肥料等試験法の附属書

肥料等試験法（2025）の改正に当たり日本産業規格（JIS）の例にならい、情報量が大きい等の理由により個別の試験法に挿入しにくい内容を附属書として、次の記述内容を整理した。

なお、附属書で規定する場合は（規定）と表記し、附属書が参考内容の場合（参考）と表記した。

附属書 A（規定） 試験法の妥当性確認の手順

肥料等試験法に収載しようとする試験法の妥当性を確認するための手順を附属書 A（規定）に示した。

附属書 B（参考） 主成分等の抽出操作の一覧

主成分等の抽出操作は同じものがあり、その抽出した試料溶液は他の成分にも適用できる場合がある。このため、抽出操作が同じものが分かるように一覧として附属書 B（参考）に示した。

附属書 C1（参考） ICP 発光分光分析法における検量線濃度範囲の一覧

附属書 C2（参考） ICP 質量分析法における検量線濃度範囲の一覧

ICP 発光分光分析装置又は ICP 質量分析計を用いた同時分析における混合標準液の調製時に各成分の調製濃度等が分かるように附属書 C1（参考）又は附属書 C2（参考）に示した。

附属書 D1（参考） 可溶性硫黄の試験法に用いる IC カラムの例

同じ官能基を持つカラムにおいても型式によって官能基の結合状態、架橋度などが異なる。測定目的のイオンを分離するためそのカラムに適した測定条件（移動相（溶離液）組成、グラジエントなど）を用いている。このことから、共同試験等で妥当性が確認された測定条件の一覧を附属書 D1（参考）に示した。

附属書 D2（参考） 有機ふっ素化合物の試験法に用いる測定条件例

同じ官能基を持つカラムにおいても型式によって官能基の結合状態、架橋度などが異なる。測定目的のイオンを分離するためそのカラムに適した測定条件（移動相（溶離液）組成、グラジエントなど）を用いている。このことから、共同試験等で妥当性が確認された測定条件の一覧を附属書 D2（参考）に示した。

A

(**1**)

本項は、肥料等試験法に収載しようとする試験法の妥当性を確認するための手順を示すものである。なお、肥料等試験法以外の方法によって試験を実施しようとする各試験機関がその試験法の妥当性を評価するための手順も本項に規定する方法に準じる。

また、この項目は化学的試験法を対象とする。

1. 有効態(可溶性、く溶性及び水溶性)の成分は農林水産省告示において規定されている。また、全量においても、抽出温度等の抽出条件を変更することにより測定値に影響することがあることから、抽出方法(抽出液の精製等も含む)の変更を行う場合には元となる抽出条件との比較ができる場合に限る。

(**2**) 1 2 3 4 5 6 7

本項目において、用語の定義は次のとおりとする。

a) 試料中に存在すると考えられる物質の存在下で、分析対象成分を正確に測定する能力。

b) 複数の測定結果から得られた平均値と、真の値(1)との一致の程度。

c) 定められた条件の下で繰返された独立な測定結果の間の一致の程度(又はばらつきの程度)。

d) 同一と見なされる分析試料の測定において、同じ方法を用い、同じ試験室で、同じオペレータが、同じ装置を用いて、短時間のうちに独立な測定結果を得る条件(併行条件)による測定結果の精度。

e) 同一と見なされる分析試料の測定において、同じ方法を用い、同じ試験室で、異なる要因(異なる時間、異なるオペレータ等)において独立した試験結果を得る条件(中間条件)による測定結果の精度。

f) 同一と見なされる分析試料の測定において、同じ方法を用い、異なる試験室で、異なるオペレータが、異なる装置を用いて独立した測定結果を得る測定の条件(室間再現条件)による測定結果の精度。

g) **LOQ** 試料に含まれる分析対象成分の定量可能な最低量又は最小濃度。

h) **LOD** 試料に含まれる分析対象成分の検出可能な最低量又は最小濃度。

i) 一つ以上の規定特性について、十分均質、かつ、安定であり、測定プロセスでの使用目的に適するように作成された物質。

j) 一つ以上の規定特性について、計量学的に妥当な手順によって値付けされ、規定特性の値及びその不確かさ、並びに計量学的トレーサビリティを記載した認証書がついている標準物質。

k) 分析対象成分を含まない分析用試料(2)。

l) 分析対象成分含有量既知の分析用試料又は標準物質を添加(3)(4)若しくは調合(3)した分析用試料。

m) 有害成分等の分析対象成分を自然に含有している肥料から調製した分析用試料。

n) 肥料生産工場等で製造された肥料(5)から調製した分析用試料。

o) 試料の前処理操作、測定操作の各段階における収率の補正、回収率の確認などのために添加される、目的成分と化学構造が同じ、又は類似した物質。

p) SN　分析目的に由来する信号(応答値)S と、それ以外の要因に基づく信号(通常はノイズ)N との強度比。

(**1**) 現実には認証標準物質の認証値、化合物の化学的組成、標準物質等の添加量等。
(**2**) 回収試験、定量下限の確認等のためのブランク試料に用いる流通肥料がない場合は、目的とするマトリックスを含有している試薬等を用いてもよい。
(**3**) 乳鉢等で混合し、分析対象成分を十分に均質にする。
(**4**) 標準液を添加した場合は、一夜放置する等の措置を実施して溶媒を十分に揮散させる。
(**5**) 化学的又は物理的(造粒工程等)工程により、生成又は形態が変化した分析対象成分を含む肥料など。

(**3**)

(3.1)～(3.8)の必要な項目を計画的に試験し、得られた結果から試験の性能パラメータを推定する。

推定した性能パラメータの値が、それぞれの目標値(性能規準)に適合しているかを確認して、適合している場合は妥当性確認された試験法として評価する。

(**3.1**)

単一試験室の妥当性確認試験及び共同試験を実施し、室間再現精度まで適合した試験法は、試験に用いた肥料の種類及び濃度範囲において妥当性確認された試験法とする。よって、当該試験を実施する試験室は、内部品質管理等を実施することにより妥当性確認された方法としてその性能(再現精度等)を用いることができる。

単一試験室の妥当性確認試験を実施し、真度、併行精度、中間精度等が適合した試験法は、その試験を実施した試験室及び試験に用いた肥料の種類、濃度範囲に限定し、妥当性確認された試験法とする。よって、この試験法を導入したい他の試験室は、試験法の単一試験室の妥当性確認を新たに実施する必要がある。

(**3.2**)　[8] [9] [10] [11]

(**3.2.1**)

ブランク試料について操作を行い、分析対象成分の定量に影響するピーク(妨害ピーク)がないこと[(6)]を確認する。また、多成分同時測定の場合は隣接するピークが十分に分離すること[(6)]を確認する。

(**6**) 分離度(*R*)は、1.5 以上が望ましいが、最低 1.0 以上であること。

2. ピークの分離指標として分離度(*R*)が用いられる。分離度(*R*)1.5 以上であれば、近接する二つのピークは十分に分離しており、ピーク高さ及びピーク面積いずれを用いても定量に影響しない。分離度(*R*)1.0 以上であれば、近接する二つのピークはいくらか重なりはあるものの、ピーク高さを用いる方法で定量する場合問題とならない。

分離度(*R*)は、ピーク幅を用いて、(1a)式によって求められる。なお、ピークが正規分布であれば、ピーク半値幅を用いて、(1b)式によって求められる。クロマトグラフのデータ処理装置では、分離度(*R*)に(1b)式が用いられている場合が多い。

$$\text{分離度}(R) = \frac{t_2 - t_1}{\frac{1}{2} \times (W_1 + W_2)} \quad \cdots(1a)$$

$$\text{分離度}(R) = \frac{1.18 \times (t_2 - t_1)}{\left(W_{\frac{1}{2},1} + W_{\frac{1}{2},2}\right)} \quad \cdots(1b)$$

t_1: ピーク 1 のリテンションタイム　　t_2: ピーク 2 のリテンションタイム
W_1: ピーク 1 のピーク幅　　W_2: ピーク 2 のピーク幅
$W_{\frac{1}{2},1}$: ピーク 1 の半値幅　　$W_{\frac{1}{2},2}$: ピーク 2 の半値幅

(**3.2.2**) [7]

ブランク試料について操作を行い、分析対象成分以外に由来した応答で、かつ定量値の正の誤差要因になり得る応答(8)がないことを確認する。

(**7**) 吸光光度法、原子吸光法、滴定法等で測定機器において分離を行わない方法。
(**8**) 吸光度、滴定値等をいう。

(**3.3**) [8] [12] [13]

6～8 水準の濃度又は含量(9)の各検量線用標準液を 2～3 回測定(10)し、得られたシグナル(11)を分析対象成分の濃度又は含量の関数としてプロットした図を用いて視覚的に直線性を評価する。

直線関係が認められる場合には、最小二乗法による回帰式の計算などの統計学的手法を用いて、検量線の傾き(b)、切片(a)及びその信頼区間及び決定係数(r^2)を算出する。更に各水準における残差(12)をプロットする。

