

6 く溶性石灰の分析法の性能評価

— 室間共同試験による妥当性確認 —

松尾信吾¹, 八木啓二¹, 小堀拓也², 吉村英美¹,

キーワード く溶性石灰, 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, わが国においても ISO/IEC 17025 (JIS Q 17025)¹⁾の要求事項を参考にした分析結果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. また, 「肥料の品質の確保等に関する法律」施行規則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については, 農林水産省告示^{4~6)}により肥料等試験法⁷⁾が指定されている.

肥料等試験法に記載されたく溶性石灰のフレーム原子吸光分析装置による分析法について, 加藤ら⁸⁾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⁹⁾の結果により暫定的に評価している. 今回, 国際的に標準とされる室間共同試験による妥当性確認 (HCV: Harmonized Collaborative Validation) 方法による評価を行うため, 肥料中のく溶性石灰のフレーム原子吸光分析装置による分析法について共同試験を実施したので, その概要を報告する.

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指定配合肥料, 汚泥発酵肥料, 化成肥料, 魚かす粉末, 石こう, 混合りん酸肥料及び鉍さいけい酸質肥料を, 肥料等試験法⁷⁾に従い遠心型粉碎機 (ZM100; Retsch 製) により目開き 500 µm (鉍さいけい酸質肥料は振動ミル型粉碎機 (TI-100; HEIKO 製) により目開き 212 µm) の網ふるいを通過するまで粉碎・混合した. 次に, 7 種類の肥料について, ねじ式ポリ容器に約 1.9 g 充填したものを各 44 個調製し, 各容器に乱数表を用いてランダムに番号 (1~308) を貼付したものを試料とした. これらの識別した 7 種類の試料から乱数表を用いてランダムに 10 個ずつ抜き取り均質性試験用試料とした.

また, 7 種類の試料からランダムにそれぞれ 2 個ずつ抽出したものを共同試験用試料とし, 以下の試験室に送付した.

(共同試験参加試験室)

- ・ 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 戸畑工場
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会 本部
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会 関西支部
- ・ 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

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

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(現)名古屋センター

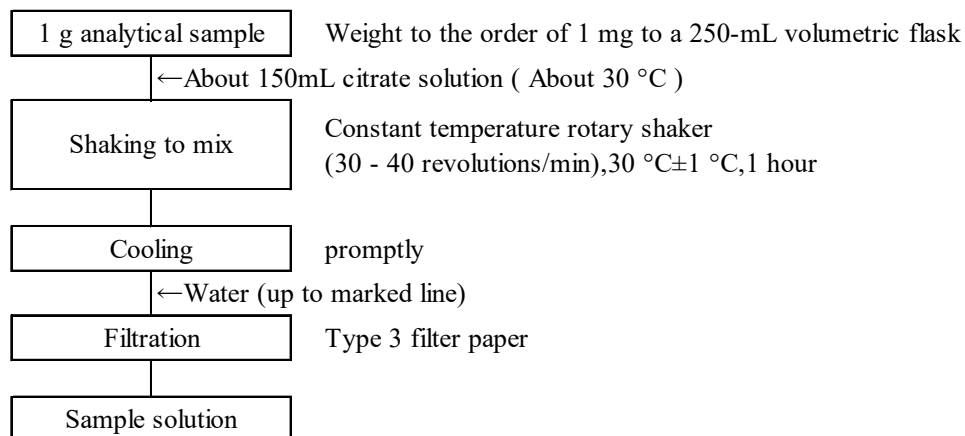
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部
 - ・ 南九州化学工業株式会社 高鍋工場
- (50 音順)

2) 装置

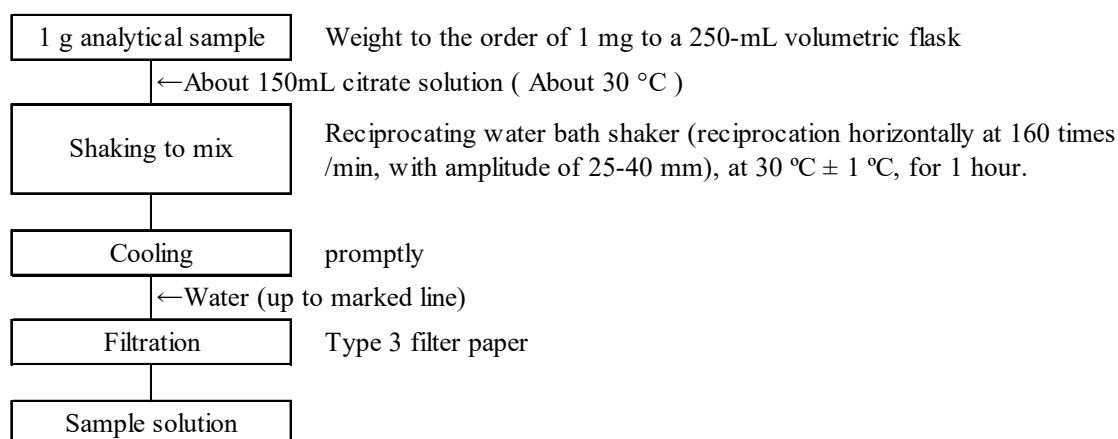
各試験室に設置している化学天秤, 恒温上下転倒式回転振り混ぜ機(または水平往復振とう恒温水槽)及びフレイム原子吸光分析装置を使用した。

