

## 17 石灰及びカルシウム試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

五十嵐総一<sup>1</sup> 木村康晴<sup>2</sup>

キーワード クライテリア・アプローチ, 石灰, カルシウム, 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, 石灰 (CaO)<sup>5)</sup><sup>6)</sup>として規定されている石灰全量 (T-CaO), 可溶性石灰 (S-CaO) 及び水溶性カルシウム (W-CaO) のフレイム原子吸光法の精確さ等の性能を調査したので報告する. なお, 効果発現促進材に含有する水溶性カルシウムが (W-Ca) として評価されているが, 今調査では便宜上 (W-CaO) として評価する.

### 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石灰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, 粒状の試薬は乳鉢を用いて粉碎した. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬を混合し, 石灰 (CaO) として質量分率 0.2 %~20 %含有する試料を調製した. また, 試薬を水に溶かして石灰 (CaO) として質量分率 0.02 %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: 日本ジャーレル・アッシュ SOLAAR S4
- (2) マッフル: ヤマト科学 FO610
- (3) ホットプレート: 柴田科学 NP-6

<sup>1</sup> 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

<sup>2</sup> 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

- (4) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機：(別注品)  
 (5) 上下転倒式回転振り混ぜ機：増田理化工業 MK-41

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
水酸化カルシウム	特級	水酸化カルシウム	消石灰
炭酸カルシウム	特級	炭酸カルシウム	
酢酸カルシウム一水和物	JIS K8364 特級	酢酸カルシウム一水和物	
硫酸アンモニウム	JIS K8960 特級	硫酸アンモニア	硫安
尿素	JIS K8731 特級	尿素	
硫酸マンガン	JIS K8997 特級	硫酸マンガン	
硫酸マグネシウム	JIS K8995 特級	硫酸マグネシウム	
りん酸マグネシウム	鹿一級	りん酸マグネシウム	
硫酸ナトリウム	残留農薬・PCB試験用	硫酸ナトリウム	
ほう酸	JIS K8863 特級	ほう酸	
りん酸水素二アンモニウム	JIS K9016 特級	りん酸アンモニア	DAP
硫酸カリウム	JIS K8962 特級	硫酸加里	硫加
エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物	JIS K8107 特級	沈殿防止材	EDTA-Na
でん粉	鹿一級	でん粉	
ゼラチン末	鹿一級	ゼラチン末	
グルコース	JIS K8824 特級	グルコース	

表2 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			
	T-CaO -15	T-CaO -1	S-CaO -20	S-CaO -1	W-CaO -5	W-CaO -1	T-CaO -0.2	S-CaO -0.2	W-CaO -0.2	W-CaO -0.02
水酸化カルシウム	19.62	1.31					0.26			
炭酸カルシウム			35.52	1.78				0.36		
酢酸カルシウム一水和物					15.55	3.11			0.62	0.06
硫酸アンモニウム	10.00	10.00			2.00	2.00	10.00		2.00	2.00
尿素					2.00	2.00			2.00	2.00
硫酸マンガン			3.00	3.00				3.00		
硫酸マグネシウム			3.00	3.00				3.00		
りん酸マグネシウム			10.00	10.00				10.00		
硫酸ナトリウム			40.00	40.00	30.00	40.00		40.00	40.00	
ほう酸			3.00	3.00				3.00		
りん酸水素二アンモニウム	10.00	10.00			2.00	2.00	10.00		2.00	2.00
硫酸カリウム	1.00	1.00			2.00	2.00	1.00		2.00	2.00
EDTA-Na <sup>1)</sup>					2.00	2.00				
でん粉	29.38	37.69					40.00	40.64		
ゼラチン	30.00	40.00					38.74			
グルコース			5.48	39.22	44.45	46.89			51.38	
水										91.94
CaO含有量	15	1	20	1	5	1	0.2	0.2	0.2	0.02

1) エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物

### 3) 試薬の調製

- (1) 水：水精製装置 (ADVANTEC RDF240NA) 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) カルシウム標準液 (Ca 1 mg/mL)：カルシウム標準液 (Ca: 1,000 mg/L) (和光純薬工業; JCSS) を使用した。
- (3) 検量線用カルシウム標準液：カルシウム標準液 (Ca 1 mg/mL) を段階的にとり、最終希釈液に調製する容量の 1/10 容量の干渉抑制剤溶液をそれぞれ加え、水で希釈して検量線用カルシウム標準液 (Ca 10, 20, 30, 40 µg/mL) を調製した。
- (4) 検量線用空試験液：干渉抑制剤溶液一定量をとって、水で 10 倍に希釈した。
- (5) 干渉抑制剤溶液：JIS K 8132 に規定する塩化ストロンチウム六水和物 152.1g をビーカー 2,000 mL にはかりとり、少量の水を加え、塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし、更に水を加えて 1,000 mL とした。
- (6) 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

石灰全量 (T-CaO)、可溶性石灰 (S-CaO) 及び水溶性カルシウム (W-CaO) の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法<sup>3)</sup>の各試験方法を用いた。なお、参考のため、各試験法のフローシート (図 1~3) を示した。

表3 試験成分及び試験方法

試験成分	肥料等試験法の項目	試料溶液の抽出方法
石灰全量(T-CaO)	4.5.1.a フレイム原子吸光法	(4.1) 灰化・塩酸煮沸
可溶性石灰(S-CaO)	4.5.2.a フレイム原子吸光法	(4.1) 塩酸(1+23)で煮沸抽出
水溶性カルシウム(W-CaO)	4.5.3.a フレイム原子吸光法	(4.1) 水で回転振とう抽出