(**9**) 検量線用空試験溶液を含めてもよい。
(**10**) 感度の変化等による非線形的混乱を避けるため、測定は反復測定ごとにランダムな順序で行う。
(**11**) 吸光度、蛍光強度、ピーク高さ、ピーク面積等。
(**12**) 測定によって得られたシグナルと回帰式より推定したシグナルの差

3. 切片(a)の 95 %信頼区間に原点(0)が含まれていることを推奨する。

4. 決定係数(r^2)が 0.99 以上であれば使用可能であるが、精密な分析には 0.999 以上であることを推奨する。決定係数(r^2)が 0.99 未満である場合は、高次式を用いるか又は測定領域の変更を検討する。

5. 残差の平均値は 0 であり、残差はランダムなパターンを示す。

(**3.4**) [7] [8] [12] [14] [15]

真度を評価する方法として、①認証標準物質の利用(**3.4.1**)、②妥当性確認された方法による測定値との比較(**3.4.2**)、③回収試験(**3.4.3**)の順で推奨する。

なお、サロゲートを用いる場合は、その回収率がおよそ 40 %以上であることを推奨する。

(**3.4.1**)

試験対象の肥料に似たマトリックスを持ち、測定レベルの濃度の測定対象成分を含む認証標準物質が利用できる成分においては、その認証標準物質を試験法に従って 3 点以上(*n*)の併行試験を実施し、測定値の平均値と認証値(特性値)との差の絶対値が、測定値の平均値と認証値の各々の標準不確かさを合成した標準不確かさの 2 倍を超えないこと[13]。

(**13**) 測定の結果と認証値(特性値)との差の評価手順は **1** に示した。

(**3.4.2**)

認証標準物質が利用できず、かつ、妥当性の確認された試験法(以下「標準試験法」という。)が別にある成分においては、**a**)又は **b**)の条件を満足することを確認する。

a) **12** 12 点以上の添加試料、自然汚染試料又は流通試料を新たな試験法及び標準試験法に従ってそれぞれ試験を実施し、各試料の 2 方法の測定値の相関図を作成し、回帰直線の傾き(*b*)、切片(*a*)及び相関係数(*r*)を算出し、更に予測区間を確認する。

ただし、測定値の最小値と最大値の幅が小さい場合は、対応のある *t* 検定を実施して有意な差が認められないことを確認する。

6. 傾き(*b*)の 95 %信頼区間に 1 が含まれ、切片(*a*)の 95 %信頼区間に原点(0)が含まれ、相関係数(*r*)が 0.99 以上であることを推奨する。

b) 異なる 3 濃度以上の分析用試料について、新たな試験法及び標準試験法に従ってそれぞれ 4 点併行以上で試験を実施し、2 群の分析結果のばらつきが等分散であるか不等分散であるか判別し、それらに対応する *t* 検定を濃度毎に実施して両側有意水準 5 %で有意な差が認められないことを確認する。

(**3.4.3**)

異なる 3 濃度以上の試料について、それぞれ 3 点併行で試験を実施し得られた測定値の平均値を用いて回収率を求め、評価する。真度の目安は に示した。

(**3.5**) [8] [12] [16] [17]

共同試験(**3.5.1**)により室間再現精度及び併行精度を評価する。又は、単一試験室において日を変えての反復試験(**3.5.2**)により中間精度及び併行精度を評価する。

(**3.5.1**)

有効データを得る試験室数は 8 以上[14]とし、濃度の異なる 5 種類以上の試料について、非明示の 2 点併行により共同試験を実施する。得られた測定値から室間再現精度及び併行精度を求め[15]、評価する。

これらの精度を評価するための目安は に示した。

(**14**) 必要な設備・機器を所有している試験室が限定されている場合は 5 以上。

(**15**) 算出方法は **2** に示した。

(**3.5.2**)

規定する範囲を含む異なる 2 濃度の分析用試料を用いて、1 試験日につき 2 点併行で 5～7 日間試験[16]を実施する[17]。得られた測定値から中間精度及び併行精度を求め[18]、評価する。

これらの精度を評価するための目安は に示した。

(**16**) 内部品質管理のデータを用いることができる。

(**17**) 同一の試験者が 5～7 日間通して試験を実施する必要はない。

(**18**) 算出方法は **2** に示した。

(**3.6**) **LOQ** [7] [11]

(**3.6.1**)～(**3.6.3**)に従って定量下限(LOQ)を推定する。必要に応じて、推定された定量下限付近の濃度を含む分析用試料を段階的に調製し、それぞれ 3 点併行で試験を実施し、得られた測定値の平均値が真度の目標値に適合する濃度を定量下限とする。

7. 有害成分、制限成分等の定量下限(LOQ)は、含有許容量及びそれに準ずる水準が 1.0 mg/kg 以上の場合ではその 1/5 以下であり、1.0 mg/kg 未満の場合ではその 2/5 以下であること。また、主成分・主要な成分及び材料の成分の定量下限(LOQ)は、含有すべき最小量及び流通肥料中の含有最小量の 1/5 以下であることを推奨する。なお、定量下限(LOQ)がそれらの最小量の 1/5 を超える場合は、上記の併行試験を実施して定量下限を確認し、試験法の適用範囲にその旨を明記する。

8. 定量下限を推定するにはいくつかの方法があり、測定方法が機器分析であるか否か、使用する測定機器によって方法が異なる。(**3.6.1**)～(**3.6.3**)に示す方法とは異なる方法を用いても差し支えないが、その方法及びその方法における定量下限の定義を明記する。

(**3.6.1**)

定量下限付近の濃度の分析用試料について、それぞれ 7～10 点併行で試験を実施し、併行標準偏差を求め、(3)式によって試料中の定量下限(LOQ)を推定する。

$$\text{試料中の定量下限(LOQ)の推定値} = 10 \times s_r \quad \cdots(3)$$

s_r: 併行標準偏差

(**3.6.2**)

検量線が直線の場合は、検量線の残差又は推定した濃度ゼロにおけるシグナルの標準偏差と検量線の傾きを用いて、(4)式によって試料中の定量下限(LOQ)を推定する。

試料中の定量下限(LOQ)の推定値 $= \dfrac{10 \times s}{b}$ ・・・(4)

s: 残差の標準偏差又は回帰直線から推定した濃度ゼロにおけるシグナルの標準偏差
b: 検量線の傾き

(3.6.3) SN

クロマトグラフ法等のベースラインノイズを伴う試験法においては、SN 比が 10:1 のピークの試料溶液中の濃度より算出して、試料中の定量下限(LOQ)を推定する。

(3.7) LOD [7] [11]

(**3.7.1**)～(**3.7.3**)に従って検出下限(LOD)を推定する。

9. 検出下限を推定するにはいくつかの方法があり、測定方法が機器分析であるか否か、使用する測定機器によって方法が異なる。(**3.7.1**)～(**3.7.3**)に示す方法とは異なる方法を用いても差し支えないが、その方法及びその方法における検出下限の定義を明記する。

(3.7.1)

定量下限付近の濃度の分析用試料又はブランク試料について、それぞれ 7～10 点併行で試験を実施し、併行標準偏差を求め、(5)式によって試料中の検出下限(LOD)を推定する。

試料中の検出下限(LOD)の推定値 $= 2 \times t(n-1, 0.05) \times s_{\mathrm{r}}$ ・・・(5)

s_{r}: 併行標準偏差
$t(n-1, 0.05)$: 危険率片側 5 %のスチューデント値[20]
n: 併行試験の併行点数

(**19**) 併行試験 7 点併行の場合は 1.94 であり、10 点併行の場合は 1.83 である。

(3.7.2)

検量線が直線の場合は、検量線の残差又は推定した濃度ゼロにおけるシグナルの標準偏差と検量線の傾き(b)を用いて、(6)式によって試料中の検出下限(LOD)を推定する。

試料中の検出下限(LOD)の推定値 $= \dfrac{2 \times t(n-2, 0.05) \times s}{b}$ ・・・(6)

s: 残差の標準偏差又は回帰直線から推定した濃度ゼロにおけるシグナルの標準偏差
b: 検量線の傾き
$t(n-2, 0.05)$: 危険率片側 5 %のスチューデント値
n: 検量線の測定ポイント数

(**3.7.3**) **SN**

クロマトグラフ法等のベースラインノイズを伴う試験法においては、SN 比が 3:1 のピークの試料溶液中の濃度より算出して、試料中の検出下限(LOD)を推定する。

(**3.8**) [7] [11] [12]

頑健性は、分析法を開発する段階において検討しておくべきであり、その評価方法は開発しようとする分析法のタイプに依存する。頑健性は、分析条件を故意に変動させたときの分析法の信頼性を表す。もし、測定値が分析条件の変動の影響を受け易いようであれば、分析条件を適切に制御する方法を考慮するか、あるいは、そのことを分析法の中に注意事項として盛り込む必要がある。頑健性を評価することによってシステム適合性に関する一連のパラメータ(例えば、分離度)を確立することができようにこれらのパラメータを確認することによって、日常の分析において分析法の妥当性が維持されていることを保証できる。

