

19 マンガン試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

八木啓二¹, 豊留夏紀¹, 鈴木時也¹, 添田英雄¹

キーワード クライテリア・アプローチ, マンガン, 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)¹⁾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²⁾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³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法 (1992 年版)⁴⁾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, 主要な成分のマンガン (MnO) として規定^{5, 6)}されている可溶性マンガン (S-MnO), 不溶性マンガン (C-MnO) 及び水溶性マンガン (W-MnO) 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.

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マンガン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, 炭酸マンガン n 水和物は, 農林水産省農蚕園芸局長通知⁷⁾から肥料等試験法³⁾に従い 212 μm のふるいを通過したものを用いた. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2-1 及び表 2-2 のとおり試薬を混合し, マンガン (MnO) として質量分率 0.001 % ~ 6 % 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 M5
- (2) ホットプレート: 柴田科学 NP-6
- (3) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC DGX-226
- (4) 上下転倒式回転振り混ぜ機: いすゞ製作所

¹ 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

表1 試料の調製に使用する試薬

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
尿素	JIS K8731 特級	尿素	尿素
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
りん酸一水素カルシウム二水和物	特級	過りん酸石灰	過石
りん酸水素二カリウム	JIS K9017 特級		
塩化カリウム	JIS K8121 特級	塩化加里	塩加
炭酸マンガンの水和物	特級	炭酸マンガ肥料	
硫酸マンガンの水和物	特級	硫酸マンガ肥料	
グルコース	JIS K8824 特級		
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

表2-1 試験に用いた可溶性マンガ及びく溶性マンガ試料の配合割合 (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
	MnO-5	MnO-0.1	MnO-0.02
硫酸アンモニウム	14	18	18
尿素	20	23	23
りん酸水素二アンモニウム	16		
りん酸一水素カルシウム二水和物	17.27	35.826	35.965
塩化カリウム	24	23	23
炭酸マンガンの水和物	8.73	0.174	0.035
MnO含有量	5	0.1	0.02

表2-2 試験に用いた水溶性マンガ試料の配合割合 (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	
	MnO-6	MnO-0.1	MnO-0.02	MnO-0.001
硫酸アンモニウム	10	10	10	5
尿素		10	10	
りん酸水素二カリウム	10	10	10	3
塩化カリウム			10	
硫酸マンガンの水和物	14.73	0.245	0.049	0.0025
グルコース	55.27	59.755	49.951	
エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物	10	10	10	1.9975
水				90
MnO含有量	6	0.1	0.02	0.001

3) 試薬の調製

(1) 水: 水精製装置(日本ミリポア Elix Advantage 5)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 に規定する同等の品質の試薬(和光純薬工業;有害金属測定用)を使用した。
- (3) くえん酸溶液(20 mg/mL)： JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1,000 mL とした。
- (4) 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 60.9 g~152.1 g をビーカー 2,000 mL にはかりとり、少量の水を加えた後、塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし、更に水を加えて 1,000 mL とする。
- (5) マンガン標準液(Mn 1 mg/mL)： マンガン標準液(Mn: 1,000 mg/L) (和光純薬工業;JCSS)を使用した。
- (6) マンガン標準液(Mn 0.1mg/mL)： マンガン標準液(Mn 1 mg/mL) 10 mLを全量フラスコ 100 mLにとり、標線まで水を加える。
- (7) 検量線用マンガン標準液(Mn 1 µg/mL~10 µg/mL)： マンガン標準液(Mn 0.1 mg/mL)の 2.5 mL~25 mLを全量フラスコ 250 mL に段階的にとり、干渉抑制剤溶液約 25 mLを加え、標線まで水を加える。
- (8) 検量線用空試験液： 干渉抑制剤溶液一定量をとる、水で 10 倍に希釈した。
- (9) その他の試薬： 肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

可溶性マンガン(S-MnO)、く溶性マンガン(C-MnO)及び水溶性マンガン(W-MnO)の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法³⁾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。

