

## 15 銅試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

阿部 進<sup>1</sup>, 須永善行<sup>2</sup>

キーワード クライテリア・アプローチ, 銅, フレイム原子吸光法, 肥料等試験法

### 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)<sup>1)</sup>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. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン<sup>2)</sup>には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法<sup>3)</sup>に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)<sup>4)</sup>の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 下水道汚泥肥料等の主要な成分等として指定<sup>5)</sup>されている銅全量(T-Cu)及び効果発現促進材として使用量を表示する<sup>6)</sup>水溶性銅(W-Cu)のフレイム原子吸光分析法の精確さ等の性能を調査した.

### 2. 材料及び方法

#### 1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には銅が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬は乳鉢等を用いて粉碎した. 硫酸銅(II)五水和物の純度を 100.0 %と仮定して表 2 のとおり試薬を混合し, 銅全量(T-Cu)分析用として, 銅(Cu)を 0.001 %~0.15 % 含有する肥料を調製した. また, 表 3 のとおり試薬を混合し, 水溶性銅(T-Cu)分析用として, 銅(Cu)を質量分率 0.003 %~10 %含有する試料を調製した. さらに, 試薬を水に溶解して銅(Cu)を質量分率 0.0001 %~1%含有する試料を調製した.

#### 2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日立ハイテクノロジーズ Z-2300
- (2) マッフル炉: ADVANTEC 東洋 FUW242PA
- (3) ホットプレート: アサヒ理化製作所 APS-500
- (4) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC 東洋 恒温回転振とう機 THM062FA

<sup>1</sup> 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)肥飼料安全検査部

<sup>2</sup> 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

表1 試料の調製に使用した試薬

使用する試薬		対応する原材料名	
名称	規格	名称又は種類名(材料)	慣用名
硫酸アンモニウム	JIS K8960 特級	硫酸アンモニア	硫安
りん酸二水素カリウム	JIS K9007 特級	りん酸一カリウム	
塩化カリウム	JIS K8121 特級	塩化加里	塩加
硫酸銅(Ⅱ)五水和物	JIS K8983 特級	効果発現促進材	
硫酸亜鉛七水和物	JIS K8953 特級	効果発現促進材	
くえん酸一水和物	JIS K8283 特級	沈殿防止材	
セルロース	特級		
スクロース	特級		
グルテン	特級		

表2 銅全量 (T-Cu) 分析試験に用いた試料の配合割合 (質量分率 %)

使用する試薬	真度評価用試料		定量下限確認用試料
	Cu-0.15	Cu-0.03	Cu-0.001
りん酸二水素カリウム	5.000	5.000	5.000
硫酸銅(Ⅱ)五水和物	0.5894	0.1179	0.0039
セルロース	60.000	60.000	60.000
スクロース	25.411	25.882	25.996
グルテン	9.000	9.000	9.000
Cu含有量	0.15	0.03	0.001

表3 水溶性銅 (W-Cu) 分析試験に用いた試料の配合割合 (質量分率 %)

使用する試薬	真度評価用試料						定量下限確認用試料	
	Cu-10	Cu-1-1	Cu-1-2	Cu-0.05	Cu-0.03	Cu-0.002	Cu-0.003	Cu-0.0001
硫酸アンモニウム	10.000	60.000	5.000	5.000	60.000	5.000	60.000	5.000
りん酸二水素カリウム	5.000	20.000	3.000	3.000	20.000	3.000	30.000	3.000
塩化カリウム	1.721	7.274			19.838		9.975	
硫酸銅(Ⅱ)五水和物	39.293	3.9293	3.9293	0.1965	0.1179	0.0079	0.0118	0.000393
硫酸亜鉛七水和物	43.986	8.7972	4.3986	0.2199	0.0440	0.0088	0.0132	0.000440
くえん酸一水和物			1.000	1.000		1.000		1.000
水			82.672	90.584		90.983		91.000
Cu含有量	10	1	1	0.05	0.03	0.002	0.003	0.0001

### 3) 試薬の調製

(1) 水: 水精製装置(MERCK ELIX ESSENTIAL5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。

