 超純水製造装置(MILLIPORE 製 Milli-Q Element A10)を用いて精製した超純水(比抵抗値 18 MΩcm 以上)を使用した。

(8) 塩酸: JIS K 8180 精密分析用試薬(富士フイルム和光純薬)

(9) 硝酸: JIS K 8541 精密分析用試薬(富士フイルム和光純薬)

(10) フェノールフタレイン溶液: JIS K 8799 に規定するフェノールフタレイン 1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95 %) 100 mL に溶かしたものを使用した。

(11) アンモニア水: JIS K 8085 特級試薬(質量分率 28 %) (富士フイルム和光純薬)

(12) りん酸標準液(P₂O₅ 10 mg/mL) (吸光光度法用): JIS K 9007 に規定するりん酸二水素カリウムを 105 °C±2 °C で約 2 時間加熱し、デシケータ中で放冷した後、19.17 g を秤量皿にはかりとり、少量の水で溶かし、全量フラスコ 1000 mL に移し入れ、硝酸 2 mL~3 mL を加え、標線まで水を加えた。

(13) 発色試薬溶液(a 試薬): JIS K 8747 に規定するバナジン(V)酸アンモニウム 1.12 g を水に溶かし、硝酸 250 mL を加えた後、JIS K 8905 に規定する七モリブデン酸六アンモニウム四水和物 27 g を水に溶かして加え、更に水を加えて 1000 mL とした。

(14) 干渉抑制剤溶液(加里測定用): JIS K 8617 に規定する炭酸カルシウム 12.5 g をビーカー 2000 mL にはかりとり、少量の水を加え、塩酸 105 mL を徐々に加え、少時加熱、冷却した後、水を加えて 1000 mL とした。

(15) 干渉抑制剤溶液(苦土・マンガン測定用): JIS K 8132 に規定する塩化ストロンチウム六水和物 152.1 g をビーカー 2000 mL にはかりとり、少量の水を加えた後、塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし、更に水を加えて 1000 mL とした。

(16) エチレンジアミン四酢酸塩溶液: JIS K 8107 に規定するエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物 37.2 g を水に溶かして 1000 mL とした。

(17) 酢酸アンモニウム溶液: JIS K 8359 に規定する酢酸アンモニウム 250 g を水に溶かして 500 mL とし、硫酸(1+4)で pH を 5.2±0.1 に調整した。

(18) アズメチン H 溶液: アズメチン H(富士フイルム和光純薬) 0.6 g 及び JIS K 9502 に規定する L(+)-アスコルビン酸 2 g に水を加え、35 °C~40 °C に加温して溶かし、冷却後水を加えて 100 mL とした。

(19) ほう素標準液(B₂O₃ 2.5 mg/mL) (吸光光度法用): JIS K 8863 に規定するほう酸をデシケータ中に約 24 時間放置して乾燥した後、4.441 g を秤量皿にとり、少量の水で溶かし、全量フラスコ 1000 mL に移し入れ、標線まで水を加えた。

(20) りん酸二水素カリウム: JIS K 9007 特級試薬(富士フイルム和光純薬)

(21) 酢酸マグネシウム四水和物: 試薬(純度 99 % (質量分率)) (富士フイルム和光純薬)

(22) 硫酸マンガン(II)一水和物: 試薬(純度 97 % (質量分率)) (富士フイルム和光純薬)

(23) ほう酸: JIS K 8863 特級試薬(富士フイルム和光純薬)

(24) 硫酸アンモニウム: JIS K 8960 特級試薬(富士フイルム和光純薬)

- (25) スクロース: JIS K 8383 特級試薬(富士フイルム和光純薬)
- (26) 塩化加里: JIS K 8121 特級試薬(富士フイルム和光純薬)
- (27) 硫酸加里: JIS K 8962 特級試薬(関東化学)

3) 装置及び器具

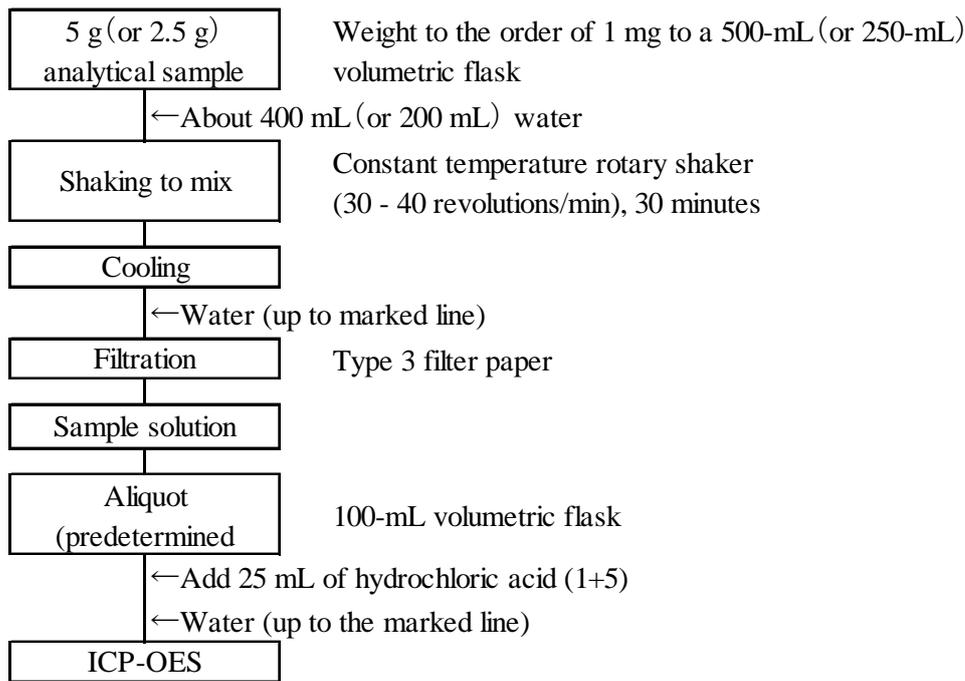
- (1) ICP 発光分光分析装置(ICP-OES): 島津製作所 ICPS-8100(横方向観測方式, シーケンシャル形分光器)
- (2) 紫外可視分光光度計: 島津製作所 UV-1800
- (3) 偏光ゼーマン原子吸光光度計: HITACHI Z-2310
- (4) 超純水製造装置: MILLIPORE Milli-Q Element A10
- (5) ホットプレート: SIBATA NP-6 及びアサヒ理化製作所 AHS-500
- (6) 超遠心粉砕機: Retsch ZM-200
- (7) 振動ミル: 川崎重工業 T-100
- (8) 全量フラスコ: JIS R 3505 全量フラスコ クラス A
- (9) 全量ピペット: JIS R 3505 全量ピペット クラス A 又は B (17.5 mL のみ)
- (10) ろ紙 3 種

4) 分析方法

測定波長については, 肥料研究報告第 8 号(2015)で報告されている ICP-OES 法による液状肥料中の水溶性主成分の測定を参考とし⁶⁾, Table 3 のとおりとした.

(1) 水溶性 3 成分法(従来法で採用されている成分: W-P₂O₅, W-K₂O(硫酸加里苦土を含まない肥料)及び W-MnO)

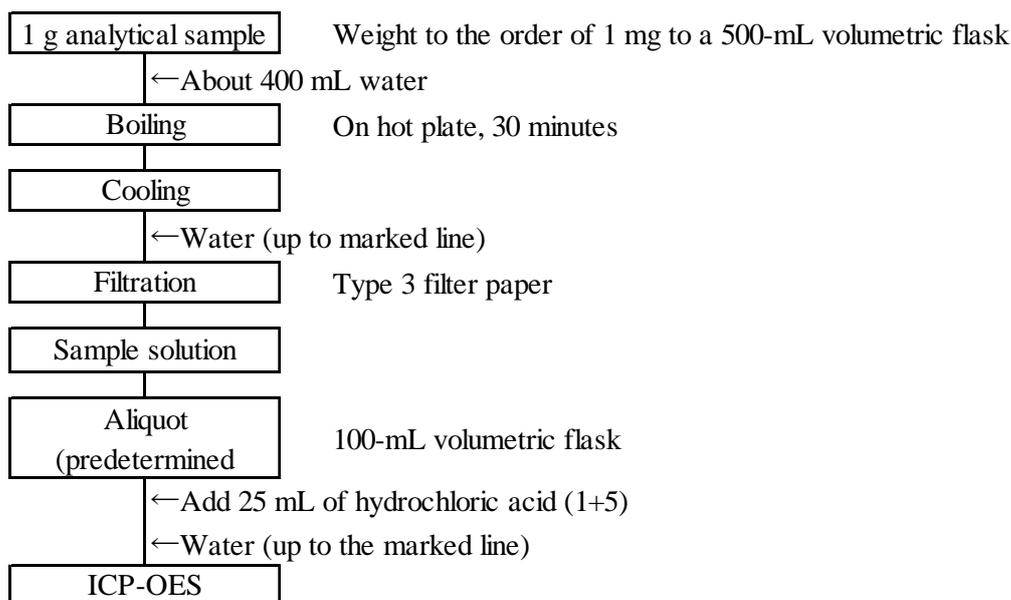
分析試料 5 g(または 2.5 g)を 1 mg の桁まではかりとり, 全量フラスコ 500 mL(または 250 mL)に入れ, 水 400 mL(または 200 mL)を加え, 常温下にて 30~40 回転/分で 30 分間振り混ぜた. 標線まで水を加え, ろ紙 3 種でろ過した. ろ液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり, 塩酸(1+5)25 mL を加えて水で定容したものを試料溶液とし, ICP-OES を用いて定量した. 分析フローシートは Scheme 1 のとおりである. (以下, この抽出方法を「W3 成分法」という.)



Scheme 1 Flow sheet of measurement procedure using ICP-OES for W-P₂O₅, W-K₂O and W-MnO in solid fertilizer (W-3 component method)

(2) 水溶性苦土法(従来法で採用されている成分:W-MgO)

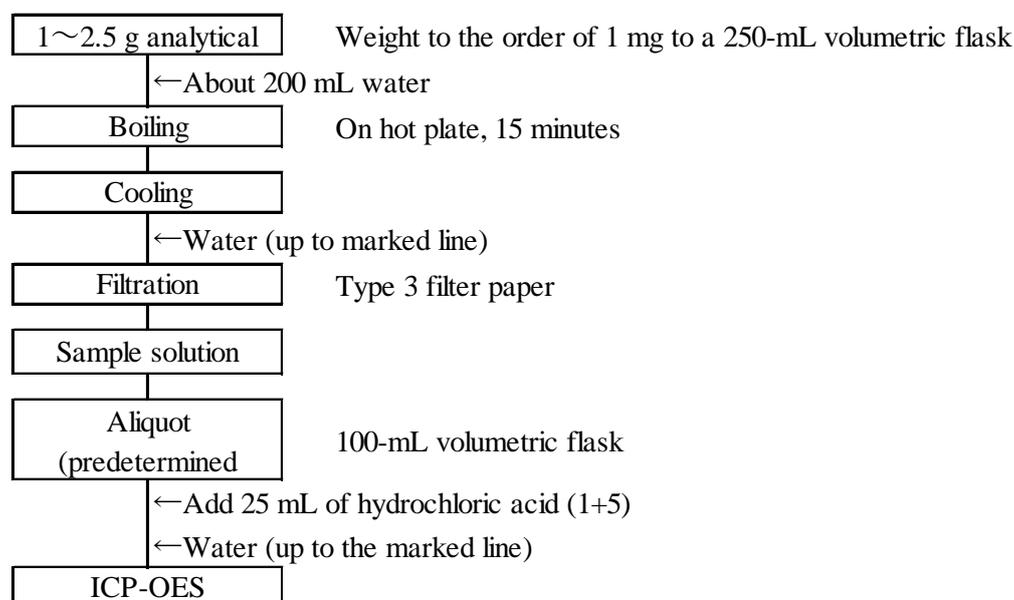
分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 500 mL に入れ、水 400 mL を加え、30 分間煮沸した。放冷後、標線まで水を加え、ろ紙 3 種でろ過した。ろ液の一定量を別の全量フラスコ 100 mL にとり、塩酸(1+5) 25 mL を加えて水で定容したものを試料溶液とし、ICP-OES を用いて定量した。分析フローシートは Scheme 2 のとおりである。(以下、この抽出方法を「WMg 法」という。) なお、塩酸添加時に懸濁が見られた試料溶液については、1700×g で 10 分間遠心分離したものを測定に供した。



Scheme 2 Flow sheet of measurement procedure using ICP-OES for W-MgO in solid fertilizer (W-Mg method)

(3) 水溶性ほう素法(従来法で採用されている成分:W-B₂O₃及びW-K₂O(カリウム塩))

分析試料 1 g~2.5 g(カリウム塩は 2.5 g)を 1 mg の桁まではかりとり, 全量フラスコ 250 mL に入れ, 水 200 mL を加え, 15 分間煮沸した. 放冷後, 標線まで水を加え, 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ものを試料溶液とし, ICP-OES を用いて定量した. 分析フローシートは Scheme 3 のとおりである. (以下, この抽出方法を「WB 法」という.)なお, 塩酸添加時に懸濁が見られた試料溶液については, 1700×g で 10 分間遠心分離したものを測定に供した.



Scheme 3 Flow sheet of measurement procedure using ICP-OES for W-B₂O₃ in solid fertilizer (W-B method)

Table 3 Analysis wavelength

Element	Wavelength (nm)
P	178.287
K	766.491
Mg	279.553
Mn	257.610
B	249.773

3. 結 果

1) 方法間比較による真度の評価

今回の検討における5つの対象成分は, 肥料等試験法²⁾において固形肥料での抽出方法が3通りに分かれている. そこで, ICP-OESによる測定法の検討については, 5成分の一斉分析が可能かを確認するために, 5成分分析の従来法(Table 4)で採用されている3通りすべての抽出方法を検討することとし, それぞれの抽出条件による測定結果と, 従来法の測定結果を比較することとした. 具体的には, 成分ごとに, ①ICP-OES法(抽出方法:W3成分法)-従来法, ②ICP-OES法(抽出方法:WMg法)-従来法, ③ICP-OES法(抽出方法:WB法)-従来法の3つの組み合わせについて, それぞれ相関図(回帰直線)を作成した. 相関図による比較に用いた肥料の点数は, W-P₂O₅を26点, W-K₂Oを25点(カリウム塩及び硫酸加里苦土を含む肥料を除く), W-MgOを28

点, W-MnO を 14 点及び W-B₂O₃ を 21 点である. なお, W-MnO 及び W-B₂O₃ については, 流通肥料の大半を占める質量分率 1 % 未満のものに限定した.

各成分の 95 % 予測区間による相関図を Fig. 1-1~5 に, 各成分の 95 % 信頼区間における傾き (b), 切片 (a) 及び回帰直線の相関係数 (r) を Table 5-1~5 に, それぞれ示す. 肥料等試験法における妥当性確認方法の基準では, 傾き (b) の 95 % 信頼区間に 1 が含まれ, 切片 (a) は同区間に原点 (0) が含まれ, かつ相関係数 (r) は 0.99 以上を推奨している. W-P₂O₅ 及び W-MnO は W3 成分法について, W-MgO は WMg 法について, それぞれすべての基準を満たしており, 抽出方法が従来法と同じ場合のみ従来法との同等性が確認できた. このことから, ICP-OES 法でもそれぞれ従来法と同じ抽出方法を採用することとした. また, W-K₂O は W3 成分法及び WB 法について, すべての基準を満たしていたが, W-K₂O については煮沸工程がなく抽出時間が短く済む W3 成分法(従来法と同じ抽出方法)を, ICP-OES 法の W-K₂O 分析でも採用することとした.

一方, W-B₂O₃ は ICP-OES 法にどの抽出方法を用いた場合についても, 肥料等試験法の基準をすべて満たすものはなかったが, その原因として, 抽出溶液の着色に注目した. 着色は有機質原材料を含む肥料についてよく見られるが, 有機質原材料を含まない肥料についても見られることがある. そこで W-B₂O₃ の検討に用いた 21 点の肥料を, 有機質原材料を含む肥料と有機質原材料を含まない肥料, または抽出溶液に着色が見られた肥料と着色が見られなかった肥料, にそれぞれ分類して, ICP-OES 法(抽出方法:WB 法)を従来法(アズメチン H 法)と比較した相関図を Fig. 2-1~2 に, 95 % 信頼区間における傾き (b), 切片 (a) 及び回帰直線の相関係数 (r) を Table 6-1~2 に, それぞれ示す.

有機質原材料の有無で肥料を分けた場合は, どちらのケースでも肥料等試験法の基準を満たさない結果となったが, 抽出溶液の着色の有無で分けた場合, 着色のなかった肥料については試料数が 5 点と少ないものの相関係数が 1.000 となり, 改善の可能性が示唆された. そこで肥料 21 点のうち, 抽出溶液に着色の見られた肥料 16 点について, 従来法において吸光度の補正²⁾¹⁰⁾を行った上で, 従来法の結果と ICP-OES 法(抽出方法:WB 法)の結果を比較した(Fig. 3 及び Table 7). その結果, 肥料等試験法の基準をすべて満たした.

以上のことから, この後の検討では, 各成分について, 肥料等試験法の基準をすべて満たした方法(W-P₂O₅, W-K₂O(カリウム塩以外の肥料), W-MnO については W3 成分法, W-MgO については WMg 法, 及び W-B₂O₃ については WB 法)に絞って行うこととし, 5 成分一斉分析法の検討については保留することとした.

また, 高濃度(質量分率 1 % 以上)の W-MnO または W-B₂O₃ を含むマンガニ質肥料及びほう素質肥料については試料数が少ないので, 濃度の異なる 3 肥料について 4 点併行試験を行い, 従来法の結果と ICP-OES 測定の結果との間で F 検定による等分散性の確認及び t 検定による平均値の比較を行った. その結果, 2 方法間で有意差は見られなかった. また, 高濃度の W-K₂O を含むカリウム塩についても同様の比較を行った(抽出方法は従来法, ICP-OES 法ともに WB 法とした)ところ, 2 方法間で有意差は見られなかった(Table 8).

Table 4 Measuring condition of Testing Methods For Fertilizers (2018)

Component	Testing methods for Fertilizers	Wavelength (nm)	Measuring instrument
W-P ₂ O ₅	Ammonium vanadomolybdate absorptiometric analysis	420	Spectrophotometer
W-K ₂ O	Flame atomic absorption spectrometry	769.9	Polarized Zeeman atomic absorption spectrophotometer
W-MgO	Flame atomic absorption spectrometry	202.5	Polarized Zeeman atomic absorption spectrophotometer
W-MnO	Flame atomic absorption spectrometry	279.5	Polarized Zeeman atomic absorption spectrophotometer
W-B ₂ O ₃	Azomethine-H method	415	Spectrophotometer

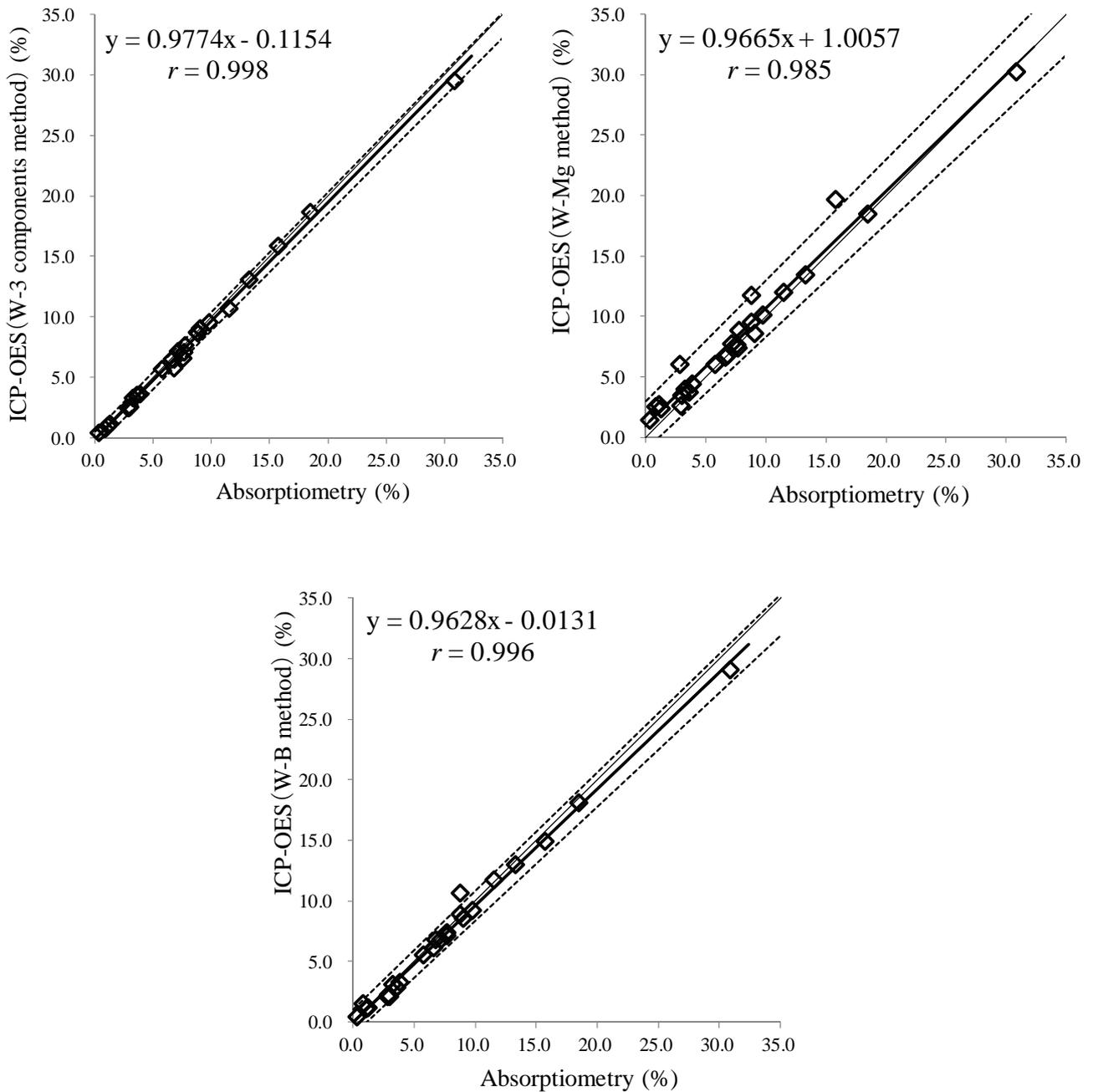


Fig. 1-1 Comparison of value of W-P₂O₅ extraction method using ICP-OES and Absorptiometry

Heavy line :Regression line

Dotted lines :Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line: $y=x$

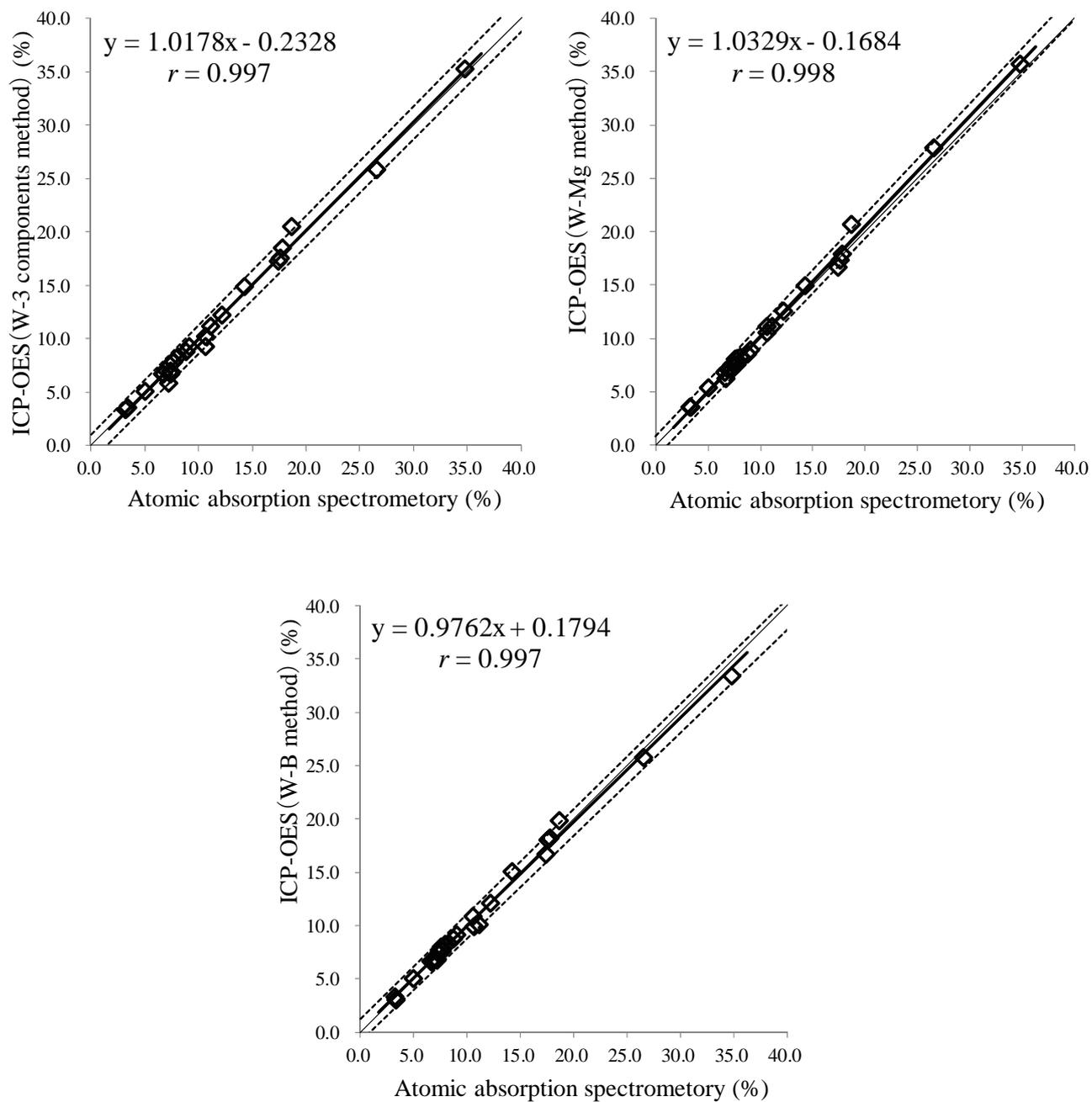


Fig. 1-2 Comparison of value of W-K₂O extraction method using ICP-OES and Atomic absorption spectrometry

Heavy line : Regression line

Dotted lines : Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line: $y=x$

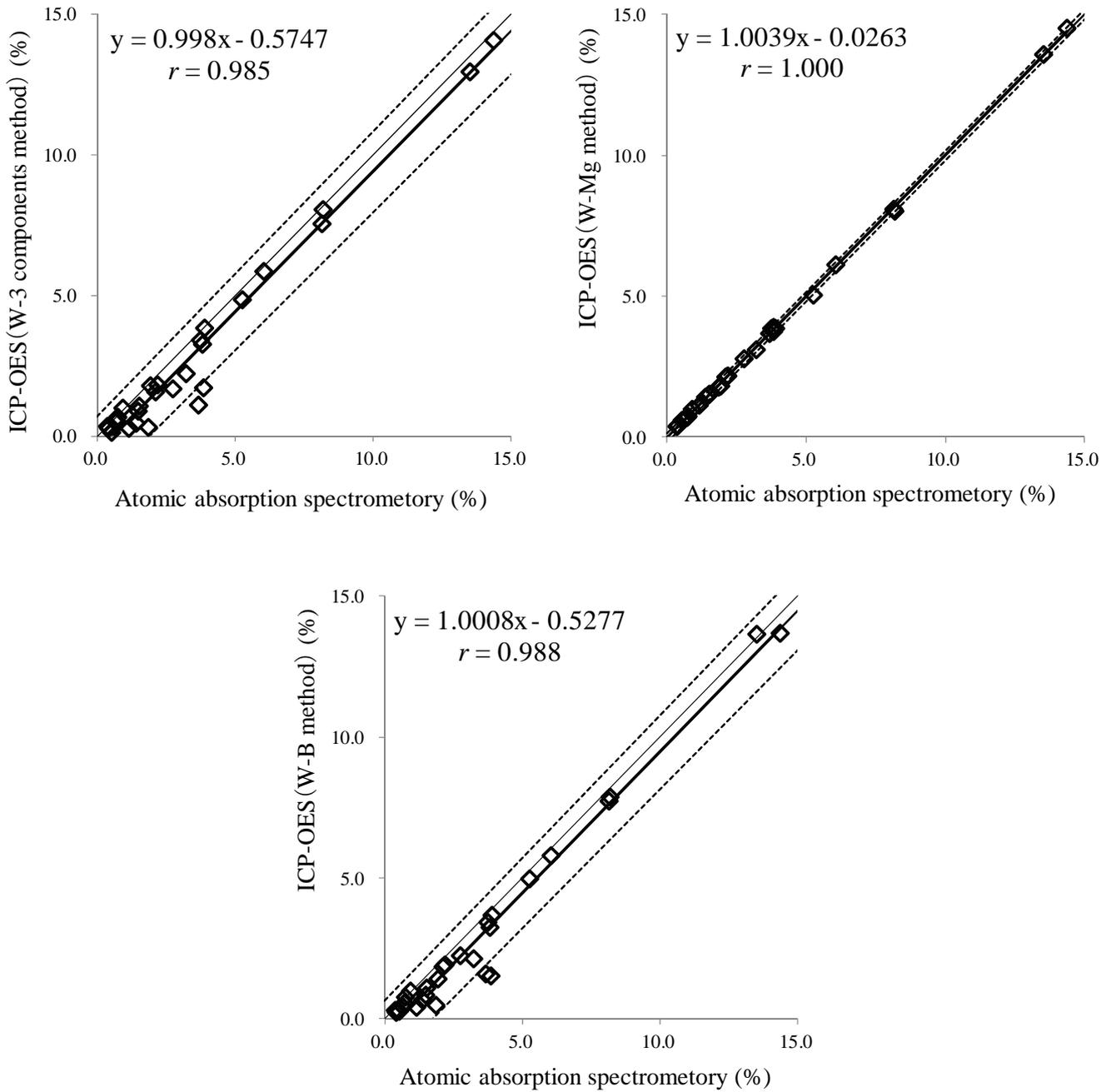


Fig. 1-3 Comparison of value of W-MgO extraction method using ICP-OES and Atomic absorption spectrometry

Heavy line : Regression line

Dotted lines : Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line: $y=x$

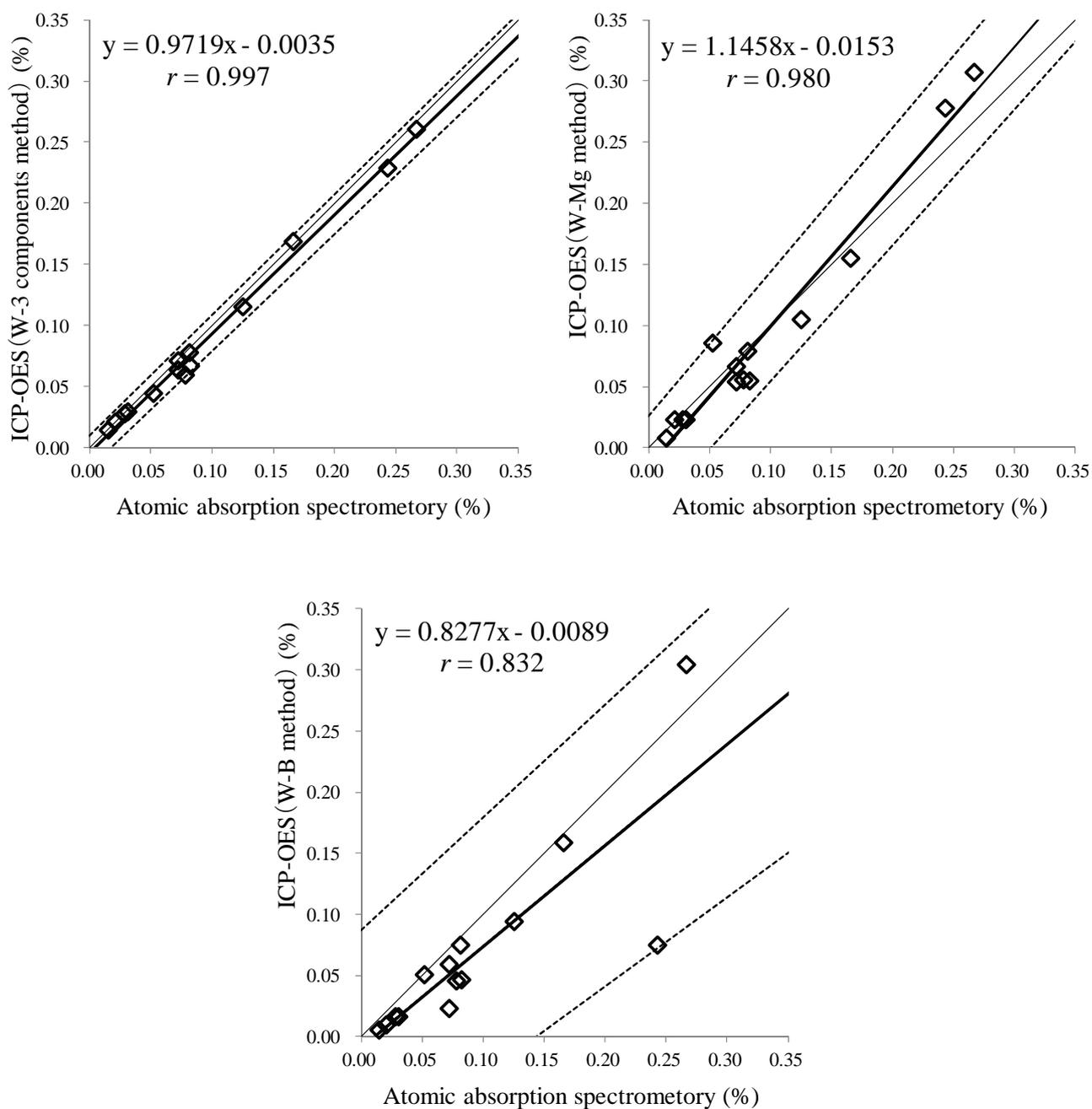


Fig. 1-4 Comparison of value of W-MnO extraction method using ICP-OES and Atomic absorption spectrometry

Heavy line : Regression line

Dotted lines : Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line: $y=x$

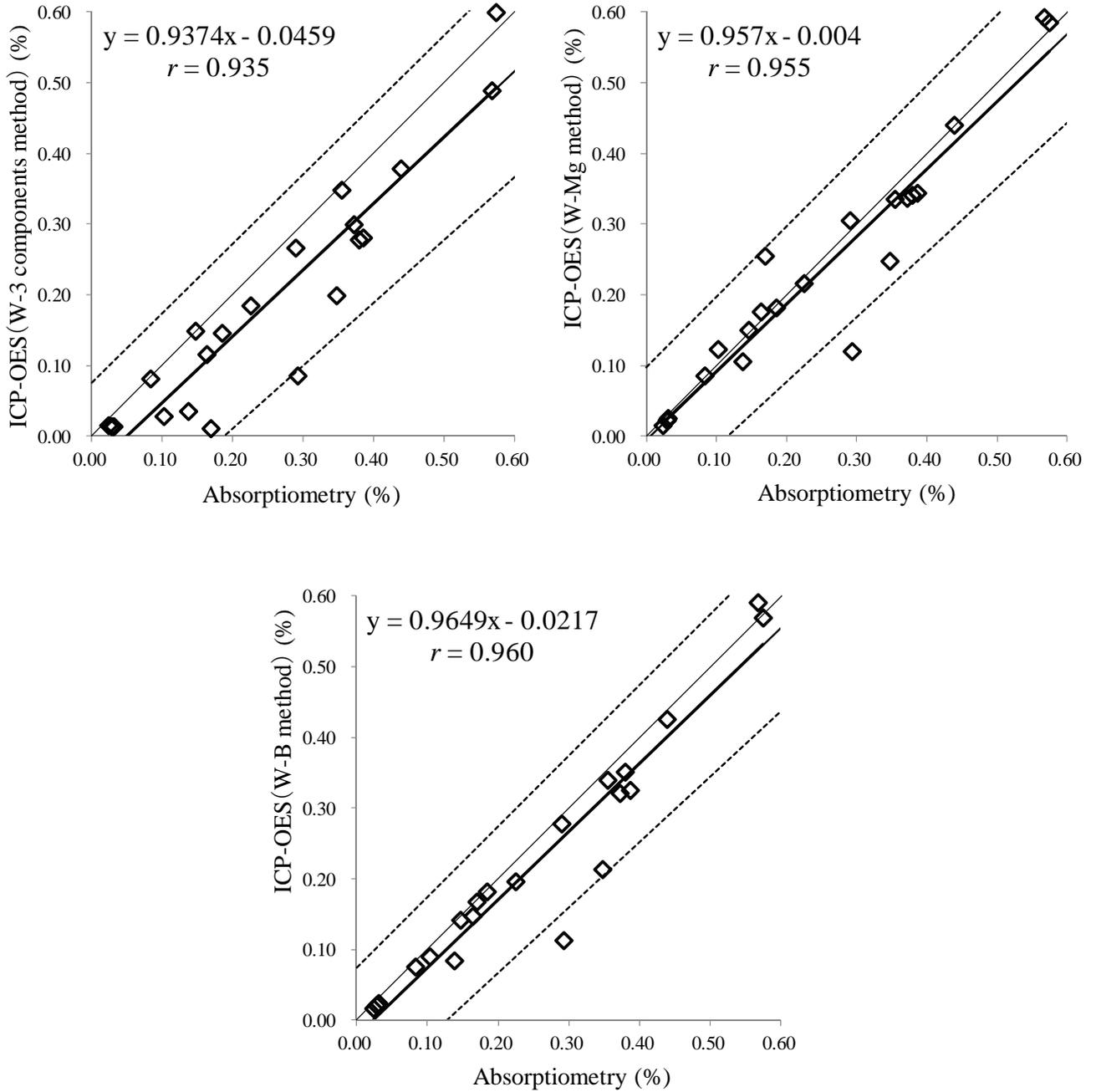


Fig. 1-5 Comparison of value of W-B₂O₃ extraction method using ICP-OES and Absorptiometry

Heavy line :Regression line

Dotted lines :Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line: $y=x$

Table 5-1 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and Absorptiometry (W-P₂O₅)

Component	Extractive method	95 % confidence interval		Correlation coefficient (<i>r</i>)
		Inclination (<i>b</i>)	Intercept (<i>a</i>)	
W-P ₂ O ₅	W-3 components method	0.954 ~ 1.0003	-0.345 ~ 0.114	0.998
	W-Mg method	0.896 ~ 1.037	0.302 ~ 1.709	0.985
	W-B method	0.926 ~ 0.9999	-0.385 ~ 0.358	0.996

Shaded: Not cleared criteria to validate characteristics of testing methods which will be listed in Testing Methods for Fertilizers.

Table 5-2 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and Atomic absorption spectrometry (W-K₂O)

Component	Extractive method	95 % confidence interval		Correlation coefficient (<i>r</i>)
		Inclination (<i>b</i>)	Intercept (<i>a</i>)	
W-K ₂ O	W-3 components method	0.981 ~ 1.055	-0.732 ~ 0.266	0.997
	W-Mg method	1.004 ~ 1.062	-0.565 ~ 0.228	0.998
	W-B method	0.945 ~ 1.008	-0.246 ~ 0.604	0.997

Shaded: Not cleared criteria to validate characteristics of testing methods which will be listed in Testing Methods for Fertilizers.

Table 5-3 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and Atomic absorption spectrometry (W-MgO)

Component	Extractive method	95 % confidence interval		Correlation coefficient (<i>r</i>)
		Inclination (<i>b</i>)	Intercept (<i>a</i>)	
W-MgO	W-3 components method	0.929 ~ 1.067	-0.922 ~ -0.228	0.986
	W-Mg method	0.995 ~ 1.012	-0.069 ~ 0.016	1.000
	W-B method	0.937 ~ 1.065	-0.848 ~ -0.207	0.988

Shaded: Not cleared criteria to validate characteristics of testing methods which will be listed in Testing Methods for Fertilizers.

Table 5-4 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and Atomic absorption spectrometry (W-MnO)

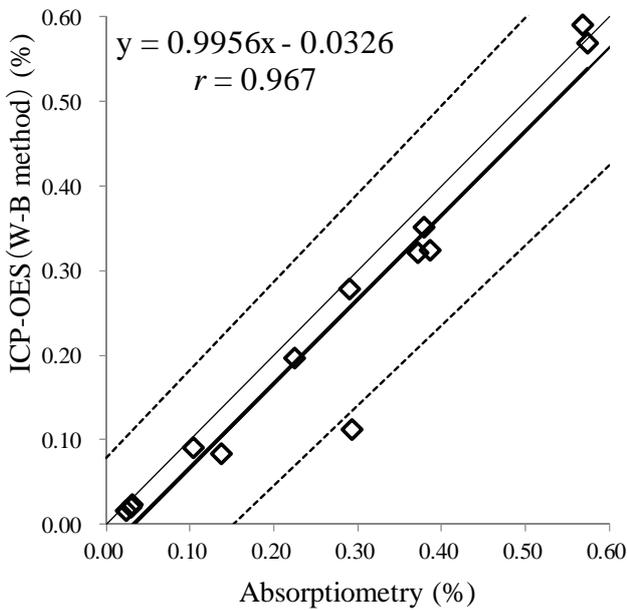
Component	Extractive method	95 % confidence interval		Correlation coefficient (<i>r</i>)
		Inclination (<i>b</i>)	Intercept (<i>a</i>)	
W-MnO	W-3 components method	0.922 ~ 1.022	-0.010 ~ 0.003	0.997
	W-Mg method	0.998 ~ 1.294	-0.033 ~ 0.003	0.980
	W-B method	0.480 ~ 1.175	-0.051 ~ 0.034	0.832

Shaded: Not cleared criteria to validate characteristics of testing methods which will be listed in Testing Methods for Fertilizers.

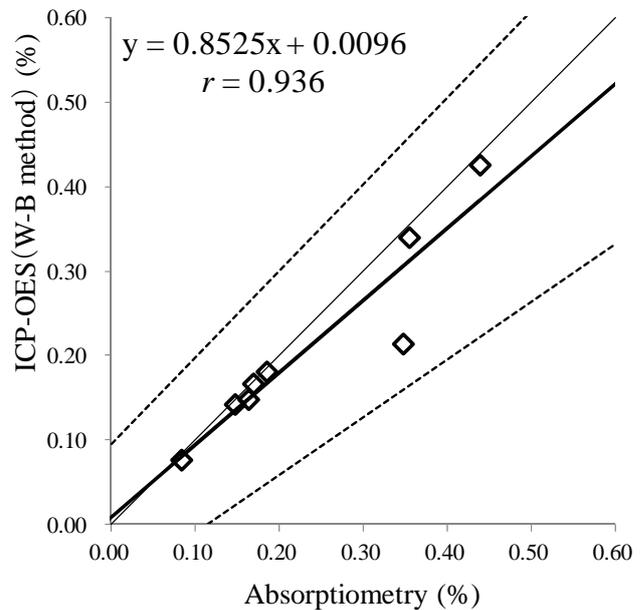
Table 5-5 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and Absorptiometry (W-B₂O₃)

Component	Extractive method	95 % confidence interval				Correlation coefficient (r)
		Inclination (b)		Intercept (a)		
W-B ₂ O ₃	W-3 components method	0.767	~ 1.107	-0.097	~ 0.005	0.935
	W-Mg method	0.813	~ 1.100	-0.047	~ 0.039	0.955
	W-B method	0.830	~ 1.100	-0.062	~ 0.019	0.960

Shaded: Not cleared criteria to validate characteristics of testing methods which will be listed in Testing Methods for Fertilizers.



(W-B₂O₃: Fertilizers included organic material)



(W-B₂O₃: No fertilizers included organic material)

Fig. 2-1 Comparison of value of W-B₂O₃ extraction method using test method and ICP-OES

(Included organic material and not included one)

Heavy line : Regression line

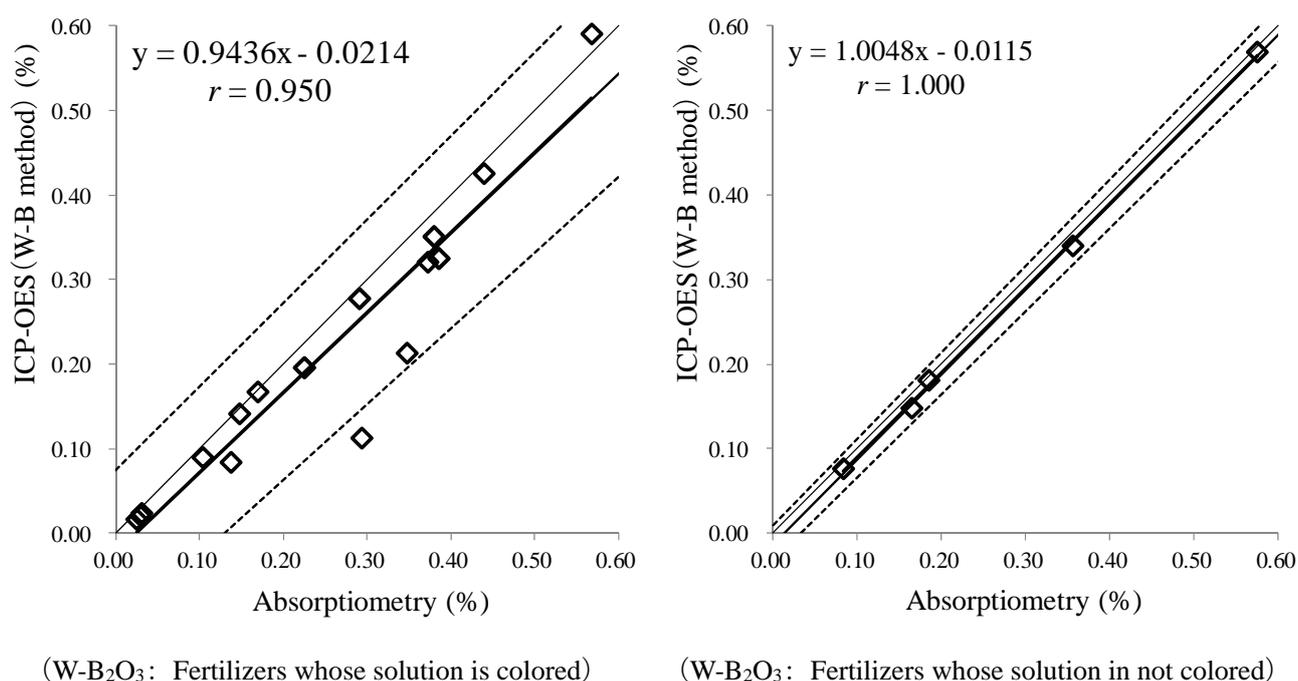
Dotted lines : Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line : y=x

Table 6-1 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and Absorptiometry (Included organic material and not included one)

Component	Extractive method	95 % confidence interval		Correlation coefficient (r)	Remarks
		Inclination (b)	Intercept (a)		
W-B ₂ O ₃	W-B method	0.822 ~ 1.169	-0.088 ~ 0.023	0.967	Included organic material
W-B ₂ O ₃	W-B method	0.531 ~ 1.174	-0.075 ~ 0.094	0.936	Not included organic material

Shaded: Not cleared criteria to validate characteristics of testing methods which will be listed in Testing Methods for Fertilizers.

Fig. 2-2 Comparison of value of W-B₂O₃ extraction method using test method and ICP-OES

(Colored solution and not colored one)

Heavy line :Regression line

Dotted lines:Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line:y=x

Table 6-2 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between ICP-OES and Absorptiometry (Colored solution and not colored one)

Component	Extractive method	95 % confidence interval		Correlation coefficient (<i>r</i>)	Remarks
		Inclination (<i>b</i>)	Intercept (<i>a</i>)		
W-B ₂ O ₃	W-B method	0.791 ~ 1.097	-0.067 ~ 0.024	0.950	Colored solution
W-B ₂ O ₃	W-B method	0.949 ~ 1.060	-0.029 ~ 0.007	1.000	Not colored solution

Shaded: Not cleared criteria to validate characteristics of testing methods which will be listed in Testing Methods for Fertilizers.

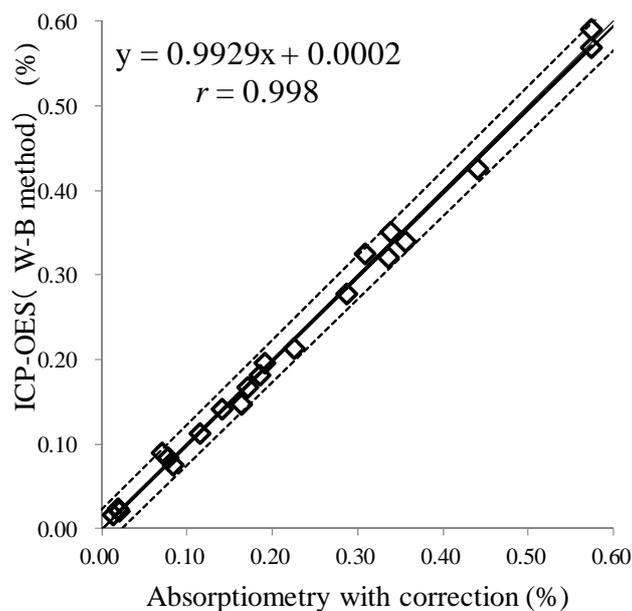


Fig. 3 Comparison of value of W-B₂O₃ extraction method using ICP-OES and Absorptiometry
(After correction for absorbance of colored solution)

Heavy line : Regression line

Dotted lines : Upper and lower of limit 95 % prediction interval

Thin Line : $y=x$

Table 7 The 95 % confidence interval and correlation coefficient of the regression line in between
ICP-OES and Absorptiometry with correction (W-B₂O₃)

Component	Extractive method	95 % confidence interval		Correlation coefficient (r)	Remarks
		Inclination (b)	Intercept (a)		
W-B ₂ O ₃	W-B method	0.961 ~ 1.025	-0.009 ~ 0.009	0.998	After correction

Table 8 Test result using samples of 3 different concentration for evaluating trueness

Component	Sample	Improved method		Conventional method ^{a)}		F-test		t-test	
		Mean ^{b)}	s ^{d)}	Mean ^{b)}	s ^{d)}	Variance ratio	Critical value ^{e)}	t-value	Critical value ^{f)}
		(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}			t-value	value ^{f)}
W-K ₂ O ^{g)}	By-product potassium fertilizer	41.76	0.29	41.22	0.71	5.94	9.28	1.38	2.45
	Potassium sulfate	51.54	0.68	51.05	0.77	1.31	9.28	0.96	2.45
	Potassium chloride	60.88	0.66	60.46	0.46	2.07	9.28	1.06	2.45
W-MnO	Manganese mixture fertilizer	2.60	0.03	2.62	0.03	1.55	9.28	0.91	2.45
	Micronutrient mixture 1	20.51	0.18	20.45	0.17	1.08	9.28	0.49	2.45
	Manganese sulfate fertilizer	40.80	1.49	40.50	0.60	6.15	9.28	0.37	2.45
W-B ₂ O ₃	Micronutrient mixture 1	1.97	0.02	1.97	0.01	1.65	9.28	0.42	2.45
	Micronutrient mixture 2	12.53	0.09	12.52	0.03	8.99	9.28	0.22	2.45
	Borate fertilizer	56.77	0.42	56.45	0.54	1.65	9.28	0.93	2.45

a) W-K₂O and W-MnO: Flame atomic absorption spectrometry, W-B₂O₃: Azomethine-H method

b) Mean value ($n = 4$)

c) Mass fraction

d) Standard deviation

e) $F(3,3;0.05)$

f) $t(6;0.05)$

g) Extraction procedure for potassium salt fertilizer

3) 添加回収試験による真度の評価

ICP-OES法の真度を確認するため、各成分5~7段階の濃度になるよう調製した試料14点について3点併行分析した。平均回収率は97.7%~103%、併行相対標準偏差(RSD_r)は0.29%~3.20%であり、すべて肥料等試験法²⁾における各濃度レベルの回収率の許容範囲を満たした(Table 9)。

Table 9 Result of recovery test

Component	No. of sample ^{a)}	Content ^{b)}	Mean ^{b)c)}	Recovery	RSD _r ^{d)}	Criteria of the trueness ^{e)}
W-P ₂ O ₅	1	52.15	52.07	100	1.56	98~102
	5	18.25	18.79	103	1.97	97~103
	6	5.48	5.50	100	2.17	96~104
	7	1.64	1.67	103	2.06	96~104
	12	9.13	9.25	101	0.81	96~104
W-K ₂ O	1	34.61	34.62	100	0.37	98~102
	1 ^{e)}	34.61	35.04	101	0.70	98~102
	5	12.11	12.05	99.5	1.43	97~103
	6	3.63	3.64	100	1.77	96~104
	7	1.09	1.10	102	2.94	96~104
	12	6.06	6.17	102	0.29	96~104
	13 ^{e)}	63.18	63.82	101	0.46	98~102
14 ^{e)}	54.05	53.18	98.4	0.62	98~102	
W-MgO	2	18.79	18.75	99.8	0.29	97~103
	5	9.40	9.18	97.7	1.33	96~104
	6	2.82	2.89	102	0.74	96~104
	7	0.846	0.852	101	0.59	94~106
	12	4.70	4.84	103	1.28	96~104
W-MnO	3	41.97	42.38	101	1.18	98~102
	8	8.39	8.13	98.9	0.37	96~104
	9	1.68	1.65	98.0	1.02	96~104
	10	0.336	0.326	96.9	1.42	94~106
	11	0.0907	0.0914	101	2.63	92~108
	12	0.839	0.826	98.5	0.59	94~106
W-B ₂ O ₃	4	56.30	56.63	101	2.04	98~102
	8	1.69	8.23	97.4	0.90	96~104
	9	0.338	1.68	99.1	3.12	96~104
	10	0.0912	0.340	100	2.63	94~106
	11	0.845	0.0901	98.8	2.31	92~108
	12	0.839	0.859	101	3.20	94~106

a) Number of prepared samples

b) Mass fraction (%)

c) Mean value of the parallel test ($n = 3$)

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of trueness (recovery) shown in Testing Methods for Fertilizers

4) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するために、化成肥料、配合肥料、家庭園芸用複合肥料、混合微量元素肥料、硫酸加里及び重炭酸加里について各成分 2 濃度 2 点併行で 5 日間の反復試験を行った結果を

Table 10 に、それらを基に一元配置分散分析を行って得られた統計解析結果を Table 11 に、それぞれ示した。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)の目安の 2.0 倍以内であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 10 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation

Component	Sample	Test day				
		1	2	3	4	5
W-P ₂ O ₅	Mixed fertilizer 1	1.62	1.60	1.52	1.64	1.48
		1.59	1.50	1.63	1.69	1.53
	Home garden-use mixed fertilizer	28.9	29.4	28.8	28.6	28.6
		27.9	28.5	29.1	29.4	29.4
W-K ₂ O	Mixed fertilizer 1	7.00	7.23	7.09	6.96	7.28
		7.26	7.37	6.73	7.28	7.34
	Home garden-use mixed fertilizer	20.9	20.8	20.2	20.1	20.7
		19.9	20.3	20.6	20.8	20.8
	Potassium bicarbonate ^{a)}	44.7	44.4	46.1	44.6	45.0
		44.5	44.6	46.3	45.1	45.0
Potassium sulfate ^{a)}	49.3	50.3	53.2	49.4	50.1	
	49.9	50.9	52.7	50.2	49.8	
W-MgO	Mixed fertilizer 2	1.04	0.967	0.996	0.977	0.984
		0.990	1.00	0.946	0.975	0.982
	Micronutrient mixture	8.15	8.11	7.99	8.08	8.23
		7.81	8.16	7.65	8.03	7.72
W-MnO	Mixed fertilizer 1	0.0689	0.0625	0.0659	0.0625	0.0693
		0.0687	0.0567	0.0660	0.0608	0.0676
	Home garden-use mixed fertilizer	0.239	0.218	0.234	0.243	0.245
		0.246	0.235	0.239	0.249	0.233
W-B ₂ O ₃	Mixed fertilizer 3	0.0424	0.0491	0.0417	0.0461	0.0445
		0.0461	0.0475	0.0434	0.0498	0.0459
	Compound fertilizer 1	0.386	0.346	0.376	0.350	0.369
		0.389	0.358	0.354	0.357	0.370

a) Extraction procedure for potassium salt fertilizer

Table 11 Statistical analysis of repetition test result for evaluating precision

Component	Sample	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)} (%)
W-P ₂ O ₅	Mixed fertilizer 1	1.58	0.05	3.3	2	0.07	4.5	3.5
	Home garden-use mixed fertilizer	28.9	0.5	1.9	1	0.5	1.9	2
W-K ₂ O	Mixed fertilizer 1	7.15	0.18	2.5	2	0.21	2.9	3.5
	Home garden-use mixed fertilizer	20.5	0.4	2.1	1.5	0.4	2.1	2.5
	Potassium bicarbonate ⁱ⁾	45.0	0.2	0.4	1	0.7	1.5	2
	Potassium sulfate ⁱ⁾	50.6	0.4	0.8	1	1.4	2.8	2
W-MgO	Mixed fertilizer 2	0.986	0.026	2.6	3	0.026	2.6	4.5
	Micronutrient mixture	7.99	0.22	2.8	2	0.22	2.8	3.5
W-MnO	Mixed fertilizer 1	0.0649	0.0020	3.0	4	0.0043	6.7	6.5
	Home garden-use mixed fertilizer	0.238	0.007	3.1	3	0.009	3.8	4.5
W-B ₂ O ₃	Mixed fertilizer 3	0.0456	0.0019	4.1	4	0.0028	6.1	6.5
	Compound fertilizer 1	0.365	0.008	2.3	3	0.016	4.3	4.5

a) Mean value ($n = \text{sample number of parallel test (2)} \times \text{number of test days (5)}$)

b) Mass fraction (%)

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate precision (intermediate relative standard deviation) shown in Testing Methods for Fertilizers

i) Extraction procedure for potassium salt fertilizer

5) 定量下限等の確認

肥料の公定規格¹¹⁾において、配合肥料中の含有すべき主成分の最小量は、W-P₂O₅、W-K₂O 及び W-MgO は 1.0 %、W-MnO 及び W-B₂O₃ は 0.005 % と定められている。また、肥料等試験法²⁾において、定量下限は流通肥料中の含有最小量の 1/5 以下であることが推奨されている。これらを踏まえたうえで定量下限の推定を行った。

Table 2 に示した自家調製肥料のうち、W-P₂O₅ 及び W-K₂O は試験品 13 (W-P₂O₅ の設計値: 質量分率 0.261 %, W-K₂O の設計値: 質量分率 0.208 %), W-MgO は試験品 14 (設計値: 質量分率 0.207 %) を用いて 7 点併行で試験を実施し定量下限の推定を行った。一方、W-MnO 及び W-B₂O₃ は目標とする定量下限が

0.001 %となり、自家配合で肥料を調製することが困難なことから、方法間比較の検討に用いた流通肥料のうち、最も分析値の低かった配合肥料を用いて7点併行試験による定量下限の推定を行った。

各成分とも、併行試験により求められた標準偏差から、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ を用いて算出した。結果についてはTable 12に示した。W-P₂O₅の定量下限は0.04 %程度、検出下限は0.2 %程度、W-K₂Oの定量下限は0.08 %程度、検出下限は0.03 %程度、W-MgOの定量下限は0.06 %程度、検出下限は0.02 %程度、W-MnOの定量下限は0.005 %、検出下限は0.002 %、W-B₂O₃の定量下限は0.005 %程度、検出下限は0.002 %程度と推定された。

現在市場に流通している配合肥料の最小保証成分量と、今回、推定された定量下限及び検出下限を比較したところ、W-P₂O₅、W-K₂O及びW-MgOについては最小保証成分量の1/5以下であり、本法の適用が可能であることを確認した。一方、W-MnO及びW-B₂O₃については最小保証成分量程度の定量下限を確保できた。

Table 12 Estimation of the lower limit of quantitation (LOQ)

Component	Sample	Content	Mean ^{b)}	Recovery	s_r ^{c)}	LOQ	LOD	Criteria of the trueness ^{f)}
		(%) ^{a)}	(%) ^{a)}	(%)	(%) ^{a)}	(%) ^{a)}	(%) ^{a)}	(%) ^{a)}
W-P ₂ O ₅	Preparation sample No.15	0.261	0.253	97	0.004	0.04	0.02	94 ~ 106
W-K ₂ O	Preparation sample No.15	0.173	0.179	103	0.008	0.08	0.03	94 ~ 106
W-MgO	Preparation sample No.16	0.207	0.201	97	0.006	0.06	0.02	94 ~ 106
W-MnO	Mixed fertilizer 4	-	0.0268	-	0.0005	0.005	0.002	-
W-B ₂ O ₃	Mixed fertilizer 5	-	0.0199	-	0.0005	0.005	0.002	-

a) Mass fraction (%)

b) Mean value of the parallel test ($n = 7$)

c) Repeatability standard deviation

d) Estimated lower limit of quantification ($LOQ = s_r \times 10$)

e) Estimated lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1, 0.05)$)

f) Criteria of the trueness (recovery) shown in Testing Methods for Fertilizers

4. まとめ

ICP-OESによる固形肥料中の水溶性主成分の測定について検討したところ、次の結果を得た。

(1) 流通肥料でW-P₂O₅を保証する肥料26点、以下同様にW-K₂Oを25点、W-MgOを28点、W-MnOを14点(濃度1%未満のもの)及びW-B₂O₃を21点(濃度1%未満のもの)、それぞれ分析し、ICP-OES法3通りと肥料等試験法に記載されている従来法との定量値を相関図で比較した。W-P₂O₅、W-K₂O、W-MgO及びW-MnOは、抽出条件が従来法と同じであるICP-OES法について、同法に定める推奨基準を満たしていた。これにより、上記4成分(W-MnOについては低濃度領域に限る)について、ICP-OES法と従来法との同等性が確認できた。

(2) W-B₂O₃はどの抽出条件についても相関係数が推奨基準を満たさない結果となったが、抽出溶液に着色の見られた肥料について、従来法(アゾメチンH法)の測定において着色由来の吸光度を補正することにより、推奨基準を満たしたことから、W-B₂O₃(低濃度領域に限る)についても、ICP-OES法と従来法との同等性が確認できた。

(3) 高濃度の W-MnO または W-B₂O₃ を含む肥料について、濃度の異なる 3 肥料の 4 点併行試験を行い、従来法の結果と ICP-OES 測定の結果との間で *F* 検定による等分散性の確認及び *t* 検定による平均値の比較を行ったところ、有意差は見られず、上記 2 成分について高濃度領域でも ICP-OES 法と従来法との同等性が確認できた。また、高濃度の W-K₂O を含むカリウム塩についても、同様の比較により 2 方法の同等性が確認できた。

(4) 各成分任意の濃度に調製した肥料による添加回収試験の結果、全濃度全成分について回収率は 97 % ~ 103 % であり、肥料等試験法に示されている真度の目安を満たしていた。同様に、相対標準偏差についても、すべての目安を満たしていた。

(5) 各成分についてそれぞれ 2 種類 (W-K₂O はカリウム塩以外の肥料とカリウム塩でそれぞれ 2 種類) の試料を用意し、2 濃度 2 点併行、日を変えて 5 回 ICP-OES 法にて分析を行い得られた測定値の中間相対標準偏差及び併行相対標準偏差は、すべて肥料等試験法に示されている目安を満たしていた。

(6) ICP-OES 法における固形肥料中の水溶性主成分の測定における定量下限の推定を行った結果、W-P₂O₅ は 0.04 % 程度、W-K₂O は 0.08 % 程度、W-MgO は 0.06 % 程度、W-MnO は 0.005 % 程度及び W-B₂O₃ は 0.005 % 程度であった。

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(2019)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2019.pdf>
- 3) 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)
- 4) 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(2009)
- 5) 恵智正宏,井上智江,田淵 恵,野村哲也:汚泥肥料中のカドミウム,鉛,ニッケル,クロム,銅及び亜鉛の同時測定 -ICP 発光分光分析装置の適用-,肥料研究報告, **4**, 30~35(2011)
- 6) 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**, 1~8(2015)
- 7) 青山恵介: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,肥料研究報告, **9**, 1~9(2016)
- 8) 青山恵介:ICP 発光分光分析法によるチタンの測定,肥料研究報告, **10**, 29~40(2017)
- 9) 松尾信吾:ICP 発光分光分析(ICP-OES)法による固形肥料中の可溶性主成分の測定,肥料研究報告, **11**, 14~28(2018)
- 10) 山西正将:有機物を含む肥料中の可溶性ほう素の測定方法の改良,肥料研究報告, **12**, 10~27(2019)
- 11) 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)

Simultaneous Determination of Water-soluble Principal Ingredients in Fertilizer using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)

Norio FUNAKI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Kobe Regional Center

A single-laboratory validation study was conducted for the simultaneous determination of water-soluble principal ingredients (W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃) in fertilizer products by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES). The fertilizer was extracted with water. Hydrochloric acid was added to the extract, diluted with water, and analyzed with ICP - OES. As a result of 3 replicate analysis in 5~7 fertilizer samples prepared to contain with W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃ at 0.0907 % ~ 63.18 % (mass fraction), 1.64 % ~ 52.15 %, 1.09 % ~ 63.18 %, 0.846 % ~ 18.79 %, 0.0907 % ~ 41.97 % and 0.0912 % ~ 56.30 %, the mean recoveries were 100 % ~ 103 %, 98.4 % ~ 102 %, 97.7 % ~ 103 %, 96.9 % ~ 101 % and 97.4 % ~ 101 %, respectively. Repeatability relative standard deviation of W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃ (RSD_r) were 1.9 % ~ 3.3 %, 0.4 % ~ 2.5 %, 2.6 % ~ 2.8 %, 3.0 % ~ 3.1 % and 2.3 % ~ 4.1 %, respectively. Intermediate relative standard deviation of W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃ ($RSD_{I(T)}$) were 1.9 % ~ 4.5 %, 1.5 % ~ 2.9 %, 2.6 % ~ 2.8 %, 3.8 % ~ 6.8 % and 4.3 % ~ 6.1 %, respectively. The limit of quantitative value (LOQ) of W-P₂O₅, W-K₂O, W-MgO, W-MnO and W-B₂O₃ were 0.04 %, 0.08 %, 0.06 %, 0.005 % and 0.005 %, respectively. Those results indicated that the developed method was valid for the analysis of water-soluble principal ingredients in a fertilizer.