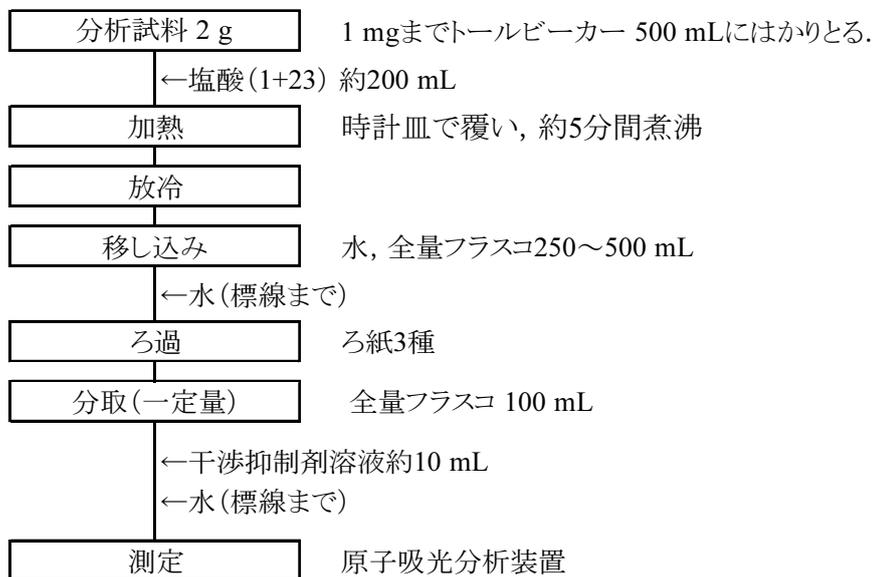


図1 肥料中の可溶性マンガン試験法フローシート

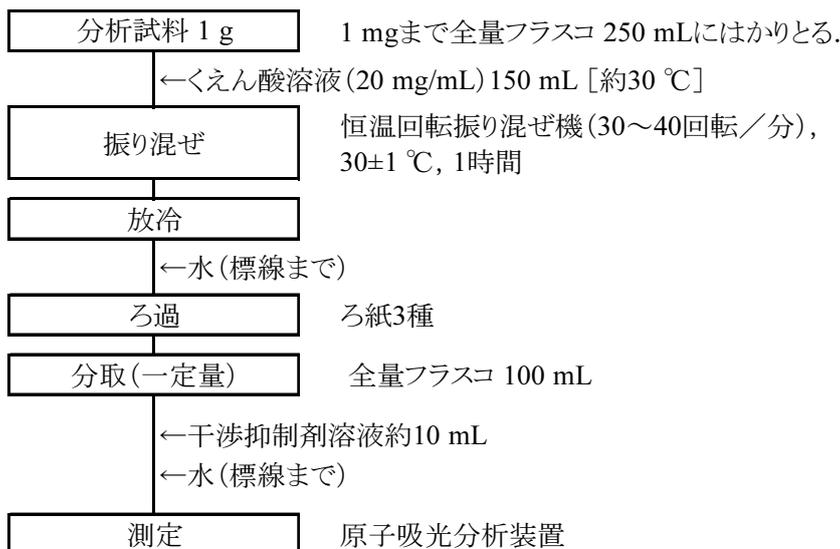


図2 肥料中のく溶性マンガン試験法フローシート

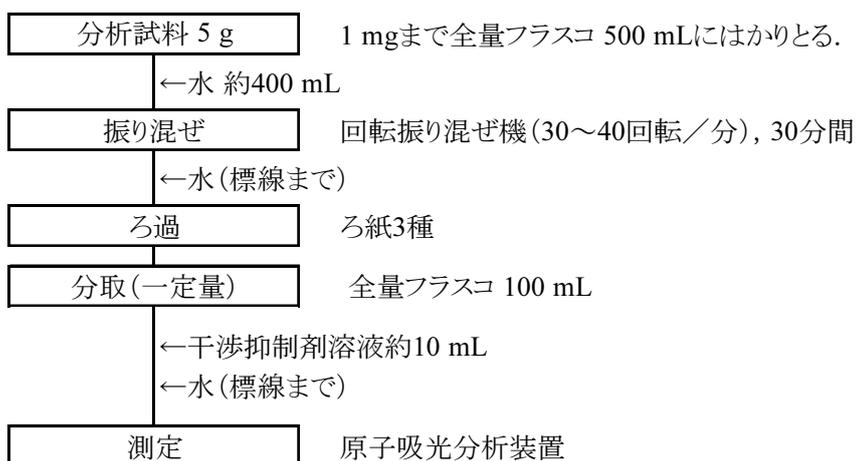


図3 肥料中の水溶性マンガン試験法フローシート

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	試料溶液の調製方法
可溶性マンガン(S-MnO)	4.7.1.a フレーム原子吸光法	(4.1) 塩酸(1+23)で煮沸抽出
く溶性マンガン(C-MnO)	4.7.2.a フレーム原子吸光法	(4.1) くえん酸溶液(20 mg/mL)回転振とう(30 °C)
水溶性マンガン(W-MnO)	4.7.3.a フレーム原子吸光法	(4.1) 水回転振とう