代表的な変動因子は、次のとおりである。

(**3.8.1**) 種々の試験法に共通する代表的な変動因子は、次のものがある。

a) 抽出時間、抽出温度

b) 各段階の試験溶液の安定性

c) 試薬のグレード

(**3.8.2**) クロマトグラフ法による測定又は固相抽出による精製の代表的な変動因子は、次のものがある。

a) カラム又はカートリッジの変更(異なるロット又は異なる銘柄)

b) 溶離液又は洗浄液の pH 及び組成の変動の影響

c) 温度

d) 流速

e) マトリックスの影響及び希釈の効果

1) JIS K 0211: 分析化学用語(基礎部門) (2013)

2) JIS K 0214: 分析化学用語(クロマトグラフィー部門) (2013)

3) JIS Q 0035: 標準物質－認証のための一般的及び統計的な原則 (2008)

4) JIS Z 8101-2: 統計－用語及び記号－第 2 部:統計の応用 (2015)

5) JIS Z 8402-1: 測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度)－第 1 部: 一般的な原理及び定義 (1999)

6) ALINORM 09/32/23 Joint FAO/WHO Food Standards Prorgamme: Repot of the Thirtieth Session of the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, Codex Alimentarius Comission Thirty-second Session (2009)

7) ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1), International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) (2005)

8） AOAC Official Methods of Analysis Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2012)

9） JIS K 0114：ガスクロマトグラフィー通則 (2012)

10） JIS K 0124：高速液体クロマトグラフィー通則 (2011)

11） 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知：「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」について，平成 25 年 7 月 11 日，薬食審査発 0711 第 1 号 (2013)

12） Thompson, M., Ellison, S.L.R, Wood, R., Harmonized guidelines for single-laboratoryvalidation of methods of analysis, *Pure & Appl. Chem*. **74** (5), 835–855 (2002)

13） CLSI EP9 A2 Ed. 2, Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, Clinical and Laboratory Standards Institute (2002)

14） Linsinger, T.,: Comparison of a measurement result with the certified value, European Reference Materials' application note 1, European Commission - Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) (2010)

15） Joint FAO/WHO Food Standards Programme: Procedural manual Twenty-second edition, Codex Almentarius Comission (2013)

16） AOAC Official Methods of Analysis Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)

17） Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, Pure & Appl. Chem., **67** (2), 331～343 (1995)

1

(R1.1)式により併行試験成績の総平均値(m)及び認証値(μ)とそれらの差の絶対値(Δ_m)を求める。次に、(R1.2)式より認証標準物質の認証値の標準不確かさ(u_{CRM})及び(R1.3)式より総平均値の標準不確かさ(u_m)を求める. 得られたu_m 及び u_{CRM} を用いて(R1.4)式より Δ_m の合成標準不確かさ($u_{\mathrm{C}(\Delta_m)}$)を算出し、更に包含係数($k = 2$)を用いて(R1.5)式より拡張不確かさ(U_{Δ_m})を算出する。

Δ_mとU_{Δ_m}を比較して判定式((R1.6)式)に適合しているか、すなわちΔ_mがU_{Δ_m}以下であることを確認する。

併行試験成績の総平均値と認証値の差の絶対値$(\Delta_m) = |m - \mu|$ ・・・(R1.1)

認証値の標準不確かさ$(u_{\mathrm{CRM}}) = \dfrac{U_{95\,\%}}{k_{\mathrm{CRM}}}$ ・・・(R1.2)

総平均値の測定の標準不確かさ$(u_m) = \dfrac{s_{\mathrm{r}}}{\sqrt{n}}$ ・・・(R1.3)

Δ_mの合成標準不確かさ$\left(u_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}\right) = \sqrt{{u_m}^2 + {u_{\mathrm{CRM}}}^2}$ ・・・(R1.4)

Δ_{m} の拡張不確かさ$\left(U_{\Delta_{\mathrm{m}}}\right) = k_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})} \times u_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})} = 2 \times u_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$ ・・・(R1.5)

判定式　$\Delta_{\mathrm{m}} \leqq U_{\Delta_{\mathrm{m}}}$ ・・・(R1.6)

m: 測定値の総平均値
μ: 認証値
$U_{95\,\%}$: 認証値の拡張不確かさ
k_{CRM}: 認証標準物質の拡張不確かさの包含係数
s_{r}: 併行標準偏差
n: 併行試験点数
$k_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})}$: Δ_{m} の拡張不確かさの包含係数($k_{\mathrm{C}(\Delta_{\mathrm{m}})} = 2$)

2

(**1**)

表 1 の測定値(x_{ij})は、(R2.1)式のとおり、真値 (μ)、要因による変動(β)及び併行条件下の偶然誤差(以下、「偶然誤差」という)による変動(e)から成り立っている。p 試験室がそれぞれ n 点併行で測定する共同試験を実施したとき、β の分布は純粋な室間変動による $N(0,\ {\sigma_{\mathrm{L}}}^2)$、$e$ の分布は偶然誤差による $N(0,\ {\sigma_r}^2)$と仮定すると、(R2.2)式が導かれる。また、同一試験室おいて p 日間それぞれ n 点併行で測定する反復試験を実施したとき、β の分布は日間変動(要因 T)による $N(0,\ {\sigma_{(\mathrm{T})}}^2)$、$e$ の分布は偶然誤差による $N(0,\ {\sigma_{\mathrm{r}}}^2)$と仮定すると、(R2.3)式が導かれる。

$$\text{測定値}(x_{ij}) = \mu + \beta_i + e_{ij} \quad \cdots \text{(R2.1)}$$

$$\text{測定値}(x_{ij}) = \mu + N(0, {\sigma_{\mathrm{L}}}^2) + N(0, {\sigma_{\mathrm{r}}}^2) \quad \cdots \text{(R2.2)}$$

$$\text{測定値}(x_{ij}) = \mu + N(0, {\sigma_{(\mathrm{T})}}^2) + N(0, {\sigma_{\mathrm{r}}}^2) \quad \cdots \text{(R2.3)}$$

μ: 真値

β_i: 要因における変動　　e_{ij}: 偶然誤差

$N(0, {\sigma_{\mathrm{L}}}^2)$: 平均 0、標準偏差 σ_{L}のβ_iの正規分布　　$N(0, {\sigma_{\mathrm{r}}}^2)$: 平均 0、標準偏差 σ_{r}のe_{ij}の正規分布

${\sigma_{\mathrm{L}}}^2$: 純粋な 室間分散　　${\sigma_{\mathrm{r}}}^2$: 併行分散

$N(0, {\sigma_{(\mathrm{T})}}^2)$: 平均 0、標準偏差 $\sigma_{(\mathrm{T})}$の β_iの正規分布

${\sigma_{(\mathrm{T})}}^2$: 日間分散

表1　共同試験又は日を変えた反復試験の試験成績

試験室又は試験日	分析試料番号						
(要因)	1	2	3	⋯	j	⋯	n
1	x_{11}	x_{12}	x_{13}	⋯	x_{1_j}	⋯	x_{1_n}
2	x_{21}	x_{22}	x_{23}	⋯	x_{2_j}	⋯	x_{2_n}
3	x_{31}	x_{32}	x_{33}	⋯	x_{3_j}	⋯	x_{3_n}
⋯	⋯	⋯	⋯	⋯	⋯	⋯	⋯
i	x_{i1}	x_{i2}	x_{i3}	⋯	x_{ij}	⋯	x_{in}
⋯	⋯	⋯	⋯	⋯	⋯	⋯	⋯
p	x_{p1}	x_{p2}	x_{p3}	⋯	x_{pj}	⋯	x_{pn}

(**2**)

(**2.1**)

実際の統計解析では、真値(μ)、真の純粋な室間分散(${\sigma_{\mathrm{L}}}^2$)及び真の併行分散(${\sigma_{\mathrm{r}}}^2$)は未知であり、共同試験成績から得られる推定値に置き換えて、それぞれ平均値(m)、純粋な室間分散(${s_{\mathrm{L}}}^2$)及び併行分散(${s_{\mathrm{r}}}^2$)と表記する。

(**2.2**)

共同試験に参加した試験室からの報告値のうち、プロトコルからの逸脱、機器の不調など客観的な理由が明らかである有効でない測定値を除外し、更に Cochran 検定及び Grubbs 検定を実施して外れ値を除く。外れ値を除いた成績について一元配置分散分析を実施し、表 2 の各変動要因の不偏分散(V)を求める。

2

変動要因	平方和(S)	自由度(φ)	不偏分散(V)	分散の期待値($E(V)$)
試験室間 (L)	SS_L	$p-1$	V_L	${\sigma_r}^2+n\times{\sigma_L}^2$
偶然誤差 (e)	SS_r	$p\times(n-1)$	V_r	${\sigma_r}^2$

1. 一元配置分散分析は、市販の統計ソフトや表計算ソフトのツールを用いて容易に行える。この場合、用語が異なることがあるので留意すること。(試験室間(L)→グループ間、偶然誤差(e)→グループ内、平方和→変動 等)

