

9 2012年度 肥料認証標準物質の開発

—高度化成肥料 FAMIC-A-10 及び普通化成肥料 FAMIC-B-10 の 長期安定性評価—

稲葉茂幸¹, 秋元里乃², 木村康晴¹, 藤田 卓¹, 神川孝文³, 五十嵐総一⁴,
伊藤浩平¹, 廣井利明², 白井裕治²

キーワード 認証標準物質, 化成肥料, 主成分, 有害成分, ISO Guide 31,
ISO Guide 35, 長期安定性, モニタリング試験

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, その試験法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 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)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, 「認証標準物質の定期的な使用」を実施することが推奨されている.

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-10) 及び同 B (普通化成肥料 FAMIC-B-10) (以下, それぞれ「標準物質 A」「標準物質 B」という.) を調製^{3, 4)}, 販売しており(表 1), これらの作成については, 国際的整合性を確保するため, ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾を参考に調製することとし, ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁶⁾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. 2012年度は, 2013年6月末に有効期限満了となる標準物質 A 及び標準物質 B 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及び小規模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) 安定性のモニタリング

(1) 試験計画

ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾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

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神戸センター (現)名古屋センター

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

に調製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 FAMILC 神戸センターで計画した。

- a) 分析用試料・・・標準物質 A 及び B 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⁷⁾(表 2A 及び表 2B を参照)。
- d) 試験時期・・・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、12 ヶ月後、20 ヶ月後、24 ヶ月後及び 28 ヶ月後。
- e) 試験室・・・単一試験室(FAMILC 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
FAMILC-A-10	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, 可溶性りん酸, 水溶性加里, 可溶性苦土, 可溶性マンガングン, 可溶性ほう素(全7成分)	2013年6月末
FAMILC-B-10	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, 水銀, ニッケル, 鉛(全9成分)	2013年6月末

表2A 標準物質A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
可溶性りん酸(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
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
可溶性苦土(C-MgO)	4.6.2.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	フレイム原子吸光法
可溶性マンガングン(C-MnO)	4.7.2.a	くえん酸(20 mg/mL)抽出	フレイム原子吸光法
可溶性ほう素(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

1) 肥料等試験法の試験項目番号

表2B 標準物質B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
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／ペーテルマン氏クエン酸塩溶液抽出	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
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
鉛 (Pb)	5.6.a	王水分解	フレイム原子吸光法

脚注は表2Aを参照

(2) モニタリングの実施

FAMIC 神戸センターにおいて標準物質 A 及び標準物質 B の 2010 年 7 月～9 月, 2011 年 7 月～9 月, 2012 年 4 月～5 月, 2012 年 7 月～9 月及び 2012 年 12 月～2013 年 1 月の計 5 回試験を実施した。

各試験時とも未開封の標準物質 A 及び標準物質 B 各 1 瓶を用いて, 試験成分毎に 2 点併行試験を行った。

報告値のけた数は, 標準物質 A, B については, 有害成分 (As, Cd, Hg, Ni, Pb), C-MnO 及び C-B₂O₃ の試験成績は有効数字 3 けた, それ以外の成分は, 小数点以下 2 けたとした。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。

2) 小規模共同試験

(1) 試験計画

日本分析化学会では標準物質開発⁸⁾において, 小規模の再共同試験を実施し, これにより得られた平均値と認証値との比較により安定性を評価している。よって, この小規模の再共同試験を実施するため, 次の a)～f) を FAMIC 肥飼料安全検査部で計画した。

- 分析用試料・・・標準物質 A 及び B の在庫から, それぞれランダムに 6 本を抜き取った試料。
- 試験成分・・・認証されたすべての成分 (表 1 参照)。
- 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⁷⁾ (表 2A 及び表 2B を参照)。
- 試験時期・・・認証値設定のための共同試験実施後, 約 24 ヶ月後。
- 試験室・・・FAMIC 6 試験室 (肥飼料安全検査部, 札幌センター, 仙台センター, 名古屋センター, 神戸センター, 福岡センター)。
- 安定性の評価・・・各試験項目の試験成績について ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁹⁾を参考に解析。

(2) 共同試験の実施

FAMIC の 6 試験室による小規模共同試験を 2012 年 7 月～9 月に実施した。各試験室においては, 未開封

の肥料認証標準物質 A, B 各 1 瓶を用いて, 試験成分毎に 2 点併行試験を行った. 報告値のけた数は, 有害成分 (As, Cd, Hg, Ni, Pb), C-MnO 及び C-B₂O₃ の試験成績は有効数字 3 けた, それ以外の成分は, 小数点以下 2 けたとした. また, 報告値は, 現状の認証値と同じ水分換算しない濃度 (有姿濃度) とした.

