

## 10 肥料認証標準物質の開発

—FAMIC-C(汚泥肥料)の調製—

松尾信吾<sup>1</sup>, 八木啓二<sup>1</sup>, 田中雄大<sup>1</sup>,  
吉村英美<sup>1</sup>, 秋元里乃<sup>2</sup>

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

### 1. はじめに

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, これらの分析結果の質の保証が求められている. 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, 分析結果の質の保証のため, 管理試料又は肥料認証標準物質<sup>1)</sup>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客観性を担保している. 近年, 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 Q17025)<sup>2)</sup>の要求事項を参考にした結果の信頼性確保が重要視されている.

そこで, ISO/IEC 17025 (JIS Q17025)で推奨される「認証標準物質の定期的な使用」及び「試験所間の比較又は技能試験プログラムへの参加」に資するため, 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・配付している. その際, 国際的に必要とされる事項を満たすため, 認証標準物質の調製は ISO 17034 (JIS Q 17034)<sup>3)</sup>の「5 技術及び生産に関する要求事項」を参考とし, 結果の解析は ISO Guide 35 (JIS Q 0035)<sup>4)</sup>, 認証書による値付け及びラベルの作成は ISO Guide 31 (JIS Q 0031)<sup>5)</sup>を参考としている.

2021 年度は新たに肥料認証標準物質 C (FAMIC-C-21)を調製し, その主成分及び有害成分について 14 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

基材となる肥料は, 関東近県で発生するし尿汚泥, 工業汚泥, 下水汚泥及び動植物原料(食品残さ)を原料として肥料製造工場で製造された市販の汚泥肥料を選定した.

なお, 基材となる肥料は, 汚泥肥料の公定規格に定める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)の最大量に対して, 約 1/10 以上含まれていることを予め確認のうえ選定した.

<sup>1</sup> 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

<sup>2</sup> 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) 肥料認証標準物質候補の調製

基材となる肥料は購入後、定温乾燥機で 65 °C、5 時間以上乾燥し、放冷後、超遠心粉碎機で目開き 500  $\mu\text{m}$  のふるいを通すまで粉碎した。粉碎後は、均質となるよう十分混合し、褐色ガラス瓶に約 150 g ずつ小分け後密封し、成分の長期安定化をはかるため、 $\gamma$  線照射滅菌を行い、「肥料認証標準物質候補 C」として試料を調製した。

## 3) 分析成分

肥料の品質の確保等に関する法律により汚泥肥料の保証票に記載が定められている主成分(窒素全量(T-N)、りん酸全量(T-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)、加里全量(T-K<sub>2</sub>O)、石灰全量(T-CaO)、銅全量(T-Cu)、亜鉛全量(T-Zn))及び「炭素窒素比」の算出に必要な有機炭素(O-C)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(砒素(As)、カドミウム(Cd)、水銀(Hg)、ニッケル(Ni)、クロム(Cr)、鉛(Pb))に水分を加えた計 14 項目を分析成分とした。

## 4) 分析法

各分析成分の分析法は、肥料等試験法<sup>6)</sup>により実施した。なお、分析成分及び分析法を表 1 に示す。

表1 肥料認証標準物質候補Cの分析成分及び分析法

成分	項目番号 <sup>a)</sup>	分析法の概要	
		試料溶液調製方法等	測定法
水分 (H <sub>2</sub> O)	3.1.a	—	乾燥器による乾燥減量法 <sup>b)</sup>
	3.1.b	—	水分計による乾燥減量法 <sup>c)</sup>
窒素全量 (T-N)	4.1.1.b	—	燃焼法
	4.1.1.a	ケルダール硫酸分解—蒸留	中和滴定
りん酸全量 (T-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	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	
加里全量 (K <sub>2</sub> O)	4.3.1.a	灰化-塩酸煮沸	フレイム原子吸光法又は フレイム光度法
		灰化-王水分解	
石灰全量 (T-CaO)	4.5.1.a	灰化-塩酸煮沸	フレイム原子吸光法
		灰化-王水分解	
有機炭素 (O-C)	4.11.1.a	二クロム酸酸化	酸化還元滴定
	4.11.1.b	—	燃焼法
銅全量 (T-Cu)	4.10.1.a	灰化-塩酸煮沸	フレイム原子吸光法
	4.10.1.b	灰化-王水分解	
亜鉛全量 (T-Zn)	4.9.1.a	灰化-塩酸煮沸	フレイム原子吸光法
	4.9.1.b	灰化-王水分解	
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
	5.2.b		ジエチルジチオカルバミド酸銀吸光光度法
カドミウム (Cd)	5.3.a	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.3.b		ICP発光分光分析法
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	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.4.b		ICP発光分光分析法
クロム (Cr)	5.5.a	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.5.d		ICP発光分光分析法
鉛 (Pb)	5.6.a	灰化-王水分解	フレイム原子吸光法
	5.6.b		ICP発光分光分析法

a) 肥料等試験法(2021)の試験項目番号

b) 100 °C±2 °C, 5時間

c) 100 °Cにて恒量になるまで乾燥(質量減少量1 mg/90秒又は140秒)