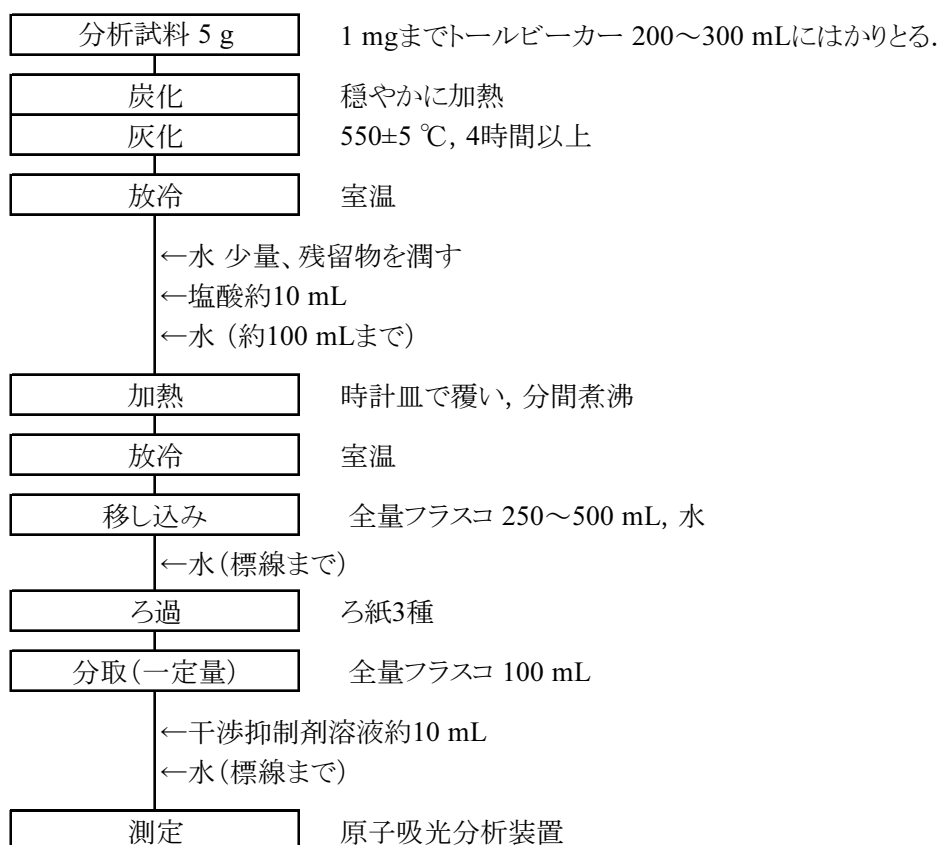


図1 肥料中の石灰全量試験法フローシート

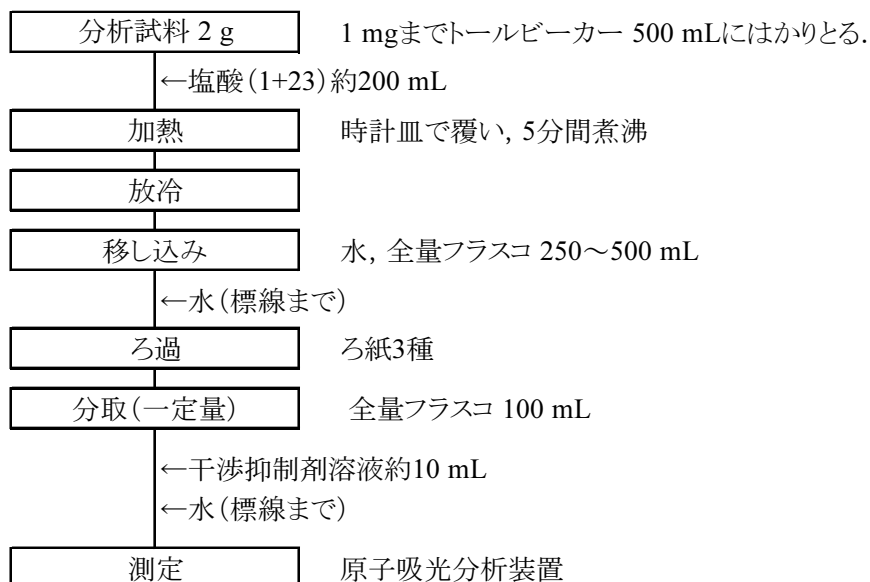


図2 肥料中の可溶性石灰試験法フローシート

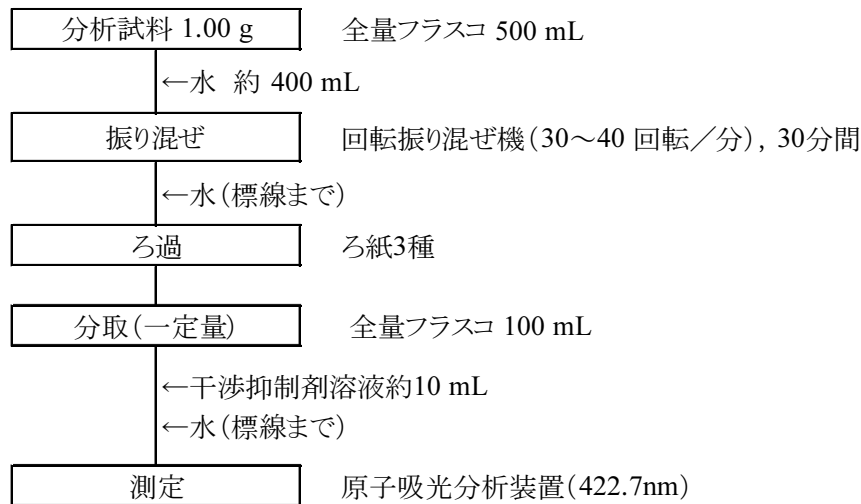


図3 肥料中の水溶性カルシウム試験法フローシート

### 3. 結果及び考察

#### 1) 試料の調製に用いた水酸化カルシウム、炭酸カルシウム及び酢酸カルシウム中の石灰含有量

試料の調製に用いた水酸化カルシウム、炭酸カルシウム及び酢酸カルシウム中の含有量を肥料等試験法により3点併行で測定した結果を表4に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は各々、試薬の表示値を満たしており、その相対標準偏差は0.2%~0.4%と小さかった。このため、試料の調製では理論値を用いて配合設計を行い、石灰(CaO)の含有量は表示純度を使用した。

表4 試料の調製に用いた試薬中の石灰(CaO)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		相対標準偏差 (%)
				対する割合 <sup>3)</sup> (%)	表示純度 (%) <sup>4)</sup>	
水酸化カルシウム	75.69	74.17	0.14	98.0	96.0 以上	0.2
炭酸カルシウム	56.03	56.14	0.21	100.2	99.5 以上	0.4
酢酸カルシウム一水和物	31.83	32.28	0.14	101.4	min 99.0	0.4