Key words Water-soluble phosphoric acid, Water-soluble potassium, Water-soluble magnesia, Water-soluble manganese, Water-soluble boron, ICP-OES, Solid fertilizer

(Research Report of Fertilizer, **12**, 28~51, 2019)

4 ICP-MS 法による肥料中の有害成分の測定

坂井田里子¹, 大島舞弓², 青山恵介³, 白井裕治¹

キーワード 汚泥肥料, マイクロ波分解装置, ICP-MS, 重金属

1. はじめに

汚泥肥料には公定規格¹⁾において含有を許される有害成分(ヒ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム, 鉛)の最大量(許容値)が設定されており, 当該有害成分の試験法は公定法である肥料分析法²⁾や妥当性が確認された方法が肥料等試験法³⁾に記載されている. これら試験法の中で, カドミウム(Cd), ニッケル(Ni), クロム(Cr), 鉛(Pb) (以下, 重金属という.)は, 試料を酸分解し原子吸光分析装置にて測定する方法が規定されているが, 酸分解する前に試料を炭化・灰化する必要があるなど, 試験結果を得るまでに時間を要する.

そこで汚泥肥料中の重金属の分析の迅速化及び省力化を目的として 2016 年にマイクロ波分解装置及び誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)を用いて有害成分を測定する方法の検討が行われた. しかしカドミウム以外は共存元素の影響等を受けたため, 満足する結果が得られなかった⁴⁾. この要因として ICP-MS 測定時のスペクトル干渉の影響が示唆されていた. スペクトル干渉とは測定対象元素以外の元素等による質量スペクトルの重なり起因する干渉であり, ICP-MS の測定において大きな影響を与える. この干渉を低減させる方法としてコリジョン・リアクションセルを用いることが広く知られているが, 2016 年の検討では使用した ICP-MS にコリジョン・リアクションセルが搭載されていなかった. そこで, 今回はコリジョンセルを使用した ICP-MS を用いて汚泥肥料中の重金属の測定法について検討を行い, 新たな試験法として単一試験室による妥当性確認を行ったので概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

汚泥発酵肥料 10 点, し尿汚泥肥料 3 点, 焼成汚泥肥料 3 点及び工業汚泥肥料 1 点(計 17 点)を収集した. 40 °C で 60~70 時間乾燥し, 目開き 500 µm のふるいを通すまで粉碎したものを分析用試料とした. なお, 高濃度汚染試料を入手することが困難であったため, 任意の濃度となるよう自然汚染試料に試薬を添加したのも併せて分析用試料とした.

2) 試薬等の調製

- (1) カドミウム標準液(Cd 1 mg/mL): AccuTrace™ ICP-MS 用カドミウム標準液(Cd 1000 µg/mL) (AccuStandard)
- (2) 鉛標準液(Pb 0.1 mg/mL): JCSS 鉛標準液(Pb 100) (富士フイルム和光純薬)
- (3) ニッケル標準液(Ni 0.1 mg/mL): JCSS ニッケル標準液(Ni 100) (富士フイルム和光純薬)

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部(現)農林水産省 関東農政局

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部(現)神戸センター

(4) クロム標準液(Cr 0.1 mg/mL): JCSS クロム標準液 1 (Cr 100) (関東化学)

これら標準液をそれぞれの標準原液として用いた。各標準原液を混合・希釈して混合標準原液(Cd: 10 ng/mL, Ni: 500 ng/mL, Cr: 500 ng/mL, Pb: 50 ng/mL)を調製した。また、混合標準原液を希釈し、硝酸濃度が試料溶液と同濃度になるように適宜硝酸を加え混合標準液を調製した。

(5) スカンジウム標準液(Sc 1 mg/mL): 原子吸光分析用スカンジウム標準原液(Sc 1000) (関東化学)

(6) コバルト標準液(Co 0.1 mg/mL): JCSS コバルト標準液(Co 100) (関東化学)

(7) イットリウム標準液(Y 1 mg/mL): AccuTrace™ ICP-MS 用イットリウム標準液(Y 1000 µg/mL) (AccuStandard)

(8) ロジウム標準液(Rh 1 mg/mL): AccuTrace™ ICP-MS 用ロジウム標準液(Rh 1000 µg/mL) (AccuStandard)

(9) インジウム標準液(In 1 mg/mL): JCSS ニッケル標準液(Ni 100) (富士フイルム和光純薬)

(10) レニウム標準液(Re 0.1 mg/mL): AccuTrace™ ICP-MS 用レニウム標準液(Cd 100 µg/mL) (AccuStandard)

(11) タリウム標準液(Tl 1 mg/mL): JCSS タリウム標準液(Tl 1000) (関東化学)

(12) ビスマス標準液(Bi 1 mg/mL): JCSS ビスマス標準液(Bi 100) (富士フイルム和光純薬)

上記標準液をそれぞれの内標準原液として用いた。各内標準原液を混合・希釈して硝酸濃度が試料溶液と同濃度となるように適宜硝酸を加え、混合内標準液(Sc: 100 ng/mL, Co: 100 ng/mL, Y: 100 ng/mL, Rh: 50 ng/mL, In: 50 ng/mL, Re: 10 ng/mL, Tl: 10 ng/mL, Bi: 10 ng/mL)を調製した。

(13) 硝酸: TAMAPURE-AA-100 硝酸(濃度 68 % (質量分率)) (多摩化学工業)

(14) 過酸化水素: 原子吸光分析用試薬(濃度 30.0 % ~ 35.5 % (質量分率)) (関東化学 原子吸光分析用)

(15) 水: 超純水製造装置(Direct-Q UV5, Millipore)で精製したJIS K 0557に規定するA4の水を用いた。

3) 器具及び装置

(1) 誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)

: Thermo Fisher Scientific iCAP RQ (四重極型質量分析計, デュアルモード二次電子増倍管検出器)

(2) マイクロ波分解装置: Anton-Paar Multiwave 3000

(3) 遠心分離機: KUBOTA テーブルトップ遠心機 4000

(4) ポリプロピレン製ねじ口容器: ジーエルサイエンス DigiTUBEs 100 mL 50 mL

4) マイクロ波分解-ICP-MS 法による試験操作

(1) 試料溶液の調製

テフロン TFM 製の高压分解容器に分析試料 0.20 g をはかりとり、硝酸 10 mL 及び過酸化水素 1 mL を加えた。発泡がおさまったのち、マイクロ波分解装置を用いて Table 1 の分解プログラムによって分解した。分解最高温度は約 140 °C ~ 180 °C, 分解最高圧力は 6 MPa であった。なお、分解が不十分と認められる場合は、更に硝酸 2 mL 及び過酸化水素 1 mL を添加し同条件で再度分解を行った。放冷後、分解液をポリプロピレン製ねじ口容器に水で移し込み、100 mL の標線まで水を加えて 3000 回転/分(約 1700×g)で 5 分間遠心分離した。上澄み液 5 mL をポリプロピレン製ねじ口容器にとり、水 5 mL を加え、硝酸(1+19)⁵⁾で 50 mL に定容した液を試料溶液とした。測定する成分濃度が検量線濃度範囲を超える場合には、適宜希釈し、溶液中の硝酸濃度が硝酸(1+19)と同濃度となるように硝酸を加え定容した(Scheme 1)。

なお、肥料等試験法(2018)のカドミウム ICP 質量分析法においては、硝酸 2.5 mL、過酸化水素 2 mL を添加し、分解を行っているが、一度の分解では不十分で再度分解する試料が多かったことや過酸化水素を加えたのちに発泡する場合は散見したため、硝酸を増量し、過酸化水素を減量した当該方法で調製を実施した。

Table 1 Operating condition of microwave digestion equipment

	Electric power (W)	Time (min)	State
step 1	0→1400	10	Heating
step 2	1400	10	Fixed temperature
step 3	0	20	Residual heat

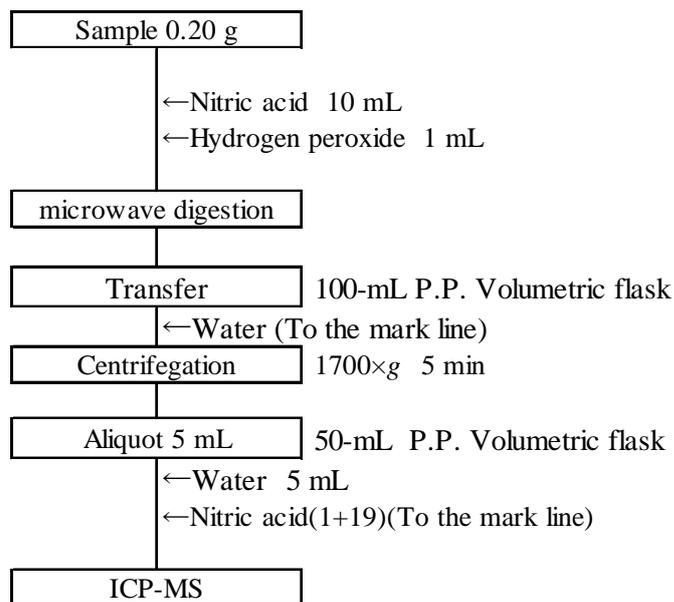
(2) 試料溶液の測定

試料溶液及び混合内標準液をそれぞれ 9:1 の割合で混合した後 ICP-MS に導入し、 ^{111}Cd , ^{60}Ni , ^{52}Cr , ^{208}Pb , ^{45}Sc , ^{59}Co , ^{89}Y , ^{103}Rh , ^{115}In , ^{187}Re , ^{205}Tl , ^{209}Bi を測定し、CdについてはRhまたはIn, NiについてはCo, YまたはRh, CrについてはScまたはCo, PbについてはRe, TlまたはBiで内標準補正した。

同時に、混合標準液を測定し、検量線を作成して分析試料中の Cd, Ni, Cr, 及び Pb 濃度を算出した。

ICP-MS の測定条件は以下のとおり。

High-frequency output	1.55 kW
Sampling depth	5.0 mm
Coolant gas flow rate(Ar)	14 L/min
Plasma gas flow rate(Ar)	0.8 L/ min
Carrier gas flow rate(Ar)	1.05 L/ min
Collision cell flow rate(He)	4.5 L/min
Collision mode	KED mode



Scheme 1 Heavy metal analysis in fertilizer by microwave digestion -ICP-MS method

3. 結果及び考察

1) 検量線の直線性

2.2)に従って調製した混合標準液を ICP-MS で測定し検量線を作成したところ, Fig.1 のとおり, Cd は 0.03 ng/mL~2 ng/mL の範囲で, Ni 及び Cr は 1.5 ng/mL~100 ng/mL の範囲で, 鉛は 0.15 ng/mL~10 ng/mL の範囲で決定係数(r^2)が 0.999 以上を示した. 公定規格の許容値程度含有する試料を 2.4)に従って試料溶液の調製を行い測定した場合, Cd, Ni 及び Cr については当該検量線範囲内に収まる濃度であったが, 鉛については濃度あたりの測定強度が高く, ノイズ等による決定係数の低下が認められたことから低濃度で設定した. なお, 鉛の検量線の濃度範囲は試料濃度に換算すると 0.15 mg/kg~50 mg/kg であり, 流通肥料の多くを希釈することなく測定出来る濃度である.

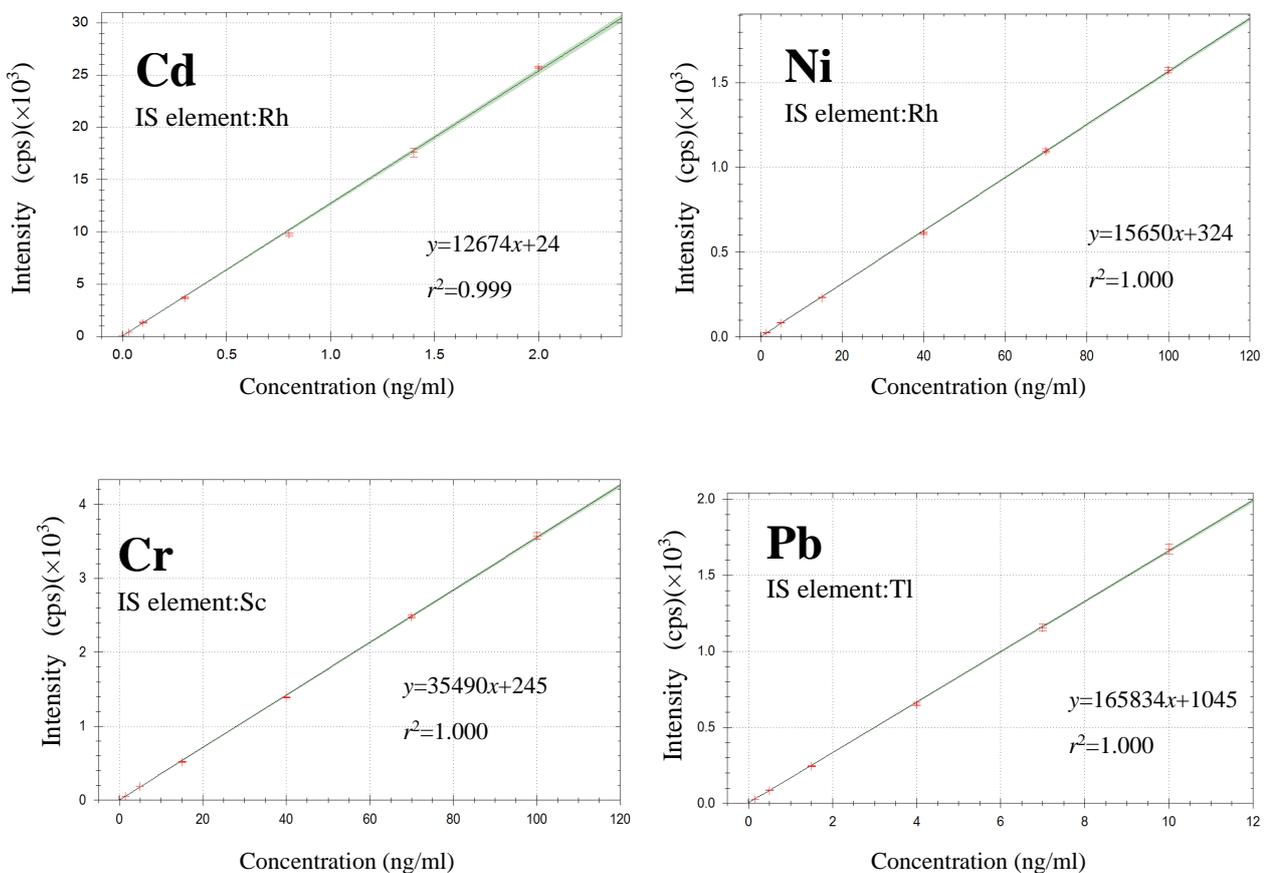


Fig.1 Calibration curves

2) m/z の違いによる測定値の影響

ICP-MS で測定する際にはスペクトル干渉が測定値に影響を及ぼすことがあり, この影響を低減させる方法の一つとして m/z の変更が有効とされている⁶⁾. このため, 汚泥発酵肥料及びし尿汚泥肥料を用いて m/z を変更し測定を行い, 影響の有無を確認した. 評価を行うため, 肥料等試験法で得られた値(以下, 既存法分析値という.)を基準として当該値に対する割合を算出した(Table 2). なお, 検討に使用した m/z は 1) 検量線の直線性で決定係数が 0.999 以上を示すことを確認している.

カドミウムは m/z 111 を選択した場合, 割合として 99 %~108 %と既存法分析値に近い値を示したが, 同 110 では割合として 112 %~167 %, 同 112 では割合として 96 %~149 %, 同 113 では割合として 94 %~126 %, 同

114 では割合として 101 %～144 %とやや高い値となった。

ニッケルは m/z 58 を選択した場合、割合として 161 %～400 %と既存法分析値に対して高い値を示したが、同 60, 61, 62 では割合として 92 %～100 %と既存法分析値に近い値を示した。

クロムは m/z 50 を選択した場合、割合として 124 %～450 %と既存法分析値に対して高い値を示したが、同 52, 53 では割合として 102 %～116 %と既存法分析値に近い値を示した。

鉛は m/z 204, 206, 207, 208 を選択した場合、大きな違いが見られず、割合として 92 %～99 %と既存法分析値に近い値を示した。

2016 年に検討した際には特に質量数の低いニッケル及びクロムにおいて既存法分析値より高い値を示していたが⁴⁾、今回はコリジョンセルを搭載した ICP-MS を使用しており、これらの影響が低減されたと考えられる。しかし、一部の m/z では依然として既存法分析値よりも高い値を示すものもあり、 m/z の選択には留意が必要であることが示唆された。

これらの結果及び他の試験法で使用されている m/z を参考にし^{5,7)}、¹¹¹Cd, ⁶⁰Ni, ⁵²Cr, ²⁰⁸Pb を本法の検討に用いることとした。

Table 2-1 Comparison of quantitative values by difference of m/z (Cd)

	m/z		Composted sludge fertilizer 1		Composted sludge fertilizer 2		Raw sewage sludge fertilizer	
	value	ratio ^{a)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}
		(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
Conventional method ^{c)}			2.83		1.78		1.11	
ICP-MS method	110	12.5	3.21	113	1.99	112	1.86	167
	111	12.8	2.86	101	1.75	99	1.20	108
	112	24.1	2.72	96	1.70	96	1.65	149
	113	12.2	2.76	98	1.68	94	1.40	126
	114	28.7	3.00	106	1.79	101	1.60	144

a) Natural abundance ratio (%)

b) Ratio of this method to conventional method (%)

c) Flame atomic absorption method

Table 2-2 Comparison of quantitative values by difference of m/z (Ni)

	m/z		Composted sludge fertilizer 1		Composted sludge fertilizer 2		Raw sewage sludge fertilizer	
	value	ratio ^{a)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}
		(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
Conventional method ^{c)}			73.0		54.4		20.9	
ICP-MS method	58	68.1	117.7	161	217.5	400	60.5	289
	60	26.2	72.2	99	54.5	100	19.1	92
	61	1.1	71.7	98	54.3	100	20.4	98
	62	3.6	70.3	96	52.9	97	19.5	93

a) Natural abundance ratio (%)

b) Ratio of this method to conventional method (%)

c) Flame atomic absorption method

Table 2-3 Comparison of quantitative values by difference of m/z (Cr)

	m/z		Composted sludge fertilizer 1		Composted sludge fertilizer 2		Raw sewage sludge fertilizer	
	value	ratio ^{a)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}
		(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
Conventional method ^{c)}			82.0		54.8		29.9	
ICP-MS method	50	4.3	101.5	124	68.0	124	134.6	450
	52	83.8	92.20	113	58.0	106	31.8	106
	53	9.5	95.30	116	59.2	108	30.6	102

a) Natural abundance ratio (%)

b) Ratio of this method to conventional method (%)

c) Flame atomic absorption method

Table 2-4 Comparison of quantitative values by difference of m/z (Pb)

	m/z		Composted sludge fertilizer 1		Composted sludge fertilizer 2		Raw sewage sludge fertilizer	
	value	ratio ^{a)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}	value	ratio ^{b)}
		(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
Conventional method ^{c)}			36.0		15.6		4.6	
ICP-MS method	204	1.4	33.7	94	14.9	95	4.27	92
	206	24.1	35.6	99	15.0	96	4.31	93
	207	22.1	34.8	97	14.6	94	4.28	92
	208	52.4	35.8	99	15.2	97	4.34	94

a) Natural abundance ratio (%)

b) Ratio of this method to conventional method (%)

c) Flame atomic absorption method

3) 希釈率の違いによる非スペクトル干渉の低減

ICP-MS 測定において、共存成分に起因する非スペクトル干渉を低減させるためには試料溶液の希釈が有効と言われている⁶⁾.このことから汚泥発酵肥料 5 点, し尿汚泥肥料 2 点及び工業汚泥肥料 1 点を用い, 2.4) 試料溶液の調製のうち, 分解・遠心分離後の溶液の希釈倍率を変えて測定し比較した. 既存法分析値と本法で得られた値の相関図を Fig.2 に示す.なお, 硝酸濃度はすべて同一となるように適宜硝酸を加え調製した. なお, 内標準元素は 2016 年の方法⁴⁾と同様にカドミウム, ニッケル及びクロムはロジウムを, 鉛はレニウムを使用した.

既存法分析値と比較したところ, カドミウムについては(既存法分析値が低かった 2 点を除く), 希釈率 1 倍の分析値は 107 % ~ 114 % と高値の傾向を示したが, 希釈率 5 倍の分析値は 91 % ~ 105 %, 希釈率 10 倍の分析値は 90 % ~ 107 % と既存法分析値に近い値を示した.

ニッケルについては(既存法分析値が低かった 1 点を除く), 希釈率 1 倍の分析値は 112 % ~ 125 % と高値の傾向を示した. 希釈率 5 倍の分析値は 99 % ~ 118 %, 希釈率 10 倍の分析値は 92 % ~ 121 % であったが, 同一試料で比較すると希釈率 10 倍の分析値が最も既存法分析値に近い傾向を示した.

クロムについては(既存法分析値が低かった 1 点を除く), 希釈率 1 倍の分析値は 153 % ~ 213 %, 希釈率 5 倍の分析値は 122 % ~ 205 %, 希釈率 10 倍の分析値は 101 % ~ 212 % といずれの濃度も既存法分析値に比較

し高値の傾向を示したが, Fig.2 のとおり同一試料で比較すると希釈率 10 倍の分析値が比較的低い傾向を示した。

鉛については(既存法分析値が低かった 2 点を除く), 希釈率 1 倍の分析値は 73 %~85 %, 希釈率 5 倍の分析値は 69 %~86 %, 希釈率 10 倍の分析値は 73 %~85 %といずれの濃度も既存法分析値に比較し低値の傾向を示したが, Fig.2 のとおり同一試料で比較すると希釈率 10 倍の分析値が比較的高い傾向を示した。

いずれの成分においても希釈を行った方が既存法分析値に近くなる傾向があり, 希釈することにより非スペクトル干渉の影響を低減したと考えられる。これらのことから本法では希釈率を 10 倍とし, 検量線を超える場合には適宜希釈することとした。

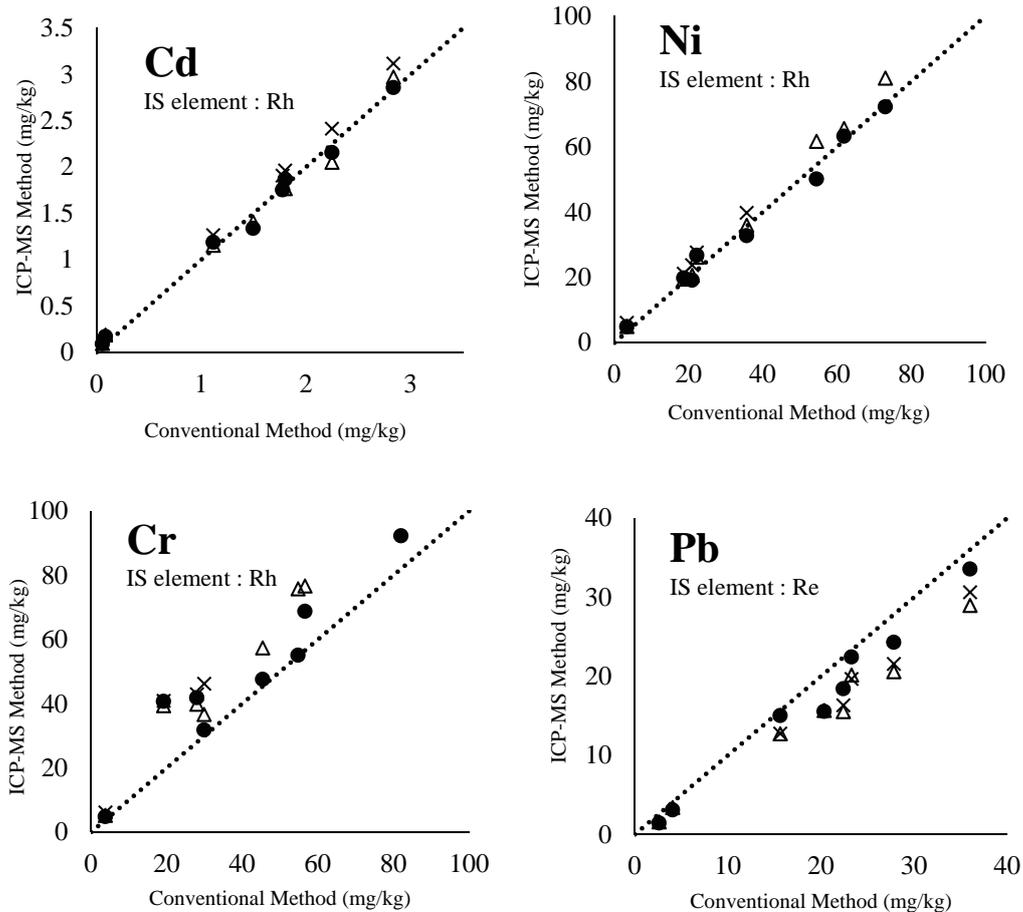


Fig.2 Influence of measured value by dilution rate

×:1×dilution rate △:5×dilution rate ●:10×dilution rate Dot line:y=x

4) 既存法との比較による内標準元素の検討及び真度の評価

ICP-MS を用いた測定において, 内標準元素を用いた補正法についても非スペクトル干渉を低減させる有用な方法である⁶⁾。そこで, 2016 年に用いた内標準元素の他に⁴⁾, 他の分析法で使われている内標準元素についてカドミウムは試料 20 点, ニッケルは試料 19 点, クロムは試料 17 点, 鉛は試料 17 点を用いて検討を行った。既存法分析値と内標準元素ごとに測定した本法の定量値の回帰直線の相関係数及び回帰直線の傾き並びに切片の 95 %信頼区間を算出した結果を Table 3 に示し, 相関図及び 95 %予測区間を Fig.3 に示した。また, 回帰直線の相関係数及び回帰直線の傾き並びに切片の 95 %信頼区間を肥料等試験法に示されている真度評

価の推奨範囲³⁾(以下, 試験法真度推奨範囲という.)と比較した。

カドミウムについては内標準元素としてロジウム及びインジウムを用いて検討した。ロジウムを使用した場合、相関係数及び95%信頼区間はいずれも試験法真度推奨範囲を満たすものであった。しかし、インジウムを用いた場合、既存法分析値よりも測定値が低くなる傾向があり、傾きの95%信頼区間は試験法真度推奨範囲を満たさなかった。

ニッケルについて内標準元素としてコバルト、イットリウム及びロジウムを用いて検討したところ、相関係数及び切片の95%信頼区間についてはいずれも試験法真度推奨範囲を満たすものであった。傾きの95%信頼区間ではいずれも試験法真度推奨範囲を満たさなかったものの、ロジウムがもっとも試験法真度推奨範囲に近いものとなった。いずれの内標準元素を用いた測定値でも既存法分析値と比較して低値になる傾向があったが、ロジウムはもっとも既存法分析値に近い値を示した。

クロムについては内標準元素としてスカンジウム及びコバルトを用いて検討した。スカンジウムを使用した場合、相関係数及び95%信頼区間はいずれも試験法真度推奨範囲を満たすものであった。コバルトを用いた場合、既存法分析値と比較して低値になる傾向にあり、傾きの95%信頼区間について試験法真度推奨範囲を満たさなかった。

鉛については内標準元素としてレニウム、タリウム及びビスマスについて検討した。タリウムを使用した場合、相関係数及び95%信頼区間はいずれも試験法真度推奨範囲を満たすものであった。レニウムは傾きの95%信頼区間が試験法真度推奨範囲を満たさなかった。ビスマスはタリウムやレニウムと比較しばらつきが認められ、切片の95%信頼区間が試験法真度推奨範囲を満たさなかった。いずれの内標準元素についても既存法分析値と比較し低値になる傾向があった。

内標準元素は測定元素の質量数に近いものを選択したほうがICP-MSの空間電荷効果や拡散効果の影響が少ないとされているが⁶⁾、今回の結果では必ずしも測定元素の質量数に近いものが内標準元素に適しているとは限らないことが確認された。これは試料に内標準元素がすでに含有している場合や、測定成分の挙動と内標準元素の挙動が必ずしも一致していないためと考えられた。

以上より、本法ではカドミウム及びニッケルについてはロジウムを、クロムについてはスカンジウムを、鉛についてはタリウムを内標準元素として用いることとした。

Table 3 Comparison of measured values of ICP-MS and conventional methods using regression equations

Mesurment element	Internal standard element	m/z	Correlation coefficient (r) ^{a)}	Range of slope ^{b)c)}	Range of intercept ^{b)d)}
Cd		111			
	Rh ^{e)}	103	0.999	0.9623 ~ 1.0054	-0.0705 ~ 0.0537
	In	115	0.999	0.9148 ~ 0.9638	-0.0524 ~ 0.0887
Ni		60			
	Co	59	0.998	0.9103 ~ 0.9664	-2.7894 ~ 4.1997
	Y	89	0.999	0.9199 ~ 0.9724	-1.8044 ~ 4.7333
	Rh ^{e)}	103	0.998	0.9332 ~ 0.9976	-0.5358 ~ 7.4960
Cr		52			
	Sc ^{e)}	45	0.999	0.9582 ~ 1.0090	-1.6979 ~ 8.3871
	Co	59	0.999	0.9023 ~ 0.9476	-0.3377 ~ 8.6388
Pb		208			
	Re	187	0.998	0.9218 ~ 0.9869	-1.9008 ~ 0.8879
	Tl ^{e)}	205	0.998	0.9392 ~ 1.0109	-2.2677 ~ 0.8033
	Bi	209	0.991	0.8957 ~ 1.0400	-6.5254 ~ -0.3435

a) The recommended range of trueness evaluation criteria*: No less than 0.99

b) The 95% confidence interval

c) The recommended range of trueness evaluation criteria*: Inclination includes 1.

d) The recommended range of trueness evaluation criteria*: Intercept includes the origin (0).

e) Internal standard elements used in this method

* The criterias shown in Testing methods of Fertilizers (2018)

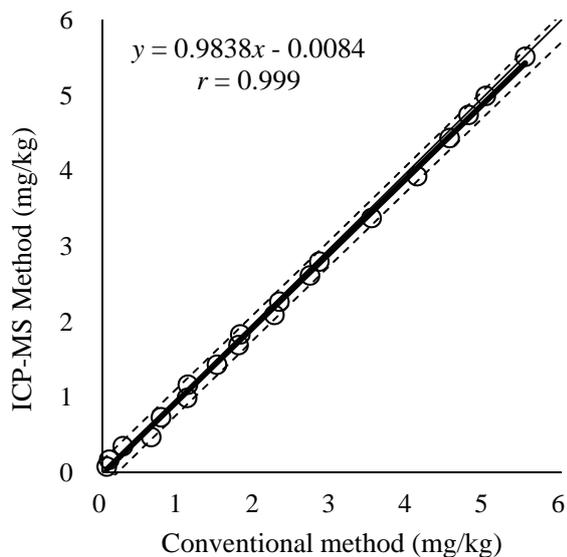


Fig.3-1 Comparison of the cadmium measurements in between two methods (Is element:Rhodium)
Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

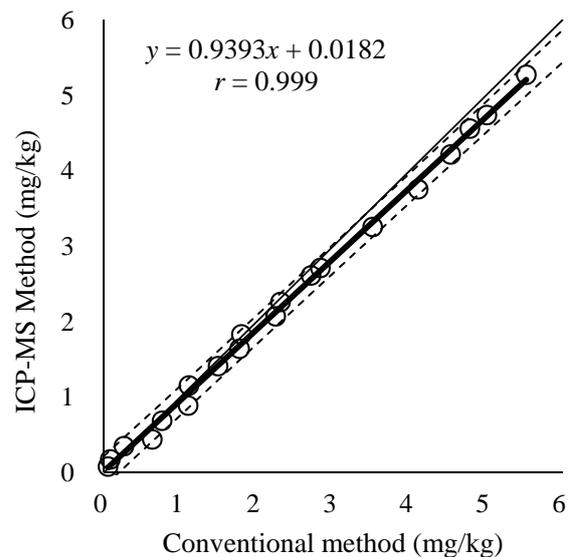


Fig.3-2 Comparison of the cadmium measurements in between two methods (Is element:Indium)
Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

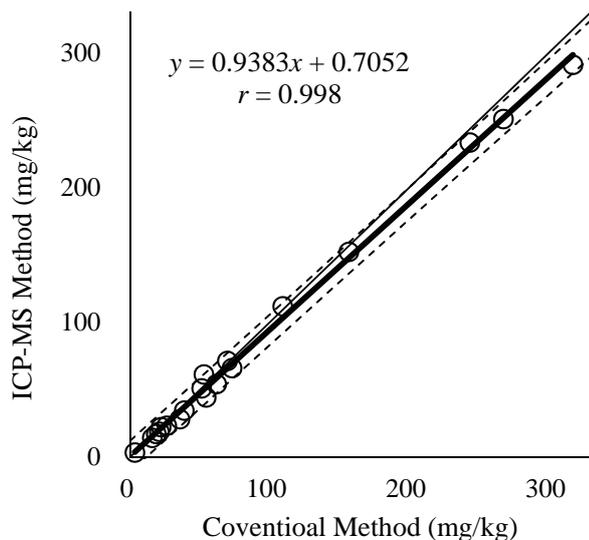


Fig.3-3 Comparison of the nickel measurements in between two methods (Is element:Cobalt)
Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

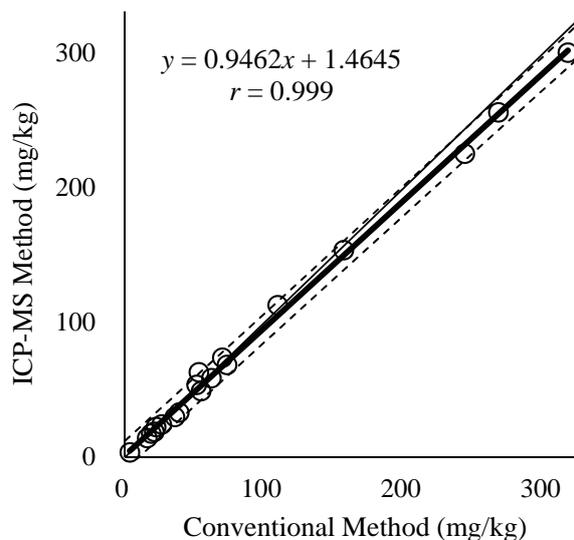


Fig.3-4 Comparison of the nickel measurements in between two methods (Is element:Yttrium)
Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

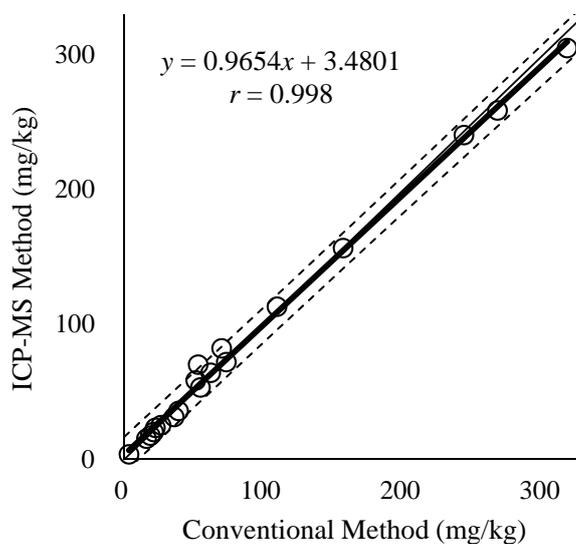


Fig.3-5 Comparison of the nickel measurements in between two methods (Is element: Rhodium)
Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

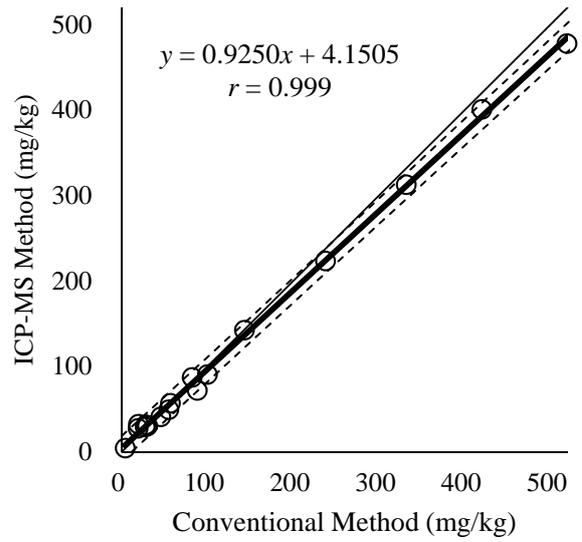
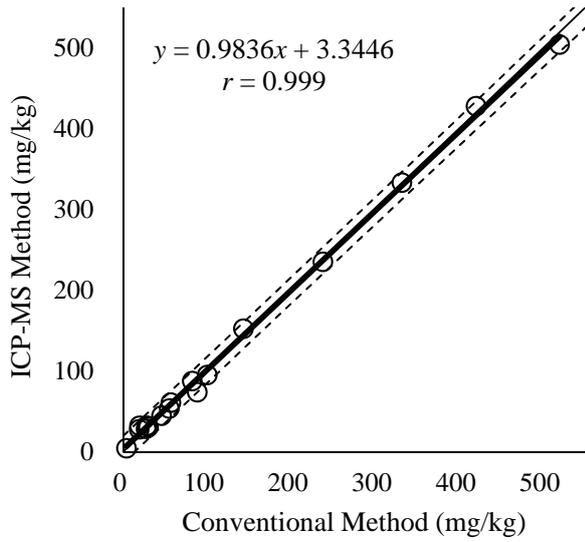


Fig.3-6 Comparison of the chromium measurements in between two methods (Is element: Scandium)

Fig.3-7 Comparison of the chromium measurements in between two methods (Is element: Cobalt)

Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

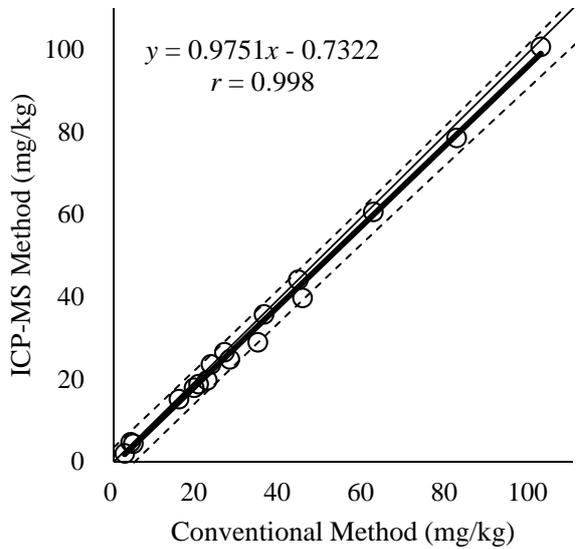
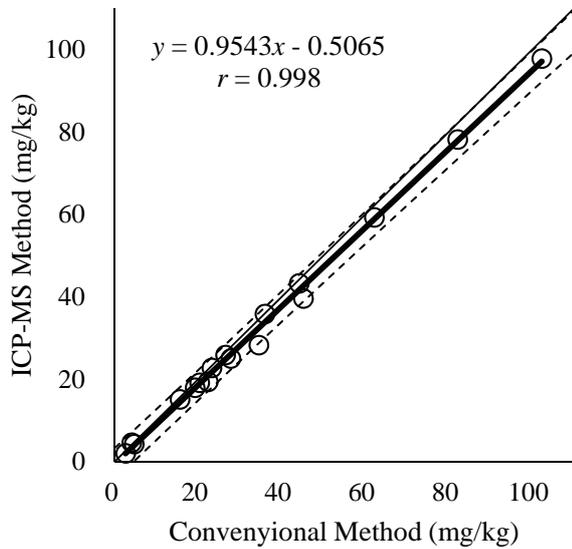


Fig.3-8 Comparison of the lead measurements in between two methods (Is element: Rhenium)

Fig.3-9 Comparison of the lead measurements in between two methods (Is element: Thallium)

Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

Thick line: Regression line, Dotted line: 95 % prediction interval, Thin line : $y=x$

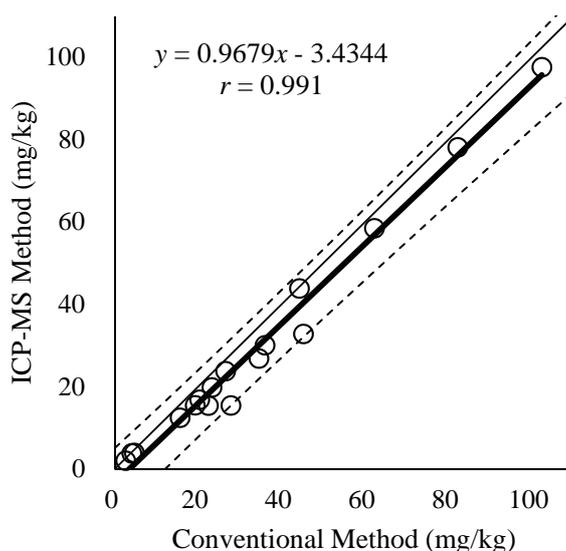


Fig.3-10 Comparison of the lead measurements in
between two methods (Is element: Bismuth)
Thick line: Regression line, Dotted line: 95 %
prediction interval, Thin line : $y=x$

5) 認証標準物質を用いた真度の評価

真度を評価するため、認証標準物質 FAMIC-C-9 及び FAMIC-C-12-2 を用いて、3 点併行で試験を実施して得られた結果を Table 4 に示した。いずれも平均値は認証値に対する警戒限界の範囲内であり、肥料等試験法に示されている真度評価の推奨範囲内であった³⁾。

Table 4 The estimation of trueness using certified reference materials

Element	Certified reference material	Mean ^{a)} (mg/kg) ^{b)}	Certified value (mg/kg) ^{b)}	Warning limit for the certified value (mg/kg) ^{b)}
Cd	FAMIC-C-12-2	1.8	1.8	1.6 ~ 2.0
	FAMIC-C-9	2.7	2.71	2.56 ~ 2.86
Ni	FAMIC-C-12-2	78	73	64 ~ 82
	FAMIC-C-9	35.6	38.8	35.1 ~ 42.4
Cr	FAMIC-C-12-2	89	82	69 ~ 95
	FAMIC-C-9	72	64	53 ~ 76
Pb	FAMIC-C-12-2	35	36	34 ~ 38
	FAMIC-C-9	45.7	47.2	42.4 ~ 52.0

a) Mean value ($n=3$)

b) Mass fraction

6) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するため、汚泥発酵肥料またはし尿汚泥肥料を用い、自然汚染試料及び公定規格の許容値付近の濃度となるよう添加した試料をそれぞれ 2 点併行で日を変えて 5 回分析を行い、

測定結果を Table 5 に示した. その結果を基に, 一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 6 に示した. その結果, いずれの相対標準偏差も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)の許容範囲内である目安の 2.0 倍以内であったことから³⁾, 本法は十分な精度を有していることが確認された.

Table 5 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation

Test day	(mg/kg)							
	Cd				Ni			
	Composted sludge fertilizer				Raw sewage sludge fertilizer			
	Non spiked sample		Spiked samples		Non spiked sample		Spiked samples	
1	0.114	0.112	4.74	4.83	13.5	12.8	234	240
2	0.108	0.105	4.60	4.53	12.8	12.6	241	231
3	0.110	0.117	4.50	4.56	14.2	13.8	236	227
4	0.114	0.107	4.53	4.56	13.5	12.9	239	240
5	0.107	0.108	4.44	4.63	12.9	13.0	240	232

Table 5 Continue

Test day	(mg/kg)							
	Cr				Pb			
	Raw sewage sludge fertilizer				Raw sewage sludge fertilizer			
	Non spiked sample		Spiked samples		Non spiked sample		Spiked samples	
1	17.6	16.5	460	473	12.4	11.6	98.2	99.5
2	16.1	16.9	452	445	11.7	11.2	95.2	99.8
3	18.4	17.2	435	433	12.7	12.0	102	104
4	16.3	16.2	457	455	13.5	11.5	98.8	99.7
5	16.0	16.7	453	450	11.5	11.7	103	103

Table 6 Statistical analysis result of repeatability test

Element	Sample	Mean ^{a)} (mg/kg)	Repeatability precision			Intermediate precision		
			s_r ^{b)} (mg/kg)	RSD_r ^{c)} (%)	$CRSD_r$ ^{d)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{e)} (mg/kg)	$RSD_{I(T)}$ ^{f)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)
Cd	Composted sludge fertilizer	0.110	0.003	3.0	11.0	0.004	3.5	18.0
		4.59	0.07	1.6	8.0	0.12	2.7	13.0
Ni	Raw sewage sludge fertilizer	13.2	0.3	2.5	6.0	0.5	4.1	9.0
		236	5	2.2	4.0	5	2.0	6.5

a) Total average(test-days(5)×parallel analysis(2))

b) Repeatability standard deviation

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of Repeatability precision(Repeatability relative standard deviation)

e) Intermediate standard deviation

f) Intermediate relative standard deviation

g) Criteria of Intermediate precision(Intermediate relative standard deviation)

Table 6 Continue

Element	Sample	Mean ^{a)} (mg/kg)	Repeatability precision			Intermediate precision		
			s_r ^{b)} (mg/kg)	RSD_r ^{c)} (%)	$CRSD_r$ ^{d)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{e)} (mg/kg)	$RSD_{I(T)}$ ^{f)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)
Cr	Raw sewage	16.8	0.6	3.6	6.0	0.8	4.5	9.0
	sludge fertilizer	451	5	1.1	4.0	12	2.7	6.5
Pb	Raw sewage	12.0	0.7	6.1	6.0	0.7	5.7	9.0
	sludge fertilizer	100	2	1.8	4.0	3	2.8	6.5

7) 定量下限等の確認

汚泥発酵肥料またはし尿汚泥肥料を用い、本法に従って7点併行試験を実施し定量下限及び検出下限の確認を行った。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⁸⁾した結果をTable 7に示した。その結果、カドミウムは0.07 mg/kg、ニッケルは4 mg/kg、クロムは5 mg/kg、鉛は0.6 mg/kgであった。しかし、他の分析法と比較し^{9, 10)}定量下限が低くなる傾向にあり、スペクトル干渉などの影響により、特にカドミウム、鉛において定量下限付近では真度が低くなる可能性が示唆された。肥料等試験法において定量下限は公定規格における許容値の1/5以下であり、そのレベルの真度も要求されている。そこで推定された定量下限を参考にカドミウムは0.5 mg/kg、ニッケルは5 mg/kg、クロムは5 mg/kg、鉛は1 mg/kgを添加し回収試験を実施した(Table 8)。その結果、回収率は101.4%~107.2%であり、肥料等試験法に示されている真度評価の目標を満たしていた。これらより、定量下限はカドミウム0.5 mg/kg、ニッケル5 mg/kg、クロム5 mg/kg、鉛1 mg/kgと推定した。なお、検出下限はカドミウム0.03 mg/kg、ニッケル1 mg/kg、クロム2 mg/kg、鉛0.2 mg/kgと推定された。

Table 7 Calculated LOQ and LOD values

Element	Sample	Mean ^{a)} (mg/kg)	Standard deviation (mg/kg)	LOQ ^{b)} (mg/kg)	LOD ^{c)} (mg/kg)
Cd	Composted sludge fertilizer	0.118	0.007	0.07	0.03
Ni	Raw sewage sludge fertilizer	3.15	0.4	4	1
Cr	Raw sewage sludge fertilizer	2.31	0.5	5	2
Pb	Raw sewage sludge fertilizer	0.353	0.06	0.6	0.2

a) Mean value ($n=7$)

b) Standard deviation $\times 10$

c) Standard deviation $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$

Table 8 Spiking and recovery tests

Element	Sample	Spike level (mg/kg)	Recovery ^{a)} (%)	Criteria of the trueness ^{b)} (%)	Allowable value ^{c)} ×1/5 (mg/kg)
Cd	Composted sludge fertilizer	0.5	101.8	85 ~ 115	1
Ni	Raw sewage sludge fertilizer	5.0	101.4	85 ~ 115	60
Cr	Raw sewage sludge fertilizer	5.0	101.8	85 ~ 115	100
Pb	Raw sewage sludge fertilizer	1.0	107.2	85 ~ 115	20

a) Mean value ($n=3$)

b) Show in Testing Method for fertilizers(2018)

c) The maximum amount of components harmful that the sludge fertilizer is permitted to contain at official specifications

4. まとめ

マイクロ波分解-ICP-MSによる汚泥肥料中の重金属の試験法について単一試験室による妥当性確認を実施したところ、次の結果を得た。

- 1) 検量線を作成したところ、カドミウムは 0.03 ng/mL~2 ng/mL の範囲で、ニッケル及びクロムは 1.5 ng/mL~100 ng/mL の範囲で鉛は 0.15 ng/mL~10 ng/mL の範囲で決定係数 (r^2) が 0.999 以上を示した。
- 2) 各元素について m/z を比較した結果、 ^{111}Cd , ^{60}Ni , ^{52}Cr , ^{208}Pb を用いることとした。
- 3) 非スペクトル干渉の影響を低減することを目的に試料溶液の希釈率を検討した結果、分解・遠心分離後の溶液を 10 倍以上に希釈することで、非スペクトル干渉の影響を低減することができた。
- 4) 各元素について内標準元素を比較した結果、カドミウム及びニッケルはロジウムを、クロムについてはスカンジウムを、鉛についてはタリウムを内標準元素として用いることとした。
- 5) 真度評価のため、認証標準物質 FAMIC-C-12-2 及び FAMIC-C-9 を用いて 3 点併行分析を行った結果、いずれの元素においても平均値は認証値に対する警戒限界以内であり、肥料等試験法に示されている真度の目標を満たしていた。
- 6) 各元素について、併行精度及び中間精度の確認を行った結果、併行相対標準偏差は 1.1 %~6.1 %、中間相対標準偏差は 2.0 %~5.7 % であり、肥料等試験法に示されている精度の許容範囲を満たしていた。
- 7) 各元素について、定量下限等の確認を行った結果、本法における定量下限は公定規格の許容値の 1/5 以下である、カドミウム 0.5 mg/kg、ニッケル 5 mg/kg、クロム 5 mg/kg、鉛 1 mg/kg 程度であり、検出下限はカドミウム 0.03 mg/kg、ニッケル 1 mg/kg、クロム 2 mg/kg、鉛 0.2 mg/kg 程度と推定された。

以上のことから、本法は固形の汚泥肥料中の重金属を測定するために、十分な性能を有していることが確認された。

文 献

- 1) 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)
- 2) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), 財団法人日本肥糧検定協会, (1992)
- 3) 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(2018)

< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2018.pdf >

- 4) 八木寿治, 佐久間健太, 橋本良美:ICP-MS による汚泥肥料中の重金属の測定, 肥料研究報告, **9**, 21~31 (2016)
- 5) 環境省:無機元素の多元素同時測定法(酸分解/ICP-MS 法)(2019)
- 6) 社団法人日本分析化学会関東支部:ICP 発光分析・ICP 質量分析の基礎と実際ー装置を使いこなすためにー, オーム社, p.146~160 (2008)
- 7) 環境省 水・大気環境局:底質調査方法について, 平成 24 年 8 月 8 日 環水大水発 120725002 号(2012)
- 8) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
- 9) JIS K 0102 工場排水試験方法 (2016)
- 10) 安部隆司 八重樫香 斎藤憲光 中村 環:ICP-MS による底質中の金属分析への適応性, 岩手県環境保研センター年報 2 , 63-65(2002)

Determination of Harmful Components in Fertilizers using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (ICP-MS)

Satoko SAKAIDA¹, Mayu OSHIMA², Keisuke AOYAMA³ and Yuji SHIRAI¹

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

² FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department

(Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Kanto Regional Agricultural Administration Office

³ FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department (Now) FAMIC, Kobe Regional Center

We examined the measurement method of heavy metals (Cd, Ni, Cr and Pb) in sludge fertilizer using ICP-MS with collision cells. The sludge fertilizer that contains heavy metals was digested by microwave, after digestion nitric acid and hydrogen peroxide was added to sample. Digestion fluid was measured by ICP-MS. As a result of studying the measurement method, the measuring solution is to be diluted at 10 times or more, and as m/z , ¹¹¹Cd, ⁶⁰Ni, ⁵²Cr, and ²⁰⁸Pb were adopted. As internal standard elements, rhodium was used for cadmium and nickel, scandium was used for chromium, and thallium was used for lead. Under these conditions, an ICP-MS method for the determination was validated as a single-laboratory validation. Trueness was estimated using certified reference materials, intermediate precision and repeatability were estimated by duplicate test per 5 tests on different days using two analytical samples of different concentration. As a result, they were within the criteria of trueness, repeatability and intermediate precision of the Testing Methods for Fertilizers. On the basis of 7 replicate measurements of naturally contained samples, the *LOQ* values were 0.5 mg/kg for Cd, 5 mg/kg for Ni and Cr, 1 mg/kg for Pb. Each was no more than 1/5 of the permissible content. Those results indicated that the developed method was valid for the determination of heavy metals in solid sludge fertilizer.

Key words sludge fertilizer, microwave digestion, inductively coupled plasma - mass spectrometer (ICP-MS), heavy metal, single-laboratory validation

(Research Report of Fertilizer, **12**, 52~68, 2019)

5 液体クロマトグラフタンデム質量分析(LC-MS/MS)法による

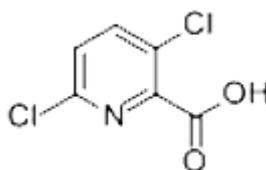
堆肥等中のクロピラリドの測定法の改良

中村信仁¹, 小塚健志², 白井裕治²

キーワード クロピラリド, 堆肥, 汚泥発酵肥料, 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計, 微量測定法

1. はじめに

クロピラリドはカルボキシル基を有するピリジン系の農薬であり(Fig. 1), クロピラリドに汚染された堆肥等を利用した場合, 植物種により生育障害等が発現することが知られている¹⁾. 国内では使用されていないが, 除草剤として使用されている米国, カナダ, 豪州からの輸入飼料に含まれていることがあり, 平成 28 年度に行われた調査によると, 国内の飼料中及び牛ふん堆肥中にもクロピラリドが含まれることが確認されている^{2a)}. さらに平成 29 年度に行われた調査では, 牛ふん堆肥中のみならず, 豚ふん, 鶏ふん等種々の家畜ふんを利用した堆肥にも含有していることが確認された^{2b)}.



Clopyralid

CAS No: 1702-17-6

Fig. 1 Chemical structure of clopyralid

牛ふん堆肥及び汚泥発酵肥料中のクロピラリドの分析法としては, 平成 21 年度から平成 28 年度において八木, 顯谷, 小塚らにより液体クロマトグラフタンデム型質量分析(LC-MS/MS)法が開発および妥当性の確認がなされ³⁻⁵⁾, 定量下限が 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の試験方法として肥料等試験法に収載されている⁶⁾. しかしながら, 土壌中のクロピラリド濃度が 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 程度の低濃度においても作物によっては生育障害を引き起こす場合があることから⁷⁾より高感度な分析法が必要とされ, 平成 29 年度に農業・食品産業技術総合研究機構により定量下限 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の「牛ふん堆肥中クロピラリドの高感度分析法(参考法)」(以下「微量クロピラリド試験法」という。)が開発された⁸⁾.