2. 不偏分散(V)は平方和／自由度によって算出される。

(**2.3**)

表 2 の各変動要因の分散の期待値 $E(V)$ の関係が成り立つことから、(R2.4)式及び(R2.5)式によって併行分散(s_r^2)及び純粋な室間分散(s_L^2)を算出し、更に(R2.6)式によって室間再現分散(s_R^2)を算出する[(1) (2)]。

$$\text{併行分散}({s_r}^2) = V_r \quad \cdots \text{(R2.4)}$$

$$\text{純粋な室間分散}({s_L}^2) = \frac{V_L - V_r}{n} \quad \cdots \text{(R2.5)}$$

$$\text{室間再現分散}({s_R}^2) = {s_L}^2 + {s_r}^2 \quad \cdots \text{(R2.6)}$$

V_r: 一元配置分散分析表(表 2)の変動要因(偶然誤差(e))の不偏分散

V_L: 一元配置分散分析表(表 2)の変動要因(試験室間(L))の不偏分散

得られた併行分散及び室間再現分散から、(R2.7)式及び(R2.8)式によって併行標準偏差(s_r)及び室間再現標準偏差(s_R)を算出し、更に(R2.9)式及び(R2.10)式によって併行相対標準偏差(RSD_r)及び室間再現相対標準偏差(RSD_R)を算出する[(2) (3)]。

$$\text{併行標準偏差}(s_r) = \sqrt{{s_r}^2} \quad \cdots \text{(R2.7)}$$

$$\text{室間再現標準偏差}(s_R) = \sqrt{{s_R}^2} \quad \cdots \text{(R2.8)}$$

$$\text{併行相対標準偏差}(RSD_r, \%) = \frac{s_r}{m}\times 100 \quad \cdots \text{(R2.9)}$$

$$\text{室間再現相対標準偏差}(RSD_R, \%) = \frac{s_R}{m}\times 100 \quad \cdots \text{(R2.10)}$$

m: 共同試験成績の有効データの総平均値

(**1**) $V_L < V_r$ の場合は、$V_L = V_r$ (すなわち、(R2.5)式の純粋な室間分散(s_L^2)＝0)と見なし、(R2.6)式では$s_R^2 = s_r^2$ とおく。

(**2**) 計算途中においては数値の丸めを実施しない。

(**3**) 平均値及び標準偏差は測定値の桁に丸めて表記する。相対標準偏差は小数第一位に丸めて表記する。

(**3**)

(**3.1**)

実際の統計解析では、真値(μ)、真の日間分散($\sigma_{(T)}^2$)及び真の併行分散(σ_r^2)は未知であり、日を変えての反復成績から得られる推定値に置き換えて、それぞれ平均値(m)、日間分散($s_{(T)}^2$)及び併行分散(s_r^2)と表記する。

(**3.2**)

日を変えての反復試験の試験成績ついて一元配置分散分析を実施し、表 3 の各変動要因の不偏分散(V)を求める。

3

変動要因	平方和(S)	自由度(φ)	不偏分散(V)	分散の期待値($E(V)$)
日間 (T)	SS_T	$p-1$	V_T	$\sigma_r^2 + n \times \sigma_{(T)}^2$
偶然誤差 (e)	SS_r	$p \times (n-1)$	V_r	σ_r^2

3. 一元配置分散分析は、市販の統計ソフトや表計算ソフトのツールを用いて容易に行える。この場合、用語が異なることがあるので留意すること。(日間(T)→グループ間、偶然誤差(e)→グループ内、平方和→変動 等)

4. 不偏分散(V)は平方和／自由度によって算出される。

(**3.3**)

表 3 の各変動要因の分散の期待値 $E(V)$の関係が成り立つことから、(R2.11)式及び(R2.12)式によって併行分散(s_r^2)及び日間分散($s_{(T)}^2$)を算出し、更に(R2.13)式によって中間分散($s_{I(T)}^2$)を算出する[(2) (4)]。

$$\text{併行分散}(s_r^2) = V_r \quad \cdots \text{(R2.11)}$$

$$\text{日間分散}\left(s_{(T)}^2\right) = \frac{V_T - V_r}{n} \quad \cdots \text{(R2.12)}$$

$$\text{中間分散}\left(s_{I(T)}^2\right) = s_{(T)}^2 + s_r^2 \quad \cdots \text{(R2.13)}$$

V_r: 一元配置分散分析表(表 3)の変動要因(偶然誤差(e))の不偏分散

V_T: 一元配置分散分析表(表 3)の変動要因(日間(T))の不偏分散

得られた併行分散の推定値及び中間分散の推定値から、(R2.14)式及び(R2.15)式によって併行標準偏差(s_r)及び中間標準偏差($s_{I(T)}$)を算出し、更に(R2.16)式及び(R2.17)式によって併行相対標準偏差(RSD_r)及

び中間相対標準偏差($RSD_{I(T)}$)を算出する[2)3)]。

併行標準偏差(s_r) $=\sqrt{{s_r}^2}$ ・・・ (R2.14)

中間標準偏差($s_{I(T)}$) $=\sqrt{{s_{I(T)}}^2}$ ・・・ (R2.15)

併行相対標準偏差(RSD_r, %) $=\frac{s_r}{m}\times 100$ ・・・ (R2.16)

中間相対標準偏差($RSD_{I(T)}$, %) $=\frac{s_I}{m}\times 100$ ・・・ (R2.17)

m: 日を変えての反復試験成績の総平均値

(**4**) $V_T < V_r$ 場合は、$V_T = V_r$ (すなわち、(R2.12)式の日間分散($s_{(T)}{}^2$)＝0)と見なし、(R2.13)式では ${s_{I(T)}}^2 = {s_r}^2$ とおく。

(**4**)

亜りん酸塩を含む試料 1 及び試料 2 を用い、く溶性りん酸の日を変えての反復試験を実施した成績例を表 4 に示す。各試料の試験成績についてそれぞれ一元配置分散分析を実施し、各変動要因の不偏分散(V)を求める(表 5)。

(R2.11)式～(R2.17)式により、試料 1 及び試料 2 の中間精度並びに併行精度を算出した例を表 6-1 及び表 6-2 に示す。なお、各標準偏差の結果は測定値の桁まで表記し、各相対標準偏差の結果は小数第一位まで表記する。

表4　日を変えた反復試験の試験成績例　(質量分率(%))

試料No	試験日(要因) 1	2	3	4	5	6	7	総平均値 (m)[1)]
試料1	51.20	52.15	51.00	51.35	51.35	51.38	51.28	51.38
	51.45	51.85	51.09	51.28	51.10	51.38	51.43	
試料2	5.18	4.90	5.01	5.15	5.14	5.13	5.21	5.10
	5.00	5.12	5.06	5.14	5.07	5.11	5.18	

1) 平均値は測定値の桁に丸めて表記する。

5

試料No	変動要因	平方和(S)	自由度(φ)	不偏分散(V)	分散の期待値($E(V)$)
試料1	日間 (T)	1.0570	6	0.17616	${\sigma_r}^2+n\times{\sigma_{I(T)}}^2$
	偶然誤差 (e)	0.1253	7	0.01789	${\sigma_r}^2$
試料2	日間 (T)	0.0478	6	0.00797	${\sigma_r}^2+n\times{\sigma_{I(T)}}^2$
	偶然誤差 (e)	0.0448	7	0.00640	${\sigma_r}^2$

表6-1　日を変えた反復試験の試料1の成績からの中間精度及び併行精度の算出[1)]

変動要因	計算式	計算	結果
併行分散(s_r^2)	$= V_r$	= 0.01789	0.01789
併行標準偏差(s_r)[2)]	$=\sqrt{s_r^2}$	$=\sqrt{0.01789}$	0.13 (%)[4)]
併行相対標準偏差(RSD_r)[3)]	$= (s_r/m)\times 100$	= (0.1338/51.38)×100	0.3 (%)
日間分散($s_{(T)}^2$)	$= (V_T \neg V_r)/n$	= (0.17616¬0.01789)/2	0.07914
中間(日間)分散($s_{I(T)}^2$)	$= s_T^2 + s_r^2$	= 0.07914+0.01789	0.09703
中間標準偏差($s_{I(T)}$)[2)]	$=\sqrt{s_{I(T)}^2}$	$=\sqrt{0.09703}$	0.31 (%)[4)]
中間相対標準偏差($RSD_{I(T)}$)[3)]	$= (s_{I(T)}/m)\times 100$	= (0.3115/51.38)×100	0.6 (%)

1) 計算途中においては数値の丸めを実施しない。
2) 標準偏差は測定値の桁に丸めて表記する。
3) 相対標準偏差は小数第一位に丸めて表記する。
4) 質量分率

表6-2　日を変えた反復試験の試料1の成績からの中間精度及び併行精度の算出[1)]