3. 結果及び考察

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 及び標準物質 B の試験項目成分の安定性試験成績を表 3 に示した. ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2006)²⁾では, 肥料認証標準物質を用いて試験所の日常の内部品質管理又は試験所が開発した試験方法の妥当性確認を実施することが推奨されている. FAMIC では, 肥料認証標準物質を用いた試験成績の真度評価を実施している. 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_r) 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, 警戒線及び処置線を求めた¹⁰⁾.

標準物質 A 及び標準物質 B ともに試験期間の 28 ヶ月後までに実施した試験成績は, いずれの試験項目も警戒線の範囲内であった.

$$\text{技能評価のための標準偏差}(\sigma) = \sqrt{(s_R^2 - s_r^2) + \frac{s_r^2}{n}} \quad \dots (a)$$

$$\text{平均値に対する警戒線} = \mu \pm 2\sigma \quad \dots (b)$$

$$\text{平均値に対する処置線} = \mu \pm 3\sigma \quad \dots (c)$$

n : 繰返し試験数

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

μ : 認証値

表3 標準物質A及び標準物質Bの安定性のモニタリング¹⁾成績

試験項目	単位	認証値 (μ)	警戒線 ²⁾		安定性のモニタリング成績 ³⁾				
			下方	上方	調製時	12ヶ月	20ヶ月	24ヶ月	28ヶ月
(標準物質A)									
窒素全量 (T-N)	% ⁴⁾	14.71	14.46	14.95	14.89	14.80	14.84	14.52	14.63
アンモニア性窒素 (A-N)	% ⁴⁾	10.66	10.35	10.96	10.61	10.84	10.90	10.72	10.73
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	% ⁴⁾	10.05	9.80	10.30	10.12	10.13	10.06	10.00	10.04
水溶性加里 (W-K ₂ O)	% ⁴⁾	13.59	13.29	13.89	13.37	13.68	13.72	13.66	13.70
く溶性苦土 (C-MgO)	% ⁴⁾	3.28	3.09	3.47	3.32	3.32	3.36	3.35	3.35
く溶性マンガン (C-MnO)	% ⁴⁾	0.403	0.385	0.421	0.402	0.398	0.388	0.399	0.416
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	% ⁴⁾	0.209	0.198	0.220	0.207	0.203	0.209	0.214	0.216
(標準物質B)									
アンモニア性窒素 (A-N)	% ⁴⁾	8.38	8.12	8.64	8.41	8.29	8.28	8.18	8.33
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	% ⁴⁾	8.10	8.00	8.20	8.01	8.11	8.09	8.13	8.16
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	% ⁴⁾	7.00	6.87	7.13	6.91	7.01	7.00	6.97	6.95
水溶性加里 (W-K ₂ O)	% ⁴⁾	8.85	8.62	9.08	8.66	8.83	8.68	9.03	9.01
ひ素 (As)	mg/kg	2.36	2.02	2.71	2.62	2.40	2.25	2.39	2.30
カドミウム (Cd)	mg/kg	6.04	5.67	6.42	5.84	5.94	5.88	6.00	5.93
水銀 (Hg)	mg/kg	0.86	0.77	0.94	0.89	0.89	0.87	0.89	0.94
ニッケル (Ni)	mg/kg	45.3	40.9	49.7	44.0	47.3	45.2	45.8	46.9
鉛 (Pb)	mg/kg	26.2	21.1	31.4	23.7	26.4	25.9	26.0	22.2

1) 調製後の試験実施日から起算して28ヶ月後までモニタリング

2) JIS Q 0033:2002 による分析結果許容(警戒線)範囲 ($n=2$)

$$\mu \pm 2\sqrt{(s_R^2 - s_r^2) + s_r^2/n}$$

3) 試験毎の平均値(併行試験数 $n=2$)

4) 質量分率

2) 肥料認証標準物質の長期安定性評価

標準物質 A 及び標準物質 B の認証値設定時(0ヶ月), 12ヶ月後, 20ヶ月後, 24ヶ月後及び28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 4-1 及び表 4-2 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, 推定誤差の標準偏差(s)及び傾きの標準偏差(s_{b_1})を求めた. 傾きの標準偏差(s_{b_1})と t 値($t_{0.95, n-2}$)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 及び B の全ての認証成分において, $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$ 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 及び B の認証成分は, 認証値設定時から2年4ヶ月間安定であったと評価した.

