

8 硫酸イオンの分析法の性能評価

— 室間共同試験による妥当性確認 —

平田絵理香¹, 野崎友春¹, 白井裕治¹

キーワード イオンクロマトグラフィー, 硫酸イオン, サプレッサー法, 共同試験による妥当性確認

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. 「肥料の品質の確保等に関する法律」の告示に定める分析法²⁾として肥料等試験法³⁾が指定され, FAMIC では収載する試験方法について開発及びその性能を調査し, 肥料等試験法の改正案を農林水産省担当官及び有識者と協議し, 承認を受けた後, ホームページにて公表することとしている.

現在, 肥料等試験法に収載されている硫酸イオンの分析法に関し, 坂井田ら⁴⁾がその真度及び精度の性能について単一試験室による妥当性 (SLV: Single Laboratory Validation) を確認している. しかし, 収載されている方法は抽出溶媒の塩酸濃度が他の可溶性成分で用いる濃度と異なっていたことから, 利便性向上を目的として分析法の改良を行ない, 改良された分析法について単一試験室による妥当性 (SLV) を確認した⁵⁾.

今回, この改良した硫酸イオンの分析法について, 国際的に標準とされる室間共同試験を実施して, 複数試験室による妥当性 (HCV: Harmonized Collaborative Validation) を確認し分析法の評価を行ったので, 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

市場に流通している肥料 (以下, 「流通肥料」とする.) のうち, 6 種類の肥料 (化成肥料 3 種類, 硫酸アンモニア, 石こう及び重過りん酸石灰を各 1 種類) を目開き 500 μm の網ふるいを通過するまで粉碎 (ZM-200; Retsch 製) し混合した. その後, 共同試験用試料として 6 種類の肥料各 1.9 g をそれぞれねじ式ポリ容器に 60 個充填して密封した.

試料 360 個 (60 個 \times 6 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. これらの識別した試料から乱数表を用いて無作為に 6 種類の肥料グループから 10 個ずつ抜き取り, 60 個 (10 個 \times 6 種類) を均質性試験用試料とした. 次に, 6 種類の肥料グループから無作為にそれぞれ 2 個ずつ抽出したものを一試験室に送付する共同試験用試料とし, 以下の参加試験室数に必要な試料を準備・配付した.

(共同試験参加試験室)

- ・ 一般財団法人日本海事検定協会
- ・ 一般財団法人日本食品分析センター 多摩研究所

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

- ・ 株式会社島津製作所 分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
- ・ 株式会社兵庫分析センター
- ・ 公益財団法人日本肥糧検定協会
- ・ サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社
- ・ ジーエルサイエンス株式会社 カスタマーサポートセンター
- ・ 昭和電工株式会社 Shodex サービスセンター
- ・ 東亜ディーケーケー株式会社 開発研究センター
- ・ 東京都産業労働局 農林水産部家畜保健衛生所 肥飼料検査センター
- ・ 東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部カスタマーサポートセンター
- ・ 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 肥料鑑定課
- ・ メトロームジャパン株式会社

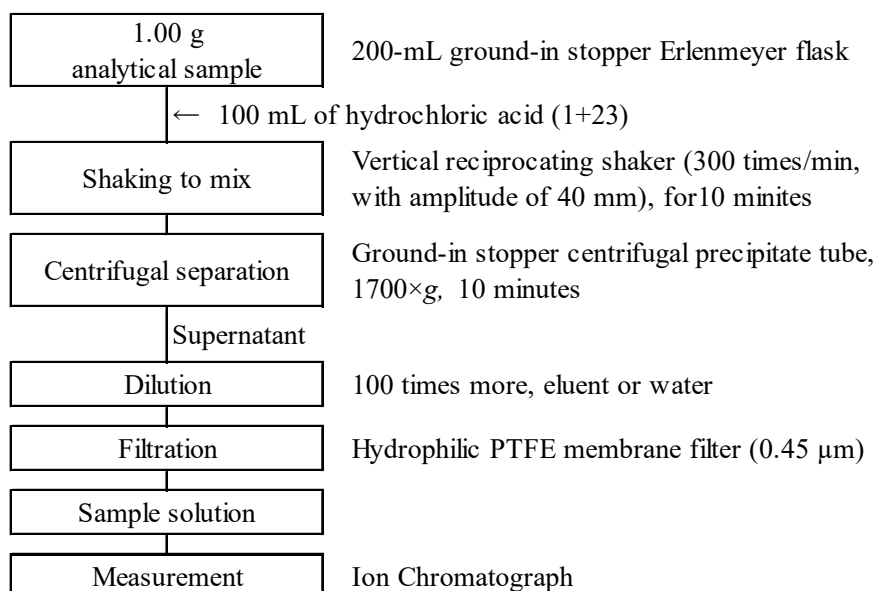
(50 音順)