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた炭酸マンガン n 水和物及び硫酸マンガン一水和物中のマンガンの含有量

試料の調製に用いた炭酸マンガン n 水和物及び硫酸マンガン一水和物中のマンガンの含有量を肥料等試験法(可溶性マンガン, く溶性マンガン及び水溶性マンガン)により3点併行で測定した結果を表 4-1 及び表 4-2 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 99.5 %, 100.7 %及び 101.9 %であり, その相対

標準偏差は 0.02 %～0.04 % 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4-1 試料の調製に用いた炭酸マンガンn水和物中の可溶性マンガ
及び可溶性マンガンの測定値

試料	理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾	平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾	標準偏差 (%) ⁴⁾	理論値に対 する割合 ³⁾ (%)	相対標 準偏差 (%)
炭酸マンガンn水和物(S-MnO)	57.23	56.94	0.01	99.5	0.02
炭酸マンガンn水和物(C-MnO)	57.23	57.63	0.02	100.7	0.04

- 1) 炭酸マンガンn水和物中のマンガ(MnO)理論値(nは、MSDS記載の0.5を用いた)
- 2) 可溶性及び可溶性マンガ(MnO)の3点併行試験の平均値
- 3) (平均値/理論値)×100
- 4) 質量分率

表4-2 試料の調製に用いた硫酸マンガン一水和物中の水溶性マンガンの測定値

試料	理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾	平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾	標準偏差 (%) ⁴⁾	理論値に対 する割合 ³⁾ (%)	相対標 準偏差 (%)
硫酸マンガン一水和物(W-MnO)	40.71	41.49	0.02	101.9	0.04

- 1) 硫酸マンガン一水和物中のマンガ(MnO)理論値
- 2) 水溶性マンガ(MnO)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 2-1 及び表 2-2)を用いて 3 点併行で可溶性マンガ(S-MnO)、可溶性マンガ(C-MnO)及び水溶性マンガ(W-MnO)の試験を実施した成績を表 5 に示した。

肥料取締法⁸⁾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(污泥肥料等を除く)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、マンガ(MnO)の設計値と各試験法の測定値の差について算出した。マンガ(MnO)として質量分率 0.1 %～6 %含有する試料についてそれぞれの試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0 %～0.09 %であり、設計値に対する回収率は、100.5 %～101.9 %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)のマンガ(MnO)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、AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度 10 %で 95 %～102 %、0.1 %で 90 %～108 %及び 0.01 %で 85 %～110 %であり、参考のため比較したところマンガ(MnO)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中のマンガン(MnO)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 ¹⁾ (%) ²⁾	B ³⁾ (%) ²⁾	C ⁴⁾ (%) ²⁾	D ⁵⁾ (%)	E ⁶⁾ (%)	F ⁷⁾ (%) ²⁾	G ⁸⁾ (%)
S-MnO	MnO-5	5	5.03	0.03	0.5	100.5	0.05	1.0
	MnO-0.1	0.1	0.10	0.00	1.3	101.3	0.00	0.1
C-MnO	MnO-5	5	5.09	0.09	1.9	101.9	0.01	0.1
	MnO-0.1	0.1	0.10	0.00	0.5	100.5	0.00	1.2
W-MnO	MnO-6	6	6.07	0.07	1.2	101.2	0.12	2.0
	MnO-0.1	0.1	0.10	0.00	1.1	101.1	0.00	2.8

- 1) 試料中のマンガン(MnO)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 2-1 及び表 2-2)を用いて 7 点併行で可溶性マンガン(S-MnO), 可溶性マンガン(C-MnO)及び水溶性マンガン(W-MnO)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)×10」式, また, 検出下限は「(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)」式を用いて算出した¹⁰⁾.