## 5) 均質性確認

IUPAC の技能試験プロトコル<sup>7)</sup>の均質性試験に従い、肥料認証標準物質候補C(320本)から乱数によりランダムに10本を抜き取って均質性確認用の試料とし、各試料について2点併行で分析を行った。また、分析する試料の順番についても乱数によりランダムに分析した。

## 6) 共同試験

過去、肥料認証標準物質Cの認証値設定の共同試験に参加した試験室及び現在配付中のFAMIC-C-18を内部品質管理として使用している試験室のうち、共同試験の参加に同意が得られた8試験室とFAMIC 6試験室の計14試験室により、令和3年10月1日から11月30日の期間で共同試験を実施した。共同試験の試料は、調製した肥料認証標準物質候補Cから乱数によりランダムに2本を配付し、それぞれについて日を変えて3点併行で分析を実施した。各試験室からは、有効数字4桁目を四捨五入して有効数字3桁目までを報告値

として提出した.

・共同試験参加試験室(五十音順)

一般財団法人 日本食品分析センター

株式会社環境研究センター

株式会社住化分析センター

株式会社那須環境技術センター

株式会社北陸環境科学研究所

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

長崎県農林技術開発センター

### 3. 結果及び考察

#### 1) 均質性確認

均質性確認用の試料について、全成分を 2 点併行で分析した平均値及びその分析値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. さらに, 肥料等試験法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.

均質性の確認は, 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, 等分散性を確認するため, Cochran 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, これらの分析値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判定式(式 2)を用いて均質性の確認を行った. その結果, 全ての成分において判定式(式 2)を満たしていたことから, 準備した試料が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, 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

$\sigma_p$ : 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 均質性確認結果

成分	試料数	平均値 <sup>a)</sup> (%) <sup>b)</sup>	CRSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	$\hat{\sigma}_R$ <sup>d)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$s_{bb}$ <sup>e)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$0.3\hat{\sigma}_R$ <sup>f)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$s_r$ <sup>g)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$s_{b+r}$ <sup>h)</sup> (%) <sup>b)</sup>
水分(H <sub>2</sub> O)	10	13.1	3	0.394	0.105	0.118	0.13	0.16
窒素全量(T-N) <sup>i)</sup>	10	3.91	4	0.156	0.011	0.047	0.02	0.02
りん酸全量(T-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	10	5.28	4	0.211	0.005	0.063	0.01	0.01
加里全量(T-K <sub>2</sub> O)	10	0.564	6	0.034	0 <sup>j)</sup>	0.010	0.010	0.010
石灰全量(T-CaO)	10	4.08	4	0.163	0.047	0.049	0.03	0.06
有機炭素(O-C)	10	26.9	2.5	0.671	0 <sup>j)</sup>	0.201	0.4	0.4

  

成分	試料数	平均値 <sup>a)</sup> (mg/kg)	CRSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	$\hat{\sigma}_R$ <sup>d)</sup> (mg/kg)	$s_{bb}$ <sup>e)</sup> (mg/kg)	$0.3\hat{\sigma}_R$ <sup>f)</sup> (mg/kg)	$s_r$ <sup>g)</sup> (mg/kg)	$s_{b+r}$ <sup>h)</sup> (mg/kg)
銅全量(T-Cu)	10	460	8	36.8	2.039	11.0	3	4
亜鉛全量(T-Zn)	10	1350	6	81.0	0.756	24.3	7	7
砒素(As)	10	7.95	16	1.273	0 <sup>j)</sup>	0.382	0.14	0.14
カドミウム(Cd)	10	1.95	16	0.312	0 <sup>j)</sup>	0.094	0.03	0.03
水銀(Hg)	10	0.646	22	0.142	0.017	0.043	0.038	0.042
ニッケル(Ni)	10	27.4	11	3.013	0.173	0.904	0.1	0.2
クロム(Cr)	10	33.5	11	3.684	0.551	1.105	0.42	0.7
鉛(Pb)	10	22.9	11	2.518	0.148	0.755	0.26	0.3