クロピラリドは牛ふん以外の畜ふんを利用した堆肥にも含有している可能性があったことから, 平成 29 年度に伊藤らによって微量クロピラリド試験法の適用範囲拡大が行われたところである⁹⁾. しかしながら, その過程で精製中にカラムが目詰まりを起こし分析が困難となる堆肥があること, 工程が煩雑であること, 人体に

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

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

影響を及ぼすジクロロメタンの使用があることから、分析法の改良が必要とされた。そこで今回、これらの課題を解決するため微量クロピラリド試験法の改良を行い、単一試験室の妥当性確認を行ったのでその概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 試料の収集及び調製

流通肥料 20 種類(牛ふん堆肥 5 点, 馬ふん堆肥 2 点, 鶏ふん堆肥 4 点, 豚ふん堆肥 4 点及び汚泥発酵肥料 5 点)を試験品とし, それぞれ 40 °C で約 60 時間乾燥した後, それぞれ粉砕機で目開き 500 μm の網ふるいを通すまで粉砕して分析用試料を調製した。

2) 装置及び器具

- (1) 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC-MS/MS) : Waters Quattro Premier XE
カラム: Waters ACQUITY UPLC HSS C18(内径 2.1 mm, 長さ 100 mm, 粒径 1.8 μm)
- (2) 振とう機: TAITEC SR-2DW
- (3) 遠心分離機: KUBOTA テーブルトップ遠心機 4000
- (4) ロータリーエバポレーター: BÜCHI R-200
- (5) コポリマーカートリッジカラム: Waters Oasis HLB 12cc(500 mg)
- (6) ジルコニアコートシリカゲルカラム: HybridSPE[®]-Phospholipid(500 mg)
- (7) 超遠心分離機: AS ONE MCD-2000
- (8) マニホールド: GL-Sciences
- (9) 試験管ミキサー: AS ONE 試験管ミキサーTRIO TM-2N

3) 試薬

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水。ただし、LC-MS/MS に導入する溶離液については A4 の水を使用した。
- (2) アセトニトリル: JIS K 8039 残留農薬・PCB 試験用試薬(濃縮 5000)(富士フィルム和光純薬)
- (3) メタノール(抽出・クリーンアップ用): 残留農薬・PCB 試験用試薬(濃縮 5000)または LC-MS 用(富士フィルム和光純薬)
- (4) メタノール(溶離液用): LC-MS 用試薬(富士フィルム和光純薬)
- (5) 水酸化ナトリウム: JIS K 8576 特級試薬(関東化学)
- (6) 塩酸: JIS K 8180 微量金属分析用試薬(富士フィルム和光純薬)
- (7) アンモニア水: JIS K8085 特級試薬(質量分率 28 %)(富士フィルム和光純薬)
- (8) ぎ酸: LC-MS 用試薬(富士フィルム和光純薬)
- (9) クロピラリド: 残留農薬試験用試薬(富士フィルム和光純薬)
- (10) アンモニア溶液(0.0028 % (質量分率)): アンモニア水 0.1 mL を水 1000 mL に加える。
- (11) クロピラリド標準液(0.1 mg/mL): クロピラリド[C₆H₃Cl₂NO₂]約 0.01 g をひょう量皿にとり, その質量を 0.1 mg の桁まで測定した後, 少量のアセトニトリルで溶かし, 全量フラスコ 100 mL に移し入れ, 標線まで同溶媒を加えた。
- (12) クロピラリド標準液(1 $\mu\text{g/mL}$): クロピラリド標準液(0.1 mg/mL)の 2 mL を全量フラスコ 200 mL にと

り、標線までアセトニトリルを加えた。

(13) 検量線用クロピラリド標準液(100 ng/mL)： 使用時にクロピラリド標準液(1 µg/mL)の5 mLを全量フラスコ50 mLにとり、標線までぎ酸(1+1000)を加えた。

(14) 検量線用クロピラリド標準液(5 ng/mL～50 ng/mL)： 検量線用クロピラリド標準液(100 ng/mL)の2.5 mL～25 mLを全量フラスコ50 mLに段階的にとり、標線までぎ酸(1+1000)を加えた。

(15) 検量線用クロピラリド標準液(0.5 ng/mL～2 ng/mL)： 検量線用クロピラリド標準液(10 ng/mL)の2.5 mL～10 mLを全量フラスコ50 mLに段階的にとり、標線までぎ酸(1+1000)を加えた。

4) 試験操作

(1) 抽出

分析試料 2.00 g を量ってねじ口遠心沈殿管 50 mL に入れ、水酸化ナトリウム溶液(40 g/L)－メタノール[1+99]を25 mL 加え、振とう機で30分間振り混ぜた。その後、遠心力約 $1700 \times g$ で5分間遠心分離し、上澄み液を200 mL なす形フラスコに移した。残留物に水酸化ナトリウム溶液(40 g/L)－メタノール[1+99]を10 mL 加え、手振りで振り混ぜた後、遠心力約 $1700 \times g$ で5分間遠心分離した。得られた上澄み液は先に得られた上澄み液と合わせ、残留物に再び水酸化ナトリウム溶液(40 g/L)－メタノール[1 + 99]10 mL を加え、手振りで振り混ぜた後、遠心力約 $1700 \times g$ で5分間遠心分離した。先程と同様に得られた上澄み液を合わせ、全ての上澄み液を合わせた溶液を抽出液とした。

(2) 精製1

コポリマーカートリッジカラムを予めアセトニトリル5 mL及び塩酸(1+120)5 mLで速やかに洗浄した。抽出液を40 °C以下の水浴で減圧濃縮した後、塩酸(1+11)3 mLを加えた。その後、懸濁液を10 mL ねじ口試験管に移し替え、遠心力約 $740 \times g$ で5分間遠心分離した。上澄み液は洗浄したカートリッジカラムに負荷し、液面が充填剤の上端に達するまで流出させた。残留物に塩酸(1+120)5 mLを加え、試験管ミキサーで振り混ぜた後、遠心力約 $740 \times g$ で5分間遠心分離した。上澄み液をカートリッジカラムに負荷し、同様の操作を2回繰り返した後、塩酸(1+120)－アセトニトリル[9+1]10 mL及び水5 mLを順次カートリッジカラムに加えて速やかに流出させた。ねじ口試験管10 mLをカートリッジカラムの下に置き、アンモニア溶液(0.0028 w/v %)－アセトニトリル(9+1)8 mLをカートリッジカラムに正確に加え、クロピラリドを速やかに溶出させた。この溶出液にぎ酸(1+1000)2 mLを加え、混合した。

(3) 精製2

ジルコニアコートシリカゲルカラムをアセトニトリル5 mL及びぎ酸(1+1000)5 mLで速やかに洗浄した。精製1で得た混合液を洗浄したカラムに負荷し、速やかに液面が充填剤の上面に達するまで溶出させた。カラムをアセトニトリル5 mLで洗浄後、ぎ酸－アセトニトリル(2+98)10 mLでクロピラリドを50 mLなす形フラスコに溶出させた。この溶出液を40 °C以下の水浴上で減圧濃縮した後、窒素ガスを吹き付けて乾固させた。残留物に少量のぎ酸(1+1000)で溶解し、5 mL全量フラスコに数回移し替えた後、ぎ酸(1+1000)で定容した。定容した溶液の一定量をプラスチック製遠心沈殿管に入れ、遠心力約 $8100 \times g$ で5分間遠心分離した。得られた上澄み液をLC-MS/MSの測定バイアルに移し、試料溶液とした。

(4) 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定

試料溶液及び検量線作成用混合標準液をLC-MS/MSに注入し、Table 1及びTable 2の測定条件に従っ

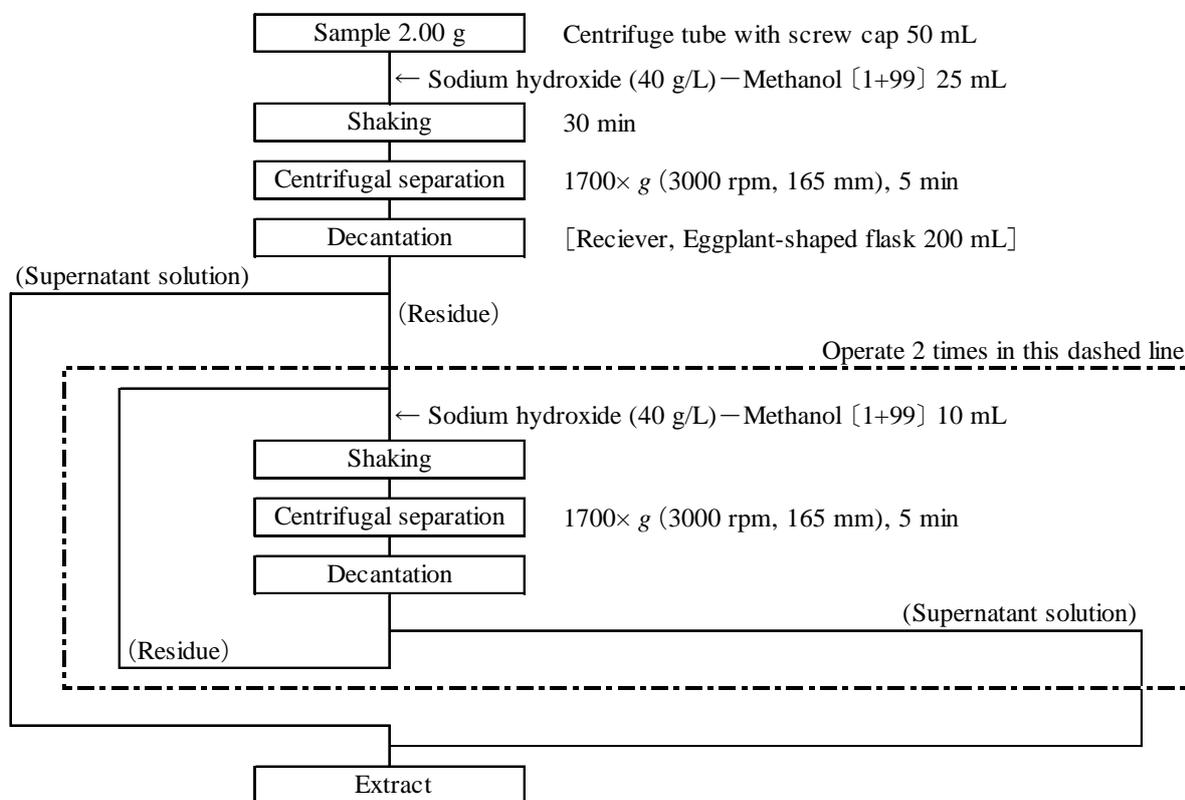
て選択反応検出 (SRM) クロマトグラムを得た。得られた SRM クロマトグラムから各成分のピーク面積を求めて検量線を作成し、試料溶液中の各成分量を求め、分析試料中のクロピラリドの量を算出した。なお、定量法の概要を Scheme 1-1~Scheme 1-3 に示した。

Table 1 Operating conditions of LC-MS/MS

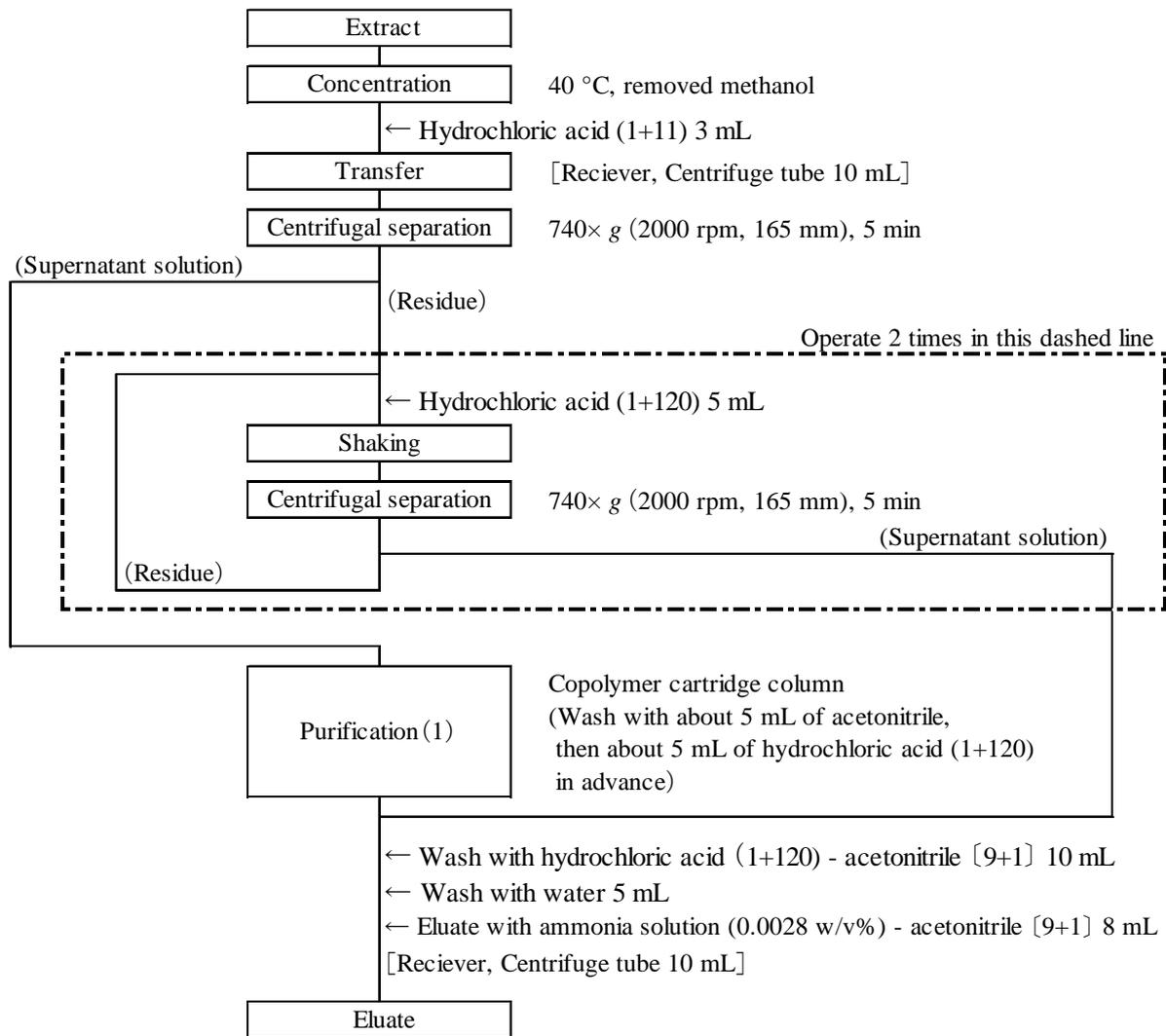
Column	Waters, ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1 mm i.d.×100 mm, 1.8 μm)
Mobile phase	A: Formic Acid (1+1000) B: Methanol 0 min (5 % B)→5 min (60 % B)→6 min (95 % B)→7 min (5 % B)
Flow rate	0.4 mL/min
Column temperature	40 °C
Ionaization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Desolvation gas	N ₂ , 400 °C, 800 L/h
Cone gas	Ar (50 L/h)
Capillary voltage	1.0 kV
Ion source	120 °C

Table 2 MS/MS Parameters

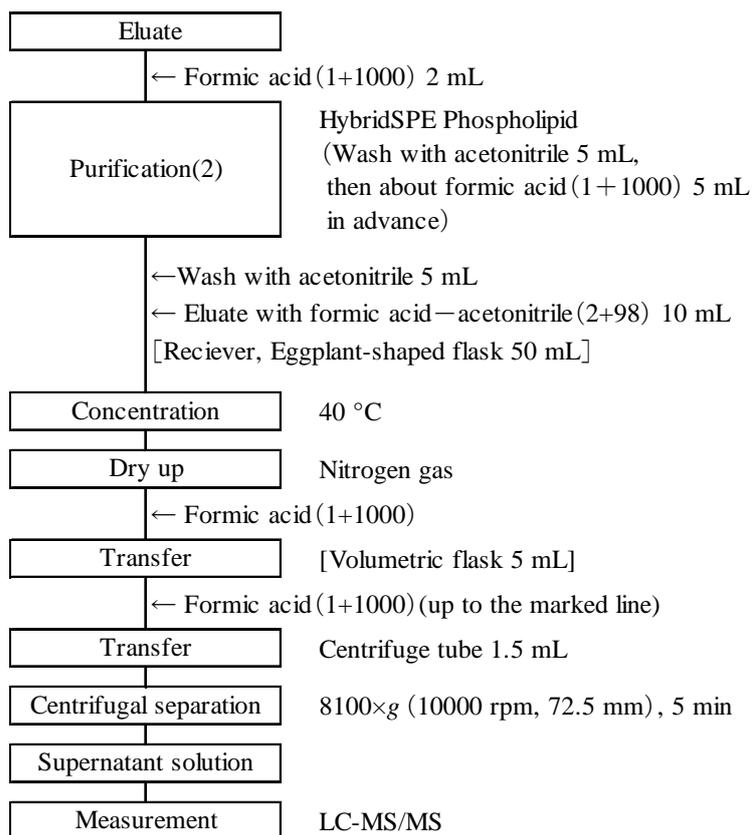
Agricultural chemical	Precursor ion (m/z)	Product ion		Cone voltage (V)	Collision energy	
		for quantification (m/z)	for identification (m/z)		for quantification (eV)	for identification (eV)
Clopyralid	192	146	110	20	20	30



Scheme 1-1 Analytical procedure for clopyralid in compost (extraction)



Scheme 1-2 Analytical procedure for clopyralid in compost (purification(1))



Scheme 1-3 Analytical procedure for clopyralid in compost (purification(2) and measurement)

3. 結果及び考察

1) カートリッジカラムの溶出画分の検討

カートリッジカラムについて溶出液の溶出画分に関する検討を行った。牛ふん堆肥、鶏ふん堆肥、豚ふん堆肥及び汚泥発酵肥料について2.の4)(1)精製1で得た溶出液に試料中濃度で200 µg/kg相当量となるように標準添加したそれぞれ検討用負荷液を2.の4)(3)精製2に従って、ぎ酸-アセトニトリル(2+98)12.5 mLを加え、各2.5 mLごとの流出画分中に含まれるクロピラリドを測定した。その結果、Table 3のとおり、クロピラリドは0 mL~10 mLに溶出し、それ以降の画分への溶出は確認されなかった。また、2.の4)(2)精製1についても充填剤容量の変更に伴い、100 ng/mLとなるように調製した標準液を用いて、2 mLごとに10 mLまで分画を行った。その結果はTable 4に示したとおり、8 mLまでの画分に溶出し、それ以降の画分にはほとんど含まれていなかった。

Table 3 Elution pattern from HybridSPE[®]-Phospholipid cartridge column

Fraction volume	0-2.5 mL	2.5-5 mL	5-7.5 mL	7.5-10 mL	10-12.5 mL	Total
Sample ^{a)}	Recovery of clopyralid (%)					
Standard solution	8.3	83.4	4.8	1.0	- ^{b)}	97.5
Cattle manure compost	0.7	87.8	6.3	1.3	- ^{b)}	96.1
Pig manure compost	0.8	88.5	5.6	1.3	- ^{b)}	96.3
Poultry manure compost	4.2	83.4	4.7	1.2	- ^{b)}	93.5
Composted sludge fertilizer	1.2	85.8	6.1	1.5	0.6	95.3

a) Spiked at 200 µg/kg of clopyralid by the conversion in the sample

b) Less than 0.5 ng/mL for clopyralid in sample solution

Table 4 Elution pattern from Oasis HLB cartridge column

Fraction volume	0-2 mL	2-4 mL	4-6 mL	6-8 mL	8-10 mL	Total
Sample	Recovery of clopyralid (%)					
Standard solution ^{a)}	0.0	80.8	14.0	1.1	- ^{b)}	95.9

a) 100 ng/mL for clopyralid

b) Less than 0.5 ng/mL for clopyralid in sample solution

2) マトリックス効果の確認

分析機器におけるマトリックスによるイオン化抑制・イオン化促進効果の影響の有無に関する確認を行った。牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料を 2.の 4) (1)から(3)に従い調製した溶液が 50 ng/mL となるように標準液を添加し、2.の 4) (4)にて測定した結果を Table 5 に示した。いずれの肥料においても測定値に大きな影響を与えるものではなく、本法でクロピラリドの定量が可能であることを確認した。

Table 5 Matrix effect by sample solution

	Cattle manure compost ^{a)}	Pig manure compost ^{a)}	Poultry manure compost ^{a)}	Composted sludge fertilizer ^{a)}
Recovery of clopyralid ^{b)} (%)	97.9	97.4	93.4	97.9

a) $n = 3$

b) Spiked at 50 ng/mL for clopyralid in sample solution

3) 流通肥料の分析及び方法間比較による真度の評価

20点の流通肥料における本法によるクロピラリドの分析結果を Table 6に、また、得られたクロマトグラムの一

例を Fig. 2-1 及び Fig. 2-2 に示した. なお, ブランク試料におけるクロマトグラムではクロピラリドの保持時間に重なるピークの検出は確認されなかった. また, Table 6 には同じ流通肥料における微量クロピラリド試験法による分析結果を併記し, 2 組の測定値を方法間比較した. 測定値の回帰分析を行い, 得られた結果を Fig. 3 及び Table 7 に示す. 肥料等試験法では, 切片の 95 % 信頼区間に原点が含まれ, 傾きの 95 % 信頼区間に 1 が含まれ, 相関係数が 0.99 以上であることを推奨している. 本法の切片の 95 % 信頼区間は -1.72~0.860, 傾きの 95 % 信頼区間は 0.959~1.05, かつ相関係数は 0.996 であり, 肥料等試験法で推奨されている範囲を満たすものであった. このことから, 本法は流通肥料の分析において十分な真度を有していると考えられる.

Table 6 Analysis of commercial fertilizers

(µg/kg)

Sample No.	Sample	The improved method	The existing method
1	Cattle manure compost 1	88.5	88.3
2	Cattle manure compost 2	55.3	51.9
3	Cattle manure compost 3	22.5	22.1
4	Cattle manure compost 4	5.9	5.9
5	Cattle manure compost 5	1.9	2.1
6	House manure compost 1	39.7	46.2
7	House manure compost 2	3.6	3.5
8	Pig manure compost 1	34.9	34.8
9	Pig manure compost 2	27.8	24.6
10	Pig manure compost 3	13.6	12.8
11	Pig manure compost 4	2.9	2.5
12	Poultry manure compost 1	20.4	20.1
13	Poultry manure compost 2	5.0	5.7
14	Poultry manure compost 3	2.3	2.6
15	Poultry manure compost 4	1.6	1.4
16	Composted sludge fertilizer 1	11.1	14.4
17	Composted sludge fertilizer 2	5.8	7.7
18	Composted sludge fertilizer 3	2.9	4.5
19	Composted sludge fertilizer 4	1.9	2.8
20	Composted sludge fertilizer 5	1.5	1.8

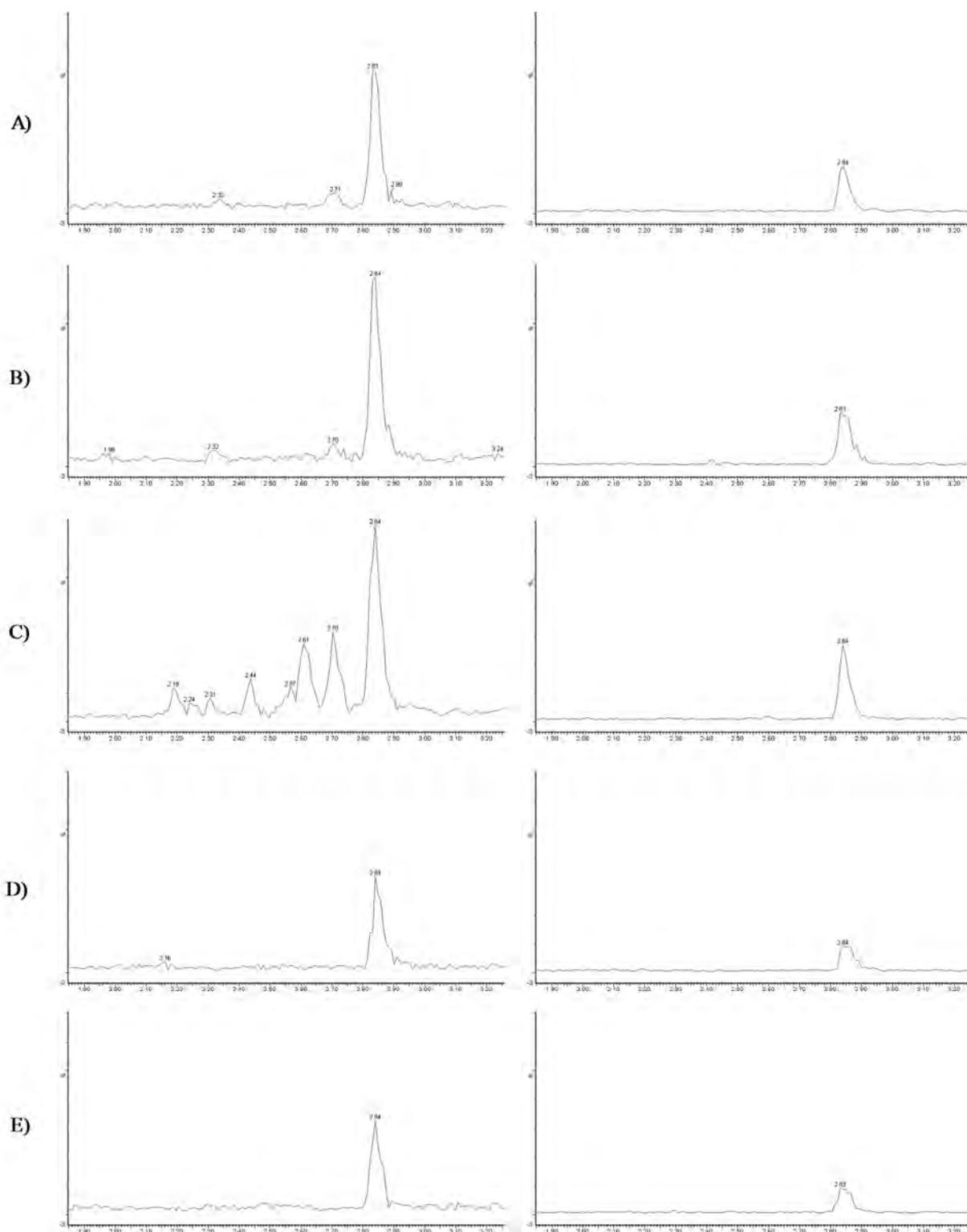


Fig. 2-1 Chromatograms obtained by analysis of commercial fertilizers

- A) Cattle manure compost (1.9 µg/kg), B) Pig manure compost (2.9 µg/kg),
C) Poultry manure compost (2.3 µg/kg), D) Composted sludge fertilizer (1.5 µg/kg),
E) Standard solution (0.5 ng/mL)

Left figure: Product ion for quantification (192>146)

Right figure: Product ion for identification (192>110)

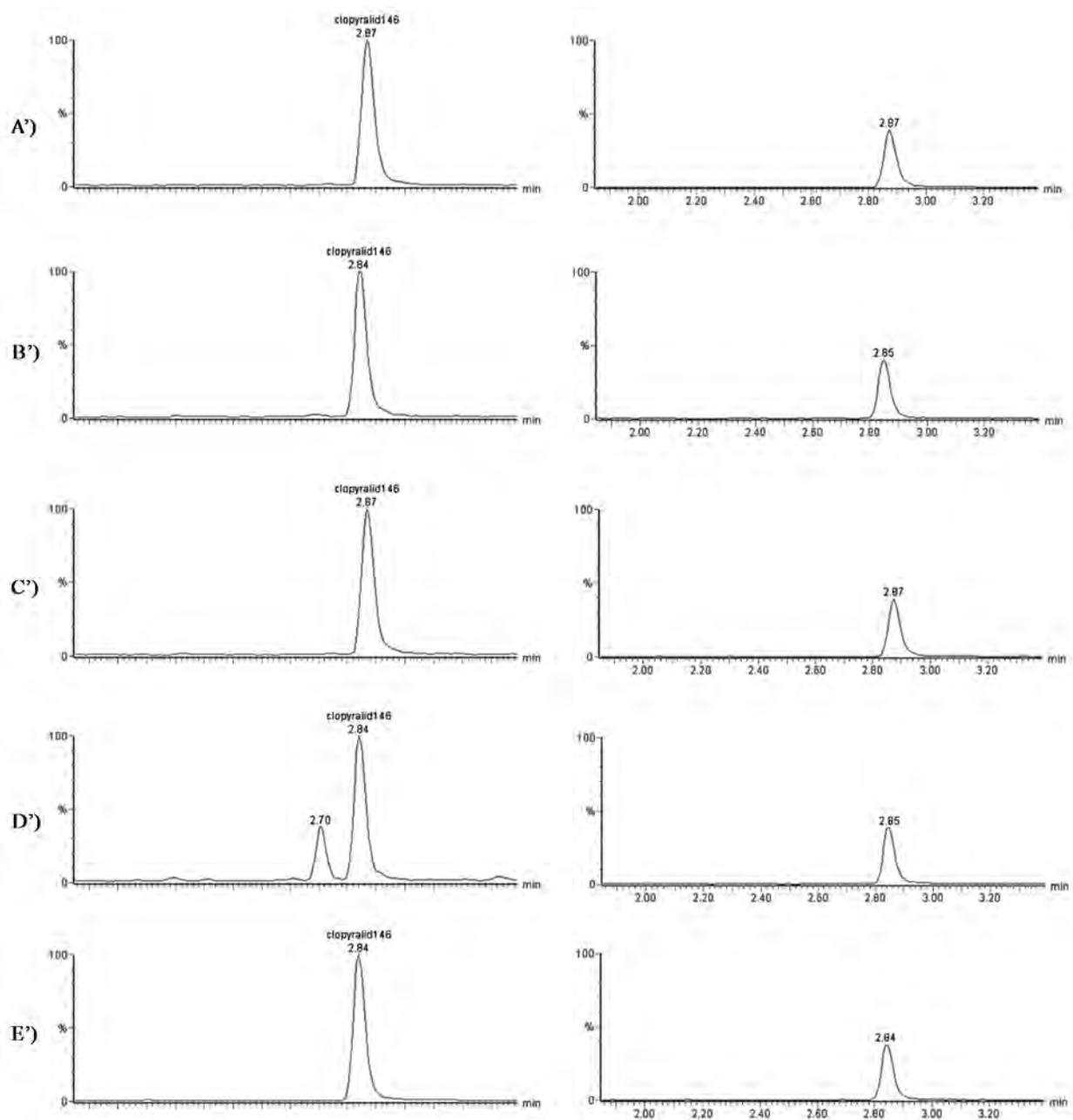


Fig. 2-2 Chromatograms obtained by analysis of commercial fertilizers

A') Cattle manure compost (22.5 µg/kg), B') Pig manure compost (27.8 µg/kg),
 C') Poultry manure compost (20.4 µg/kg), D') Composted sludge fertilizer (11.1 µg/kg),
 E') Standard solution (10 ng/mL)

Left figure: Product ion for quantification (192>146)

Right figure: Product ion for identification (192>110)

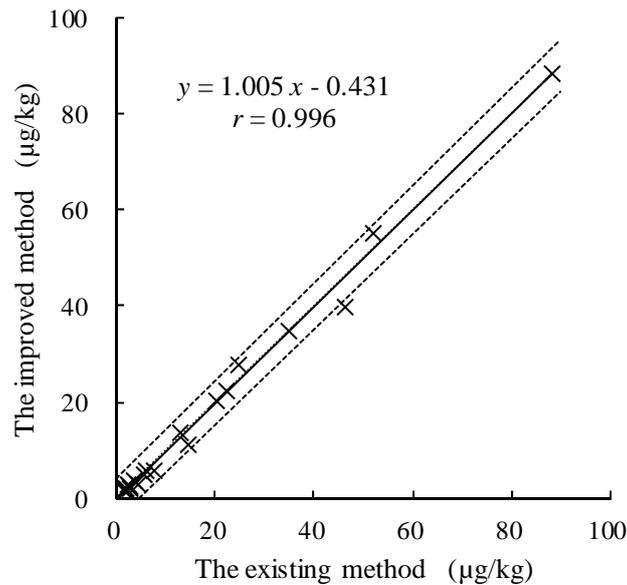


Fig. 3 Comparison between the improved method and the existing method

Heavily line: Regression line,

Dotted lines: Upper and lower limit 95 % prediction intervals,

Thin line: $y=x$

Table 7 Comparison of measured values of the improved method and the existing methods using regression equations

Correlation coefficient (r) ^{a)}	Range of slope ^{b)c)}	Range of intercept ^{b)d)}
0.996	0.959 ~ 1.05	-1.72 ~ 0.860

a) The recommended range of trueness evaluation criteria*: No less than 0.99

b) The 95% confidence interval

c) The recommended range of trueness evaluation criteria*: Inclination includes 1.

d) The recommended range of trueness evaluation criteria*: Intercept includes the origin (0).

* The criterias shown in Testing methods of Fertilizers (2018)

4) 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に牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料について、自然汚染試料を2点併行で日を変えて5回試験を実施して得られた結果をTable 8に示した。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 9に示す。それぞれの試料の平均値は牛ふん堆肥 87.2 µg/kg、豚ふん堆肥 2.79 µg/kg、鶏ふん堆肥 20.5 µg/kg、汚泥発酵肥料 6.27 µg/kgであり、併行相対標準偏差は牛ふん堆肥 4.1 %、豚ふん堆肥 10.3 %、鶏ふん堆肥 3.8 %、汚泥発酵肥料 5.8 %、中間相対標準偏差は牛ふん堆肥 4.1 %、豚ふん堆肥 10.3 %、鶏ふん堆肥 15.8 %、汚泥発酵肥料 7.3 %であった。いずれの相対標準偏差も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)の目安の2倍以内であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 8 Individual result of repeatability test on different days for precision confirmation ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Test days	Cattle manure compost		Pig manure compost	
	1	88.5	85.8	2.87
2	84.0	90.2	2.78	3.33
3	92.2	86.1	2.31	2.98
4	85.6	80.8	2.68	2.61
5	86.7	91.6	2.90	2.88
Test days	Poultry manure compost		Composted sludge fertilizer	
	1	23.0	24.3	5.81
2	22.4	23.4	7.04	6.37
3	16.5	15.3	6.65	6.17
4	18.8	18.7	6.31	6.38
5	21.9	20.7	5.60	5.75

Table 9 Statistical analysis of repeatability test results for precision confirmation

Sample	Mean Value ^{a)} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Repeatability precision			Intermediate precision		
		s_r ^{b)} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	RSD_r ^{c)} (%)	$CRSD_r$ ^{d)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{e)} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	$RSD_{I(T)}$ ^{f)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)
Cattle manure compost	87.2	3.6	4.1	11	3.6	4.1	18
Pig manure compost	2.79	0.29	10.3	11	0.29	10.3	18
Poultry manure compost	20.5	0.8	3.8	11	3.2	15.8	18
Composted sludge fertilizer	6.27	0.36	5.8	11	0.46	7.3	18

a) Total mean (number of test days (5) \times number of replication (2))

b) Repeatability standard deviation

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of repeatability precision (repeatability relative standard deviation)
shown in Testing Method for Fertilizer

e) Intermediate standard deviation

f) Intermediate relative standard deviation

g) Criteria of Intermediate precision (intermediate relative standard deviation)
shown in Testing Method for Fertilizer

5) 定量下限等の推定

牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料の自然汚染試料を用いて定量下限 (LOQ) 及び検出下限 (LOD) の推定を行った。その結果を Table 10 に示す。定量下限については、 SN 比が 10:1 となるピーク濃度から推定を行い、牛ふん堆肥及び鶏ふん堆肥では $1.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、豚ふん堆肥では $1.9 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、汚泥発酵肥料では $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ と推定された。検出下限については、 SN 比が 3:1 となるピーク濃度から推定を行い、牛ふん堆肥及び豚ふん堆肥では $0.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料では $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ と推定された。

Table 10 Estimated *LOQ* and *LOD* of clopyralid

Sample	Concentration in sample solution (ng/mL)	<i>SN</i> ratio	<i>LOQ</i> ^{a)} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	<i>LOD</i> ^{b)} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Standard solution	0.49	9.3	1.3	0.4
Cattle manure compost	0.83	11.3	1.8	0.6
Pig manure compost	1.11	14.5	1.9	0.6
Poultry manure compost	0.96	13.3	1.8	0.5
Composted sludge fertilizer	0.56	8.8	1.6	0.5

a) The value estimated from the concentration in the sample solution whose *SN* ratio is 10 to 1

b) The value estimated from the concentration in the sample solution whose *SN* ratio is 3 to 1

4. まとめ

LC-MS/MS を用いた高感度分析法の改良を行い、牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料について、単一試験室における妥当性確認試験を実施したところ、次の結果を得た。

(1) 試料中濃度が 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量となるように標準液、汚泥発酵肥料、牛ふん堆肥、鶏ふん堆肥、豚ふん堆肥を用いてジルコニアコートシリカゲルカラムの溶出画分の検討を行ったところ、ぎ酸-アセトニトリル (2+98) 10 mL までの画分に溶出していた。また、コポリマーカートリッジカラムの充填剤の増加に伴い、溶出画分を検討したところ、8 mL までの画分に溶出することが確認された。

(2) 牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料を用いて、LC-MS/MS によるマトリックス効果を確認したところ、測定に大きな影響を与えるものではなかった。

(3) 流通肥料を用いて、既存の方法との比較により真度の確認を行った結果、回帰直線の切片の 95% 信頼区間は -1.72~0.860、傾きの 95% 信頼区間は 0.959~1.05、かつ相関係数は 0.996 であった。この結果は肥料等試験法に示されている回帰直線の推奨範囲を満たしていた。

(4) 併行精度及び中間精度を確認するため、牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料を用いて、2 点併行で日を変えて 5 回試験を行った結果、併行相対標準偏差は牛ふん堆肥 4.1 %、豚ふん堆肥 10.3 %、鶏ふん堆肥 3.8 %、汚泥発酵肥料 5.8 %、中間相対標準偏差は牛ふん堆肥 4.1 %、豚ふん堆肥 10.3 %、鶏ふん堆肥 15.8 %、汚泥発酵肥料 7.3 % であった。この結果は、肥料等試験法に示されている各濃度レベルにおける併行精度及び中間精度の目安の 2 倍以内であり、許容範囲を満たしていた。

(5) 牛ふん堆肥、豚ふん堆肥、鶏ふん堆肥及び汚泥発酵肥料を用いて定量下限等の確認を行った結果、定量下限は 1.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 程度であり、検出下限は 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 程度であった。

操作の煩雑さが解消され効率的に分析が行える試験法に改良した。また単一試験室での妥当性確認を行った結果、試験法として十分な性能を有していると考えられた。

文 献

- 1) 飼料及び堆肥に残留する除草剤の簡易判別法と被害軽減対策マニュアル, 筑波印刷情報サービスセンター協同組合
- 2) 農林水産省: 輸入飼料中及び堆肥中に含まれるクロピラリドの調査結果について
 - a. <<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/clopyralid/attach/pdf/clopyralid-25.pdf>>
 - b. <<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/clopyralid/attach/pdf/clopyralid-33.pdf>>
- 3) 八木寿治, 関根優子, 白井裕治: 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC-MS/MS)によるたい肥及び汚泥発酵肥料中のクロピラリド測定, 肥料研究報告, 3, 51~59(2010)
- 4) 顯谷久典, 八木寿治, 橋本良美, 白井裕治: 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC-MS/MS)法による堆肥及び汚泥肥料中のクロピラリド, アミノピラリド及びピクロラムの測定, 肥料研究報告, 7, 1~9(2014)
- 5) 小塚健志, 大島舞弓, 橋本良美, 田丸直子, 白井裕治: 液体クロマトグラフタンデム型質量分析(LC-MS/MS)法による堆肥及び汚泥発酵肥料中のクロピラリド及びその関連物質の測定 - 共同試験成績 -, 肥料研究報告, 10, 61~71(2017)
- 6) 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(2018)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2018.pdf>
- 7) 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構農業環境変動研究センター: 土壌中クロピラリドのトマト, サヤエンドウ, スイートピーの初期成育に及ぼす影響・データ集(2009)
<http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/pub2016_or_later/pamphlet/tech-pamph/078226.html>
- 8) 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構農業環境変動研究センター: 牛ふん堆肥中クロピラリドの高感度分析法(参考法)(2017)
<http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/pub2016_or_later/pamphlet/tech-pamph/078229.html>
- 9) 伊藤浩平, 小塚健志, 青山恵介, 白井祐治: 液体クロマトグラフタンデム質量分析(LC-MS/MS)法による堆肥等中のクロピラリドの測定 - 微量試験法の適用範囲拡大 -, 肥料研究報告, 11, 63~74(2018)

Improvement of Microanalysis Determination of Clopyralid in Compost and Composted Sludge Fertilizer by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

Nobuhito NAKAMURA¹, Kenji KOZUKA² and Yuji SHIRAI²

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

² FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department

We improved and validated simplified existing method for the microanalysis determination of clopyralid in compost and composted sludge fertilizer by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Then, the improved method simplified the extraction and purification procedures. Clopyralid could be extracted with methanol under alkaline condition. The extract was purified by retention and elution with two kinds of cleanup cartridge. These purification took advantage of characteristics that the behavior of elution varies between acidity and alkaline. Extracted clopyralid was measured by LC-MS/MS. From the results of 20 samples tested by the improved method and the existing method, significant difference was not confirmed between the two test methods. Repeatability relative standard deviation of clopyralid in cattle manure compost, pig manure compost, poultry manure compost and composted sludge fertilizer, respectively, were 4.1 %, 10.3 %, 3.8 % and 5.8 %, and these intermediate relative standard deviation, respectively, were 4.1 %, 10.3 %, 15.8 % and 7.3 %. Minimum limit of quantification of there were estimated 2 µg/kg. Those results indicated that the improved method was valid for the determination of clopyralid in compost and composted sludge fertilizer.

Key words clopyralid, compost, composted sludge fertilizer, LC-MS/MS, microanalysis determination

(Research Report of Fertilizer, **12**, 69~83, 2019)

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⁾に記載し, ホームページに掲載している.

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×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×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

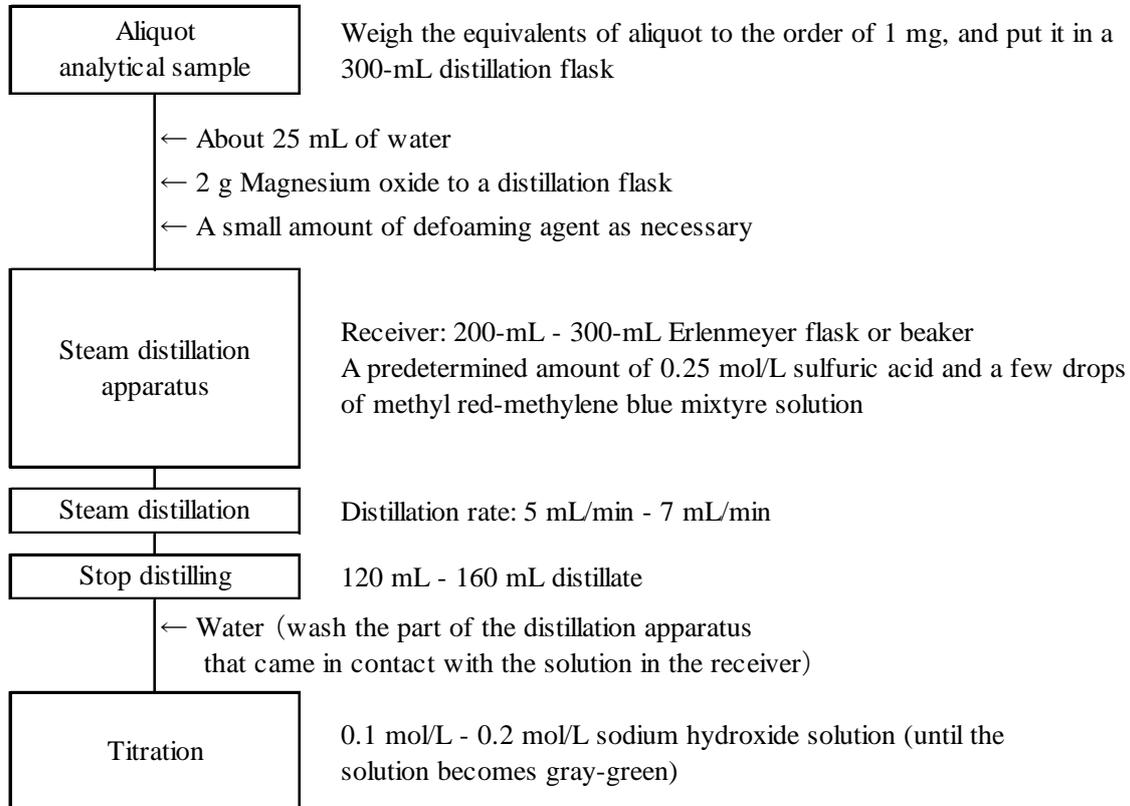
各試験室に設置している回転振り混ぜ機、水蒸気蒸留装置、85 °C 以上で水浴のできる恒温水槽及び分光光度計を使用した。

3) 試験方法

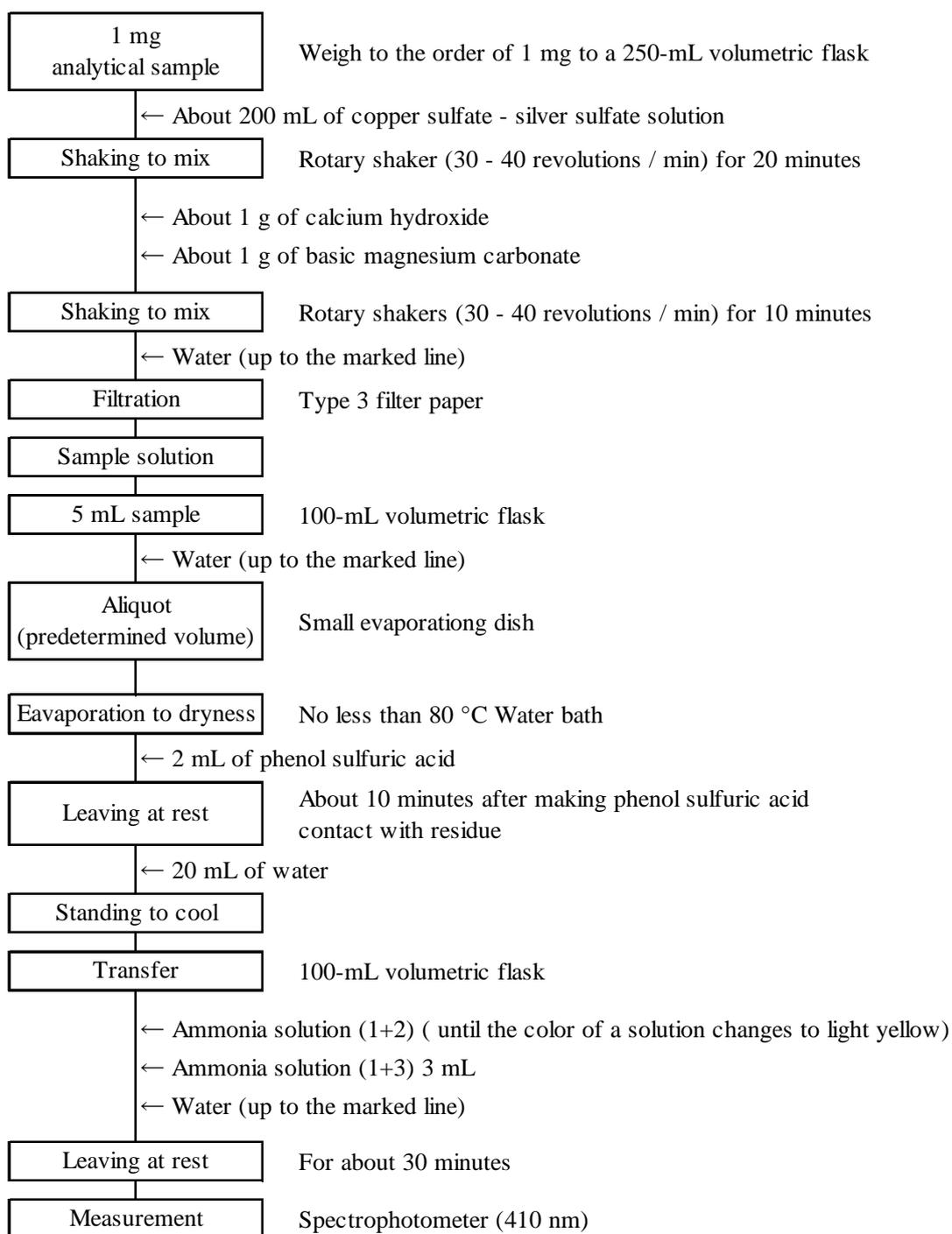
アンモニア性窒素及び硝酸性窒素の抽出及び測定は、Table 1 のとおり肥料等試験法⁷⁾の各試験方法を用いた。なお、参考のため、各試験方法のフローシート(Scheme 1~2)を示した。

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) × 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/shikenho 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)

7 りん酸試験法の性能評価

—共同試験成績—

平原稔夫¹, 阿部進², 恵智正宏¹

キーワード りん酸全量, く溶性りん酸, 可溶性りん酸, 水溶性りん酸, バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法, 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⁾に収載されたバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法によるりん酸全量, く溶性りん酸, 可溶性りん酸及び水溶性りん酸の試験方法(以下, 「りん酸の試験法」という)については, 須永らが単一試験室における妥当性(SLV: Single Laboratory Validation)を確認⁸⁾し, 室間再現精度は, 既報の外部精度管理試験等の結果により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, りん酸の試験法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(肥料中のりん酸成分の分析)」(以下, 「委託事業」という)⁹⁾で実施された.

2. 材料及び方法

1) 均質性試験用試料及び共同試験用試料の調製

肥料として流通している甲殻類質肥料粉末, ひまし油かす及びその粉末, 魚かす粉末, りん酸を含む化成肥料(9種類), りん酸を含む指定配合肥料, 熔成りん肥, 加工りん酸肥料及び重過りん酸石灰を, 目開き 500 μm (熔成りん肥 1 点については 212 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, りん酸全量は各約 9.5 g, く溶性りん酸は各約 1.9 g, 可溶性りん酸は各約 4.7 g, 水溶性りん酸は各約 9.5 gをそれぞれねじ式ポリ容器に肥料の種類ごと 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 \times 5)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, 均質性試験用試料とした. 次に, 試験項目ごとに 5 種類の肥料から無作為にそれぞれ 2 個ずつ抽出し, 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.

¹ 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

² 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(現)農林水産省 東北農政局

均質性試験用試料は委託事業⁹⁾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

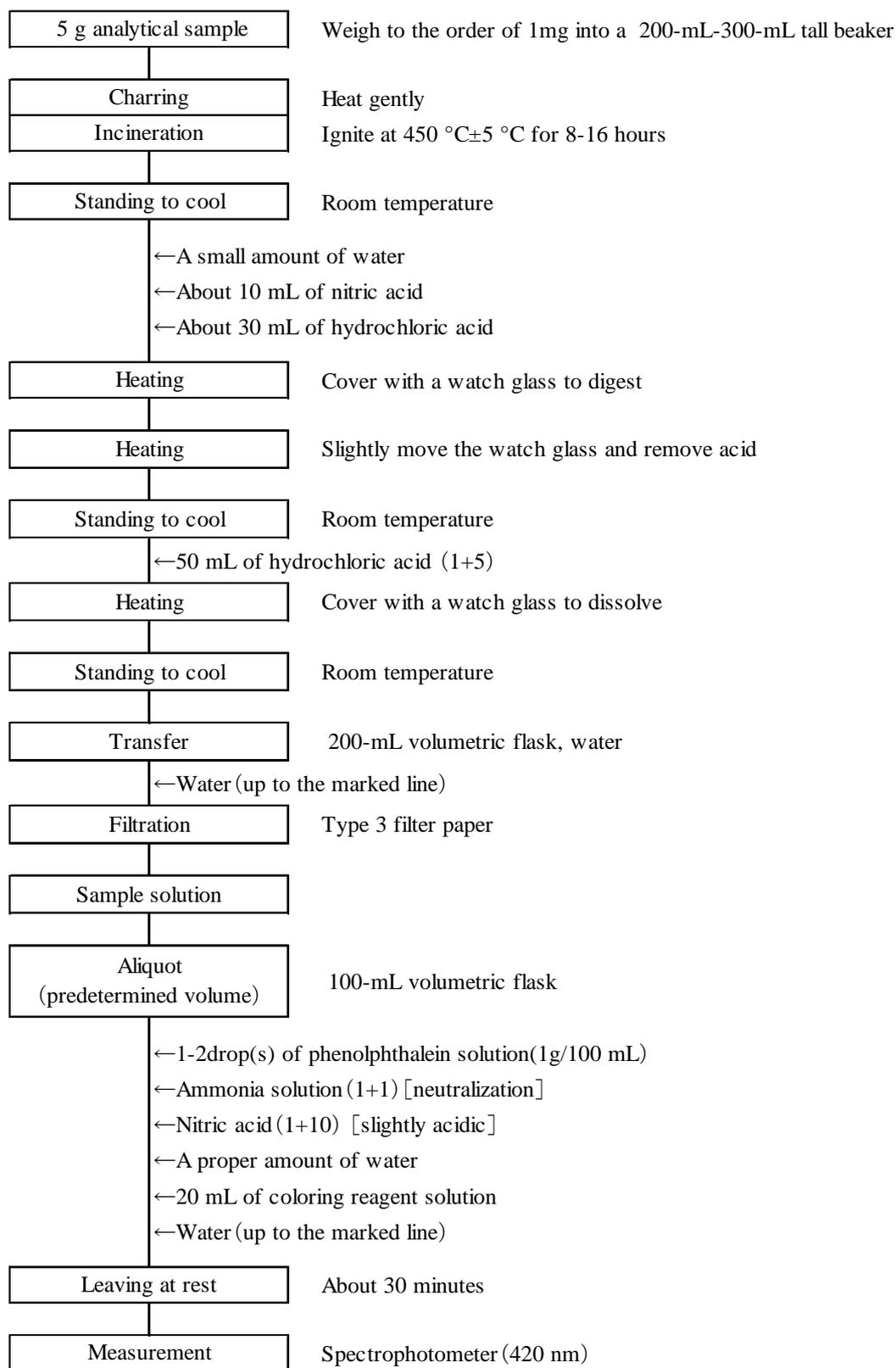
各試験室に設置している電気炉、ホットプレート(又は砂浴)、恒温上下転倒式回転振り混ぜ機、上下転倒式回転振り混ぜ機、水浴及び分光光度計を使用した。

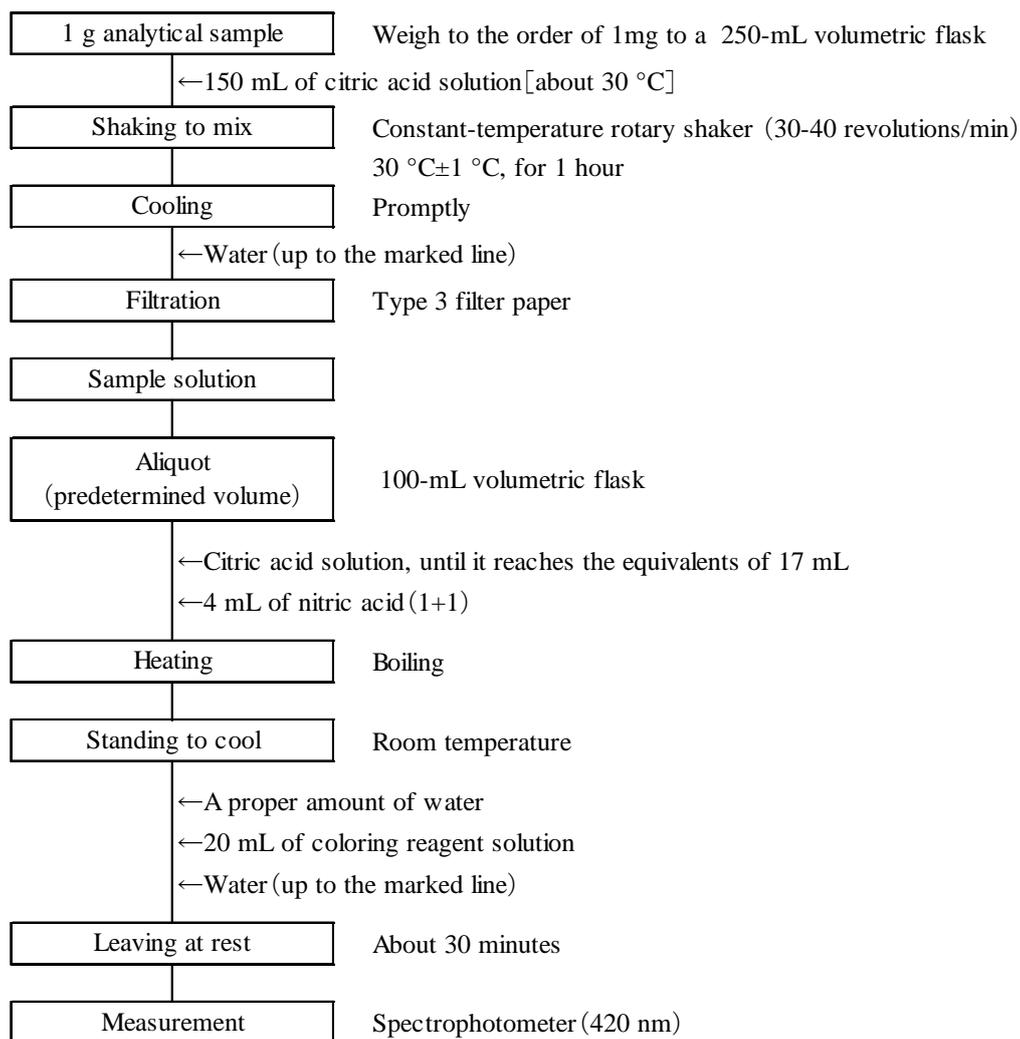
3) 試験方法

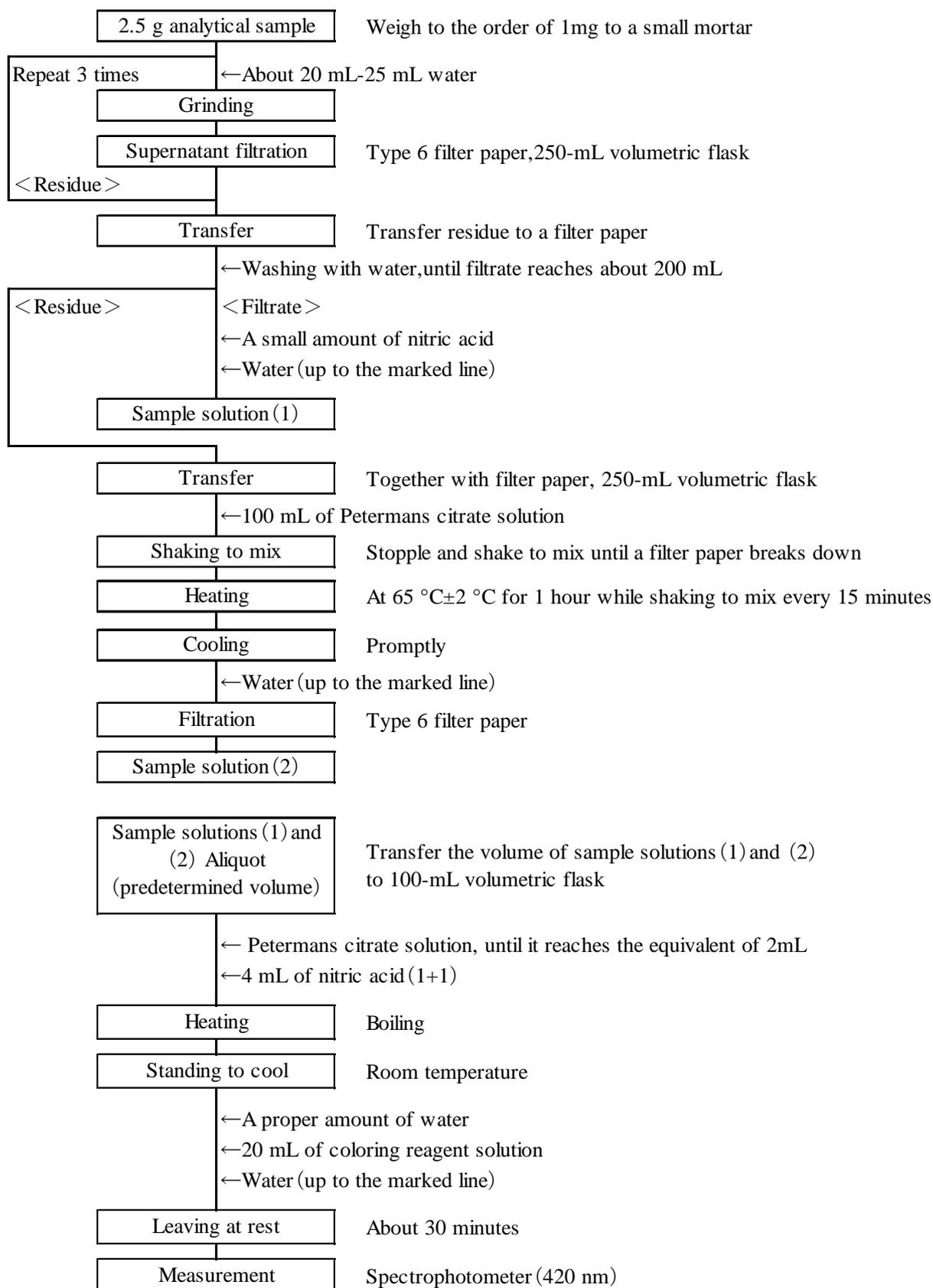
りん酸全量、く溶性りん酸、可溶性りん酸及び水溶性りん酸の抽出及び測定は、Table 1 のとおり肥料等試験法⁷⁾の各試験方法を用いた。なお、参考のため、各試験方法のフローシート(Scheme 1～Scheme 4)を示した。

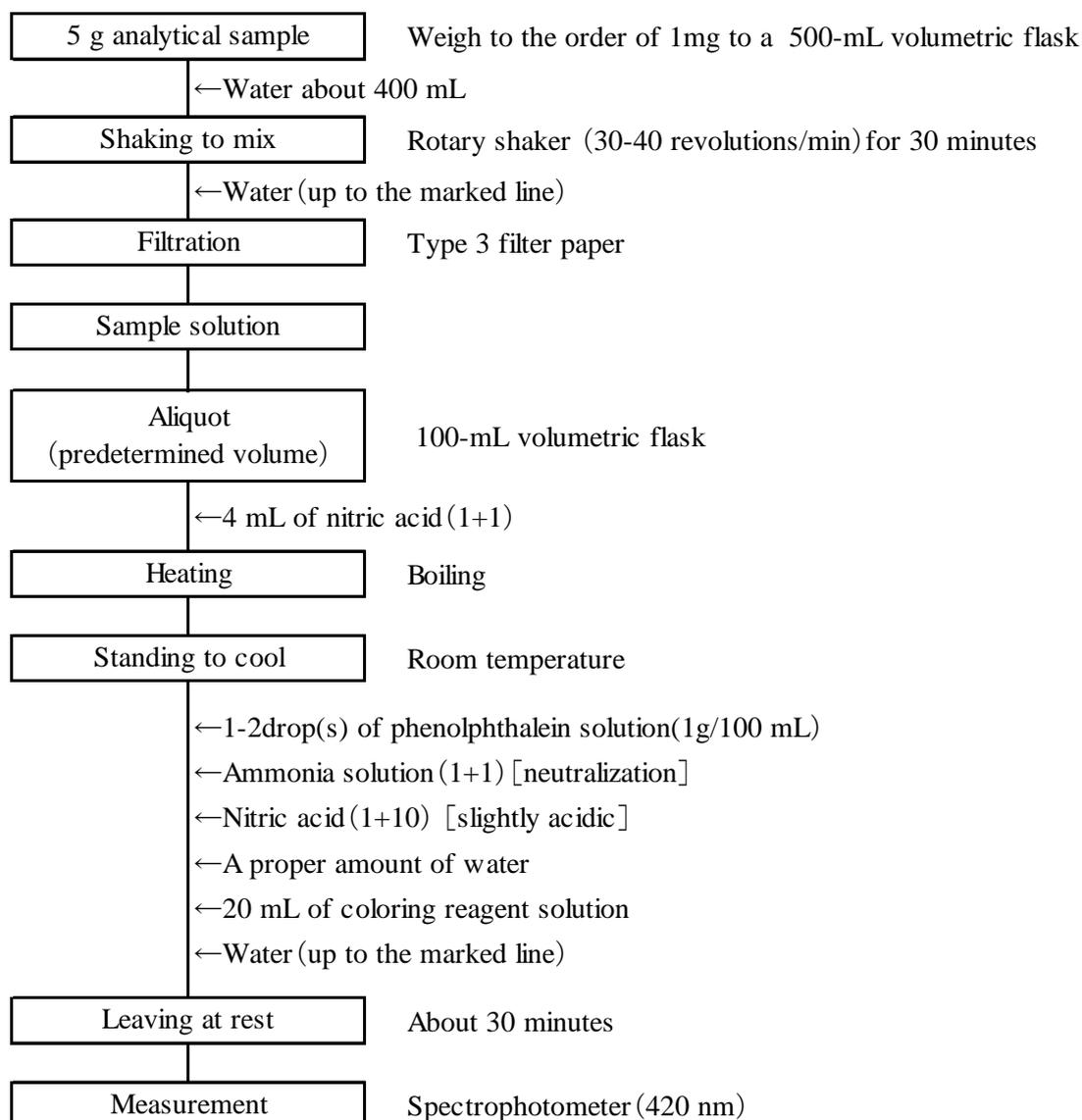
Table 1 Component and Measurement

Component	Testing Methods for Fertilizers (2018)	
	Measurement	
Total phosphorus (T-P ₂ O ₅)	4.2.1.a (4.1.3)	Ammonium vanadomolybdate absorptiometric analysis Incineration-aqua regia digestion
Citric acid-soluble phosphorus (C-P ₂ O ₅)	4.2.3.a (4.1.1)	Ammonium vanadomolybdate absorptiometric analysis Citric acid solution—Rotational shaking (30 °C)
Citrate-Soluble phosphorus (S-P ₂ O ₅)	4.2.2.a	Ammonium vanadomolybdate absorptiometric analysis
Water-soluble phosphorus (W-P ₂ O ₅)	4.2.4.a (4.1.1.1)	Ammonium vanadomolybdate absorptiometric analysis Water—Rotational shaking

Scheme 1 Analytical procedure for total phosphorus in fertilizers (T-P₂O₅)

Scheme 2 Analytical procedure for citric acid-soluble phosphorus in fertilizers (C-P₂O₅)

Scheme 3 Analytical procedure for citrate-soluble phosphorus in fertilizers (S-P₂O₅)

Scheme 4 Analytical procedure for water-soluble phosphorus in fertilizers (W-P₂O₅)

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¹⁰⁾の均質性試験に従い、1)により抽出した合計200試料を委託事業⁹⁾の受託分析機関において、各試料につき2点併行で、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12試験室で使用した分光光度計は以下のとおりであり、それぞれの試験室において1)により調製された分析項目ごとの10試料について、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 いわき工場(日本分光 V-630)
- ・ 片倉コープアグリ株式会社 秋田工場(日立 U-2900)
- ・ 片倉コープアグリ株式会社 大越工場(日立 U-1900)
- ・ 片倉コープアグリ株式会社 塩釜工場(日立 U-2900)

- ・ ジェイカムアグリ株式会社 小名浜工場(日立 U-2900)
 - ・ 清和肥料工業株式会社 いわき工場(日立 U-1900)
 - ・ 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(島津製作所 UV-1800)
 - ・ 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(島津製作所 UV-1800)
 - ・ 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(島津製作所 UV-1800)
 - ・ 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(島津製作所 UVmini-1240)
 - ・ 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(島津製作所 UVmini-1240)
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部(島津製作所 UV-1800)
- (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⁹⁾の受託分析機関から報告された 10 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($CRSD_R$)及びそれらから算出(式 1)した推定室間再現標準偏差($\hat{\sigma}_R$)を 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¹⁰⁾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, 可溶性りん酸の 1 試料の分析値が外れ値と判定され除外した. 外れ値除外後の成績について, 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. 次に, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル¹⁰⁾の十分に均質の判定式(式 3)を用いて均質性の判定を行った. その結果, りん酸全量における化成肥料 A 及び水溶性りん酸の化成肥料 H を除く, 全ての試料で判定式(式 3)を満たしていた. そこで, 判定式(式 3)を満たしていない試料の併行標準偏差(s_r)が十分に小さい($s_r < 0.5\hat{\sigma}_R$)ことから, 式 3 を緩和した判定式(式 4)を用いて均質性の判定を行った. その結果, いずれも判定式(式 4)を満たしていた. このことから, 全ての分析用試料は均質であることを確認した. なお, 参考のため, 式 5 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再現標準偏差($\hat{\sigma}_R$)と比較して十分に小さい値であった.

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

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

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots(式 3)$$

$$s_{bb}^2 \leq F1(0.3\sigma_p)^2 + F2 s_r^2 \quad \dots(式 4)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_r^2 + s_{bb}^2} \quad \dots(式 5)$$

$\hat{\sigma}_R$: 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 : 妥当性確認を行うため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 : 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 : 均質性判定のパラメータ (試料数 10, 2 点併行の場合, F2=1.01)

Table 2 Homogeneity test results of phosphorus

Component	Sample	No. of sample ^{a)}	\bar{x} ^{b)}	s_r ^{d)}	s_{bb} ^{e)}	s_{bb}^2 ^{e)}	s_{b+r} ^{f)}	$CRSD_R$ ^{g)}	$\hat{\sigma}_R$ ^{h)}	$0.5\hat{\sigma}_R$ ⁱ⁾	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{j)}	discriminant ^{k)}
			(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}
Total phosphorus (T-P ₂ O ₅)	Designated combined fertilizer	10	25.39	0.06	0.10	0.010	0.02	2.5	0.63	0.32	0.19	0.072
	Compound fertilizer 1	10	15.10	0.04	0.16	0.027	0.04	3	0.45	0.23	0.14	0.037
	Fish meal	10	8.65	0.10	0.00	0.000	0.09	4	0.35	0.17	0.10	0.031
	Castor meal and its powder	10	4.17	0.01	0.02	0.000	0.19	4	0.17	0.08	0.05	0.005
	Crab shells powder	10	3.25	0.04	0.02	0.000	0.19	4	0.13	0.06	0.04	0.004
Citric acid-soluble phosphorus (C-P ₂ O ₅)	Phosphate fertilizer	10	42.90	0.17	0.03	0.001	0.02	2.5	1.07	0.54	0.32	0.223
	Fused magnesium phosphate	10	20.63	0.06	0.04	0.001	0.04	3	0.62	0.31	0.19	0.068
	Compound fertilizer 2	10	10.34	0.10	0.00	0.000	0.03	3	0.31	0.16	0.09	0.026
	Compound fertilizer 3	10	4.15	0.02	0.00	0.000	0.15	4	0.17	0.08	0.05	0.005
	Compound fertilizer 4	10	1.58	0.02	0.00	0.000	0.15	4	0.06	0.03	0.02	0.001

a) The number of samples after exclusion ; () : The number of outliers from Cochran test

b) Total mean(Number of samples after excluding outliers×n=2)

c) Mass fraction

d) Repeatability standard deviation

e) Standard deviation sample-to-sample

f) Standard deviation of sample-to-sample include repeatability

$$s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$$

g) Criteria of precision for Reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2018

h) Estimated standard deviation of reproducibility calculated from rough standard of relative standard deviation of reproducibility

i) Parameters for the determination of repeatability standard deviation (s_r)j) Parameters for the determination of homogeneity (determination of s_{bb})k) discriminant: $F1(0.3\hat{\sigma}_R)^2 + F2s_r^2$ Parameters for the determination of homogeneity (determination of s_{bb}), F1=1.88, F2=1.01 (The number of samples (10), The number of repetition (2))

Table 2 Continue

Component	Sample	No. of sample ^{a)}	\bar{x} ^{b)} (%) ^{c)}	s_r ^{d)} (%) ^{c)}	s_{bb} ^{e)} (%) ^{c)}	$s_{bb}^{2e)}$ (%) ^{c)}	s_{b+r} ^{f)} (%) ^{c)}	$CRSD_R$ ^{g)} (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{h)} (%) ^{c)}	$0.5\hat{\sigma}_R$ ⁱ⁾ (%) ^{c)}	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{j)} (%) ^{c)}	Discriminant ^{k)} (%) ^{c)}
Citrate-soluble phosphorus (S-P ₂ O ₅)	Compound fertilizer 5	10	51.88	0.13	0.00	0.000	0.02	2.5	1.30	0.65	0.39	0.302
	Concentrated superphosphate	10	44.66	0.21	0.00	0.000	0.04	2.5	1.12	0.56	0.33	0.257
	Compound fertilizer 6	9 (1)	9.13	0.05	0.04	0.001	0.09	4	0.37	0.18	0.11	0.026
	Compound fertilizer 7	10	5.44	0.05	0.01	0.000	0.19	4	0.22	0.11	0.07	0.010
	Compound fertilizer 4	10	1.48	0.06	0.00	0.000	0.19	4	0.06	0.03	0.02	0.005
Water-soluble phosphorus (W-P ₂ O ₅)	Compound fertilizer 8	10	48.25	0.18	0.16	0.025	0.02	2.5	1.21	0.60	0.36	0.278
	Concentrated superphosphate	10	36.25	0.11	0.06	0.004	0.04	2.5	0.91	0.45	0.27	0.150
	Compound fertilizer 9	10	12.79	0.06	0.04	0.002	0.03	3	0.38	0.19	0.12	0.028
	Compound fertilizer 7	10	2.83	0.01	0.02	0.000	0.15	4	0.11	0.06	0.03	0.002
	Compound fertilizer 10	10	1.00	0.01	0.02	0.0002	0.15	4	0.04	0.02	0.01	0.0003

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, Table 3-2, Table 3-3 及び Table 3-4 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^{11, 12)}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, 試験室はりん酸全量のみ試験した試験室が 1 試験室, く溶性りん酸, 可溶性りん酸及び水溶性りん酸のみを試験した試験室が 1 試験室あり, 各試験成分の分析試験室数は 11 試験室である.