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots (d)$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x} \quad \dots (e)$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n (y_i - b_0 - b_1 x_i)^2} \quad \cdots (f)$$

$$s_{b_1} = s / \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \cdots (g)$$

判定基準: $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$ \cdots 有意でない(安定)
 $|b_1| \geq s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$ \cdots 有意である(不安定)

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(n =試験実施月数(5))

b_1 : 回帰直線の傾き

b_0 : 回帰直線の切片

s : 予測の標準誤差の標準偏差(推定残差($y_i - \hat{y}_i$)の標準偏差)

s_{b_1} : 回帰直線の傾きの不確かさ(傾きの標準誤差)

$t_{0.95, n-2}$: t 値(両側有意水準 $\alpha = 0.05$, 自由度 $n - 2$)

表4-1 標準物質A及び標準物質Bの安定性のモニタリング¹⁾成績の評価結果

試験項目	\bar{x} ²⁾ (mon.)	\bar{y} ³⁾ (%) ¹⁰⁾	回帰分析結果				s_{b_1} ⁷⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾	判定 基準 ⁸⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾	判定 ⁹⁾
			b_1 ⁴⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾	b_0 ⁵⁾ (%) ¹⁰⁾	s ⁶⁾ (%) ¹⁰⁾				
(標準物質A)									
窒素全量 (T-N)	16.8	14.73	-0.0127	14.96	0.11	0.005	0.0162	○	
アンモニア性窒素 (A-N)	16.8	10.76	0.0047	10.67	0.13	0.006	0.0182	○	
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	16.8	10.07	-0.0040	10.13	0.03	0.002	0.0049	○	
水溶性加里 (W-K ₂ O)	16.8	13.62	0.0122	13.41	0.10	0.005	0.0144	○	
く溶性苦土 (C-MgO)	16.8	3.34	0.0009	3.33	0.01	0.0006	0.0018	○	
く溶性マンガン (C-MnO)	16.8	0.400	0.0007	0.386	0.010	0.0004	0.0014	○	
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	16.8	0.210	0.0003	0.206	0.005	0.0002	0.0007	○	
(標準物質B)									
アンモニア性窒素 (A-N)	16.8	8.29	-0.0084	8.46	0.09	0.004	0.0131	○	
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	16.8	8.10	0.0030	8.06	0.02	0.001	0.0032	○	
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	16.8	6.97	0.0020	6.93	0.05	0.002	0.0068	○	
水溶性加里 (W-K ₂ O)	16.8	8.84	0.0117	8.64	0.14	0.006	0.0195	○	

1) 調製後の試験実施日から起算して28ヶ月後までモニタリング

2) 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)

3) 試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施月数(5) × 併行試験数(2))

4) 回帰直線の傾き

5) 回帰直線の切片

6) 推定誤差の標準偏差

7) 回帰直線の傾きの不確かさ(傾きの標準偏差)

8) $s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$

9) ○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

$$|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$$

10) 表中の%は質量分率

表4-2 標準物質Bの安定性のモニタリング¹⁾成績の評価結果

試験項目	\bar{x} ²⁾ (mon.)	\bar{y} ³⁾ (mg/kg)	回帰分析結果				s_{b_1} ⁷⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	判定 基準 ⁸⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	判定 ⁹⁾
			b_1 ⁴⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$)	b_0 ⁵⁾ (mg/kg)	s ⁶⁾ (mg/kg)				
(標準物質B)									
ひ素 (As)	16.8	2.39	-0.0094	2.54	0.08	0.003	0.0109	○	
カドミウム (Cd)	16.8	5.92	0.0023	5.89	0.05	0.002	0.0073	○	
水銀 (Hg)	16.8	0.89	0.0027	0.84	0.02	0.001	0.0035	○	
ニッケル (Ni)	16.8	45.8	0.0616	44.8	1.2	0.055	0.1765	○	
鉛 (Pb)	16.8	24.8	-0.0532	26.0	1.8	0.082	0.2614	○	

脚注は表4-1を参照

3) 小規模共同試験

(1) 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 5A, 及び表 5B に示した. 各試験項目の試験成績について ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁹⁾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, コクラン(Cochran)検定及びグラブズ(Grubbs)検定を実施した. 標準物質 B の水銀及びニッケルにおいて有意水準 1 %で外れ値が検出されたが, 試験室数が少なく, かつ分散が非常に小さいことから, 外れ値を除外せずに解析した. また, その他の成分においては有意水準 1 %で外れ値は検出されなかった.