a) 総平均値(試料数×2点併行分析)

b) 質量分率

c) 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

d) 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

e) 試料間標準偏差

f) 均質性の判定( $s_{bb}$ の評価)のためのパラメータ

g) 併行標準偏差

h) 併行精度を含む試料間標準偏差

i) ケルダール法

j) グループ間分散 < グループ内分散のため、 $s_{bb}^2=0$ 

## 2) 共同試験結果

各試験室から報告された共同試験の報告値を表 3-1 から 3-3 に示した。

水分において、乾燥器による乾燥減量法と水分計による乾燥減量法の報告値について方法間比較を行った。F検定により等分散でないことを確認したので、分散が等しくないと仮定した t-検定を行ったところ有意差が認められた。また同様に、窒素全量において、ケルダール法と燃焼法の報告値について方法間比較を行ったところ、F検定により等分散でないことを確認した。窒素全量についても分散が等しくないと仮定した t-検定を行ったところ有意差が認められた。よって、水分及び窒素全量については、方法別に統計解析を行うこととした。

なお、各成分の報告値については ISO 5725-2 (JIS Z 8402-2)<sup>8)</sup>を参考に統計解析することとし、外れ値を検出するために、Cochran 検定及び Grubbs 検定を実施し、有意水準 1%の外れ値を除外した。なお、各検定での棄却数は参加試験室の合計 2/9<sup>9)</sup>までとした。

表 3-1 共同試験結果

試験室 <sup>a)</sup>	水分(乾燥器) (%) <sup>b)</sup>						水分(水分計) (%) <sup>b)</sup>					
A	-	-	-	-	-	-	12.9	12.6	13.0	13.1	13.2	13.3
B	11.2	11.2	11.0	11.8	11.4	11.5	-	-	-	-	-	-
C	12.1	12.1	12.1	12.2	12.2	12.2	-	-	-	-	-	-
D	11.7	11.6	11.5	9.7	9.8	9.7	-	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	13.2	13.1	13.2	13.1	13.2	13.2
F	-	-	-	-	-	-	13.3	13.1	13.4	13.4	13.1	13.2
G	11.9	11.7	11.9	12.0	11.8	12.0	-	-	-	-	-	-
H	11.9	11.9	11.9	12.0	12.0	12.0	-	-	-	-	-	-
I	11.2	11.2	11.2	11.5	11.8	11.8	-	-	-	-	-	-
J	-	-	-	-	-	-	12.9	12.9	12.9	13.3	13.3	13.4
K	12.1	11.7	12.0	11.6	11.5	11.5	-	-	-	-	-	-
L	-	-	-	-	-	-	13.3	13.4	13.1	13.2	13.2	13.2
M	12.4	12.5	12.5	12.4	12.6	12.5	-	-	-	-	-	-
N	12.9	12.9	12.9	12.6	12.6	12.7	13.0	13.1	13.1	13.2	13.2	13.2

試験室 <sup>a)</sup>	窒素全量(ケルダール法) (%) <sup>b)</sup>						窒素全量(燃焼法) (%) <sup>b)</sup>					
A	4.04	4.02	4.02	4.01	4.04	4.04	4.09	4.11	4.13	4.09	4.11	4.12
B	3.69	3.69	3.48	3.48	3.41	3.83	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	4.42	4.41	4.44	4.17	4.28	4.31
D	-	-	-	-	-	-	4.09	4.10	4.09	4.10	4.10	4.10
E	3.81	3.77	3.79	3.82	3.84	3.82	4.10	4.08	4.09	4.09	4.08	4.08
F	3.99	3.96	4.07	3.89	3.99	4.00	4.14	4.13	4.11	4.04	4.08	4.08
G	-	-	-	-	-	-	4.12	4.12	4.10	4.14	4.10	4.11
H	3.66	3.67	3.68	3.70	3.69	3.68	-	-	-	-	-	-
I	-	-	-	-	-	-	4.13	4.13	4.15	4.13	4.15	4.14
J	3.81	3.84	3.62	3.94	3.91	4.06	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	4.09	4.11	4.10	4.04	4.07	4.08
L	3.80	3.79	3.87	3.63	3.70	3.46	4.12	4.11	4.11	4.12	4.12	4.12
M	3.71	3.69	3.70	3.66	3.69	3.66	4.13	4.14	4.13	4.12	4.12	4.11
N	3.84	3.86	3.77	3.91	3.86	3.90	-	-	-	-	-	-

