

硫青酸化物・亜硝酸・スルファミン酸
イオンクロマトグラフ法 (1) の分析法と妥当性の確認試験の結果
＜JFFIA 1-SCN、JFFIA 1-NO₂、JFFIA 1-AS acid＞

【分析法】

1. 概要

この分析はスルファミン酸では有機物を含まない肥料に適用する。硫青酸化物（チオシアン酸アンモニウム）および亜硝酸ではすべての肥料に適用する。この分析法の識別記番号は、JFFIA 1-SCN（硫青酸化物）、JFFIA 1-NO₂（亜硝酸）、JFFIA 1-AS acid（スルファミン酸）。

分析試料に水を加えて、スルファミン酸、硫青酸化物および亜硝酸を抽出し、イオンクロマトグラフに導入し、Thermo Fisher Scientific 社製 AS20 カラム（グラフト型 4 級アルカノールアミン類）およびサプレッサーを用いて、水酸化カリウム溶離液を 5～47 mmol/L に濃度変化（グラジエント溶出）させることで各成分を分離し、電気伝導度検出器で測定する。

2. 装置・器具

- 1) イオンクロマトグラフ (IC) : Thermo Fisher Scientific 社製 Integriion RFIC
カラム : Dionex IonPac AS20
ガードカラム : Dionex IonPac AG20
- 2) マグネチックスターラー
- 3) pH 計
- 4) メンブレンフィルター : ADVANTEC DISMIC-13HP (孔径 0.45 μm)

3. 試薬等

- 1) 水 : 水道水を水精製装置で精製した JIS K 0557 に規定する A4 の水を用いる。
- 2) スルファミン酸標準液 (1000 mg/L) : JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質アミド硫酸 0.5 g を秤量し (0.1 mg の桁まで測定)、全量フラスコ 500 mL に入れて少量の水を加えて溶かした上で、標線まで水を加える。
- 3) 硫青酸化物標準液 (1000 mg/L) : 特級チオシアン酸アンモニウム (富士フィルム和光純薬(株)) 0.5 g を秤量し (0.1 mg の桁まで測定)、全量フラスコ 500 mL に入れて少量の水を加えて溶かした上で、標線まで水を加える。
- 4) 亜硝酸標準液 (HNO₂ 1000mg/L) : 特級亜硝酸ナトリウム (富士フィルム和光純薬(株)) 0.734g を秤量し (0.1 mg の桁まで測定)、全量フラスコ 500 mL に入れて少量の水を加えて溶かした上で、標線まで水を加える。
- 5) pH 調製溶液 (0.02 mol/L 溶液) : 特級炭酸ナトリウム (富士フィルム和光純薬(株)) を水に溶かし、2.12 g/L (0.02 mol/L) となるよう調製する。また別に、水に特級硫酸 (富士フィルム和光純薬(株)) を加え、1.96 g/L (0.02 mol/L) となるよう調製する。

- 6) **混合標準液 (10 mg/L)** : 上記 2) 標準液 5 mL をビーカーにとり適量の水を入れた後、pH 計を用いて pH5~7 となるよう pH 調製溶液で調製する。この液をすべて全量フラスコ 500 mL に入れた後、上記 3) 標準液 5 mL および上記 4) 標準液 5 mL を加え、標線まで水を加える。
- 7) **検量線用混合標準液 (0.5~5 mg/L)** : 上記 6) 標準液 5~50 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。
- 8) **検量線用混合標準液 (0.05~0.25 mg/L)** : 上記 7) で調製した標準液 (1 mg/L の液) 5~25 mL を全量フラスコ 100 mL にとり、標線まで水を加える。

4. 試料溶液の調製

分析試料 1.00g を共栓三角フラスコ 200 mL にはかりとり、水 100 mL を加え、マグネチックスターラーを用いて約 10 分間かき混ぜた後、pH 計で測定し、pH 5~7 となるよう pH 調製溶液で調製する。この液を全量フラスコ 200 mL に移し、標線まで水を加えた後、ろ紙 3 種でろ過したろ液を抽出液とする。

抽出液から 20 mL 分取し、全量フラスコ 100 mL に入れ標線まで水を加えて希釈する。この希釈液をメンブレンフィルター (孔径 0.45 μ m) でろ過した液を測定用試料溶液とする。

なお、家庭園芸用複合肥料などの肥料の主成分が低濃度の測定が必要な試料の場合は、希釈操作を省略し、抽出液をメンブレンフィルター (孔径 0.45 μ m) でろ過した液を測定用試料溶液とする。