2) 装置

各試験室に設置している振り混ぜ機, イオンクロマトグラフを使用した. 分離カラム(ガードカラムを含む)は各試験室が保有しているものを使用した.

3) 分析の方法

共同試験で用いる分析法として, 肥料等試験法(2020) 6.10.1 硫酸イオン 6.10.1.a イオンクロマトグラフ法を改良した方法⁵⁾により測定した. なお, 参考のため, フローシートを Scheme 1 で示す.



Scheme 1 Flow sheet for sulfate ion in fertilizers

検量線用標準溶液の調製は 0.2 μg/mL, 0.5 μg/mL, 1 μg/mL, 2 μg/mL, 3 μg/mL, 4 μg/mL, 5 μg/mL の濃度となるように指定し, クロマトグラムにおける硫酸イオンのピーク面積を用いて検量線を作成することとした. また, 参加試験室が使用する機器及び測定条件によっては検量線が二次曲線となる可能性が考えられたため, 一次式及び二次式で検量線を作成しそれぞれの検量線を用いて分析試料中の硫酸イオン濃度を算出した値

を報告結果とした。

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⁶⁾の均質性試験に従い, **1)**で調製した均質性試験用試料 60 個について, 各試料につき 2 点併行で **3)**に従って分析した。ただし, 三角フラスコにはかり入れる分析試料は 0.90 g とし, ピーク面積を用いて一次式の検量線を作成し各試料の硫酸イオン濃度を算出した。

5) 共同試験

共同試験に参加した 13 試験室において使用したイオンクロマトグラフの型式, 分離用カラム及びガードカラム, 測定条件は Table 1 のとおりである。試料到着日から令和 2 年 12 月 23 日まで(追加で依頼した一部の試験室は令和 3 年 1 月 29 日まで)に, それぞれの試験室において **1)**により配付した共同試験用試料 12 点を, **3)**の分析の方法に従って分析した。