試験室 <sup>a)</sup>	りん酸全量 (%) <sup>b)</sup>						加里全量 (%) <sup>b)</sup>					
A	5.37	5.36	5.37	5.34	5.34	5.34	0.491	0.485	0.499	0.506	0.501	0.497
B	5.19	5.21	5.23	5.24	5.30	5.38	0.578	0.585	0.580	0.558	0.566	0.545
C	5.28	5.20	5.21	5.18	5.11	5.18	0.542	0.544	0.542	0.547	0.559	0.549
D	5.25	5.33	5.27	5.21	5.20	5.15	-	-	-	-	-	-
E	5.38	5.38	5.41	5.35	5.38	5.37	0.525	0.529	0.529	0.533	0.527	0.534
F	5.38	5.37	5.37	5.32	5.33	5.32	0.530	0.528	0.537	0.532	0.525	0.553
G	5.31	5.34	5.29	5.36	5.36	5.34	0.504	0.513	0.518	0.522	0.536	0.536
H	5.24	5.21	5.25	5.19	5.21	5.23	0.546	0.545	0.546	0.551	0.547	0.547
I	5.24	5.24	5.25	5.28	5.29	5.29	0.521	0.528	0.511	0.528	0.520	0.534
J	5.55	5.25	5.35	5.28	5.34	5.29	0.522	0.513	0.519	0.488	0.484	0.489
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L	5.20	5.34	5.32	5.41	5.38	5.31	0.532	0.552	0.543	0.518	0.521	0.542
M	5.18	5.30	5.25	5.32	5.29	5.25	0.482	0.491	0.502	0.513	0.497	0.502
N	5.31	5.29	5.28	5.33	5.36	5.35	0.549	0.551	0.558	0.577	0.580	0.578

a) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

b) 質量分率

c) Cochran検定による外れ値

d) Single Grubbs検定による外れ値

e) Paired Grubbs検定による外れ値

表 3-2 共同試験結果

試験室 <sup>a)</sup>	石灰全量 (%) <sup>b)</sup>						有機炭素 (%) <sup>b)</sup>					
A	3.71	3.81	3.82	4.09	4.08	4.06 <sup>e)</sup>	27.2	27.1	27.0	26.9	26.8	27.0
B	4.36	4.33	4.37	4.11	4.24	4.15	27.5	28.1	27.7	28.3	28.5	28.0
C	3.60	3.45	3.55	3.69	3.68	3.43 <sup>e)</sup>	26.2	26.6	26.4	26.8	26.7	26.6
D	-	-	-	-	-	-	23.9	24.0	24.1	25.0	25.3	25.1 <sup>c)</sup>
E	4.07	4.05	4.10	4.10	4.10	4.11	26.7	26.8	26.8	26.8	26.4	26.8
F	4.09	4.14	4.07	4.03	4.05	4.03	26.8	26.9	26.7	26.8	26.9	27.2
G	4.16	4.06	4.09	4.23	4.11	4.18	-	-	-	-	-	-
H	4.01	4.01	4.03	4.07	4.03	4.04	-	-	-	-	-	-
I	4.30	4.33	4.32	4.36	4.34	4.32	27.2	27.1	27.1	27.0	27.0	27.0
J	4.23	4.20	4.21	4.27	4.21	4.25	27.0	27.4	27.2	26.5	27.2	27.1
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L	3.94	4.04	3.99	3.32	3.38	3.38 <sup>e)</sup>	27.1	26.9	27.3	26.9	27.0	27.0
M	4.06	4.04	4.15	4.04	4.01	4.03	26.8	26.7	27.0	26.9	26.9	27.1
N	4.13	4.15	4.15	4.39	4.40	4.30	27.2	26.7	26.8	27.2	27.2	27.5

  