試験室 ¹⁾	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)	
	A	14.73	14.67	10.86	10.88	10.03	10.06	13.54
B	14.58	14.61	10.75	10.73	10.01	10.02	13.68	13.66
C	14.67	14.71	10.93	10.83	9.80	9.88	13.88	13.86
D	14.64	14.77	10.82	10.73	9.84	9.88	13.49	13.69
E	14.50	14.53	10.69	10.75	10.04	9.96	13.48	13.83
F	14.61	14.58	10.63	10.65	10.11	10.09	13.61	13.32

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

試験室 ¹⁾	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)	
	A	3.33	3.29	0.392	0.391	0.205
B	3.37	3.33	0.415	0.416	0.207	0.206
C	3.13	3.10	0.395	0.398	0.209	0.207
D	3.22	3.14	0.417	0.407	0.211	0.206
E	3.32	3.38	0.397	0.400	0.211	0.217
F	3.30	3.25	0.403	0.400	0.213	0.205

試験室 ¹⁾	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)	
	A	8.36	8.37	8.12	8.13	7.00	7.02	8.89
B	8.26	8.27	8.18	8.19	6.98	6.98	8.99	9.08
C	8.17	8.23	8.11	7.99	7.10	7.06	9.01	9.08
D	8.23	8.21	8.10	8.11	7.02	7.00	8.80	8.86
E	8.18	8.17	8.17	8.09	6.98	6.96	9.04	9.02
F	8.54	8.47	8.16	8.16	7.11	7.09	8.87	8.92

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) コクラン(Cochran)検定による外れ値

試験室 ¹⁾	(mg/kg)									
	ひ素 (As)		カドミウム (Cd)		水銀 (Hg)		ニッケル (Ni)		鉛 (Pb)	
A	2.25	2.40	6.01	5.98	0.858	0.859	45.0	47.0	26.5	25.2
B	2.18	2.27	6.07	6.03	0.869	0.876	47.1	46.4	28.4	26.6
C	2.20	2.37	6.06	6.04	0.901	0.880 ²⁾	46.8	46.3 ²⁾	25.1	25.9
D	2.34	2.24	6.35	6.41	0.824	0.822	46.4	47.1	24.8	25.3
E	2.39	2.38	6.01	5.99	0.891	0.892	45.1	46.5	25.7	26.3
F	2.43	2.24	5.85	5.83	0.906	0.906	45.5	45.6	26.1	26.4

表6-1 標準物質A及び標準物質Bの小規模共同試験成績の解析結果

試験項目	試験室数 ¹⁾	試験 平均値 ²⁾ (%) ⁹⁾	拡張不 確かさ ³⁾ (%) ⁹⁾	s_r ⁴⁾ (%) ⁹⁾	RSD _r ⁵⁾ (%)	s_R ⁶⁾ (%) ⁹⁾	RSD _R ⁷⁾ (%)	HorRat _R ⁸⁾
(標準物質A)								
窒素全量 (T-N)	6	14.63	0.06	0.05	0.3	0.08	0.6	0.21
アンモニア性窒素 (A-N)	6	10.77	0.08	0.04	0.4	0.09	0.9	0.32
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	6	9.98	0.08	0.04	0.4	0.10	1.1	0.38
水溶性加里 (W-K ₂ O)	6	13.64	0.11	0.15	1.1	0.13	1.2	0.46
く溶性苦土 (C-MgO)	6	3.26	0.08	0.04	1.1	0.10	3.1	0.91
く溶性マンガン (C-MnO)	6	0.403	0.008	0.003	0.8	0.009	2.4	0.52
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	6	0.208	0.003	0.003	1.7	0.004	2.1	0.41
(標準物質B)								
アンモニア性窒素 (A-N)	6	8.29	0.07	0.03	0.3	0.13	1.5	0.53
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	6	8.13	0.02	0.04	0.5	0.06	0.7	0.23
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	6	7.03	0.03	0.02	0.2	0.05	0.8	0.26
水溶性加里 (W-K ₂ O)	6	8.95	0.09	0.04	0.5	0.10	1.1	0.38

1) 解析に用いた試験室数

2) 平均値(データ数 = 試験室数 × 室内繰返し試験数(2))

3) 包含係数(k=2)

4) 室内標準偏差

5) 室内相対標準偏差

6) 室間再現標準偏差

7) 室間再現相対標準偏差

8) 室間再現HorRat値(参考値)