試験室の試験成績のうち, りん酸全量では, 5 試料のうち 1 試料で 2 試験室, 2 試料で各 1 試験室の報告値が外れ値として判定された. く溶性りん酸では, 5 試料のうち 1 試料で 2 試験室, 1 試料で 1 試験室の報告値が外れ値として判定された. 可溶性りん酸では, 5 試料のうち 3 試料で 1 試験室の報告値が外れ値として判定された. 水溶性りん酸では, 5 試料のうち 1 試料で 1 試験室の報告値が外れ値として判定された.

Table 3-1 Individual result of total phosphorus (T-P₂O₅)(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Designated combined fertilizer		Compound fertilizer 1		Fish meal		Castor meal and its powder		Crab shells powder	
A	25.51	25.53	14.65	14.72	8.86	8.80	4.04 ^{d)}	4.05 ^{d)}	3.38 ^{d)}	3.40 ^{d)}
B	25.31	25.35	15.14	15.17	8.55	8.52	4.17	4.18	3.23	3.26
C	25.21	25.14	15.07	15.20	8.49	8.46	4.15	4.15	3.23	3.23
D	— ^{e)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E	24.98	25.15	14.98 ^{c)}	14.64 ^{c)}	8.37	8.20	4.11	4.11	3.23	3.20
F	25.28	25.40	15.08	15.12	8.46	8.61	4.17 ^{c)}	4.13 ^{c)}	3.24	3.27
G	25.27	25.54	15.26	15.12	8.83	8.82	4.17	4.16	3.29	3.25
H	25.55	25.62	15.30	15.32	8.50	8.54	4.20	4.19	3.27	3.27
I	25.36	25.38	15.12	15.09	8.70	8.52	4.18	4.17	3.26	3.25
J	25.62	25.62	15.09	15.11	8.50	8.61	4.20	4.20	3.30	3.29
K	25.50	25.36	14.97	14.93	8.52	8.63	4.17	4.18	3.28	3.28
L	25.37	24.96	14.98	14.88	8.46	8.56	4.18	4.17	3.26	3.26

a) Mass fraction

b) Laboratory identification (random order)

c) Outlier of Cochran test

d) Outlier of Grubbs test

e) Not tested

Table 3-2 Individual result of citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅)(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Phosphate fertilizer		Fused magnesium phosphate		Compound fertilizer 2		Compound fertilizer 3		Compound fertilizer 4	
A	41.82	41.84	20.35	20.38	10.47	10.46	4.12	4.13	1.53	1.54
B	42.74	42.68	20.84	20.79	10.64	10.64	4.16	4.15	1.59	1.61
C	— ^{e)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D	41.82	41.67	20.65	20.40	10.66	11.00	4.12	4.16	1.63	1.58
E	42.86	42.64	20.86	21.08	11.04	10.82	4.13	4.18	1.57	1.62
F	42.30	42.54	20.73	21.01	11.00	10.66	4.12	4.11	1.59	1.56
G	42.10	42.23	20.31	20.99	10.81	10.69	4.18	4.18	1.59	1.59
H	42.30	42.18	20.73	20.77	10.73	10.68	4.15	4.14	1.55	1.54
I	42.36	42.11	21.46 ^{d)}	22.63 ^{d)}	10.94	10.80	4.19	4.23	1.60	1.58
J	42.48	42.73	23.66 ^{d)}	24.43 ^{d)}	11.08	10.97	4.33 ^{d)}	4.34 ^{d)}	1.61	1.61
K	42.71	42.39	20.67	21.06	10.85	10.78	4.15	4.13	1.58	1.58
L	42.01	41.80	20.71	20.59	10.62	10.62	4.10	4.13	1.52	1.56

a) ~e) Refer to the footnote of Table 3-1

Table 3-3 Individual result of citrate-soluble phosphorus (S-P₂O₅) (%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Compound fertilizer 5		Concentrated superphosphate		Compound fertilizer 6		Compound fertilizer 7		Compound fertilizer 4	
A	52.30	52.35	44.83	44.69	9.80	9.67	5.71	5.70	1.52	1.54
B	51.86	51.86	44.65	44.64	9.23	9.23	5.44	5.45	1.58	1.59
C	— ^{e)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D	50.87	51.51	43.72 ^{d)}	43.50 ^{d)}	9.50	9.89	5.77 ^{c)}	6.53 ^{c)}	1.61	1.66
E	51.82	52.16	44.65	45.33	9.47	9.47	5.37	5.41	1.61	1.61
F	51.79	52.05	44.54	45.46	9.04	9.17	5.30	5.32	1.50	1.46
G	51.17	50.75	44.88	44.91	9.90	9.98	5.78	5.67	1.50	1.51
H	53.86 ^{c)}	51.34 ^{c)}	44.60	45.21	8.81	9.14	5.50	5.48	1.49	1.48
I	52.15	52.05	44.92	45.10	9.38	9.42	5.74	5.84	1.58	1.60
J	52.43	52.29	44.95	45.13	9.43	9.35	5.78	5.79	1.50	1.57
K	51.73	51.71	44.99	44.69	9.52	9.54	5.52	5.60	1.54	1.57
L	51.71	51.44	44.68	45.16	9.12	9.32	5.54	5.47	1.49	1.50

a) ~e) Refer to the footnote of Table 3-1

Table 3-4 Individual result of water-soluble phosphorus (W-P₂O₅) (%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Compound fertilizer 8		Concentrated superphosphate		Compound fertilizer 9		Compound fertilizer 7		Compound fertilizer 10	
A	48.30	48.49	36.24	36.07	12.68	12.81	2.87	2.84	0.96	0.96
B	48.45	48.41	36.06	36.10	12.49	12.57	2.84	2.81	0.91	0.88
C	— ^{e)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D	48.44	48.35	36.54	36.67	13.23	12.85	2.82	2.80	1.02	1.00
E	48.27	48.48	36.43	36.43	12.96	13.17	2.88	2.84	1.02	1.00
F	48.29	48.97	36.22	35.50	12.39	12.46	2.77	2.77	0.83	0.82
G	48.89	48.88	36.55	36.67	12.80	12.77	2.91	2.88	0.89	0.90
H	48.84	48.75	36.39	37.16	12.21	12.60	2.86 ^{d)}	2.73 ^{d)}	0.90	0.91
I	48.53	48.56	36.17	36.19	12.46	12.41	2.79	2.79	0.82	0.82
J	47.76	48.60	36.36	36.52	12.70	12.76	2.85	2.87	0.89	0.89
K	48.32	48.08	35.78	34.97	12.63	12.48	2.76	2.74	0.84	0.88
L	48.03	47.69	35.78	35.78	12.58	12.67	2.79	2.80	0.94	0.94

a) ~e) Refer to the footnote of Table 3-1

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^{11, 12)}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.

りん酸全量の平均値(質量百分率、以下同じ)は 3.26 % ~25.36 % であり, その併行標準偏差(s_r)は 0.01 % ~0.12 %, 併行相対標準偏差(RSD_r)は 0.1 % ~0.9 %, 室間再現標準偏差(s_R)は 0.03 % ~0.20 %, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 0.6 % ~1.9 % であった. <溶性りん酸の平均値は 1.58 % ~42.29 % であり, その併行

標準偏差 (s_r) は 0.02 % ~ 0.21 %, 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 0.3 % ~ 1.2 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.03 % ~ 0.37 %, 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 0.8 % ~ 1.9 % であった。可溶性りん酸の平均値は 1.55 % ~ 51.80 % であり, その併行標準偏差 (s_r) は 0.02 % ~ 0.32 %, 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 0.4 % ~ 1.5 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.06 % ~ 0.48 %, 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 0.6 % ~ 3.6 % であった。水溶性りん酸の平均値は 0.91 % ~ 48.43 % であり, その併行標準偏差 (s_r) は 0.01 % ~ 0.29 %, 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 0.5 % ~ 1.4 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.05 % ~ 0.47 %, 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 0.7 % ~ 7.2 % 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⁾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(目安の 2.0 倍)内であり, 水溶性りん酸の 1 試料(低濃度)を除く室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は, 同目安の範囲内であった。

Table 4 Statistical analysis of Collaborative study results

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)}	(%)	(%)
Total phosphorus (T-P ₂ O ₅)	Designated combined fertilizer	11	25.36	0.12	0.5	1	0.20	0.8	2.5
	Compound fertilizer 1	10(1)	15.07	0.05	0.4	1.5	0.18	1.2	3
	Fish meal	11	8.57	0.08	0.9	2	0.16	1.9	4
	Castor meal and its powder	9(2)	4.17	0.01	0.1	2	0.03	0.6	4
	Crab shells powder	10(1)	3.26	0.01	0.5	2	0.03	0.8	4
Citric acid-soluble phosphorus (C-P ₂ O ₅)	Phosphate fertilizer	11	42.29	0.14	0.3	1	0.37	0.9	2.5
	Fused magnesium phosphate	9(2)	20.72	0.21	1.0	1.5	0.24	1.2	3
	Compound fertilizer 2	11	10.77	0.12	1.1	1.5	0.18	1.7	3
	Compound fertilizer 3	10(1)	4.15	0.02	0.5	2	0.03	0.8	4
	Compound fertilizer 4	11	1.58	0.02	1.2	2	0.03	1.9	4

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

b) Average value after excluding outliers(n =The number of laboratories(p) \times The number of samples(2))

c) Mass fraction

d) Repeatability standard deviation

e) Repeatability relative standard deviation

f) Criteria of precision for Repeatability relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2018

g) Reproducibility standard deviation

h) Reproducibility relative standard deviation

i) Criteria of precision for Reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2018

Table 4 Continue

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)}	(%)	(%)
Citrate-soluble phosphorus (S-P ₂ O ₅)	Compound fertilizer 5	10(1)	51.80	0.21	0.4	1	0.48	0.9	2.5
	Concentrated superphosphate	10(1)	44.90	0.32	0.7	1	0.26	0.6	2.5
	Compound fertilizer 6	11	9.43	0.13	1.3	2	0.30	3.2	4
	Compound fertilizer 7	10(1)	5.57	0.04	0.8	2	0.17	3.1	4
	Compound fertilizer 4	11	1.55	0.02	1.5	2	0.06	3.6	4
Water-soluble phosphorus (W-P ₂ O ₅)	Compound fertilizer 8	11	48.43	0.26	0.5	1	0.34	0.7	2.5
	Concentrated superphosphate	11	36.21	0.29	0.8	1	0.47	1.3	2.5
	Compound fertilizer 9	11	12.67	0.14	1.1	1.5	0.25	2.0	3
	Compound fertilizer 7	10(1)	2.82	0.02	0.6	2	0.05	1.7	4
	Compound fertilizer 10	11	0.91	0.01	1.4	3	0.07	7.2	6

4. まとめ

肥料等試験法⁷⁾に記載されたバナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法によるりん酸全量、く溶性りん酸、可溶性りん酸及び水溶性りん酸の試験法について、12 試験室で各 5 種類(10 点)の試料を用い共同試験を実施し、試験室間の再現精度を調査した。

その結果、りん酸全量は平均値 3.26 %～25.36 %の範囲でその室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 0.6 %～1.9 %、く溶性りん酸は平均値 1.58 %～42.29 %の範囲でその室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 0.8 %～1.9 %、可溶性りん酸は平均値 1.55 %～51.80 %の範囲でその室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 0.6 %～3.6 %、水溶性りん酸は平均値 0.91 %～48.43 %の範囲でその室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 0.7 %～7.2 %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以内であり、満足する再現精度であった。

今回検討した試験法は、既に単一試験室による試験法の妥当性確認(SLV)がされており、更にこの検討において国際的に標準とされる複数試験室の妥当性確認(HCV)により評価されたことから、これらの試験法の性能は肥料等試験法⁷⁾の性能規準の Type B(SLV 及び HLV による評価)に適合していることを確認した。

謝 辞

共同試験にご協力いただいたエムシー・ファーティコム株式会社、片倉コープアグリ株式会社、ジェイカムアグリ株式会社及び清和肥料工業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/bunseki/sub9_shiken2018.html>
- 8) 須永善行, 杉村靖, 吉田一郎, 小西範英:りん酸試験法の性能調査—バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法—, 肥料研究報告, **5**, 167~179
- 9) 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(肥料中の窒素及びりん酸成分の分析) (2018)
- 10) 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)
- 11) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2) , 331~343 (1995)
- 12) 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 Phosphoric Acid in fertilizer: Harmonized Collaborative Validation

Toshio HIRABARA ¹, Shin ABE ² and Masahiro ECHI ¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Sendai Regional Center

² FAMIC, Sendai Regional Center (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tohoku Regional
Agricultural Administration Office

A collaborative study was conducted to evaluate ammonium vanadomolybdate absorptiometric analysis for determination of total phosphorus, citric acid-soluble phosphorus, citrate-soluble phosphorus and water-soluble phosphorus in fertilizer. These components in fertilizer was extracted and analyzed by Testing Methods for Fertilizers 2018 test procedures⁷⁾, respectively. We sent 5 materials to 12 collaborators as blind duplicates. The mean values of determination of total phosphorus, citric acid-soluble phosphorus, citrate-soluble phosphorus and water-soluble phosphorus were reported 3.26 % ~ 25.36 %, 1.58 % ~ 42.29 %, 1.55 % ~ 51.80 % and 0.91 % ~ 48.43 % as a mass fraction, respectively. In addition, the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) of determination of total phosphorus, citric acid-soluble phosphorus, citrate-soluble phosphorus and water-soluble phosphorus were reported 0.6 % ~ 1.9 %, 0.8 % ~ 1.9 %, 0.6 % ~ 3.6 % and 0.7 % ~ 7.2 %, respectively. Those results indicated that each method has acceptable precision for the analysis of the components in these concentration ranges.

Key words total phosphoric acid, citric acid-soluble phosphoric acid, citrate-soluble phosphoric acid,
water-soluble phosphoric acid, ammonium vanadomolybdate absorptiometric analysis,
harmonized collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **12**, 94~108, 2019)

8 加里試験法の性能評価

—共同試験成績—

顯谷久典¹, 加藤公栄¹

キーワード 加里全量, く溶性加里, 水溶性加里, フレーム原子吸光法, 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⁾に記載し, ホームページに掲載している.

肥料等試験法⁷⁾に記載された加里試験法について, 加藤らは公定法(原子吸光光度法)を含めた方法間の比較(単一試験室による試験法の妥当性確認(SLV: Single Laboratory Validation))を実施⁸⁾し, 木村らはその真度及び室間再現精度の性能調査(複数試験室による試験法の妥当性確認(MLV: Multi Laboratory Validation))を実施⁹⁾している. このうち室間再現精度の性能調査は, 既報の外部精度管理試験等の結果により暫定的に評価していたが, 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, 主要な成分の加里(K₂O)として規定^{2~4)}されている加里全量, く溶性加里及び水溶性加里(煮沸抽出及び振とう抽出)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(肥料中の加里成分の分析)」(以下, 「委託事業」という.)¹⁰⁾で実施された.

2. 材料および方法

1) 均質性試験用試料及び共同試験用試料の調製

肥料として流通している硫酸加里, 硫酸加里苦土, ひまし油かす及びその粉末, 加里を含む乾燥菌体肥料, 加里を含む化成肥料(10種類), 加里を含む副産複合肥料, 加里を含む家庭園芸用複合肥料及びけい酸加里肥料を, 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, 加里全量は各約 9.5 g, く溶性加里は各約 1.9 g, 水溶性加里(煮沸抽出)は各 4.7 g, 水溶性加里(振とう抽出)は各 9.5 g をそれぞれねじ式ポリ容器に肥料の種類ごと 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(44×5)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, 均質性試験用試料とした. 次に, 試験項目ごとに 5 種類の肥料グループから無作為にそれぞれ 2 個ずつ抽出し, 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.

¹ 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

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

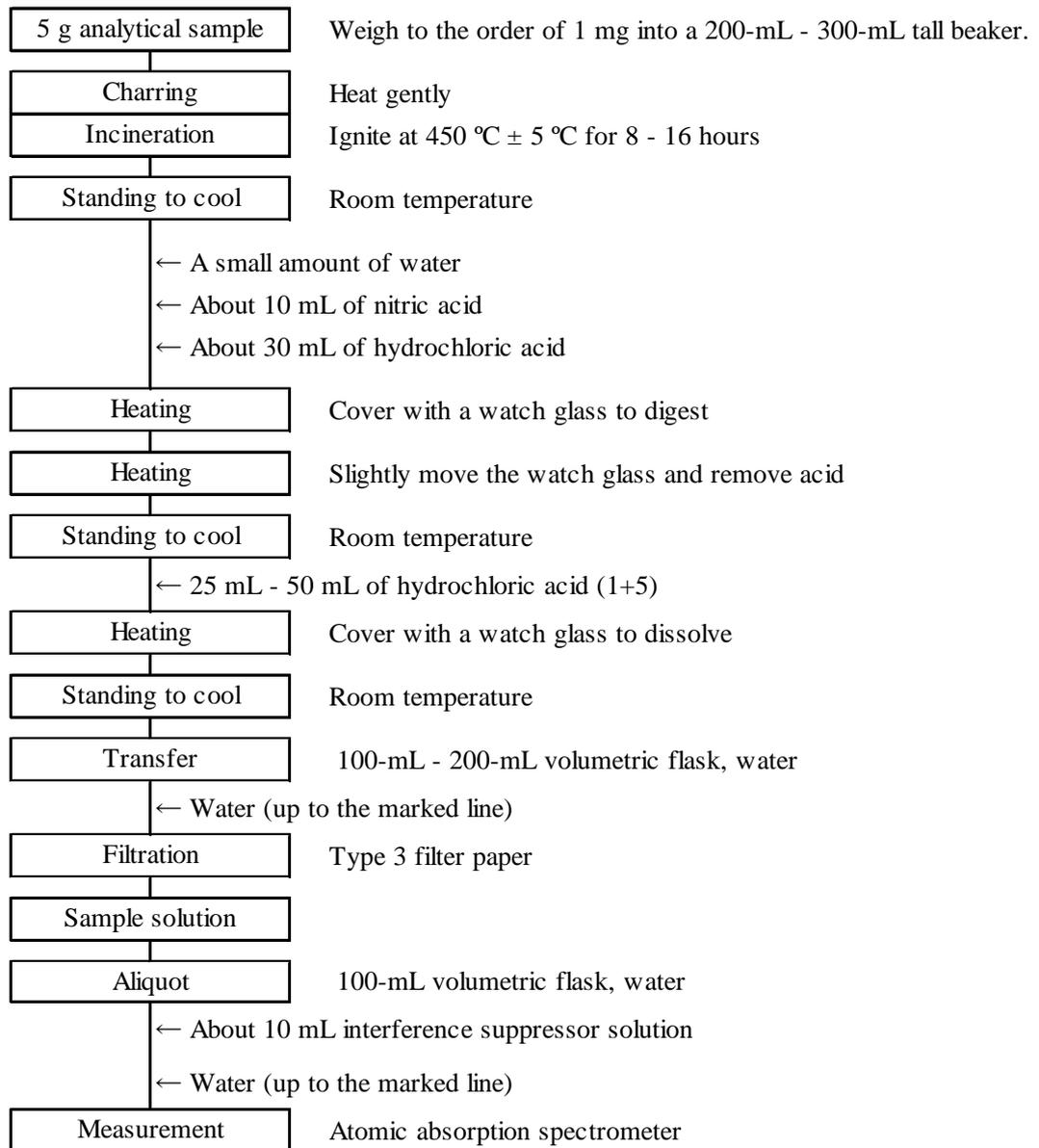
各試験室に設置しているホットプレート(又は砂浴)、恒温上下転倒式回転振り混ぜ機、上下転倒式回転振り混ぜ機及び原子吸光分析装置を使用した。

3) 試験方法

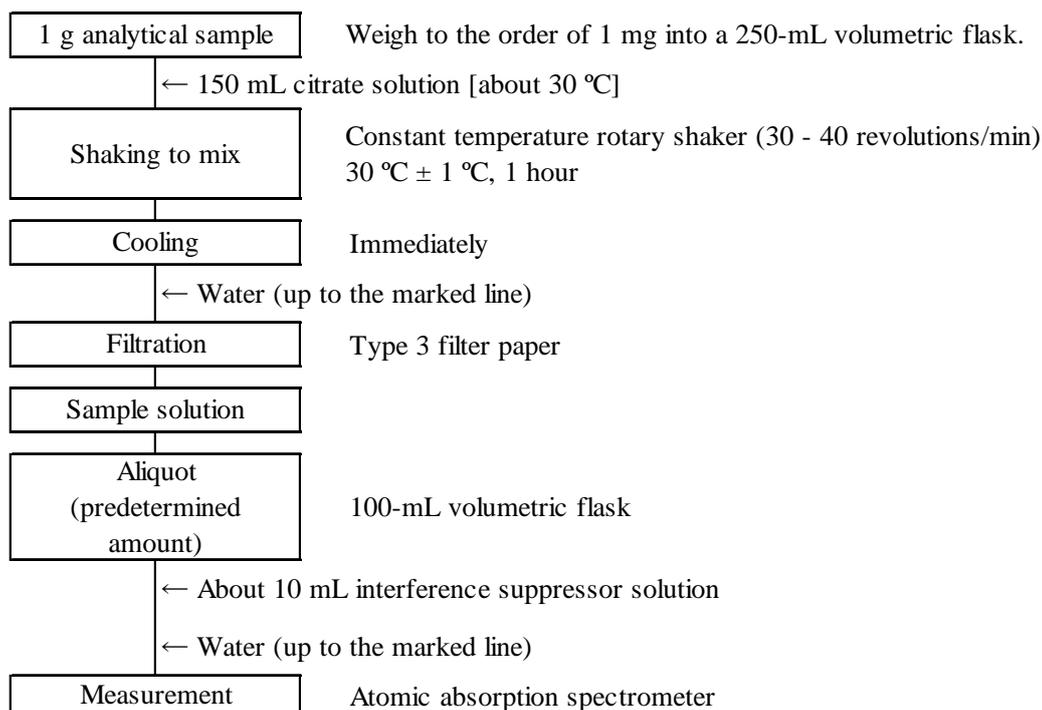
加里全量、く溶性加里、水溶性加里(煮沸抽出)及び水溶性加里(振とう抽出)の抽出及び測定は、Table 1 のとおり肥料等試験法⁷⁾の各試験方法を用いた。なお、参考のため、各試験方法のフローシート(Scheme1~4)を示した。

Table 1 Component and Measurement

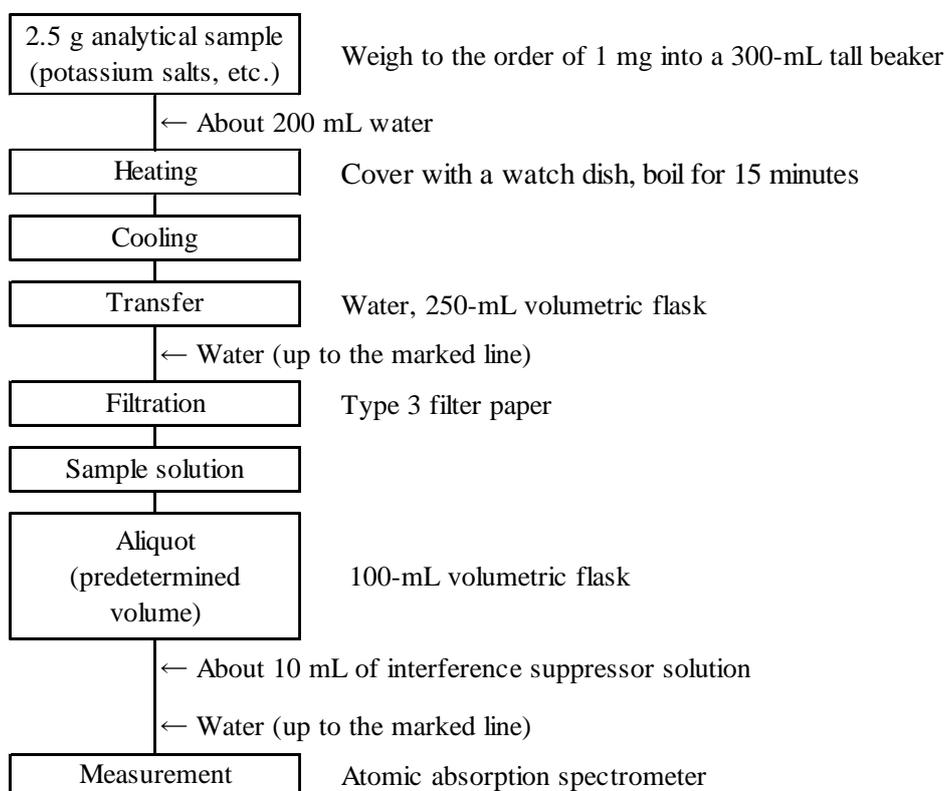
Test item number	Component	Testing Methods for Fertilizers (2018) Measurement	
1	Total potassium (T-K ₂ O)	4.3.1.a (4.1.2)	Flame atomic absorption spectrometry Incineration-aqua regia digestion
2	Citric acid-soluble potassium (C-K ₂ O)	4.3.2.a (4.1.1)	Flame atomic absorption spectrometry Constant-temperature rotary shaker:
3	Water-soluble potassium (W-K ₂ O)	4.3.3.a (4.1.1)	Flame atomic absorption spectrometry Heat on a hot plate to boil:
4	Water-soluble potassium (W-K ₂ O)	4.3.3.a (4.1.2.1)	Flame atomic absorption spectrometry Rotary shaker:



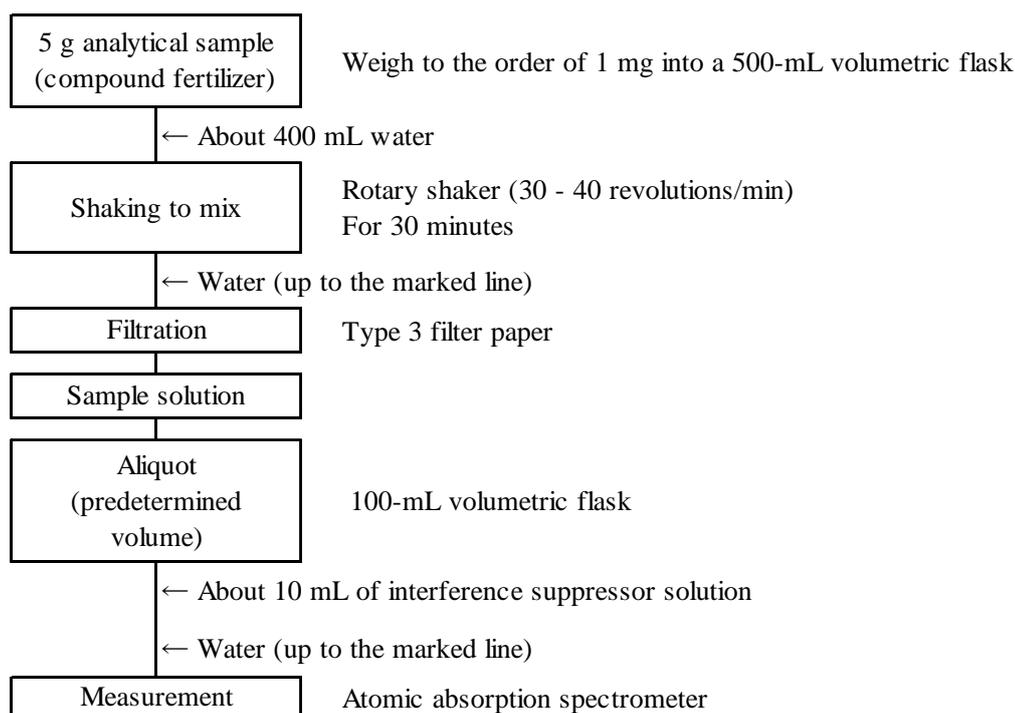
Scheme 1 Flow sheet for total potassium in fertilizers (Measurement procedure)



Scheme 2 Flow sheet for citric acid-soluble potassium in fertilizers (Measurement procedure)



Scheme 3 Flow sheet for water-soluble potassium in fertilizers



Scheme 4 Flow sheet for water-soluble potassium 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^{11, 12)}の均質性試験に従い, 1)により抽出された合計 200 試料について, 委託事業¹¹⁾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⁾により分析された。

5) 共同試験

試験に参加した 10 試験室及び各試験室で使用した原子吸光分析装置は以下のとおりであり, それぞれの試験室において 1)により配付された合計 40 試料を, 各試料に対応する 3)の試験方法に従って分析された。

- ・ 片倉コープアグリ株式会社 北海道支店(日立 ZA-3300)
- ・ サンアグロ株式会社 砂川工場(島津製作所 AA-6300)
- ・ 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(日立 Z-2310)
- ・ 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(日立 Z-2310)
- ・ 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(日立 Z-2310)
- ・ 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(日立 Z-2310)
- ・ 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(Thermo SOLAAR M5)
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部(島津製作所 AA-6800)
- ・ ホクレン肥料株式会社 北見工場(島津製作所 AA-7000)
- ・ ホクレン肥料株式会社 空知工場(島津製作所 AA-7000)

(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¹¹⁾の受託分析機関から報告された10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($CRSD_R$)及びそれらから算出(式 1)した推定室間再現標準偏差($\hat{\sigma}_R$)を 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¹²⁾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た. 次に, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル(1993)¹¹⁾の判定式(式 2)を用いて均質性の判定を行った. その結果, すべての成分において判定式(式 2)を満たしていたことから, 分析用試料は均質であることを確認した. なお, 参考のため, 式 3 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 $\hat{\sigma}_R$ と比較して十分に小さい値であった.

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

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 2)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_r^2 + s_{bb}^2} \quad \dots (式 3)$$

$\hat{\sigma}_R$: 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

Table 2 Harmogeneity test results of total potassium, citrate soluble potassium and water-soluble potassium

Component	Sample	No. of sample	\bar{x} ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	s_{bb} ^{d)} (%) ^{b)}	s_{b+r} ^{e)} (%) ^{b)}	$CRSD_R$ ^{f)} (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{g)} (%) ^{b)}	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{h)} (%) ^{b)}
Total potassium (T-K ₂ O)	Compound fertilizer 1	10	23.74	0.06	0.035	0.07	3	0.712	0.214
	Compound fertilizer 2	10	13.75	0.06	0.057	0.08	3	0.412	0.124
	Compound fertilizer 3	10	8.84	0.03	0.046	0.05	4	0.354	0.106
	Dried microbes	10	2.68	0.01	0.008	0.01	4	0.107	0.032
	Castor pomace	10	1.85	0.007	0.006	0.009	4	0.074	0.022
Citric acid-soluble potassium (C-K ₂ O)	Byproduct organic fertilizer 1	10	37.89	0.22	0.270	0.35	2.5	0.947	0.284
	Potassium silicate fertilizer	10	19.99	0.18	0.040	0.19	3	0.600	0.180
	Compound fertilizer 4	10	10.23	0.05	0.017	0.05	3	0.307	0.092
	Compound fertilizer 5	10	4.69	0.02	0.031	0.04	4	0.188	0.056
	Home garden-use mixed fertilizer 1	10	1.98	0.01	0.018	0.02	4	0.079	0.024
Water-soluble potassium -Heat on a hot plate:- (W-K ₂ O)	Potassium sulfate	10	47.60	0.15	0.000	0.15	2.5	1.190	0.357
	Byproduct organic fertilizer 1	10	35.15	0.19	0.000	0.19	2.5	0.879	0.264
	Potassium magnesium sulfate	10	21.72	0.07	0.069	0.10	3	0.651	0.195
	Compound fertilizer 6	10	3.53	0.02	0.009	0.02	4	0.141	0.042
	Home garden-use mixed fertilizer 1	10	1.75	0.005	0.012	0.01	4	0.070	0.021

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

b) Mass fraction

c) Standard deviation of repeatability

d) Standard deviation of sample-to-sample

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

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

g) The estimated standard deviation of reproducibility calculated based on $CRSD_R$ ^{g)}h) The value for the test : $s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R$

Table 2 Continue

Component	Sample	No. of sample	\bar{x} ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	s_{bb} ^{d)} (%) ^{b)}	s_{b+r} ^{e)} (%) ^{b)}	$CRSD_R$ ^{f)} (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{g)} (%) ^{b)}	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{h)} (%) ^{b)}
Water-soluble potassium -Rotary shaker:- (W-K ₂ O)	Compound fertilizer 7	10	25.08	0.09	0.115	0.15	2.5	0.627	0.188
	Compound fertilizer 8	10	19.99	0.08	0.093	0.12	3	0.600	0.180
	Compound fertilizer 9	10	14.82	0.05	0.066	0.08	3	0.445	0.133
	Compound fertilizer 10	10	4.33	0.03	0.000	0.03	4	0.173	0.052
	Home garden-use mixed fertilizer 1	10	1.69	0.009	0.006	0.01	4	0.068	0.020

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, 3-2, 3-3 及び 3-4 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^{13, 14)}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、加里全量については、前処理操作失敗により併行試験不成立となった 1 試験室の 1 試料を除き検定を実施した。その結果、10 試験室の試験成績のうち、加里全量については 5 種類の試料のうち、2 種類の試料で各 1 試験室の報告値が、く溶性加里については 5 種類の肥料のうち、1 種類の試料で 1 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。Grubbs の検定により外れ値と判定される結果はなかった。

Table 3-1 Individual result of total potassium

(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Compound fertilizer 1		Compound fertilizer 2		Compound fertilizer 3		Dried microbes		Castor pomace	
A	25.40	25.16	14.23	14.03	9.11	9.12	2.68	2.67	1.81	1.80
B	25.04	25.15	14.21	13.98	8.91	8.89	2.63	2.63	1.84	1.81
C	25.00	24.96	14.00	13.99	9.00	8.97	2.66	2.64	1.83	1.82
D	25.31	25.24	14.08	14.25	8.96	9.02	2.72	2.69	1.86	1.85
E	25.67	25.02	13.90	13.76	9.37	9.03	2.67	2.68	1.83	1.82
F	25.37	25.62	13.20 ^{c)}	13.89 ^{c)}	9.14	9.10	2.65	2.74	1.80	1.84
G	25.34 ^{d)}	- ^{d)}	14.37	14.56	9.28	9.22	2.62	2.68	1.82	1.87
H	25.16	25.15	14.13	14.22	9.23	9.12	2.66	2.71	2.67 ^{c)}	1.83 ^{c)}
I	24.69	25.03	13.78	14.02	8.69	8.95	2.61	2.63	1.78	1.77
J	24.52	24.49	13.67	13.66	8.47	8.50	2.67	2.58	1.79	1.80

a) Mass fraction

b) Laboratory identification

c) Outlier of Cochran test

d) Outlier of test failure

Table 3-2 Individual result of citric acid-soluble potassium

(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Byproduct organic fertilizer 1		Potassium silicate fertilizer		Compound fertilizer 4		Compound fertilizer 5		Home garden-use mixed fertilizer 1	
A	38.23	38.13	20.72	20.59	10.68	10.64	4.75	4.78	1.94	1.94
B	37.65	38.52	20.47	20.37	10.49	10.50	4.75	4.75	1.95	1.93
C	37.84	38.21	20.24	20.10	10.43	10.46	4.69	4.70	1.92	1.93
D	39.67	39.89	20.70	20.70	10.70	10.73	5.07	5.07	2.01	2.03
E	36.56	38.19	20.65	20.53	10.98	11.21	4.84	4.84	1.92	1.90
F	37.87	35.56	20.02	20.09	10.26	10.17	4.72	4.68	1.89 ^{c)}	2.51 ^{c)}
G	39.04	38.09	20.46	20.66	10.44	10.50	4.69	4.63	1.95	1.96
H	36.95	37.88	19.96	20.20	11.17	10.60	4.80	4.83	1.98	1.97
I	38.72	37.71	20.25	20.12	10.47	10.32	4.84	4.85	1.94	1.91
J	37.39	37.43	19.97	19.64	10.73	10.41	4.69	4.73	1.94	1.94

a) ~d) Refer to the footnote of Table 3-1

Table 3-3 Individual result of water-soluble potassium (Heat on a hot plate to boil:)

(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Potassium sulfate		Byproduct organic fertilizer 1		Potassium magnesium sulfate		Compound fertilizer 6		Home garden-use mixed fertilizer 1	
A	51.15	51.35	36.50	36.57	22.60	22.88	3.50	3.47	1.73	1.74
B	51.97	51.79	36.13	36.10	22.17	22.23	3.48	3.49	1.73	1.74
C	51.04	50.99	36.12	36.24	22.12	22.37	3.47	3.45	1.73	1.75
D	51.18	51.44	36.92	36.34	22.95	22.72	3.48	3.50	1.74	1.77
E	50.70	50.59	35.81	36.34	21.87	21.89	3.41	3.42	1.68	1.67
F	51.24	52.10	36.71	36.50	23.41	22.64	3.46	3.48	1.71	1.75
G	51.82	51.49	36.68	36.47	22.80	22.64	3.40	3.40	1.73	1.75
H	49.76	49.84	34.95	35.00	21.90	22.56	3.40	3.39	1.69	1.70
I	51.36	51.45	36.96	36.67	22.69	22.31	3.52	3.52	1.78	1.77
J	51.48	51.13	35.74	35.74	21.44	21.26	3.52	3.55	1.78	1.72

a) ~d) Refer to the footnote of Table 3-1

Table 3-4 Individual result of water-soluble potassium (Rotary shaker:)

(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Compound fertilizer 7		Compound fertilizer 8		Compound fertilizer 9		Compound fertilizer 10		Home garden-use mixed fertilizer 1	
A	26.31	26.49	20.53	20.53	15.27	15.31	4.39	4.43	1.69	1.70
B	26.66	26.49	20.63	20.53	14.98	14.98	4.44	4.40	1.70	1.70
C	26.63	26.72	20.60	20.69	15.10	15.04	4.40	4.40	1.69	1.70
D	27.02	26.94	21.03	20.93	15.55	15.36	4.55	4.54	1.76	1.76
E	26.84	26.97	21.08	21.06	15.43	15.52	4.49	4.48	1.73	1.72
F	27.30	26.92	21.03	21.20	15.29	15.50	4.57	4.46	1.67	1.68
G	26.49	26.43	20.79	20.50	15.17	15.40	4.36	4.38	1.71	1.69
H	26.42	26.74	21.10	20.93	15.40	15.59	4.43	4.47	1.75	1.71
I	26.91	26.64	20.84	20.98	15.34	15.37	4.63	4.71	1.74	1.76
J	26.86	26.70	20.67	20.19	14.56	14.79	4.42	4.45	1.67	1.65

a) ~d) Refer to the footnote of Table 3-1

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^{13, 14)}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.

加里全量の平均値は1.82% ~25.11%であり, その併行標準偏差(s_r)は0.02%~0.19%, 併行相対標準偏差(RSD_r)は0.8%~1.3%, 室間再現標準偏差(s_R)は0.03%~0.33%, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は1.3%~2.6%であった. く溶性加里の平均値は1.95% ~37.98%であり, その併行標準偏差(s_r)は0.01%~0.77%, 併行相対標準偏差(RSD_r)は0.4%~2.0%, 室間再現標準偏差(s_R)は0.03%~1.00%, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は1.6%~2.6%であった. 水溶性加里(煮沸抽出)の平均値は1.73% ~51.19%であり, その併行標準偏差(s_r)は0.01%~0.27%, 併行相対標準偏差(RSD_r)は0.4%~1.2%, 室間再現標準偏差(s_R)は0.03%~0.63%, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は1.2%~2.4%であった. 水溶性加里(振とう抽出)の平均値は1.71% ~26.72%であり, その併行標準偏差(s_r)は0.01%~0.15%, 併行相対標準偏差(RSD_r)は0.6%~0.8%, 室間再現標準偏差(s_R)は0.03%~0.27%, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は0.9%~2.1%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⁾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ることから, 本法の精度は同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 total potassium, citric acid-soluble potassium and water-soluble potassium

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)}	(%)	(%)
Total potassium (T-K ₂ O)	Compound fertilizer 1	9 (1)	25.11	0.19	0.8	1	0.33	1.3	2.5
	Compound fertilizer 2	9 (1)	14.05	0.12	0.8	1.5	0.25	1.8	3
	Compound fertilizer 3	10	9.00	0.11	1.2	2	0.24	2.6	4
	Dried microbes	10	2.66	0.03	1.3	2	0.04	1.5	4
	Castor pomace	9 (1)	1.82	0.02	1.0	2	0.03	1.5	4
Citric acid-soluble potassium (C-K ₂ O)	Byproduct organic fertilizer 1	10	37.98	0.77	2.0	1	1.00	2.6	2.5
	Potassium silicate fertilizer	10	20.32	0.12	0.6	1.5	0.32	1.6	3
	Compound fertilizer 4	10	10.59	0.16	1.5	1.5	0.28	2.6	3
	Compound fertilizer 5	10	4.79	0.02	0.4	2	0.12	2.5	4
	Home garden-use mixed fertilizer 1	9 (1)	1.95	0.01	0.6	2	0.03	1.7	4
Water-soluble potassium -Heat on a hot plate:- (W-K ₂ O)	Potassium sulfate	10	51.19	0.24	0.5	1	0.63	1.2	2.5
	Byproduct organic fertilizer 1	10	36.22	0.20	0.6	1	0.57	1.6	2.5
	Potassium magnesium sulfate	10	22.37	0.27	1.2	1.5	0.54	2.4	3
	Compound fertilizer 6	10	3.47	0.01	0.4	2	0.05	1.4	4
	Home garden-use mixed fertilizer 1	10	1.73	0.02	1.1	2	0.03	1.8	4

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

b) Grand mean value of the results of duplicate sample which were reported from laboratories retained after outlier and test failure 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

Table 4 Continue

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)}	(%)	(%)
Water-soluble potassium -Rotary shaker:- (W-K ₂ O)	Compound fertilizer 7	10	26.72	0.15	0.6	1	0.25	0.9	2.5
	Compound fertilizer 8	10	20.79	0.14	0.7	1.5	0.27	1.3	3
	Compound fertilizer 9	10	15.25	0.11	0.7	1.5	0.27	1.8	3
	Compound fertilizer 10	10	4.47	0.04	0.8	2	0.09	2.1	4
	Home garden-use mixed fertilizer 1	10	1.71	0.01	0.7	2	0.03	1.9	4

4. まとめ

肥料等試験法⁷⁾に記載された加里全量, <溶性加里, 水溶性加里(煮沸抽出)及び水溶性加里(振とう抽出)試験法について, 10 試験室で各 5 種類(10 点)の試料を用い共同試験を実施し, 試験室間の再現精度を調査した。

その結果, 加里全量の平均値 1.82 %~25.11 %の範囲において, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 1.3 %~2.6 %, <溶性加里の平均値 1.95 %~37.98 %の範囲において, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 1.6 %~2.6 %, 水溶性加里(煮沸抽出)の平均値 1.73 %~51.19 %の範囲において, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 1.2 %~2.4 %及び水溶性加里(振とう抽出)の平均値 1.71 %~26.72 %の範囲において, 室間再現相対標準偏差(RSD_R)は 0.9 %~2.1 %であった。これらの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った。

今回検討した試験項目の性能は, 既に単一試験室による試験法の妥当性等の確認(MLV, SLV)がされており, 肥料等試験法⁷⁾の性能規準の Type C(MLV 及び SLV)又は Type D(SLV)として評価されているが, 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)された方法として, 肥料等試験法⁷⁾の性能規準の Type B(SLV 及び HCV)として評価することが可能となった。

5. 謝辞

共同試験の実施にご協力頂いた, 北海道肥料分析協議会及び共同試験へ参加頂いた, 片倉コープアグリ株式会社 北海道支店, サンアグロ株式会社 砂川工場, ホクレン肥料株式会社 北見工場並びにホクレン肥料株式会社 空知工場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/shikenho_2018.pdf>
- 8) 加藤公栄, 義本将之, 白井裕治:汚泥肥料, たい肥及び有機質肥料中の主要な成分等の試験法の系統化, 肥料研究報告, 3, 107~116
- 9) 木村康晴, 顯谷久典:加里試験法の性能調査, 肥料研究報告, 5, 190~200
- 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(肥料中の加里成分の分析)(2018)
- 11) Thompson, Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **65** (9), 2123~2144 (1993)
- 12) 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)
- 13) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2) , 331~343 (1995)
- 14) 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 Methods for Potassium in Fertilizer: Harmonized Collaborative Validation

Hisanori ARAYA¹ and Kimie KATO¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) , Sapporo Regional Center

It has been verified performance that determination of total potassium (T-K₂O), citric acid-soluble potassium (C-K₂O) and water-soluble potassium (W-K₂O) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. We conducted a collaborative study by means of international harmonized protocol to evaluate for determination of total potassium, citric acid-soluble potassium and water-soluble potassium in fertilizer by atomic absorption spectrometry. Five samples passed the test for homogeneity, respectively, were sent to 10 collaborators every method. 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 total potassium were reported 1.82 %~25.11 % as a mass fraction and 1.3 %~2.6 %, respectively. Those of determination of citric acid-soluble potassium were reported 1.95 %~37.98 % as a mass fraction and 1.6 %~2.6 %, respectively. Those of determination of water-soluble potassium ((4.1.1) heat on a hot plate to boil) were reported 1.73 %~51.19 % as a mass fraction and 1.2 %~2.4 %, respectively. Those of determination of water-soluble potassium ((4.1.2.1) rotary shaker) were reported 1.71 %~26.72 % as a mass fraction and 0.9 %~2.1 %, respectively. These results indicated that each method has acceptable precision for determination of total potassium or citric acid-soluble potassium or water-soluble potassium in these concentration ranges. In conclusion, those results demonstrated these methods were validated for the determination of total potassium, citric acid-soluble potassium and water-soluble potassium.

Key words total potassium, citric acid-soluble potassium, water-soluble potassium,
Testing Methods for Fertilizers, harmonized collaborative validation

(Research Report of Fertilizer, **12**, 109~122, 2019)

9 汚泥肥料の連用によるカドミウム等の土壌への

蓄積, 作物への吸収試験(継続)

青山恵介¹, 松尾信吾², 小塚健志², 村山和晃², 八木寿治³

齋藤晴文², 佐久間健太³, 阿部文浩²

キーワード 汚泥肥料, 連用試験, カドミウム

1. はじめに

肥料の公定規格¹⁾では汚泥肥料中の含有を許されるカドミウムの最大量(以下,「含有許容値」という.)は 0.0005 %と定められており, 汚泥肥料はこの範囲内において流通, 施用されている. 一方, 汚泥肥料の施用により土壌に負荷された重金属が蓄積し, 更に長期に施用すると土壌の保持力を超えて農作物へ移行し, 人畜に有害な農作物が生産されることが懸念されている. 2009年3月に農林水産省から発表された「汚泥肥料の規制のあり方に関する懇談会報告書」²⁾において, 「3 将来実施することが必要な調査研究課題」として, カドミウム含有許容値の科学的知見を集積するため, 「汚泥肥料の連用により通常に比べカドミウムの蓄積が進んでいる土壌を活用し, カドミウムを吸収しやすい農作物を栽培し, 植物への吸収の有無, 程度を調べる必要がある」と記載された. このことから, 肥料の有効性及び安全の確保に必要な課題に関する調査研究として, 汚泥肥料の連用施用試験を実施し, カドミウムの土壌への蓄積及び作物体の吸収量を確認する.

2009年夏作³⁾から2017⁴⁾年夏作まで調査した結果, カドミウム濃度が比較的高い汚泥肥料を連用した試験区(汚泥肥料施用区)においては土壌中の全カドミウム濃度は上昇傾向を示したが, 作物体については, 今のところカドミウム濃度の上昇傾向は認められない. これは, 汚泥肥料中のカドミウムは主に 0.1 mol/L 塩酸可溶の形態で存在しているが, 土壌に施肥した後は不溶化されることにより, 作物体が吸収しにくい状態で存在していることによると考えられた. 今後も不溶化が進めば作物体へのカドミウム濃度に影響しないと考えられるが, 不溶化が臨界点に達した場合はその影響が懸念される. そのため, 土壌が保持できる塩酸不溶カドミウムの最大量(臨界点)を把握することが重要と考える.

よって, 2017年冬作及び2018年夏作についても引き続き調査を行うとともに, 臨界点を調査するために実験を行ったのでその概要を報告する.

2. 材料及び方法

(1) 供試肥料等

供試肥料は市販されているし尿汚泥肥料を使用した. 成分分析結果は Table 1 のとおり. 標準区に施肥する肥料及び汚泥肥料施用区で補正肥料として特級試薬の尿素, リン酸一アンモニウム及び塩化カリウムを使用した. 汚泥肥料及び補正肥料の各成分の分析は肥料等試験法⁵⁾によった(補正肥料の成分量

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

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部(現)名古屋センター

は Table 2 に示した).

Table 1 Properties of sludge fertilizer

Item	Unit	Content	Item	Unit	Content
Total nitrogen	% ^{a)}	3.3	Total copper	mg /kg	546
Total phosphorus (P ₂ O ₅)	%	5.2	Total zinc	mg /kg	1760
Total potassium (K ₂ O)	%	0.4	Carbon to nitrogen ratio	—	7.1
Total calcium (CaO)	%	2.1	Total cadmium ^{b)}	mg /kg	3.6 ^{c)}
Organic carbon	%	23.6	Acid-solubility-cadmium ^{d)}	mg /kg	3.2
Moisture	%	26.1			

a) Mass fraction

b) 4.9 mg /kg in the dry matter

c) 4.9 mg/kg in the dry matter

d) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid

Table 2 Properties of reagents

Item	Unit	Urea	Ammonium dihydrogen phosphate	Potassium chloride
Total nitrogen	% ^{a)}	46.2	12.0	—
Total phosphorus (P ₂ O ₅)	%	—	61.5	—
Total potassium (K ₂ O)	%	—	—	63.1

a) Mass fraction

(2) 供試土壌

本試験は当センター岩槻圃場(埼玉県さいたま市)で実施した。土壌の種類は黒ボク土であり、土性は軽しょく土である。2009年夏作から2018年夏作までの土壌の理化学性(pH, EC, CEC, TN, TC, 有効態りん酸, 交換性加里, 交換性石灰及び交換性苦土)を Fig.1 に示す。

pH は、土壌中の Cd 蓄積量に与える影響が大きいため、pH6~pH7 になるように、試験開始から3年目、5年目、6年目及び7年目に炭酸苦土石灰及び消石灰を用いて pH 調整を行った。7年目の冬作以降は pH6.4 程度に安定している。

EC は、試験開始以降、0.1 mS/cm~0.2 mS/cm の範囲で上昇傾向を示していたことから、6年目の夏作以降、窒素肥料として使用していた硫酸アンモニウムを尿素に変更した結果、上昇傾向から転じて0.1前後で安定した推移を示している。

有効態りん酸は、地力増進基本指針において黒ボク土における有効態りん酸含有量の目標値が乾土 100 g 当たり 10 mg 以上 100 mg 以下と定められているのに対して、試験開始時から 10 mg 以下で推移していたことから、りん酸肥料の施肥量を調整したところ、8年目の冬作以降は 10 mg 以上を推移している。

他の指標については、その指標を調整することを目的とした施肥設計の調整は行わなかった。

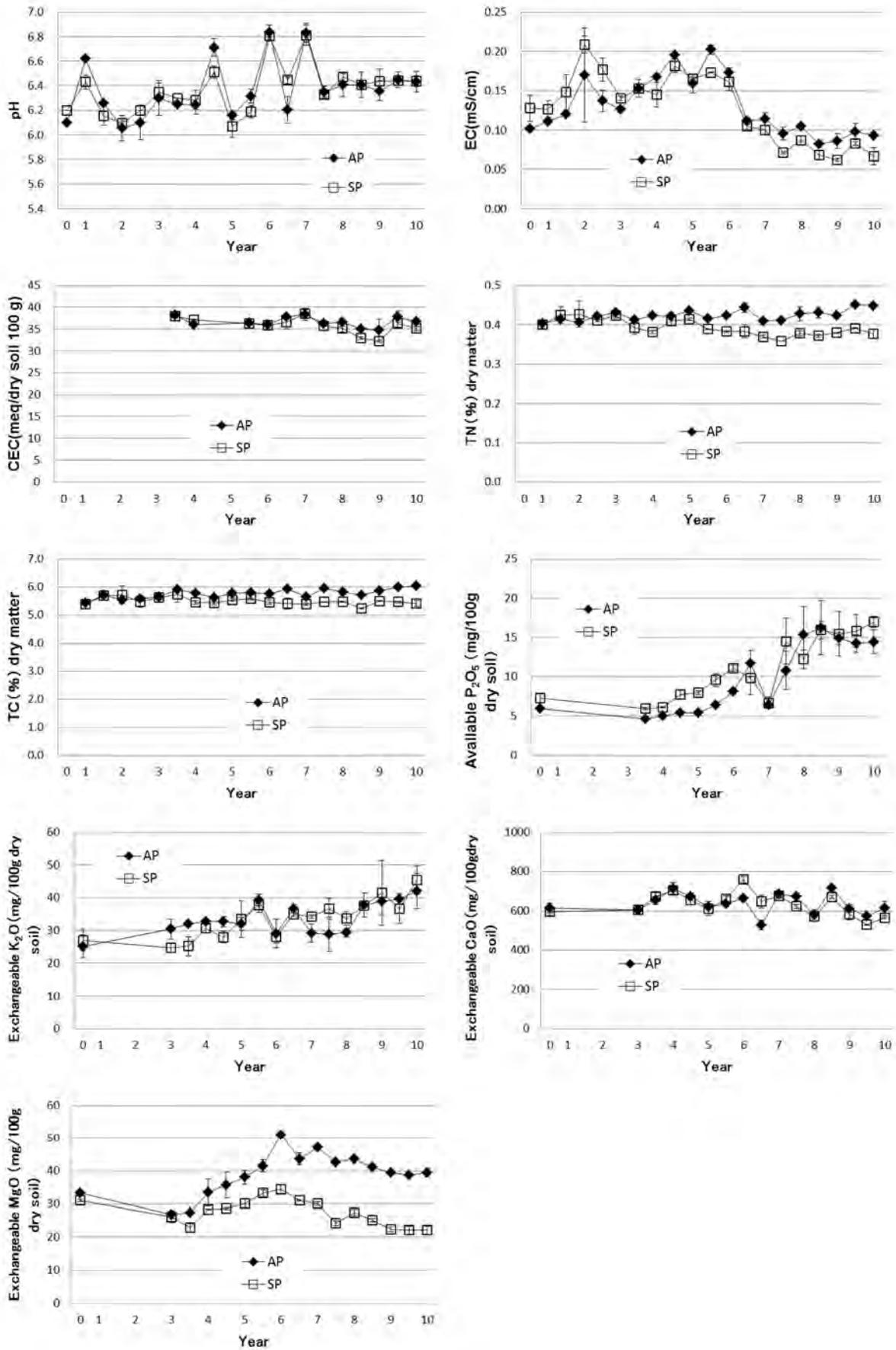


Fig.1 Transition of the characteristics of the soil

(3) 試験区の構成

試験区は Fig.2 のとおり 1 試験区の面積を 4 m^2 (縦 $2 \text{ m} \times$ 横 2 m) とし、汚泥肥料施用区及び標準区それぞれ 2 反復の計 4 試験区を配置した。

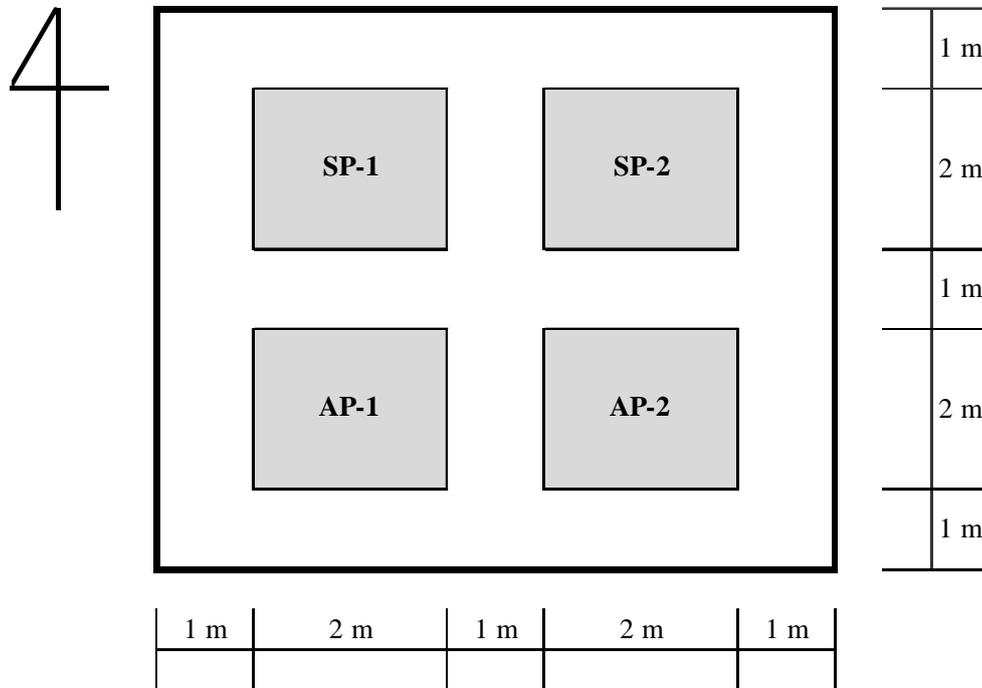


Fig.2 Plots plan of the test field

(4) 施肥設計

2017 年冬作ホウレンソウ及び 2018 年夏作ニンジン⁶⁾の施肥設計を Table 3-1 及び Table 3-2 に示した。施肥設計は、主要農作物施肥基準(埼玉県)⁶⁾を参考に設計した。

汚泥肥料は、汚泥肥料中の重金属の農地への蓄積を抑制するために、施用量の上限の目安を年間 $500 \sim 1000 \text{ kg}/10 \text{ a}$ としている^{7~9)}自治体があり、一般的に 1 作当たり $500 \text{ kg}/10 \text{ a}$ 程度施用されている¹⁰⁾。また、高分子凝集剤を使用した汚泥肥料を連用した場合、土壌の pH が低下する¹¹⁾。よって、本試験においても 1 作あたりの汚泥肥料の施用量を $500 \text{ kg}/\text{a}$ とした。汚泥肥料の窒素の無機化率は、前作までの収量を考慮して冬作は 20%，夏作は 50%として窒素の分量を算出し、不足分については尿素を用いて補正した。

りん酸については、地力増進基本指針¹²⁾における有効態りん酸の改善目標下限値($10 \text{ mg}/100\text{g}$ 乾土)を満たすように、前作と同様に主要農作物施肥基準よりも多めに設計した。

加里については、主要農作物施肥基準のとおり設計した。

Table 3-1 The fertilization amount for spinach cultivation in winter 2017

	Components (g/4 m ²)					
	Amounts	N	20 % (mineralization rate of organic nitrogen)	P ₂ O ₅	K ₂ O	Cd
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)
Standard fertilization of spinach		80	—	88	72	—
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>						
Sludge fertilizer	2000	66	(13)	104	7.2	7.3
Urea	145	67	67	—	—	—
Potassium chloride	103	—	—	—	65	—
Total		133	(80)	104	72	7.3
<Standard plot (SP)>						
Urea	129	59	—	—	—	—
Ammonium dihydrogen phosphate	171	21	—	104	—	—
Potassium chloride	114	—	—	—	72	—
Total		80	—	104	72	—

Table 3-2 The fertilization amount for carrot cultivation in summer 2018

	Components (g/4 m ²)					
	Amounts	N	50 % (mineralization rate of organic nitrogen)	P ₂ O ₅	K ₂ O	Cd
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)
Standard fertilization of carrot		76	—	84	64	—
<Sludge-fertilizer-application plot (AP)>						
Sludge fertilizer	2000	66	(33)	104	7	7.3
Urea	93	43	43	—	—	—
Potassium chloride	90	—	—	—	57	—
Total		109	76	104	64	7.3
<Standard plot (SP)>						
Urea	120	55	—	—	—	—
Ammonium dihydrogen phosphate	171	21	—	104	—	—
Potassium chloride	101	—	—	—	64	—
Total		76	—	104	64	—

(5) 栽培方法

栽培の概要は Table 4 のとおり。施肥は、各試験区の表層土約 12 kg を袋に取り、Table 3-1 及び Table 3-2 の施肥設計にしたがって肥料を加えて混合し、各試験区表層に均等に散布した。なお、各試験区の周辺 1 m の部分(ガードプランツ)には、標準区の施肥設計と同じ割合で施肥した。その後、耕耘機を用いて深さ約 15 cm まで耕耘した。

農薬は播種する前に行った。ヨトウムシ等の害虫防除を目的としたダイアジノン粒剤を散布し、深さ約 15 cm まで耕耘して表面を平らにならした後、試験区内を 9 条(条間約 20 cm)間隔でシーダーテープ種子を用いて播種した。

播種から収穫までの期間、ハウレンソウについては異常が認められなかったが、ニンジンについては 9 月 30 日に通過した台風の影響により、茎が折れ曲がり収穫時には葉がほとんどなくなる事態が発生した。

Table 4 Cultivation summary

	Spinach	Carrot
Fertilization	November 10, 2017	June 15 2018
Pesticide application	November 16 (Diazinon)	June 19 (Diazinon)
Seeding	November 17	June 19
Species	New Anna R4	Koigokoro
Thinning (first)	December 8	August 1
Thinning (second)	December 22	August 15
Harvest	March 23, 2018	October 10
Cultivation period	133 days	117 days

(6) 作物体の前処理

ホウレンソウを収穫した後、直ちに作物体の重量を試験区毎に測定した。さらに、分析用試料として試験区中央の 1 m² 分全てを、水道水、イオン交換水の順に洗浄し、ガラス室で自然乾燥した後に通風乾燥器にて 65 °C で一昼夜乾燥した。

ニンジンについては、セラミック製包丁を用いて葉部と根部に切断し、それぞれの重量を試験区毎に測定した。さらに分析用試料として試験区中央の 1 m² 分全てを、水道水、イオン交換水の順に洗浄し、葉部はガラス室で自然乾燥した後に通風乾燥器にて 65 °C で一昼夜乾燥した。根部はセラミック製包丁を用いて細かく切断した後、通風乾燥器にて 65 °C で一昼夜乾燥した。

乾燥した試料を目開き 500 μm のふるいを通すまで粉砕機 (ZM200:Retsch ローター回転数 6000 rpm) で粉砕し分析試料とした。

(7) 作物体のカドミウム分析

分析試料 0.5 g に硝酸 5 mL 及び過酸化水素水 2 mL を加え、マイクロ波分解装置 (Multiwave 3000:Perkin Elmer) で分解¹³⁾したものを 50 mL に定容し、ICP 質量分析装置 (UltiMate 3000 :Thermo Fisher Scientific) を用いて測定した。

(8) 跡地土壌の分析

収穫後、跡地土壌を対角線採土法¹⁴⁾により採取した。各試験区の作物体の分析用試料を収穫した場所と同じ試験区中央 1 m² の四隅及び中央の計 5 か所より、採土器 (内径 50 mm × 長さ 250 mm) を用いて表層から約 15 cm まで採取、混合した。通風乾燥器を用いて 35 °C で一昼夜乾燥後、目開き 2 mm のふるいを通したものを分析用試料とした。

土壌中の全カドミウムは、分析試料 0.5 g に、硝酸約 10 mL、過酸化水素水 3 mL、及びフッ化水素酸 5 mL を加え、マイクロ波分解装置 (Multiwave 3000:Perkin Elmer) により分解し試料溶液とした。測定は ICP 質量分析装置 (UltiMate 3000 :Thermo Fisher Scientific) により行った。

塩酸可溶カドミウムは、土壌 10 g に対し 0.1 mol/L 塩酸 50 mL を加え、約 30 °C に保ちながら 1 時間振とうして抽出した試料液について ICP 質量分析装置 (UltiMate 3000 :Thermo Fisher Scientific) を用いて測定した¹⁵⁾。

(9) カドミウム塩酸不溶化の臨界点の推定

ガードプランツ区から採取した土壌を風乾した後, 目開き 2 mm のふるいを通した土壌を用いて, 乾土 50 g あたり汚泥肥料 1 g~50 g(1 g は 3 年分の施肥量に相当)を混合して 100 mL 容チューブに入れ, 最大容水量の 60 %相当量の水を加えてインキュベーターで 30 °C, 77 日間静置した. その間, 水分が減少した場合は, 適宜水を加えた. 風乾した後, 全カドミウム及び塩酸可溶カドミウムを分析した. また, 全カドミウム濃度から塩酸可溶カドミウム濃度を差し引いて, 塩酸不溶カドミウム濃度を算出した.

