

# 1 肥料中の鉄全量の測定方法の開発

一室間共同試験による妥当性確認

廣井利明<sup>1</sup>, 田中雄大<sup>1</sup>, 吉村英美<sup>1</sup>

**キーワード** 鉄, 鉄全量, フレーム原子吸光法, 共同試験

## 1. はじめに

植物にとって鉄は、光合成に必要な葉緑素の生成を担い重要な成分となっている。また、肥料中の鉄は特殊肥料の含鉄物に含まれているほか、肥料の材料として酸化鉄や硫酸鉄等が使用されている。さらに、鋳物、鋳さい、動物性たん白質、汚泥等の原料由来も考慮すると、幅広い種類の肥料に鉄が含まれている。

農林水産省農蚕園芸局長通知<sup>1)</sup>により含鉄物(特殊肥料)中の鉄全量の定量は、旧公定法の肥料分析法<sup>2)</sup>に従うこととされている。それ以外の肥料についても肥料生産業者による肥料中の鉄全量の品質管理のために肥料分析法が利用されているが、肥料等試験法(2023)<sup>3)</sup>には鉄全量の分析方法の定めがなかった。このため、令和6年度に、松尾<sup>4)</sup>が肥料分析法の前処理方法を改良した鉄全量のフレーム原子吸光法の開発及び単一試験室の妥当性確認(SLV:Single Laboratory Validation)を実施し、肥料等試験法(2024)<sup>5)</sup>に新たに収載された。

今回、本法について、国際的に標準とされる室間共同試験を実施し、その結果を肥料等試験法附属書A<sup>6)</sup>が示す性能規準の1つである精度で評価し、妥当性を確認(HCV:Harmonized Collaborative Validation)したので、その概要を報告する。

## 2. 材料及び方法

### 1) 均質性確認用試料及び共同試験用試料の調製

試料は、肥料として市場に流通している含鉄物、指定混合肥料、汚泥肥料、化成肥料、鋳さいけい酸質肥料各1点の計5点を選定した。各肥料の特徴は、含鉄物は褐鉄鋳を主体とした肥料、指定混合肥料は主要原料に含鉄物(製鋼鋳さい)及び家畜ふん堆肥を使用した肥料、汚泥肥料は主要原料に鉄系凝集促進材を使用したし尿汚泥を使用した肥料、化成肥料は有機入り化成肥料、鋳さいけい酸質肥料は製鋳鋳さいを主体とした肥料である。これらの肥料は、肥料生産業者等が品質管理を目的として肥料分析法による鉄全量の分析実績のある肥料の種類であり、鉄全量含有量及び原料の種類構成が偏らないように選定した。

各肥料の粉砕方法は、肥料等試験法(2024)に従い、含鉄物、指定混合肥料及び鋳さいけい酸質肥料は振動ミル型粉砕機(TI-100;HEIKO)により粉砕し目開き 212  $\mu\text{m}$  の網ふるいを通過させ、それ以外の肥料は遠心型粉砕機(ZM200;Retsch)により目開き 500  $\mu\text{m}$  のスクリーンを通過するまで粉砕し、均質になるように混合した。粉砕した肥料はネジ式ポリ容器に約 1.9 g を充填し、これを各肥料につき 44 個、合計で 220 個(5種類×44個)を調製して分析用試料とした。なお、各分析用試料の充填量(約 1.9 g)は、本法で規定する採取量(1 g)を2回採取できない量とした。

これらの識別した5種類の肥料の分析用試料には、Microsoft Excel 2016で作成した乱数に基づき、1から220まで無作為に番号を付与し、さらに乱数を用いて無作為に各10個の分析用試料を抽出し、均質性確認用

<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

試料とした。次に、5種類の肥料から無作為に各2個抽出し、非明示2反復の計10個の分析用試料を一試験室に送付する共同試験用試料とし、参加試験室数に必要な試料数を準備した。