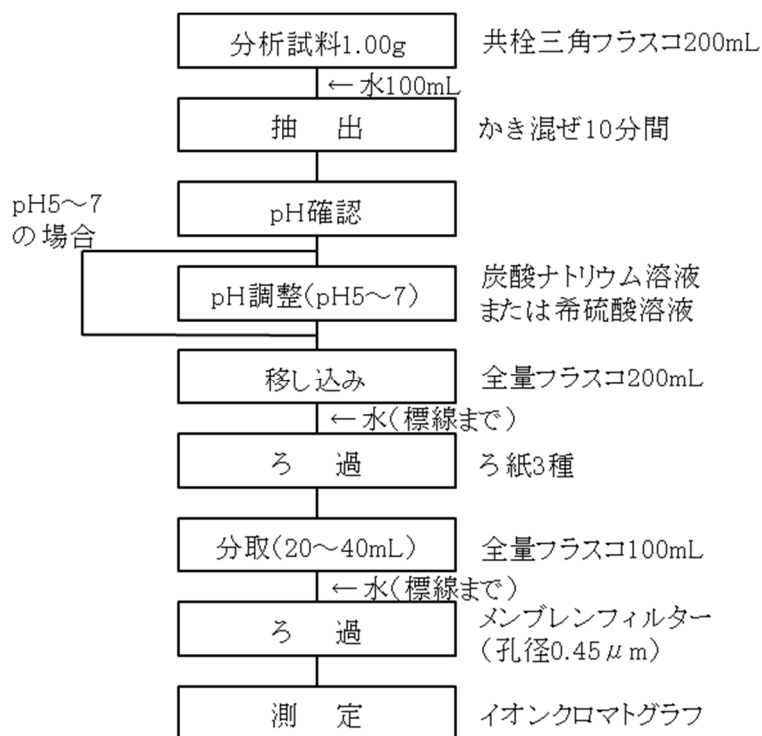


図1 試料溶液の調製方法

5. 測定

(5.1) 測定条件

測定は、表 1 および表 2 のとおり条件を設定して行う。具体的な測定操作は、使用する IC の操作方法による。

表 1 測定条件

カラム	Dionex IonPac AS20 (グラフト型 4 級アルカノールアミン類) 内径 4 mm×長さ 250 mm、基材直径 7.5 μ m
ガードカラム	Dionex IonPac AG20 内径 4 mm×長さ 50 mm、基材直径 11 μ m
カラム槽温度	35 $^{\circ}$ C
溶離液	水酸化カリウム (濃度グラジエント溶出 (表 2))
流速	1.5 mL/min
サプレッサー	AERS-500 (リサイクルモード 179 mA)
検出器	電気伝導度検出器
注入量	25 μ L

表 2 水酸化カリウム溶離液のグラジエント条件

時間 (分)	KOH 濃度 (mmol/L)
-7.0	5.0
0.0	5.0
6.0	5.0
25.0	47.0
30.0	47.0

(5.2) 検量線の作成

- 1) 上記 3. 4) ~6) で調製した検量線用スルファミン酸標準液を、IC に注入する。
- 2) ピーク面積またはピーク高さから二次回帰曲線にて検量線を作成する。

(5.3) 試料の測定

- 1) 検量線用混合標準液に続いて、測定用試料溶液を同様に測定する。
- 2) 試料の各成分のピーク形状、リテンションタイム、ベースラインの安定性、近接ピークの有無等を確認した上で、ピーク面積またはピーク高さから検量線より濃度を算出する。

6. 計算方法

濃度の計算は次のとおりとし、%（質量分率）で表す。

$$\text{濃度（\%）} = \text{測定値(mg/L)} \times (200 \text{ mL} / \text{試料の量 (1.00 g)} \times 100 \text{ mL} / 20 \text{ mL}) / 10,000$$

【妥当性の確認試験の結果】

1. 適用範囲

本分析法の適用範囲は表 3 のとおりである。妥当性の確認試験は、肥料等試験法 (2016) 別添 試験法の妥当性確認の手順によっておこなった。

表 3 適用範囲

成分名	適用試料	濃度範囲 (%) 1)	妥当性を確認した試験室	試験方法
硫青酸化物	肥料	定量下限~1.0 程度	当協会 本部	イオンクロマト グラフ法 (1)
亜硝酸	肥料	定量下限~4.0 程度		
スルファミン酸	有機物を含 まない肥料	定量下限~1.0 程度		