3. 結果及び考察

1) 作物体の収量, カドミウム濃度及びカドミウム吸収量

(1) 冬作ホウレンソウ

2017 年冬作ホウレンソウの結果を Table 5 に示す.

収量は, 汚泥肥料区で 10.7 kg, 標準区で 14.1 kg であり, 標準区に対する汚泥肥料区の収量指数は 76 であった. カドミウム濃度は, 汚泥肥料区で 0.047 mg/kg, 標準区で 0.028 mg/kg であり, 汚泥肥料区の方が有意に高い結果であった ($p=0.015$). カドミウム吸収量は収量とカドミウム濃度を乗じて算出した結果, 汚泥肥料区は 0.51 mg, 標準区は 0.38 mg であった.

2009 年から 2017 年(1 年目から 9 年目)の冬作の収量の推移を Fig.3, 作物体のカドミウム濃度及びカドミウム吸収量の推移を Fig.4 に示す. 2016 年は汚泥肥料区と標準区の収量は同程度であったが, 2017 年は標準区の収量が増加したことから, 収量指数はやや低い 76 であった. 作物体のカドミウム濃度は Codex 基準値¹⁶⁾ (0.2 mg/kg) に対して低い濃度で推移しており, 汚泥肥料の連用によるカドミウム濃度の上昇は今のところ認められない.

Table 5 Cd concentration and quantity of Cd uptake in spinach (in winter 2017)

Test crops	Test plot	Part	Yield		Yield index ^{b)}	Cd concentration		Cd uptake	
			Mean ^{a)} (kg)	σ (kg)		Mean ^{a)} (mg/kg)	σ (mg/kg)	Mean ^{a)} (mg)	σ (mg)
Spinach	AP ^{c)}	Edible part	10.7	0.9	76	0.047	0.003	0.51	0.01
	SP ^{d)}	Edible part	14.1	1.2	100	0.028	0.001	0.38	0.06

a) Mean ($n=2$)

b) Yield of standard plot was indexed as 100

c) Sludge-fertilizer-application plot

d) Standard plot

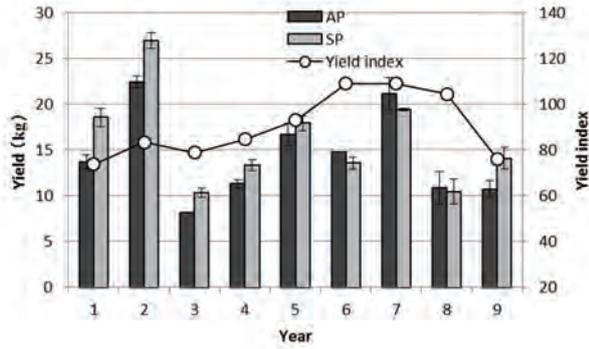


Fig.3 The yield of the spinach in winter
(Note: 2nd year (qinggengcai))

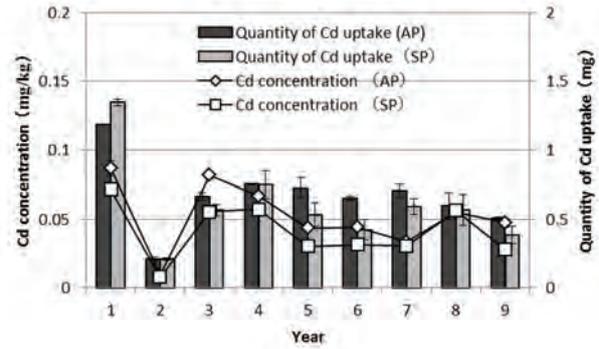


Fig.4 Cd concentration and quantity of Cd uptake in spinach (Note: 2nd year (qinggengcai))

(2) 夏作ニンジン

2018年夏作ニンジンの結果を Table 6 に示す。

収量は、汚泥肥料区で 13.1 kg (葉部 5.0 kg, 根部 8.1 kg), 標準区で 10.9 kg (葉部 3.6 kg, 根部 7.3 kg) であり, 収量指数は 120 (葉部 139, 根部 111) であった。カドミウム濃度は、汚泥肥料区で葉部 0.032 mg/kg, 根部 0.021 mg/kg, 標準区で葉部 0.026 mg/kg, 根部 0.014 mg/kg であった。カドミウム吸収量は収量とカドミウム濃度を乗じて算出した結果, 汚泥肥料区は 0.33 mg (葉部 0.16 mg, 根部 0.17 mg), 標準区は 0.20 mg (葉部 0.10 mg, 根部 0.10 mg) であった。葉部は有意差が認められなかった ($p=0.26$) が, 根部については有意差が認められた ($p=0.04$)。

2009年から2018年(1年目から10年目)の夏作の収量の推移を Fig.5, 作物体のカドミウム濃度及びカドミウム吸収量の推移を Fig.6 に示す。2018年は台風の影響により, 葉に被害が生じたことから根部の生育もやや悪く, 全体として2017年よりも収量が少ない結果となった。ニンジンのカドミウム濃度は Codex 基準値¹⁶⁾ (0.1 mg/kg) に対して低い濃度で推移しており, 汚泥肥料の連用によるカドミウム濃度の上昇は今のところ認められない。

Table 6 Cd concentration and quantity of Cd uptake (carrot in summer 2018)

Test crops	Test plot	Part	Yield		Yield index ^{b)}	Cd concentration		Cd uptake	
			Mean ^{a)} (kg)	σ (kg)		Mean ^{a)} (mg/kg)	σ (mg/kg)	Mean ^{a)} (mg)	σ (mg)
Carrot	AP ^{c)}	Leaf	5.0	0.8	139	0.032	0.005	0.16	0.00
		Root	8.1	0.1	111	0.021	0.002	0.17	0.02
		Total	13.1	0.7	120	—	—	0.33	0.02
	SP ^{d)}	Leaf	3.6	0.4	100	0.026	0.003	0.10	0.00
		Root	7.3	1.6	100	0.014	0.001	0.10	0.02
		Total	10.9	1.9	100	—	—	0.20	0.02

a) Mean ($n=2$)

b) Yield of standard plot was indexed as 100

c) Sludge-fertilizer-application plot

d) Standard plot

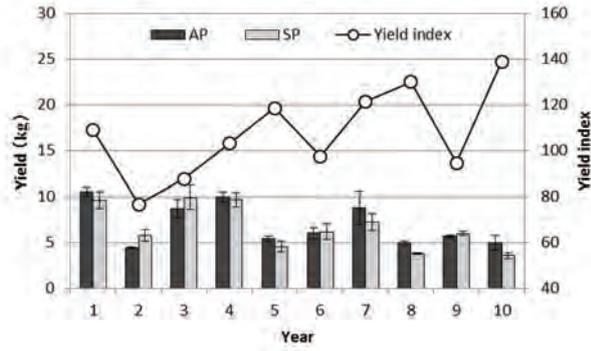


Fig.5-1 The yield of the carrot (leaf) in summer
(Note: 2nd year (spinach), 3rd year (trunip))

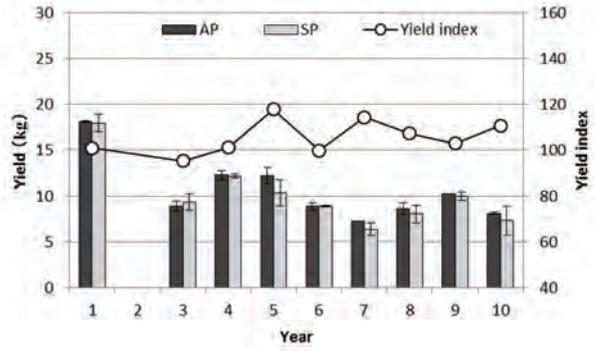


Fig.5-2 The yield of the carrot (root) in summer
(Note: 2nd year (spinach), 3rd year (trunip))

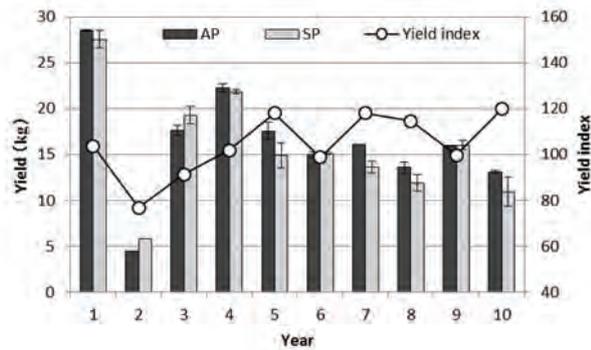


Fig.5-3 The yield of the carrot (total) in summer
(Note: 2nd year (spinach), 3rd year (trunip))

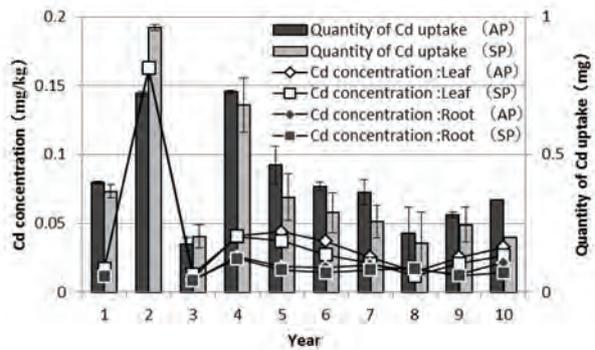


Fig.6 Cd concentration and quantity of Cd uptake
in carrot (Note: 2nd year (spinach), 3rd year (trunip))

2) 跡地土壌のカドミウム

2017年冬作の跡地土壌を分析した結果、塩酸可溶カドミウムの濃度は、汚泥肥料区で0.27 mg/kg、標準区で0.17 mg/kgであった。

2018年夏作の跡地土壌を分析した結果、全カドミウムの濃度は、汚泥肥料区で0.58 mg/kg、標準区で0.41 mg/kgであり、塩酸可溶カドミウムは汚泥肥料区で0.27 mg/kg、標準区で0.17 mg/kgであった。また、塩酸不溶カドミウムを算出した結果、汚泥肥料区は0.31 mg/kg、標準区は0.25 mg/kgであった。なお、塩酸不溶カドミウムについては、全カドミウムの値から塩酸可溶カドミウムの値を差し引いて算出した。これらの結果をTable 7に示す。

また、2009年夏作から2018年夏作(1年目から10年目)の全カドミウム、塩酸可溶カドミウム及び塩酸不溶カドミウムの推移をFig.7に示す。

汚泥肥料区のカドミウム濃度は増加傾向($p=0.001$)を示しており、汚泥肥料に含有するカドミウムが土壌に蓄積していることが示された。一方で、汚泥肥料区の塩酸可溶カドミウムは、汚泥肥料から塩酸可溶カドミウムが供給されているにもかかわらず、一定に推移する傾向($p=0.30$)を示しており、塩酸可溶カドミウムの状態では蓄積しにくいことが示された。塩酸可溶カドミウムとして存在しにくい要因の一つとして、汚泥肥料に含有するカドミウムは土壌中では有機物等と結合¹⁷⁾することにより不溶化していると考えられる。よって、現状ではカドミウムが試験区に供給されたとしても、作物体に吸収されにくい状態であることから、Codex 基準値を超えることはない

考えられる。しかし、不溶化が臨界点に達した場合は注視する必要がある。

標準区の全カドミウム濃度は減少傾向 ($p=0.005$) であり、塩酸可溶カドミウムについても減少傾向 ($p=0.04$) を示しているが、塩酸不溶カドミウムは一定に推移 ($p=0.91$) している。これは施肥によるカドミウムの供給がなく、また、作物は塩酸可溶カドミウムを持ち出している結果であると考えられる。

Table 7 Cd concentration of cultivated soil (in winter 2017 and summer 2018)

	Test plot	Total Cd		Hydrochloric acid soluble Cd ^{b)}		Hydrochloric acid insoluble Cd ^{c)}
		Mean ^{a)}	σ	Mean ^{a)}	σ	
		(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	
Spinach	AP ^{d)}	—	—	0.27	0.004	—
Winter 2017	SP ^{e)}	—	—	0.17	0.004	—
Carrot	AP ^{d)}	0.58	0.02	0.27	0.01	0.31
Summer 2018	SP ^{e)}	0.41	0.005	0.17	0.00	0.25

a) Mean ($n=2$)

b) Content of Ca dissolved with 0.1 mol/L by hydrochloric acid in the drying soil

c) (Total Cd)-(Hydrochloric acid soluble Cd)

d) Sludge-fertilizer-application plot

e) Standard plot

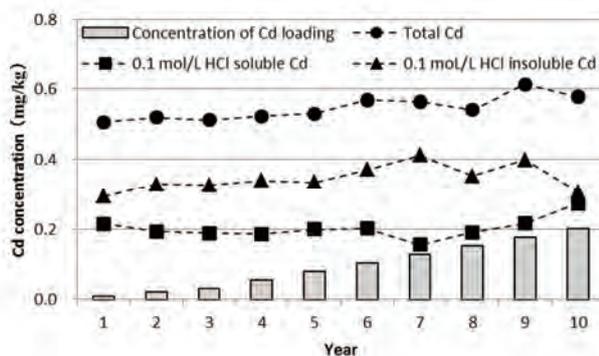


Fig.7-1 Cd concentration of cultivated soil
(AP: Sludge-fertilizer-application plot)

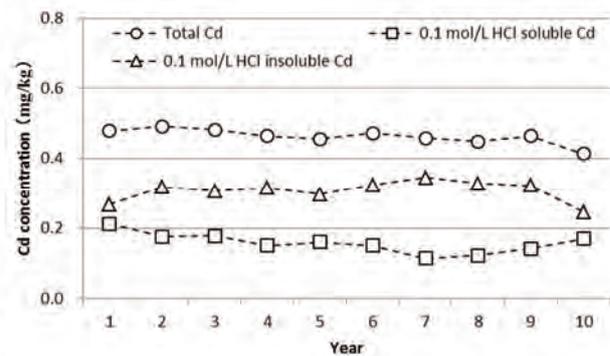


Fig.7-2 Cd concentration of cultivated soil
(SP: Standard plot)

3) カドミウム塩酸不溶化の臨界点

2. (9) に示した分析結果を Fig.8 に示す。施肥量 0 g においては、塩酸可溶カドミウムが塩酸不溶カドミウムよりも低い値を示したが、施肥量を 5 g とした段階で塩酸可溶カドミウムの方が高い値を示し、施肥量を 30 g とした段階で 1.0 mg/kg となり、その後一定に推移した。塩酸不溶カドミウムは施肥量 5 g までは一定に推移しているが、10 g とした段階で上昇し、50 g の時に約 1.0 mg/kg を示した。この結果は、汚泥肥料施用区が示している傾向とは異なる結果であった。原因を調査するため、pH を分析した結果、Fig.8 に示したとおり pH が 4.9~5.8 の範囲で推移していた。pH の推移は、有機態窒素の微生物による無機化により硝酸性窒素が蓄積した結果が反映していると考えられる。試験区では硝酸性窒素は作物による吸収や、降雨による流出のため蓄積されにくく、また土壌の pH が 6.0~7.0 になるように栽培管理していることから、試験区と実験で異なる傾向を示したと考えられ

る。

この検討については、想定外の結果となったが、土壌の pH が 4.9～5.8 の範囲では、汚泥肥料中の塩酸可溶カドミウムは不溶化が進みにくいことがわかった。

再度検討する際は、土壌中の pH を考慮して検討する必要がある。

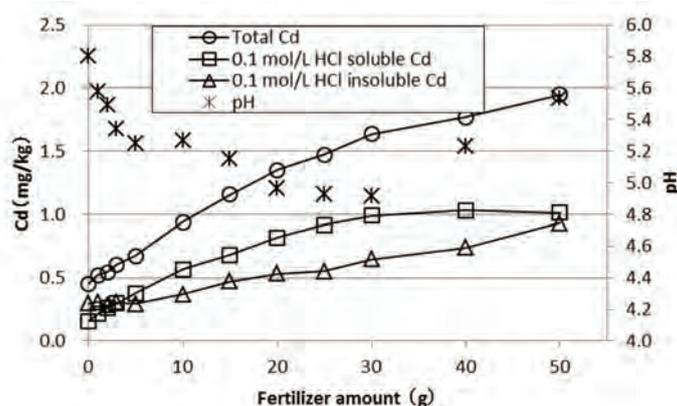


Fig.8 Form of cadmium in the soil by the quantity of fertilization

4. まとめ

2017年冬作ホウレンソウのカドミウムを分析した結果、汚泥肥料施用区 0.047 mg/kg、標準区 0.028 mg/kg であった。汚泥肥料施用区の方が有意に高い ($p=0.015$) 値を示したが、Codex 基準値 (0.2 mg/kg) に対しては低い結果であった。

2018年夏作のニンジンのカドミウムを分析した結果、汚泥肥料施用区は葉部 0.032 mg/kg、根部 0.021 mg/kg であり、標準区は葉部 0.026 mg/kg、根部 0.014 mg/kg であった。根部は汚泥肥料施用区の方が有意に高い ($p=0.04$) 値を示したが、Codex 基準値 (0.1 mg/kg) に対しては低い結果であった。

ホウレンソウの跡地土壌の塩酸可溶カドミウムを分析した結果、汚泥肥料施用区 0.27 mg/kg、標準区 0.17 mg/kg であった。

ニンジンの跡地土壌の塩酸可溶カドミウムを分析した結果、汚泥肥料施用区 0.27 mg/kg、標準区 0.17 mg/kg であった。また、全カドミウムについては、汚泥肥料区 0.58 mg/kg、標準区 0.41 mg/kg であった。

2009年夏作～2018年夏作までの土壌中のカドミウムを解析したところ、汚泥肥料施用区的全カドミウムは増加傾向 ($p=0.001$) を示し、土壌にカドミウムが蓄積していることが確認された。しかし、塩酸可溶カドミウムについては一定に推移する傾向 ($p=0.30$) を示していることから、汚泥肥料中の塩酸可溶カドミウムは土壌においては不溶化していることが考えられる。

標準区的全カドミウム濃度は減少傾向 ($p=0.005$) であり、塩酸可溶カドミウムについても減少傾向 ($p=0.04$) を示しているが、塩酸不溶カドミウムは一定に推移 ($p=0.91$) している。これは施肥によるカドミウムの供給がなく、また、作物体が塩酸可溶カドミウムを持ち出している結果であると考えられる。

土壌注のカドミウム塩酸不溶化の臨界点の推定については、pH の条件がほ場とは異なる結果となったことから、pH の影響を排除した検討が必要である。

文 献

- 1) 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 31 年 4 月 26 日, 農林省告示第 807 号 (2019)
- 2) 農林水産省 消費・安全局 農産安全管理課 肥料企画班:汚泥肥料の規制のあり方に関する懇談会報告書 平成 21 年 3 月, (2009)
< http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_hiryo/odei_hiryo/pdf/honnbun.pdf >
- 3) 舟津正人, 阿部文浩, 添田英雄:カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響, 肥料研究報告, 4, 74~84, (2011)
- 4) 青山恵介, 八木寿治, 齋藤晴文, 佐久間健太, 鈴木時也, 田中雄大, 橋本良美, 阿部文浩:カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報)ー2016 年冬作・2017 年夏作ー, 肥料研究報告, 9, 106~128, (2018)
- 5) 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 (2018)
< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo_2018.pdf >
- 6) 埼玉県ホームページ:主要農作物施肥基準 平成 25 年 3 月
< <http://www.pref.saitama.lg.jp/a0903/sehikijun.html> >
- 7) 千葉県 農林水産技術推進会議農林部会:肥料価格高騰に伴う土壌管理・施肥適正化指導指針 平成 20 年 9 月, 20, (2008)
< <http://www.pref.chiba.lg.jp/ninaite/network/h21-fukyuu/documents/kakakukoutou.pdf> >
- 8) 栃木県 農作物施肥基準ー環境と調和のとれた土づくり・施肥設計の手引き 平成 18 年 1 月, 110, (2006)
< <http://www.pref.tochigi.lg.jp/g04/work/nougyou/keiei-gijyutsu/sehikijun.html> >
- 9) 群馬県 作物別施肥基準及び土壌診断基準 おでい肥料と土壌の重金属
< <http://www.aic.pref.gunma.jp/agricultural/management/technology/soil/01/index.html> >
- 10) 農林水産省 消費・安全局 農産安全管理課 肥料企画班:汚泥肥料の施用に係る指導実態等に関するアンケート結果(抜粋), (2008)
< http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_hiryo/odei_hiryo/pdf/03_data1.pdf >
- 11) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, 183, 博友社, 東京(1991)
- 12) 農林水産省:地力増進基本指針, 平成 20 年 10 月 16 日
< http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_dozyo/pdf/chi4.pdf >
- 13) Perkin Elmer 社:マイクロ波分解装置取扱説明書, 分解メソッド集, ホウレンソウ
- 14) 財団法人日本土壌協会:土壌, 水質及び植物体分析法, 東京(2001)
- 15) 農林省省令:農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係るカドミウムの量の検定の方法を定める省令, 昭和 46 年 6 月 24 日農林省令第 47 号, 最終改正平成 24 年 8 月 6 日環境省令第 22 号(2012)
- 16) 農林水産省ホームページ:コーデックス委員会が策定した国際基準値
< http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_cd/kizyunti/ >
- 17) 独立行政法人 農業環境技術研究所:農作物中のカドミウム低減対策技術集, 平成 23 年 3 月, p49, (2011)

**Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop
and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report)
-Winter 2017 and Summer 2018-**

Keisuke AOYAMA¹, Shingo MATSUO², Kenji KOZUKA², Kazuaki MURAYAMA²,
Toshiharu YAGI³, Harufumi SAITO², Kenta SAKUMA³, Fumihiko ABE²

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

² FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department (Now) FAMIC, Nagoya Regional Center

We have been researching Cd absorption of the crop and accumulation in the soil used sludge fertilizer since 2009. The soil is composed of the Andosol. We cultivated spinach in winter 2017 and carrot in summer 2018. Those crops were cultivated in the standard plot (SP) and the sludge-fertilizer-application plot (AP). In the SP, we used only chemical reagents for the crops. In the AP, we used 500 kg/10 a (fresh weight) of the sludge fertilizer and chemical reagents for the crops. The amount of nitrogen, phosphorus and potassium applied to each plot was designed on the basis of the fertilization standard shown on the Saitama prefecture's web site. The concentration of total cadmium in the crop, 0.1 mol/L HCl soluble-Cd in the soil after each of the harvests were measured by the inductivity coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). As a result, the soil in the AP after the harvests has indicated a high concentration of the total-Cd compared with the soil in the SP since winter 2011. The concentration of total-Cd in the soil (from summer 2009 to summer 2018) showed significant increasing trend in the AP. But the concentration of 0.1mol/L HCl soluble-Cd changed constantly. We thought that it was because cadmium was changed into the 0.1 mol/L HCl insoluble-Cd in the soil. The concentrations of cadmium in spinach (winter in 2017) and carrot (summer in 2018) were less than that of the CODEX standard. Probably, the concentrations of cadmium in crops will keep low until the amount of the 0.1 mol/L HCl insoluble-Cd in the soil arrives at the critical point. We consider that it is necessary to be conducted further monitoring of the transition of Cd in the soil until that point.

Key words sludge fertilizer, continuous application, cadmium

(Research Report of Fertilizer, 12, 123~135, 2019)

10 2018年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた

肥料の共同試験成績の解析

加藤まどか¹, 義本将之², 恵智正宏³, 山岡孝生⁴,
神川孝文⁵, 平田絵理香⁶, 白井裕治¹, 引地典雄⁷

キーワード 外部精度管理, 化成肥料, 鉍さいけい酸質肥料, ISO/IEC 17043, zスコア

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 (JIS Q 17025)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保についての考え方が重視されている. その要求事項には, 他機関との試験成績の整合性確認及び外部機関による試験成績の信頼性の確保が必須となっており, 試験所は共通試料による試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施する等, 試験の信頼性確保に努めている.

肥料生産事業場の品質管理室, 肥料検査機関の試験所等においても, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質²⁾による内部精度管理が日常的になりつつある. 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC)においても立入検査で収去した肥料の主成分及び有害成分の調査分析は不可欠であり, その試験法には信頼性の確保が求められる.

外部精度管理としての共通試料による肥料の共同試験は, 2005年度まで全国6か所の肥料品質保全協議会が個々に試料調製及び解析を行っていた. また, 2006年度より肥料品質保全協議会等の試験所を中心に全国共通の試料を用いた共同試験を実施している. 均質性試験及び共同試験成績については ISO/IEC 17043 (JIS Q 17043)³⁾を参考に解析し, 2018年度は化成肥料及び鉍さいけい酸質肥料について全国共通試料を調製し, 共同試験を実施したのでその結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料調製

化成肥料は, 粉碎して目開き 500 µm の網ふるいを全通させ, 品質の安定を図るため約4ヶ月間常温で保管した. その後, 試料をよく混合し, のし餅状に拵げて短冊状に9等分し, 1~9の区分番号を付して容器に移した. この中から表1の混合操作表の組合せに従い4区分を抽出し, よく混合したのち4等分して元の容器に戻した.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

³ 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

⁴ 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

⁵ 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

⁶ 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

⁷ 公益財団法人日本肥糧検定協会

この操作を7回繰り返した後、1～9の各区分の容器から一定量ずつ採取し、よく混合した後、1袋当たり約200g入りの試料250個を調製し、ポリエチレン製袋で密封して配付時まで常温保管した。

鉍さいけい酸質肥料は、粉碎して目開き212 μm の網ふるいを全通させた。ふるいを通した試料は、よく混合した後、のし餅状に広げて短冊状に9等分し、1～9の区分番号を付して容器に移した。この中から表1の混合操作表の組合せに従い4区分を抽出し、よく混合したのち4等分して元の容器に戻した。この操作を7回繰り返した後、1～9の各区分の容器から一定量ずつ採取し、よく混合した後、1袋当たり約180g入りの試料160個を調製し、ポリエチレン製袋で密封して配付時まで常温保管した。

表1 混合操作表

混合回数	1	2	3	4	5	6	7
区分番号	1	2	2	9	4	1	4
	2	5	3	7	5	3	6
	3	7	5	4	6	4	8
	6	8	7	1	9	8	9

2) 均質性確認試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル^{4, 5)}の均質性確認試験に従い、2.1)で調製した共同試験用試料から10試料ずつ抜き取り均質性確認用試料とした。化成肥料についてはく溶性りん酸(C-P₂O₅)及びく溶性マンガン(C-MnO)、鉍さいけい酸質肥料についてはく溶性苦土(C-MgO)を各均質性確認用試料につき2点併行で試験して均質性確認試験の成績とした。

3) 配付

試料番号を付した試料、実施要領及び分析成績報告書を参加試験室に送付した。2018年度、化成肥料は141試験室、鉍さいけい酸質肥料は78試験室が参加した。

3. 共同試験成績の試験項目及び試験方法

1) 試験項目

化成肥料については、水分(Mois)、窒素全量(T-N)、アンモニア性窒素(A-N)、く溶性りん酸(C-P₂O₅)、水溶性りん酸(W-P₂O₅)、水溶性加里(W-K₂O)、く溶性苦土(C-MgO)、く溶性マンガン(C-MnO)、ひ素(As)及びカドミウム(Cd)及び尿素性窒素(U-N)の11項目を試験項目とした。また、鉍さいけい酸質肥料については、可溶性けい酸(S-SiO₂)、アルカリ分(AL)及びく溶性苦土(C-MgO)の3項目を試験項目とした。

2) 試験方法

肥料等試験法(2017)⁶⁾を次のとおり例示した。尿素性窒素については、肥料等試験法(2017)のほかに、肥料等試験法(2018)⁷⁾に記載されている方法を例示した。なお、その他の試験方法を採用した試験室には、その方法の概要の報告を求めた。

(1) 水分は、肥料等試験法3.1.a(乾燥器による乾燥減量法)の(3)により定量。但し、備考4.の揮発物の補

正は行わない。

(2) 窒素全量は、肥料等試験法 4.1.1a(ケルダール法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量。又は、4.1.1b(燃焼法)により定量。

(3) アンモニア性窒素(A-N)は、肥料等試験法 4.1.2.a(蒸留法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量。

(4) く溶性りん酸(C-P₂O₅)は、肥料等試験法 4.2.3.a.(バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量。

(5) 水溶性りん酸(W-P₂O₅)は、肥料等試験法 4.2.4.a.(バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量。

(6) 水溶性加里(W-K₂O)は、肥料等試験法 4.3.3.a(フレイム原子吸光法又はフレイム光度法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。

(7) く溶性苦土(C-MgO)は、肥料等試験法 4.6.2.a(フレイム原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。

(8) く溶性マンガン(C-MnO)は、肥料等試験法 4.7.2.a(フレイム原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。

(9) ひ素(As)は、肥料等試験法 5.2.a(水素化物発生原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。又は、5.2.b(ジエチルジチオカルバミン酸銀吸光光度法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量。

(10) カドミウム(Cd)は、肥料等試験法 5.3.a(フレイム原子吸光法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。

(11) 尿素性窒素(U-N)は、肥料等試験法 6.3.a(ウレアーゼ法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)(4.4)により定量。又は、6.3.b(高速液体クロマトグラフ法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。又は、肥料等試験法(2018)6.3.c(*p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド吸光光度法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)(4.3)により定量。

(12) 可溶性けい酸(S-SiO₂)は、肥料等試験法 4.4.1.a(ふっ化カリウム法)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。

(13) アルカリ分(AL)は、肥料等試験法 4.5.4.a(エチレンジアミン四酢酸塩法(以下「EDTA 法」という)の(4.1)により試料溶液を調製し、同項(4.2)により定量。又は、同様の方法で試料溶液を調製、可溶性石灰(S-CaO)(肥料等試験法 4.5.2.a)及び可溶性苦土(S-MgO)(肥料等試験法 4.6.1.a)を測定し、肥料等試験法 4.5.4.b(可溶性石灰及び可溶性苦土よりの算出)の(2)により算出。

4. 統計解析方法及び試験成績の評価方法

1) 報告された試験成績の評価

(1) ロバスト法による z スコアの求め方

まず、全体の値の中央値(Median)を求めた。次に、上四分位数及び下四分位数を求め、(a)式により四分位範囲(IQR)を算出した。

$$IQR = \text{下四分位数} - \text{上四分位数} \quad \dots (a)$$

標準化されたロバスト標準偏差(NIQR)を(b)式により算出した。正規分布の場合、NIQR と標準偏差は一致

する。

$$NIQR = IQR \times 0.7413 \quad \dots (b)$$

z スコア (z) を (c) 式により算出した。 z スコアは、各試験室の試験成績 (x_i) の Median からの隔たり度合いを示す指標である。

$$z = (x_i - \text{Median}) / NIQR \quad \dots (c)$$

(2) z スコアによる評価

データの解析手法として、ISO/IEC 17043 (JIS Q 17043) を用い、各試験室の試験成績の z スコアより次のように評価を行った。

$ z \leq 2$	… 満足
$2 < z < 3$	… 疑わしい
$ z \geq 3$	… 不満足

2) 試験成績全体を評価する統計量

各成分の報告された試験成績全体を評価するため、次の統計量を求めた。

- (1) 参加試験室数(データ数: N)。
- (2) z スコアによる評価が $|z| \leq 2$ (満足), $2 < |z| < 3$ (疑わしい) 及び $|z| \geq 3$ (不満足) となった試験室数及びその割合 (%)。
- (3) 外れ値を棄却しない全データの平均値 (Mean)。
- (4) 全体の値の中央値 (Median)。
- (5) $NIQR$ を標準偏差とみなした Median の拡張不確かさ ($U_{95\%}$) (包含係数: $k=2$) を (d) 式により算出。

$$U_{95\%} = 2 \times NIQR / \sqrt{N} \quad \dots (d)$$

- (6) 全データの標準偏差 (s)。
- (7) 標準化されたロバスト標準偏差 ($NIQR$) を (b) 式により算出した。正規分布の場合、 $NIQR$ は s と一致する。
- (8) ロバスト法から求めた相対標準偏差 (RSD_{rob}) を、(e) 式により算出した。

$$RSD_{\text{rob}} = NIQR / \text{Median} \quad \dots (e)$$

- (9) 肥料等試験法で共同試験の精度の目安として示されている室間再現相対標準偏差 ($CRSD_R$)。

肥料等試験法において、共同試験の精度は、 $CRSD_R$ の値以内であることが推奨されており、これらの 2 倍まで許容している。この精度の目安は、クロマトグラフ法とクロマトグラフ法以外の方法で分けて設定されている。また、水分等の経験的分析法には適用されない。

5. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

2.2)において10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})を表2に示した. 更に, 肥料等試験法(2017)に示されている室間再現精度の目安($CRSD_R$)及びそれらから算出(式1)した推定室間再現標準偏差($\hat{\sigma}_R$)を表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)⁶⁾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た. 次に, IUPAC/ISO/AOACの技能試験プロトコル(1993)⁴⁾の判定式(式2)を用いて均質性の判定を行った. その結果, すべての成分において判定式(式2)を満たしていたことから, 分析用試料は均質であることを確認した. なお, 参考のため, 式3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 $\hat{\sigma}_R$ と比較して十分に小さい値であった.

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

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots (式2)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_r^2 + s_{bb}^2} \quad \dots (式3)$$

$\hat{\sigma}_R$: 推定室間再現標準偏差

$CRSD_R$: 肥料等試験法(2017)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

表2 均質性確認試験の結果

肥料の種類	分析成分	試料数	\bar{x} ^{a)} (%) ^{b)}	s_r ^{c)} (%) ^{b)}	s_{bb} ^{d)} (%) ^{b)}	s_{b+r} ^{e)} (%) ^{b)}	$CRSD_R$ ^{f)} (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{g)} (%) ^{b)}	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{h)} (%) ^{b)}
化成肥料	C-P ₂ O ₅	10	17.05	0.05	0.00	0.05	3	0.51	0.15
	C-MnO	10	0.216	0.005	0.000	0.005	6	0.013	0.004
鉍さいけい酸質肥料	C-MgO	10	7.16	0.02	0.02	0.03	4	0.29	0.09

a) 総平均定量値(試料数×2点併行分析)

b) 質量分率

c) 併行標準偏差

d) 試料間標準偏差

e) 併行精度を含む試料間標準偏差

f) 肥料等試験法で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

g) 室間再現精度の目安から算出した推定室間再現標準偏差

h) 均質性の判定(s_{bb} の評価)のためのパラメータ

2) 試験成績の解析結果

4.2) (1)～(2)の試験室数及びzスコアで評価された各試験室数及びその割合を表3に示した。各成分の試験成績で「満足」との評価を受けた試験室の割合は、化成肥料中のカドミウムが96%と最も高く、化成肥料中のひ素が81%と最も低い割合を示した。一方、「不満足」と評価を受けた試験室の割合は、化成肥料のく溶性苦土及びひ素が10%とそれぞれ最も高い結果であった。昨年度と比較すると、「満足(|z|≤2)」と評価された試験室の割合は昨年度が78%～93%、「不満足(|z|≥3)」と評価された試験室の割合は昨年度が2%～12%であった。

4.2) (3)～(9)で求めた統計量を表4に示した。多くの成分で全体のMeanはMedianとほぼ一致したが、一部の試験項目でMeanとMedianの差が認められた。また、全体の標準偏差sは、ロバスト法によって得られたNIQRと比較して基本的に大きな値を示す傾向が見られ、外れ値の影響を受けていることが考えられた。RSD_{rob}と各試験成分の濃度レベルにおけるCRSD_R及びCRSD_Rの2倍の値との関係を図1に示した。ここで、肥料等試験法のCRSD_Rはクロマトグラフ法とクロマトグラフ法以外の方法を分けて設定されており、尿素性窒素の試験成績についてはどちらの方法も混在していたため、これらを分けて整理した。高速液体クロマトグラフ法(以下、「HPLC法」という。)以外の方法で測定された尿素性窒素についてのみCRSD_Rの2倍を超えており、試験室間の成績のばらつきが比較的大きいことが推察された。その他の試験成分は、RSD_{rob}は肥料等試験法で精度として許容されているCRSD_Rの2倍の範囲内であった。

また、本年度8試験室以上報告のあった試験方法別のMedian、NIQR、RSD_{rob}及びCRSD_R等を表5に示した。

表3 zスコアによる試験成績の評価

試験項目	参加 試験 室数	$ z \leq 2$ ^{a)}		$2 < z < 3$ ^{b)}		$3 \leq z $ ^{c)}	
		試験 室数	割合 (%)	試験 室数	割合 (%)	試験 室数	割合 (%)
(化成肥料)							
Mois	129	121	94	4	3	4	3
T-N	129	116	90	2	2	11	9
A-N	122	100	82	18	15	4	3
C-P ₂ O ₅	126	110	87	8	6	8	6
W-P ₂ O ₅	127	114	90	5	4	8	6
W-K ₂ O	128	106	83	10	8	12	9
C-MgO	124	106	85	6	5	12	10
C-MnO	111	98	88	9	8	4	4
As	42	34	81	4	10	4	10
Cd	51	49	96	1	2	1	2
U-N	55	52	95	3	5	0	0
(鉱さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	59	52	88	3	5	4	7
AL	75	68	91	4	5	3	4
S-CaO	64	60	94	3	5	1	2
S-MgO	64	56	88	4	6	4	6
C-MgO	72	62	86	7	10	3	4

- a) zスコアによる評価が満足 ($|z| \leq 2$) となった試験室数及びその割合 (%)
- b) zスコアによる評価が疑わしい ($2 < |z| < 3$) となった試験室数及びその割合 (%)
- c) zスコアによる評価が不満足 ($3 \leq |z|$) となった試験室数及びその割合 (%)

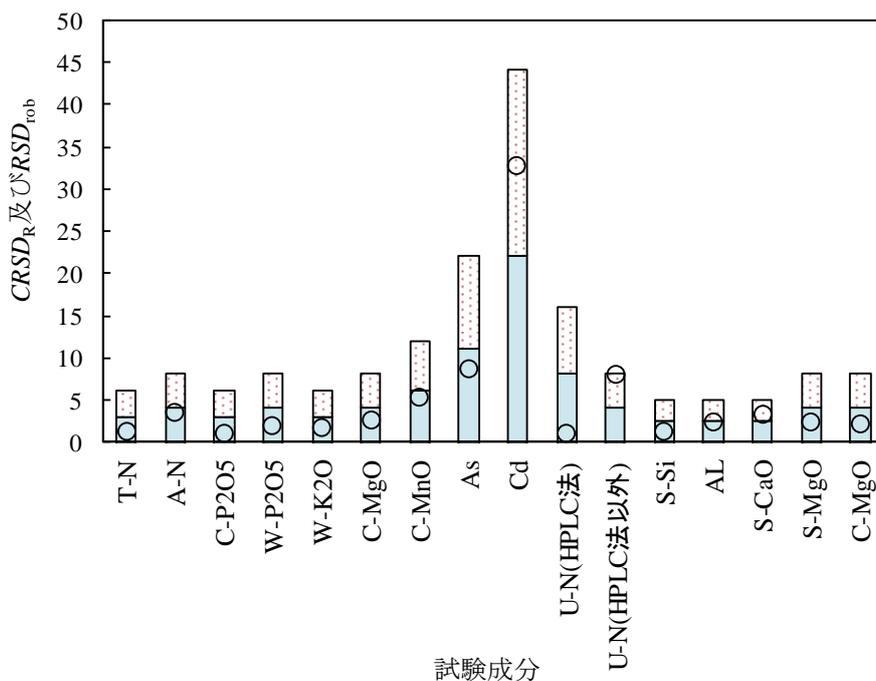


図1 各試験成績のCRSD_RとRSD_{rob}の関係
 □ 2×CRSD-R □ CRSD-R ○ RSD-rob

表4 共同試験成績の統計量

試験項目	試験 室数	Mean ^{a)}	Median ^{b)}	$U_{95\%}$ ^{c)}	s ^{d)}	$NIQR$ ^{e)}	RSD_{rob} ^{f)}	$CRSD_R$ ^{g)}	$2 \times$ $CRSD_R$ ^{h)}
		(%, mg/kg) ⁱ⁾	(%)	(%)	(%)				
(化成肥料)									
Mois	129	2.25	2.14	0.08	0.68	0.45	21.1	- ^{j)}	- ^{j)}
T-N	129	15.56	15.62	0.04	0.38	0.20	1.3	3	6
A-N	122	8.39	8.37	0.05	0.60	0.29	3.4	4	8
C-P ₂ O ₅	126	17.09	17.09	0.03	0.94	0.17	1.0	3	6
W-P ₂ O ₅	127	9.90	9.79	0.03	0.66	0.18	1.9	4	8
W-K ₂ O	128	15.17	15.25	0.04	0.85	0.24	1.6	3	6
C-MgO	124	3.48	3.50	0.02	0.19	0.09	2.6	4	8
C-MnO	111	0.231	0.221	0.002	0.123	0.011	5.2	6	12
As	42	10.14	10.49	0.28	1.34	0.90	8.6	11	22
Cd	51	0.33	0.34	0.03	0.10	0.11	32.7	22	44
U-N	55	6.45	6.56	0.12	0.44	0.44	6.7	- ^{k)}	- ^{k)}
〈HPLC法〉	8	6.78	6.79	0.05	0.22	0.07	1.0	8	16
〈HPLC法以外の方法〉	47	6.40	6.48	0.15	0.45	0.51	7.9	4	8
(鉱さいけい酸質肥料)									
S-SiO ₂	59	34.52	34.58	0.11	0.65	0.42	1.2	2.5	5
AL	75	51.17	51.29	0.27	1.55	1.15	2.2	2.5	5
S-CaO	64	41.26	41.35	0.32	1.40	1.30	3.1	2.5	5
S-MgO	64	7.22	7.17	0.04	0.45	0.16	2.3	4	8
C-MgO	72	7.07	7.12	0.04	0.32	0.16	2.2	4	8

a) 全体の平均値

b) 全体の中央値

c) 全体の中央値の不確かさ

d) 全体の標準偏差

e) ロバスト標準偏差

f) ロバスト相対標準偏差

g) 肥料等試験法で精度の目安として推奨されている室間再現相対標準偏差

h) 肥料等試験法で精度として許容されている室間再現相対標準偏差

i) As, Cdはmg/kg, その他の成分は%(質量分率)

j) $CRSD_R$ は水分測定のような経験的分析法には適用できない。k) $CRSD_R$ はクロマトグラフ法とそれ以外の方法に分けて設定されているが、U-Nはどちらの試験成績も含んでいるため適用できない。

表5 試験方法別の共同試験成績の統計量

試験項目	試験方法	報告試験室数	Median ^{a)} (%, mg/kg) ^{f)}	NIQR ^{b)} (%, mg/kg) ^{f)}	RSD _{rob} ^{c)} (%)	CRSD _R ^{d)} (%)	2×CRSD _R ^{e)} (%)
(化成肥料)							
Mois	乾燥器による乾燥減量法	128	2.14	0.45	21.1	-	-
T-N	ケルダール法	113	15.62	0.20	1.3	3	6
	燃焼法	13	15.59	0.23	1.5	3	6
A-N	蒸留法	105	8.35	0.22	2.7	4	8
	ホルムアルデヒド法	14	9.01	0.21	2.4	4	8
C-P ₂ O ₅	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法	124	17.09	0.17	1.0	3	6
W-P ₂ O ₅	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法	126	9.79	0.18	1.9	4	8
W-K ₂ O	フレイム原子吸光法	98	15.25	0.26	1.7	3	6
	フレイム光度法	26	15.27	0.22	1.4	3	6
C-MgO	フレイム原子吸光法	115	3.50	0.09	2.4	4	8
	ICP-OES法	7	3.45	0.10	3.0	4	8
C-MnO	フレイム原子吸光法	100	0.220	0.011	5.2	6	12
	ICP-OES法	9	0.225	0.010	4.3	6	12
As	水素化物発生原子吸光法	19	10.70	0.73	6.9	11	22
	ジエチルジチオカルバミン酸銀法	16	10.23	0.64	6.2	11	22
	ICP-OES法	7	10.35	1.21	11.7	11	22
Cd	フレイム原子吸光法	46	0.32	0.10	31.9	22	44
U-N	ウレアーゼ法	35	6.31	0.48	7.6	4	8
	高速液体クロマトグラフ法	8	6.79	0.07	1.0	8	16
	p-ジメチルアミノベンズアルデヒド吸光光度法	12	6.79	0.16	2.3	4	8
(鉱さいけい酸質肥料)							
S-SiO ₂	ふっ化カリウム法	38	34.54	0.37	1.1	2.5	5
	過塩素酸法	19	34.80	0.47	1.4	2.5	5
AL	エチレンジアミン四酢酸塩法	11	50.97	0.72	1.4	2.5	5
	フレイム原子吸光法	59	51.27	1.09	2.1	2.5	5
S-CaO	フレイム原子吸光法	59	41.32	1.21	2.9	2.5	5
S-MgO	フレイム原子吸光法	59	7.17	0.17	2.3	4	8
C-MgO	フレイム原子吸光法	64	7.11	0.14	2.0	4	8

a) 全体の中央値

b) ロバスト標準偏差

c) ロバスト相対標準偏差

d) 肥料等試験法で精度の目安として推奨されている室間再現相対標準偏差

e) 肥料等試験法で精度として許容されている室間再現相対標準偏差

f) As, Cdはmg/kg, その他の成分は% (質量分率)

3) 試験成績の傾向

同一の試験室において報告された異なる試験成績の z スコアの関係を図 2-1～図 2-6 に示した。具体的には、同一の共同試験用試料について同様の抽出方法で異なる成分(化成肥料中の $W-P_2O_5$ と $W-K_2O$ 等)、同一の共同試験用試料について異なる抽出方法で同一の成分(化成肥料中の $C-P_2O_5$ と $W-P_2O_5$ 等)、そして同様の抽出方法及び同一の成分で異なる共同試験用試料(化成肥料及び鉱さいけい酸質肥料中の $C-MgO$ 等)の関係を示している。

更に、 z スコアが同じ値となる点線を書き加えた。この直線に平行方向のプロットは同様の抽出方法又は同一の成分の測定方法において系統的な偏りの要因があると考えられる。

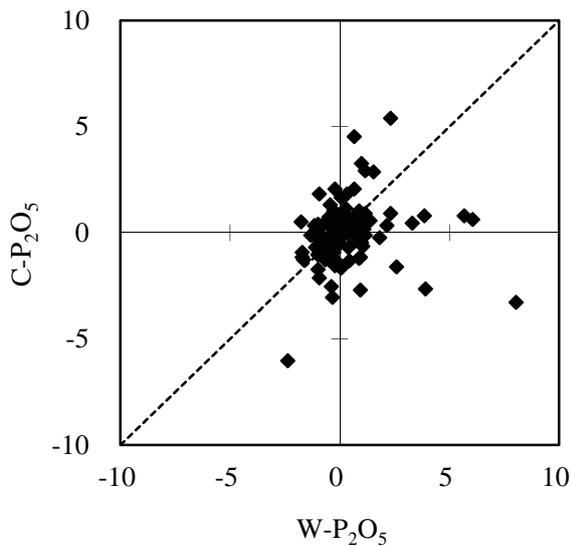


図2-1 化成肥料中の $C-P_2O_5$ — $W-P_2O_5$ の z スコアの関係

◆ 同一試験室における z スコアのプロット
 ----- 線形 (z スコアが同じ値を示す直線)

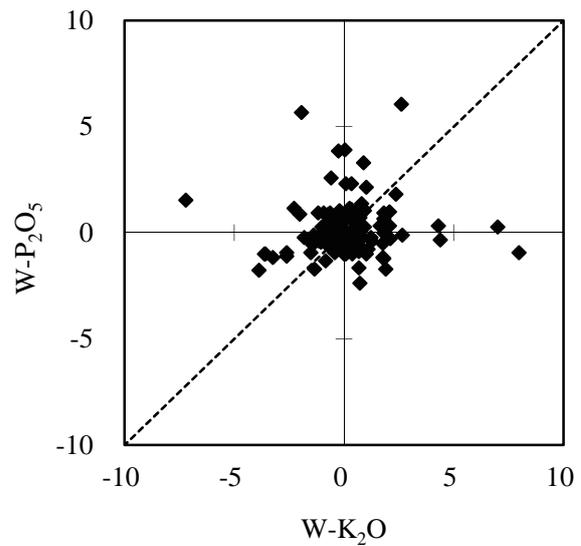


図2-2 化成肥料中の $W-P_2O_5$ — $W-K_2O$ の z スコアの関係

◆ 同一試験室における z スコアのプロット
 ----- 線形 (z スコアが同じ値を示す直線)

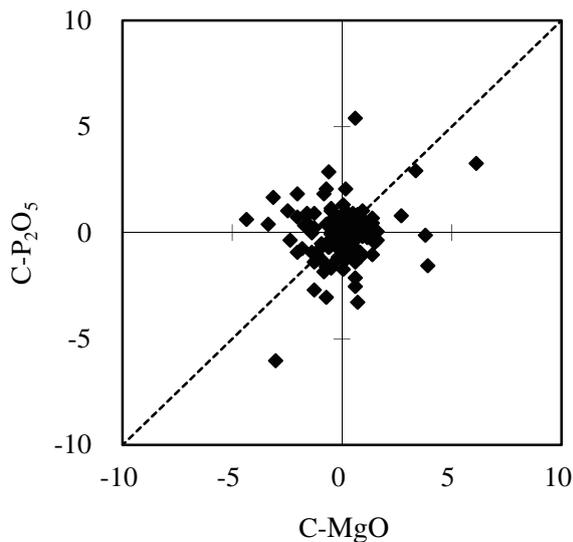


図2-3 化成肥料中のC-P₂O₅—C-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

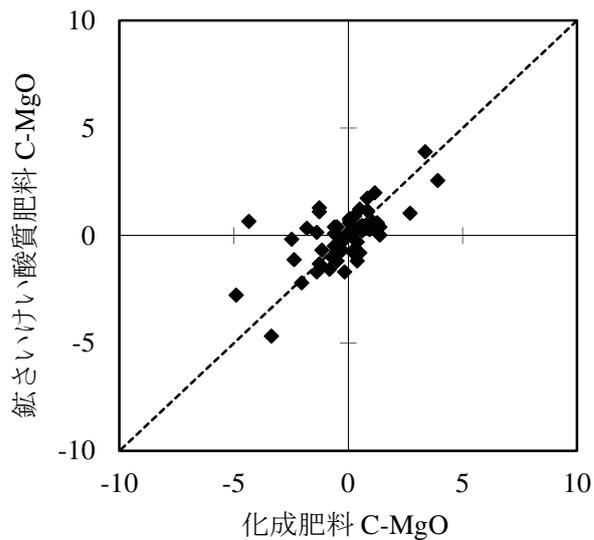


図2-4 化成肥料中及び鉍さいけい酸質肥料中のC-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

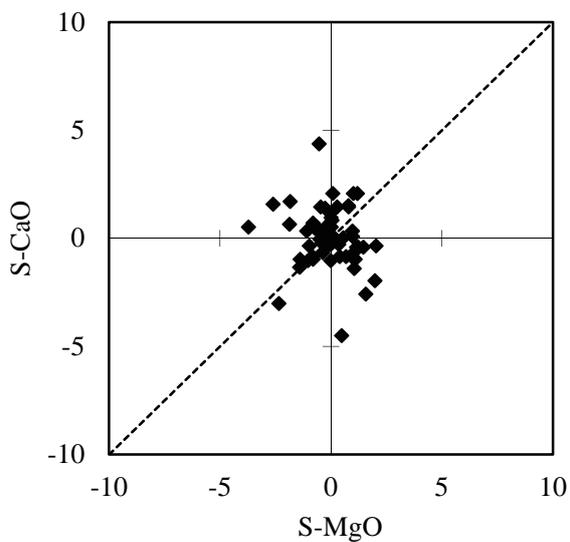


図2-5 鉍さいけい酸質肥料中のS-MgO—S-CaOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

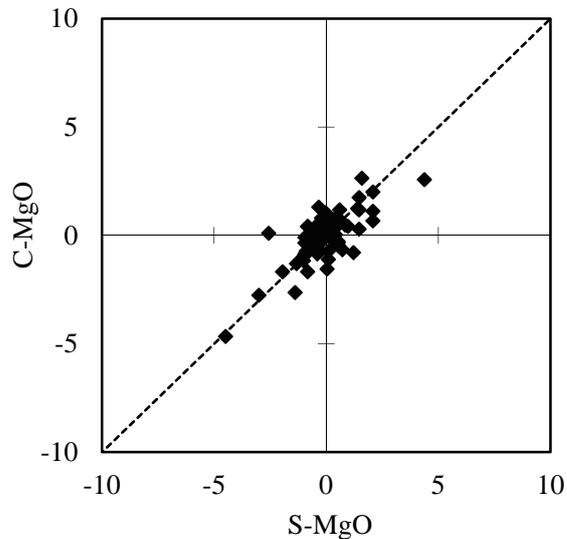


図2-6 鉍さいけい酸質肥料中のS-MgO—C-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
 ----- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

4) 成分別の試験成績の評価

(1) 化成肥料中の水分(Mois)

参加 129 試験室のうち、128 試験室が乾燥器による乾燥減量法、1 試験室が水分計による乾燥減量法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-1 に示す。平均値は 2.25 % (質量分率)、Median は 2.14 % (質量分率)、NIQR は 0.45 % (質量分率) であり、「満足」と評価された試験室は全体の 94 % となる 121 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 3 % である 4 試験室が該当した。水分測定の際は、乾燥器内の温度分布は一定ではなく、位置によっては実際の温度が設定温度と異なることがあるため、強制循環式恒温乾燥器を使用することが望ましい。また、器内の気流により試料が飛散することがあるので注意が必要である。

(2) 化成肥料中の窒素全量(T-N)

参加 129 試験室のうち、113 試験室がケルダール法、13 試験室が燃焼法、2 試験室が自動分析装置、1 試験室が硫酸一過酸化水素分解法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-2 に示す。平均値は 15.56 % (質量分率)、Median は 15.62 % (質量分率)、NIQR は 0.20 % (質量分率) であり、 z スコアにより「満足」と評価された試験室は全体の 90 % となる 116 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 9 % である 11 試験室が該当した。そのうち 10 試験室がケルダール法、1 試験室が燃焼法を用いていた。ケルダール法及び燃焼法の分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 % で有意な差は認められなかった。

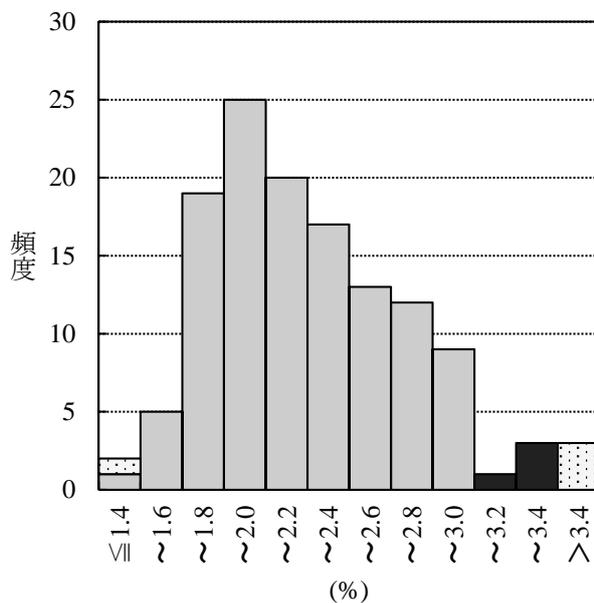


図3-1 化成肥料中の水分の分析成績

不満足 疑わしい 満足

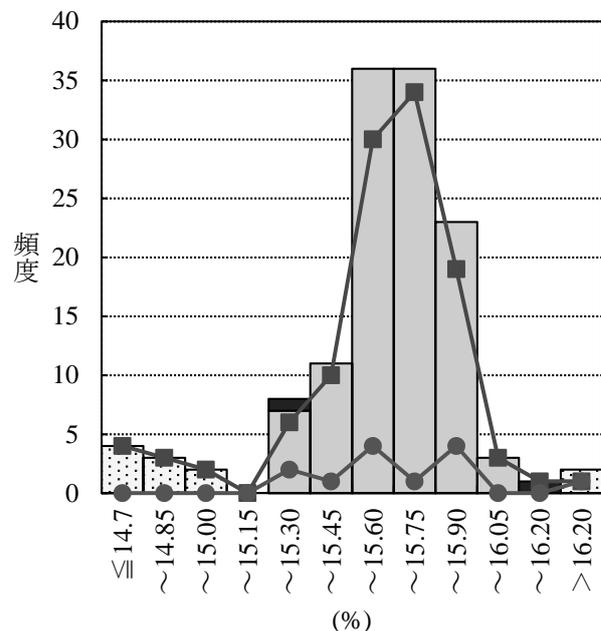


図3-2 化成肥料中の窒素全量の分析成績

不満足 疑わしい 満足 燃焼法 ケルダール法

(3) 化成肥料中のアンモニア性窒素(A-N)

参加 122 試験室のうち、105 試験室が蒸留法、14 試験室がホルムアルデヒド法、2 試験室が自動分析装置、1 試験室がインドフェノール法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-3 に示した。平均値は 8.39 % (質量分率)、

Median は 8.37 % (質量分率), *NIQR* は 0.29 % (質量分率) であり, z スコアにより「満足」と評価された試験室は全体の 82 % となる 100 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 3 % である 4 試験室が該当し, これらは蒸留法を用いた試験室であった. 蒸留法及びホルムアルデヒド法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ, 有意水準 1 % で差が認められた.

蒸留法は, アルカリ剤に水酸化ナトリウムを使用すると, 尿素や有機物を含む試料はこれらが分解して高値となる場合があるので, アルカリ剤の選択に注意する必要がある. また, ホルムアルデヒド法においては, リン酸による誤差を生じることから塩化アルミニウム溶液等の添加によるリン酸除去操作, ベントナイトを含む試料は pH の調整及び定量に影響することがあるので塩化アルミニウム溶液添加前にろ過を行うこと, またホルムアルデヒド溶液を添加する前の pH 調整操作等の個々の分析操作を正確に行うことに注意が必要である.

(4) 化成肥料中のく溶性りん酸(C-P₂O₅)

参加 126 試験室のうち, 124 試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法, 2 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた. 試験成績の度数分布を図 3-4 に示す. 平均値及び Median は 17.09 % (質量分率), *NIQR* は 0.17 % (質量分率) であり, 「満足」と評価された試験室は全体の 87 % となる 110 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 6 % にあたる 8 試験室が該当し, これらはすべてバナドモリブデン酸アンモニウム法を用いた試験室であった. く溶性りん酸の測定時には, 試料液を硝酸で十分に煮沸すること, 試料液中及び標準液中のくえん酸量を同一とし, 発色後は 30~120 分間に測定を終了させることに注意が必要である.