均質性確認用試料の均質性を確認した後、共同試験用試料を共同試験参加試験室に送付した。

また、参加試験室において共同試験実施前に分析手順を確認するための試料(以下、「分析手順確認用試料」という。)として、共同試験用試料とは別銘柄の汚泥肥料(し尿汚泥を乾燥したもの)を選定し、上記と同様に粉砕、混合し、ネジ式ポリ容器に約5gを充填した。分析手順確認用試料は濃度を明示して共同試験参加試験室に送付した。

(共同試験参加試験室)

- ・ 株式会社兵庫分析センター
- ・ 株式会社古田産業
- ・ 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 肥料検査課
- ・ 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 肥飼料検査課
- ・ 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 肥飼料検査課
- ・ 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 肥料検査課
- ・ 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 肥料検査課
- ・ 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 肥料鑑定課
- ・ パリノ・サーヴェイ株式会社
- ・ 南九州化学工業株式会社

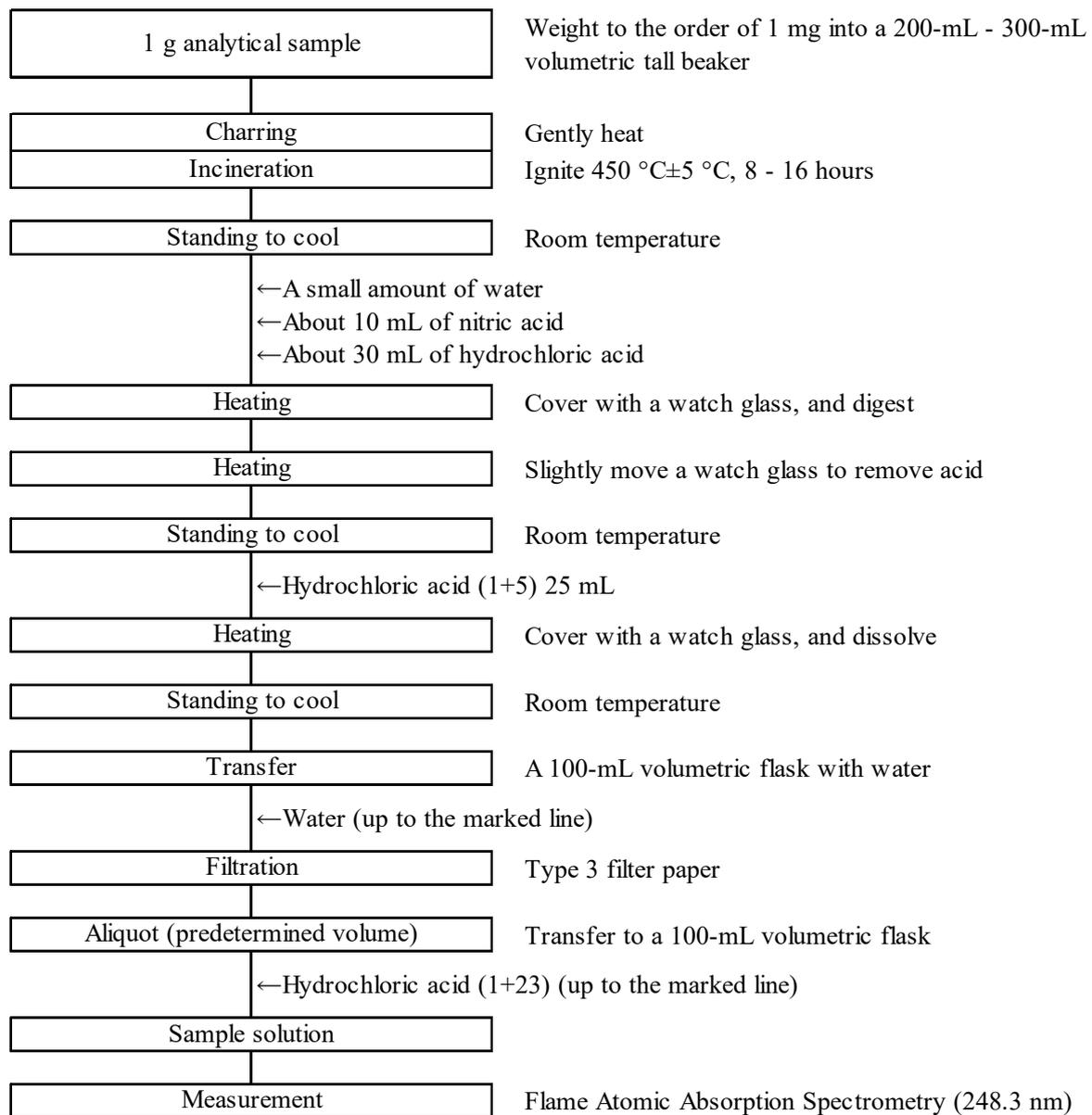
(50音順)