Table 1 Instruments and conditions in the collaborative study

Labs ID ^{b)}	Ion Chromatograph	Column condition			Eluent	Flow rate	Diluent	Injection volume
		Column	Guard column	Column temperature				
A	840Professor IC, Metrohm	Shodex IC SI-90 4E, Showa Denko	Shodex IC SI-90G, Showa Denko	25°C	1.8 mmol/L Sodium carbonate +1.7 mmol/L Sodium bicarbonate	eluent	20 µL	
B	ICS-1100, Thermo Scientific Dionex	Shodex IC SI-90 4E, Showa Denko	— ^{b)}	25°C	1.8 mmol/L Sodium carbonate +1.7 mmol/L Sodium bicarbonate	water	20 µL	
C	IC-2010, Tosoh	TSKgel Super(C-Anion HS, Tosoh	TSKgel guardcolumn Super(C-A HS, Tosoh	40°C	1.1 mmol/L Sodium carbonate +7.5 mmol/L Sodium bicarbonate	eluent	30 µL	
D	881 Compact IC pro, Metrohm	IonPac AS12A, Thermo Scientific Dionex	IonPac AG12A, Thermo Scientific Dionex	32°C	2.7 mmol/L Sodium carbonate +0.3 mmol/L Sodium bicarbonate	eluent	20 µL	
E	Integrion RFIIC, Thermo Scientific Dionex	IonPac AS20, Thermo Scientific Dionex	IonPac AG20, Thermo Scientific Dionex	35°C	5.0 mmol/L ~47.0 mmol/L potassium hydroxide gradient	water	25 µL	
F	ICS-2000, Thermo Scientific Dionex	IonPac AS19 (4×250 mm), Thermo Scientific Dionex	IonPac AG19 (4×50 mm), Thermo Scientific Dionex	30°C	10 mmol/L Potassium hydroxide	water	20 µL	
G	IC-8100EX, Tosoh	TSKgel Super(C-Anion HS, Tosoh	TSKgel guardcolumn Super(C-A HS, Tosoh	40°C	0.8 mmol/L Sodium carbonate +7.5 mmol/L Sodium bicarbonate	water	30 µL	
H	ICA-7000, DKK-Toa	PCI-205, DKK-Toa	PCI-205G, DKK-Toa	37°C	1.8 mmol/L Sodium carbonate +1.7 mmol/L Sodium bicarbonate	water	20 µL	
I	Integrion RFIIC, Thermo Scientific Dionex	IonPac AS11-HC (4×250 mm), Thermo Scientific Dionex	IonPac AG11-HC (4×50 mm), Thermo Scientific Dionex	40°C	1.0 mmol/L ~70.0 mmol/L potassium hydroxide gradient	water	25 µL	
J	HIC-ESP, Shimadzu	Shim-pack IC-SA2, Shimadzu	Shim-pack IC-SA2(G), Shimadzu	25°C	1.8 mmol/L Sodium carbonate +1.7 mmol/L Sodium bicarbonate	water	20 µL	
K	ICS-2000, Thermo Scientific Dionex	IonPac AS11-HC (4×250 mm), Thermo Scientific Dionex	IonPac AG11-HC (4×50 mm), Thermo Scientific Dionex	35°C	15.0 mmol/L ~50.0 mmol/L potassium hydroxide gradient	water	25 µL	
L	Integrion RFIIC, Thermo Scientific Dionex	IonPac AS22, Thermo Scientific Dionex	IonPac AG22, Thermo Scientific Dionex	35°C	4.5 mmol/L Sodium carbonate +1.4 mmol/L Sodium bicarbonate	water	50 µL	
M	Eco IC, Metrohm	Metrosep A Supp 4 - 250/4.0, Metrohm	Metrosep A Supp 4 Guard/4.0, Metrohm	room temperature (24°C)	1.8 mmol/L Sodium carbonate +1.7 mmol/L Sodium bicarbonate	eluent	20 µL	

a) Laboratory identification (In no particular order)

b) Not used Guard column

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

各 6 種類の試料 (10 個) を 2 点併行で分析した均質性試験の分析結果から求めた総平均値 (\bar{x}) 及び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³⁾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 ($\hat{\sigma}_R$) 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を確認した. 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, 化成肥料 3 を除く 5 種類の試料が $\hat{\sigma}_R$ と比較して十分に小さい値であった.

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

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

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

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

$\hat{\sigma}_R$: 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 sulfate ion

Sample	Number 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)}
Ammonium sulfate	10	71.9	8	5.75	0.28	1.73	0.90	2.88	0.94
Gypsum	10	50.4	8	4.03	0.93	1.21	1.26	2.02	1.57
Complex fertilizer 1	10	33.5	8	2.68	0.16	0.80	0.44	1.34	0.47
Complex fertilizer 2	10	16.1	8	1.29	0.09	0.39	0.25	0.65	0.26
Triple superphosphate	10	3.46	8	0.28	0 ^{j)}	0.08	0.20	0.14	0.20
Complex fertilizer 3	10	2.48	8	0.20	0 ^{j)}	0.06	0.25	0.10	0.25

a) Grand mean value (n = 10×number of repetition(2))

b) Mass fraction

c) The aim of Rerative standard deviation of reproducibility in Testing Methods for Fertilizers 2020

d) The estimated standard deviation of reproducibility calculated based on $CRSD_R$

e) Standard deviation of sample-to-sample

f) The value for the test : $s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R$

g) Repeatability standard deviation

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

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

j) When the variance between groups < the variance within a group, s_{bb}^2 was considered as 0

2) 共同試験結果及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験結果のうち、試験室 C は使用機器の都合上、検量線の低濃度で十分なピーク強度が得られなかったことから 2.5 µg/mL～100 µg/mL の硫酸イオン濃度で検量線を作成し、希釈濃度も検量線濃度に合わせて変更されていた。また、試験室 B 及び G は垂直往復振り混ぜ機を保有していなかったことから、水平往復振り混ぜ機を使用したとの報告があった。これら 2 試験室で使用された水平往復振り混ぜ機及び振り混ぜ条件を Table 3 で示した。