試験室 <sup>a)</sup>	銅全量 (mg/kg)						亜鉛全量 (mg/kg)					
A	388	390	390	422	425	426 <sup>e)</sup>	1260	1260	1260	1350	1350	1340
B	466	464	460	423	418	411 <sup>e)</sup>	1350	1390	1370	1260	1240	1280
C	424	419	419	415	415	415	1360	1360	1360	1300	1290	1290
D	468	470	472	463	469	471	1430	1510	1520	1310	1320	1340 <sup>c)</sup>
E	445	448	449	450	447	447	1330	1330	1330	1390	1380	1390
F	458	456	457	447	447	452	1330	1320	1320	1450	1490	1470 <sup>c)</sup>
G	416	413	422	445	447	445	1330	1330	1340	1360	1340	1350
H	439	434	441	449	452	446	1330	1400	1380	1380	1380	1380
I	461	466	469	450	453	458	1340	1330	1330	1330	1330	1320
J	448	444	454	436	441	436	1360	1360	1360	1310	1330	1330
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L	452	452	451	432	433	432	1320	1330	1330	1330	1330	1330
M	423	471	451	452	446	449	1130	1140	1160	1110	990	1030 <sup>d)</sup>
N	455	459	462	462	463	464	1350	1350	1350	1343	1330	1331

  

試験室 <sup>a)</sup>	ひ素 (mg/kg)						カドミウム (mg/kg)					
A	9.70	9.50	9.09	8.92	9.76	9.31	1.99	1.99	1.99	1.98	1.99	1.99
B	7.10	7.51	7.37	7.51	7.40	7.40	2.06	2.05	2.04	1.96	1.96	1.94
C	6.95	6.74	6.65	6.64	6.69	6.69	1.85	1.84	1.88	1.81	1.81	1.81 <sup>e)</sup>
D	-	-	-	-	-	-	1.64	1.68	1.66	1.58	1.62	1.58 <sup>e)</sup>
E	7.72	7.50	7.65	8.36	8.26	8.10	1.96	1.98	1.97	1.91	1.97	1.96
F	6.74	6.88	7.21	7.51	7.60	7.69	2.01	1.99	2.01	2.01	1.98	1.96
G	7.77	8.01	8.23	7.72	7.97	7.48	1.99	1.98	1.99	2.00	1.99	2.00
H	-	-	-	-	-	-	1.94	1.89	1.88	1.85	1.86	1.86
I	5.80	5.81	5.64	6.13	6.48	6.36	1.93	1.91	1.93	1.85	1.83	1.82
J	8.10	8.23	8.23	7.96	7.89	8.01	1.94	1.91	1.89	1.91	1.90	1.90
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L	6.46	6.72	6.52	7.16	7.14	7.23	1.99	1.99	1.99	2.00	2.00	2.02
M	5.60	5.37	4.70	6.09	5.95	5.45	2.01	2.04	1.97	1.91	1.91	1.94
N	7.60	7.28	7.72	7.67	7.73	7.65	1.98	1.99	2.00	1.93	1.88	1.82

脚注は表3-1を参照

表 3-3 共同試験結果

試験室 <sup>a)</sup>	水銀 (mg/kg)						ニッケル (mg/kg)					
A	0.639	0.670	0.633	0.652	0.652	0.647	29.7	30.6	29.6	28.1	28.5	28.2
B	0.600	0.618	0.576	0.597	0.598	0.575	29.7	29.7	29.8	32.3	30.6	30.8
C	0.594	0.607	0.591	0.609	0.606	0.590	22.9	22.2	22.1	21.8	21.7	21.7
D	0.617	0.490	0.546	0.586	0.609	0.613	22.8	22.6	24.0	20.9	20.6	20.5
E	0.631	0.645	0.666	0.678	0.645	0.587	29.1	32.6	29.9	28.6	28.6	28.8
F	0.651	0.647	0.697	0.676	0.673	0.696	28.6	28.8	28.8	29.3	29.0	29.1
G	0.583	0.583	0.576	0.593	0.597	0.603	28.5	28.8	29.3	29.0	28.8	29.0
H	0.254	0.444	0.543	0.540	0.413	0.338 <sup>c)</sup>	29.3	28.9	28.9	28.1	28.0	28.3
I	0.582	0.592	0.620	0.518	0.545	0.567	27.2	26.9	27.0	28.1	27.9	28.7
J	0.631	0.674	0.667	0.514	0.610	0.620	27.7	26.9	27.2	28.9	28.9	29.0
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L	0.691	0.644	0.697	0.671	0.675	0.663	28.8	28.3	28.7	29.3	29.0	29.3
M	0.527	0.532	0.559	0.583	0.582	0.557	24.3	25.7	23.3	23.1	24.2	23.9
N	0.572	0.637	0.574	0.619	0.651	0.664	28.1	28.2	28.2	27.9	28.2	27.3

  