- 1) 試薬中の石灰(CaO)理論値
- 2) 石灰(CaO)の3点併行試験の平均値
- 3) (平均値/理論値)×100
- 4) 質量分率

#### 2) 真度評価結果

真度評価用試料(表1及び表2参照)を用いて3点併行で石灰全量(T-CaO)、可溶性石灰(S-CaO)及び水溶性カルシウム(W-CaO)の試験を実施した成績を表5に示した。

肥料取締法<sup>7)</sup>において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(汚泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、石灰(CaO)の設計値と各試験法の測定値の差について算出した。石灰(CaO)として質量分率1%~20%含有する試料についてそれぞれの試験方法で測定したところ、設計値と

測定値との差は試料(CaO質量分率5%及び1%)で質量分率-0.10%~0.01%であり、石灰(CaO)含有量の多い試料(CaO質量分率20%及び15%)では質量分率0.17%~0.27%であった。また、設計値に対する回収率は97.9%~101.8%であった。

このことから、これらの試験法は、普通肥料(指定配合肥料を含む)のアルカリ分に相当する石灰(CaO)の保証成分量の評価を得るの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>8)</sup>における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度100%で98%~101%、濃度10%で95%~102%及び濃度1%で92%~105%であり、参考のため比較したところ石灰(CaO)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中の石灰(CaO)の試験成績

試験成分	試料	設計値	測定値	設計値との差	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>2)</sup>	D <sup>5)</sup> (%)	E <sup>6)</sup> (%)	F <sup>7)</sup> (%) <sup>2)</sup>	G <sup>8)</sup> (%)
T-CaO	CaO-15	15	15.27	0.27	1.8	101.8	0.23	1.5
	CaO-1	1	0.98	-0.02	-2.1	97.9	0.02	1.8
S-CaO	CaO-20	20	20.17	0.17	0.9	100.9	0.12	0.6
	CaO-1	1	1.01	0.01	1.1	101.1	0.01	0.8
W-CaO	CaO-5	5	4.90	-0.10	-1.9	98.1	0.04	0.9
	CaO-1	1	1.01	0.01	1.1	101.1	0.01	1.3

1) 試料中の石灰(CaO)の含有量(設計値)

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1,2)を用いて7点併行で石灰全量(T-CaO)、可溶性石灰(S-CaO)及び水溶性カルシウム(W-CaO)の試験を実施した結果を表6に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ を用いて算出した<sup>9)</sup>。

普通肥料の公定規格<sup>10)</sup>において、石灰分の保証は設定されていないが、軽量気泡コンクリート粉末肥料でのアルカリ分の最低保証成分量は15%であり、汚泥肥料での表示義務が生じる濃度15%からみて本測定法は十分な性能を有していることが確認できた。また、効果発現促進材としては、カルシウム濃度で質量分率0.01%~数%程度使用されている実態からみて、今回、確認した定量下限は石灰(CaO)濃度として、質量分率0.05%~0.07%であり、カルシウム(Ca)濃度として質量分率0.03%~0.05%でありほとんどの場合、測定可能であった。

表6 定量下限確認試験の成績 (質量分率%)

試験成分	試料	設計値 <sup>1)</sup>	平均値 <sup>2)</sup>	標準偏差	推定定量 下限値 <sup>3)</sup>	推定検出 下限値 <sup>4)</sup>
T-CaO	CaO-0.2	0.2	0.185	0.005	0.05	0.02
S-CaO	CaO-0.2	0.2	0.187	0.005	0.05	0.02
W-CaO	CaO-0.2	0.2	0.202	0.007	0.07	0.03
W-CaO	CaO-0.02	0.02	0.0098	0.0040	0.04	0.02

- 1) 試料中の石灰(CaO)の含有量(設計値)
- 2) 7点併行試験の平均値
- 3) 標準偏差×10
- 4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

#### 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、既報の外部精度管理試験<sup>11)</sup>のうち該当する試験法で実施された成績<sup>12~14)</sup>及び認証標準物質の値付けのための共同試験<sup>15)</sup>の成績<sup>16)</sup>を適用することとし、それらの成績を表7及び表8に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差(NIQR)が算出されている。中央値及びNIQRは正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)の中央値又は平均値が質量分率5.82%~41.64%の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率0.29%~0.90%、その相対標準偏差は1.9%~5.0%であった。また、石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)の試験成績のHorRat値は0.82~1.63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石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)の室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った。