Table 3 The conditions of shakers reciprocating horizontally

Labs ID ^{a)}	Horizontally reciprocating shaker	Shaking amplitude (mm)	Shaking frequency (times/min) ^{b)}	Shaking time (min)
B	SRR-2, AS ONE	30 ^{c)}	260～270	10
G	DOUBLE SHAKER NR-3, TAITEC	40	110	10

a) Laboratory identification (In no particular order)

b) 1 times/min = 1 rpm

c) Quoted from the user's manual

今回、検量線用標準液の濃度を変更した試験室 C 及び水平往復振り混ぜ機を用いて試料溶液を調製した試験室 B 及び G については、Scheme 1 の試験方法や実施要領で示した条件と異なる手順により分析された結果であることから、分析法の室間再現精度を推定するための統計解析には用いないこととした。統計解析に用いなかった試験室も含め、各試験室から報告された共同試験結果を Table 4-1(一次式による算出)及び Table 4-2(二次式による算出)に示した。

Table 4-1 Harmogeneity test results of sulfate ion by calibration curve designed linear function

(%)^{a)}

Labs ID ^{b)}	Ammonium sulfate		Gypsum		Complex fertilizer 1		Complex fertilizer 2		Triple superphosphate		Complex fertilizer 3	
A	75.74	75.46	50.83	49.57	36.08	36.06	16.71	16.24	4.37	4.20	2.56	2.46
D	71.93	71.81	50.07	49.89	32.79	32.55	15.73	15.69	3.75	3.67	1.78	1.71
E	70.88	70.62	47.90	47.59	32.55	31.91	14.93	14.42	3.22	3.20	1.51	1.50
F	76.09	69.72	49.09	48.38	31.61	31.27	18.01	16.71	3.90 ^{c)}	3.59 ^{c)}	2.00	1.80
H	72.22	70.48	48.78	47.28	32.46	32.12	15.31	15.03	3.54	3.52	2.00	1.97
I	84.97 ^{d)}	84.00 ^{d)}	56.29 ^{d)}	53.43 ^{d)}	36.92	35.16	18.68	18.31	3.95	3.90	1.94	1.85
J	76.06	71.49	50.69	49.39	34.38	33.62	15.17 ^{c)}	7.12 ^{c)}	3.96	3.88	2.03	2.02
K	67.10	66.93	46.39	46.23	30.56	30.31	14.43	14.15	3.27	3.23	1.69	1.64
L	73.96	69.75	49.59	48.90	32.66	32.04	16.13	15.79	3.43	3.40	1.91	1.72
M	70.91	70.73	49.03	48.75	32.19	31.97	15.76	15.75	3.56	3.54	1.93	1.90
B	66.74	66.45	46.53	44.94	30.99	30.67	14.69	14.68	3.44	2.87	1.96	1.94
C	75.29	74.94	49.46	32.45	33.17	32.94	15.20	14.86	3.51	3.19	4.71	1.90
G	72.20	71.95	39.86	35.68	33.01	31.75	15.89	15.84	3.29	3.06	1.83	1.78

a) Mass fraction

b) Laboratory identification

Upper row : Reported values used for statistical analysis (Original date for Table 5)

Lower row : Excluded reported values because of different procedures from the Scheme 1

c) Outlier of Cochran test

d) Outlier of Grubbs test

Table 4-2 Harmogeneity test results of sulfate ion by calibration curve designed quadratic function