## 2) 装置及び器具

各試験室に設置している化学天秤、電気炉、ホットプレート等及びフレーム原子吸光分析装置を使用した。

## 3) 分析方法

肥料等試験法(2024) 4.13.1 鉄全量 4.13.1.a フレーム原子吸光法により測定した。なお、参考のため、本法のフローシート(Scheme)を示した。



Scheme Flow sheet for measuring total iron in fertilizer

#### 4) 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル(2006)<sup>7)</sup>に従い, **1)**により抽出した均質性確認用試料 50 個(5 種類×10 個)について各試料につき 2 点併行で分析した. なお, 各試料は, 本法が規定する採取量を 2 回採取できない量が容器に充填されているため, 試験時には 0.9 g を採取した.

#### 5) 共同試験

共同試験に参加した 12 試験室の各試験室で使用した原子吸光分析装置の型式等は Table 1 のとおりであり, それぞれの試験室に **1)**により調製された計 10 試料(5 種類, 非明示 2 反復), 分析手順確認用試料 1 点及び試験実施要領を配付し, 各試験室において 2024 年 8 月 13 日~2024 年 10 月 31 日の期間, **3)**の分析方法に従って分析した. 各試験室への指示事項として, 各分析用試料の分析は 1 回とし, 再試験及び併行試験は

禁止した。また、肥料の鉄全量に関する数値は%(質量分率)として表記されることから、分析値は%(質量分率)で報告することとし、1%以上の場合は小数第3位を四捨五入して小数第2位まで、1%未満の場合は小数第4位を四捨五入して小数第3位までの報告を求めた(例:12.345% → 12.35%, 1.2345% → 1.23%, 0.1234% → 0.123%)。

Table 1 Equipment used

Lab ID <sup>a)</sup>	Model of atomic absorption spectrometer
A	Thermo Fisher Scientific, iCE 3300
B	Thermo Fisher Scientific, iCE 3300
C	HITACHI, Z-2310
D	SHIMADZU, AA-6200
E	SHIMADZU, AA-7000
F	Agilent, 240FS AA
G	HITACHI, Z-2310
H	SHIMADZU, AA-7000
I	HITACHI, Z-2310
J	HITACHI, ZA3000
K	HITACHI, ZA3300
L	HITACHI, ZA3300

a) Laboratory identification (random order)

### 3. 結果及び考察

#### 1) 共同試験用試料の均質性確認

5種類の分析用試料を2点併行で分析した鉄全量の総平均値( $\bar{x}$ ), 一元配置分散分析の結果から算出した併行標準偏差( $s_r$ )及び試料間標準偏差( $s_{bb}$ )をTable 2に示した。さらに、肥料等試験法附属書A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( $\hat{\sigma}_R$ )を同じくTable 2に示した。なお、算出した各統計量は共同試験の報告値の表示桁となるように四捨五入して表示した。

均質性の判定は、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、分析結果の等分散性を確認するため、Cochranの検定を実施した。その結果、すべての試料において外れ値は認められなかったため、これらの分析結果について一元配置分散分析を実施し、併行標準偏差( $s_r$ )及び試料間標準偏差( $s_{bb}$ )を求めた。併行標準偏差( $s_r$ )を評価したところ、全ての試料で判定式(式2)を満たしていたことから、均質性確認試験に用いた分析法の併行精度に問題はないことが確認された。次に、IUPAC/ISO/AOACの技能試験プロトコルの十分に均質の判定式(式3)を用いて均質性の判定を行った。その結果、全ての試料で判定式(式3)を満たしていたことから、共同試験用試料として妥当な均質性を有していることが確認された。

$$\hat{\sigma}_R = CRSD_R \times \bar{x} / 100 \quad \dots (式 1)$$

$$s_r < 0.5\sigma_p = 0.5\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 2)$$