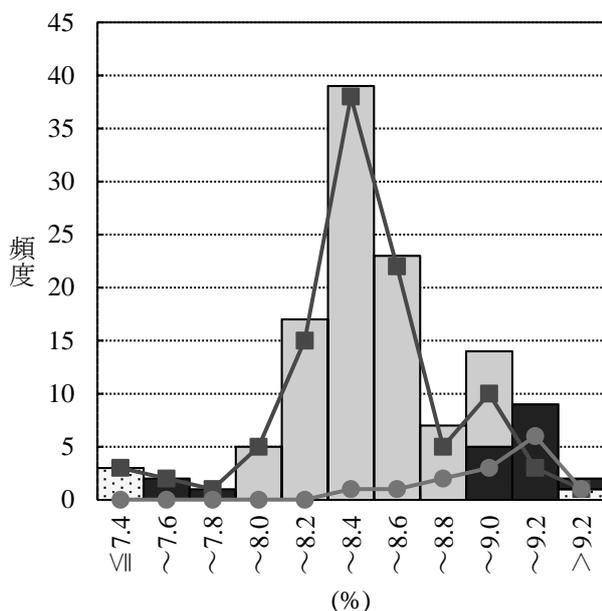


図3-3 化成肥料中のアンモニア性窒素の分析成績

■ 満足 ■ 疑わしい
 ■ 不満足 ■ 蒸留法
 ● ホルムアルデヒド法

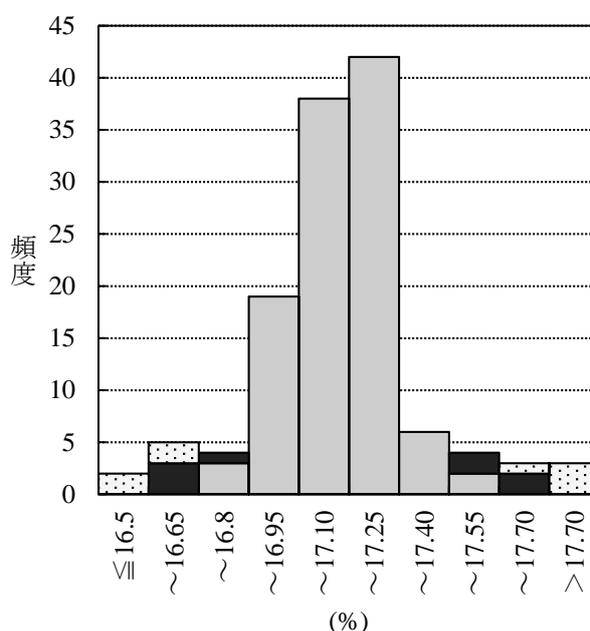


図3-4 化成肥料中のく溶性りん酸の分析成績

■ 不満足 ■ 疑わしい ■ 満足

(5) 化成肥料中の水溶性りん酸(W-P₂O₅)

参加 127 試験室のうち, 126 試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法, 1 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた. 試験成績の度数分布を図 3-5 に示す. 平均値は 9.90 % (質量分率), Median は 9.79 % (質量分

率), $NIQR$ は0.18% (質量分率)であり,「満足」と評価された試験室は全体の90%であった。「不満足」と評価された試験室は全体の6%にあたる8試験室が該当し,これらはすべてバナドモリブデン酸アンモニウム法を用いた試験室であった。

(6) 化成肥料中の水溶性加里(W-K₂O)

参加128試験室のうち,98試験室がフレイム原子吸光法,26試験室がフレイム光度法,1試験室がテトラフェニルホウ酸ナトリウム容量法,3試験室がICP発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図3-6に示す。平均値は15.17% (質量分率), Medianは15.25% (質量分率), $NIQR$ は0.24% (質量分率)であり,「満足」と評価された試験室は全体の83%となる106試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の9%にあたる12試験室が該当し,内訳はフレイム原子吸光法が10試験室,フレイム光度法が1試験室,ICP発光分光分析法が1試験室であった。原子吸光法及びフレイム光度法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ,それぞれの平均値に有意水準5%で有意な差は認められなかった。フレイム光度法及びフレイム原子吸光法で測定する際は検量線の直線性に留意し,調製した標準液についても,時間の経過とともに濃度変化が生じることがあるので定期的に調製する必要がある。また,定量には試料溶液の噴霧効率が影響するため,測定時には試料液及び標準液の温度,酸組成及び酸濃度を同一とすることが望ましい。

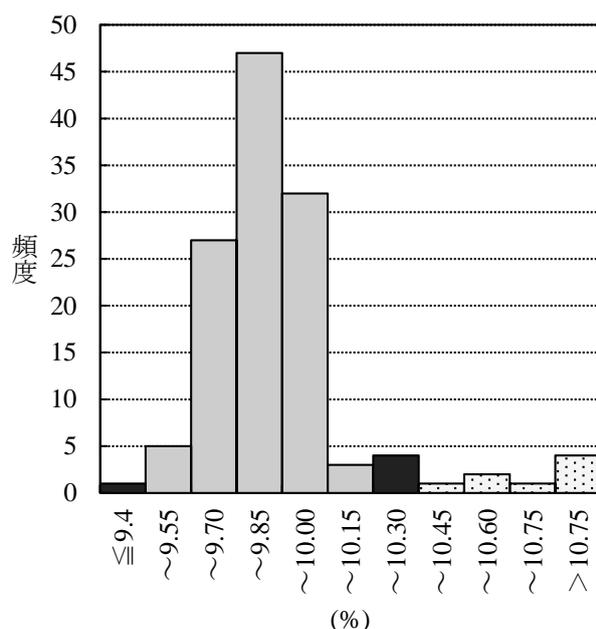


図3-5 化成肥料中の水溶性りん酸の分析成績

□ 不満足 ■ 疑わしい ▨ 満足

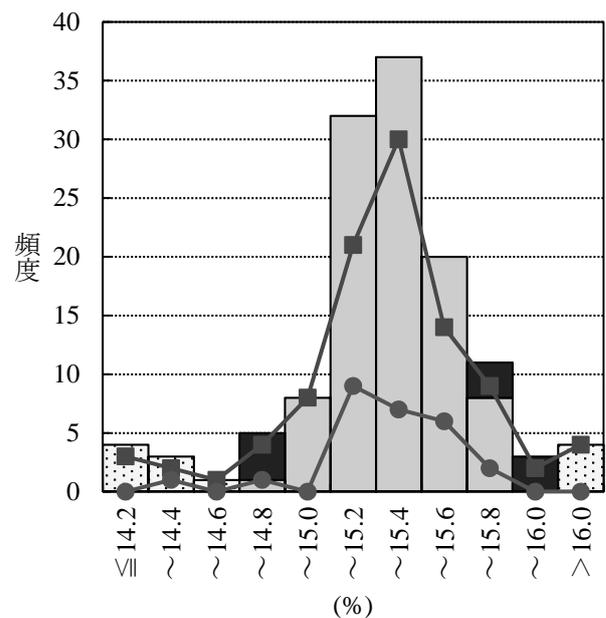


図3-6 化成肥料中の水溶性加里の分析成績

□ 不満足 ■ 疑わしい
▨ 満足 ■ フレイム原子吸光法
● フレイム光度法

(7) 化成肥料中の可溶性苦土(C-MgO)

参加124試験室のうち,115試験室がフレイム原子吸光法,2試験室がEDTA法,7試験室がICP発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図3-7に示す。平均値は3.48% (質量分率), Medianは3.50% (質量分率), $NIQR$ は0.09% (質量分率)であり,「満足」と評価された試験室は全体の85%となる106試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の10%にあたる12試験室が該当し,内訳はフレイム原子吸光法が10

試験室, EDTA 法が 2 試験室であった。

(8) 化成肥料中のく溶性マンガン(C-MnO)

参加 111 試験室のうち, 100 試験室がフレイム原子吸光法, 2 試験室が過ヨウ素酸カリウム法, 9 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-8 に示す。平均値は 0.231 % (質量分率), Median は 0.221 % (質量分率), *NIQR* は 0.011 % (質量分率) であり, 「満足」と評価された試験室は全体の 88 % となる 98 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 4 % にあたる 4 試験室が該当し, すべてがフレイム原子吸光法であった。フレイム原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5% で有意な差は認められなかった。

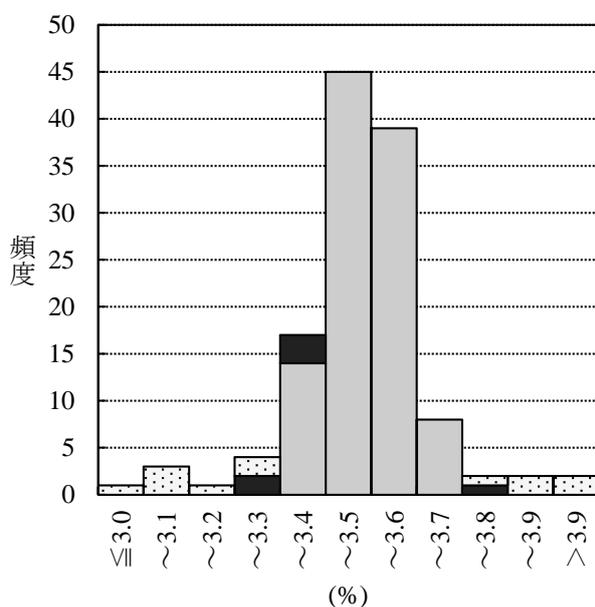


図3-7 化成肥料中のく溶性苦土の分析成績

不満足 疑わしい 満足

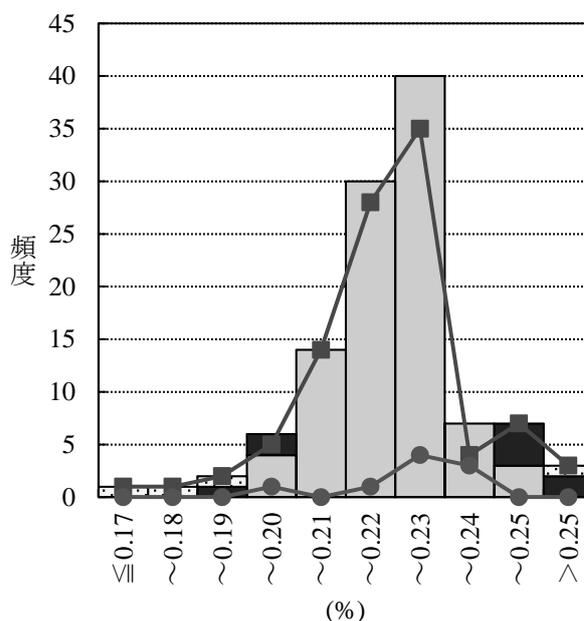


図3-8 化成肥料中のく溶性マンガン分析成績

不満足
疑わしい
満足
フレイム原子吸光法
ICP発光分光分析法

(9) 化成肥料中のひ素(As)

参加 42 試験室のうち, 19 試験室が水素化物発生原子吸光法, 16 試験室がジエチルジチオカルバミン酸銀法, 7 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-9 に示す。平均値は 10.14 mg/kg, Median は 10.49 mg/kg, *NIQR* は 0.90 mg/kg であり, 「満足」と評価された試験室は全体の 81 % となる 34 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 10 % にあたる 4 試験室が該当し, 水素化物発生原子吸光法が 3 試験室, ジエチルジチオカルバミン酸銀法が 1 試験室であった。水素化物発生原子吸光法及びジエチルジチオカルバミン酸銀法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ, それぞれの平均値に有意水準 5% で有意な差は認められなかった。

(10) 化成肥料中のカドミウム(Cd)

参加 51 試験室のうち, 46 試験室がフレイム原子吸光法, 4 試験室が ICP 発光分光分析法, 1 試験室がフ

フレーム原子吸光法を用いた。試験成績の度数分布を図3-10に示す。平均値は0.33 mg/kg, Medianは0.34 mg/kg, *NIQR*は0.11 mg/kgであり、「満足」と評価された試験室は全体の96%となる49試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の2%にあたる1試験室が該当し、フレーム原子吸光法であった。

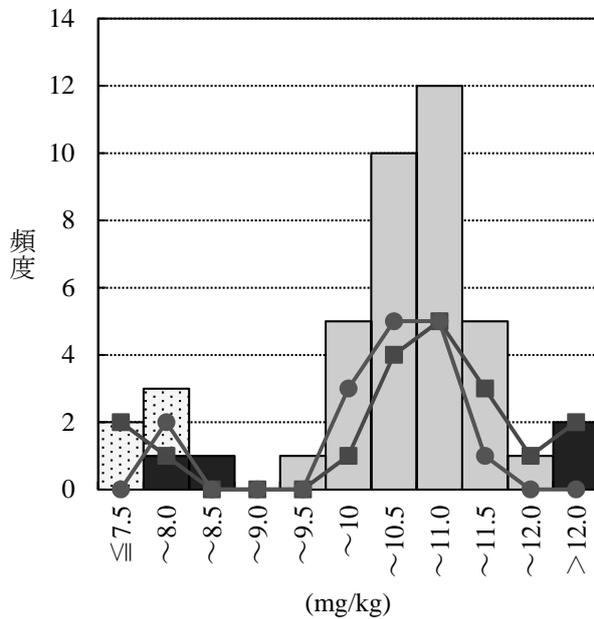


図3-9 化成肥料中のひ素の分析成績

■ 不満足
 ■ 疑わしい
 ■ 満足
 ■ 水素化物発生原子吸光法
 ● ジエチルジチオカルバミン酸銀法

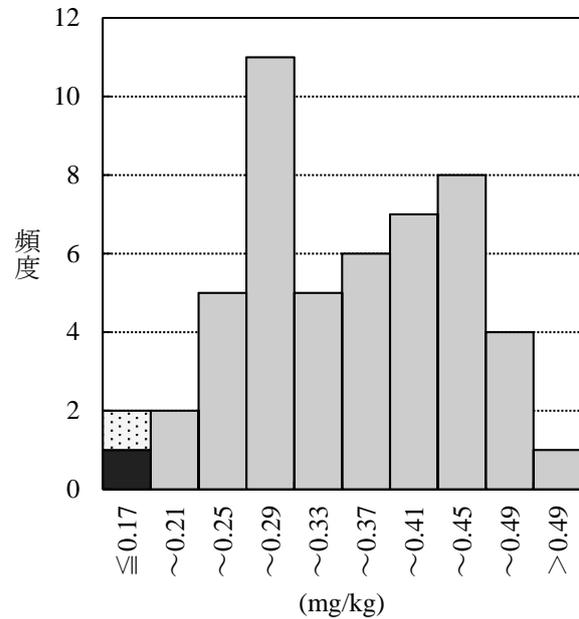


図3-10 化成肥料中のカドミウムの分析成績

■ 不満足 ■ 疑わしい ■ 満足

(11) 化成肥料中の尿素性窒素(U-N)

55試験室が参加し、35試験室がウレアーゼ法、8試験室がHPLC法、12試験室が*p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド吸光光度法(以下、「吸光光度法」という。)を用いた。試験成績の度数分布を図3-11に示す。平均値は6.45%(質量分率), Medianは6.56%(質量分率), *NIQR*は0.44%(質量分率)、「満足」と評価された試験室は全体の95%となる52試験室であり、「不満足」の試験室はなかった。ヒストグラムの最頻値に差があったウレアーゼ法とHPLC法の分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、有意水準1%で差が認められた。

この要因については、6) 尿素性窒素の分析手順に係る調査でウレアーゼ法の試料溶液の調整手順別に考察した。

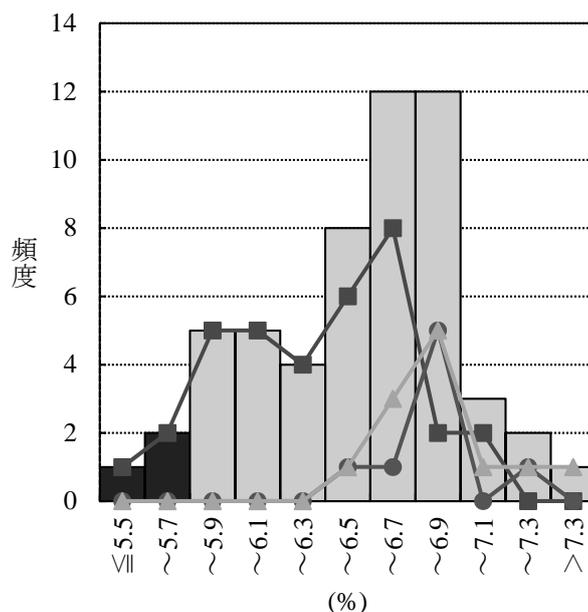
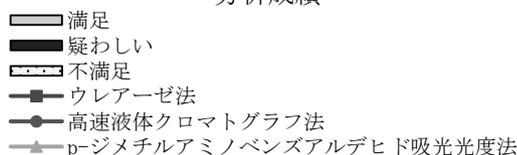


図3-11 化成肥料中の尿素性窒素の分析成績



(12) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)

参加 59 試験室のうち、38 試験室がふっ化カリウム法、19 試験室が過塩素酸法、2 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 4-1 に示す。平均値は 34.52 % (質量分率)、Median は 34.58 % (質量分率)、NIQR は 0.42 % (質量分率)であり、「満足」と評価された試験室は全体の 88 %となる 52 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 7 %にあたる 4 試験室であり、ふっ化カリウム法が 1 試験室、過塩素酸法が 2 試験室、ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった。ふっ化カリウム法及び過塩素酸法による試験成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認められなかった。

(13) 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分(AL)

参加 75 試験室のうち、59 試験室がフレイム原子吸光法、11 試験室が EDTA 法、5 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 4-2 に示す。平均値は 51.17 % (質量分率)、Median は 51.29 % (質量分率)、NIQR は 1.15 % (質量分率)であり、「満足」と評価された試験室は全体の 91 %となる 68 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 4 %にあたる 3 試験室が該当し、1 試験室が EDTA 法、2 試験室がフレイム原子吸光法を用いた。フレイム原子吸光法及び EDTA 法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認められなかった。

フレイム原子吸光法を用いた 59 試験室及び ICP 発光分光分析法を用いた 5 試験室の合計 64 試験室から S-CaO 及び S-MgO の分析値の報告を受けた。それらの試験成績の度数分布を図 4-3 及び図 4-4 に示す。S-CaO は平均値が 41.26% (質量分率)、Median が 41.35 % (質量分率)、NIQR が 1.30 % (質量分率)であり、「不満足」と評価された試験室は 1 試験室であった。一方、S-MgO は平均値が 7.22 % (質量分率)、Median が 7.17 % (質量分率)、NIQR が 0.16 % (質量分率)であり、「不満足」と評価された試験室は、全体の 6 %にあたる 4

試験室であった。

アルカリ分の分析は、試料溶液調製時に塩酸による煮沸抽出を行う際、分析試料がビーカーの底部に固結すると抽出不十分となり、低値の要因となるため注意する必要がある。

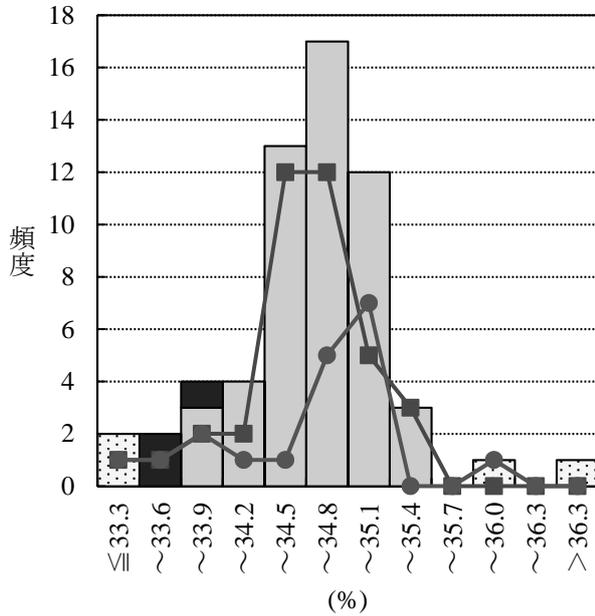


図4-1 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸の分析成績

不満足
 満足
 疑わしい
 ふっ化カリウム法
 過塩素酸法

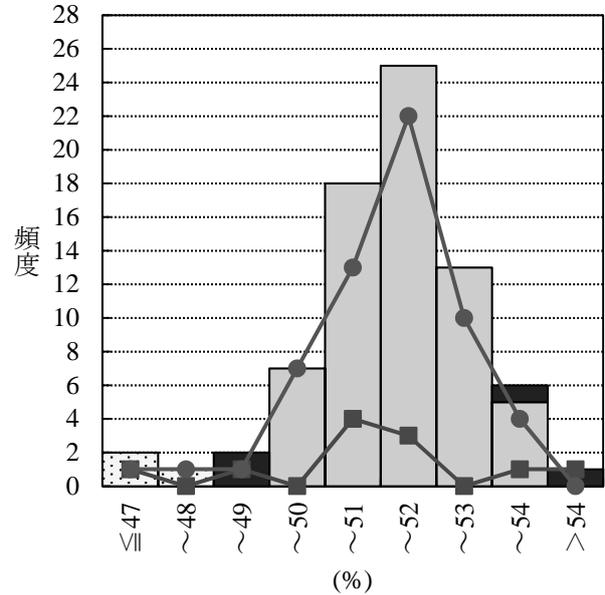


図4-2 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分の分析成績

不満足
 満足
 疑わしい
 EDTA法
 フレイム原子吸光法

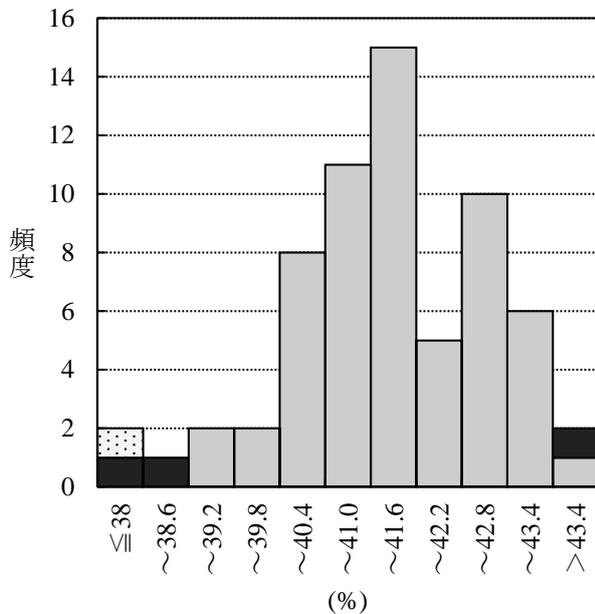


図4-3 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性石灰の分析成績

不満足
 満足
 疑わしい

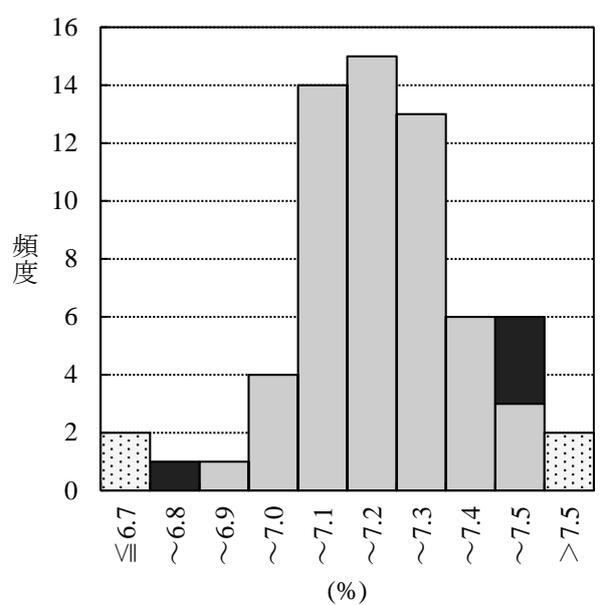


図4-4 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性苦土の分析成績

不満足
 満足
 疑わしい

(14) 鉍さいけい酸質肥料中のく溶性苦土(C-MgO)

参加 72 試験室のうち、64 試験室がフレイム原子吸光法を用い、3 試験室が EDTA 法、5 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 4-5 に示す。平均値は 7.07 % (質量分率)、Median は 7.12 % (質量分率)、NIQR は 0.16 % (質量分率) であり、「満足」と評価された試験室は全体の 86 % の 62 試験室であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 4 % にあたる 3 試験室が該当し、フレイム原子吸光法が 2 試験室、EDTA 法が 1 試験室であった。

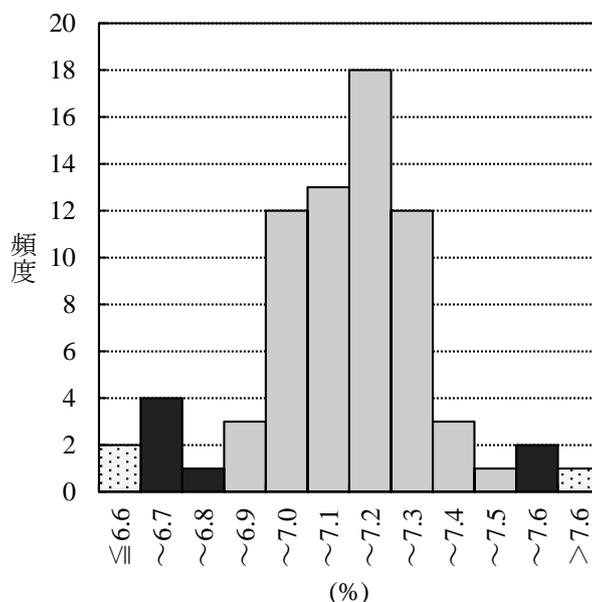


図4-5 鉍さいけい酸質肥料中のく溶性苦土の分析成績

不満足 疑わしい 満足

5) 使用機器に係る調査

今回の外部精度管理試験に参加した 156 試験室における分析機器の使用状況を調査した。

それぞれの分析機器を使用している、又は自試験室以外から借用して使用可能と思われると回答した試験室数及び全体における割合を表 6 に示した。いずれかの粉碎機は 128 試験室 (全体の 82 %) で使用され、天びん (最小表示 1 mg 以下) はほぼ全ての試験室で使用されていた。抽出に係る機器では、水溶性成分の抽出に用いる回転振り混ぜ機は 104 試験室 (全体の 67 %)、く溶性成分の抽出に用いる恒温回転振り混ぜ機は 74 試験室 (全体の 47 %) で使用されていた。精製に係る機器の使用試験室は、窒素の蒸留に用いる自動蒸留装置の 55 試験室 (全体の 35 %) が最も多かった。測定に係る機器は分光光度計が 139 試験室 (全体の 89 %)、次いで原子吸光分析装置が 131 試験室 (全体の 84 %) で使用されていた。これらのことから、主成分の品質管理で用いる粉碎、秤量、抽出、精製及び測定に係る機器が多くの試験室で使用されていることがうかがえた。

表6 分析機器の使用状況

	使用		借用可能		計	
	試験室数	割合 ^{a)}	試験室数	割合 ^{a)}	試験室数 ^{b)}	割合 ^{c)}
＜粉碎＞						
遠心型粉碎機	65	42	6	4	71	46
振動ミル型粉碎機	27	17	2	1	29	19
カッティングミル	41	26	3	2	44	28
その他の粉碎機	43	28	2	1	45	29
いずれかの粉碎機	128	82	2	7	130 ^{d)}	83
＜天びん＞						
天びん(最小表示0.1 mg)	132	85	1	1	133	85
天びん(最小表示1 mg)	68	44	4	3	72	46
その他の天びん(最小表示0.01 mg～0.1 g)	19	12	0	0	19	12
いずれかの天びん(最小表示1 mg以下)	151	97	5	3	151 ^{d)}	97
＜抽出＞						
回転振り混ぜ機	104	67	1	1	105	67
垂直往復振とう機	25	16	18	12	43	28
恒温回転振り混ぜ機	74	47	1	1	75	48
振とう恒温水槽	24	15	11	7	35	22
マグネチックスターラー	88	56	7	4	95	61
超音波発生器	33	21	10	6	43	28
マイクロ波分解装置	10	6	3	2	13	8
＜精製＞						
遠心分離器(3000 rpm程度)	44	28	15	10	59	38
高速遠心分離器(10000 rpm程度)	16	10	16	10	32	21
吸引ろ過装置(特注品)	27	17	2	1	29	19
吸引ろ過装置(桐山ロート)	27	17	5	3	32	21
吸引マニホールド	10	6	5	3	15	10
エバポレーター	16	10	20	13	36	23
ブロック式ケルダール分解装置	41	26	5	3	46	29
自動蒸留装置	55	35	6	4	61	39
＜測定＞						
分光光度計	139	89	1	1	140	90
炎光光度計(フレイム光度計)	56	36	5	3	61	39
原子吸光分析装置	131	84	5	3	136	87
連続流れ分析装置(フローインジェクション等)	16	10	7	4	23	15
イオンクロマトグラフ(IC)	23	15	9	6	32	21
高速液体クロマトグラフ(HPLC)	19	12	10	6	29	19
燃焼法全窒素測定装置	37	24	7	4	44	28

a) 使用している(又は借用可能と推測される)試験室数÷参加試験室数×100

b) 使用している, 又は使用可能と推測される試験室の合計

c) 使用している, 又は使用可能と推測される試験室の合計÷参加試験室数×100

d) いずれかの粉碎機(又は天びん)を使用している, 又は使用可能と推測される試験室数

表6 続き

	使用		借用可能		計	
	試験室数	割合 ^{a)}	試験室数	割合 ^{a)}	試験室数 ^{b)}	割合 ^{c)}
<測定>						
ICP発光分光分析装置(ICP-OES)	23	15	6	4	29	19
高周波プラズマ質量分析装置(ICP-MS)	9	6	6	4	15	10
ガスクロマトグラフ(GC)	10	6	15	10	25	16
ガスクロマトグラフ質量分析計(GCMS)	9	6	11	7	20	13
高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)	3	2	7	4	10	6
高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC-MS/MS)	6	4	5	3	11	7
水分計	55	35	13	8	68	44
自動滴定装置	42	27	4	3	46	29
<純水>						
純水製造装置	125	80	3	2	128	82
超純水製造装置	36	23	12	8	48	31
<検鏡>						
実体顕微鏡	29	19	20	13	49	31
光学顕微鏡	24	15	18	12	42	27

6) 尿素性窒素の分析手順に係る調査

今年度の外部精度管理試験の尿素性窒素(以下、U-N)の分析手順について、アンケートを実施した。試験方法別の分析成績を表7に示す。平均値について、ウレアーゼ法とHPLC法及び吸光光度法の間で0.5%程度の差があり、ウレアーゼ法とHPLC法について平均値の差による検定を行ったところ、有意水準1%で差が認められた。

ウレアーゼ法は、ウレアーゼ処理した試料液の窒素(以下、「ウレアーゼ処理窒素」という。)からウレアーゼ未処理の試料液の窒素(以下、「ウレアーゼ未処理窒素」という。)及び空試験値を差し引いて算出する。肥料等試験法(2018)及びそれ以外で多く見られた手順を表8に示した。肥料等試験法(2018)以外の手順では、9試験室がウレアーゼ処理窒素はろ液を、ウレアーゼ未処理窒素は試料を直接採取して蒸留した値を用いており、U-Nの平均値は肥料等試験法(2018)の手順より0.5%程度低かった。これはりん酸塩、マグネシウム及びアンモニウムを含む試料が形成する、水に難溶性の物質が要因と考えられる。この物質は水に難溶のため、ろ液にはほとんど含まれない。ろ液を用いたウレアーゼ処理窒素には難溶性物質に由来する窒素はほとんど抽出されておらず、試料を直接蒸留して難溶性物質に由来する窒素が抽出されたウレアーゼ未処理窒素の値を差し引いたことで、U-Nが低値となったと推測された。また、別の9試験室は、ウレアーゼ処理窒素は懸濁液を蒸留、ウレアーゼ未処理窒素は試料を直接蒸留した値を用いた。これは肥料分析法(1992)⁸⁾のウレアーゼ未処理窒素を通気法又はホルムアルデヒド法で実施するところを、蒸留法に代えたものと思われた。今回の試料においては、U-Nの平均値は肥料等試験法(2018)の手順と大きな差は認められなかった。なお、肥料等試験法(2018)のウレアーゼ法の分析成績について、HPLC法と平均値の差による検定をしたところ、有意水準5%で差が認められた。このことについては、今後データを集積し、注視する必要があると考えられた。

ウレアーゼ法においては、ウレアーゼ処理窒素及びウレアーゼ未処理窒素で同じ試料液を用いること、また、尿素的分解を防ぐためにアルカリ剤は酸化マグネシウムを使うことに注意が必要である。

表7 尿素性窒素の各試験方法における分析成績

試験方法	試験室数	平均値(%)
ウレアーゼ法	35	6.25
高速液体クロマトグラフ法	8	6.78
p-ジメチルアミノベンズアルデヒド吸光光度法	12	6.82

表8 ウレアーゼ法の分析手順による各成分の成績

	試験室数	ウレアーゼ処理窒素		ウレアーゼ未処理窒素		尿素性窒素平均値(%)
		試料液(測定方法)	平均値(%)	試料液(測定方法)	平均値(%)	
肥料等試験法(2018)	10	ろ液(蒸留法)	14.44	ろ液(蒸留法)	7.86	6.41
その他多く見られた手順	9	ろ液(蒸留法)	14.37	試料を直接蒸留	8.43	5.96
	9	懸濁液(蒸留法)	15.03	試料を直接蒸留	8.41	6.55

6. 総 括

2018年度外部精度管理のための共同試験は、化成肥料11成分に141試験室、鉍さいけい酸質肥料3成分に78試験室が参加した。各成分において各試験成績をロバスト法によるzスコアを用いて評価したところ、「満足(|z|≤2)」と評価された試験室の割合は82%～96%、「不満足(|z|≥3)」と評価された試験室の割合は0%～10%であった。複数の試験法による報告で8試験室以上が採用した方法間について平均値の差を検定したところ、アンモニア性窒素及び尿素性窒素において試験方法間で有意な差が認められた。このことについては、今後データを集積し、注視する必要があると考えられた。また、使用機器に係る調査では、主成分の品質管理で用いる粉碎、抽出、精製及び測定に係る機器が多く試験室で使用されていることがうかがえた。

肥料分析は熟練を要する実験操作が多く、機器の扱い等を含めて日々練度の向上に努める必要がある。更に危機管理の側面から、内部品質管理試験を取り入れて分析成績の管理を行うことで、一層試験室の信頼性は高まると考えられる。

謝 辞

この共同試験を実施するにあたり、試料の準備・調製、均質性試験等多大なご協力を賜りました、太陽肥料株式会社鹿島工場及びいなほ化工株式会社富山工場の関係者各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2017): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2017, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料認証標準物質の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>

- 3) ISO/IEC 17043 (2010): “Conformity assessment—General requirements for proficiency testing” (JIS Q 17043 : 2011, 「適合性評価—技能試験に対する一般要求事項」)
- 4) Thompson, Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **65** (9), 2123~2144 (1993)
- 5) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 6) 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 (2017)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo_2017.pdf>
- 7) 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 (2018)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo_2018.pdf>
- 8) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992 年版), 公益財団法人日本肥糧検定協会, 東京 (1992)

Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements in Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2018

Madoka KATO¹, Masayuki YOSHIMOTO², Masahiro ECHI³, Takao YAMAOKA⁴,
Takafumi KAMIKAWA⁵, Erika HIRATA⁶, Yuji SHIRAI¹, Norio HIKICHI⁷

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

² FAMIC, Sapporo Regional Center

³ FAMIC, Sendai Regional Center

⁴ FAMIC, Nagoya Regional Center

⁵ FAMIC, Kobe Regional Center

⁶ FAMIC, Fukuoka Regional Center (Now) FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department

⁷ Japan Fertilizer and Feed Inspection Association

A proficiency testing of analytical laboratories was conducted in fiscal year 2018, using reference materials of ground compound fertilizer and silicate slag fertilizer based on ISO/IEC 17043, “Conformity assessment—General requirements for proficiency testing”. Moisture (Mois), total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO), arsenic (As), cadmium (Cd), urea nitrogen (U-N) were analyzed using a compound fertilizer sample. Acid-soluble silicon (S-SiO₂), alkalinity (AL) and citric acid-soluble magnesium (C-MgO) were analyzed using a silicate slag fertilizer sample. Two homogenized samples were sent to the participants. From the 141 participants which received a ground compound fertilizer sample, 42~129 results were returned for each element. From the 78 participants which received a silicate slag fertilizer sample, 59~75 results were returned for each element. Data analysis was conducted according to the harmonized protocol for proficiency testing, revised cooperatively by the international standardizing organizations IUPAC, ISO, and AOAC International (2006). The ratios of the number of *z* scores between -2 and +2 to that of all scores were 82 %~96 % and the results from the satisfactory participants were almost normally distributed. The mean and the median of all elements slightly differed from each other. Where more than 7 results were returned, no significant difference was observed between the different methods used except for 2 elements (A-N and U-N).

Key words proficiency testing, compound fertilizer, silicate slug fertilizer, ISO/IEC 17043, *z* score

(Research Report of Fertilizer, **12**, 136~159, 2019)

11 2018年度 肥料認証標準物質の開発

— 汚泥発酵肥料 FAMIC-C-18 の調製 —

清水昭¹, 坂井田里子², 加藤まどか²,
大島舞弓³, 中村信仁⁴, 秋元里乃², 白井裕治²

キーワード 認証標準物質, 汚泥発酵肥料, 主要な成分, 有害成分, ISO Guide 31,
ISO Guide 35, 共同試験

1. はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)では, 安全な肥料の流通を確保するために立入検査を実施し, その際に収去した肥料の主成分及び有害成分の分析を実施しているが, これらの分析を行うにあたり試験法の信頼性確保が求められている. 従前より, 肥料生産事業場の品質管理室, 生産事業場からの分析依頼を受けた分析機関, 肥料検査機関等の試験室では, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のため, 管理試料又は肥料認証標準物質¹⁾による内部品質管理が日常的に行われ, 更に共通試料を用いた試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施している. 近年, 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 17025:2017(JIS Q17025:2018)²⁾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. その要求事項において, 試験所は結果の妥当性を監視する手順を有することが義務付けられており, その具体的手順の一つとして「標準物質又は品質管理用物質使用」があげられている.

現在, FAMICにおいては, 肥料認証標準物質 A(高度化成肥料), 肥料認証標準物質 B(普通化成肥料)及び肥料認証標準物質 C(汚泥発酵肥料)を調製・配布しており, これらの調製については国際的整合性確保のため ISO 17034:2016(JIS Q 17034:2018)³⁾の「7 技術及び生産に関する要求事項」を参考に調製することとし, ISO Guide 35:2006(JIS Q 0035:2008)⁴⁾を参考に解析を行った上で ISO Guide 31:2015(JIS Q 0031:2018)⁵⁾を参考に認証書及びラベルを作成しているところである. 2018年度は新たに肥料認証標準物質 C(FAMIC-C-18)を調製し, その主要な成分等について 11 試験室で共同試験を実施し, 認証値の値付けをしたので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 基材の選定

肥料認証標準物質 Cの基材として, 農業集落排水処理場から発生するし尿汚泥を原料とし, 30日程度発酵させた市販の汚泥発酵肥料を選定した.

なお, 基材の選定にあたり, 汚泥発酵肥料の公定規格に定める含有を許される有害成分(ひ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム, 鉛)の最大量に対して, 約 1/10 又はそれ以上含まれていることを予め確認の上, 2018

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

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部(現)農林水産省関東農政局

⁴ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部(現)仙台センター

年4月に選定した肥料を100 kg 程度購入した。

2) 認証標準物質候補の調製

購入した肥料は、FAMIC 肥飼料安全検査部土壌改良資材試験室に設置の定温乾燥器を使用し、65 °Cで5時間以上乾燥した。放冷後、同試料調整室に設置の超遠心粉砕機で、目開き500 μmのふるいを通すまで粉砕した。粉砕した肥料は、十分混合し、ガラス瓶に約120 g ずつ小分け後密封し、成分の長期安定化をはかるため、γ線照射滅菌を行い、「認証標準物質候補C」として調製した。

3) 試験項目

肥料取締法により汚泥肥料の保証票に含有量を記載する主要な成分(窒素全量、りん酸全量、加里全量、銅全量、亜鉛全量、石灰全量)及び「炭素窒素比」の算出に必要な有機炭素、並びに汚泥肥料の公定規格で許容基準が定められている有害成分(ヒ素、カドミウム、水銀、ニッケル、クロム、鉛)に水分を加えた計14項目を試験項目とした(表1)。

表1 肥料認証標準物質候補Cの試験成分及び試験法

試験成分	試験項目 番号 ^{a)}	試験法の概要	
		試料溶液調製方法等	測定方法
水分 (H ₂ O)	3.1.a	—	乾燥器による乾燥減量法
	3.1.b ^{b)}	—	水分計による乾燥減量法
窒素全量 (T-N)	4.1.1.a	ケルダール硫酸分解—蒸留	中和滴定法
	4.1.1.b ^{b)}	—	燃焼法
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	4.2.1.a	ケルダール硫酸分解	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法
		灰化-塩酸煮沸 灰化-王水分解 ^{b)}	
加里全量 (T-K ₂ O)	4.3.1.a	灰化-塩酸煮沸 灰化-王水分解 ^{b)}	フレイム原子吸光法又はフレイム光度法
		灰化-塩酸煮沸 灰化-王水分解 ^{b)}	
石灰全量 (T-CaO)	4.5.1.a	灰化-塩酸煮沸 灰化-王水分解 ^{b)}	フレイム原子吸光法
		灰化-塩酸煮沸 灰化-王水分解 ^{b)}	
有機炭素 (O-C)	4.11.1.a	二クロム酸酸化	酸化還元滴定法
	4.11.1.b ^{b)}	—	燃焼法
銅全量 (T-Cu)	4.10.1.a	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	4.10.1.b ^{b)}	灰化-王水分解	ICP発光分光分析法
亜鉛全量 (T-Zn)	4.9.1.a	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	4.9.1.b ^{b)}	灰化-王水分解	ICP発光分光分析法
ヒ素 (As)	5.2.a ^{b)}	硫酸-硝酸-過塩素酸分解	水素化物発生原子吸光法
	5.2.b	硫酸-硝酸-過塩素酸分解	ジエチルジチオカルバミン酸銀法
カドミウム (Cd)	5.3.a ^{b)}	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.3.b	灰化-王水分解	ICP発光分光分析法

a) 肥料等試験法(2018)の試験項目番号

b) 均質性試験で実施した試験項目等

表 1 続き

試験成分	試験項目 番号 ^{a)}	試験法の概要	
		試料溶液調製方法等	測定方法
水銀 (Hg)	5.1.a	硝酸-過塩素酸分解	還元気化原子吸光法
ニッケル (Ni)	5.4.a ^{b)}	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.4.b	灰化-王水分解	ICP発光分光分析法
クロム (Cr)	5.5.a ^{b)}	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.5.d	灰化-王水分解	ICP発光分光分析法
鉛 (Pb)	5.6.a ^{b)}	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.6.b	灰化-王水分解	ICP発光分光分析法

4) 分析方法

試験項目の試験法は、肥料等試験法⁶⁾を用いた。

5) 均質性確認試験

IUPAC の技能試験プロトコル⁷⁾の均質性試験に従い、「認証標準物質候補 C」(450 本)からランダムに 10 試料を抜き取って均質性確認試験用試料とし、それぞれの試験成分を 2 点併行でランダムな順序で試験して均質性確認試験の成績とし、その成績を解析して試料の均質性を確認した。

6) 共同試験

本標準物質の認証値を設定するため、以下の 12 試験室による共同試験を実施した。各試験室に調製した試料から試験用として 2 本を配布し、それぞれの試料について日を変えて 3 点併行で試験を実施した。測定値の報告値は、水分、窒素全量 (T-N)、りん酸全量 (T-P₂O)、加里全量 (T-K₂O)、石灰全量 (T-CaO) 及び有機炭素 (O-C) は試験成績を % で表し、有効数字 4 桁目を四捨五入して有効数字 3 桁目までとした。これら以外の成分は試験成績を mg/kg で表し、有効数字 4 桁目を四捨五入して有効数字 3 桁目までとした。

・共同試験参加試験室 (五十音順)

一般社団法人 岐阜県公衆衛生検査センター

株式会社 那須環境技術センター

公益財団法人 日本肥糧検定協会 関西支部

公益財団法人 日本肥糧検定協会 本部

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

株式会社 北陸環境科学研究所

3. 結果及び考察

1) 均質性確認試験

均質性の判定は、IUPACの技能試験プロトコル⁷⁾を参考に次の手順で実施した。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。次に、全ての均質性確認試験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})等を表 2 に示した。さらに、肥料等試験法⁶⁾に示されている室間再現精度の目安($CRSD_R$)及びそれらから算出(式 1)した室間再現標準偏差の目安($\hat{\sigma}_R$)を表 2 に示した。

次に、技能試験プロトコルに記載されている“十分に均質”の判定式(式 2)を用いて各試験項目の s_{bb} と対応する $0.3\hat{\sigma}_R$ を比較したところ、水分以外の成分において判定式(式 2)を満たしていた。このことから、肥料認証標準物質 C は十分に均質であると判定した。なお、参考のため、式 3 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、いずれの成分の s_{b+r} も $\hat{\sigma}_R$ と比較して小さい値であった。

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

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 2)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_r^2 + s_{bb}^2} \quad \dots (式 3)$$

$\hat{\sigma}_R$: 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

表 2 均質性確認試験の結果

試験成分	試料数 ^{a)}	平均値 ^{b)} (%) ¹⁾	s_r ^{c)} (%) ¹⁾	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	s_{bb} ^{f)} (%) ^{k)}	s_{b+r} ^{g)} (%) ^{k)}	RSD_{b+r} ^{h)} (%)	$CRSD_R$ ⁱ⁾ (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{j)} (%) ¹⁾	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{k)} (%) ¹⁾
水分(H ₂ O)	10 (0)	6.86	0.24	3.5	2	0.11	0.27	3.9	4	0.274	0.082
窒素全量(T-N)	10 (0)	4.82	0.02	0.4	2	0.004	0.02	0.4	4	0.193	0.058
りん酸全量(T-P ₂ O ₅)	10 (0)	4.68	0.02	0.4	2	0.01	0.02	0.5	4	0.187	0.056
加里全量(T-K ₂ O)	10 (0)	0.128	0.004	2.8	3	0.000	0.004	2.8	6	0.008	0.002
石灰全量(T-CaO)	10 (0)	1.58	0.05	3.0	2	0.00	0.05	3.0	4	0.063	0.019
有機炭素(O-C)	10 (0)	36.8	0.4	1.0	1	0.0	0.4	1.0	2.5	0.921	0.276

a) 外れ値除外後の試料数,

g) 併行精度を含む試料間標準偏差

()の値はCochran検定により外れ値となった試料数

$$s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$$

b) 総平均値(外れ値除外後の試料数×2点併行分析)

h) 併行精度を含む試料間相対標準偏差

c) 併行標準偏差

i) 室間再現相対標準偏差の目安

d) 併行相対標準偏差

j) i)から算出した推定室間再現標準偏差

e) 併行相対標準偏差の目安

k) 均質性の判定(s_{bb} の評価)のためのパラメータ

f) 試料間標準偏差

l) 質量分率

表 2 続き

試験成分	試料数 ^{a)}	平均値 ^{b)} (mg/kg)	s_r ^{c)} (mg/kg)	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	s_{bb} ^{f)} (mg/kg)	s_{b+r} ^{g)} (mg/kg)	RSD_{b+r} ^{h)} (%)	$CRSD_R$ ⁱ⁾ (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{j)} (mg/kg)	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{k)} (mg/kg)
銅全量(T-Cu)	10 (0)	976	12	1.2	4	0	12	1.2	8	78	23
亜鉛全量(T-Zn)	10 (0)	1570	8	0.5	3	0	8	0.5	6	94	28
砒素(As)	10 (0)	12.3	0.8	6.8	6	0.0	0.8	6.8	11	1.4	0.4
カドミウム(Cd)	10 (0)	1.96	0.03	1.4	8	0.00	0.03	1.4	16	0.31	0.09
水銀(Hg)	10 (0)	0.782	0.093	11.9	11	0.000	0.093	11.9	22	0.172	0.052
ニッケル(Ni)	10 (0)	26.9	1.0	3.6	6	0.2	1.0	3.6	11	3.0	0.9
クロム(Cr)	10 (0)	43.7	3.3	7.6	6	0.0	3.3	7.6	11	4.8	1.4
鉛(Pb)	10 (0)	26.2	0.9	3.5	6	0.0	0.9	3.5	11	2.9	0.9

2) 共同試験成績

各試験室から報告された共同試験成績を表 3 に示した。各試験成分の試験成績について ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁸⁾を参考に統計処理することとし、試験成績の外れ値を検出するために、Cochran 検定及び Grubbs 検定⁷⁾を実施し、有意水準 1 %の外れ値を除外した。Cochran 検定及び Grubbs 検定での棄却数は参加試験室の 2/9⁹⁾までとした。

表3 共同試験成績 (質量分率%)

試験項目	試験室 ^{a)}	一回目			二回目		
		測定値	測定値	測定値	測定値	測定値	測定値
水分	A	6.53	6.52	6.43	6.43	6.48	6.39
	B	6.07	6.01	6.15	6.02	6.08	6.03
	C	6.86	6.89	6.89	6.59	6.59	6.63
	D	6.64	6.70	6.67	6.90	6.95	6.92
	E	7.17	7.14	7.07	6.94	6.89	6.83
	F	7.12	7.06	7.04	6.92	6.92	6.84
	G	7.15	6.87	6.98	7.19	7.26	7.37
	H	7.58	7.46	7.36	7.22	7.18	7.24
	I	6.85	6.87	6.18	6.87	6.79	6.74
	J	6.68	6.68	6.62	6.67	6.62	6.64
	K	6.41	6.88	6.54	7.36	7.31	7.24
窒素全量	A	4.97	5.16	4.93	5.04	4.81	4.99
	B	5.37	5.37	5.38	5.44	5.44	5.38
	C	4.89	4.89	4.89	4.89	4.88	4.89
	D	4.63	4.61	4.61	4.63	4.62	4.62
	E	4.98	4.96	5.04	4.88	4.83	4.88
	F	4.80	4.87	4.86	4.85	4.86	4.85
	G	4.96	4.98	4.95	4.94	4.94	4.93
	H	4.81	4.80	4.80	4.82	4.82	4.84
	I	4.63	4.77	4.69	4.69	4.72	4.72
	J	4.87	4.89	4.88	4.85	4.84	4.85
	K	4.82	4.83	4.86	4.81	4.85	4.85
りん酸全量	A	4.73	4.69	4.73	4.72	4.68	4.71
	B	4.95	4.87	4.93	4.94	4.89	4.95
	C	4.60	4.60	4.60	4.59	4.60	4.56
	D	4.59	4.59	4.58	4.55	4.54	4.57
	E	4.49	4.46	4.58	4.62	4.61	4.63
	F	4.51	4.49	4.50	4.48	4.50	4.50
	G	4.69	4.70	4.66	4.66	4.66	4.65
	H	4.72	4.70	4.68	4.74	4.72	4.72
	I	4.62	4.60	4.62	4.68	4.67	4.67
	J	4.63	4.62	4.63	4.58	4.60	4.60
	K	4.67	4.67	4.66	4.68	4.69	4.66

a) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

c) Cochran検定による外れ値

d) Grubbs検定による外れ値

表3 続き

(質量分率%)

試験項目	試験室 ^{a)}	一回目			二回目		
		測定値	測定値	測定値	測定値	測定値	測定値
加里全量	A	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
	B	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
	C	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
	D	0.12	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12
	E	0.13	0.14	0.14	0.13	0.13	0.13
	F	0.12	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
	G	0.13	0.14	0.13	0.13	0.13	0.13
	H	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
	I	0.11	0.10	0.11	0.12	0.12	0.12
	J	0.12	0.12	0.11	0.12	0.12	0.12
	K	0.13	0.13	0.12	0.13	0.13	0.12
石灰全量	A	1.71	1.70	1.72	1.75	1.74	1.74
	B	1.82	1.83	1.77	1.84	1.80	1.80
	C	1.65	1.64	1.65	1.64	1.64	1.63
	D	1.59	1.60	1.60	1.69	1.68	1.71
	E	1.73	1.74	1.74	1.75	1.76	1.74
	F	1.63	1.63	1.63	1.69	1.70	1.71
	G	1.78	1.81	1.89	1.73	1.73	1.71
	H	1.66	1.68	1.78	1.73	1.73	1.74
	I	1.66	1.69	1.68	1.62	1.62	1.63
	J	1.52	1.53	1.55	1.56	1.58	1.62
	K	1.58	1.60	1.64	1.48	1.48	1.48
有機炭素	A	37.70	37.00	37.40	37.80	37.40	37.10
	B	38.10	37.60	37.10	37.50	37.30	38.10
	C	37.10	37.30	37.20	37.10	37.10	37.20
	D	37.50	37.50	37.60	37.70	37.60	37.60
	E	36.90	37.20	36.90	37.40	37.30	37.20
	F	37.40	37.10	37.50	37.20	37.10	37.50
	G	37.30	37.70	37.30	37.10	37.40	37.50
	H	36.90	37.30	37.00	37.40	37.10	37.50
	I	36.70	36.70	36.50	36.70	37.30	36.20
	J	36.40	36.70	36.20	36.40	36.40	36.40
	K	37.80	38.70	37.30	37.50	37.90	37.70

表 3 続き

		(mg/kg)					
銅全量	A	1060	1020	1050	1030	1040	1030
	B	951	943	921	968	976	944
	C	969	977	974	967	974	973
	D	853	840	842	882	889	870
	E	1050	1020	1020	987	998	1000
	F	869	839	863	877	879	865
	G	972	977	968	943	976	951
	H	959	966	957	966	961	901
	I	933	900	924	922	925	918
	J	965	958	963	966	968	972
	K	983	982	953	950	957	940
亜鉛全量	A	1670	1630	1680	1630	1640	1630
	B	1560	1550	1530	1570	1570	1550
	C	1520	1530	1540	1540	1550	1550
	D	1390	1390	1390	1410	1430	1420
	E	1600	1580	1520	1530	1530	1510
	F	1520	1510	1510	1490	1430	1470
	G	1570	1600	1570	1550	1590	1550
	H	1690	1690	1690	1750	1740	1660
	I	1550	1550	1560	1550	1540	1550
	J	1550	1560	1550	1570	1560	1570
	K	1590	1570	1580	1600	1610	1600
ひ素	A	12.5	12.0	12.7	12.2	13.0	12.8
	B	12.6	12.7	12.8	12.8	12.7	12.3
	C	11.9	11.1	12.0	12.5	12.9	12.9
	D	9.76	10.2	9.84	10.2	9.58	9.88
	E	13.9	13.8	14.0	12.7	12.5	13.1
	F	14.5	14.5	14.3	14.5	14.7	14.3
	G	15.7	14.3	14.8	14.5	14.4	14.6
	H	12.4	12.7	12.6	12.9	11.9	13.3
	I	12.6	12.1	11.2	13.8	13.4	13.8
	J	13.2	13.2	13.5	13.0	13.6	13.9
	K	13.0	13.3	13.5	13.5	13.3	12.9
カドミウム	A	1.88	1.88	1.82	1.88	1.84	1.84
	B	1.77	1.81	1.79	1.80	1.82	1.80
	C	1.84	1.78	1.84	1.90	1.89	1.87
	D	1.86	1.84	1.84	1.80	1.82	1.87
	E	1.94	1.94	1.94	1.94	1.86	1.79
	F	1.90	2.05	1.91	1.92	1.99	1.90
	G	1.90	1.90	1.90	1.93	1.90	1.90
	H	1.89	1.83	1.89	1.93	1.88	1.88
	I	1.81	1.78	1.80	1.96	1.92	1.92
	J	1.93	1.90	1.90	1.88	1.89	1.89
	K	1.96	1.99	1.96	1.90	1.93	1.87

		表 3 続き					(mg/kg)	
水銀	A	0.952	0.963	0.952	1.03	0.955	0.943	
	B	0.895	0.856	0.949	1.03	1.02	0.958	
	C	0.961	0.936	1.03	0.841	0.805	1.24 ^{b)}	
	D	0.686	0.694	0.723	0.663	0.658	0.666	
	E	0.838	0.830	0.842	0.862	0.840	0.848	
	F	0.906	0.829	0.857	0.825	0.874	0.958	
	G	0.943	0.963	0.892	0.861	0.857	0.843	
	H	0.956	0.960	0.941	0.942	0.859	0.886	
	I	0.826	0.910	0.978	1.06	1.08	0.895	
	J	0.856	0.884	0.886	0.880	0.870	0.916	
	K	0.834	0.854	0.771	0.864	0.862	0.795	
ニッケル	A	26.5	26.9	26.3	25.2	25.6	25.8	
	B	25.2	25.7	25.3	25.5	25.4	25.4	
	C	25.9	26.6	25.8	26.0	26.1	25.7	
	D	21.5	21.5	21.7	19.8	19.6	21.8	
	E	31.6	31.6	30.6	30.6	30.3	30.4	
	F	23.1	23.2	23.2	23.4	23.4	23.1	
	G	25.5	25.2	25.4	23.3	23.7	23.9	
	H	26.1	25.0	25.1	26.2	26.1	25.9	
	I	24.7	23.8	24.2	26.7	25.7	26.2	
	J	25.6	25.6	25.7	25.2	26.0	25.6	
	K	26.7	26.5	26.4	26.2	26.1	26.0	
クロム	A	42.7	46.1	43.8	41.4	43.4	43.7	
	B	41.2	41.0	41.1	41.1	40.1	42.2	
	C	50.2	54.9	50.3	50.2	49.1	49.8	
	D	41.1	40.5	40.2	42.0	40.7	42.2	
	E	44.9	44.1	44.3	47.0	46.5	46.0	
	F	42.3	41.0	41.3	46.4	41.6	42.5	
	G	48.7	48.7	49.1	49.4	53.1	52.2	
	H	46.4	45.5	44.6	50.1	51.6	50.5	
	I	44.7	40.6	41.9	47.4	45.8	46.3	
	J	47.8	46.3	47.8	46.0	46.6	46.7	
	K	43.8	42.4	42.4	51.9	51.9	51.9	
鉛	A	27.1	26.1	25.1	25.1	25.4	25.3	
	B	24.5	24.9	25.3	25.6	25.6	25.5	
	C	26.4	26.1	25.8	26.4	26.2	26.4	
	D	24.0	24.0	24.3	27.0	26.6	27.5	
	E	27.7	27.6	26.6	26.5	27.5	27.6	
	F	24.1	24.6	24.7	24.4	23.9	24.0	
	G	25.9	25.4	25.9	26.1	25.5	25.7	
	H	26.1	25.4	25.6	26.0	26.2	26.1	
	I	23.6	22.5	23.0	24.7	24.4	25.2	
	J	26.1	26.4	26.2	25.9	25.8	26.0	
	K	28.2	25.4	25.6	27.9	28.4	28.1	

3) 共同試験成績の評価

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値, 室内標準偏差(s_W :同一試験室で日を変えて試験を実施していることから日間変動を含む), 室間再現標準偏差(s_R), 室間再現相対標準偏差(RSD_R)及び肥料等試験法における室間再現相対標準偏差の目安($CRSD_R$)⁶⁾を表4に示した.

表4 共同試験成績の解析結果

試験成分	試験室数 ^{a)}	平均値 ^{b)} (%) ^{g)}	s_W ^{c)} (%) ^{g)}	s_R ^{d)} (%) ^{g)}	RSD_R ^{e)} (%)	$CRSD_R$ ^{f)} (%)
水分(H ₂ O)	10	6.79	0.19	0.39	5.7	4
窒素全量(T-N)	9	4.83	0.05	0.20	4.2	4
りん酸全量(T-P ₂ O ₅)	10	4.66	0.03	0.11	2.5	4
加里全量(T-K ₂ O)	11	0.124	0.004	0.009	7.6	6
石灰全量(T-CaO)	11	1.68	0.04	0.09	5.5	4
有機炭素(O-C)	11	37.2	0.3	0.5	1.3	2.5

a) 解析に用いた試験室数

b) 総平均値(n =試験室数×併行試験数(3)
×試験日数(2))

c) 室内標準偏差(日間変動を含む)

d) 室間再現標準偏差

e) 室間再現相対標準偏差

f) 肥料等試験法における室間
再現相対標準偏差の目安

g) 質量分率

表4 続き

試験成分	試験室数 ^{a)}	平均値 ^{b)} (mg/kg)	s_W ^{c)} (mg/kg)	s_R ^{d)} (mg/kg)	RSD_R ^{e)} (mg/kg)	$CRSD_R$ ^{f)} (mg/kg)
銅全量(T-Cu)	11	951	17	55	5.8	8
亜鉛全量(T-Zn)	11	1560	23	80	5.1	6
砒素(As)	10	12.9	0.5	1.3	10.5	11
カドミウム(Cd)	11	1.88	0.04	0.06	3.1	16
水銀(Hg)	10	0.880	0.067	0.104	11.8	22
ニッケル(Ni)	11	25.4	0.6	2.4	9.6	11
クロム(Cr)	11	45.6	2.3	4.0	8.7	11
鉛(Pb)	11	25.7	0.8	1.3	4.9	11

4) 認証値及び不確かさ

ISO Guide 31:2015 (JIS Q 0031:2018)⁵⁾において認証標準物質の認証書の必須内容として要求されている認証値及び不確かさを表5に示した. また, ISO Guide 33:2000 (JIS Q 0033:2002)¹⁰⁾において肥料認証標準物質の使用にあたり必要となる参考データ(共同試験における室内標準偏差, 室間再現標準偏差及び解析に用いた試験室数)を同表に示した.

(1) 拡張不確かさの算出方法

共同試験の総平均値の標準不確かさ(u)はISO/TS 21748:2017 (JIS Z 8404-1:2018)¹¹⁾に従い, 共同試験の室内標準偏差(s_W), 室間再現標準偏差(s_R), 試験室数($p=9\sim 11$)及び各試験室での繰返し試験数($n=6$)から, (a)式により求めた. 平均値の不確かさは, 拡張不確かさとし, 標準不確かさ(u)を有効数字1桁に丸め, そ

れに包含係数(k)を乗じて求め((b)式), 肥料等試験法における定量下限の桁に丸めた. なお, 包含係数(k)については正規分布の信頼水準約 95 %に相当する $k=2$ とした.

$$\text{標準不確かさ}(u) = \sqrt{\frac{(s_R^2 - s_W^2) + \frac{s_W^2}{n}}{p}} \quad \dots (a)$$

$$\text{拡張不確かさ}(U_{95\%}) = k \times u \quad \dots (b)$$

s_R : 室間再現標準偏差

s_W : 室内標準偏差

n : 共同試験の室内繰返し試験数($n = 6$)

p : 共同試験の試験室数

k : 包含係数($k = 2$)

(2) 認証値の決定方法

全ての試験項目の室間再現精度(RSD_R)は許容される範囲($CRSD_R$ の 2.0 倍)内であることから, 水分を除く 13 成分を認証することとした(表 5).

なお, 水分は認証値とせず参考情報(表 6)として提供することとした.

認証値は肥料等試験法における定量下限の桁に丸めて¹²⁾表示することとした.

表 5 認証書に記載する項目

成分	認証する項目		参考データ		
	認証値 (%) ^{e)}	拡張不確かさ ^{a)} (%) ^{e)}	s_W ^{b)} (%) ^{e)}	s_R ^{c)} (%) ^{e)}	試験室数 ^{d)}
窒素全量(T-N)	4.83	0.12	0.05	0.2	9
りん酸全量(T-P ₂ O ₅)	4.66	0.07	0.03	0.1	10
加里全量(T-K ₂ O)	0.12	0.01	0.004	0.01	11
石灰全量(T-CaO)	1.68	0.06	0.04	0.09	11
有機炭素(O-C)	37.2	0.2	0.3	0.5	11

a) 包含係数($k=2$)

b) 室内標準偏差

c) 室間再現標準偏差

d) 解析に用いた試験室数

e) 質量分率

表 5 続き

成分	認証する項目		参考データ		
	認証値 (mg/kg)	拡張不確かさ ^{a)} (mg/kg)	s_w ^{b)} (mg/kg)	s_R ^{c)} (mg/kg)	試験室数 ^{d)}
銅全量(T-Cu)	950	30	20	60	11
亜鉛全量(T-Zn)	1560	50	20	80	11
砒素(As)	12.9	0.8	0.5	1	10
カドミウム(Cd)	1.9	0.02	0.04	0.06	11
水銀(Hg)	0.88	0.05	0.07	0.10	10
ニッケル(Ni)	25	1.4	0.6	2	11
クロム(Cr)	46	2	2	4	11
鉛(Pb)	26	0.6	0.8	1	11

表 6 認証書に参考情報として掲載する項目

成分	参考値	拡張不確かさ ^{a)}	s_w ^{b)}	s_R ^{c)}	試験室数 ^{d)}
	(%) ^{e)}	(%) ^{e)}	(%) ^{e)}	(%) ^{e)}	
水分(H ₂ O)	6.8	0.2	0.2	0.4	10

脚注は表5を参照

5) 認証標準物質の有効期限

前ロットの肥料認証標準物質 FAMIC-C-12-2(汚泥発酵肥料)は、長期安定性の評価のための試験結果¹³⁾を踏まえ、認証値の再値付け(水銀(Hg)及び鉛(Pb))から4年半後の2020年6月末まで安定している。このことから、「認証標準物質候補C」の有効期限は、4年半後の2023年6月末に設定することとした。

また、販売開始後も継続的に安定性モニタリングを実施し、安定性に問題があった成分については、認証値から参考値にするなどの処置を行うこととする。

6) 本認証標準物質の使い方

ISO/IEC 17025:2017(JIS Q17025:2018)²⁾では、結果の妥当性の確保において、実行可能な場合、結果のレビューに統計的な手法を適用することを要求している。

このことから、参考資料として「本認証標準物質(FAMIC C 18)の使い方¹⁴⁾」を認証書の見本¹⁵⁾とともに「肥料分析標準試料の配布申請手続き¹⁾」に掲載し、FAMICにおいて採用している内部品質管理手順及びERMアプリケーションノートで示されている手順とそれぞれの判断基準を示した。

4. まとめ

本年度は肥料認証標準物質として汚泥発酵肥料Cを調製し、その認証値の設定のための共同試験を行い、ISO Guide 35:2006(JIS Q 0035:2008)⁴⁾を参考に解析し、ISO Guide 31:2015(JIS Q 0031:2018)⁵⁾の要求事項に基づいて認証書及びラベルを作成した。これらのことについて、肥料認証標準物質調製部会の審議を受けて承認された後、2019年4月より肥料認証標準物質FAMIC-C-18の配布を開始した。

肥料の認証標準物質は、国内には他に作製している例がなく、また、国外で利用されている肥料認証標準物質は我が国の特有の肥料成分及びその試験方法が網羅されていない。このような観点から、この標準物質が肥

料分析の信頼性確保に貢献するところは大きいものと期待される。

謝 辞

肥料認証標準物質の開発において、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構安井明美博士、内藤成弘博士、国立研究開発法人産業技術総合研究所黒岩貴芳博士、公益財団法人日本肥糧検定協会今川俊明博士、全国農業協同組合連合会相崎万裕美博士、及び一般財団法人日本食品分析センター伊佐川聡博士にはご指導いただき感謝いたします。また、共同試験にご協力いただいた一般社団法人岐阜県公衆衛生センター、株式会社那須環境技術センター、公益財団法人日本肥糧検定協会、株式会社北陸環境科学研究所の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料分析標準試料の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 2) ISO/IEC 17025 (2017): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025: 2018, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 3) ISO 17034 (2016): “General requirements for the competence of reference material producers” ((JIS Q 17034:2018, 「標準物質生産者の能力に関する一般要求事項」)
- 4) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035: 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 5) ISO Guide 31 (2015): “Reference materials—Contents of certificates and labels” (JIS Q 0031: 2018, 「標準物質—認証書及びラベルの内容」)
- 6) 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 (2018)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2018.pdf>
- 7) Thompson, M., R. Ellison, S. Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 8) ISO 5725-2 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of standard measurement method” (JIS Z 8402-2: 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度)—第2部: 標準測定方法の併行精度及び再現精度を求めるための基本方法」)
- 9) Horwitz, W. Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Collaborative Studies. *Pure & Appl. Chem.*, **60**(6), 855-864 (1988)
- 10) ISO Guide 33 (2000): “Uses of certified reference materials” (JIS Q 0033: 2002, 「認証標準物質の使い方」)
- 11) ISO/TS 21748 (2017): “Measurement uncertainty—Part 1: Guidance for the use of repeatability reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation” (JIS Z 8404-1 :2018, 「測定の不確かさ-第1部: 測定の不確かさの評価における併行精度, 再現精度及び真度の推定値の利用の指針」)
- 12) ISO 31-0 (1992): “Quantities and units—Part 0: General principles, Annex B (Informative) (Guide to the rounding of numbers)” (JIS Z 8401 : 1999, 「数値の丸め方」)

- 13) 稲葉茂幸, 川口伸司, 神川孝文, 船木紀夫, 山西正将, 井上直, 白井裕治:2018 年度 肥料認証標準物質の開発 —高度化成肥料 FAMIC-A-13, 普通化成肥料 FAMIC-B-14, 汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12-2 及び高度化成肥料 FAMIC-A-17 の長期安定性評価—, 肥料研究報告, **12**, 175~195 (2019)
- 14) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC):本認証標準物質 (FAMIC C 18)の使い方 <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/mihon_18c.pdf>
- 15) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC):肥料認証標準物質 C 汚泥発酵肥料 FAMIC-C-18 認証書(見本) <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/tukaikata_18_c.pdf>

Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components, Organic Carbon and Harmful Components: Sludge Fermented Fertilizer (FAMIC-C-18)

Akira SHIMIZU¹, Satoko SAKAIDA², Madoka KATO²,
Mayu OSHIMA³, Nobuhito NAKAMURA⁴, Satono AKIMOTO² and Yuji SHIRAI²

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

² FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department (Now) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
Kanto Regional Agricultural Administration Office

⁴ FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department (Now) FAMIC, Sendai Regional Center

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has developed a certified reference material (CRM): sludge fermented fertilizer (FAMIC-C-18), for analysis of major components, organic carbon and harmful components. FAMIC-C-18 was certified for the contents of total nitrogen (T-N), total phosphoric acid(T-P₂O₅), total potassium (T-K₂O), total copper(T-Cu), total zinc(T-Zn), total lime(T-CaO), organic carbon(O-C), arsenic(As), cadmium(Cd), mercury(Hg), nickel(Ni), chromium(Cr) and lead(Pb). In addition, it is stated as a reference value that moisture content (H₂O). The certified values were obtained from a statistical analysis of the results of a collaborative study on the chemical analysis of the candidate for CRM. Eleven laboratories participated in this study, in a statistical analysis of data which were reported from participants, outliers were removed by Cochran test and Grubbs test, followed by the usual statistical procedure. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components, organic carbon and harmful components in sludge fermented fertilizer.