(%)^{a)}

Labs ID ^{b)}	Ammonium sulfate		Gypsum		Complex fertilizer 1		Complex fertilizer 2		Triple superphosphate		Complex fertilizer 3	
A	75.90	75.62	51.19	49.93	36.36	36.34	16.71	16.25	4.39	4.23	2.54	2.44
D	72.21	72.11	50.56	50.39	33.15	32.91	15.76	15.72	3.77	3.68	1.73	1.66
E	70.72	70.47	47.66	47.36	32.38	31.75	14.91	14.39	3.22	3.20	1.54	1.53
F	76.28	70.10	49.84	49.14	32.36	32.02	17.94	16.69	4.02 ^{c)}	3.70 ^{c)}	2.07	1.86
H	72.66	70.98	49.50	48.00	32.98	32.62	15.38	15.10	3.55	3.53	1.94	1.91
I	84.99 ^{d)}	84.01 ^{d)}	56.10 ^{d)}	53.22 ^{d)}	36.73	34.98	18.71	18.33	3.94	3.88	1.94	1.86
J	76.18	71.67	50.97	49.67	34.60	33.83	15.20 ^{c)}	7.17 ^{c)}	3.97	3.89	2.01	2.00
K	70.72	70.56	48.77	48.60	32.24	31.97	15.22	14.93	3.44	3.41	1.78	1.73
L	74.23	70.10	50.11	49.42	33.05	32.42	16.15	15.82	3.44	3.41	1.87	1.67
M	71.12	70.94	49.37	49.09	32.44	32.22	15.78	15.78	3.56	3.55	1.90	1.87
B	66.99	66.69	46.98	45.38	31.30	30.96	14.73	14.70	3.43	2.84	1.90	1.87
C	- ^{e)}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G	72.35	72.10	40.22	36.04	33.36	32.10	15.90	15.85	3.34	3.11	1.86	1.80

a)~d) Refer to the footnote of Table 4-1

e) No report

Table 4-1 及び Table 4-2 の上段で示した 10 試験室について、各試料の結果を IUPAC の共同試験プロトコル^{7, 8)}に従って統計解析した。まず、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、Table 4-1 で示した一次式の検量線による算出方法では 10 試験室の試験結果のうち、硫酸アンモニアで 1 試験室、石こうで 1 試験室、化成肥料 2 で 1 試験室及び重過りん酸石灰で 1 試験室が外れ値として判定された。また、Table 4-2 で示した二次式の検量線による試験結果においても、一次式を用いた検量線の結果と同様に、10 試験室のうち硫酸アンモニアで 1 試験室、石こうで 1 試験室、化成肥料 2 で 1 試験室、重過りん酸石灰で 1 試験室が外れ値として判定された。

3) 併行精度及び室間再現精度

10 試験室の報告値から外れ値を除外した分析結果を用いて算出した平均値, 併行標準偏差 (s_r), 併行相対標準偏差 (RSD_r) 及び肥料等試験法における併行精度の許容範囲並びに室間再現標準偏差 (s_R), 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) 及び肥料等試験法³⁾における室間再現精度の許容範囲を Table 5 に示した。

Table 5 Statistical analysis of Collaborative study results

Calibration curve	Sample	Labs $p(q)^b$	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	Repeatability			Repeatability		
				s_r^d (%) ^{e)}	RSD_r^e (%)	$2*CRSD_r^f$ (%)	s_R^g (%) ^{e)}	RSD_R^h (%)	$2*CRSD_R^i$ (%)
linear function	Ammonium sulfate	9(1)	71.77	2.14	3.0	8	2.81	3.9	16
	Gypsum	9(1)	48.80	0.61	1.3	8	1.35	2.8	16
	Complex fertilizer 1	10	32.96	0.49	1.5	8	1.89	5.7	16
	Complex fertilizer 2	9(1)	15.99	0.38	2.4	8	1.34	8.4	16
	Triple superphosphate	9(1)	3.64	0.05	1.4	8	0.35	9.7	16
	Complex fertilizer 3	10	1.90	0.07	3.8	8	0.27	14.3	16
quadratic function	Ammonium sulfate	9(1)	72.37	2.09	2.9	8	2.25	3.1	16
	Gypsum	9(1)	49.42	0.61	1.2	8	1.09	2.2	16
	Complex fertilizer 1	10	33.37	0.49	1.5	8	1.62	4.8	16
	Complex fertilizer 2	9(1)	16.09	0.37	2.3	8	1.23	7.7	16
	Triple superphosphate	9(1)	3.67	0.05	1.4	8	0.34	9.2	16
	Complex fertilizer 3	10	1.89	0.07	3.9	8	0.26	13.7	16

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 (n =The number of laboratories(p)×The number of repetition(2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Repeatability relative standard deviation