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 3)$$

$\hat{\sigma}_R$  : 室間再現精度の目安 ( $CRSD_R$ ) から算出した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

Table 2 Homogeneity test results

Sample	No. of Sample	$\bar{x}$ <sup>a)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$CRSD_R$ <sup>c)</sup> (%)	$\hat{\sigma}_R$ <sup>d)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$s_r$ <sup>e)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$0.5\hat{\sigma}_R$ <sup>f)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$s_{bb}$ <sup>g)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$0.3\hat{\sigma}_R$ <sup>h)</sup> (%) <sup>b)</sup>
Iron-containing substances	10	36.07	2.5	0.90	0.14	0.45	0 <sup>i)</sup>	0.27
Designated mixed fertilizer	10	11.59	3	0.35	0.12	0.17	0.05	0.10
Sludge fertilizer	10	6.13	4	0.25	0.07	0.12	0 <sup>i)</sup>	0.07
Compound fertilizer	10	0.306	6	0.018	0.002	0.009	0.001	0.006
Slag silicate fertilizer	10	0.856	6	0.051	0.010	0.026	0.010	0.015

a) Grand mean value ( $n=10 \times$  number of repetition(2))

b) Mass fraction

c) Criteria of precision for Reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2024

d) The estimated standard deviation of reproducibility calculated based on  $CRSD_R$

e) Repeatability standard deviation

f) Parameters for the determination of repeatability standard deviation ( $s_r$ )

g) Standard deviation of sample-to-sample

h) The value for the test :  $s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R$

i) When the variance between groups < the variance within a group,  $s_{bb}^2$  was considered as 0

## 2) 共同試験結果及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験結果を Table 3 に示した。試験室 F は、分析操作をトルビーカーで実施すべきところ、磁製蒸発皿で実施したとの報告があり、**2. 3)** の分析方法及び実施要領と異なる手順により分析された結果であることから、外れ試験室として以降の統計解析には用いないこととした。

試験室 D より含鉄物及び指定混合肥料について、分析操作の失敗 (分析試料を灰化、王水分解後、塩酸 (1+5) での加熱・溶解時に高温で加熱したため分解溶液が突沸し、トルビーカーから飛散) により測定ができなかった結果各 1 点が報告されたため、これと対になる試験結果と共に異常値として除外した。

外れ試験室及び異常値を除外後、含鉄物及び指定混合肥料は 10 試験室、その他の肥料は 11 試験室の結果について IUPAC の共同試験プロトコル<sup>8)</sup> 及び AOAC の室間共同試験ガイドライン<sup>9)</sup> に従って統計処理した。分析結果の外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定 (Single Grubbs 検定及び Paired Grubbs 検定) を実施した。その結果、指定混合肥料では 10 試験室のうち 1 試験室、化成肥料では 11 試験室のうち 2 試験室、鉍さいけい酸質肥料では 11 試験室のうち 2 試験室が外れ値として判定された。なお、各検定での外れ値として除外する試験室数は検定開始時の試験室数の  $2/9$ <sup>9)</sup> 以内であり、それ以上に外れ値と判定された試験室はなかった。

Table 3 Individual results of total iron

(w/w %)