(2) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級試薬。

(3) 硝酸: JIS K 8541 に規定する特級試薬。

(4) 銅標準液(Cu 0.1 mg/mL): 銅標準液(Cu: 100 mg/L)(和光純薬工業;JCSS)を使用した。

- (5) 検量線用銅標準液: 銅標準液(Cu 0.1 mg/mL)を段階的にとり, 最終希釈液に調製する容量の 1/4 容量の塩酸(1+5)をそれぞれ加え, 水で希釈して検量線用銅標準液(Cu 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 µg/mL)を調製した.
- (6) 検量線用空試験液: 塩酸(1+5)を一定量とり, 水で 10 倍に希釈した.
- (7) その他の試薬: 肥料等試験法<sup>3)</sup>に従った.

#### 4) 試験成分及び試験方法

銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)の抽出及び測定は表 4 のとおり肥料等試験法(2012)<sup>3)</sup>の各試験方法を用いる. なお, 参考のため, 各試験法のフローシート(図 1~2)を示した.

表4 試験成分及び試験方法

試験成分	肥料等試験法の項目	試料溶液の調製方法
銅全量(T-Cu)	4.10.1.a フレイム原子吸光法	(4.1) 灰化、硝酸・塩酸分解
水溶性銅(W-Cu)	4.10.2.a フレイム原子吸光法	(4.1) 水回転振とう