9) 質量分率

表6-2 標準物質Bの小規模共同試験成績の解析結果

試験項目	試験室数 ¹⁾	試験 平均値 ²⁾ (mg/kg)	拡張不 確かさ ³⁾ (mg/kg)	s_r ⁴⁾ (mg/kg)	RSD _r ⁵⁾ (%)	s_R ⁶⁾ (mg/kg)	RSD _R ⁷⁾ (%)	HorRat _R ⁸⁾
(標準物質B)								
ひ素 (As)	6	2.31	0.04	0.09	4.1	0.09	3.7	0.26
カドミウム(Cd)	6	6.05	0.15	0.02	0.4	0.18	3.0	0.24
水銀 (Hg)	6	0.874	0.024	0.006	0.7	0.030	3.5	0.21
ニッケル (Ni)	6	46.2	0.4	0.8	1.7	0.8	1.6	0.18
鉛 (Pb)	6	26.0	0.7	0.7	2.8	1.0	3.8	0.38

脚注は表6-1を参照

(2) 拡張不確かさの算出方法

小規模共同試験の総平均値の標準不確かさ u は ISO/TS 21748:2004 (JIS Z 8404-1:2006)¹¹⁾ に従い、共同試験の室内標準偏差 (s_r)、室間再現標準偏差 (s_R)、試験室数 ($p = 6$) 及び各試験室での繰返し試験数 ($n = 2$) から、(h) 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) に包含係数 (k) を乗じて求め (i) 式、有効数字 2 桁以内に丸めた。なお、包含係数 (k) は正規分布の信頼水準 95 % に該当する $k = 2$ とした。

$$\text{標準不確かさ}(u) = \sqrt{\frac{(s_R^2 - s_r^2) + \frac{s_r^2}{n}}{p}} \quad \dots (h)$$

$$\text{拡張不確かさ}(U_{95\%}) = k \times u \quad \dots (i)$$

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

n : 共同試験の室内繰返し試験数 ($n = 2$)

p : 共同試験の試験室数 ($p = 6$)

k : 包含係数 ($k = 2$)

(3) 試験成績の解析及び評価

試験成績より算出した平均値、拡張不確かさ、室内標準偏差 (s_r)、室内相対標準偏差 (RSD_r)、室間再現標準偏差 (s_R)、室間再現相対標準偏差 (RSD_R) を表 6-1 及び表 6-2 に示した。また、参考値として室間再現 HorRat 値 (HorRat_R) を示した。 HorRat_R は食品分析分野において化学分析法の精度を評価するために用いられており、 RSD_R/PRSD_R により求められる¹²⁾。なお、 PRSD_R は、平均値を Horwitz 式¹³⁾に代入して求めた。 HorRat_R はいずれも 2 以下でコーデックス委員会の分析精度の受け入れ基準を満たした¹⁴⁾。

標準物質 A 及び標準物質 B の認証値設定時の認証値等及び 2 年後の小規模共同試験の平均値等並びに安定性試験の評価結果を表 7-1 及び表 7-2 に示した。評価手法として、認証値設定時の共同試験平均値 (認証値) とその 2 年後の小規模共同試験成績の平均値の差について ISO 5725-6:1994 (JIS Z 8402-6:1999)¹⁰⁾ 8.4.9.3.2 を参考に式 (j) により有意差検定を行った。なお、認証値の標準不確かさは、認証値設定時の共同試験成績 (試験室数 ($p = 9 \sim 12$), 室内繰返し試験数 ($n = 2$)) に (2) の (h) 式を適用して算出したものである⁴⁾。その結果、すべての認証成分において、以下の判定基準が $|\mu - x_{\text{meas}}|/s \leq 2.0$ となり、有意差は認められなかったため、標準物質 A 及び標準物質 B のすべての認証成分は認証値設定から 2 年間安定であったと評価した。

判定基準: $|\mu - x_{\text{meas}}|/s \leq 2.0 \dots$ 有意でない (安定)

$|\mu - x_{\text{meas}}|/s > 2.0 \dots$ 有意である (不安定)

$$s = \sqrt{\left(\frac{U_{95\%}}{2}\right)^2 + u_{\text{meas}}^2}$$

$$|\mu - x_{\text{meas}}| \leq 2 \sqrt{\left(\frac{U_{95\%}}{2}\right)^2 + u_{\text{meas}}^2} \cdots (j)$$