Lab ID <sup>a)</sup>	Iron-containing substances		Designated mixed fertilizer		Sludge fertilizer		Compound fertilizer		Slag silicate fertilizer	
A	36.24	36.02	11.80	11.52	6.25	6.36	0.307	0.315	0.886	0.865
B	36.57	36.89	10.59	10.98	6.05	5.76	0.259 <sup>f)</sup>	0.250 <sup>f)</sup>	0.869 <sup>d)</sup>	0.790 <sup>d)</sup>
C	35.77	35.75	11.24	11.49	6.19	6.26	0.325	0.322	0.858	0.849
D	34.87 <sup>c)</sup>	— <sup>c)</sup>	— <sup>c)</sup>	11.86 <sup>c)</sup>	6.13	6.34	0.297	0.287	0.850	0.858
E	36.16	36.37	11.75	11.81	6.45	6.48	0.333	0.339	0.883	0.874
F <sup>b)</sup>	31.36	32.02	9.99	11.20	4.62	6.41	0.284	0.297	0.587	0.695
G	36.02	35.94	11.30	11.30	6.29	6.31	0.353	0.340	0.870	0.891
H	34.30	34.95	10.96	10.87	5.98	6.14	0.222 <sup>f)</sup>	0.226 <sup>f)</sup>	0.817 <sup>e)</sup>	0.783 <sup>e)</sup>
I	36.18	35.69	11.13 <sup>d)</sup>	10.30 <sup>d)</sup>	6.28	6.21	0.328	0.332	0.890	0.893
J	35.58	35.81	11.28	11.42	6.19	6.37	0.327	0.320	0.888	0.884
K	36.02	36.06	11.26	11.33	6.11	6.13	0.329	0.324	0.872	0.889
L	35.80	35.39	11.35	11.28	6.40	6.24	0.319	0.310	0.850	0.860

a) Laboratory identification (random order)

b) Not Adopted the result for flaw of analytical procedure

c) Invalid datas that were removed due to failure of the operation

d) Outlier of Cochran test

e) Outlier of Single grubbs test

f) Outlier of Paired grubbs test

### 3) 併行精度及び室間再現精度

外れ値を除外した分析値から算出<sup>8, 9)</sup>した鉄全量の平均値, 併行標準偏差( $s_r$ )及び併行相対標準偏差( $RSD_r$ )並びに室間再現標準偏差( $s_R$ )及び室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )を Table 4 に示した. なお, 標準偏差は平均値の表示桁, 相対標準偏差は小数第 1 位となるように四捨五入して表示した.

鉄全量の平均値は 0.323 % (質量分率) ~ 35.88 % (質量分率) であり, その併行標準偏差( $s_r$ )は 0.006 % (質量分率) ~ 0.23 % (質量分率), 併行相対標準偏差( $RSD_r$ )は 0.6 % ~ 1.7 %, 室間再現標準偏差( $s_R$ )は 0.016 % (質量分率) ~ 0.57 % (質量分率), 室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )は 1.6 % ~ 5.0 % であった.

肥料等試験法附属書 A に, 濃度レベルごとに精度の目安が示されている. この精度の目安は, 肥料等試験法の性能評価結果より整理され, 肥料等試験法の有識者検討会において協議・承認されたものである. その許容範囲は, AOAC の室間共同試験ガイドライン<sup>9)</sup>を参考に, 目安の 2.0 倍までとしている.

本共同試験の結果, いずれの併行相対標準偏差( $RSD_r$ )及び室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )も, 肥料等試験法 附属書 A の妥当性確認の手順に示されている各濃度レベルにおける精度の許容範囲内であることから, 本法の精度は肥料等試験法の性能規準に適合していることを確認した.

Table 4 Statistical analysis of Collaborative study results

Sample	Labs $p(q)^{a)}$	Mean <sup>b)</sup> (%) <sup>c)</sup>	$s_r^{d)}$ (%) <sup>e)</sup>	$RSD_r^{e)}$ (%)	$2*CRSD_r^{f)}$ (%)	$s_R^{g)}$ (%) <sup>e)</sup>	$RSD_R^{h)}$ (%)	$2*CRSD_R^{i)}$ (%)
Iron-containing substances	10 (0)	35.88	0.23	0.6	2	0.57	1.6	5
Designated mixed fertilizer	9 (1)	11.31	0.14	1.2	3	0.33	2.9	6
Sludge fertilizer	11 (0)	6.22	0.10	1.7	4	0.17	2.7	8
Compound fertilizer	9 (2)	0.323	0.006	1.7	6	0.016	5.0	12
Slag silicate fertilizer	9 (2)	0.873	0.009	1.1	6	0.016	1.8	12

