

12 モリブデン試験法の性能調査

—チオシアン酸ナトリウム吸光光度法—

八木啓二¹, 豊留夏紀¹, 鈴木時也², 添田英雄¹

キーワード クライテリア・アプローチ, モリブデン, チオシアン酸ナトリウム吸光光度法,
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³⁾に収載されている試験法のうち, 効果発現促進材として使用量を表示する⁵⁾水溶性モリブデン (W-Mo) のチオシアン酸ナトリウム吸光光度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モリブデ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 のとおり試薬を混合し, モリブデン (Mo) として質量分率 0.002 % ~ 54.34% 含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 分光光度計: 島津製作所 紫外可視分光光度計 UVmini-1240
- (2) 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

² 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 (現) 肥飼料安全検査部

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
りん酸水素二カリウム	JIS K9017 特級		
塩化カリウム	JIS K8121 特級	塩化加里	塩加
七モリブデン酸六アンモニウム 四水和物	JIS K8905 特級	効果発現促進材	
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 試験に用いた水溶性モリブデン試料の配合割合 (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	
	Mo-2.5	Mo-0.1	Mo-0.02	Mo-0.002
硫酸アンモニウム	20	10	10	5
尿素		10	10	
りん酸水素二カリウム	14	10	10	3
塩化カリウム			10	
七モリブデン酸六アンモニウム 四水和物	4.64	0.185	0.037	0.0037
グルコース	51.36	59.815	49.963	
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	1.9963
水				90
Mo含有量	2.5	0.1	0.02	0.002

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) 硫酸：JIS K 8951 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

(3) 過塩素酸：JIS K 8223 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

(4) 硫酸鉄(Ⅲ)溶液：JIS K 8981 に規定する硫酸鉄(Ⅲ) 5 g を硫酸(1+1) 約 10 mL 及び適量の水に溶かし、更に水を加えて 100 mL とした。

(5) チオシアン酸ナトリウム溶液：JIS K 9002 に規定するチオシアン酸ナトリウム 50 g を水に溶かして 500 mL とした。

(6) 塩化すず(Ⅱ)溶液：JIS K 8136 に規定する塩化すず(Ⅱ) 二水和物 50 g を塩酸(1+1) 200 mL に加温して溶かしたのち、水を加えて 500 mL とし、JIS K 8580 に規定する少量の粒状すずを加えて着色瓶に貯蔵した。

(7) モリブデン標準液(1 mg/mL)：酸化モリブデン(VI)をデシケーター中に約 24 時間放置して乾燥した後、1.500 g ひょう量皿にとった。少量の水で溶かし、全量フラスコ 1,000 mL に移し入れ、JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 5 g を加えて溶かし、標線まで水を加えた。

(8) モリブデン標準液(0.01 mg/mL): モリブデン標準液(1 mg/mL)の一定量を水で正確に 100 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

水溶性モリブデン(W-Mo)の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法³⁾の試験方法を用いた。なお、参考のため、試験法のフローシート(図 1)を示した。

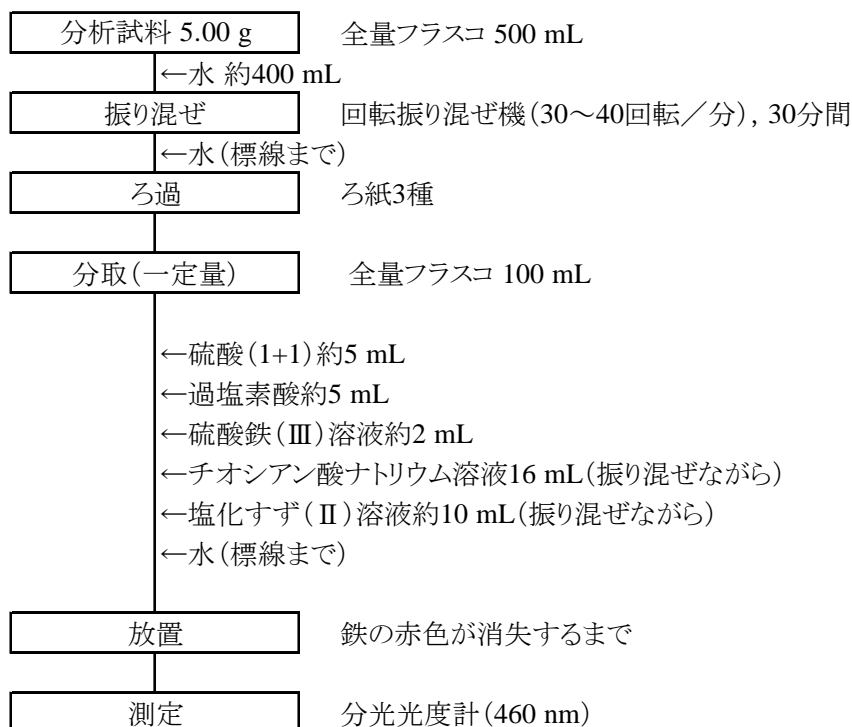


図1 肥料中の水溶性モリブデン試験法フローシート

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
水溶性モリブデン(W-Mo)	4.14.1.a チオシアン酸ナトリウム吸光光度法	(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七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中のモリブデンの含有量

試料の調製に用いた七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中のモリブデンの含有量を肥料等試験法(水溶性モリブデン)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質量分率 99.2 % であり、その相対標準偏差は 0.43 % 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 試料の調製に用いた七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中の水溶性モリブデンの測定値