変動要因	計算式	計算	結果
併行分散(s_r^2)	$= V_r$	= 0.00640	0.00640
併行標準偏差(s_r)[2)]	$=\sqrt{s_r^2}$	$=\sqrt{0.00640}$	0.08 (%)[4)]
併行相対標準偏差(RSD_r)[3)]	$= (s_r/m)\times 100$	= (0.0800/5.10)×100	1.6 (%)
日間分散($s_{(T)}^2$)	$= (V_T \neg V_r)/n$	= (0.00797¬0.00640)/2	0.00078
中間(日間)分散($s_{I(T)}^2$)	$= s_T^2 + s_r^2$	= 0.00078+0.00640	0.00718
中間標準偏差($s_{I(T)}$)[2)]	$=\sqrt{s_{I(T)}^2}$	$=\sqrt{0.00718}$	0.08 (%)[4)]
中間相対標準偏差($RSD_{I(T)}$)[3)]	$= (s_{I(T)}/m)\times 100$	= (0.0848/5.10)×100	1.7 (%)

脚注は表6-1を参照

肥料の分析に使用されるクロマトグラフ法(1)並びにクロマトグラフ法以外の試験法の評価のための各濃度レベルにおける真度(回収率)の目標及び精度の目安を表 1 及び表 2 に示した。真度は、概ね表 1 の回収率以内であることを目標とする。精度は、表 2 の各相対標準偏差の 2.0 倍まで許容する。

なおこの真度の目標及び精度の目安は、肥料分析法の性能評価結果より整理され、肥料等技術検討会において協議・承認されたものである。濃度レベルの設定、目標値及び許容範囲は、コーデックス委員会(国際食品規格委員会、CAC)のガイドライン、IUPAC のプロトコル、AOAC INTERNATIONAL のガイドライン等を参考に作成している。

(**1**) ガスクロマトグラフ法、ガスクロマトグラフ質量分析法、高速液体クロマトグラフ法、高速液体クロマトグラフ(タンデム)質量分析法、イオンクロマトグラフ法等をいう。

表1　各濃度レベルにおける真度の目標

濃度レベル	クロマトグラフ法 回収率 (%)	クロマトグラフ法以外の試験法 回収率 (%)
≧25 %(質量分率)	90～108	98～102
≧10 %(質量分率)	90～108	97～103
≧1 %(質量分率)	85～110	96～104
≧0.1 %(質量分率)	85～110	94～106
≧100 mg/kg	80～115	92～108
≧10 mg/kg	70～120	90～110
≧1 mg/kg	70～120	85～115
≧100 µg/kg	70～120	85～115
≧10 µg/kg	70～120	80～120
<10 µg/kg	60～125	75～125

表2　各濃度レベルにおける精度[1)]の目安

濃度レベル	クロマトグラフ法			クロマトグラフ法以外の試験法		
	室間再現相対標準偏差 (%)	中間相対標準偏差 (%)	併行相対標準偏差 (%)	室間再現相対標準偏差 (%)	中間相対標準偏差 (%)	併行相対標準偏差 (%)
≧25 %(質量分率)	8	6.5	4	2.5	2	1
≧10 %(質量分率)	8	6.5	4	3	2.5	1.5
≧1 %(質量分率)	8	6.5	4	4	3.5	2
≧0.1 %(質量分率)	8	6.5	4	6	4.5	3
≧100 mg/kg	8	6.5	4	8	6.5	4
≧10 mg/kg	11	9	6	11	9	6
≧1 mg/kg	16	13	8	16	13	8
≧100 µg/kg	22	18	11	22	18	11
≧10 µg/kg	22	18	11	22	18	11
<10 µg/kg	22	18	11	22	18	11

1) 精度は、各相対標準偏差の2.0倍まで許容する。

1) ISO/IEC 17025 (2017): "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories" (JIS Q 17025 :2018,「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) 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>

4) Codex: "Guideline on Analytical Terminology", CAC/GL 72-2009 (2009) <www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>

5) ISO 13528 (2015): "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" (JIS Z 8405: 2021,「試験所間比較による技能試験に使用する統計的方法」)

6) 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的な原則」)

7) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)

附属書 B
(参考)

主成分等の抽出操作の一覧

(1) 主成分等の抽出操作の一覧

この試験法で主成分等の抽出操作の一覧を、表 1～表 4 に示した。

表1　主成分全量、有害成分(重金属等)等の抽出操作の一覧

成分名	試験方法		抽出操作[a]					
			ケルダール分解	灰化－塩酸煮沸	灰化－王水分解	硝酸・硫酸・過塩素酸分解	マイクロ波加熱酸分解	その他
窒素全量	4.1.1.a	ケルダール法	○[b]					
	4.1.1.b	燃焼法						A
	4.1.1.c	デバルダ合金－ケルダール法						B
	4.1.1.d	還元鉄－ケルダール法						C
りん酸全量	4.2.1.a	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法	○	○	○			
	4.2.1.b	キノリン重量法	○					
	4.2.1.c	ICP発光分光分析法			○			
加里全量	4.3.1.a	フレーム原子吸光法又はフレーム光度法		○	○			
	4.3.1.b	テトラフェニルほう酸ナトリウム重量法		○				
	4.3.1.c	ICP発光分光分析法			○			
石灰全量	4.5.1.a	フレーム原子吸光法		○	○			
	4.5.1.b	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			
苦土全量	4.6.1.a	フレーム原子吸光法		○	○			
	4.6.1.b	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			

a) 個別の抽出操作
- A:分析試料を測定装置に導入
- B:デバルダ合金による還元－ケルダール分解
- C:還元鉄による還元－ケルダール分解
- D:二クロム酸酸化
- E:塩酸処理
- F:水及び硫酸(1+5)で抽出
- G:水酸化カリウム・エタノール溶液で煮沸
- H:硝酸・過塩素酸分解
- I:マイクロ波分解温度240℃で分解
- J:硝酸マグネシウムを添加し灰化、塩酸(1+1)処理
- K:硫酸アンモニウムを加えた硝酸・硫酸・過塩素酸分解
- L:硫酸水素アンモニウム融解

b) ろ過操作は不要

表1　続き

成分名	試験方法		抽出操作[a)]					
			ケルダール分解	灰化－塩酸煮沸	灰化－王水分解	硝酸･硫酸･過塩素酸分解	マイクロ波加熱酸分解	その他
亜鉛全量	4.9.1.a	フレーム原子吸光法		○	○			
	4.9.1.b	ICP発光分光分析法(標準添加法)			○			
	4.9.1.c	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			
銅全量	4.10.1.a	フレーム原子吸光法		○	○			
	4.10.1.b	ICP発光分光分析法(標準添加法)			○			
	4.10.1.c	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			
有機炭素	4.11.1.a	二クロム酸酸化法						D
	4.11.1.b	燃焼法						E
硫黄分全量	4.12.1.a	過マンガン酸カリウム法						F
	4.12.1.b	塩化バリウム重量法						G
	4.12.1.c	透過光測定法						G
鉄全量	4.13.1.a	フレーム原子吸光法			○			
水銀	5.1.a	還元気化原子吸光法						H
	5.1.b	還元気化原子吸光法(液状の汚泥肥料)					I	
ひ素	5.2.a	水素化物発生原子吸光法				○		
	5.2.b	ジエチルジチオカルバミド酸銀吸光光度法				○		
	5.2.c	ICP質量分析法					○	
	5.2.d	水素化物発生原子吸光法(硫黄)						J
カドミウム	5.3.a	フレーム原子吸光法			○			
	5.3.b	ICP発光分光分析法(標準添加法)			○			
	5.3.c	ICP質量分析法					○	
	5.3.e	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			
ニッケル	5.4.a	フレーム原子吸光法			○			
	5.4.b	ICP発光分光分析法(標準添加法)			○			
	5.4.c	ICP質量分析法					○	
	5.4.e	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			

表1　続き

成分名	試験方法		抽出操作[a)]					
			ケルダール分解	灰化－塩酸煮沸	灰化－王水分解	硝酸･硫酸･過塩素酸分解	マイクロ波加熱酸分解	その他
クロム	5.5.a	フレーム原子吸光法(有機物を含む肥料)			○			
	5.5.b	フレーム原子吸光法(熔融物、鉱さい等を主体とする肥料)						K
	5.5.c	フレーム原子吸光法(有機物を含まない肥料)				○		
	5.5.d	ICP発光分光分析法(標準添加法)			○			
	5.5.e	ICP質量分析法(有機物を含む肥料)					○	
	5.5.g	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			
鉛	5.6.a	フレーム原子吸光法			○			
	5.6.b	ICP発光分光分析法(標準添加法)			○			
	5.6.c	ICP質量分析法					○	
	5.6.e	ICP発光分光分析法(内標準法)			○			
チタン	5.11.a	ICP発光分光分析法(1)				○		
	5.11.b	ICP発光分光分析法(2)						L
ナトリウム	8.4.a	フレーム原子吸光法		○				