μ : 認証値

$U_{95\%}$: 認証値の拡張不確かさ(包含係数 $k=2$)

x_{meas} : 小規模共同試験成績の平均値

u_{meas} : 小規模共同試験成績の平均値の標準不確かさ

表7-1 標準物質A及び標準物質Bの安定性試験の評価結果

試験項目	認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾			小規模共同試験結果 ²⁾			安定性評価		
	試験 室数 ³⁾	認証値 ⁴⁾	標準不 確かさ	試験 室数 ³⁾	平均値 ⁵⁾	標準不 確かさ	$ \mu - x_{\text{meas}} $	s	$\frac{ \mu - x_{\text{meas}} }{s}$
		(%) ⁶⁾	(%) ⁶⁾		(%) ⁶⁾	(%) ⁶⁾			
(標準物質A)									
窒素全量 (T-N)	9	14.71	0.04	6	14.63	0.03	0.07	0.05	1.45
アンモニア性窒素 (A-N)	10	10.66	0.05	6	10.77	0.04	0.11	0.06	1.91
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	11	10.05	0.04	6	9.98	0.04	0.08	0.06	1.35
水溶性加里 (W-K ₂ O)	11	13.59	0.04	6	13.64	0.05	0.05	0.07	0.69
く溶性苦土 (C-MgO)	11	3.28	0.02	6	3.26	0.04	0.01	0.05	0.31
く溶性マンガン (C-MnO)	9	0.403	0.003	6	0.403	0.004	0.0004	0.005	0.09
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	11	0.209	0.002	6	0.208	0.001	0.001	0.002	0.37
(標準物質B)									
アンモニア性窒素 (A-N)	11	8.38	0.03	6	8.29	0.05	0.09	0.06	1.42
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	10	8.10	0.01	6	8.13	0.02	0.02	0.02	1.02
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	9	7.00	0.02	6	7.03	0.02	0.026	0.03	0.85
水溶性加里 (W-K ₂ O)	9	8.85	0.04	6	8.95	0.04	0.10	0.05	1.95

1) 2010年9月実施

4) 平均値(データ数 = 試験室数 × 室内繰返し試験数(6))

2) 2012年9月実施

5) 平均値(データ数 = 試験室数 × 室内繰返し試験数(2))

3) 解析に用いた試験室数

6) 質量分率

表7-2 標準物質Bの安定性試験の評価結果

試験項目	認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾			小規模共同試験結果 ²⁾			安定性評価		
	試験 室数 ³⁾	認証値 ⁴⁾	標準不 確かさ	試験 室数 ³⁾	平均値 ⁵⁾	標準不 確かさ	$ \mu - x_{\text{meas}} $	s	$\frac{ \mu - x_{\text{meas}} }{s}$
		(mg/kg)	(mg/kg)		(mg/kg)	(mg/kg)			
ひ素 (As)	11	2.36	0.05	6	2.31	0.02	0.06	0.05	1.03
カドミウム (Cd)	11	6.04	0.05	6	6.05	0.07	0.01	0.09	0.08
水銀 (Hg)	10	0.86	0.01	6	0.87	0.01	0.016	0.02	0.93
ニッケル (Ni)	11	45.3	0.62	6	46.2	0.21	0.91	0.66	1.38
鉛 (Pb)	12	26.2	0.73	6	26.0	0.34	0.20	0.80	0.25

脚注は表7-1を参照

(4) 認証値の不確かさの評価

ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾では、認証値に付随する不確かさに長期安定性の不確かさを評価することを推奨しているが、現状の標準物質 A 及び標準物質 B の不確かさに、長期安定性の不確かさは含まれていない。

ISO 5725-6:1994 (JIS Z 8402-6:1999)¹⁰⁾を参考に認証値設定時と小規模共同試験の全体の精度の比較を行った。認証値設定時の共同試験の結果と上記 3.3) の小規模共同試験結果より式 (k) 及び式 (l) を用い、標準不確かさ及び室内精度の比較を行い、F 検定による判定結果を表 8-1 及び表 8-2 に示した。その結果、標準物質 A 及び標準物質 B のすべての認証成分について、認証値の不確かさは認証値設定から 2 年の間に変化したという証拠はなかった。なお、室内標準偏差については、標準物質 A の水溶性加里だけに有意差が認められたが、2) 安定性モニタリングにおける標準物質 A の水溶性加里の室内標準偏差 0.10 と小規模共同試験の室内標準偏差 0.15 に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。よって、水溶性加里の室内標準偏差についても精度が悪くなったとみなす必要はないと判断した。

$$\text{標準不確かさの比較}(F_R) = \frac{\frac{s_{R_B}^2 - s_{r_B}^2}{p_B} + \frac{s_{r_B}^2}{p_B n_B}}{\frac{s_{R_A}^2 - s_{r_A}^2}{p_A} + \frac{s_{r_A}^2}{p_A n_A}} \quad \dots (k)$$

A: 認証値設定時の値

B: 2012 年の小規模共同試験時の値

p: 共同試験の試験室数

n: 共同試験の繰返し分析回数

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

判定基準: $F_R \leq F(p_B - 1, p_A - 1; \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意とはいえない
(不確かさが異なるという証拠はない)

