

### 3 イオンクロマトグラフィーによる硫酸イオンの測定法の開発

坂井田里子<sup>1</sup>, 小塚健志<sup>2</sup>, 白井裕治<sup>1</sup>

**キーワード** イオンクロマトグラフィー (IC 法), 硫酸イオン, サプレッサー法

#### 1. はじめに

硫黄はシステインやメチオニンなど含硫アミノ酸に含まれタンパク質の必須成分であるほか、脂肪酸代謝に必須な成分に含まれるなど、生物には必須元素であり、植物では硫酸イオンの形態で吸収される<sup>1)</sup>。火山国である日本は、火山性土壌が多くを占めており硫黄分が豊富に含まれていること、水稻においては昔から硫酸アンモニウムなど硫酸塩を含む肥料が施肥されていたことから、硫黄欠乏しにくいと考えられ、むしろ硫化水素を原因としたいわゆる「秋落ち」が、問題視されていた。しかし、近年水稻では一発肥料の施肥による省力化や、施肥量低減を目的として、ペースト肥料が多く使われるようになった結果、硫酸塩を含む肥料の使用量が減少しており、その結果国内各地で水稻の硫黄欠乏の事例が報告されるようになった<sup>2,3)</sup>。一方で、火山性泥流地帯などでは依然として硫黄過剰による「秋落ち」が報告されており<sup>4)</sup>、硫黄の欠乏、過剰いずれの事例においても投入される肥料中の硫酸塩を評価することは重要である。

肥料中の硫酸塩の評価方法については、肥料等試験法において塩化バリウム法が掲載されている<sup>5)</sup>。しかし重量法であり測定に時間がかかる上、操作に熟練を要する。これらをふまえ、無機陰イオン測定法として広く使われているイオンクロマトグラフィー (IC 法) を用いて硫酸塩を硫酸イオンとして測定する方法を検討し、測定法の単一試験室による妥当性確認を行ったので概要を報告する。

#### 2. 材料及び方法

##### 1) 試料の調製

###### (1) 流通肥料等

流通している肥料等について、普通肥料 29 種類 38 点、特殊肥料 6 種類 7 点、材料 4 種類 5 点、計 50 点を用いた。詳細を Table 1 に示した。液状肥料はそのまま分析用試料とし、液状肥料以外については汚泥発酵肥料及び堆肥についてのみ 40 °C で 60~70 時間乾燥し、その後すべて目開き 500  $\mu\text{m}$  のふるいを通過するまで粉砕したものを分析用試料とした。

###### (2) 調製肥料

添加回収試験用試料の原料配合割合及び成分設計を Table 2 に示した。これらの原料は JIS 規格に規定されている特級の試薬を使用し、目開き 500  $\mu\text{m}$  のふるいを通過するまで粉砕したものを使用した。

<sup>1</sup> 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

<sup>2</sup> 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 (現) 神戸センター

Table 1 Commercial fertilizers and others

1) Ordinary fertilizer		
Ammonium sulfate	Annomium humate fertilizer	Guanyl urea sulfate
Superphosphate	Triple superphosphate	Phosphate fumate fertilizer
Mixed phosphate fertilizer	Potassium sulfate	Potassium magnesium sulfate
Potassium humate fertilizer	Fish meal	Dried fish meal
Crustacean meal	Flesh-bone meal	Steamed Bone Meal
Soybean cake (meal)	Nitrogenous guano	Complex fertilizer
Mixed fertilizer	Liquid compound fertilizer	Magnesium sulfate fertilizer
Magnesium humate fertilizer	Manganese sulfate fertilizer	Boric acid fertilizer
Raw sewage sludge fertilizer	Industrial sewage sludge fertilizer	Composted sludge fertilizer
Sulfur and sulfur compound	Designated mixed fertilizer	
2) Special fertilizer		
Bone black	Bone ashes	Ashes of burned poultry waste
Manure	Manure(fermented poultry waste)	Guano
Calcium sulfate dehydrate		
3) Materials		
Bentonite	Clay	Zeolite
Talc		

Table 2 The preparation of analytical samples

Sample for recovery test	The mixing ratio of the materials (%) <sup>a)</sup>			Design component (%) <sup>a)</sup>			
	Ammonium Dihydrogenphosphate (NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Potassium Chloride (KCl)	Ammonium Sulfate ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
1	-	-	100	21.2	-	-	72.7
2	22.5	22.5	55.0	14.4	13.9	14.2	40.0
3	36.2	36.2	27.5	10.2	22.4	22.9	20.0
4	18.1	68.1	13.8	5.1	11.2	43.0	10.0
5	46.6	46.6	6.9	7.1	28.7	29.4	5.0
6	1.8	96.8	1.4	0.5	1.1	61.2	1.0

a) Mass fraction

**2) 試薬等の調製**(1) 硫酸イオン標準液(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 1 mg/mL): JCSS 硫酸イオン標準液(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 1000 mg/L) (関東化学)

(2) 検量線用硫酸イオン標準液(0.2 mg/L ~ 5 mg/L): 硫酸イオン標準液の一定量を水で希釈して調製した。

(3) 炭酸緩衝溶液 pH=10 (溶離液): JIS K 8625 に規定する特級の炭酸ナトリウム(関東化学)0.191 g 及び JIS K 8622 に規定する特級の炭酸水素ナトリウム(富士フィルム和光純薬)0.143 g を水に溶かして 1000 mL とした。