表2　可溶性主成分等の抽出操作の一覧

成分名	試験方法		抽出操作[a)]			
			煮沸	恒温上下転倒式回転振り混ぜ機	水平往復振り混ぜ恒温水槽	その他
可溶性りん酸	4.2.2.a	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法				A
	4.2.2.b	キノリン重量法				A
	4.2.2.c	ICP発光分光分析法				A
可溶性けい酸	4.4.1.a	ふっ化カリウム法		○	○	
	4.4.1.b	ふっ化カリウム法(シリカゲル肥料等)				B
	4.4.1.c	ふっ化カリウム法(シリカゲル肥料を含む肥料)				C
	4.4.1.d	過塩素酸法		○		
可溶性石灰	4.5.2.a	フレーム原子吸光法	○			
アルカリ分	4.5.5.a	エチレンジアミン四酢酸塩法	○			
可溶性苦土	4.6.2.a	フレーム原子吸光法	○			
可溶性マンガン	4.7.1.a	フレーム原子吸光法	○			
可溶性硫黄	4.12.2.a	イオンクロマトグラフ法				D

a) 個別の抽出操作

A:水で水溶性成分を分離した後、ペーテルマンくえん酸塩溶液で加熱

B:水酸化ナトリウム溶液(20 g/L)で加熱

C:塩酸(1+23)で加温して塩酸可溶性成分を分離した後、水酸化ナトリウム溶液(20 g/L)で加熱

D:塩酸(1+23)で抽出

表3　く溶性主成分の抽出操作の一覧

成分名	試験方法		抽出操作	
			恒温上下転倒式回転振り混ぜ機	水平往復振り混ぜ恒温水槽
く溶性りん酸	4.2.3.a	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法	○	○
	4.2.3.b	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(亜りん酸又はその塩を含む肥料)	○	○
	4.2.3.c	キノリン重量法	○	
	4.2.3.d	ICP発光分光分析法	○	○
く溶性加里	4.3.2.a	フレーム原子吸光法又はフレーム光度法	○	○
	4.3.2.b	テトラフェニルほう酸ナトリウム重量法	○	
	4.3.2.c	テトラフェニルほう酸ナトリウム容量法	○	
	4.3.2.d	ICP発光分光分析法	○	○
く溶性石灰	4.5.3.a	フレーム原子吸光法	○	○
	4.5.3.b	ICP発光分光分析法	○	○
く溶性苦土	4.6.3.a	フレーム原子吸光法	○	○
	4.6.3.b	ICP発光分光分析法	○	○
く溶性マンガン	4.7.2.a	フレーム原子吸光法	○	○
	4.7.2.b	ICP発光分光分析法	○	○
く溶性ほう素	4.8.1.a	アゾメチンH法	○	○
	4.8.1.b	ICP発光分光分析法	○	○

表4　水溶性主成分等の抽出操作の一覧

成分名	試験方法		抽出操作[a)]				
			上下転倒式回転振り混ぜ機	垂直往復振り混ぜ機	煮沸	振り混ぜ[b)]	その他
アンモニア性窒素	4.1.2.a	蒸留法	○、A	○、A			B
	4.1.2.b	ホルムアルデヒド法	○、C、D				
硝酸性窒素	4.1.3.a	デバルダ合金－蒸留法					B
	4.1.3.b	還元鉄－蒸留法					B
	4.1.3.c	フェノール硫酸法	E	E		E	
水溶性りん酸	4.2.4.a	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法	○	○		○	
	4.2.4.b	バナドモリブデン酸アンモニウム吸光光度法(亜りん酸又はその塩を含む肥料)	○	○		○	
	4.2.4.c	キノリン重量法	○				
	4.2.4.d	ICP発光分光分析法	○	○		○	
水溶性加里	4.3.3.a	フレーム原子吸光法又はフレーム光度法	○	○	○	○	
	4.3.3.b	テトラフェニルほう酸ナトリウム重量法	○		○		
	4.3.3.c	テトラフェニルほう酸ナトリウム容量法	○		○		
	4.3.3.d	ICP発光分光分析法	○	○	○	○	
水溶性けい酸	4.4.2.a	ふっ化カリウム法	○	○		F	
水溶性石灰(カルシウム)	4.5.4.a	フレーム原子吸光法	G	H		○	
	4.5.4.b	ICP発光分光分析法				○	
水溶性苦土	4.6.4.a	フレーム原子吸光法			I	○	
	4.6.4.b	ICP発光分光分析法			I	○	
水溶性マンガン	4.7.3.a	フレーム原子吸光法	○	○		○	
	4.7.3.b	ICP発光分光分析法	○	○		○	
水溶性ほう素	4.8.2.a	アゾメチンH法			○	○	
	4.8.2.b	ICP発光分光分析法			○	○	

a) 個別の抽出操作

A:塩酸(1+23)で抽出

B:分析試料を蒸留装置に導入

C:塩酸(1+20)で抽出

D:塩化カリウム液(1 mol/L)で抽出

E:硫酸銅－硫酸銀液で抽出

F:分析試料5 gを水400 mLで抽出

G:分析試料1 gを水400 mLで抽出

H:分析試料0.5 gを水200 mLで抽出

I:分析試料1 gを水400 mLで煮沸して抽出

b) 液状肥料の抽出操作、分析試料1 gに水約50 mLを加えて振り混ぜ

表4　続き

成分名	試験方法		抽出操作[a)]				
			上下転倒式回転振り混ぜ機	垂直往復振り混ぜ機	煮沸	振り混ぜ[b)]	その他
水溶性亜鉛	4.9.2.a	フレーム原子吸光法	○			○	
	4.9.2.b	ICP発光分光分析法				○	
水溶性銅	4.10.2.a	フレーム原子吸光法	○			○	
	4.10.2.b	ICP発光分光分析法				○	
水溶性鉄	4.13.2.a	フレーム原子吸光法	○			○	
	4.13.2.b	ICP発光分光分析法				○	
水溶性モリブデン	4.14.1.a	チオシアン酸ナトリウム吸光光度法	○			○	
	4.14.1.b	ICP発光分光分析法				○	
水溶性コバルト	4.15.1.a	フレーム原子吸光法				○	
	4.15.1.b	ICP発光分光分析法				○	

附属書 C1
（参考）

ICP 発光分光分析法における検量線濃度範囲の一覧

（1） ICP 発光分光分析法の一覧

この試験法における ICP 発光分光分析法の検量線濃度範囲の一覧を、表 1 に示した。
なお、混合標準液を調製する場合、目的成分（りん酸等）以外に含有する化合物（りん酸二水素カリウム等）を原料とした標準液の使用を避けるか、影響する成分（カリウム等）の検量線用標準液は別途調製すること。検量線用混合標準液を保存する場合は、ほう素が溶出しにくい PTFE 等の材質で密閉できる容器を用いる。

表1 ICP発光分光分析法における各元素の検量線濃度範囲と測定波長

成分名	試験方法	検量線濃度範囲				測定波長（nm）
		元素濃度 (mg/L)	換算係数	酸化物濃度 (mg/L)		
りん酸	4.2.3.d, 4.2.4.d	P 1~200	2.2914	P_2O_5	2.291~458.2	178.287
加里	4.3.2.d, 4.3.3.d	K 1~200	1.2046	K_2O	1.205~241.0	766.491, 769.896
石灰(カルシウム)	4.5.3.b, 4.5.4.b	Ca 0.1~20	1.3992	CaO	0.1399~27.98	393.366, 317.933
苦土	4.6.3.b, 4.6.4.b	Mg 0.1~20	1.6583	MgO	0.1658~33.16	279.553, 280.270
マンガン	4.7.2.b, 4.7.3.b	Mn 0.05~10	1.2912	MnO	0.06455~12.91	257.610, 260.569
ほう素	4.8.1.b, 4.8.2.b	B 0.05~10	3.2199	B_2O_3	0.1610~32.20	249.773, 249.678
亜鉛	4.9.2.b	Zn 0.1~20	－	－		213.856, 206.200
銅	4.10.2.b	Cu 0.1~20	－	－		327.396, 224.700, 324.754
鉄	4.13.2.b	Fe 0.1~20	－	－		259.940, 238.204
モリブデン	4.14.1.b	Mo 0.1~20	－	－		202.030, 277.540
コバルト	4.15.1.b	Co 0.1~20	－	－		228.616

附属書 C2

(参考)

ICP 質量分析法における検量線濃度範囲の一覧

(1) ICP 質量分析法の一覧

この試験法における ICP 質量分析法の検量線濃度範囲の一覧を、表 1 に示した。

表1 ICP質量分析法における各元素の検量線濃度範囲及び質量数

成分名	試験方法	検量線濃度範囲			内標準元素		
		元素及び濃度 (μg/L)		質量数	元素及び濃度 (μg/L)		質量数
ひ素	5.2.c	As	0.2~20	75	Te	10	125
カドミウム	5.3.c	Cd	0.05~5	111	Rh	5	103
ニッケル	5.4.c	Ni	0.5~50	60	Rh	5	103
クロム	5.5.e	Cr	1~100	52	Sc	50	45
鉛	5.6.c	Pb	0.1~10	208	Tl	5	205

附属書 D1
(参考)