1) 質量分率

2. 選択性

分析法の表 1 および表 2 に示した測定条件において、硫青酸化物・亜硝酸・スルファミン酸の同時定量に影響するピークがないことを確認できた。

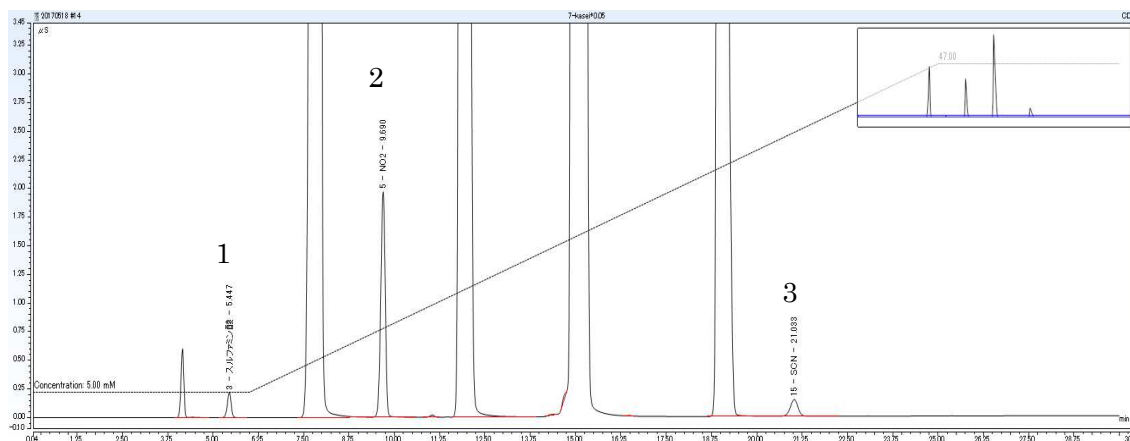


図 2 化成肥料のクロマトグラムおよびグラジエント勾配

注) 1 : スルファミン酸 0.5 mg/L (5.4 分) 2 : 亜硝酸 2mg/L (9.7 分)

3 : 硫青酸化物 0.5 mg/L (21.0 分)

3. 検量線

検量線用混合標準液で調製した 8 点(スルファミン酸および硫青酸化物 0.05~10 mg/L、亜硝酸 0.2~40 mg/L) を面積法で測定し、得られたピーク面積から検量線を作成した。

その結果、スルファミン酸および硫青酸化物は 0.05~10 mg/L の範囲で、亜硝酸は 0.2~40 mg/L の範囲で二次回帰曲線によって高い決定係数 (r^2) が得られた。