a) Number of laboratories, where  $p$ =number of laboratories retained after outlier removed and  $(q)$ =number of outliers

b) Grand mean value of the results of duplicate sample which were reported from laboratories retained after outlier removed ( $n$ =The number of laboratories( $p$ )×The number of repetition(2))

c) Mass fraction

d) Standard deviation of repeatability

e) Repeatability relative standard deviation

f) Criteria of repeatability relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2024

g) Standard deviation of reproducibility

h) Reproducibility relative standard deviation

i) Criteria of reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2024

#### 4. まとめ

肥料等試験法に収載された鉄全量のフレイム原子吸光法について、12 試験室で各 10 個 (5 種類×2 個) の試料を用い室間共同試験による妥当性確認 (HCV: Harmonized Collaborative Validation) を実施した。

その結果、平均値 0.323 % (質量分率) ~ 35.88 % (質量分率) の範囲でその室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) は 1.6 % ~ 5.0 % であった。共同試験結果の併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) 及び室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) は、肥料等試験法附属書 A の妥当性確認の手順に示されている各濃度レベルにおける精度の許容範囲内であった。

本法は、既に単一試験室による妥当性確認 (SLV: Single Laboratory Validation) がされていることから、肥料等試験法における試験法分類 Type B (HCV 及び SLV の結果が肥料等試験法附属書 A の要求事項を満たした試験法) に適合していることを確認した。

#### 謝 辞

共同試験にご協力いただいた株式会社兵庫分析センター、株式会社古田産業、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、パリオ・サーヴェイ株式会社及び南九州化学工業株式会社の各位に謝意を表します。

#### 文 献

- 1) 農林水産省農蚕園芸局長通知: 肥料取締法に基づく告示の一部改正に伴う措置等について (通知): 昭和 60 年 1 月 21 日, 60 農蚕第 54 号, 最終改正令和 2 年 12 月 1 日, 2 消安第 3846 号 (2020)  
< <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/60n54.pdf> >
- 2) 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)

- 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 (2023)  
< [http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo/shikengo\\_2023.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo/shikengo_2023.pdf) >
- 4) 松尾信吾: 肥料中の鉄全量の測定方法の開発, 肥料研究報告, **17**, 36 ~49 (2024)
- 5) 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 (2024)  
< [http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo/shikengo\\_2024.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo/shikengo_2024.pdf) >
- 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 (2024) 附属書 A  
< [http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo/shikengo\\_2024\\_fuzokusho\\_A.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikengo/shikengo_2024_fuzokusho_A.pdf) >
- 7) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78**(1), 145~196 (2006)
- 8) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67**(2), 331~343 (1995)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)

## Development of Determination Method for Measuring Total Iron in Fertilizers - Harmonized Collaborative Validation -

HIROI Toshiaki<sup>1</sup>, TANAKA Yudai<sup>1</sup> and YOSHIMURA Hidemi<sup>1</sup>

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

The performance of the determination of total iron in fertilizers using flame atomic absorption spectrometry as described in Testing Methods for Fertilizers 2024 has confirmed in a single laboratory. To evaluate performance of the total iron determination method in fertilizers, we conducted a collaborative study based on an internationally harmonized protocol. We sent 5 materials, respectively, to 12 collaborators. They analyzed these materials as blind duplicates. After identification of outliers with Cochran test and Grubbs test, the mean values and the reproducibility relative standard deviation ( $RSD_R$ ) of determination of total iron were reported 0.323 % - 35.88 % as a mass fraction and 1.6 % - 5.0 %, respectively. These results indicated that this method has an acceptable precision for determination of the total iron in these concentration ranges. In conclusion, those results demonstrated the validity of the methods for the total iron in fertilizers.

*Key words* iron, total iron, flame atomic absorption spectrometry, harmonized collaborative validation

(Research Report of Fertilizer, **18**, 1-9, 2025)