表7 外部精度管理試験成績

試験成分	試料の種類	試験 年度	試験 室数	中央値	NIQR	RSD <sub>R</sub>	PRSD	HorRat値
				A <sup>1)</sup> (%) <sup>2)</sup>	B <sup>3)</sup> (%) <sup>2)</sup>	C <sup>4)</sup> (%)	D <sup>5)</sup> (%)	E <sup>6)</sup>
S-CaO	鉍さいけい酸質肥料	2009	58	32.68	0.90	2.8	2.4	1.16
	鉍さいけい酸質肥料	2010	60	41.64	0.78	1.9	2.3	0.82
	鉍さいけい酸質肥料	2011	55	40.78	0.79	1.9	2.3	0.85

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差  $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値  $E = C/D$

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> (%) <sup>2)</sup>	SD <sub>R</sub> B <sup>3)</sup> (%) <sup>2)</sup>	RSD <sub>R</sub> C <sup>4)</sup> (%)	PRSD D <sup>5)</sup> (%)	HorRat値 E <sup>6)</sup>
T-CaO	汚泥発酵肥料	2009	10	5.82	0.29	5.0	3.1	1.63

- 1) 認証値
- 2) 質量分率
- 3) 室間再現標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差  $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値  $E = C/D$

#### 4. まとめ

石灰全量(T-CaO), 可溶性石灰(S-CaO)及び水溶性カルシウム(W-CaO)のフレイム原子吸光法の真度, 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) 石灰(CaO)として質量分率 1 %~20 %含有する試料についてそれぞれの試験方法で測定したところ, 設計値と測定値との差は試料(CaO 質量分率 5 %及び 1 %)で質量分率-0.10 %~0.01 %であり, 石灰(CaO)含有量の多い試料(CaO 質量分率 20 %及び 15 %)では質量分率 0.17 %~0.27 %であった. また, 設計値に対する回収率は 97.9 %~101.8 %であった.

(2) 粉状試料(CaO 質量分率 0.2 %)を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ, 質量分率 0.05 %~0.07 %及び 0.02 %~0.03 %であった. また, 液状試料(W-CaO 質量分率 0.02 %)の定量下限及び検出下限は質量分率 0.04 %及び 0.02 %程度と推定された.

(3) 外部精度管理試験の共同試験より室間再現精度を調査したところ, 石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)は, 中央値が質量分率 5.82%~41.64 %の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率 0.29 %~0.90 %, その相対標準偏差は 1.9 %~ 5.0%であった.

(1)~(3)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石灰(CaO)の含有量を評価することができる性能を有しており, クライテリア・アプローチにおける試験法の性能規準の資料を作成する際に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) 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>>
- 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) 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改平成 18 年 3 月 23 日, 政令第 51 号 (2006)



- 6) 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, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)
- 7) 肥料取締法:昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号(2011)
- 8) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)  
<[http://www.aoac.org/Official\\_Methods/slv\\_guidelines.pdf](http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf)>
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)  
<[www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg\\_072e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf)>
- 10) 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, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林省告示第 1985 号 (2012)
- 11) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 12) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 井上智江, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2009 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73~94 (2010)
- 13) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2010 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **4**, 85~106 (2011)
- 14) 恵智正宏, 渡部絵里菜, 小西範英, 阿部 進, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2011 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **5**, 68~88 (2012)
- 15) 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」)
- 16) 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 Calcium Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Souichi IGARASHI<sup>1</sup> and Yasuharu KIMURA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center  
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

<sup>2</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for total calcium (T-CaO), hydrochloric acid-soluble calcium (S-CaO) and water-soluble calcium (W-CaO) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of calcium was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 1 % ~ 20 % calcium (as CaO) which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 97.9 % ~ 101.8 %. On the basis of 10 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.05 % ~ 0.07 % and 0.04%, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, median, normalized interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations ( $RSD_R$ ) for reproducibility of T-CaO and S-CaO obtained by collaborative studies were 5.82 % ~ 41.64 %, 0.29 % ~ 0.90 %, and 1.9 % ~ 5.0 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of calcium.

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

(Research Report of Fertilizer, 6, 183~192, 2013)