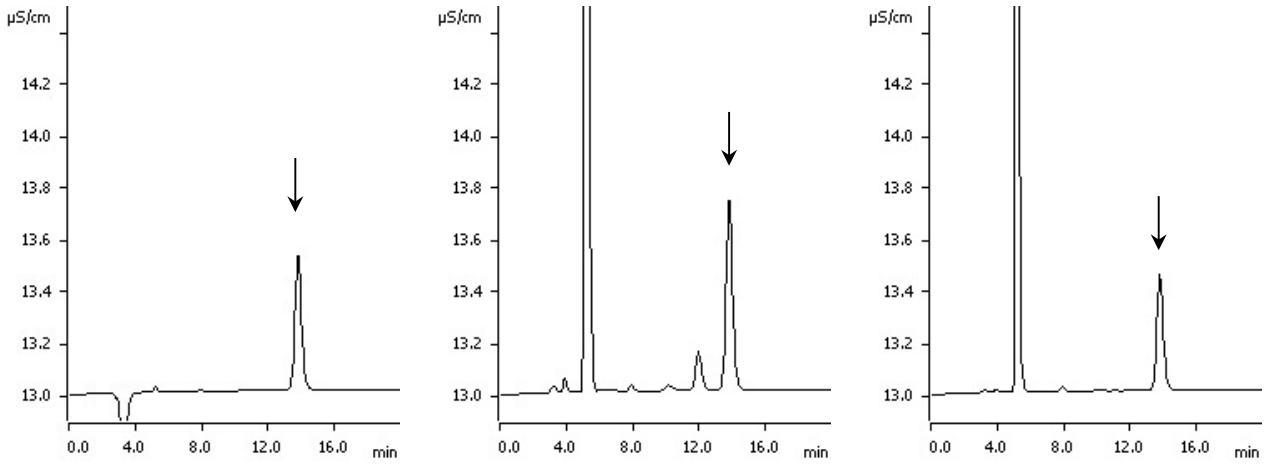
可溶性硫黄の試験法(4.12.2.a イオンクロマトグラフ法)に用いる IC カラムの例

この附属書は、可溶性硫黄の試験法(4.12.2.a イオンクロマトグラフ法 S-S.a-2)に用いるイオン交換カラム及び測定条件を表 1 で示したものである。

表 1 に記載した測定条件で作成した標準液、化成肥料の試料溶液及び石こうの試料溶液の IC クロマトグラムの一例を図 1～図 4 に示した。なお、各図には硫酸イオン(SO_4^{2-})のピークに矢印(↓)を付した。

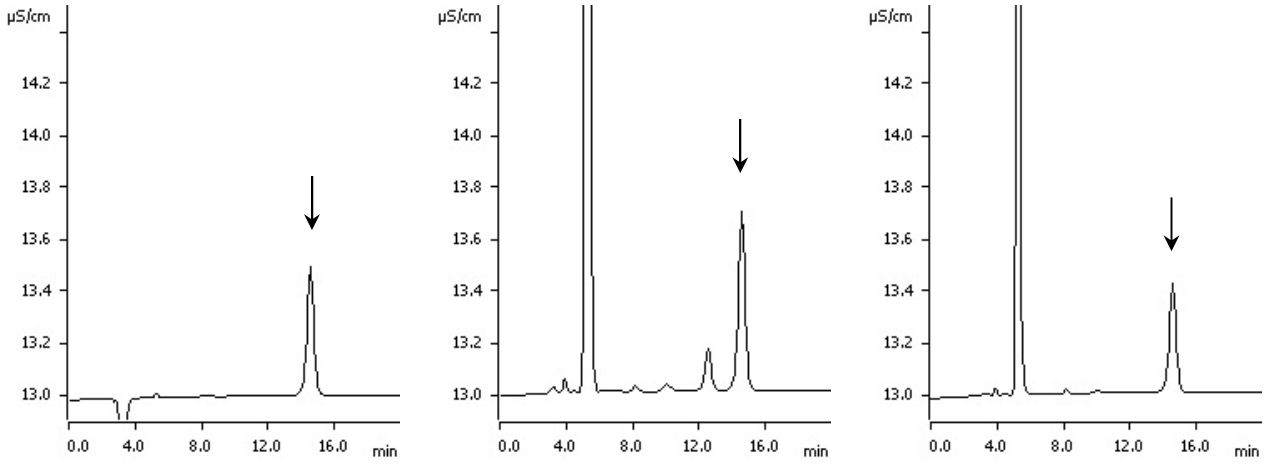
表1 可溶性硫黄のイオンクロマトグラフ法におけるイオン交換カラム及び測定条件例

イオン交換カラム			測定条件				備考
官能基	ICカラム名	内径×長さ 粒子径	溶離液及び溶離条件	流量	試料 注入量	カラム 温度	
第4級アンモニウム基	Shodex IC SI-90 4E	4.0 mm×250 mm, 9 μm	1.8 mM 炭酸ナトリウム-1.7 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	1.0 mL/min	20 μL	25℃	A
第4級アンモニウム基	Metrosep A Supp 4-250/4.0	4.0 mm×250 mm, 9 μm	1.8 mM 炭酸ナトリウム-1.7 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	1.0 mL/min	20 μL	室温 25℃	– B
第4級アンモニウム基	Shim-pack IC-SA2	4.0 mm×250 mm, 9 μm	1.8 mM 炭酸ナトリウム-1.7 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	1.0 mL/min	20 μL	25℃	C
第4級アンモニウム基	PCI-205	4.0 mm×250 mm, 9 μm	1.8 mM 炭酸ナトリウム-1.7 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	1.0 mL/min	20 μL	37℃	–
第4級アンモニウム基	TSKgel SuperIC-Anion HS	4.6 mm×100 mm, 3.5 μm	0.8 mM 炭酸ナトリウム-7.5 mM 炭酸水素ナトリウム溶液 1.1 mM 炭酸ナトリウム-7.5 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	1.5 mL/min	30 μL	40℃	– –
第4級アンモニウム基	TSKgel SuperIC-AZ	4.6 mm×150 mm, 4 μm	1.7 mM 炭酸ナトリウム-6.3 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	0.8 mL/min	20 μL	40℃	D
第4級アルキル/アルカノールアミン類	IonPac AS12A	4.0 mm×200 mm, 9 μm	2.7 mM 炭酸ナトリウム-0.3 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	1.2 mL/min	20 μL	32℃	–
第4級アルカノールアミン類	IonPac AS22	4.0 mm×250 mm, 6 μm	4.5 mM 炭酸ナトリウム-1.4 mM 炭酸水素ナトリウム溶液	1.0 mL/min 1.2 mL/min	50 μL 25 μL	35℃	– –
第4級アルカノールアミン類	IonPac AS19	4.0 mm ×250 mm, 7.5 μm	10 mM 水酸化カリウム溶液	1.0 mL/min	20 μL	30℃	–
第4級アルカノールアミン類	IonPac AS20	4.0 mm ×250 mm, 7.5 μm	5.0 mM-47.0 mM 水酸化カリウム溶液のグラジエント溶出 5.0 mM (-7.0 min) → 5.0 mM (0.0 min) → 5.0 mM (6.0 min) → 47.0 mM (25.0 min) → 47.0 mM (30.0 min)	1.5 mL/min	25 μL	35℃	–
第4級アルカノールアミン類	IonPac AS11-HC	4.0 mm×250 mm, 9 μm	1.0 mM-70 mM 水酸化カリウム溶液のグラジエント溶出 70.0 mM (-10.5 min) → 70.0 mM (-10.1 min) → 15 mM (-10.0 min) → 15 mM (0.0 min) → 22 mM (10.0 min) → 22 mM (14.0 min) → 42 mM (17.5 min) → 70 mM (20.0 min) → 70 mM (25.0 min) → 1 mM (25.1 min) 15 mM-50 mM 水酸化カリウム溶液のグラジエント溶出 15 mM (0.0 min) → 15 mM (18.0 min) → 50 mM (18.0 min) → 50 mM (20.0 min)	1.2 mL/min	25 μL	40℃ 35℃	– –