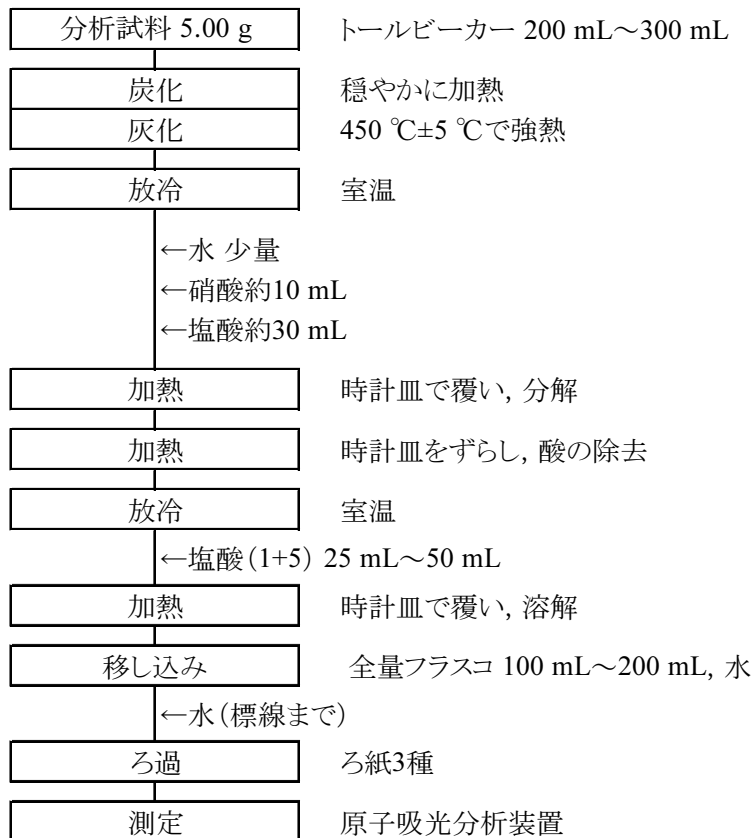


図1 銅全量試験法フローシート

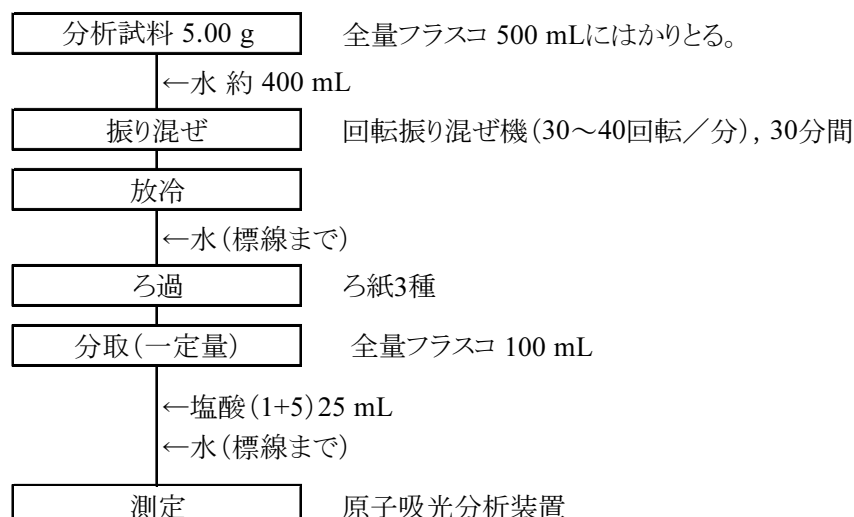


図2 水溶性銅試験法フローシート

### 3. 結果及び考察

#### 1) 試料の調製に用いた硫酸銅(Ⅱ)五水和物中の銅の含有量

試料の調製に用いた硫酸銅(Ⅱ)五水和物中の銅含有量を肥料等試験法(水溶性銅)により3点併行で測定した結果を表5に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は、質量分率 100.2%と試薬の表示値(min. 99.5%)を満たしており、その相対標準偏差は 0.1%と小さかった。このことから、試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った。

表5 試料の調製に用いた硫酸銅(Ⅱ)五水和物中の銅の測定値

試料	理論値 <sup>1)</sup> (%) <sup>4)</sup>	平均値 <sup>2)</sup> (%) <sup>4)</sup>	標準偏差 (%) <sup>4)</sup>	理論値に 対する割合 <sup>3)</sup> (%)	相 対 標準偏差 (%)
硫酸銅(Ⅱ)五水和物(水溶性)	25.45	25.50	0.04	100.2	0.1

1) 硫酸銅(Ⅱ)五水和物の銅(Cu)理論値

2) 3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

#### 2) 真度評価試験

真度評価用試料(表2, 3)を用いて3点併行で銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)の試験を実施した成績を表6に示した。

肥料取締法<sup>7)</sup>において、主要な成分の含有量を保証票又は表示に記載することを汚泥肥料等又はたい肥等の生産業者等に義務づけている。銅全量(T-Cu)については、現物1キログラム当たり300ミリグラム以上含有する場合に限り表示が義務<sup>5)</sup>づけられており、表示値に対する許容誤差は、特殊肥料の品質表示基準<sup>8)</sup>において、表示値の±30%と定められている。よって、銅全量(T-Cu)の回収率及び設計値と測定値との差の割合について算出した。Cu-0.15及びCu-0.03の回収率は99.6%~100.4%であり、Cu-0.15及びCu-0.03の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.4%~0.4%であった。このことから、これらの試験法は、汚泥肥料等又はたい

肥等の銅全量(T-Cu)の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された。

また、農林水産省告示<sup>6)</sup>において、効果発現促進材の使用量等は家庭園芸用肥料以外の普通肥料にあつては、保証票に表示することが義務づけられている。銅(Cu)については、効果発現促進材として液状肥料での使用も多いため、粉状試料と液状試料(表 3)について調査を行い、水溶性銅(W-Cu)の回収率及び設計値と測定値との差の割合について算出した。粉状試料である Cu-10, Cu-1-1 及び Cu-0.03 の回収率は 99.4 %～102.6 %であり、Cu-10, Cu-1-1 及び Cu-0.03 の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.6 %～2.6 %であった。液状試料である Cu-1-2, Cu-0.05 及び Cu-0.002 の回収率は 98.8 %～101.4 %であり、Cu-1-2, Cu-0.05 及び Cu-0.002 の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-1.2 %～1.4 %であった。このことから、これらの試験法は、水溶性銅(W-Cu)の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC<sup>9)</sup>における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 10 %で 95 %～102 %, 質量分率 1 %で 92 %～105 %及び質量分率 0.001 %で 85 %～110 %であり、参考のため比較したところ銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表6 試料中の銅(Cu)の試験成績