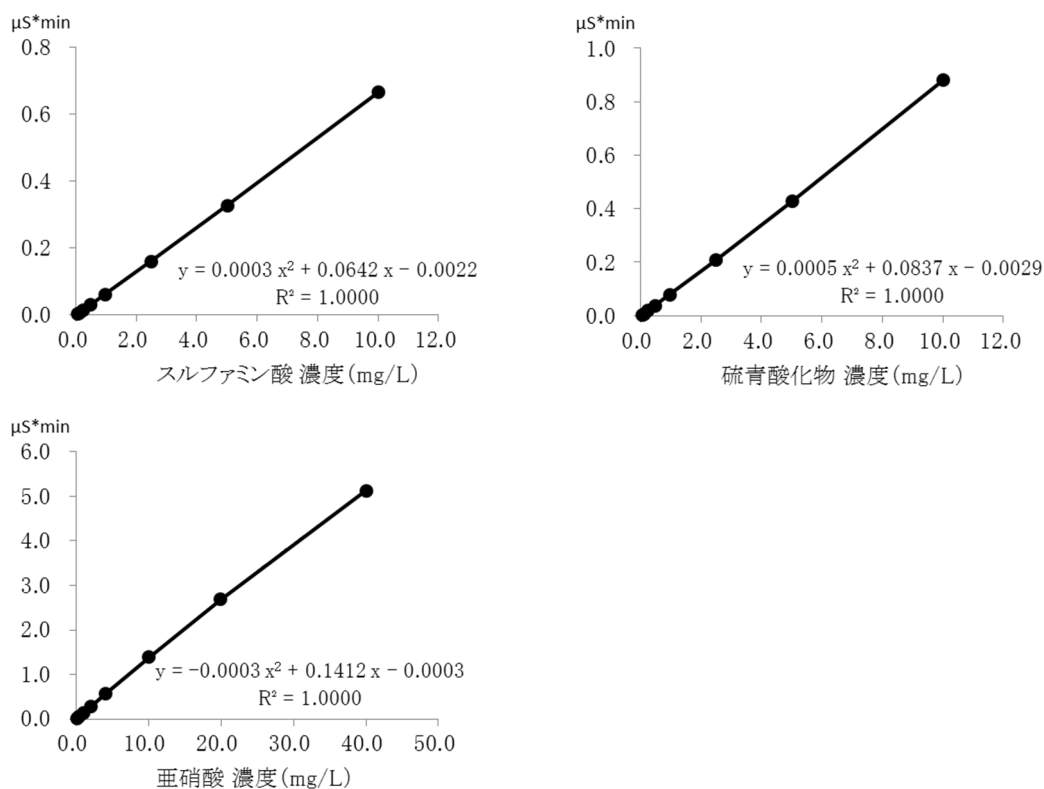


図3 検量線（面積法）の結果

4. 真度

硫酸アンモニア、化成肥料、液状窒素肥料、副産窒素肥料および副産複合肥料の 5 種類 (スルファミン酸は、硫酸アンモニア、化成肥料、液状窒素肥料の 3 種類) の肥料を用いて、3 点併行による添加回収試験を実施した。

普通肥料の一つである副産複合肥料は、窒素、りん酸又は加里のそれぞれの最も大きい主成分の量の合計量が、公定規格で定められた最小の 5% (質量分率) であった場合、スルファミン酸および硫青酸化物の含有許容量は 0.025% (質量分率) であり、亜硝酸は 0.1% (質量分率) であることから、添加濃度はこれを基準として、その 1/2.5、1 および 4 倍の含有量とした。

その結果、表 4 のとおりいずれも肥料等試験法 (2016) に示される真度 (回収率) の目標以内であった。

表 4 真度の評価の結果

試料	スルファミン酸			真度の 目標(%)
	添加濃度 (%) ³⁾	回収率 ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)	
硫酸アンモニア	0.01	99.2	1.4	80~115
	0.025	93.7	0.7	80~115
	0.1	102.4	0.8	85~110
化成肥料	0.01	94.3	1.8	80~115
	0.025	97.0	1.5	80~115
	0.1	107.2	0.3	85~110
液状窒素肥料	0.01	106.4	1.6	80~115
	0.025	97.8	1.1	80~115
	0.1	100.9	0.5	85~110

- 1) 3回併行の平均値
- 2) 相対標準偏差
- 3) 質量分率

試料	硫青酸化物				亜硝酸			
	添加濃度 (%) ³⁾	回収率 ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)	真度の 目標(%)	添加濃度 (%) ³⁾	回収率 ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)	真度の 目標(%)
硫酸アンモニア	0.01	104.9	2.7	80~115	0.04	102.0	2.9	80~115
	0.025	96.6	0.8	80~115	0.1	98.4	0.8	85~110
	0.1	102.3	0.7	85~110	0.4	101.9	0.5	85~110
化成肥料	0.01	105.3	3.3	80~115	0.04	107.0	0.5	80~115
	0.025	97.1	1.2	80~115	0.1	100.2	0.2	85~110
	0.1	99.7	0.3	85~110	0.4	102.6	0.0	85~110
液状窒素肥料	0.01	102.3	0.2	80~115	0.04	98.1	0.3	80~115
	0.025	95.8	0.1	80~115	0.1	97.9	0.1	85~110
	0.1	99.9	0.8	85~110	0.4	99.3	0.1	85~110
副産窒素肥料	0.01	95.5	0.9	80~115	0.04	100.5	0.4	80~115
	0.025	102.0	1.9	80~115	0.1	98.0	0.4	85~110
	0.1	102.0	0.6	85~110	0.4	101.7	0.2	85~110
副産複合肥料	0.01	102.0	3.3	80~115	0.04	102.8	1.1	80~115
	0.025	98.8	1.9	80~115	0.1	99.0	0.6	85~110
	0.1	105.9	0.4	85~110	0.4	102.2	0.2	85~110

5. 精度

併行精度および中間精度を確認するために、硫酸アンモニア、化成肥料および副産複合肥料（スルファミン酸は、硫酸アンモニアおよび化成肥料）を用いて、表 5 に示す各成分の濃度相当量を添加した上で、2 点併行で日を変えて 5 回の分析をおこなった。

分析結果を基に一元配置分散分析を行って得られた併行精度（併行相対標準偏差）および中間精度（中間相対標準偏差）は、肥料等試験法（2016）に示される目安以内であった。