試料	理論値 ¹⁾	平均値 ²⁾	標準偏差	理論値に対 する割合 ³⁾	相対標準偏差
	(%) ⁴⁾	(%) ⁴⁾	(%) ⁴⁾	(%)	(%)
七モリブデン酸六アンモニウム 四水和物(W-Mo)	54.34	53.93	0.23	99.2	0.43

1) 七モリブデン酸六アンモニウム四水和物中のモリブデン(Mo)理論値

2) 水溶性モリブデン(Mo)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)を用いて 3 点併行で水溶性モリブデン(W-Mo)の試験を実施した成績を表 5 に示した。

農林水産省告示⁵⁾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。よって、水溶性モリブデン(W-Mo)の設計値と試験法の測定値の差について算出した。水溶性モリブデン(W-Mo)として質量分率 0.1 % 及び 2.5 % 含有する試料について測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0.001 %, 0.01 % であり、設計値に対する回収率は、100.2 %, 100.8 % であった。このことから、この試験法は、普通肥料(家庭園芸用肥料以外)の水溶性モリブデン(W-Mo)の使用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、AOAC⁶⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度 1 % で 92 % ~ 105 %, 0.1 % で 90 % ~ 108 % であり、参考のため比較したところモリブデン(Mo)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中のモリブデン(Mo)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⁾ (%)
W-Mo	Mo-2.5	2.5	2.51	0.01	0.2	100.2	0.01	0.4
	Mo-0.1	0.1	0.101	0.001	0.8	100.8	0.002	1.6

1) 試料中のモリブデン(Mo)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)を用いて 7 点併行で水溶性モリブデン(W-Mo)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⁷⁾。

Mo-0.02 の結果から、粉状試料の定量下限値は質量分率 0.006 % 程度、検出下限値は質量分率 0.003 % 程度であると推定した。なお、AOAC⁶⁾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 0.01 % で 85 % ~ 110 % であり、Mo-0.02 の水溶性モリブデン(W-Mo)の回収率は許容範囲であった。

また、Mo-0.002 の結果から、液状試料の定量下限値は質量分率 0.0006 % 程度、検出下限値は質量分率 0.0003 % 程度であると推定した。なお、AOAC⁶⁾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、Mo-0.002 の水溶性モリブデン(W-Mo)の回収率は許容範囲内であった。

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 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⁾
W-Mo	Mo-0.02	0.02	0.0202	0.0006	0.006	0.003
W-Mo	Mo-0.002	0.002	0.00171	0.00006	0.0006	0.0003

1) 試料中のモリブデン(Mo)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⁸⁾のうち該当する試験法で実施された成績⁹⁾を適用することとし、それらの成績を表 7 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。

水溶性モリブデン(W-Mo)の中央値が質量分率 0.210 % で、その NIQR は質量分率 0.010 %、その室間再現相対標準偏差は 4.7 % であった。また、水溶性モリブデン(W-Mo)の試験成績の HorRat 値は 0.92 であった。

なお、AOAC⁶⁾における濃度レベル質量分率 1 % 及び 0.1 % における室間再現精度の目安は 4 % 及び 6 % であり、参考のため比較したところ水溶性モリブデン(W-Mo)の室間再現相対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⁾
W-Mo	液状複合肥料	2012	52	0.210	0.010	4.7	5.1	0.92

1) 中央値

2) 質量分率

3) ロバスト標準偏差(NIQR)

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

水溶性モリブデン(W-Mo)のチオシアン酸ナトリウム吸光光度法の真度、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) 水溶性モリブデン(W-Mo)として質量分率0.1%及び2.5%含有する試料について測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率0.001%、0.01%であり、設計値に対する回収率は、100.2%、100.8%であった。

(2) 水溶性モリブデン(W-Mo)として質量分率0.02%に調製した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、質量分率0.006%及び0.003%程度と推定された。また、水溶性モリブデン(W-Mo)として質量分率0.002%に調製した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、質量分率0.0006%及び0.0003%程度と推定された。

(3) 外部精度管理試験より室間再現精度を調査したところ、水溶性モリブデン(W-Mo)は、中央値が質量分率0.210%でそのロバスト標準偏差(NIQR)は質量分率0.010%、その室間再現相対標準偏差は4.7%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効果発現促進材として使用量を表示する水溶性モリブデン(W-Mo)の含有量を評価することができる性能を有していることを示しており、クライテリア・アプローチのガイドラインの水溶性モリブデン(W-Mo)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) 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26年9月1日, 農林水産省告示第1148号(2014)
- 6) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
- 7) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 8) 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」)
- 9) 舟津正人, 渡辺絵里菜, 阿部 進, 白井小枝, 稲葉茂幸, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志: 2012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, **6**, 61～83 (2013)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Water-soluble Molybdenum Content in Fertilizer by Sodium Thiocyanate Absorptiometric Analysis

Keiji YAGI¹, Natuki TOYODOME¹, Tokiya SUZUKI² and Hideo SOETA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

We verified performance characteristics of testing methods for water-soluble molybdenum (W-Mo) by sodium thiocyanate absorptiometric analysis 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 % ~ 2.5 % water-soluble molybdenum which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 100.2 % ~ 100.8 %. 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 0.006 % and 0.0006 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, medians, normalize interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of water-soluble molybdenum obtained by proficiency testings were 0.210 %, 0.010 % and 4.7 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of water-soluble molybdenum.

Key words criteria approach, molybdenum, sodium thiocyanate absorptiometric analysis,
Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, 7, 138~144, 2014)