試験成分	試料	理論値	測定値	理論値との差	差の割合	回収率	標準偏差	相対標準偏差
		A <sup>1)</sup> (%) <sup>2)</sup>	B <sup>3)</sup> (%) <sup>2)</sup>	C <sup>4)</sup> (%) <sup>3)</sup>	D <sup>5)</sup> (%)	E <sup>6)</sup> (%)	F <sup>7)</sup> (%) <sup>2)</sup>	G <sup>8)</sup> (%)
T- Cu	Cu-0.15	0.15	0.151	0.001	0.4	100.4	0.00	1.1
	Cu-0.03	0.03	0.030	0.000	-0.4	99.6	0.00	3.2
W- Cu	Cu-10	10	10.07	0.07	0.7	100.7	0.04	0.4
	Cu-1-1	1	0.994	-0.006	-0.6	99.4	0.01	1.0
	Cu-1-2	1	0.988	-0.012	-1.2	98.8	0.00	0.4
	Cu-0.05	0.05	0.0497	-0.0003	-0.7	99.3	0.00	0.2
	Cu-0.03	0.03	0.0308	0.0008	2.6	102.6	0.00	2.7
	Cu-0.002	0.002	0.00203	0.00003	1.4	101.4	0.00	1.2

1) 試料中の銅(Cu)の含有量(理論値)

2) 質量分率

3) 3点併行試験の平均値

4)  $C=B-A$

5)  $D=(C/A) \times 100$

6)  $E=(B/A) \times 100$

7) 3点併行試験の標準偏差

8)  $G=(F/B) \times 100$

### 3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表 2, 3)を用いて 7 点併行で銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)の試験を実施した結果を表 7 に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$  式、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$  式を用いて算出した<sup>10)</sup>。

AOAC<sup>9)</sup>における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.001 %で 80 %～115 %であり、参考のため比較したところ銅全量(T-Cu) Cu-0.001 の回収率は許容範囲内であった。Cu-0.001 の推定定量下限値は質量分率 0.0004 %, 推定検出下限値は質量分率 0.0001 %であると評価できる。

AOAC<sup>9)</sup>における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.001 %で 80 %～115 %及び質量分率

0.0001 %で75 %~120 %であり、参考のため比較したところ水溶性銅(W-Cu)の粉状試料であるCu-0.003の回収率は許容範囲内であったが、液状試料であるCu-0.0001の回収率は許容範囲を超える結果であった。Cu-0.003の推定定量下限値は質量分率0.001 %、推定検出下限値は質量分率0.0005 %であり、Cu-0.0001の推定定量下限値は質量分率0.0003 %、推定検出下限値は質量分率0.0001 %であると評価できる。

表7 定量下限確認試験の成績

試験成分	試料	理論値 <sup>1)</sup> (%) <sup>2)</sup>	平均値 <sup>3)</sup> (%) <sup>2)</sup>	回収率 <sup>4)</sup> (%)	標準偏差 (%) <sup>2)</sup>	推定定量 下限値 <sup>5)</sup> (%) <sup>2)</sup>	推定検出 下限値 <sup>6)</sup> (%) <sup>2)</sup>
T- Cu	Cu-0.001 <sup>7)</sup>	0.001	0.00103	103.3	0.00004	0.0004	0.0001
W- Cu	Cu-0.003 <sup>7)</sup>	0.003	0.00300	100.1	0.00012	0.001	0.0005
W- Cu	Cu-0.0001 <sup>8)</sup>	0.0001	0.000142	141.9	0.000029	0.0003	0.0001

1) 試料中の銅(Cu)の含有量(理論値)

2) 質量分率

3) 7点併行試験の平均値

4) (平均値/理論値)×100

5) 標準偏差×10

6) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

7) 粉状試料

8) 液状試料

#### 4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、該当する試験法で実施された既報の認証標準物質の値付けのための共同試験<sup>10)</sup>の成績<sup>11)</sup>を適用することとし、それらの成績を表8に示した。