$F_R > F(p_B - 1, p_A - 1; \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意である
(不確かさが大きくなったといえる)

$$\text{室内精度の比較}(F_r) = \frac{s_{r_B}^2}{s_{r_A}^2} \quad \dots (l)$$

判定基準: $F_r \leq F(p_B(n_B - 1), p_A(n_B - 1); \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意とはいえない
(室内標準偏差が異なるという証拠はない)

$F_r > F(p_B(n_B - 1), p_A(n_B - 1); \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意である
(室内標準偏差が大きくなったといえる)

表8-1 F検定による標準物質A及び標準物質Bの不確かさ及び室内精度の比較

試験項目	認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾			小規模共同試験結果 ²⁾			不確かさの 比較		室内精度の 比較	
	試験 室数 ³⁾	標準不 確かさ ⁴⁾	s_r ⁴⁾	試験 室数 ³⁾	標準不 確かさ ⁴⁾	s_r ⁴⁾	F_R ⁵⁾	棄却限 界値 ⁶⁾	F_r ⁷⁾	棄却限 界値 ⁸⁾
(標準物質A)										
窒素全量 (T-N)	9	0.04	0.05	6	0.03	0.05	0.65	4.82	0.83	2.70
アンモニア性窒素 (A-N)	10	0.05	0.08	6	0.04	0.04	0.68	4.48	0.30	2.67
く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅)	11	0.04	0.05	6	0.04	0.04	1.35	4.24	0.53	2.65
水溶性加里 (W-K ₂ O)	11	0.04	0.08	6	0.05	0.15	1.60	4.24	3.33	2.65
く溶性苦土 (C-MgO)	11	0.02	0.08	6	0.04	0.04	2.50	4.24	0.22	2.65
く溶性マンガン (C-MnO)	9	0.003	0.005	6	0.004	0.003	1.72	4.82	0.43	2.70
く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃)	11	0.002	0.004	6	0.001	0.003	0.92	4.24	0.76	2.65
(標準物質B)										
アンモニア性窒素 (A-N)	11	0.03	0.10	6	0.05	0.03	0.09	4.24	0.08	2.65
可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅)	10	0.01	0.05	6	0.02	0.04	0.02	4.48	0.70	2.67
水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅)	9	0.02	0.03	6	0.02	0.02	0.026	4.82	0.30	2.70
水溶性加里 (W-K ₂ O)	9	0.04	0.06	6	0.04	0.04	0.10	4.82	0.46	2.70

1) 2010年9月実施

2) 2012年9月実施

3) 解析に用いた試験室数

4) 室内標準偏差

5) 不確かさの分散比

6) $F(p_{B-1}, p_{A-1};$ 両側有意水準 $\alpha=0.05)$

7) 室内精度の分散比

8) $F((2-1)p_B, (6-1)p_A;$ 両側有意水準 $\alpha=0.05)$

9) 質量分率

表8-2 F検定による標準物質Bの不確かさ及び室内精度の比較

試験項目	認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾			小規模共同試験結果 ²⁾			不確かさの 比較		室内精度の 比較	
	試験 室数 ³⁾	標準不 確かさ ⁴⁾	s_r ⁴⁾	試験 室数 ³⁾	標準不 確かさ ⁴⁾	s_r ⁴⁾	F_R ⁵⁾	棄却限 界値 ⁶⁾	F_r ⁷⁾	棄却限 界値 ⁸⁾
砒素 (As)	11	0.05	0.09	6	0.02	0.09	0.19	4.24	1.09	2.65
カドミウム (Cd)	11	0.05	0.12	6	0.07	0.02	1.89	4.24	0.04	2.65
水銀 (Hg)	10	0.01	0.03	6	0.01	0.01	1.01	4.48	0.05	2.67
ニッケル (Ni)	11	0.6	1.3	6	0.2	0.8	0.12	4.24	0.36	2.65
鉛 (Pb)	12	0.7	1.0	6	0.3	0.7	0.22	4.04	0.52	2.63

脚注は表8-1を参照

4) 肥料認証標準物質の有効期限

標準物質 A 及び標準物質 B の有効期限については、2013年6月末としていたが長期安定性に関する1)安定性のモニタリング及び2)小規模共同試験の結果、認証値設定から2年4ヶ月間の安定性が確認されたため、肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会(2012年11月30日)の審議を受け、有効期限を2年延長し2015年6月末に変更した。また、この有効期限内に変質等が見られた場合には、FAMICのホームページに掲載することで使用者に周知することとした。なお、既に配付済みの使用者に対しては、有効期限が2015年6月末まで延長されたことを電子メール又は文書の郵送で周知した。