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

g) Standard deviation of reproducibility

h) Reproducibility relative standard deviation

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

6 種類の試料について統計解析の結果, すべての測定条件において, 硫酸イオンの平均値は 1.89 % (質量分率) ~ 72.37 % (質量分率) であり, その併行標準偏差 (s_r) は 0.05 % (質量分率) ~ 2.14 % (質量分率), 併行相対標準偏差 (RSD_r) は 1.2 % ~ 3.9 %, 室間再現標準偏差 (s_R) は 0.26 % (質量分率) ~ 2.81 % (質量分率), 室

間再現相対標準偏差 (RSD_R) は 2.2 % ~ 14.3 % であった。

いずれの試料及び測定条件においても、併行相対標準偏差 (RSD_r) 及び室間再現相対標準偏差 (RSD_R) が肥料等試験法³⁾の妥当性確認の手順に示している各濃度のレベルにおける精度の許容範囲内であったことから、本法の精度は肥料等試験法の性能評価規準の要求事項に適合していることを確認した。

なお、参考として、**2) 共同試験結果及び外れ値検定**にて、Scheme 1 の試験方法や実施要領と異なる手順で測定したことを理由に Table 5 で結果を示した解析に用いなかった試験室 B, C 及び G を含めた 13 試験室の試験結果について、Cochran の検定及び Grubbs の検定により外れ値を除外し、統計解析した結果を Table 6 に示す。これらの結果についても、併行相対標準偏差 (RSD_r) 及び室間再現相対標準偏差 (RSD_R) が肥料等試験法の妥当性確認の手順で示している各濃度のレベルにおける精度の許容範囲内であった。

Table 6 Statistical analysis of Collaborative study results containing excluded value because of different procedures

Calibration curve	Sample	Labs $p(q)^b$	Mean ^{b)} (%) ^{c)}	Repeatability			Repeatability		
				s_r^d	RSD_r^e	$2*CRSD_r^f$	s_R^g	RSD_R^h	$2*CRSD_R^i$
				(%) ^{c)}	(%)	(%)	(%) ^{c)}	(%)	(%)
linear function	Ammonium sulfate	12(1)	71.64	1.86	2.6	8	3.04	4.2	16
	Gypsum	11(2)	49.07	0.89	1.8	8	2.50	5.1	16
	Complex fertilizer 1	13	32.76	0.50	1.5	8	1.76	5.4	16
	Complex fertilizer 2	11(2)	15.65	0.21	1.4	8	1.16	7.4	16
	Triple superphosphate	13	3.56	0.15	4.4	8	0.36	10.2	16
	Complex fertilizer 3	11(2)	1.84	0.07	3.6	8	0.16	8.7	16
quadratic function	Ammonium sulfate	11(1)	71.85	1.89	2.6	8	2.62	3.6	16
	Gypsum	11(1)	49.60	0.89	1.8	8	2.23	4.5	16
	Complex fertilizer 1	10(2)	32.53	0.42	1.3	8	0.85	2.6	16
	Complex fertilizer 2	10(2)	15.81	0.21	1.3	8	1.13	7.1	16
	Triple superphosphate	11(1)	3.65	0.10	2.6	8	0.34	9.4	16
	Complex fertilizer 3	11(1)	1.83	0.07	3.8	8	0.14	7.9	16

a)~i) Refer to the footnote of Table 5

4) 機器測定条件の検討 : 室間共同試験の報告における直線検量線の評価

サプレッサーを用いたイオンクロマトグラフィーでの測定で炭酸系溶離液を使用する場合、検量線の直線性が得られない場合があることが知られている⁹⁾。しかし、メトローム社のイオンクロマトグラフで炭酸系溶離液を用いたサプレッサー法の測定において、炭酸サプレッサーを使用しない場合に検量線の直線性が得られたという報告もある⁵⁾。

そこで、検量線の直線性におけるイオンクロマトグラフの機器間差を確認するために、室間共同試験に参加した 13 試験室の報告について一次式を用いた検量線の決定係数(r^2)を確認したところ、全ての試験室において、一次式を用いた検量線の決定係数(r^2)が 0.99 以上となり、検量線の直線性を確認することができた(Table 7)。以上のことから、今回の共同試験で使用した機器及び測定条件においては、検量線に一次式を用いることが望ましいと考えられた。