銅全量(T-Cu)の平均値が583 mg/kgでその室間再現標準偏差は22 mg/kg、その相対標準偏差は3.8 %であった。また、銅全量(T-Cu)の試験成績のHorRat値は0.61であった。

なお、AOAC(OMA)<sup>8)</sup>における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度100 %で2 %、濃度10 %で3 %、濃度1 %で4 %及び濃度0.1 %で6 %であり、参考のため比較したところ銅全量(T-Cu)の室間再現標準偏差(RSD<sub>R</sub>)はこれらの目安を下回った。

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

試験成分	試料の種類	試験 年度	試験 室数	平均値 A <sup>1)</sup> (mg/kg)	SD <sub>R</sub> B <sup>2)</sup> (mg/kg)	RSD <sub>R</sub> C <sup>3)</sup> (%)	PRSD <sub>R</sub> D <sup>4)</sup> (mg/kg)	HorRat値 E <sup>5)</sup>
T-Cu	汚泥発酵肥料	2012	11	583	22	3.8	6.1	0.61

1) 認証値

2) 室間再現標準偏差

3) 室間再現相対標準偏差 C = (B/A)×100

4) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差

5) HorRat値 E = C/D

#### 4. まとめ

銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)のフレーム原子吸光度法の真度、定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ、次の結果を得た。

(1) 銅(Cu)として0.03%～0.15%含有する試料についての銅全量(T-Cu)の測定結果は、回収率が99.6%～100.4%であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.4%～0.4%であった。

(2) 銅(Cu)として0.03%～10%含有する粉状試料についての水溶性銅(W-Cu)の測定結果は、回収率が99.4%～102.6%であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.6%～2.6%であった。また、銅(Cu)として0.002%～1%含有する液状試料についての水溶性銅(W-Cu)の測定結果は、回収率が98.8%～101.4%であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-1.2%～1.4%であった。

(3) 銅全量(T-Cu)について銅(Cu)として0.001%含有する試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率0.0004%、0.0001%程度と推定された。

(4) 水溶性銅(W-Cu)について銅(Cu)として0.003%含有する粉状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率0.001%、0.0005%程度と推定された。また、銅(Cu)として0.0001%含有する液状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率0.0003%、0.0001%程度と推定された。

(5) 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ、銅全量(T-Cu)は平均値が583 mg/kgでその室間再現標準偏差は22 mg/kg、その相対標準偏差は3.8%であった。

(1)～(5)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としての銅(Cu)の含有量を評価することができる性能を有していると示しており、クライテリア・アプローチのガイドラインの銅(Cu)試験法の性能規準を作成する際に、これらの試験成績は十分に参考になると考えられた。

#### 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) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)  
<[ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual\\_20e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf)>
- 3) 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>>
- 4) 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)
- 5) 農林水産省告示: 肥料取締法第一七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13年3月15日, 農林水産省告示第337号(2001)
- 6) 農林水産省告示: 肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件, 昭和59年3月16日, 農林水産省告示第700号, 最終改正平成16年1月15日, 農林水産省告示第74号(2004)
- 7) 肥料取締法: 昭和25年5月1日, 法律第127号, 最終改正平成23年8月30日, 法律第105号(2011)
- 8) 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17年2月28日, 農林水産省告示第364号(2005)
- 9) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and

Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)

- 10) 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」)
- 11) 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, 肥料研究報告, **4**, 107~120 (2011)



## Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Copper in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Shin ABE<sup>1</sup> and Yoshiyuki SUNAGA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

<sup>2</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center  
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

We verified performance characteristics of testing methods for total copper (T-Cu) and water-soluble copper (W-Cu) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of copper was assured from 3 replicate determinations of 8 fertilizer samples containing 0.002% ~ 10% copper which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 98.8 % ~ 102.6 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.0004 % ~ 0.001 % and 0.0003%, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, mean values, relative standard deviations ( $SD_R$ ) for reproducibility and relative standard deviations ( $RSD_R$ ) of T-Cu obtained by collaborative studies were 583 mg/kg, 22 mg/kg and 3.8 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of copper.

*Key words* criteria approach, copper, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **6**, 165 ~173, 2013)