3) 試験方法

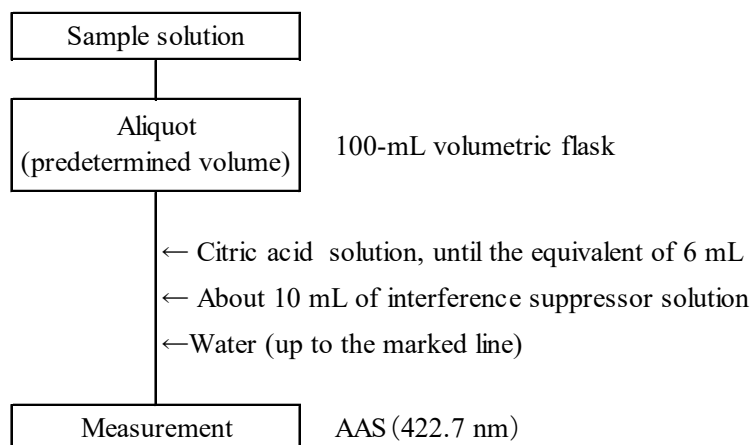
肥料等試験法⁷⁾4.5.3 く溶性石灰 4.5.3.a フレイム原子吸光法により測定した。なお, 参考のため, フローシートを Schem1 及び 2 に示した。



Scheme 1-1 Flow sheet of test for C-CaO in fertilizer(Extraction)



Scheme 1-2 Flow sheet of test for C-CaO in fertilizer(Extraction)



Scheme 2 Flow sheet of test for C-CaO in fertilizer(Measurement(AAS))

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, 11)}の均質性試験に従い, 1)により調製, 抽出した合計 70 試料について各試料につき 2 点併行で分析した.

5) 共同試験

共同試験に参加した 12 試験室の各試験室で使用した原子吸光分析装置の型式は Table 1 のとおり. それぞれの試験室に 1)により調製された計 20 試料(分析項目ごとの 10 試料), 分析手順確認用試料分析項目ごと各 1 点及び試験実施要領を配付し, 各試験室において 2020 年 10 月 15 日~2020 年 12 月 18 日の期間, 各試料に対応する 3)の試験方法に従って分析した.

Table 1 Atomic absorption spectrometer

Lab ID ^{a)}	Mode of Atomic absorption spectrometer
A	iCE 3300 AA SPECTRO (WIDE PMT), Thermo Fisher Scientific
B	HITACHI, Z-2310
C	SHIMADZU, AA-6800
D	Agilent, 240AA
E	SHIMADZU, AA-7000
F	HITACHI, ZA3300
G	HITACHI, Z-2310
H	HITACHI, Z-2310
I	HITACHI, ZA3300
J	HITACHI, Z-2310
K	HITACHI, ZA3300
L	HITACHI, Z-2310

a) Laboratory identification (random order)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

各 7 種類の試料を 2 点併行で分析した均質性試験の分析結果の総平均値(\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($\hat{\sigma}_R$)を同じく 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¹¹⁾の手順を参考に実施した. まず, 分析結果の等分散性を確認するため, Cochran の検定を実施した. その結果, すべての試料において等分散性が確認できたので, これらの分析結果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})を求めた. 次に, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコルの十分に均質の判定式(式 2)を用いて均質性の判定を行った. その結果, 全ての試料で判定式(式 2)を満たしていたことから, 共同試験用試料として妥当な均質性を有していることが確認された. なお, 参考のため, 併行精度を評価する式(式 3)を下記に示す. また(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, いずれの試料も推定室間再現標準偏差($\hat{\sigma}_R$)と比較して小さい値であった.