普通肥料の公定規格¹¹⁾において普通肥料(配合肥料, 液状複合肥料, 家庭園芸用複合肥料を除く)のマンガン(MnO)の含有すべき主成分の最小量並びに肥料取締法施行規則¹²⁾において指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く)のマンガン(MnO)の保証できる最小量は 0.1 %又はそれ以上の含有量と規定されている. このことから, この試験法は公定規格における普通肥料(配合肥料, 液状複合肥料, 家庭園芸用複合肥料を除く), 指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く)の含有量の評価を得るのに十分な定量範囲を有していることが確認された.

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 ¹⁾	平均値 ²⁾	標準偏差	推定定量 下限値 ³⁾	推定検出 下限値 ⁴⁾
S-MnO	MnO-0.02	0.02	0.0200	0.0006	0.006	0.002
C-MnO	MnO-0.02	0.02	0.0200	0.0006	0.006	0.002
W-MnO	MnO-0.02	0.02	0.0199	0.0004	0.004	0.001
W-MnO	MnO-0.001	0.001	定量できず			

- 1) 試料中のマンガン(MnO)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¹³⁾のうち該当する試験法で実施された成績¹⁴⁾及び認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁵⁾の成績¹⁶⁾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。

く溶性マンガン(C-MnO)の中央値又は平均値が質量分率 0.403 %~0.547 %の範囲でその標準化された四分位範囲又は室間再現標準偏差は質量分率 0.010 %~0.017 %、その相対標準偏差は 2.4 %~3.1 %であった。また、く溶性マンガン(C-MnO)の試験成績の HorRat 値は 0.53~0.71 であった。

なお、AOAC(OMA)⁹⁾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く溶性マンガン(C-MgO)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 A ¹⁾ (%) ²⁾	NIQR B ³⁾ (%) ²⁾	RSD _R C ⁴⁾ (%)	PRSD D ⁵⁾ (%)	HorRat値 E ⁶⁾
C-MnO	普通化成肥料	2009	110	0.547	0.017	3.1	4.4	0.71

- 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 ¹⁾ (%) ²⁾	s_R B ³⁾ (%) ²⁾	RSD _R C ⁴⁾ (%)	PRSD D ⁵⁾ (%)	HorRat値 E ⁶⁾
C-MnO	高度化成肥料	2010	9	0.403	0.010	2.4	4.6	0.53

- 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

可溶性マンガン(S-MnO)、く溶性マンガン(C-MnO)及び水溶性マンガン(W-MnO)のフレー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) マンガン(MnO)として質量分率 0.1 %~6 %含有する試料についてそれぞれの試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0 %~0.09 %であり、設計値に対する回収率は、100.5 %~101.9 %であった。

(2) マンガン含有量(MnO)として質量分率 0.02 %に調製した試料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 0.004 %~0.006 %及び 0.001 %~0.002 %程度と推定された。

(3) 外部精度管理試験及び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、く溶性マンガン(C-MnO)は、中央値又は平均値が質量分率 0.403 %~0.547 %の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率 0.010 %~0.017 %、その相対標準偏差は 2.4 %~3.1 %であった。

(1)~(3)の成績は、肥料等試験法³⁾に記載された試験法が主要な成分としてのマンガン(MnO)の含有量を評価することができる性能を有しているとしており、クライテリア・アプローチのガイドラインのマンガン(MnO)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>
- 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,最終改正平成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) 農林水産省農蚕園芸局長通知:肥料取締法施行規則及び肥料取締法に基づく告示の一部改正に伴う留意事項等について,(別紙),可溶性マンガンの定量法,平成2年12月5日,2農蚕第7217号(1989)
- 8) 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)
- 9) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
- 10) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 11) 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)
- 12) 農林水産省令:肥料取締法施行規則,昭和25年6月20日,最終改正平成24年8月8日,農林水産省令第44号(2012)
- 13) 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」)
- 14) 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)
- 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 Manganese Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Keiji YAGI¹, Natuki TOYODOME¹, Tokiya SUZUKI¹ and Hideo SOETA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for acid soluble manganese (S-MnO), citric acid-soluble manganese (C-MnO) and water-soluble manganese (W-MnO) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of manganese was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 0.1 % ~ 6 % manganese (as MnO) which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 100.5 % ~ 101.9 %. 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 0.004 % ~ 0.006 % and 0.001 % ~ 0.002 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, medians, normalized interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of C-MnO obtained by proficiency testings were 0.403 % ~ 0.547 %, 0.010 % ~ 0.017 % and 2.4 % ~ 3.1 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of manganese.

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

(Research Report of Fertilizer, 6, 203~212, 2013)