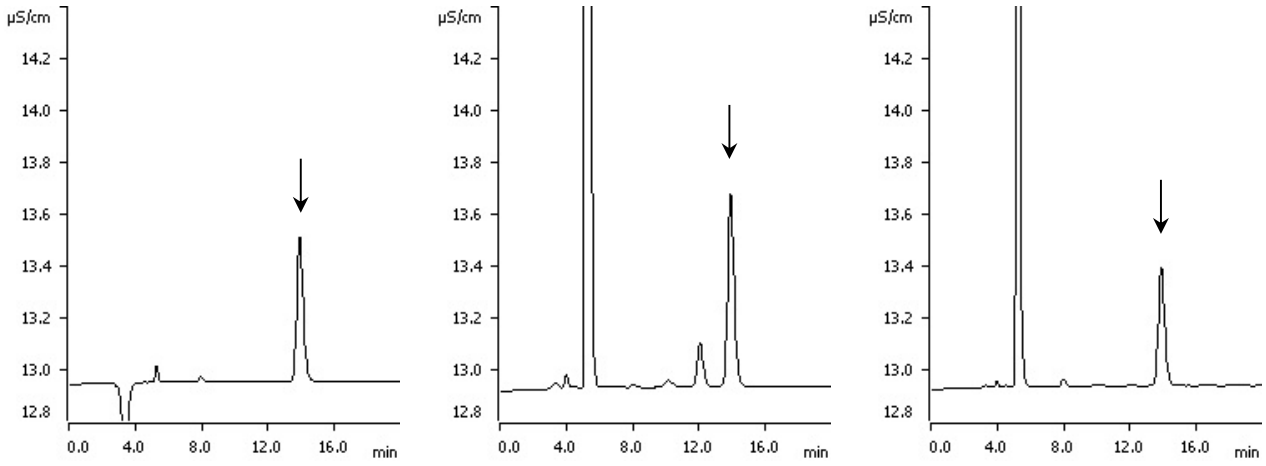
硫酸イオン標準液 (3 μg/mL)　　化成肥料　　石こう

図 1　硫酸イオンのクロマトグラム(その 1)
カラム及び測定条件:表 1 の備考 A の欄を参照



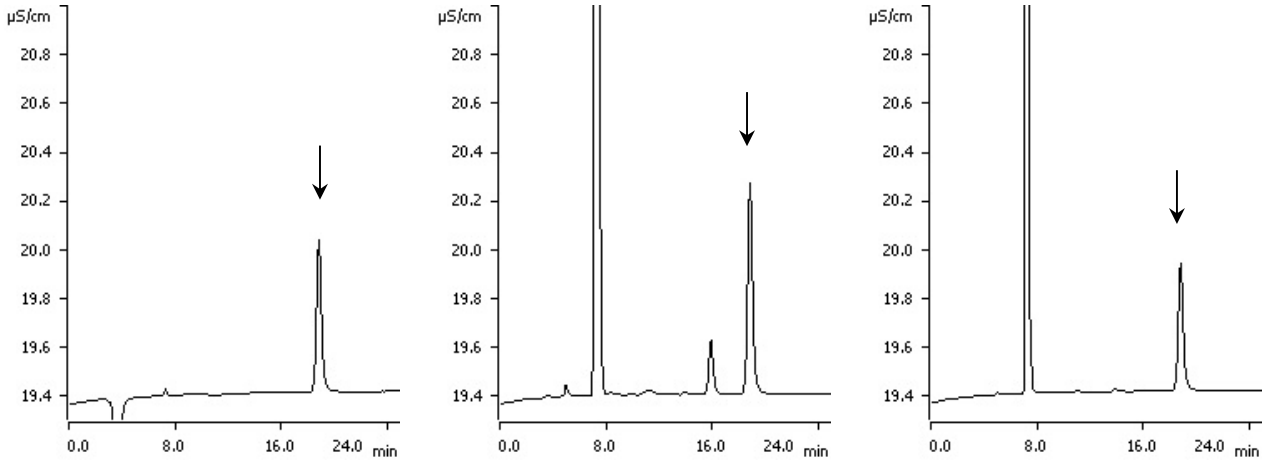
硫酸イオン標準液 (3 μg/mL)　　化成肥料　　石こう

図 2　硫酸イオンのクロマトグラム(その 2)
カラム及び測定条件:表 1 の備考 B の欄を参照



硫酸イオン標準液 (3 μg/mL)　　化成肥料　　石こう

図 3　硫酸イオンのクロマトグラム(その 3)
カラム及び測定条件:表 1 の備考 C の欄を参照



硫酸イオン標準液 (3 μg/mL)　　化成肥料　　石こう

図 4　硫酸イオンのクロマトグラム(その 4)
カラム及び測定条件:表 1 の備考 D の欄を参照

附属書 D2
（参考）

有機ふっ素化合物の試験法(8.7.a 高速液体クロマトグラフタンデム質量分析法)に用いる測定条件例

この附属書は、有機ふっ素化合物(8.7.a 高速液体クロマトグラフタンデム質量分析法 PFC.a-2)に用いるカラム及び測定条件を表1で示したものである。

表1 有機ふっ素化合物の高速液体クロマトグラフ質量分析法に用いるカラム及び測定条件

分離用カラム	溶離液	流量	カラム恒温槽温度	グラジエント		
(内径×長さ, 粒径)	上段：A 下段：B	(mL/min)	(°C)	時間(min)	A:(%)	B:(%)
InertSustain C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2	40	0.0 ~ 1.5 min	A: 60	B: 40
	アセトニトリル			1.5 min～10.0 min	A: 60→0	B: 40→100
				10.0 min～12.0 min	A: 0	B: 100
				12.0 min～12.2 min	A: 0→60	B: 100→40
				12.2 min～20.0 min	A: 60	B: 40
InertSustain C18 HP, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2	40	0.0 ~ 1.5 min	A: 60	B: 40
	アセトニトリル			1.5 min～10.0 min	A: 60→0	B: 40→100
				10.0 min～12.0 min	A: 0	B: 100
				12.0 min～12.2 min	A: 0→60	B: 100→40
				12.2 min～20.0 min	A: 60	B: 40
InertSustain AQ-C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2	40	0.0 ~ 1.5 min	A: 60	B: 40
	アセトニトリル			1.5 min～10.0 min	A: 60→0	B: 40→100
				10.0 min～12.0 min	A: 0	B: 100
				12.0 min～12.2 min	A: 0→60	B: 100→40
				12.2 min～18.0 min	A: 60	B: 40
Shim-pack Velox SP-C18, Shimadzu (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2~0.35	40	0.0 ~ 7.0 min	A: 70→35	B: 30→65
	アセトニトリル			7.0 min～7.1 min	A: 35→5	B: 65→95
				7.1 min～7.5 min	A: 5	B: 95
				7.5 min～10.5 min	A: 5	B: 95
				10.5 min～10.6 min	A: 5→70	B: 95→30
				10.6 min～15.0 min	A: 70	B: 30
InertSustain C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	0.5 mmol/L 酢酸アンモニウム (0.1 %ぎ酸含有)	0.2	40	0.0 ~ 13.0 min	A: 60→5	B: 40→95
	アセトニトリル			13.0 min～18.0 min	A: 5	B: 95
				18.0 min～21.0 min	A: 5→60	B: 95→40
				21.0 min～25.0 min	A: 60	B: 40
ACQUITY UPLC BEH C18, Waters (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)	5 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.25	45	0.0 ~ 4.8 min	A: 70→5	B: 30→95
	アセトニトリル			4.8 min～5.4 min	A: 5	B: 95
				5.4 min～5.5 min	A: 5→70	B: 95→30
ZORBAX Eclipse Plus C18, Agilent (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2	40	0.0 ~ 20.0 min	A: 70→10	B: 30→90
	アセトニトリル			20.0 min～25.0 min	A: 10	B: 90
				25.0 min～25.1 min	A: 10→70	B: 90→30
InertSustain C18, GL Science (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.35	40	0.0 ~ 1.0 min	A: 75	B: 25
	アセトニトリル			1.0 min～16.0 min	A: 75→2	B: 25→98
				16.0 min～20.0 min	A: 2	B: 98
				20.0 min～20.1 min	A: 2→75	B: 98→25
				20.1 min～22.5 min	A: 75	B: 25
InertSustain C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2	40	0.0 ~ 20.0 min	A: 75→0	B: 25→100
	アセトニトリル			20.0 min～23.0 min	A: 0	B: 100
				23.0 min～23.1 min	A: 0→75	B: 100→25
				23.1 min～30.0 min	A: 75	B: 25

表1 続き

Atlantis T3, Waters (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2	40	0.0 ~ 20.0 min	A: 70→5	B: 30→95
	アセトニトリル			20.0 min〜23.0 min	A: 5	B: 95
				23.0 min〜23.1 min	A: 5→70	B: 95→30
				23.1 min〜25.0 min	A: 70	B: 30
InertSustainSwift C18 HP, GL Science (2.1 mm×100 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L ぎ酸アンモニウム (0.1 %ぎ酸含有)	0.3	40	0.0 ~ 3.0 min	A: 70	B: 30
	メタノール			3.0 min〜10.0 min	A: 70→0	B: 30→100
				10.0 min〜15.0 min	A: 0	B: 100
				15.0 min	A: 0→70	B: 100→30
				15.0 min〜20.1 min	A: 70	B: 30
ACQUITY UPLC C18, Waters (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)	2 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.3	40	0.0 ~ 8.0 min	A: 99→5	B: 1→95
	アセトニトリル			8.0 min〜9.0 min	A: 5	B: 95
				9.0 min〜9.1 min	A: 5→99	B: 95→1
InertSustain C18 HP, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 μm)	10 mmol/L 酢酸アンモニウム	0.2	40	0.0 ~ 1.5 min	A: 60	B: 40
	アセトニトリル			1.5 min〜10.0 min	A: 60→0	B: 40→100
				10.0 min〜12.0 min	A: 0	B: 100
				12.0 min〜12.2 min	A: 0→60	B: 100→40
				12.2 min〜20.0 min	A: 60	B: 40