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

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

$$s_r < 0.5\sigma_p = 0.5\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 3)$$

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

$\hat{\sigma}_R$: 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 Homogeneity test results of citric acid-soluble lime

Sample	No. of Sample	\bar{x} ^{a)} (%) ^{b)}	$CRSD_R$ ^{c)} (%)	$\hat{\sigma}_R$ ^{d)} (%) ^{b)}	s_{bb} ^{e)} (%) ^{b)}	$0.3\hat{\sigma}_R$ ^{f)} (%) ^{b)}	s_r ^{g)} (%) ^{b)}	$0.5\hat{\sigma}_R$ ^{h)} (%) ^{b)}	s_{b+r} ⁱ⁾ (%) ^{b)}
Designated blended fertilizer	10	3.07	4	0.12	0.00	0.04	0.04	0.06	0.04
Composted sludge fertilizer	10	5.62	4	0.22	0.04	0.07	0.04	0.11	0.05
Compound fertilizer	10	11.96	3	0.36	0.08	0.11	0.06	0.18	0.10
Fish meal	10	15.37	3	0.46	0.11	0.14	0.16	0.23	0.20
Calcium sulfate dehydrate	10	19.61	3	0.59	0.00	0.18	0.29	0.29	0.29
Mixed phosphate fertilizer	10	29.36	2.5	0.73	0.06	0.22	0.43	0.37	0.44
Slag silicate fertilizer	10	42.22	2.5	1.06	0.30	0.32	0.55	0.53	0.63

a) Total mean (Number of samples after excluding outliers $\times n=2$)

b) Mass fraction

c) Criteria of precision for Reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2020

d) Estimated standard deviation of reproducibility calculated based on $CRSD_R$

e) Standard deviation sample-to-sample

f) Parameters for the determination of homogeneity (determination of s_{bb})

g) Repeatability standard deviation

h) Parameters for the determination of repeatability standard deviation (s_r)

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

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 に示した。分析試料の結果を IUPAC の共同試験プロトコル^{10, 11)}に従って統計解析した。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。その結果、12 試験室の試験成績で、7 種類の試料のうち 3 種類、3 試験室の報告値が外れ値として判定された。

Table 3 Individual result of citric acid-soluble lime (C-CaO)

(%)^{a)}

Lab ID ^{b)}	Designated blended fertilizer		Composted sludge fertilizer		Compound fertilizer		Fish meal	
	A	3.05	2.95	5.71	5.68	11.41	11.27	15.01
B	3.13	3.15	5.72	5.75	12.29	12.37	15.89	15.44
C	3.12	3.03	5.74	5.77	11.82	12.17	14.87	15.06
D	3.14	3.05	5.68	5.65	12.19	12.19	15.10	15.00
E	3.16	3.15	5.94	6.19	13.96	13.21	15.79	16.02
F	3.14	3.10	5.82	5.82	12.39	12.26	16.11	15.42
G	3.15	3.22	5.97	5.89	12.32	12.07	16.03	15.99
H	3.10	3.24	6.05	5.85	12.54	12.36	15.89	16.39
I	3.17	3.23	5.68	5.76	12.48	12.60	15.65	16.04
J	3.21	3.30	6.03	5.95	12.90	12.75	16.21	16.36
K	3.07 ^{c)}	2.45 ^{c)}	5.70	5.73	11.47	12.23	15.27	15.63
L	3.30	3.08	5.74	5.83	11.94	11.96	14.88	15.31

Lab ID ^{b)}	Calcium sulfate dehydrate		Mixed phosphate fertilizer		Slag silicate fertilizer	
	A	19.03	18.57	29.33 ^{d)}	28.68 ^{d)}	38.94
B	19.37	19.11	31.80	31.80	40.99	41.18
C	17.60	17.30	30.72	31.59	40.45	40.86
D	20.01	19.62	31.09	31.54	40.26	40.25
E	17.85	17.96	31.58	31.63	41.35	41.24
F	19.35	19.14	32.11	31.90	41.69	41.55
G	18.15	18.02	32.16	32.06	41.31	41.11
H	19.11	19.11	32.44	31.72	41.36	41.52
I	19.64	19.72	31.73	32.06	41.05	41.17
J	19.33	19.01	33.22	33.10	43.02 ^{d)}	43.26 ^{d)}
K	19.47	19.12	31.43	32.80	40.37	40.09
L	18.25	18.31	31.62	31.46	40.99	40.46

a) Mass fraction

b) Laboratory identification (random order)

c) Outlier of Cochran test

d) Outlier of Grubbs 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^{10, 11)}した平均値, 併行標準偏差 (s_t) 及び併行相対標準偏差 (RSD_t), 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.