試験室 <sup>a)</sup>	クロム (mg/kg)						鉛 (mg/kg)					
A	30.5	30.5	30.5	32.9	33.2	32.5	24.1	23.9	23.7	23.7	24.1	24.1
B	31.6	31.6	31.6	32.2	30.3	30.2	22.5	21.8	21.3	21.9	21.3	22.0
C	26.1	25.9	26.2	26.2	26.3	25.8	22.0	21.7	21.5	21.1	21.6	20.7
D	36.6	36.8	37.8	34.5	33.4	33.1	15.5	16.2	15.7	15.3	16.0	15.1 <sup>d)</sup>
E	32.6	38.2	33.0	32.6	32.5	32.7	22.1	22.5	22.1	22.3	22.2	22.2
F	32.2	30.0	32.2	31.4	30.7	29.5	24.7	24.3	24.3	24.1	24.3	24.3
G	30.0	30.5	30.9	31.9	30.5	33.1	23.5	23.2	23.3	22.8	22.6	23.0
H	31.6	31.6	31.4	30.3	30.6	31.2	24.9	24.5	24.8	24.2	24.2	24.4
I	30.4	29.6	29.3	30.9	31.0	30.9	23.0	22.9	23.2	22.5	22.2	22.5
J	30.2	29.7	29.7	31.2	31.9	30.9	22.1	21.6	21.6	20.6	20.7	20.6
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L	31.9	31.9	31.9	32.0	31.8	31.5	22.4	22.6	22.1	22.7	22.5	22.5
M	30.0	27.5	24.6	24.0	27.8	29.7	24.3	24.7	24.3	22.1	22.1	23.2 <sup>c)</sup>
N	31.1	31.0	30.1	32.7	33.0	32.9	23.4	23.4	23.6	23.6	24.5	24.0

脚注は表3-1を参照

### 3) 共同試験結果の評価

外れ値を除外した共同試験の報告値に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許容範囲 ( $2*CRSD_R$ ) を表 4 に示した. なお, 2 日間にわたる測定をプールせずに枝分かれ解析したところ, 平均値及び拡張不確かさは同じ値となることを確認した.

室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) は全ての成分について肥料等試験法における室間再現相対標準偏差の許容範囲 ( $2*CRSD_R$ ) 内であった.



表 4 共同試験結果の統計解析

成分	試験室数 <sup>a)</sup>	平均値 <sup>b)</sup>	$s_W$ <sup>c)</sup>	$s_R$ <sup>d)</sup>	$RSD_R$ <sup>e)</sup>	$2*CRSD_R$ <sup>f)</sup>
	( $p$ ( $q$ )) <sup>g)</sup>	(%) <sup>h)</sup>	(%) <sup>h)</sup>	(%) <sup>h)</sup>	(%)	(%)
水分(H <sub>2</sub> O) 乾燥器	8 (1)	12.0	0.19	0.51	4.3	6
水分(H <sub>2</sub> O) 水分計	6 (0)	13.2	0.16	0.17	1.3	6
窒素全量(T-N) 燃焼法	9 (1)	4.11	0.02	0.02	0.6	8
窒素全量(T-N) ケルダール法	9 (0)	3.8	0.09	0.17	4.4	8
りん酸全量(T-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	12 (1)	5.29	0.04	0.07	1.4	8
加里全量(T-K <sub>2</sub> O)	12 (0)	0.531	0.01	0.03	4.9	12
石灰全量(T-CaO)	9 (3)	4.16	0.07	0.12	3.0	8
有機炭素(O-C)	10 (1)	27.0	0.2	0.4	1.6	5

  

成分	試験室数 <sup>a)</sup>	平均値 <sup>b)</sup>	$s_W$ <sup>c)</sup>	$s_R$ <sup>d)</sup>	$RSD_R$ <sup>e)</sup>	$2*CRSD_R$ <sup>f)</sup>
	( $p$ ( $q$ )) <sup>g)</sup>	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)	(%)
銅全量(T-Cu)	11 (2)	447	8.6	16.2	3.6	16
亜鉛全量(T-Zn)	10 (3)	1336	31.4	35.3	2.6	12
砒素(As)	11 (0)	7.33	0.31	1.08	14.8	32
カドミウム(Cd)	11 (2)	1.95	0.04	0.06	3.0	32
水銀(Hg)	12 (1)	0.614	0.03	0.048	7.9	44
ニッケル(Ni)	13 (0)	27.4	0.9	2.9	10.7	22
クロム(Cr)	13 (0)	31.0	1.3	2.7	8.6	22
鉛(Pb)	11 (2)	22.9	0.4	1.2	5.3	22