Key words certified reference material (CRM), sludge fermented fertilizer, major component, harmful component, ISO Guide 31, ISO Guide 35, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **12**, 160~174, 2019)

12 2018年度 肥料認証標準物質の開発

—高度化成肥料 FAMIC-A-13, 普通化成肥料 FAMIC-B-14,
汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12-2 及び高度化成肥料 FAMIC-A-17 の長期安定性評価—

稲葉茂幸¹, 川口伸司¹, 神川孝文¹,
船木紀夫¹, 山西正将², 井上直¹, 白井裕治³

キーワード 認証標準物質, 肥料, 主成分, 有害成分, ISO Guide 35, 長期安定性

1. はじめに

安全な肥料の流通を確保するために独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)が行っている立入検査において収去した肥料の主成分および有害成分の分析は不可欠であり, その試験成績には信頼性の確保が求められている. 従前から, 肥料生産事業場の品質管理室, 生産事業場から分析依頼を受けた民間分析機関, 肥料検査機関等の試験所では, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質¹⁾による内部品質管理が日常的に行われている. 近年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 17025:2017(JIS Q 17025:2018)²⁾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. その要求事項には, 試験所は結果の妥当性を監視する手順を有することが義務付けられており, その具体的手順の一つとして「標準物質又は品質管理用物質使用」があげられている.

また, 現在 FAMIC においては, 肥料認証標準物質 A(高度化成肥料 FAMIC-A-13 及び FAMIC-A-17), 同 B(普通化成肥料 FAMIC-B-14) 及び同 C(汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12-2) (以下, それぞれ「標準物質 A-13」「標準物質 A-17」「標準物質 B-14」「標準物質 C-12-2」という.) を調製^{3)~7)}, 頒布しており(表 1) (「標準物質 A-13」は, 頒布終了), これらの調製については国際的整合性確保のため ISO 17034:2016(JIS Q 17034:2018)⁸⁾の「7 技術及び生産に関する要求事項」を参考に調製することとし, ISO Guide 35:2006(JIS Q 0035:2008)⁹⁾を参考に解析を行った上で ISO Guide 31:2015(JIS Q 0031:2018)¹⁰⁾を参考に認証書及びラベルを作成しているところである. 2018 年度は, 標準物質 A-13, A-17, B-14 及び C-12-2 の長期安定性について, 在庫試料を用い認証値設定時からの認証成分のモニタリングを実施したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 安定性のモニタリング

(1) 試験計画

ISO Guide 35:2006(JIS Q 0035:2008)⁹⁾では, 認証標準物質の保管期間中, モニタリングを実施して安定性を確認することが望まれている. 安定性の検討については, 終了時点でのデータを提供する同時期測定型安定性試験及び保存期間中にデータが得られる従来型安定性試験の二つの基本的実験方法がある. 同時に調製

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

² 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 (現)肥飼料安全検査部

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

した認証標準物質の保存期間の経時的なデータが必要なことから、後者の方法を長期安定性のモニタリングの方法として選択した。この従来型安定性試験を実施するため、次の a)～f) を FAMIC 神戸センターで計画した。

- a) 分析用試料・・・標準物質 A-13, B-14, C-12-2 及び A-17 の在庫から、それぞれランダムに 1 本を抜き取った試料。
- b) 試験成分・・・認証されたすべての成分(表 1 参照)。
- c) 試験方法・・・認証値設定の共同試験で使用された肥料等試験法¹¹⁾(表 3A, 表 3B 及び表 3C を参照)。
- d) 試験時期・・・標準物質 A-13 は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、7 ヶ月後、13 ヶ月後、19 ヶ月後、25 ヶ月後、31 ヶ月後、37 ヶ月後、43 ヶ月後、49 ヶ月後及び 61 ヶ月後。標準物質 B-14 は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、4 ヶ月後、10 ヶ月後、16 ヶ月後、22 ヶ月後、28 ヶ月後、34 ヶ月後、40 ヶ月後、46 ヶ月後。標準物質 C-12-2 は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、8 ヶ月後、14 ヶ月後、20 ヶ月後、26 ヶ月後、32 ヶ月後、38 ヶ月後、44 ヶ月後、50 ヶ月後、56 ヶ月後、62 ヶ月後、68 ヶ月後及び 74 ヶ月後。標準物質 A-17 は、認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、9 ヶ月後及び 15 ヶ月後。
- e) 試験室・・・単一試験室(FAMIC 神戸センター)。
- f) 安定性の評価・・・分析時の調製日から経過時間(月数)及びその測定時の分析値の平均値について、JIS Q 0035:2008 付属書 B.5 を参考に解析。

表 1 肥料認証標準物質の概要

名称	種類	原料組成	認証成分	有効期限
FAMIC-A-13	高度化成肥料	尿素, 硫酸アンモニア, リン酸アンモニア, 塩化加里, 副産苦土肥料, 熔成微量元素複合肥料, リン酸, アンモニア	窒素全量, アンモニア性窒素, <溶性りん酸, 水溶性加里, <溶性苦土, <溶性マンガ, <溶性ほう素(全7成分)	2018年 6月末
FAMIC-B-14	普通化成肥料	硫酸アンモニア, 過りん酸石灰, 塩化加里	アンモニア性窒素, 可溶性りん酸, 水溶性りん酸, 水溶性加里, ひ素, カドミウム, ニッケル(全7成分)	2021年 6月末
FAMIC-C-12-2	汚泥発酵肥料	下水汚泥, 食品工業汚泥, 動物質原料	窒素全量, リン酸全量, 加里全量, 銅全量, 亜鉛全量, 石灰全量, 有機炭素, ひ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム, 鉛(全13成分)	2020年 6月末
FAMIC-A-17	高度化成肥料	りん酸アンモニア, 硫酸アンモニア, 尿素, 塩化加里, 軽焼マグネシア, ほう酸塩肥料, 熔成微量元素複合肥料	窒素全量, アンモニア性窒素, <溶性りん酸, <溶性加里, <溶性苦土, <溶性マンガ, <溶性ほう素, 水溶性ほう素, 尿素性窒素(全9成分)	2023年 6月末

(2) モニタリングの実施

表2 神戸センターのモニタリング試験実施時期

標準物質名	認証値 設定時	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目	8回目	9回目	10回目	11回目	12回目	13回目
FAMIC-A-13	2013年9月 ～11月	2014年4 月～5月	2014年10 月～11月	2015年4 月～5月	2015年10 月～11月	2016年4 月～5月	2016年10 月～11月	2017年4 月～5月	2017年10 月～11月	2018年10 月～11月	-	-	-
FAMIC-B-14	2014年12月 ～2015年1 月	2015年4 月～5月	2015年10 月～11月	2016年4 月～5月	2016年10 月～11月	2017年4 月～5月	2017年10 月～11月	2018年4 月～5月	2018年10 月～11月	-	-	-	-
FAMIC-C-12-2	2012年8月 ～10月	2013年4 月～5月	2013年10 月～11月	2014年4 月～5月	2014年10 月～11月	2015年4 月～5月	2015年10 月～11月	2016年4 月～5月	2016年10 月～11月	2017年4 月～5月	2017年10 月～11月	2018年4 月～5月	2018年10 月～11月
FAMIC-A-17	2017年7月 ～9月	2018年4 月～5月	2018年10 月～11月	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表2の各試験時とも未開封の標準物質 A-13, 標準物質 B-14, 標準物質 C-12-2 及び標準物質 A-17 各 1 瓶を用いて, 試験成分毎に 2 点併行試験を行った。

報告値の桁数は, 標準物質 A-13, B-14 及び A-17 については, 有害成分(As, Cd, Hg, Ni, Pb), C-MnO, C-B₂O₃ 及び W-B₂O₃ の試験成績は有効数字 3 桁, それ以外の成分は, 小数点以下 2 桁とした。標準物質 C-12-2 については, T-Cu 及び T-Zn の試験成績は整数, それ以外の成分について有効数字 3 桁とした。また, 報告値は, 現状の認証値と同様に水分換算しない濃度(有姿濃度)とした。

表3A 標準物質A-13, A-17の試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目 番号 ¹⁾	試験法の概要	
		試料液調製方法	測定方法
窒素全量(T-N)	4.1.1.a	ケルダール分解－蒸留	中和滴定法
	4.1.1.b	—	燃焼法
アンモニア性窒素(A-N)	4.1.2.b	塩酸(1+20)抽出	ホルムアルデヒド添加/ 中和滴定法
く溶性りん酸(C-P ₂ O ₅)	4.2.3.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム 発色/吸光光度法
く溶性加里(C-K ₂ O)	4.3.2.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	フレイム原子吸光法 又はフレイム光度法
水溶性加里(W-K ₂ O)	4.3.3.a	水抽出	フレイム原子吸光法 又はフレイム光度法
く溶性苦土(C-MgO)	4.6.2.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	フレイム原子吸光法
く溶性マンガン(C-MnO)	4.7.2.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	フレイム原子吸光法
く溶性ほう素(C-B ₂ O ₃)	4.8.1.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	アゾメチンH発色/ 吸光光度法
			アゾメチンH発色/ 吸光光度法
水溶性ほう素(W-B ₂ O ₃)	4.8.2.a	水抽出	アゾメチンH発色/ 吸光光度法
尿素性窒素(U-N)	6.3.b	水抽出	高速液体クロマトグラフ法

1) 肥料等試験法の試験項目番号。

2) 標準物質A-13は, く溶性加里, 水溶性ほう素, 尿素性窒素を除く。標準物質A-17は, 水溶性加里を除く。

表3B 標準物質B-14の試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目		試験法の概要	
	番号 ¹⁾	試料液調製方法	測定方法	
アンモニア性窒素 (A-N)	4.1.2.a	蒸留	中和滴定法	
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	4.2.2.a	水抽出／ペーテルマンくえん酸塩溶液抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法	
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	4.2.4.a	水抽出	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法	
水溶性加里 (W-K ₂ O)	4.3.3.a	水抽出	フレイム原子吸光法 又はフレイム光度法	
ひ素 (As)	5.2.a	硫酸－硝酸－過塩素酸分解	水素化物発生原子吸光法	
カドミウム (Cd)	5.3.a	王水分解	フレイム原子吸光法	
ニッケル (Ni)	5.4.a	王水分解	フレイム原子吸光法	

脚注は表3Aを参照.

表3C 標準物質C-12-2の試験成分及び試験方法

試験成分	試験項目		試験法の概要	
	番号 ¹⁾	試料液調製方法	測定方法	
窒素全量 (T-N)	4.1.1.a	ケルダール分解－蒸留	中和滴定法	
	4.1.1.b	－	燃焼法	
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	4.2.1.a	ケルダール硫酸分解／王水分解	バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光光度法	
加里全量 (T-K ₂ O)	4.3.1.a	王水分解／塩酸煮沸	フレイム原子吸光法又はフレイム光度法	
石灰全量 (T-CaO)	4.5.1.a	王水分解／塩酸煮沸	フレイム原子吸光法	
有機炭素 (O-C)	4.11.1.a	二クロム酸酸化	酸化還元滴定法	
銅全量 (T-Cu)	4.10.1.	王水分解	フレイム原子吸光法	
亜鉛全量 (T-Zn)	4.9.1.a	王水分解	フレイム原子吸光法	
ひ素 (As)	5.2.a	硫酸－硝酸－過塩素酸分解	水素化物発生原子吸光法	
カドミウム (Cd)	5.3.a	王水分解	フレイム原子吸光法	
水銀 (Hg)	5.1.a	硝酸－過塩素酸分解	還元気化原子吸光法	
ニッケル (Ni)	5.4.a	王水分解	フレイム原子吸光法	
クロム (Cr)	5.5.a	王水分解	フレイム原子吸光法	
鉛 (Pb)	5.6.a	王水分解	フレイム原子吸光法	

脚注は表3Aを参照.

3. 結果

1) 安定性のモニタリング

(1) モニタリング成績

標準物質 A-13, 標準物質 B-14, 標準物質 C-12-2 及び標準物質 A-17 の試験成分の安定性試験成績を表 4A①～表 4C に示した. 標準物質 A-13 の試験期間の 61 ヶ月後, 標準物質 B-14 の試験期間の 46 ヶ月後, 標準物質 C-12-2 の試験期間の 74 ヶ月後及び標準物質 A-17 の試験期間の 15 ヶ月後までに実施した各経過月及び各試験成分の試験成績の平均値を図 A13～図 C12-2 に示し, 更に警戒限界及び処置限界を描いた. なお, 内部品質管理のために実施した併行試験の繰返し数 (n) 並びに認証値 (μ), 室内標準偏差 (s_w) 及び室間再現標準偏差 (s_R) を用いて (a) 式, (b) 式及び (c) 式により, 技能評価のための標準偏差, 警戒限界及び処置限界を求めた¹²⁾. その結果, 標準物質 A-13, 標準物質 B-14, 標準物質 C-12-2 及び標準物質 A-17 の安定性試験成績の平均値は, いずれの試験成分も警戒限界の範囲内であった.

$$\text{技能評価のための標準偏差}(\sigma) = \sqrt{(s_R^2 - s_W^2) + \frac{s_W^2}{n}} \quad \dots (a)$$

$$\text{平均値に対する警戒限界} = \mu \pm 2\sigma \quad \dots (b)$$

$$\text{平均値に対する処置限界} = \mu \pm 3\sigma \quad \dots (c)$$

n : 長期安定試験の併行試験数

s_R : 共同試験で得られた室間再現標準偏差

s_W : 共同試験で得られた室内標準偏差

μ : 認証値

表4A① 標準物質A-13の安定性モニタリング試験成績 (質量分率%)

経過月	窒素全量 (T-N)		アンモニア性 窒素 (A-N)		可溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)		水溶性加里 (W-K ₂ O)	
	0	14.90	14.94	10.58	10.60	10.74	10.77	13.00
7	14.80	14.82	10.22	10.54	10.68	10.81	13.04	13.14
13	14.80	14.83	10.44	10.49	10.85	10.87	12.87	12.89
19	14.87	14.93	10.72	10.77	10.72	10.76	13.02	13.11
25	14.74	15.06	10.39	10.70	10.67	10.80	13.12	13.27
31	14.65	14.75	10.53	10.58	10.66	10.70	12.93	13.01
37	14.70	14.79	10.51	10.52	10.80	10.89	12.90	12.92
43	14.94	15.01	10.48	10.49	10.69	10.79	12.92	12.95
49	14.65	14.70	10.47	10.49	10.67	10.69	12.92	13.19
61	14.73	14.78	10.55	10.62	10.82	10.82	13.03	13.16

表4A① (続き)

(質量分率%)

経過月	可溶性苦土 (C-MgO)		可溶性マンガン (C-MnO)		可溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	
	0	3.18	3.29	0.359	0.381	0.214
7	3.16	3.27	0.357	0.368	0.194	0.208
13	3.26	3.35	0.348	0.370	0.196	0.204
19	3.17	3.22	0.363	0.363	0.201	0.203
25	3.11	3.19	0.345	0.367	0.207	0.214
31	3.23	3.26	0.371	0.388	0.192	0.202
37	3.12	3.17	0.329	0.347	0.199	0.206
43	3.19	3.22	0.352	0.363	0.210	0.210
49	3.10	3.13	0.337	0.346	0.194	0.199
61	3.21	3.22	0.349	0.351	0.197	0.201

表4A② 標準物質A-17の安定性モニタリング試験成績 (質量分率 %)

経過月	窒素全量 (T-N)		アンモニア性窒素 (A-N)		く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)		く溶性加里 (C-K ₂ O)	
	0	13.92	14.03	11.62	11.64	13.20	13.32	13.76
9	13.99	14.03	11.70	11.74	13.39	13.44	13.38	14.32
15	14.01	14.02	11.94	12.11	13.24	13.36	13.95	13.99

表4A② (続き)

(質量分率 %)

経過月	く溶性苦土 (C-MgO)		く溶性マンガン (C-MnO)		く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)		水溶性ほう素 (W-B ₂ O ₃)		尿素性窒素 (U-N)	
	0	3.44	3.47	0.298	0.318	0.568	0.583	0.444	0.462	2.14
9	3.42	3.44	0.289	0.303	0.561	0.567	0.452	0.464	2.28	2.31
15	3.52	3.54	0.309	0.318	0.561	0.578	0.445	0.453	2.29	2.33

表4B 標準物質B-14の安定性モニタリング試験成績 (質量分率 %)

経過月	アンモニア性窒素 (A-N)		可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)		水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)		水溶性加里 (W-K ₂ O)	
	0	7.94	8.09	9.13	9.14	6.66	6.74	8.18
4	7.98	7.98	9.18	9.23	6.77	6.79	8.15	8.16
10	7.96	8.01	9.12	9.13	6.65	6.67	8.28	8.29
16	8.01	8.05	9.19	9.26	6.65	6.66	8.23	8.27
22	8.02	8.06	9.25	9.33	6.72	6.77	8.17	8.47
28	7.98	8.00	9.10	9.13	6.69	6.71	8.17	8.28
34	7.93	8.03	9.10	9.11	6.69	6.73	8.27	8.54
40	7.89	8.02	9.21	9.23	6.66	6.67	8.07	8.30
46	7.93	7.95	9.27	9.28	6.74	6.76	8.17	8.18

表4B (続き)

(mg/kg)

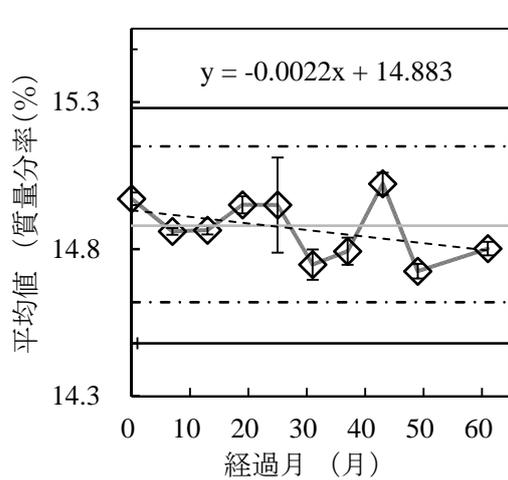
経過月	砒素 (As)		カドミウム (Cd)		ニッケル (Ni)	
	0	3.01	3.23	3.92	4.11	36.7
4	2.96	3.07	4.26	4.27	37.7	37.7
10	2.93	2.96	4.15	4.19	36.9	37.8
16	2.88	2.97	4.17	4.19	36.9	37.1
22	2.91	2.98	3.95	3.99	38.1	39.0
28	3.01	3.08	3.70	3.78	36.3	36.6
34	3.06	3.10	4.43	4.44	38.3	39.1
40	2.94	2.99	4.29	4.38	37.2	37.2
46	2.94	2.98	4.04	4.14	37.4	38.1

経過月	窒素全量 (T-N)		りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)		加里全量 (T-K ₂ O)		石灰全量 (T-CaO)		有機炭素 (O-C)	
	0	4.77	4.79	8.64	8.64	0.607	0.619	5.99	6.03	20.4
8	4.57	4.75	8.46	8.49	0.553	0.561	5.76	5.82	20.0	20.1
14	4.71	4.78	8.52	8.53	0.560	0.564	6.03	6.08	20.1	20.9
20	4.67	4.72	8.59	8.59	0.538	0.541	5.84	6.17	20.7	20.8
26	4.67	4.69	8.56	8.61	0.572	0.573	6.20	6.30	20.2	20.3
32	4.79	4.80	8.62	8.63	0.583	0.588	5.62	5.66	20.1	20.3
38	4.80	4.81	8.72	8.76	0.610	0.614	5.90	5.95	20.2	20.4
44	4.62	4.69	8.53	8.57	0.524	0.532	5.42	5.44	20.4	20.9
50	4.63	4.66	8.73	8.76	0.611	0.623	5.78	5.78	19.0	19.2
56	4.58	4.61	8.48	8.54	0.605	0.608	5.79	5.87	19.9	20.2
62	4.58	4.61	8.59	8.60	0.570	0.579	5.77	5.82	19.3	19.5
68	4.63	4.69	8.60	8.64	0.560	0.579	5.85	5.90	19.8	20.0
74	4.66	4.69	8.70	8.72	0.608	0.611	6.12	6.14	20.4	20.5

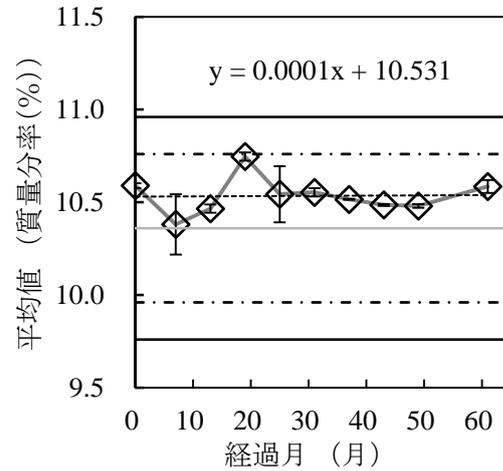
経過月	銅全量 (T-Cu)		亜鉛全量 (T-Zn)		砒素 (As)		カドミウム (Cd)	
	0	583	587	963	991	22.1	22.5	1.81
8	575	591	991	992	19.2	20.3	1.83	1.85
14	567	586	1,015	1,015	20.7	21.1	1.79	1.82
20	582	582	982	988	21.8	22.1	1.78	1.78
26	545	547	991	996	22.9	23.1	1.84	1.90
32	561	575	1,000	1,004	22.4	22.9	1.82	1.82
38	570	571	985	996	22.7	22.9	1.77	1.79
44	567	569	981	992	21.7	21.9	1.83	1.83
50	571	579	1001	1003	19.8	20.0	1.82	1.88
56	587	589	996	1002	21.4	23.7	1.85	1.91
62	554	561	997	1006	21.1	21.6	1.77	1.82
68	575	577	998	1007	20.4	20.5	1.72	1.81
74	572	574	983	999	22.1	22.9	1.83	1.85

表4C (続き)

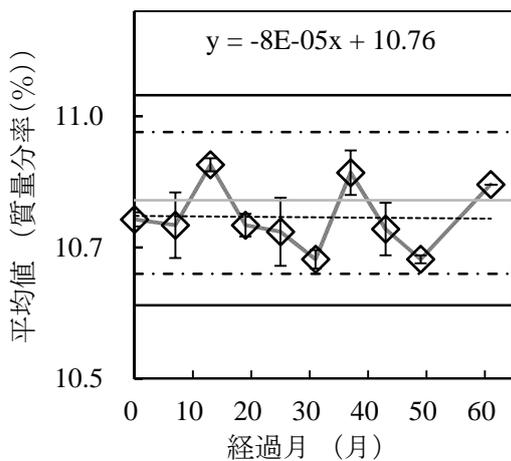
経過月	水銀 (Hg)		ニッケル (Ni)		クロム (Cr)		鉛 (Pb)	
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
0	0.464	0.470	73.3	74.3	78.6	81.2	36.4	36.5
8	0.448	0.478	74.2	74.6	80.5	80.5	35.1	35.1
14	0.443	0.473	78.3	78.7	75.4	79.4	36.1	36.9
20	0.511	0.514	72.7	74.3	81.8	82.9	35.3	35.3
26	0.501	0.503	73.3	73.4	86.6	88.5	35.4	35.9
32	0.462	0.479	77.3	77.4	80.4	81.2	36.0	36.0
38	0.506	0.514	74.7	74.9	79.1	79.4	35.3	35.8
44	0.488	0.509	71.6	72.6	79.5	80.2	35.3	35.7
50	0.483	0.520	75.9	76.3	83.1	84.0	35.5	36.0
56	0.466	0.476	76.1	76.3	80.5	82.1	36.8	37.3
62	0.466	0.476	74.3	74.4	77.2	79.3	34.6	35.1
68	0.489	0.501	73.2	75.5	80.8	83.5	34.8	35.8
74	0.512	0.522	74.0	74.6	78.8	81.0	36.1	36.9



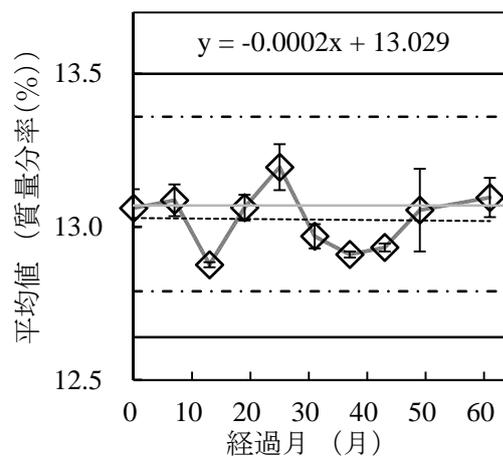
1. 標準物質A13(窒素全量)



2. 標準物質A13(アンモニア性窒素)



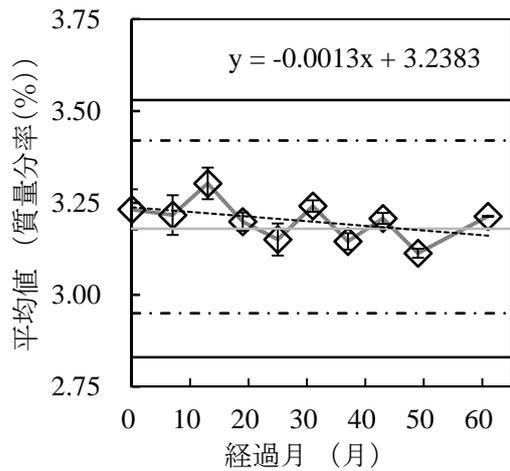
3. 標準物質A13(く溶性りん酸)



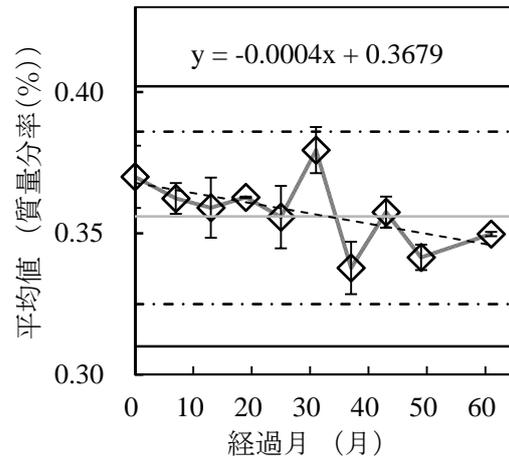
4. 標準物質A13(水溶性加里)

図 A13 標準物質 A13 のモニタリング試験成績

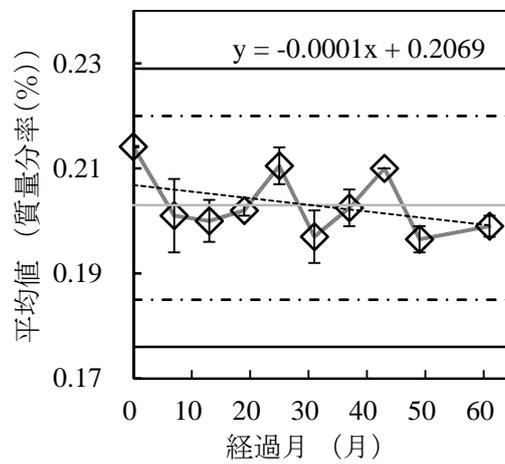
◇: 平均値 エラーバー: 測定値の幅 破線: 回帰直線
 実線: 上下処置線 一点鎖線: 上下警戒線 灰色実線: 認証値



5. 標準物質A13(く溶性苦土)

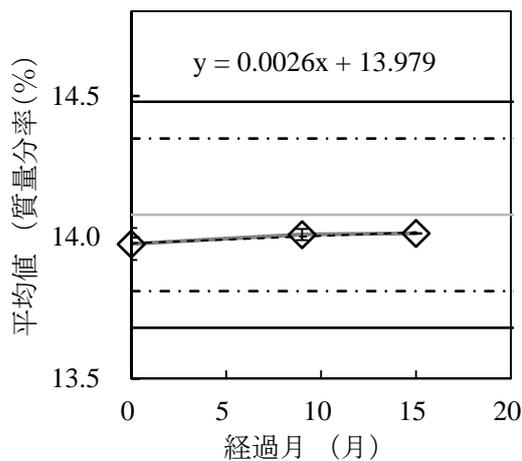


6. 標準物質A13(く溶性マンガ)

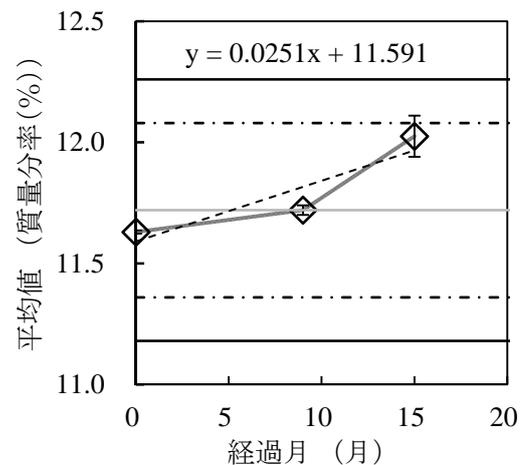


7. 標準物質A13(く溶性ほう素)

図 A13 (続き)

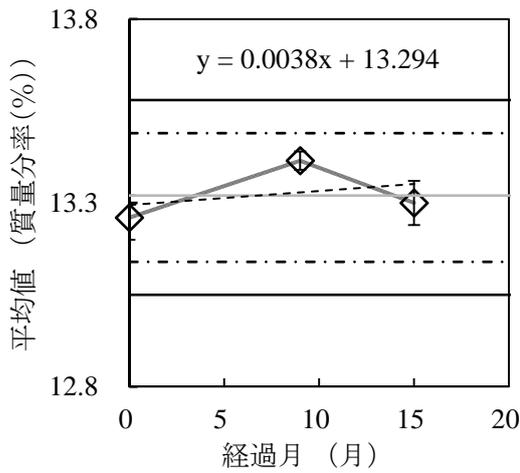


1. 標準物質A17(窒素全量)

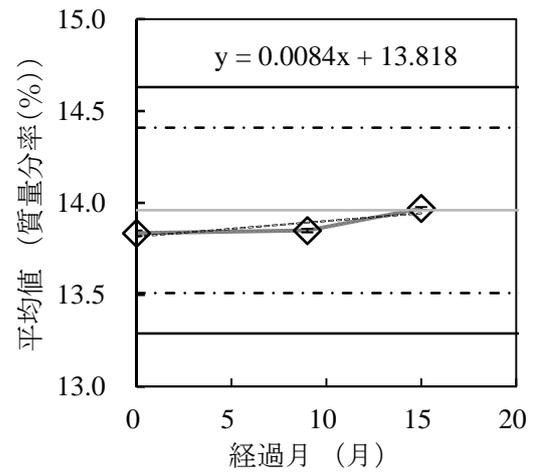


2. 標準物質A17(アンモニア性窒素)

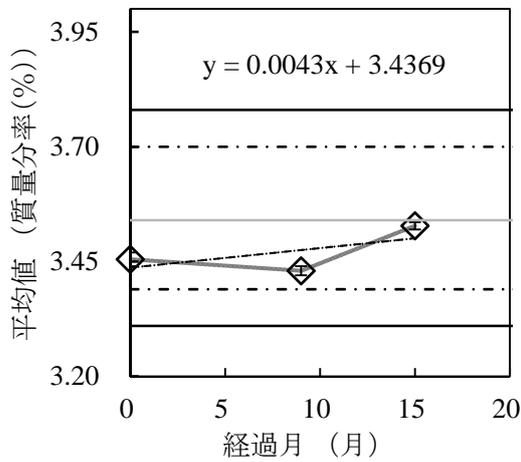
図 A17 標準物質 A17 のモニタリング試験成績
(脚注は図 A13 参照)



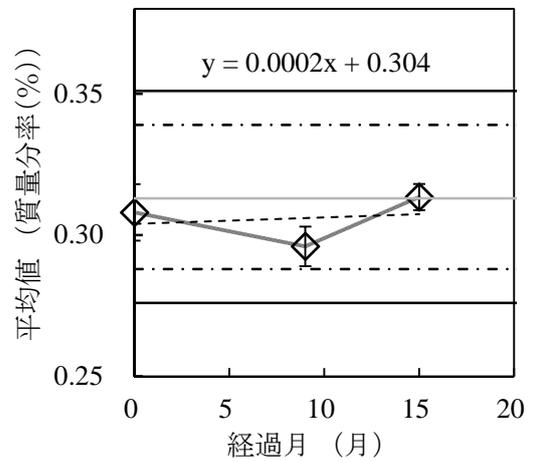
3. 標準物質A17(く溶性りん酸)



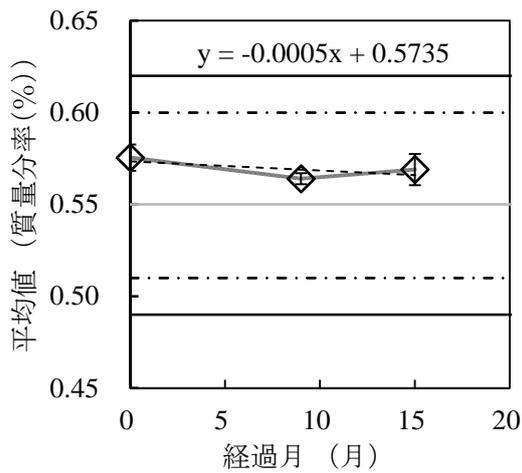
4. 標準物質A17(く溶性加里)



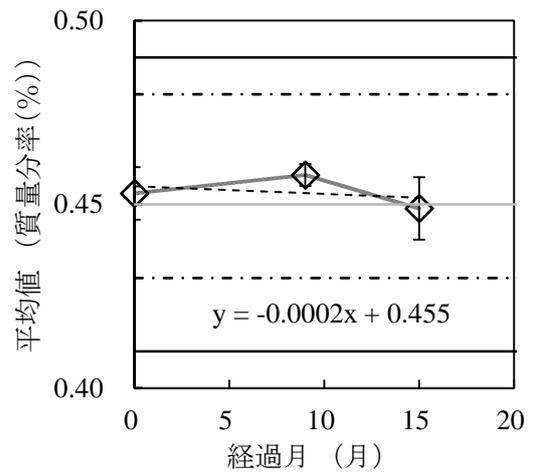
5. 標準物質A17(く溶性苦土)



6. 標準物質A17(く溶性マンガン)

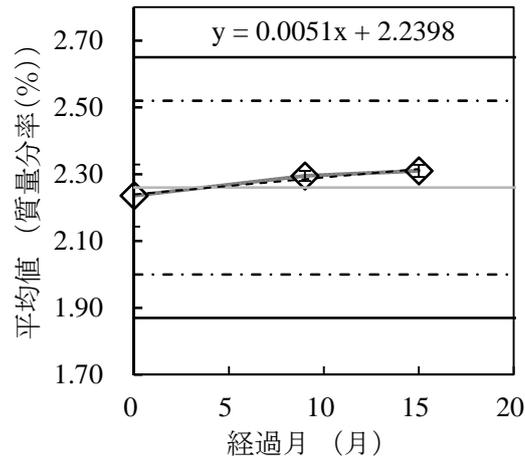


7. 標準物質A17(く溶性ほう素)



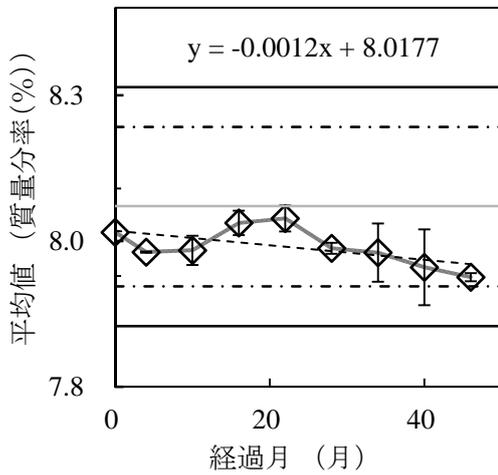
8. 標準物質A17(水溶性ほう素)

図 A17 (続き)

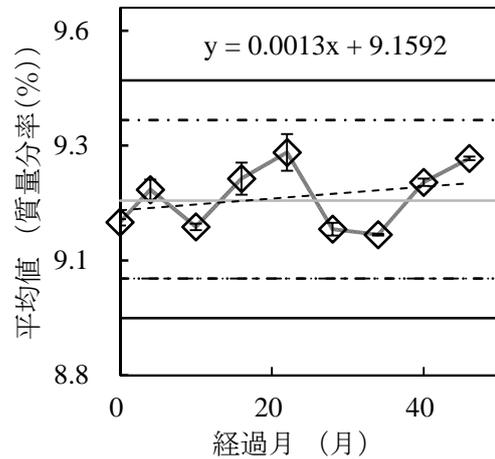


9. 標準物質A17(尿素性窒素)

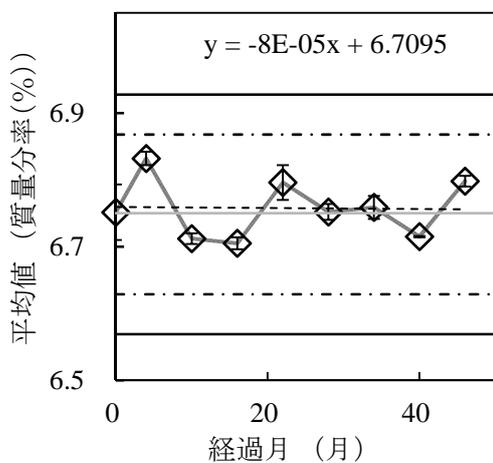
図 A17 (続き)



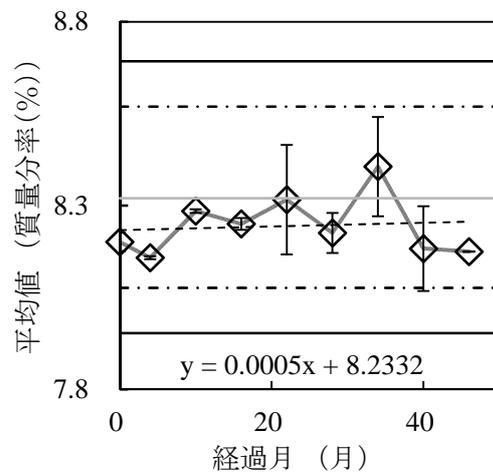
1. 標準物質B14(アンモニア性窒素)



2. 標準物質B14(可溶性りん酸)



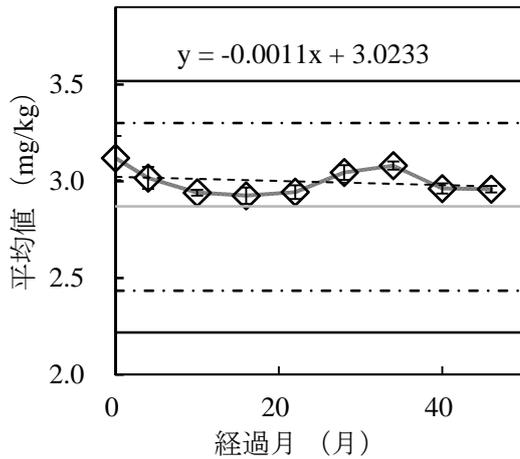
3. 標準物質B14(水溶性りん酸)



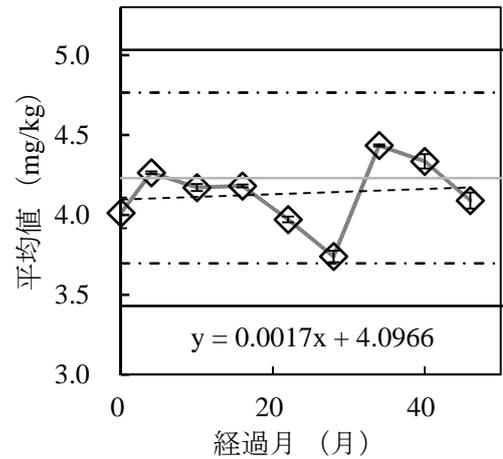
4. 標準物質B14(水溶性加里)

図 B14 標準物質 B14 のモニタリング試験成績

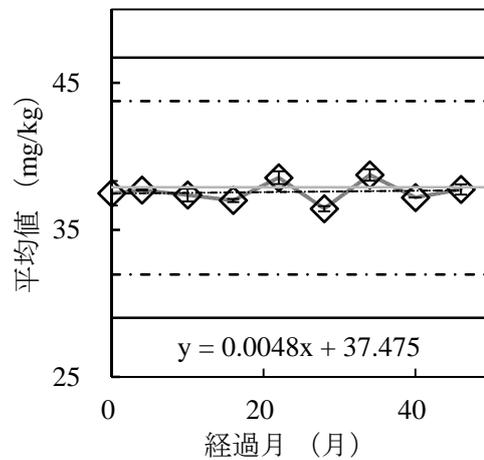
(脚注は図 A13 参照)



5. 標準物質B14(ヒ素)

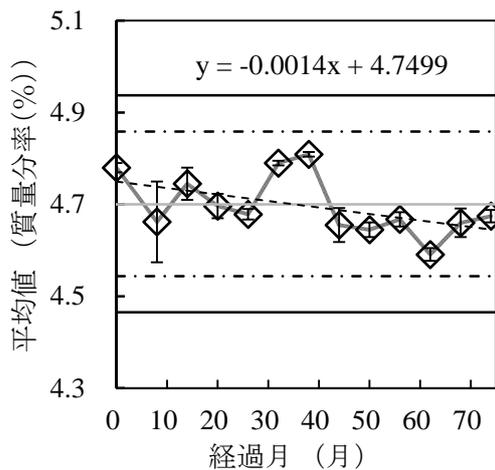


6. 標準物質B14(カドミウム)

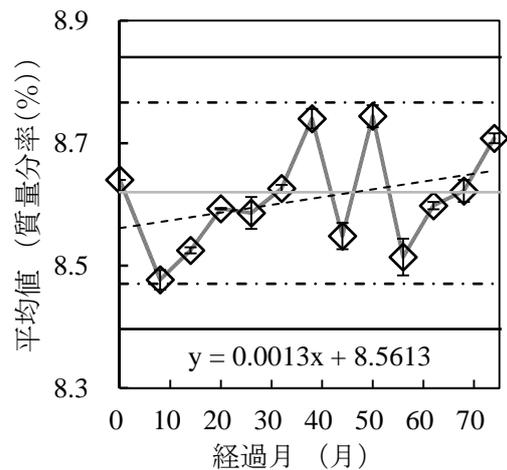


7. 標準物質B14(ニッケル)

図 B14 (続き)



1. 標準物質C12-2(窒素全量)



2. 標準物質C12-2(りん酸全量)

図 C12-2 標準物質 C12-2 のモニタリング試験成績

(標準物質 C12-2(水銀), (鉛)は再認証したため経過月 44 ヶ月以降, 認証値, 警戒限界, 処置限界が変更. その他脚注は図 A13 参照)

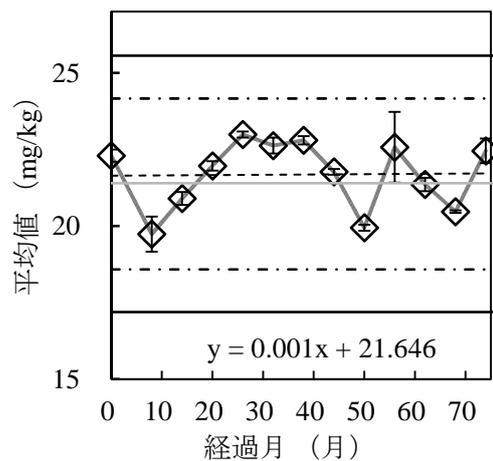
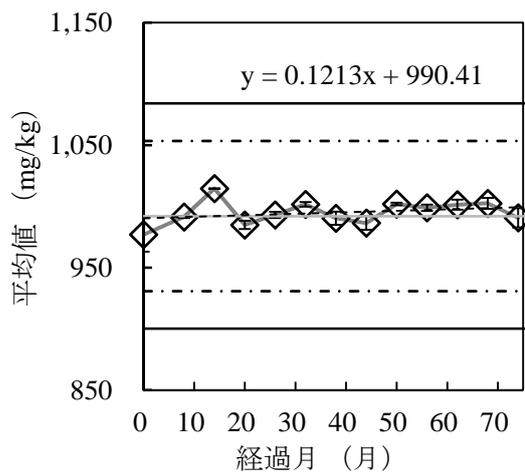
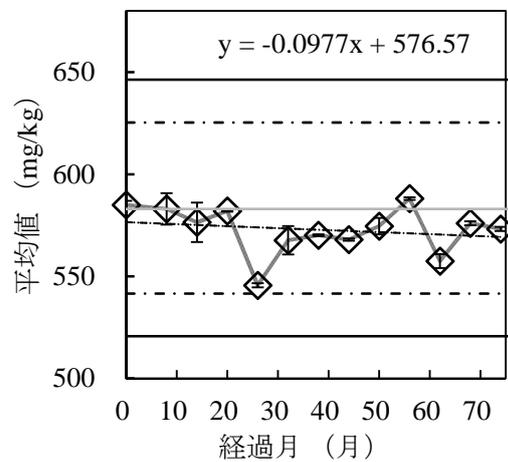
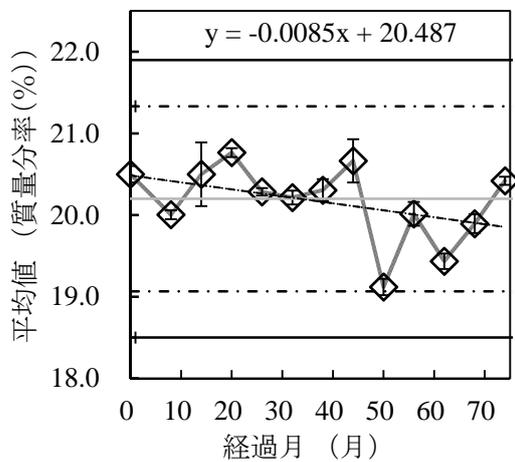
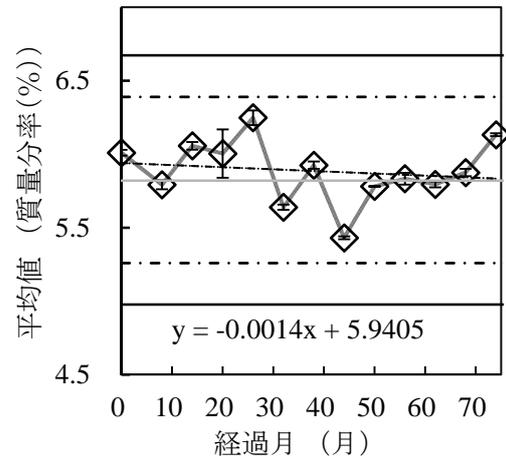
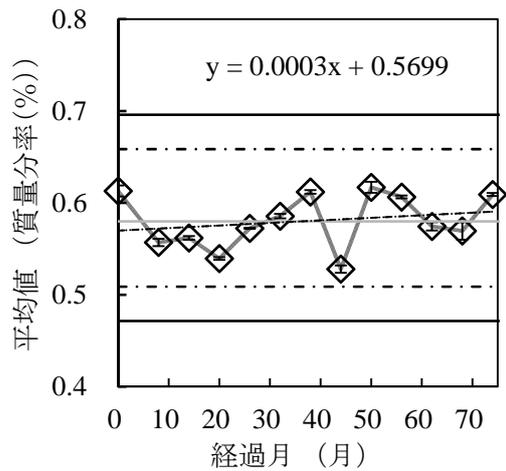
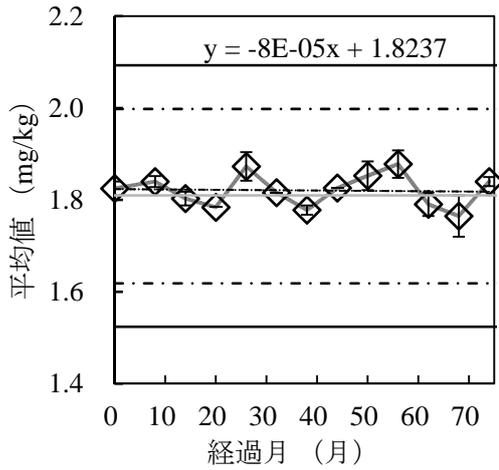
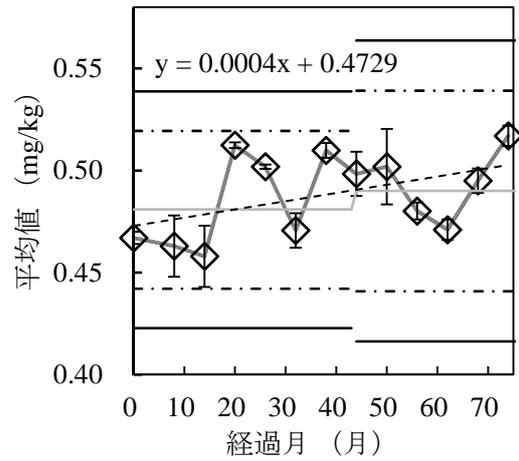


図 C12-2 (続き)

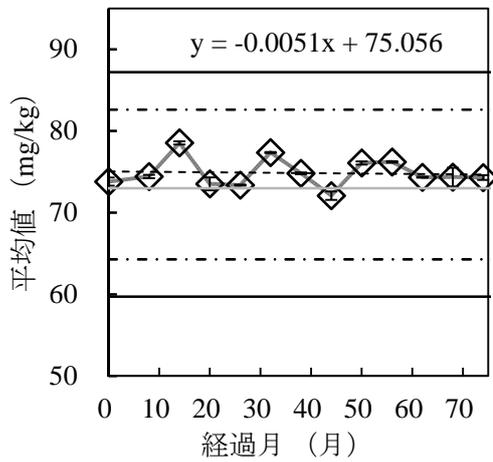


9. 標準物質C12-2(カドミウム)

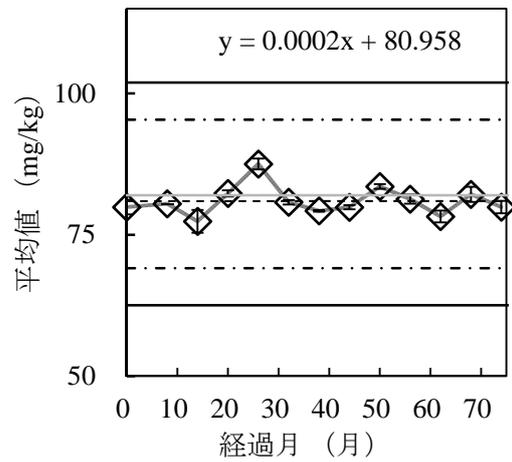


10. 標準物質C12-2(水銀)

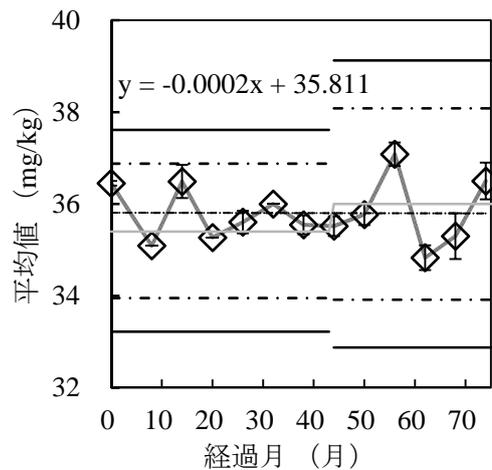
※限界値等の変更は、P12 の脚注参照



11. 標準物質C12-2(ニッケル)



12. 標準物質C12-2(クロム)



13. 標準物質C12-2(鉛)

※限界値等の変更は、P12 の脚注参照

図 C12-2 (続き)

2) 肥料認証標準物質の長期安定性評価

標準物質 A-13 の認証値設定時(0ヶ月), 7ヶ月後, 13ヶ月後, 19ヶ月後, 25ヶ月後, 31ヶ月後, 37ヶ月後, 43ヶ月後, 49ヶ月後及び61ヶ月後, 標準物質 B-14 の認証値設定時(0ヶ月), 4ヶ月後, 10ヶ月後, 16ヶ月後, 22ヶ月後, 28ヶ月後, 34ヶ月後, 40ヶ月後及び46ヶ月後並びに標準物質 C-12-2 の認証値設定時(0ヶ月), 8ヶ月後, 14ヶ月後, 20ヶ月後, 26ヶ月後, 32ヶ月後, 38ヶ月後, 44ヶ月後, 50ヶ月後, 56ヶ月後, 62ヶ月後, 68ヶ月後及び74ヶ月後までの経過月並びに各回の測定の平均値並びに安定性試験の評価結果を表 5-1 及び表 5-2 に示した. 安定性の評価は, 経過月の平均値と各回の測定の平均値を用いて ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)を参考に次の手順で行った. まず, (d)式及び(e)式より, 経過月及び分析値との回帰直線の傾き (b_1) 及び切片 (b_0) を求めた. 次に, (f)式及び(g)式より, 予測の標準誤差 (s) 及び回帰直線の傾きの標準誤差 (s_{b_1}) を求めた. 回帰直線の傾きの標準誤差 (s_{b_1}) と t 値 ($t_{0.95, T-2}$) を乗じた値と傾きの絶対値 ($|b_1|$) を比較した.

その結果, 標準物質 A-13, 標準物質 B-14 及び標準物質 C-12-2 の全ての認証成分において, $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, T-2}$ となり, 傾きは有意とは認められなかった. これにより標準物質 A-13, 標準物質 B-14 及び標準物質 C-12-2 の認証成分は, モニタリング試験実施時から5年1ヶ月, 3年10ヶ月, 6年2ヶ月間安定であった. また, 試験回数は3回と少ないが, 標準物質 A-17 について同様の評価を実施したところ, いずれの成分も傾きは有意と認められなかった.

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots (d)$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x} \quad \dots (e)$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{T-2} \sum_{i=1}^T (y_i - \hat{y}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{T-2} \sum_{i=1}^T (y_i - b_0 - b_1 x_i)^2} \quad \dots (f)$$

$$s_{b_1} = s / \sqrt{\sum_{i=1}^T (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots (g)$$

$$\begin{aligned} \text{判定基準: } |b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, T-2} & \quad \dots \text{有意でない(安定)} \\ |b_1| \geq s_{b_1} \times t_{0.95, T-2} & \quad \dots \text{有意である(不安定)} \end{aligned}$$

T: 試験実施回数 (A-13(10回), B-14(9回), C-12-2(13回))

x_i : 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間(月)

\bar{x} : x_i の平均値(月)

y_i : モニタリング実施日の測定値の平均値

\bar{y} : y_i の試験成績の総平均値

b_1 : 回帰直線の傾き

b_0 : 回帰直線の切片

s: 予測の標準誤差(推定残差($y_i - \hat{y}_i$))の標準偏差)

\hat{y}_i : x_i に対する y_i の予測値

s_{b_1} : 回帰直線の傾きの標準誤差

$t_{0.95,m-2}$: t 値 (両側有意水準 $\alpha = 0.05$, 自由度 $T - 2$)

表5-1 標準物質の安定性のモニタリング^{a)}成績の評価結果

試験成分	\bar{x} ^{b)} (mon.)	\bar{y} ^{c)} (%) ^{j)}	回帰分析結果			s_{b_1} ^{g)} (%) ^{j)}	判定 基準 ^{h)} (%) ^{j)}	判定 ⁱ⁾
			b_1 ^{d)}	b_0 ^{e)}	s ^{f)}			
			(%) ^{j)}	(%) ^{j)}	(%) ^{j)}			
(標準物質A-13)								
窒素全量 (T-N)	28.5	14.819	-0.0022	14.88	0.098	0.0017	0.0039	○
アンモニア性窒素 (A-N)	28.5	10.535	0.0001	10.531	0.103	0.0018	0.0041	○
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	28.5	10.758	-0.0001	10.760	0.067	0.0011	0.0026	○
水溶性加里 (W-K ₂ O)	28.5	13.025	-0.0002	13.029	0.105	0.0018	0.0042	○
く溶性苦土 (C-MgO)	28.5	3.202	-0.0013	3.238	0.052	0.0009	0.0021	○
く溶性マンガン (C-MnO)	28.5	0.358	-0.00036	0.368	0.011	0.0002	0.00043	○
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	28.5	0.203	-0.0001	0.207	0.006	0.0001	0.0002	○
(標準物質A-17)								
窒素全量 (T-N)	8.0	13.993	0.0026	13.98	0.009	0.001	0.011	○
アンモニア性窒素 (A-N)	8.0	11.675	0.0251	11.591	0.119	0.011	0.142	○
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	8.0	13.338	0.0038	13.294	0.106	0.010	0.126	○
く溶性加里 (C-K ₂ O)	8.0	13.843	0.0084	13.818	0.054	0.005	0.064	○
く溶性苦土 (C-MgO)	8.0	3.443	0.0043	3.437	0.056	0.005	0.066	○
く溶性マンガン (C-MnO)	8.0	0.302	0.0002	0.304	0.012	0.001	0.015	○
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	8.0	0.570	-0.0005	0.573	0.006	0.001	0.007	○
水溶性ほう素 (W-B ₂ O ₃)	8.0	0.456	-0.0002	0.455	0.006	0.001	0.007	○
尿素性窒素 (U-N)	8.0	2.266	0.0051	2.240	0.012	0.001	0.014	○

- a) 標準物質A-13は調製後の試験実施日から起算して61ヶ月後までモニタリング
 標準物質B-14は調製後の試験実施日から起算して46ヶ月後までモニタリング
 標準物質C-12-2は調製後の試験実施日から起算して74ヶ月後までモニタリング
 標準物質A-17は調製後の試験実施日から起算して15ヶ月後までモニタリング
- b) 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間の平均値(月)
- c) 標準物質A-13の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(10) × 併行試験数(2))
 標準物質B-14の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(9) × 併行試験数(2))
 標準物質C-12-2の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(13) × 併行試験数(2))
 標準物質A-17の試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施回数(3) × 併行試験数(2))
- d) 回帰直線の傾き
- e) 回帰直線の切片
- f) 予測の標準誤差
- g) 回帰直線の傾きの標準誤差
- h) $s_{b_1} \times t_{0.95,T-2}$
- i) ○は次式に適合して傾きは有意とは認められず, 安定と評価した成分
 $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95,T-2}$
- j) 表中の%は質量分率

表5-1 (続き)

表5-1 標準物質の安定性のモニタリング^{a)}成績の評価結果

試験成分	\bar{x} ^{b)} (mon.)	\bar{y} ^{c)} (%) ^{j)}	回帰分析結果				s_{b_1} ^{g)} ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 基準 ^{h)} ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 ⁱ⁾
			b_1 ^{d)}	b_0 ^{e)}	s ^{f)}				
			($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ^{j)}	(%) ^{j)}	(%) ^{j)}				
(標準物質B-14)									
アンモニア性窒素 (A-N)	22.2	7.99	-0.0012	8.02	0.03	0.0006	0.0015	○	
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	22.2	9.19	0.0013	9.16	0.07	0.002	0.004	○	
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	22.2	6.71	-0.0001	6.71	0.05	0.001	0.002	○	
水溶性加里 (W-K ₂ O)	22.2	8.24	0.0005	8.23	0.09	0.002	0.004	○	
(標準物質C-12-2)									
窒素全量 (T-N)	37.8	4.70	-0.0014	4.75	0.06	0.001	0.002	○	
りん酸全量 (T-P ₂ O ₅)	37.8	8.61	0.0013	8.56	0.08	0.001	0.002	○	
加里全量 (T-K ₂ O)	37.8	0.58	0.0003	0.57	0.03	0.000	0.001	○	
石灰全量 (T-CaO)	37.8	5.89	-0.0014	5.94	0.22	0.003	0.01	○	
有機炭素 (O-C)	37.8	20.16	-0.0085	20.49	0.45	0.005	0.012	○	

表5-2 標準物質の安定性のモニタリング^{a)}成績の評価結果

試験成分	\bar{x} ^{b)} (mon.)	\bar{y} ^{c)} (mg/kg)	回帰分析結果				s_{b_1} ^{g)} ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 基準 ^{h)} ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$) ^{j)}	判定 ⁱ⁾
			b_1 ^{d)}	b_0 ^{e)}	s ^{f)}				
			($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$) ^{j)}	(mg/kg)	(mg/kg)				
(標準物質B-14)									
ひ素 (As)	22.2	3.00	-0.0011	3.02	0.07	0.002	0.004	○	
カドミウム (Cd)	22.2	4.13	0.0017	4.10	0.22	0.00	0.01	○	
ニッケル (Ni)	22.2	37.6	0.0048	37.5	0.77	0.02	0.04	○	
(標準物質C-12-2)									
銅全量 (T-Cu)	37.8	573	-0.0977	577	11.9	0.15	0.32	○	
亜鉛全量 (T-Zn)	37.8	995	0.1213	990	9.8	0.12	0.26	○	
ひ素 (As)	37.8	21.7	0.0010	21.6	1.16	0.01	0.03	○	
カドミウム (Cd)	37.8	1.82	-0.0001	1.82	0.04	0.000	0.001	○	
水銀 (Hg)	37.8	0.49	0.0004	0.47	0.02	0.0002	0.001	○	
ニッケル (Ni)	37.8	74.9	-0.0051	75.1	1.83	0.02	0.05	○	
クロム (Cr)	37.8	81.0	0.0002	81.0	2.70	0.03	0.07	○	
鉛 (Pb)	37.8	35.8	-0.0002	35.8	0.69	0.01	0.02	○	

脚注は表5-1を参照

3) 肥料認証標準物質の有効期限

長期安定性モニタリング試験を行った結果、現段階で標準物質 A-13 は認証値設定から4年7ヶ月間、標準物質 B-14 は認証値設定から3年7ヶ月間、標準物質 C-12-2 は認証値設定から5年11ヶ月間、標準物質 A-17 は認証値設定から7ヶ月間の安定性が確認された。

4. まとめ

FAMIC は、肥料認証標準物質として標準物質 A(高度化成肥料 FAMIC-A-13 及び FAMIC-A-17)、標準物質 B(普通化成肥料 FAMIC-B-14) 及び標準物質 C(汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12-2) のモニタリングによる長期安定性試験を実施した。この結果、標準物質 A-13, B-14, C-12-2 及び A-17 の各試験日毎の試験成績の平均値は、いずれの成分も内部品質管理の警戒限界を超えることはなかった。また、試験成績を ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁹⁾ を参考に統計解析し、安定性を評価したところ、標準物質 A-13, B-14, C-12-2 及び A-17 について認証値設定後、各々4年7ヶ月間(有効期間4年3ヶ月間)、3年7ヶ月間、5年11ヶ月間、7ヶ月間の全ての認証成分の安定性が確認された。

ISO/IEC 17025:2017 (JIS Q 17025:2018)²⁾ では、方法の妥当性の確認において、標準物質を用いて真度及び精度の評価が求められている。また、日常の試験結果の信頼性確保において、結果として得られるデータは、実行可能な場合、統計的な手法を用いて結果のレビューすることを求められている。このことから、認証成分の長期安定性を確認している肥料認証標準物質の利用促進が肥料分析の信頼性確保に貢献するところは大きく、利用者の利便性向上に寄与するものと考えられる。

文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) : 肥料分析標準試料の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 2) ISO/IEC 17025 (2017): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2018, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 3) 秋元里乃, 廣井利明, 八木寿治, 顯谷久典, 舟津正人, 矢野愛子, 坂東悦子, 藤田真理子, 白井裕治, 柴田政人: 2012 年度 肥料認証標準物質の開発－汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12－, 肥料研究報告, **6**, 84~100 (2013)
- 4) 加島信一, 八木寿治, 顯谷久典, 秋元里乃, 矢野愛子, 藤田真理子, 橋本良美, 廣井利明, 白井裕治, 久保明: 2013 年度 肥料認証標準物質の開発－高度化成肥料 FAMIC-A-13－, 肥料研究報告, **7**, 95~104(2014)
- 5) 阿部進, 秋元里乃, 坂井田里子, 八木寿治, 伊藤浩平, 田中雄大, 加島信一, 廣井利明, 鈴木時也, 佐久間健太, 橋本良美, 白井裕治: 2014 年度 肥料認証標準物質の開発－普通化成肥料 FAMIC-B-14 の調製－, 肥料研究報告, **8**, 140~152 (2015)
- 6) 秋元里乃, 阿部進, 八木寿治, 長谷川正憲, 佐久間健太, 白井裕治: 2015 年度 肥料認証標準物質の開発－汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12 の再認証－, 肥料研究報告, **9**, 145~169 (2016)
- 7) 秋元里乃, 小塚健志, 坂井田里子, 伊藤浩平, 中村信仁, 橋本良美, 白井裕治: 2017 年度 肥料認証標準物質の開発－高度化成肥料 FAMIC-A-17 の調製－, 平成 29 年度肥料等技術検討会資料
- 8) ISO 17034 (2016): “General requirements for the competence of reference material producers” ((JIS Q 17034:2018, 「標準物質生産者の能力に関する一般要求事項」)
- 9) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 10) ISO Guide 31 (2015): “Reference materials—Contents of certificates and labels” (JIS Q 0031 : 2018, 「標準物質—認証書及びラベルの内容」)

- 11) 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(2016)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2016.pdf>
- 12) ISO 5725-6 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 6: Use in practice of accuracy values” (JIS Z 8402-6: 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度)—第6部:精確さに関する値の実用的な使い方」)

**Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements:
High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-13 and FAMIC-A-17) and Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-14) and Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12-2)**

Shigeyuki INABA¹, Shinji KAWAGUCHI¹, Takafumi KAMIKAWA¹,
Norio FUNAKI¹, Masayuki YAMANISHI², Tadashi INOUE¹ and Yuji SHIRAI³

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Kobe Regional Center

² FAMIC, Kobe Regional Center (Now) FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has performed long-term stability examinations to confirm shelf life of fertilizer certified reference materials (CRMs), high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-13 and FAMIC-A-17), ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-14) and composted sludge fertilizer (FAMIC-C-12-2) for analysis of major components and harmful elements. FAMIC-A-13 is certified for the concentrations of total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO) and citric acid-soluble boron (C-B₂O₃). FAMIC-A-17 is certified for the concentrations of total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅), citric acid-soluble potassium (C-K₂O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO), citric acid-soluble boron (C-B₂O₃), water-soluble boron (W-B₂O₃) and urea nitrogen (U-N). FAMIC-B-14 is certified for the concentrations of ammonium nitrogen (A-N), citrate-soluble phosphoric acid (S-P₂O₅), water-soluble phosphoric acid (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), arsenic (As), cadmium (Cd), and nickel (Ni). FAMIC-C-12-2 is certified for the concentrations of total nitrogen (T-N), total phosphoric acid (T-P₂O₅), total potassium (T-K₂O), total calcium (T-CaO), total copper (T-Cu), total zinc (T-Zn), organic carbon (O-C), arsenic (As), cadmium (Cd), mercury (Hg), nickel (Ni), chromium (Cr), and lead (Pb). The monitoring long-term stability was evaluated by a statistical analysis of the results of monitoring stability examination on the chemical analysis of the stock CRMs. The data was performed a statistical analysis in reference to ISO Guide 35: 2006. It shows evidence that there were no need to update the certified value and its uncertainty. From these results of the statistical analysis, the all certified values of the CRMs (FAMIC-A-13 : 4 years 7 months after preparation, FAMIC-B-14 : 3 years 7 months after preparation, FAMIC-C-12-2 : 5 years 11 months after preparation FAMIC-A-17 : 7 months after preparation) were stable. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components and harmful elements in compound fertilizers.