よって、今回の共同試験においては、Table 5 の上段で示したとおり、一次式による報告値から推定された併行精度及び室間再現精度により分析法の性能を評価することとした。

Table 7 The coefficient of determination of the linear calibration curve

Labs ID ^{a)}	Coefficient of determination (r^2)
A	0.9997
B	0.9994
C	0.9992
D	0.9998
E	1.0000
F	0.9984
G	1.0000
H	0.9996
I	1.0000
J	1.0000
K	0.9982
L	0.9998
M	0.9999

a) Laboratory identification (In no particular order)

4. まとめ

肥料等試験法³⁾に記載されている硫酸イオン試験法(イオンクロマトグラフ法)の抽出方法等を改良した分析法について、国際的に標準とされる室間共同試験を実施した結果は次のとおり。

(1) 6 種類(12 点)の肥料を用いて 13 試験室が参加して室間共同試験を実施し、室間再現精度の評価を行った。抽出操作や検量線濃度が異なる試験室を除いた 10 試験室の一次式検量線による分析結果を用いて統計解析した結果、硫酸イオン平均値 1.90 %(質量分率)~71.77 %(質量分率)において室間再現相対標準偏差は 2.8 %~14.3 %であり、肥料等試験法で示す精度の許容範囲内であった。このことから、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を確認した。

(2) 共同試験に参加した 13 試験室全てにおいて、一次式を用いた検量線の決定係数(r^2)が 0.99 以上であったことから、本法で検量線を作成する際は一次式を用いることが望ましいと考えられた。

今回検討した分析法は、すでに単一試験室による妥当性(SLV)の確認がされていることから、分析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。

謝 辞

共同試験にご協力いただきました一般財団法人日本海事検定協会，一般財団法人日本食品分析センター，株式会社島津製作所，株式会社兵庫分析センター，公益財団法人日本肥糧検定協会，サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社，ジーエルサイエンス株式会社，昭和電工株式会社，東亜ディーケーケー株式会社，東京都産業労働局農林水産部家畜保健衛生所，東ソー株式会社，メロームジャパン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) 農林水産省告示:肥料の品質の確保等に関する法律第十七条第一項第三号の規定に基づき，肥料の品質の確保等に関する法律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)
- 3) 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/shikengo_2020.pdf>
- 4) 坂井田里子，小塚健志，白井裕治:イオンクロマトグラフィーによる硫酸イオンの測定法の開発，肥料研究報告，**13**, 50-64 (2020)
- 5) 平田絵理香:イオンクロマトグラフィーによる硫酸イオン分析における抽出方法の改良，肥料研究報告，**14**, 79-86 (2021)
- 6) 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)
- 7) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2) , 331-343 (1995)
- 8) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)
- 9) 四角目和広，横山幸雄，佐藤寿邦: サプレッサー付電気伝導率検出方式陰イオンクロマトグラフィーにおける直線検量線の妥当性，分析化学，**52**(5), p297-304 (2003)

Performance Evaluation of Determination Method for Sulfate ion in Fertilizers : Harmonized Collaborative Validation

HIRATA Erika ¹, NOZAKI Tomoharu ¹ and SHIRAI Yuji ¹

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

For the determination of sulfate ion (SO_4^{2-}) by ion chromatography in Testing Methods for Fertilizers 2020, an improved method was reported in order to improve the efficiency of the test. We conducted a collaborative study by means of international harmonized protocol to evaluate the improved method for determination of sulfate ion in fertilizer by ion chromatography. Each of six samples passed the test for homogeneity, and we sent them to 13 collaborators. They analyzed them as blind duplicated. Because of not deviating from the extraction procedure, valid data were those reported by 10 collaborators. After identification of outliers with Cochran test and Grubbs test, the mean values calculated by linear calibration curve and the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) of determination of sulfate ion were estimated 1.90 %-71.77 % as a mass fraction and 2.8 %-14.3 %. This result indicated that the method has acceptable precision for determination of sulfate ion in this concentration range. In conclusion, we confirmed the validity of the method for the determination of sulfate ion.

Key words ion chromatography, sulfate ion, suppressor method, harmonized collaborative validation

(Research Report of Fertilizer, **14**, 87-98, 2021)