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  
標準偏差の許容範囲(目安の2倍)g)  $p$ :有効な試験室数 $q$ :外れ値を報告した試験室数

h) 質量分率

#### 4) 認証値及び不確かさ

ISO Guide 31 (JIS Q 0031)において肥料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 (JIS Q 0033)<sup>10)</sup>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 (JIS Z 8404-1)<sup>11)</sup>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( $p=6\sim 13$ )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

水分については、乾燥器による乾燥減量法(12.0%)と水分計による乾燥減量法(13.2%)の異なる二つの分析法で有意差が認められたため方法別に統計解析を行ったが、認証値の算出に必要な試験室数が不足していたことから、参考情報(表6)として提供することとした。

また、窒素全量についても異なる二つの分析法で有意差が認められたため、方法別に統計解析を行い、ケルダール法と燃焼法の方法別に認証値及び拡張不確かさを算出することとした。

ケルダール法による分析において硝酸塩を含有する試料は、その中の窒素は定量されず、更に他の形態の窒素も損失するため低値となることが従来から知られている<sup>12)</sup>。一方、燃焼法による分析においては、ケルダール法より窒素全量の分析値が高くなる傾向が確認されており、燃焼法により硝酸性窒素も含めた全窒素を定量することが確認されている<sup>13)</sup>。そこで、窒素全量の有意差が認められた原因を検討するため、試料中の硝酸性窒素量について肥料等試験法4.1.3.cフェノール硫酸法により分析を行ったところ、ケルダール法の共同試験結果(T-N 3.80%)と燃焼法の共同試験結果(T-N 4.11%)の差と同程度の硝酸性窒素(N-N 0.36%)の含有が確認された。この試料中の硝酸性窒素量は単一試験室による分析結果であることから、参考情報(表7)として提供することとした。

全ての成分において、室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )が肥料等試験法における室間再現相対標準偏差の許容値( $2*CRSD_R$ )以下であったことから、水分を除く13成分について認証することとした(表5)。また、認証値は肥料等試験法における定量下限の桁に丸めて<sup>14)</sup>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 (%) <sup>e)</sup>	拡張不確かさ <sup>a)</sup> (%) <sup>e)</sup>	$s_w$ <sup>b)</sup> (%) <sup>e)</sup>	$s_R$ <sup>c)</sup> (%) <sup>e)</sup>	試験室数 <sup>d)</sup> ( $p$ ( $q$ )) <sup>f)</sup>
窒素全量(T-N) 燃焼法	4.11	0.02	0.02	0.02	9 (1)
窒素全量(T-N) ケルダール法	3.8	0.1	0.09	0.17	9 (0)
りん酸全量(T-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	5.29	0.04	0.04	0.07	12 (1)
加里全量(T-K <sub>2</sub> O)	0.53	0.02	0.01	0.03	12 (0)
石灰全量(T-CaO)	4.16	0.08	0.07	0.12	9 (3)
有機炭素(O-C)	27.0	0.20	0.2	0.44	10 (1)

  

成分	認証する項目		参考データ		
	認証値 (mg/kg)	拡張不確かさ <sup>a)</sup> (mg/kg)	$s_w$ <sup>b)</sup> (mg/kg)	$s_R$ <sup>c)</sup> (mg/kg)	試験室数 <sup>d)</sup> ( $p$ ( $q$ )) <sup>f)</sup>
銅全量(T-Cu)	447	8	9	16	11 (2)
亜鉛全量(T-Zn)	1340	14	31	35	10 (3)
ヒ素(As)	7.3	0.6	0.3	1.1	11 (0)
カドミウム(Cd)	2.0	0.1	0.04	0.06	11 (2)
水銀(Hg)	0.61	0.02	0.03	0.05	12 (1)
ニッケル(Ni)	27	2	1	3	13 (0)
クロム(Cr)	31	2	1	3	13 (0)
鉛(Pb)	23	1	0.4	1	11 (2)

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

f)  $p$ : 有効な試験室数 $q$ : 外れ値を報告した試験室数

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 <sup>a)</sup>	$s_w$ <sup>b)</sup>	$s_R$ <sup>c)</sup>	試験室数 <sup>d)</sup>
	(%) <sup>e)</sup>	(%) <sup>e)</sup>	(%) <sup>e)</sup>	(%) <sup>e)</sup>	( $p$ ( $q$ )) <sup>f)</sup>
水分(H <sub>2</sub> O) 乾燥器	12.0	0.4	0.2	0.5	8 (1)
水分(H <sub>2</sub> O) 水分計	13.2	0.1	0.2	0.2	6 (0)