5) 認証値の不確かさについて

ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾では、認証値に付随する不確かさに長期安定性の不確かさを評価することを推奨しているが、現状の標準物質 A 及び標準物質 B の不確かさに、長期安定性の不確かさは含まれていない。しかしながら、今回の 2) 肥料認証標準物質の長期安定性評価及び 3) 小規模共同試験の長期安定性の評価結果により、認証値及び不確かさは現時点での有効性が確認されたことから、それらの数値の変更の必要性は認められなかった。

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-10) 及び標準物質 B (普通化成肥料 FAMIC-B-10) の有効期限を確認するために長期安定性試験を実施した。長期安定性試験は、モニタリング及び小規模共同試験により実施した。前者の試験結果を ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾を参考に統計解析し、安定性を評価した。また、後者の試験結果を ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁹⁾を参考に統計解析し、安定性を評価した。これらの結果、標準物質 A 及び標準物質 B について調製後 2 年 4 ヶ月間の認証成分の安定性が確認された。更に、後者の試験結果を ISO 5725-6:1994 (JIS Z 8402-6:1999)¹⁰⁾を参考に統計解析し、室間再現性精度及び室内精度の推移を確認したところ、認証書に記載されている不確かさが変化したという証拠は認められなかった。このことについて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、標準物質 A 及び標準物質 B についての有効期限を 2 年間延長して 2015 年 6 月末までとした。

肥料認証標準物質の認証成分の長期安定性を確認し、有効期限を延長することにより、利用者の利便性が向上すると考えられる。一方、肥料の認証標準物質は、国内には他に作成している例はなく、また、国外においても肥料成分と測定方法が異なる等から作成されていない。このような観点から、この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いものと期待される。

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 (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」)
- 3) 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 関根優子, 及川裕美, 添田英雄, 阿部文浩, 白井裕治, 柴田政人: 2009 年度 肥料認証標準物質の開発－汚泥発酵肥料 FAMIC-C-09－, 肥料研究報告, 3, 95~106 (2010)
- 4) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010 年度 肥料認証標準物質の開発－高度化成肥料 FAMIC-A-10 及び普通化成肥料 FAMIC-B-10－, 肥料研究報告, 4, 107~121, (2009)
- 5) 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」)
- 6) ISO Guide 31 (2000): “Reference materials—Contents of certificates and labels” (JIS Q 0031 : 2002, 「標準物質—認証書及びラベルの内容」)
- 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

<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>

- 8) 保母敏行, 飯田芳男, 石橋耀一, 岡本研作, 川瀬晃, 中村利廣, 中村洋, 平井昭司, 松田りえ子, 山崎慎一, 四方田千佳子, 小野昭紘, 柿田和俊, 坂田衛, 滝本憲一: 日本分析化学会における標準物質開発, 分析化学, 57, 6, 363~392 (2008)
- 9) 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」)
- 10) 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」)
- 11) ISO/TS 21748 (2004): “Measurement uncertainty-Part 1: Guidance for the use of repeatability reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation” (JIS Z 8404-1 :2006, 「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) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)
- 13) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, Analyst, 125, 385~386 (2000)
- 14) Codex Alimentarius Commission: CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL Twentieth edition, p66 (2011)

Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements: High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-10) and Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-10)

Shigeyuki INABA¹, Satono AKIMOTO², Yasuharu KIMURA¹, Taku FUJITA¹, Takafumi KAMIKAWA³,
Souichi IGARASHI⁴, Kouhei ITOU¹, Toshiaki HIROI² and Yuji SHIRAI²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

(Now) Nagoya Regional Center

⁴ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has performed long-term stability examinations to confirm shelf lives of fertilizer certified reference materials (CRMs), high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-10) and ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-10), for analysis of major components and harmful elements. FAMIC-A-10 is certified for the contents 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-B-10 is certified for the concentrations of ammonium nitrogen (A-N), neutral citrate-soluble phosphorus (S-P₂O₅), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb), nickel (Ni) and mercury (Hg). 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. In addition, the long-term stability was evaluated by a statistical analysis of the results of a small scale collaborative study (6 laboratories) on the chemical analysis of the stock CRMs. The data reported from participants was performed a statistical analysis in reference to ISO 5725: 1994. From these results of the statistical analysis, the all certified values of the CRMs were stable for two years and four months after preparation. As a result of the statistical analysis of the data of the latter study in reference to ISO 5725-6:1994, it did not show evidence that the certified value and its uncertainty should have been updated. 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), compound fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 31, ISO Guide 35, long-term stability, monitoring, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 6, 101~116, 2013)