Key words certified reference material (CRM), fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 35, long-term stability

(Research Report of Fertilizer, **12**, 175~194, 2019)

13 肥料鑑定データベースの拡充

—顕微鏡観察—

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 肥料の観察, 実体顕微鏡, 汚泥肥料, 堆肥

1. はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)では、肥料中の原材料等の判別に資するため平成23年度から平成26年度にかけて肥料(現物)の写真, 酸又はアルカリ処理した動植物等の組織を顕微鏡で観察した写真等を取りまとめて鑑定データベースを作成し, FAMIC 内部資料として登録見本品の調査等に活用している。

本研究では、鑑定データベースに掲載していない汚泥肥料及び堆肥の特徴的な部分を把握するため、飼料分析基準¹⁾で規定されている酸又はアルカリによる処理を行った後に実体顕微鏡を用いて観察し、写真を撮影した。これにより、顕微鏡観察における汚泥肥料及び堆肥の特徴を確認したので、その結果を報告する。

2. 材料及び方法

1) 供試肥料

流通している汚泥肥料及び堆肥を収集し、顕微鏡による観察を実施した。汚泥肥料の内訳は下水汚泥肥料(3点), し尿汚泥肥料(6点), 工業汚泥肥料(3点), 混合汚泥肥料(2点), 焼成汚泥肥料(3点), 汚泥発酵肥料(2点)であり、堆肥は牛ふん堆肥, 豚ふん堆肥, 鶏ふん堆肥それぞれ1点である。

これらの肥料は、必要に応じて65℃で5時間あるいは40℃で70時間程度の予備乾燥を行い、遠心粉砕器で目開き500µmのふるいを通すまで粉砕し、混合した。

2) 試薬等の調製

- (1) 水: 水精製装置(日本ミリポア Elix Advantage 5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 の水。
- (2) 硫酸: JIS K 8951 有害金属測定用試薬(関東化学)
- (3) 水酸化ナトリウム: JIS K 8576 特級試薬(富士フイルム和光純薬)

3) 装置及び器具

- (1) 煮沸装置: 粗繊維定量装置 CF-6 (三紳工業株式会社製)
- (2) 実体顕微鏡: SZX 7 (OLYMPUS 社製) 観察は15インチのモニターに接続して行った。
- (3) 顕微鏡デジタルカメラ: DP21 1/1.8 型 カラーCCD カメラ (OLYMPUS 社製)

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

4) 試験方法

飼料分析基準¹⁾に記載されている処理方法を参考に酸及びアルカリによる処理を行い、プレパラートを作成して観察した。参考のために、各処理方法のフローシート(図1及び図2)を示す。

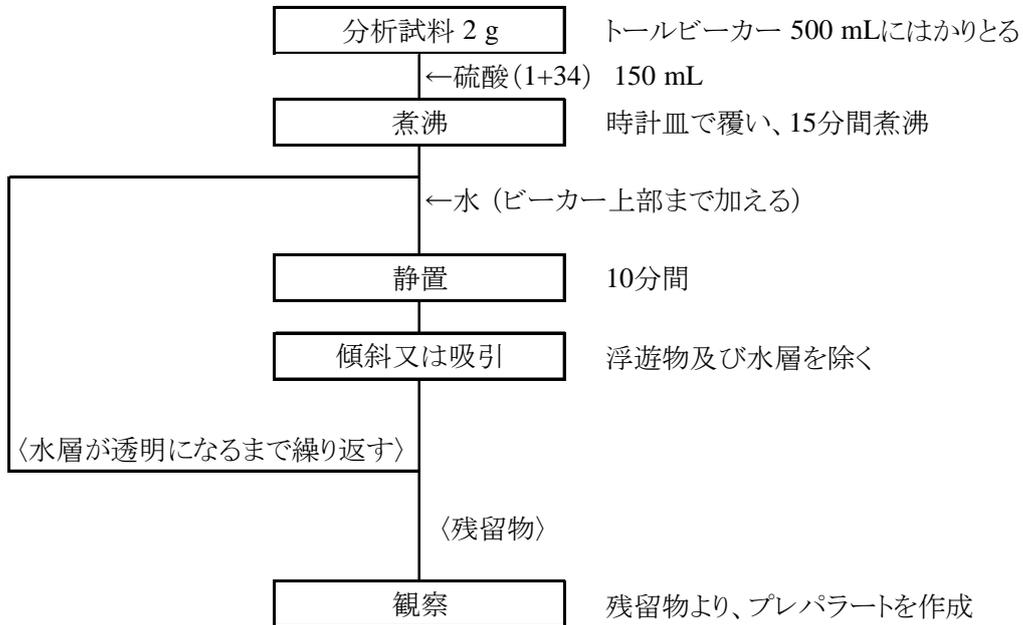


図1 酸による前処理方法

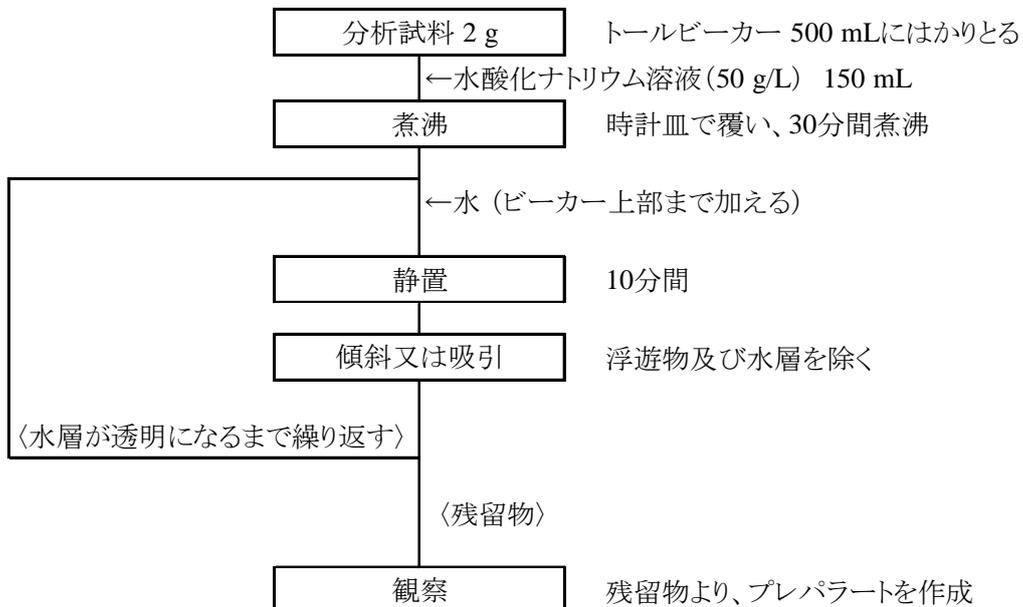


図2 アルカリによる前処理方法

3. 結果及び考察

1) 顕微鏡による観察結果及び写真

(1) 下水汚泥肥料

下水汚泥肥料 3 点について酸及びアルカリによる処理を行い顕微鏡で観察した結果、3 点全ての試料の両処理残留物において繊維状の物体及び色のついた混入物を確認できた。繊維状の物体は、図 3 のようにより糸状のものや図 5 のような棒状のものが見られた。色のついた混入物は図 4 のように緑色のものや、図 6 のように薄い水色のようなものなどが確認され、混入物の色は試料によって様々だった。

環境省が開催した海洋ごみシンポジウム 2016^{2, 3)}にて、洗顔料や歯磨き粉等に含まれる微細なプラスチックごみ(以下、マイクロプラスチックとする。)が排水溝を通じて自然環境中に流出していることが報告されている。下水汚泥肥料は、家庭等から出る雑排水を下水処理場で処理した際に生じる汚泥を主原料としていることから、家庭雑排水に含まれるマイクロプラスチックが汚泥に混入している可能性が考えられる。また、環境省が平成 28 年度沿岸海域における漂流・海底ごみ実体把握調査業務報告書⁴⁾にて報告しているマイクロプラスチックの色として図 4 のような緑色を挙げていることから、下水汚泥肥料に含まれていた混入物はマイクロプラスチックではないかと推察できる。



図 3 下水汚泥肥料 1, 約 214 倍, 酸処理

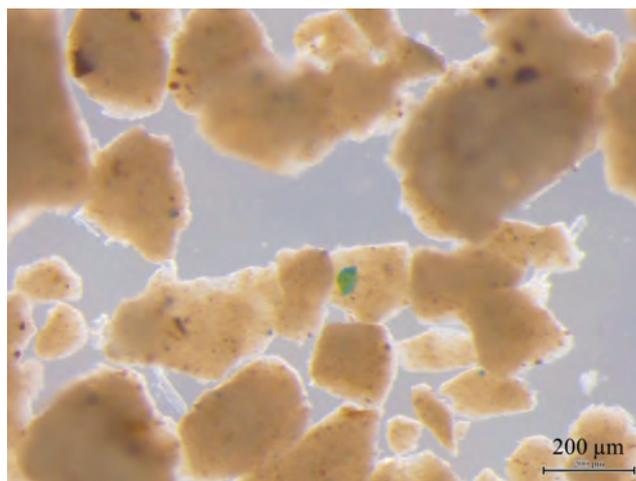


図 4 下水汚泥肥料 1, 約 214 倍, 酸処理

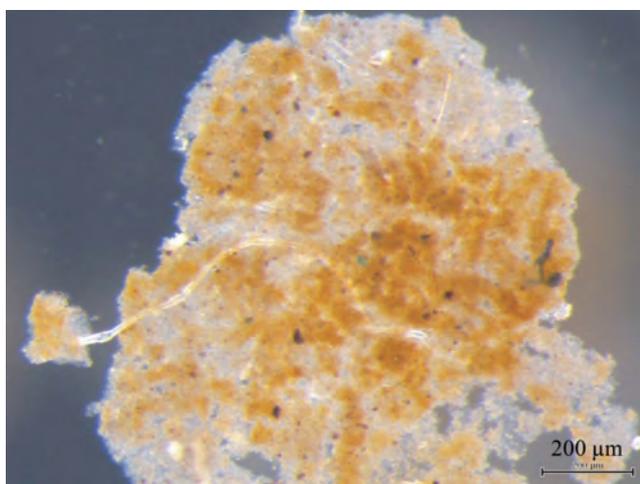


図 5 下水汚泥肥料 1, 約 214 倍, アルカリ処理

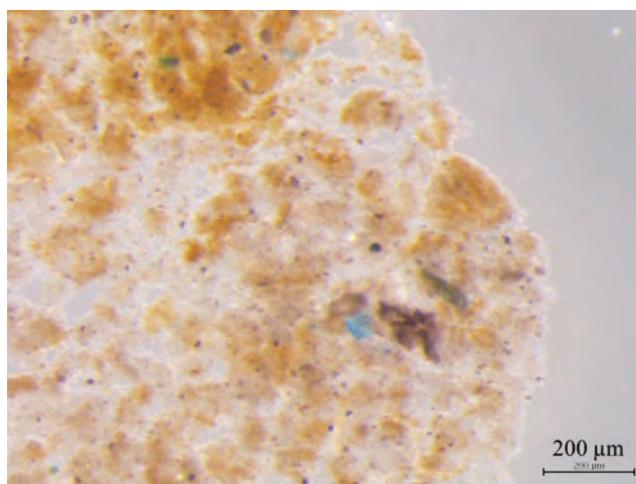


図 6 下水汚泥肥料 1, 約 214 倍, アルカリ処理

(2) し尿汚泥肥料

し尿汚泥肥料 6 点について酸及びアルカリによる処理を行い顕微鏡で観察したところ、(1)下水汚泥肥料で示したものと同様に繊維状の物体と色のついた混入物を確認できた。繊維状の物体は、全て棒状で白色及び透明であった。色のついた混入物は、図 8 のように赤色のものや図 9 のような緑色のものなど、試料によって混入物の色や形状に違いが見られた。また、一部のし尿汚泥肥料では、図 10 のような水色のひも状異物が確認できた。色のついた混入物については、し尿汚泥肥料も家庭雑排水由来の汚泥を原料としていることから、下水汚泥肥料と同様にマイクロプラスチックの可能性があると推察した。

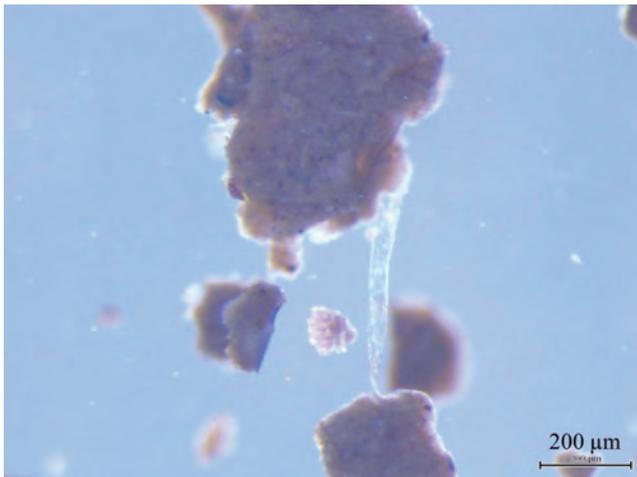


図 7 し尿汚泥肥料 1, 約 214 倍, 酸処理

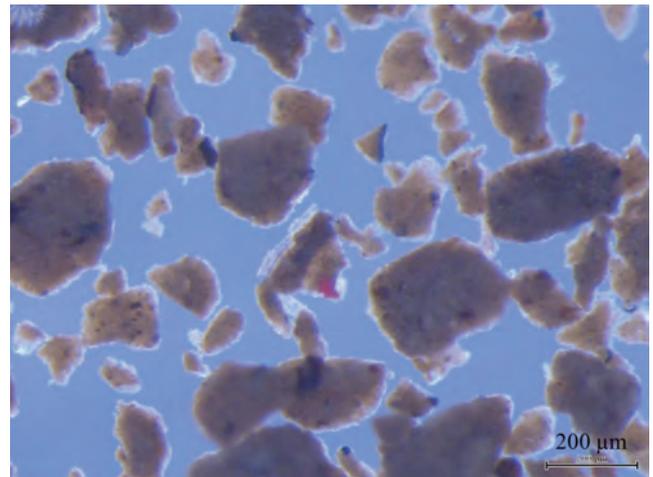


図 8 し尿汚泥肥料 1, 約 214 倍, 酸処理

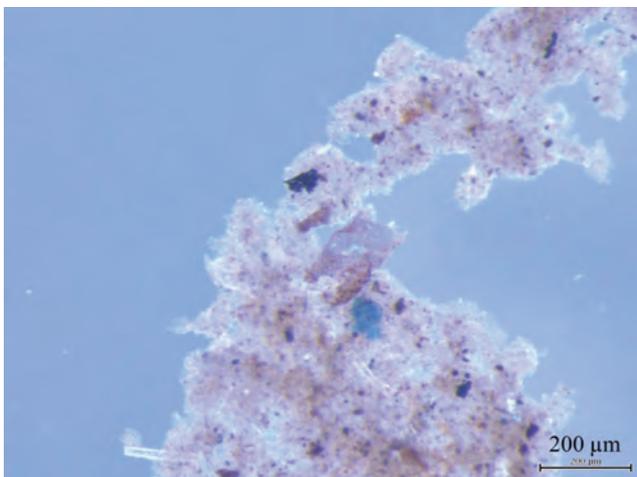


図 9 し尿汚泥肥料 1, 約 214 倍, アルカリ処理

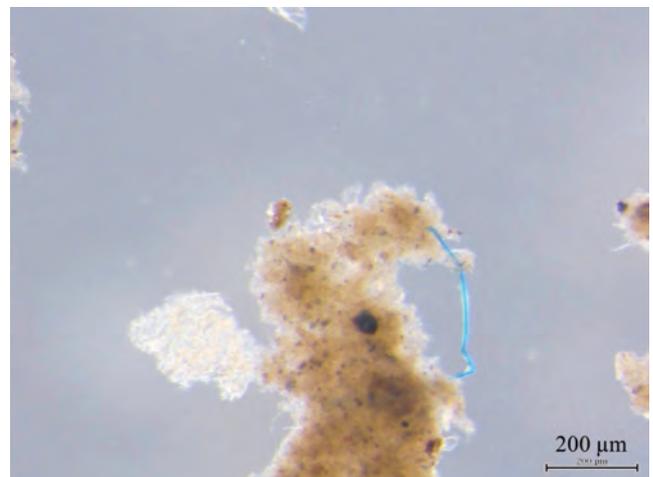


図 10 し尿汚泥肥料 1, 約 214 倍, アルカリ処理

(3) 工業汚泥肥料

工業汚泥肥料 3 点について酸及びアルカリによる処理を行い顕微鏡で観察した. 図 11 及び図 12 はと畜場の排水処理施設から生じた汚泥を原料とした工業汚泥肥料であり, 図 13 及び図 14 は食品工業等の排水処理施設から生じた汚泥を原料とした工業汚泥肥料であった. 工業汚泥肥料は, 試料によって色や形状が大きく異なっていたことから, 原料として使用した排水処理汚泥の違いが各試料の観察結果に大きな影響を与えていると考えられた.

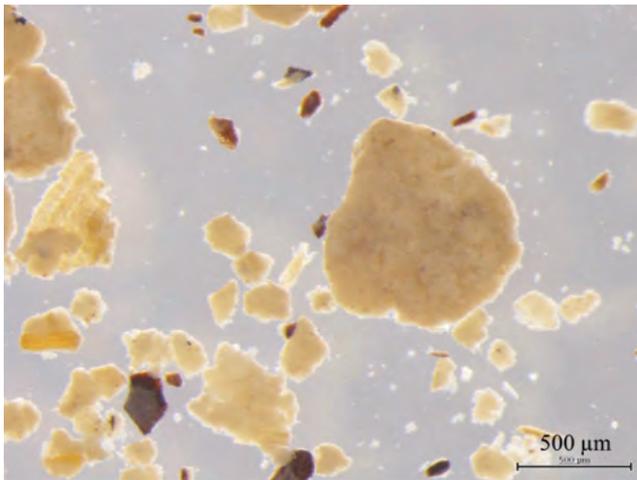


図 11 工業汚泥肥料 1, 約 107 倍, 酸処理

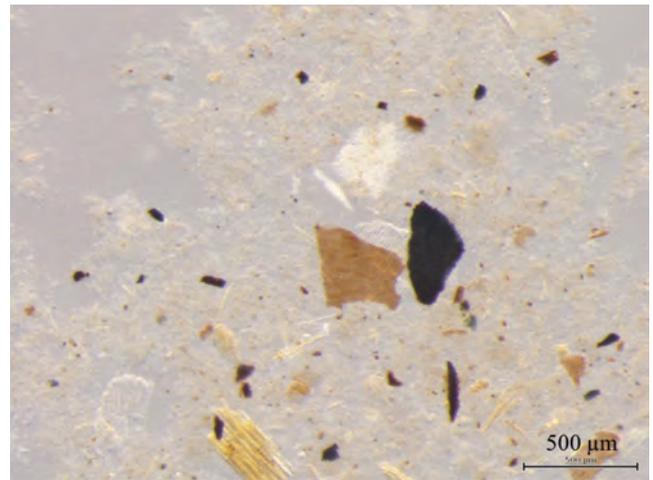


図 12 工業汚泥肥料 1, 約 107 倍, アルカリ処理



図 13 工業汚泥肥料 2, 約 214 倍, 酸処理

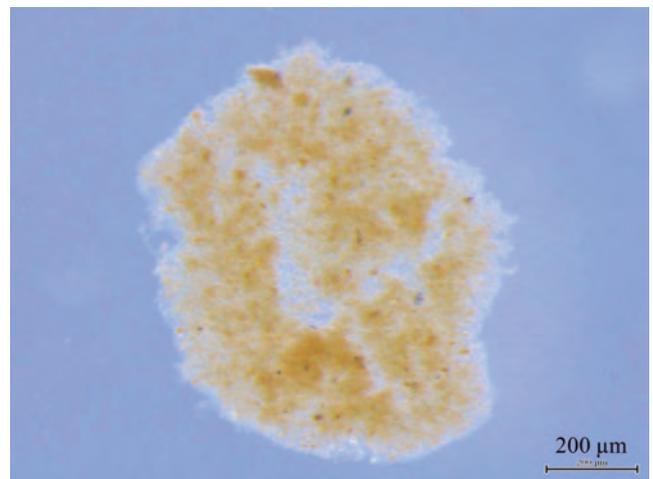


図 14 工業汚泥肥料 2, 約 214 倍, アルカリ処理

(4) 混合汚泥肥料

混合汚泥肥料 2 点について酸及びアルカリによる処理を行い観察した。図 15 及び図 16 は、下水汚泥肥料 45 %，し尿汚泥肥料 40 %，植物質残さ 15 %を原料とした混合汚泥肥料 1 の酸処理及びアルカリ処理の観察写真である。図 15 及び図 16 では、(1) 下水汚泥肥料及び(2) し尿汚泥肥料の観察で特徴的に見られた繊維状の物体や青色のひも状異物を確認できた。

図 17 及び図 18 は食品工業汚泥肥料 74 %，下水汚泥肥料 20 %，植物質残さ 4 %，し尿汚泥肥料 2 %を原料とした混合汚泥肥料 2 の酸処理及びアルカリ処理の観察写真である。図 17 及び図 18 においても、(1) 下水汚泥肥料及び(2) し尿汚泥肥料の観察で特徴的に見られた繊維状の物体を確認することができた。

このことから、混合汚泥肥料は原料として使用した汚泥肥料における観察上の特徴を反映する傾向があると考えられた。



図 15 混合汚泥肥料 1, 約 107 倍, 酸処理



図 16 混合汚泥肥料 1, 約 214 倍, アルカリ処理



図 17 混合汚泥肥料 2, 約 214 倍, 酸処理

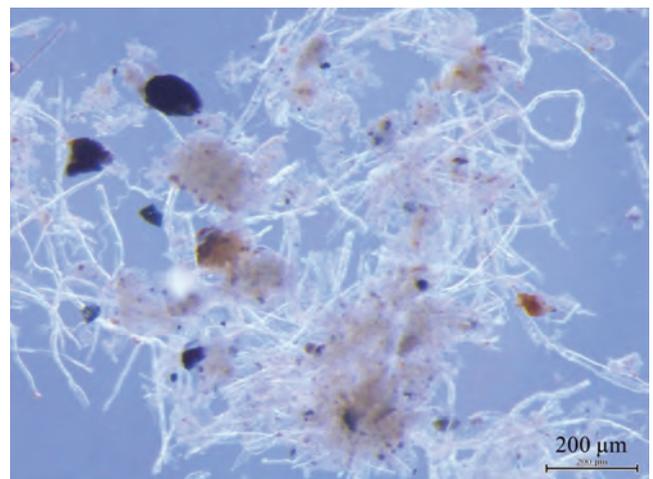


図 18 混合汚泥肥料 2, 約 214 倍, アルカリ処理

(5) 焼成汚泥肥料

焼成汚泥肥料 3 点について酸及びアルカリによる処理を行い、顕微鏡を用いて観察した。図 19, 図 20 で示す焼成汚泥肥料 1, 図 21 で示す焼成汚泥肥料 2 及び図 22 で示す焼成汚泥肥料 3 は 3 点とも全てし尿汚泥肥料を原料とした焼成汚泥肥料である。焼成汚泥肥料全体の特徴として、酸処理、アルカリ処理ともにカバーガラスの上から押しつぶすと容易に崩れる傾向が見られた。また、図 19, 図 21 及び図 22 は異なる 3 銘柄の焼成汚泥肥料における酸処理の写真であり、全てし尿汚泥肥料を原料としているにもかかわらず、試料ごとに色や形状が異なっていた。このことから、原料として使用する汚泥肥料の種類だけではなく、生産工程上での焼成条件等の違いも観察結果に影響していると考えられた。

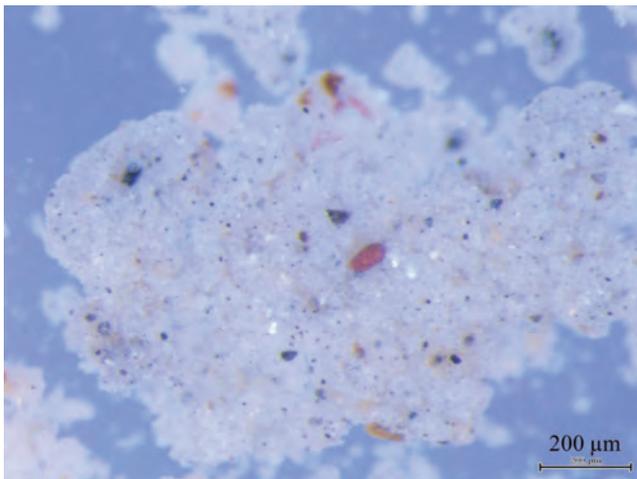


図 19 焼成汚泥肥料 1, 約 214 倍, 酸処理

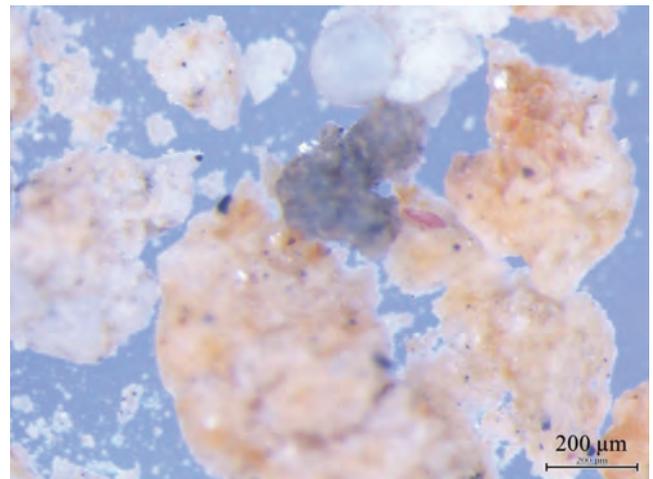


図 20 焼成汚泥肥料 1, 約 214 倍, アルカリ処理

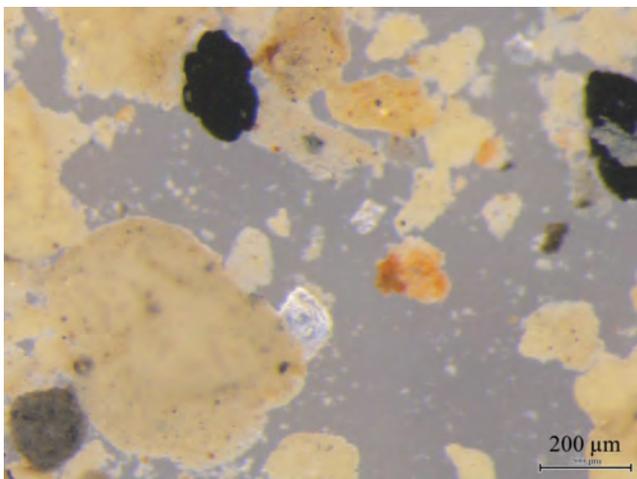


図 21 焼成汚泥肥料 2, 約 214 倍, 酸処理

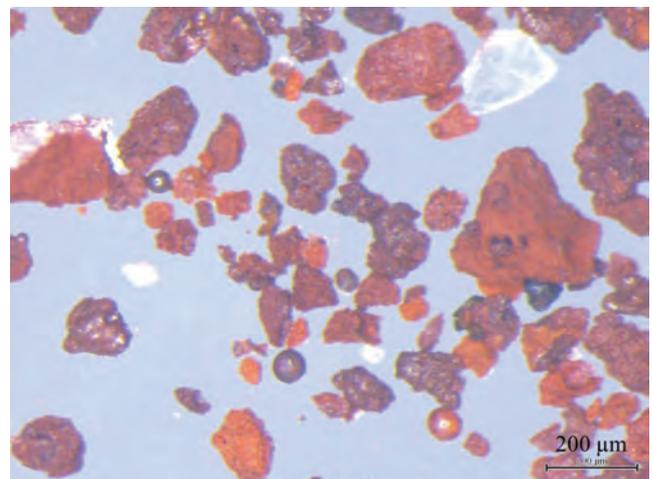


図 22 焼成汚泥肥料 3, 約 214 倍, 酸処理

(6) 汚泥発酵肥料

汚泥発酵肥料 2 点について酸及びアルカリによる処理を行い、顕微鏡により観察した。図 23 及び図 24 は原料に下水汚泥肥料を 90 % 使用した汚泥発酵肥料 1 である。また、図 25 及び図 26 は原料にし尿汚泥肥料を 100 % 使用した汚泥発酵肥料 2 である。汚泥発酵肥料 1, 汚泥発酵肥料 2, どちらの銘柄においても繊維状の物体や色をついた混入物を確認できた。これは、原料として使用している下水汚泥肥料やし尿汚泥肥料に由来するものだと考えられる。このことから、汚泥発酵肥料についても(4)混合汚泥肥料で示した特徴と同様に、原料に使用した汚泥肥料における観察上の特徴を反映する傾向があると考えられた。

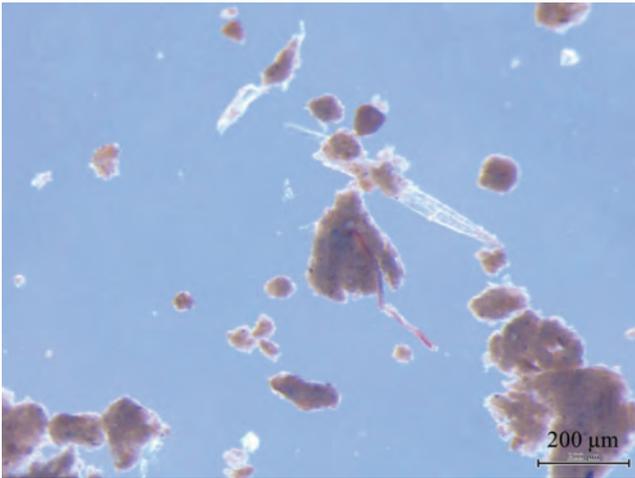


図 23 汚泥発酵肥料 1, 約 214 倍, 酸処理

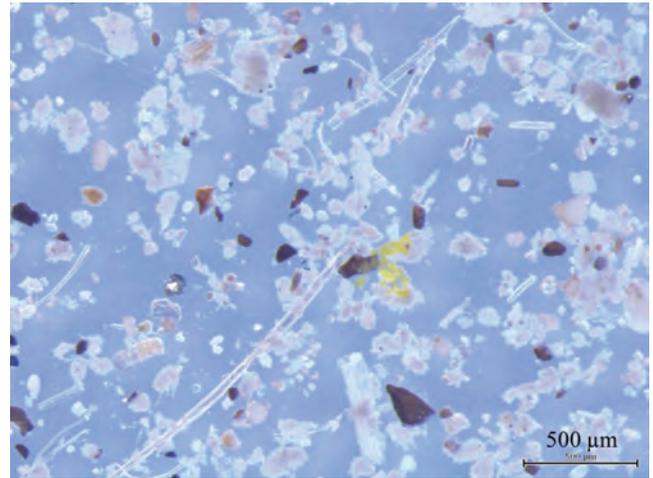


図 24 汚泥発酵肥料 1, 約 107 倍, アルカリ処理

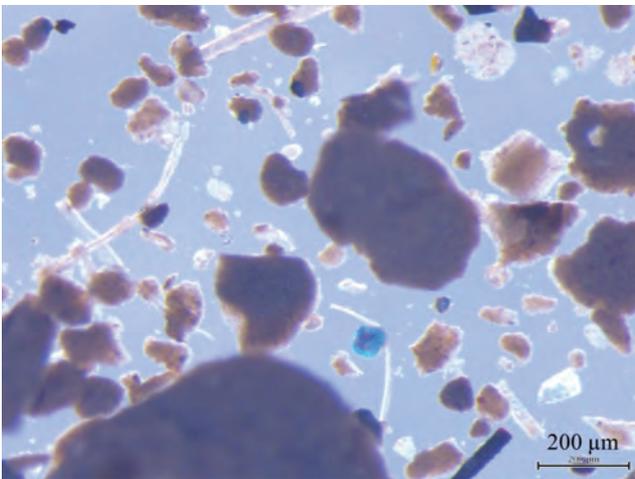


図 25 汚泥発酵肥料 2, 約 214 倍, 酸処理

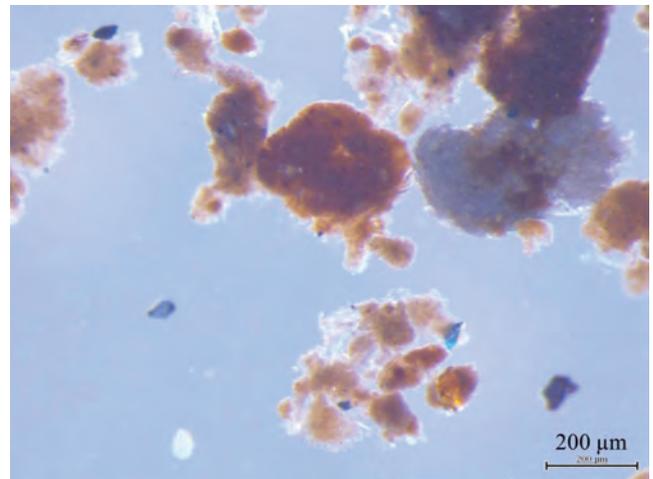


図 26 汚泥発酵肥料 2, 約 214 倍, アルカリ処理

(7) 堆肥

牛ふん堆肥, 豚ふん堆肥, 鶏ふん堆肥各 1 点について酸及びアルカリによる処理を行い, 顕微鏡により観察した. 図 27 及び図 28 は牛ふん堆肥, 図 29 及び図 30 は豚ふん堆肥, 図 31 及び図 32 は鶏ふん堆肥の観察写真である. 堆肥は全体的に茶色の塊が多く, 試料によっては図 27 で見られるように樹皮のような植物質を確認できた. しかし, (1) 下水汚泥肥料や(2)し尿汚泥肥料で観察できたような繊維状の物体や色のついた混入物を確認することはできなかった.

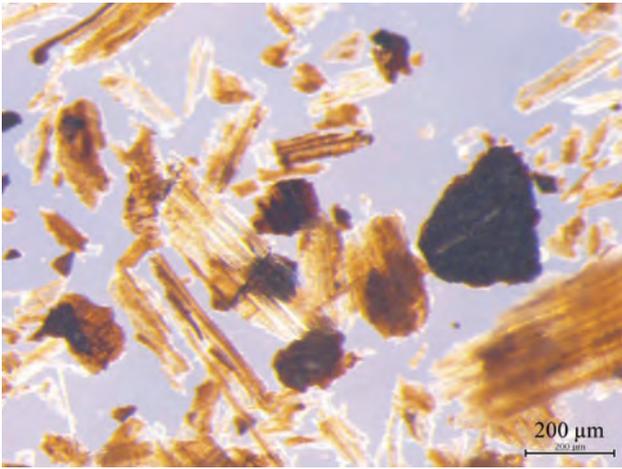


図 27 牛ふん堆肥, 約 214 倍, 酸処理

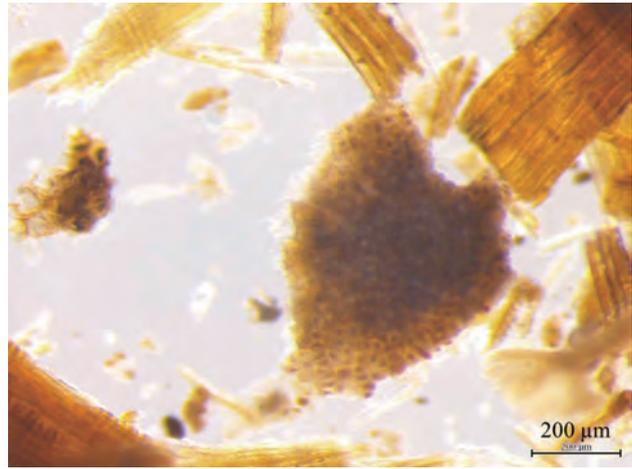


図 28 牛ふん堆肥, 約 214 倍, アルカリ処理

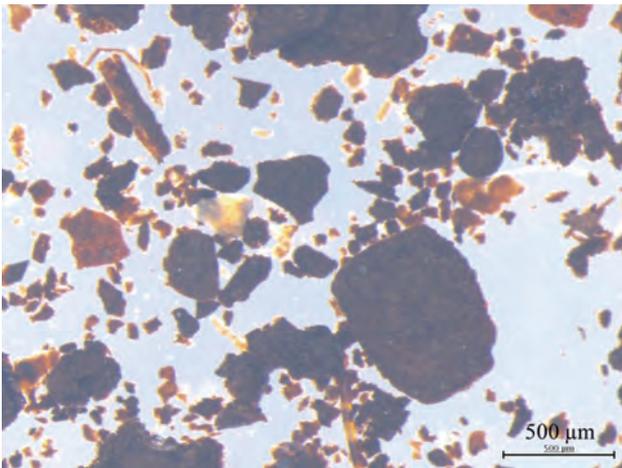


図 29 豚ふん堆肥, 約 107 倍, 酸処理

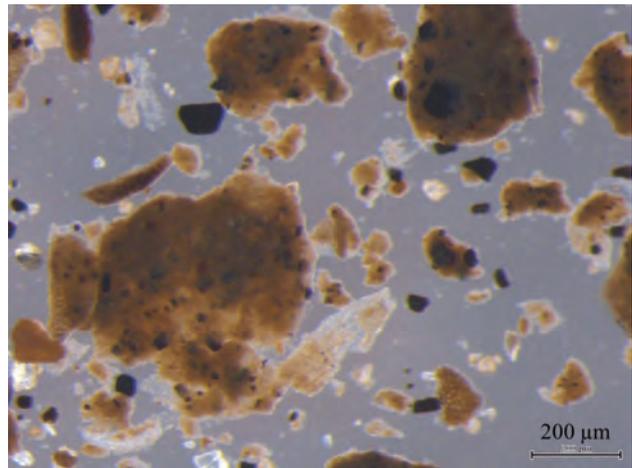


図 30 豚ふん堆肥, 約 214 倍, アルカリ処理

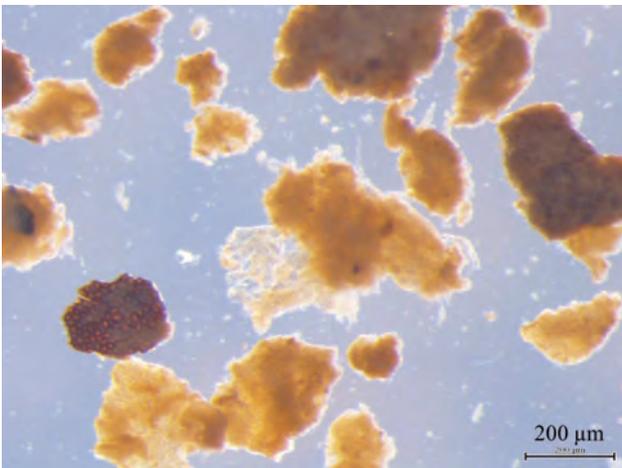


図 31 鶏ふん堆肥, 約 214 倍, 酸処理



図 32 鶏ふん堆肥, 約 214 倍, アルカリ処理

2) 下水汚泥肥料及びし尿汚泥肥料で観察された繊維状の物体について

下水汚泥肥料及びし尿汚泥肥料に特徴的に見られた繊維状の物体を類推するために検討を行った。これら肥料の原料や生産工程から、繊維状の物体は家庭雑排水に含まれる紙繊維であると推測した。下水汚泥からトイレトペーパー由来の紙繊維を回収し活用するシステム⁵⁾について日本下水道事業団 技術評価委員会が報告していることから、紙繊維の中でもトイレトペーパー由来のものが多くと推測した。このことから、市販のトイレトペーパーについて酸又はアルカリによる処理を行い顕微鏡による観察を行った。図 33 及び図 34 はトイレトペーパーを酸又はアルカリ処理した後に顕微鏡で観察し、撮影した写真である。酸処理、アルカリ処理どちらにおいてもトイレトペーパー由来の紙繊維が残っていることが確認できた。この紙繊維は、(1) 下水汚泥肥料の図 5 や(2) し尿汚泥肥料の図 7 で見られた繊維状の物体と類似していたことから、下水汚泥肥料及びし尿汚泥肥料で確認された繊維状の物体はトイレトペーパーに由来する紙繊維が残ったものではないかと考えられた。

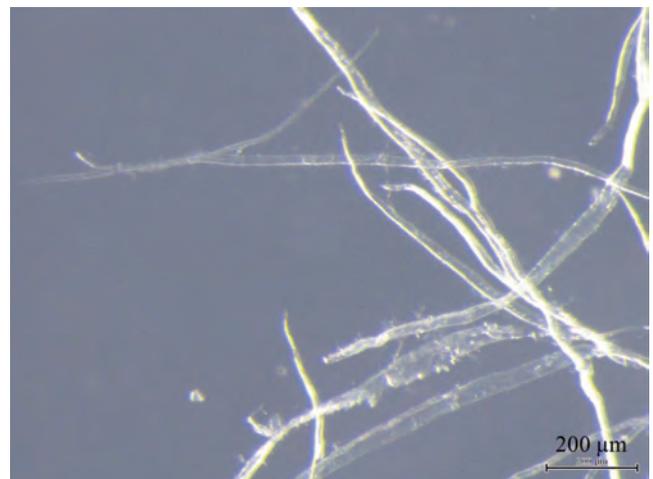


図 33 トイレトペーパー，約 214 倍，酸処理

図 34 トイレトペーパー，約 214 倍，アルカリ処理

3) 汚泥肥料等を対象とした顕微鏡観察フローの作成

今回、汚泥肥料を顕微鏡で観察するにあたって、汚泥肥料の特徴を確認するためにカバーガラスの上から押しつぶして形状を確認する等の通常の顕微鏡観察とは異なる作業を実施した。そのため、汚泥肥料等を対象とした顕微鏡観察の操作として、今回の手順を取りまとめたフローチャート(図 35)を作成した。

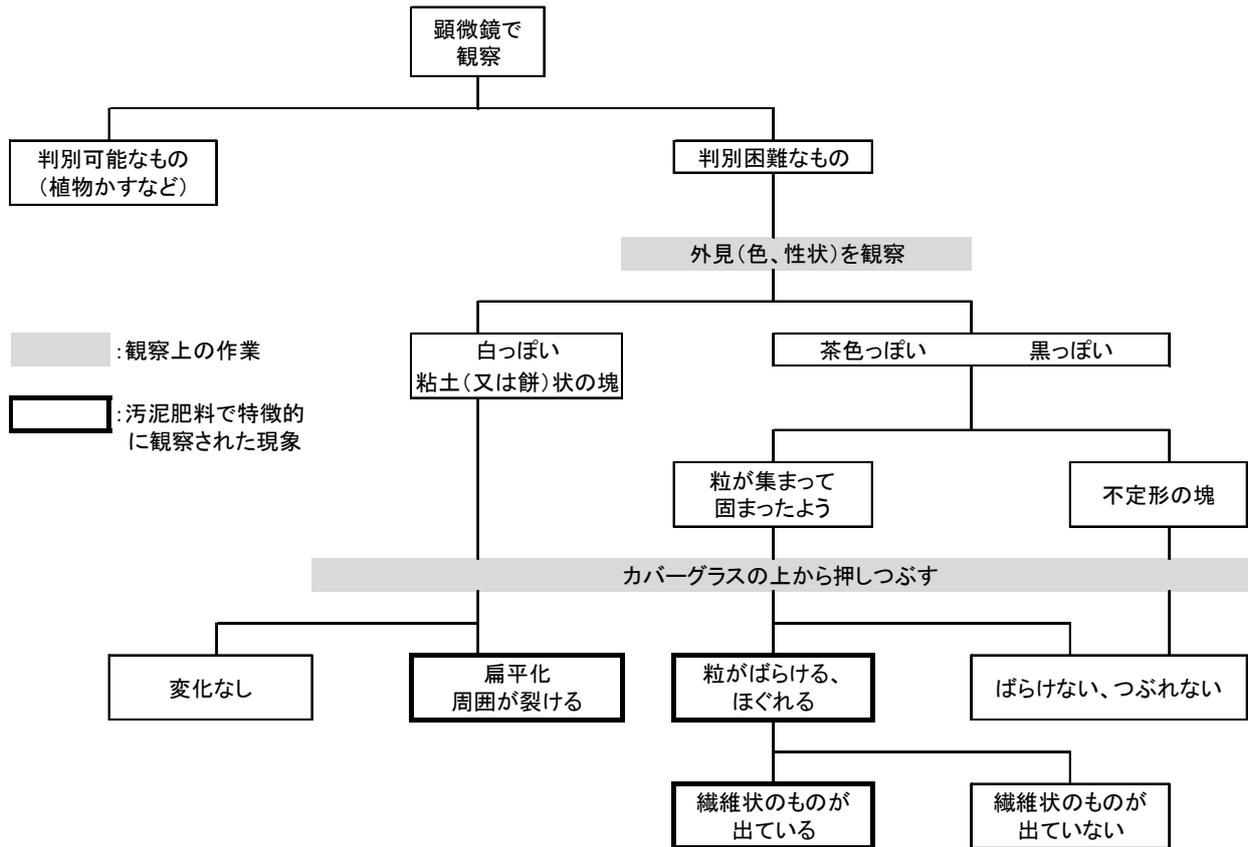


図 35 汚泥肥料を対象とした顕微鏡観察のフローチャート

4. まとめ

肥料鑑定データベースの拡充を図るために、汚泥肥料及び堆肥を酸及びアルカリで処理した後に顕微鏡で観察したところ、次の結果を得た。

(1) 汚泥肥料 19 点 (内訳は下水汚泥肥料 3 点, し尿汚泥肥料 6 点, 工業汚泥肥料 3 点, 混合汚泥肥料 2 点, 焼成汚泥肥料 3 点及び汚泥発酵肥料 2 点) 及び堆肥 3 点について、酸又はアルカリによる処理を行った後、実体顕微鏡を用いて観察し、写真を撮影した。その結果、汚泥肥料の中でも下水汚泥肥料及びし尿汚泥肥料の特徴として、繊維状の物体と色のついた混入物を確認できた。また、一部の汚泥肥料では、ひも状の異物を観察することができた。一方で、堆肥については茶色の塊や植物質を確認することができた。しかし、下水汚泥肥料等で見られたような繊維状の物体や色のついた混入物を確認することはできなかった。

(2) 下水汚泥肥料及びし尿汚泥肥料で特徴的に見られた繊維状の物体について、原料や生産工程から家庭雑排水に含まれるトイレトペーパーに由来する紙繊維ではないかと推測した。そこで、トイレトペーパーを酸及びアルカリで同様に処理し観察した結果、下水汚泥肥料及びし尿汚泥肥料で見られた繊維状の物体と類似していた。

(3) 本研究で実施した顕微鏡観察の手順を取りまとめ、暫定的な汚泥肥料の顕微鏡観察フローチャートを作成した。

文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 飼料分析基準
- 2) 環境省: 海洋ごみシンポジウム 2016, 〈http://www.env.go.jp/water/marine_litter/2016.html〉
- 3) 早水 輝好: 海洋ごみとマイクロプラスチックに関する環境省の取組,
〈http://www.env.go.jp/water/marine_litter/00_MOE.pdf〉
- 4) 環境省, 平成 28 年度沿岸海域における漂流・海底ごみ実態把握調査業務報告書(分割版) 6/6
〈http://www.env.go.jp/water/marine_litter/report_h28/enganmain6.pdf〉
- 5) 日本下水道事業団 技術評価委員会: 下水汚泥由来繊維利活用システムの技術評価に関する報告書
〈<https://www.jswa.go.jp/g/g01/g4g/pdf/gihyo30.pdf>〉

Observation for sludge fertilizer and compost with a stereomicroscope; Expanding database for detection method of fertilizer by microscopy

Erika HIRATA¹, Hideo SOETA², Hidemi YOSHIMURA², 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

We observed 19 sludge fertilizers and 3 composts by acid treatment using sulfuric acid (1+34) or alkali treatment using 5% sodium hydroxide solution with a stereomicroscope. As a result, sewage sludge fertilizers and human waste sludge fertilizers were characterized by containing fibers and colorful impurities. We guessed fibers which characterized sewage fertilizers and human waste sludge fertilizers were lavatory papers because these fertilizers came from sludge derived from domestic effluent. As result of observation for a lavatory paper by acid treatment or alkali treatment by microscopy, lavatory paper were observed fibers which be similar to them in sewage sludge fertilizers and human waste sludge fertilizers. Based on result and experience, we made process flow sheet of observing sludge fertilizers with a microscope.

Key words Observation of fertilizer, stereoscope, sludge fertilizer, compost

(Research Report of Fertilizer, **12**, 195~207, 2019)

14 試験紙による肥料成分の検出

— 肥料中のアンモニア性窒素及びりん酸含有量の測定手法の検討 —

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

キーワード 定性試験, 試験紙, 肥料, アンモニア性窒素, りん酸

1. はじめに

肥料研究報告第 10 号に、肥料の定性法として市販の試験紙を利用する方法が検討され掲載された¹⁾。

この報告に使用された試験紙は半定量紙であり、肥料中の成分含有量も測定できる可能性があることから、複数の測定者(大阪肥料品質保全協議会会員)による成分含有量測定を行い、その成績をとりまとめた。また、試験紙を用いて肥料成分含有量をより精度良く測定する方法について考察したので報告する。

2. 材料及び方法

1) 供試試料

市販肥料(アンモニア性窒素 7.1%, 水溶性りん酸 13.1%:肥料分析法²⁾による分析結果)を目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎したものを試料として用いた。

2) 装置及び器具

(1) 試験紙(試験キット)

アンモニア性窒素の測定 MQuant™ Ammonium Test

水溶性りん酸の測定 MQuant™ Phosphate Test

(2) 200 mL ポリエチレン製広口容器(蓋付き)

(3) 10 mL ポリスチレン製チューブ(スクリーキャップ付き)

3) 試験方法

(1) 肥料中のアンモニアの検出

① 抽出

試料を 0.5 g 秤量し、200 mL ポリ容器に入れ、メスシリンダーで水を 100 mL 加え、蓋をして約 30 秒間振り混ぜ、1 分間静置した。200 mL ポリ容器の上澄み溶液から 20 mL を採取し、別の 200 mL ポリ容器に入れ、メスシリンダーで水を 80 mL 加え、蓋をして振り混ぜ試料溶液とした。

なお、当日参加した測定者を 10 人程度の 5 グループに分け、上記の操作はグループ毎に 1 点行い、以下の操作は測定者毎に行った。

② 定性反応操作及び判定

10 mL チューブに試料溶液 5 mL をピペットではかりとり、試験キットに付属の試薬 10 滴を加え、蓋をしてかるく振り混ぜ、試験紙の反応部分をこの試料溶液中に 3 秒間入れた。試験紙を取り出した後試験紙上の余分な水分をペーパーで吸い取り 10 秒間静置した。

試験紙の発色を試験キットに付属のカラースケールの $\text{NH}_4\text{-N}$ 値から読みとり、試料溶液中のアンモニア測定値とした。

③ 定量試験操作及び成分含有量計算

(1)の①の試料溶液から、測定者が 1 mL～5 mL の量を選択してピペットではかりとり、10 mL チューブに入れ、それぞれ試料溶液の総量が 5 mL となるよう水を加えた。その後の操作及び判定は②と同様に行った。

測定した試料溶液中のアンモニア測定値から次式によりアンモニア性窒素含有量を算出した。

$$\text{アンモニア性窒素含有量(質量分率(\%))} = \text{測定値(mg/L)} \times \text{希釈倍率} \times \text{濃度係数(0.0001)}$$

(注) 1 mL 分取の場合の希釈倍率は 5000 倍, 2 mL 分取は 2500 倍, 3 mL 分取は 1667 倍, 4 mL 分取は 1250 倍, 5 mL 分取は 1000 倍となる。

(2) 肥料中のりん酸の検出

① 抽出

(1)の①に同じ方法で抽出した試料溶液を各測定者に供試した。

② 定性反応操作及び判定

試料溶液に試験紙の反応部分を1秒間入れ、試験紙を取り出し、試験紙上の余分な水分をペーパーで吸い取り、試験キットに付属の試薬1滴を反応部に落とし 15 秒間静置した。試験紙上の余分な水分をペーパーで吸い取り、60 秒間静置した後試験紙の発色を試験キットに付属のカラースケールの P_2O_5 値から読みとり、試料溶液中のりん酸測定値とした。

③ 定量試験操作及び成分含有量計算

①の試料溶液をさらに 2 倍, 4 倍, 7 倍, 10 倍, 15 倍に希釈した溶液を各測定者に供試し、②と同じ操作により、試料溶液中のりん酸測定値を測定した。

測定した試料溶液中のりん酸測定値から次式により水溶性りん酸含有量を算出した。

$$\text{水溶性りん酸含有量(質量分率(\%))} = \text{測定濃度(mg/L)} \times \text{希釈倍率} \times \text{濃度係数(0.0001)}$$

(注) 2 倍溶液の希釈倍率は 400 倍, 4 倍溶液は 800 倍, 7 倍溶液は 1400 倍, 10 倍溶液は 2000 倍, 15 倍溶液は 3000 倍となる。

3. 結果及び考察

1) アンモニア定性反応操作及び測定値読みとり結果

各測定者の 3) (1)②の測定値を表 1 に示した。カラースケール値の間を測定値として読み取った人もいた。測定値は 78 mg/L～155 mg/L がほとんどであり、肥料分析法によるアンモニア性窒素の分析値(71 mg/L 相当)(以下、「A-N 分析値」という。)より高い測定値の読みとりとなった。

なお、アンモニアの測定において、参加者 42 人全員が検出でき、反応操作が困難となることはなかった。

表1 アンモニア濃度^{a)}の測定値の分布

濃度 (mg/L)	8	～	23	～	47	～	78	～	155	～	311
人数	—	—	—	—	1	—	14	12	9	2	4

a) 肥料分析法によるアンモニア性窒素の分析値からの推定濃度は71 mg/L相当

2) アンモニア性窒素の定量結果

各測定者の 3) (1)③の希釈した試料溶液の測定値及び試料中のアンモニア窒素の含有量を表 2-1 に、また、その含有量の総平均値等の基本統計量を表 2-2 にまとめた。最頻値が A-N 分析値に最も近い成分含有量となった。希釈倍率を大きくするほど含有量平均値は小さくなり A-N 分析値に近くなった。希釈倍率を大きくすればスケール値の近傍やスケール値間に入りより精度良く定量できる可能性があるが、含有量計算に乗じる値が大きくなることからスケール間の値をより正確に読み取る技量が必要と考えられる。

希釈倍率を変えて複数回の測定を行った結果、その最頻値が分析値に最も近い値となった。

表2-1 アンモニア性窒素の試験成績

	試料溶液の希釈倍率									
	1000倍		1250倍		1667倍		2500倍		5000倍	
	測定値 ^{a)} (mg/L)	含有量 ^{b)} (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)
個別	78	7.8	63	7.8	47	7.8	20	5.0	8	4.0
成績	78	7.8	63	7.8	47	7.8	23	5.8	8	4.0
	78	7.8	78	9.8	47	9.8	23	5.8	8	4.0
	78	7.8	78	9.8	47	9.8	23	5.8	8	4.0
	90	9.0	80	10.0	60	10.0	35	8.8	10	5.0
	100	10.0	200	25.0	75	12.5	47	11.8	15	7.5
	117	11.7			75	12.5	47	11.8	23	11.5
	155	15.5			78	13.0			23	11.5
	300	30.0							23	11.5
	310	31.0							23	11.5
平均値	13.8		11.7		10.4		7.8		7.5	

a) 希釈した試料溶液中のアンモニア性窒素の測定値

b) 試料中のアンモニア性窒素の含有量

表2-2 アンモニア性窒素^{a)}の試験成績の基本統計量

含有量の総平均値 (%)	中央値 (%)	最頻値 (%)	標準偏差 (%)
10.3	9.8	7.8	6.0

a) 肥料分析法によるアンモニア性窒素の分析値は7.1 %

3) リン酸性反応操作及び測定値読みとり結果

各測定者の 3) (2)②の測定値を表 3 に示した。カラスケール値の間を測定値として読み取った人もいた。

測定値は187 mg/Lがほとんどであり、肥料分析法による水溶性窒素の分析値(131 mg/L相当)(以下、「W-P分析値」という。)より高い測定値の読みとりとなった。

なお、りん酸の測定については、参加者41人全員が検出でき、反応操作が困難となることはなかった。

表3 りん酸の濃度濃度^{a)}の測定値の分布の測定値の分布

濃度(mg/L)	7.5	～	19	～	37	～	75	～	187	～	374
人数	—	—	—	—	—	—	1	7	31	2	—

a) 肥料分析法による水溶性りん酸の定量値からの推定濃度は131 mg/L相当

4) 水溶性りん酸の定量結果

各測定者の3)(2)③の希釈した試料溶液の測定値及び試料中のりん酸の含有量を表4-1に、また、その含有量の総平均値等の基本統計量を表4-2にまとめた。含有量の総平均値がW-P分析値に最も近い成分含有量となった。アンモニア性窒素の定量操作では、測定者が希釈操作を行ったため測定値にバラツキが認められたが、水溶性りん酸の定量操作では希釈操作がなかったため測定値は各倍率で揃った。また、個別成績では1人以外はW-P分析値に近い測定値がなかった。

希釈倍率を変えて複数回の測定を行った結果、測定値の総平均値が分析値に最も近い値となった。

表4-1 水溶性りん酸の試験成績

	試料溶液の希釈倍率									
	400倍		800倍		1400倍		2000倍		3000倍	
	測定値 ^{a)} (mg/L)	含有量 ^{b)} (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)	測定値 (mg/L)	含有量 (%)
個別	300	12.0	187	15.0	75	10.5	37	7.4	16	4.8
成績	337	13.5	187	15.0	75	10.5	37	7.4	37	11.1
	374	15.0	187	15.0	75	10.5	56	11.3	37	11.1
	374	15.0	187	15.0	75	10.5	75	15.0	37	11.1
	374	15.0	187	15.0	75	10.5	75	15.0	37	11.1
	374	15.0	187	15.0	75	10.5	75	15.0	37	11.1
	374	15.0	187	15.0	75	10.5	100	20.0	37	11.1
	374	15.0	187	15.0	187	26.2				
	400	16.0								
平均値		14.6		15.0		12.5		13.0		10.2

a) 希釈した試料溶液中の水溶性りん酸の測定値

b) 試料中の水溶性りん酸の含有量

表4-2 水溶性りん酸^{a)}の試験成績の基本統計量

含有量の総平均値(%)	中央値(%)	最頻値(%)	標準偏差(%)
13.1	15.0	15.0	3.6

a) 肥料分析法による水溶性りん酸の分析値は7.1%

4. まとめ

試験紙を用いて複数の測定者による肥料中のアンモニア性窒素及びりん酸含有量の測定を行った。測定者全員が測定可能であった。また、アンモニア性窒素については希釈倍率を変えて複数回の測定を行った結果を用い、アンモニア性窒素については最頻値が、水溶性りん酸については総平均が、最も分析値に近い値となった。

謝 辞

本調査にご参加いただいた大阪肥料品質保全協議会会員の皆様、協議会事務局((公財)日本肥糧検定協会関西支部、片倉コープアグリ(株)姫路工場)にお礼申し上げます。

文 献

- 1) 齋藤晴文, 五十嵐総一, 佐久間健太, 橋本良美, 田丸直子, 平田絵理香, 添田英雄, 白井裕治: 試験紙による肥料成分の検出, 肥料研究報告, **10**, 242~266 (2017)
- 2) 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)

肥料研究報告編集委員

委員長 功刀 豊

副委員長 荻窪 恭明

秋元 里乃

小森谷 敏一

阿部 文浩

白井 裕治

加島 信一

野崎 友春

肥料研究報告 第 12 号

発行 独立行政法人農林水産消費安全技術センター
埼玉県さいたま市中央区新都心 2 番地 1
さいたま新都心合同庁舎検査棟

TEL 050-3797-1856

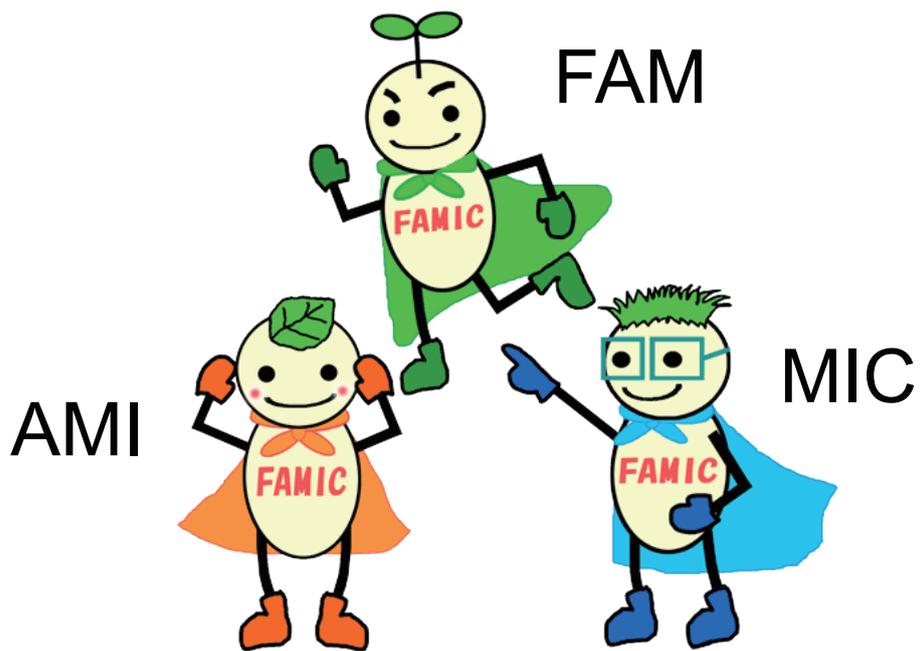
FAX 048-601-1179

<http://www.famic.go.jp/>

令和元年 12 月

編集 肥料研究報告編集委員会

印刷 名取印刷工業有限会社
東京都新宿区新小川町 7 番 11 号 名取第 2 ビル
TEL 03-3260-4767



リサイクル適性 **(A)**

この印刷物は、印刷用の紙へ
リサイクルできます。