表 5 日を変えての中間精度の評価の結果

成分名	試料	添加濃度 (%) ⁸⁾	平均値 ¹⁾ (%) ⁸⁾	併行精度			中間精度		
				S_r ²⁾ (%) ⁸⁾	RSD_r ³⁾ (%)	$CRSD_r$ ⁴⁾ (%)	$S_{I(T)}$ ⁵⁾ (%) ⁸⁾	$RSD_{I(T)}$ ⁶⁾ (%)	$CRSD_{I(T)}$ ⁷⁾ (%)
スルファミン酸	硫酸アンモニア	0.1	0.101	0.0014	1.4	4	0.0016	1.5	6.5
	化成肥料	0.05	0.048	0.0003	0.7	4	0.0007	1.5	6.5
硫青酸化物	硫酸アンモニア	0.1	0.099	0.0003	0.3	4	0.0009	0.9	6.5
	化成肥料	0.05	0.048	0.0003	0.5	4	0.0007	1.6	6.5
	副産複合肥料	0.025	0.025	0.0006	2.4	4	0.0013	5.2	6.5
亜硝酸	硫酸アンモニア	0.4	0.398	0.0000	0.0	4	0.0030	0.7	6.5
	化成肥料	0.2	0.197	0.0004	0.2	4	0.0026	1.3	6.5
	副産複合肥料	0.1	0.098	0.0011	1.1	4	0.0053	5.4	6.5

1) n=10(2点併行×試験5回)

2) 併行標準偏差

3) 併行相対標準偏差

4) 併行相対標準偏差の目安

5) 中間標準偏差

6) 中間相対標準偏差

7) 中間相対標準偏差の目安

8) 質量分率

6. 定量下限・検出下限の推定

定量下限および検出下限を推定するために、硫酸アンモニアにスルファミン酸および硫青酸化物を 0.005 % (質量分率) 相当量、亜硝酸を 0.02 % (質量分率) 相当量添加し、家庭園芸用複合肥料には、スルファミン酸および硫青酸化物を 0.001 % (質量分率) 相当量、亜硝酸を 0.004 % (質量分率) 相当量添加して、7点併行で分析を行った。

なお、定量下限は(標準偏差)×10、検出下限は(標準偏差)×2× $t(n-1,0.05)$ を用いて算出した。

その結果、公定規格における規格適合性の評価をし得るのに十分な定量下限を有していることが確認された。

表 6 定量下限ならびに検出下限の推定

成分名	試料	添加濃度 (%) ⁶⁾	平均値 ¹⁾ (%) ⁶⁾	回収率 ²⁾ (%)	S_r ³⁾ (%) ⁶⁾	LOQ ⁴⁾ (%) ⁶⁾	LOD ⁵⁾ (%) ⁶⁾
スルファミン酸	硫酸アンモニア	0.005	0.0050	100.4	0.00008	0.0008	0.0003
	家庭園芸用複合肥料	0.001	0.0009	92.3	0.000009	0.0001	0.00003
硫青酸化物	硫酸アンモニア	0.005	0.0048	95.7	0.00016	0.0016	0.0006
	家庭園芸用複合肥料	0.001	0.0009	93.9	0.000025	0.0002	0.00010
亜硝酸	硫酸アンモニア	0.02	0.0192	96.1	0.000042	0.0004	0.0002
	家庭園芸用複合肥料	0.004	0.0039	97.2	0.000016	0.0002	0.00006

1) 7点併行

2) (平均値/添加濃度)×100

3) 標準偏差

4) 定量下限($LOQ=S_r \times 10$)

5) 検出下限($LOD=S_r \times 2 \times t(n-1,0.05)$)

6) 質量分率

7. 頑健性

試料溶液が酸性を示すとスルファミン酸と亜硝酸と反応して定量値が不安定となる恐れがあるため、検量線用標準液および供試肥料の試料溶液を調製する際は pH 計を用いて pH5～7 に調製することとした。

また、肥料は電解物質が多いため、高濃度の試料をカラムに導入するとベースラインの乱れやマトリックスイオンにより一部の物質のピークが小さくなるマイクログラジエント溶出作用という現象が生じる恐れがある。検討の結果、分析法では、分析試料 1.00 g に対して 1000 倍の水量で希釈することとしている。

8. 結果の公表

本分析法ならびに妥当性の確認試験の結果の一部は、下記に公表されている。

篠村 善徳, 引地 典雄, 今川 俊明 (2018) : イオンクロマトグラフ法による肥料中のスルファミン酸およびチオシアン酸塩の同時定量.

日本土壌肥料学雑誌 89 巻 5 号 p. 379-383

https://doi.org/10.20710/dojo.89.5_379