脚注は表5を参照

表 7 共同試験用試料中の硝酸性窒素

成分	平均値 <sup>a)</sup>	$s$ <sup>b)</sup>
	(%) <sup>c)</sup>	(%) <sup>c)</sup>
硝酸性窒素(N-N) <sup>d)</sup>	0.36	0.002

a)  $n=3$ 

b) 標準偏差

c) 質量分率

d) フェノール硫酸法

## 5) 有効期限

以前に配付していた汚泥発酵肥料を基材とした FAMIC-C-12-2 は、長期安定性の評価のための試験結果<sup>15)</sup>を踏まえ、認証値の再値付け(水銀(Hg)及び鉛(Pb))から 4 年半後までの安定性を確認していた。これを踏まえ、認証標準物質候補 C の有効期限は、4 年半後の 2026 年 6 月末に設定することとした。

なお、ISO Guide 35 (JIS Q 0035)では、認証標準物質の保管期間中にモニタリングを実施することが望まれていることから、水分を含めた全成分について認証値設定後からおよそ半年に1度の割合で継続的にモニタリング<sup>16)</sup>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している。

#### 4. まとめ

本年度は肥料認証標準物質として汚泥肥料 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 (JIS Q 0035)を参考に解析し、ISO Guide 31 (JIS Q 0031)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、令和4年2月18日に肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会の審議を受け、2022年4月1日より肥料認証標準物質 FAMILIC-C-21として販売を開始している。

肥料についての認証標準物質は、国内には他に作製している例がない。また、国外で利用されている肥料認証標準物質はわが国の特有の肥料成分及びその分析の方法が網羅されておらず、輸入規制等により入手が困難である。このような観点から、肥料認証標準物質が肥料分析の品質保証に貢献している。

#### 謝 辞

この共同試験を実施するにあたり、一般財団法人日本食品分析センター、株式会社環境研究センター、株式会社住化分析センター、株式会社那須環境技術センター、株式会社北陸環境科学研究所、公益財団法人日本肥糧検定協会本部及び関西支部、並びに長崎県農林技術開発センターより多大なご協力を賜りました。関係者各位に深く謝意を表します。

#### 文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料認証標準物質の配布申請手続き  
<<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  
<[http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9\\_shiken2021.html](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/bunseki/sub9_shiken2021.html)>
- 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) 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)
- 13) 長谷川美来, 津田美穂, 小林正和, 八木潤, 中山清貴:ケルダール法と改良デュマ法による全窒素分定量についての比較, 関税中央分析所報, 第 56 号, 31~36
- 14) 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」)
- 15) 井上直, 青山恵介, 川口伸司, 船木紀夫, 秋元里乃:2020 年度 肥料認証標準物質の開発－高度化成肥料 FAMIC-A-17, 普通化成肥料 FAMIC-B-14, 汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12-2 及び FAMIC-C-18 の長期安定性評価－, 肥料研究報告, **14**, 186~209 (2021)
- 16) 神川孝文, 青山恵介, 川口伸司, 岩本直樹, 秋元里乃:2021 年度 肥料認証標準物質の開発－高度化成肥料 FAMIC-A-17, 普通化成肥料 FAMIC-B-14, 汚泥発酵肥料 FAMIC-C-18-2 の長期安定性評価－, 肥料研究報告, **15**, 169~189 (2022)

**Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major  
Components, Organic Carbon and Harmful Components:  
Sludge Fermented Fertilizer (FAMIC-C-21)**

MATSUO Shingo<sup>1</sup>, YAGI Keiji<sup>1</sup>, TANAKA Yudai<sup>1</sup>,  
YOSHIMURA Hidemi<sup>1</sup> and AKIMOTO Satono<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Fukuoka Regional Center

<sup>2</sup> FAMIC, Fertilizer Inspection Department

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has developed a certified reference material (CRM): sludge fermented fertilizer (FAMIC-C-21), for analysis of major components, organic carbon and harmful components. FAMIC-C-21 was certified for the contents of total nitrogen (T-N), total phosphoric acid(T-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), total potassium (T-K<sub>2</sub>O), 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 (H<sub>2</sub>O). 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. Fourteen 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. Since significant differences were observed between the analysis methods in terms of the moisture content (H<sub>2</sub>O) and the content of total nitrogen (T-N), the reference value and the certified value were set for each analysis method.

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, **15**, 155-168, 2022)