7 種類の試料について統計解析の結果, 平均値は 3.14 % ~40.78 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 (s_t) は 0.07 % ~0.4 % (質量分率), 併行相対標準偏差 (RSD_t) は 0.4 % ~2.4 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.09 % ~0.78 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 1.9 % ~4.7 % 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許容範囲内であることから、本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 citric acid-soluble lime

Sample	Labs	Mean ^{b)}	s_r ^{d)}	RSD_r ^{e)}	$2 \times CRSD_r$ ^{f)}	s_R ^{g)}	RSD_R ^{h)}	$2 \times CRSD_R$ ⁱ⁾
	$p(q)$ ^{a)}	(%) ^{c)}	(%) ^{c)}	(%)	(%)	(%) ^{c)}	(%)	(%)
Designated blended fertilizer	11 (1)	3.14	0.07	2.3	4	0.09	2.7	8
Composted sludge fertilizer	12	5.82	0.07	2.4	4	0.14	2.4	8
Compound fertilizer	12	12.30	0.24	2.0	3	0.58	4.7	6
Fish meal	12	15.60	0.25	1.6	3	0.51	3.2	6
Calcium sulfate dehydrate	12	18.84	0.19	1.0	3	0.75	4.0	6
Mixed phosphate fertilizer	11 (1)	31.89	0.40	1.3	2	0.60	1.9	5
Slag silicate fertilizer	11 (1)	40.78	0.18	0.4	2	0.78	1.9	5

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) × The number of repetition(2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Relative standard deviation of repeatability

f) Tolerance limits of relative standard deviation of repeatability in Testing Methods for Fertilizer 2020

g) Standard deviation of reproducibility

h) Relative standard deviation of reproducibility

i) Tolerance limits of relative standard deviation of reproducibility in Testing Methods for Fertilizer 2020

4. まとめ

肥料等試験法⁷⁾に記載された可溶性石灰(フレイム原子吸光法)の分析法について、12 試験室で 7 種類(14 点)の試料を用いて共同試験を実施し、室間再現性の評価をした。

その結果、フレイム原子吸光法による可溶性石灰の平均値 3.14 % (質量分率) ~ 40.78 % (質量分率) の範囲において、室間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 1.9 % ~ 4.7 % であり、肥料等試験法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許容範囲内であることから、本法の精度は性能評価規準の要求事項に適合していることが確認された。

今回検討した分析法は、すでに単一試験室による妥当性確認 (SLV) がされており、さらに今回の検討で国際的に標準とされる室間共同試験による妥当性確認 (HCV) が評価されたことから、この試験法の性能は肥料等試験法における性能規準の Type B (SLV 及び HCV) 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きました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、公益財団法人日本肥糧検定協会及び南九州化学工業株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 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」)
- 2) 肥料の品質の確保等に関する法律施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改正令和 2 年 10 月 14 日, 政令第 308 号(2021)
- 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, 最終改正令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1018 号(2021)
- 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, 最終改正令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1011 号(2021)
- 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, 最終改正令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1012 号(2021)
- 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, 最終改正令和 3 年 6 月 14 日, 農林水産省告示第 1010 号(2021)
- 7) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法 (2020)
< http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenhoo_2020.pdf >
- 8) 加藤まどか, 山西正将, 白井裕治:肥料中の石灰の測定法の開発, 肥料研究報告, **13**, 36~49(2020)
- 9) 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)
- 10) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67**(2), 331~343 (1995)
- 11) 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 Citric acid-soluble Lime in Fertilizers: Harmonized Collaborative Validation

MATSUO Shingo¹, YAGI Keiji¹, KOBORI Takuya² and YOSHIMURA Hidemi¹

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

² FAMIC, Fukuoka Regional Center (Now) FAMIC, Nagoya Regional Center

It has been verified performance that determination of citric acid-soluble lime (C-CaO) 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 citric acid-soluble lime in fertilizer by atomic absorption spectrometry. We sent seven samples passed the test for homogeneity, respectively, 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 citric acid-soluble lime were reported 3.14 % - 40.78 % as a mass fraction and 1.9 % - 4.7 %, respectively. In conclusion, these results indicated that method has acceptable precision for determination of citric acid-soluble lime in this concentration ranges.

Key words Citric acid-soluble lime, Flame atomic absorption spectrometry, harmonized collaborative validation

(Research Report of Fertilizer, 14, 70-78, 2021)