(4) 塩酸: 富士フィルム和光純薬;有害金属測定用

(5) 塩酸(1+35): 塩酸の体積 1 と水の体積 35 とを混合したもの。

(6) 硫酸: 富士フィルム和光純薬;有害金属測定用

- (7) 硫酸アンモニウム: JIS K 8960 に規定する試薬(関東化学;特級)  
 (8) リン酸二水素アンモニウム: JIS K 9006 に規定する試薬(関東化学;特級)  
 (9) 塩化カリウム: JIS K 8121 に規定する試薬(富士フイルム和光純薬;特級)  
 (10) 硫酸カルシウム二水和物: 富士フイルム和光純薬;和光一級(純度 98 %以上)  
 (11) 水: 超純水製造装置(MILLIPORE Direct-Q 5 UV)で精製した JIS K 0557 に規定する A4 の水を用いた.

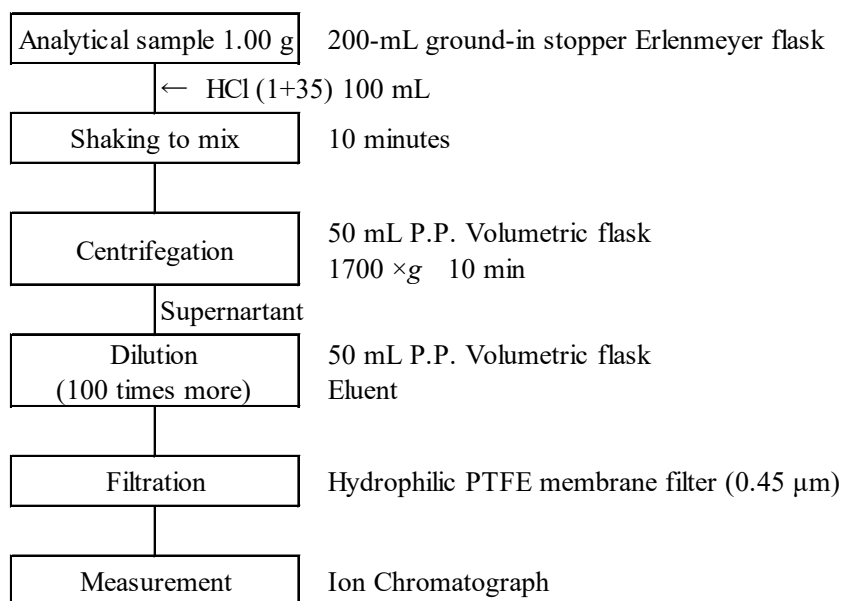
### 3) 器具及び装置

- (1) 振とう機: TAITEC SR-2DW  
 (2) 遠心分離機: KUBOTA テーブルトップ遠心機 4000  
 (3) イオンクロマトグラフ(IC): メトローム 850 Professional IC ケミカルサプレッサー方式  
 (4) カラム: Shodex IC SI-90 4E(内径 4.0 mm, 長さ 250 mm, 粒径 9  $\mu\text{m}$ , 充填剤 ポリビニルアルコール基材に第 4 級アンモニウム基を化学結合した陰イオン交換体)  
 (5) メンブレンフィルター: ADVANTEC 製 DISMIC-13HP(孔径 0.45  $\mu\text{m}$ )  
 (6) ポリプロピレン製ねじ口容器: ジーエルサイエンス DigiTUBEs 50 mL  
 (7) pH メーター: HORIBA pH メーター F-54

### 4) 試験操作

#### (1) 試料溶液の調製

分析試料 1.00 g を共栓三角フラスコ 200 mL にはかりとり, 塩酸(1+35) 100 mL を加え, 振とう機を用いて約 300 往復/分(振幅 40 mm)で 10 分間振とう後, ポリプロピレン製ねじ口容器 50 mL に内容量を移し, 1700 $\times$ g で 10 分間遠心し, 上澄み液を抽出液とした. ポリプロピレン製ねじ口容器 50 mL を用い, 抽出液を溶離液で 100 倍以上に希釈し, メンブレンフィルター(孔径 0.45  $\mu\text{m}$ )でろ過し, 試料溶液とした(Scheme 1). なお, 抽出液の塩酸(1+35)の検討については後述する.



Scheme 1 Flow sheet for sulfate ion

## (2) 試料溶液の測定

各検量線用標準液 20  $\mu\text{L}$  を IC に注入し、得られたピーク面積またはピーク高さから検量線を作成した。試料溶液 20  $\mu\text{L}$  を IC に注入し、ピーク面積またはピーク高さから検量線により試料溶液中の硫酸イオン濃度を求め、分析試料中の濃度を算出した。

なお、IC の測定条件を Table 3 に示した。

Table 3 Analytical condition

Detection	Conductivity detector
Suppressor	Chemical suppressor (Column type), $\text{CO}_2$ suppressor
Column	Shodex IC SI-90 4E (4.0 mm i.d., 250 mm L, 9 $\mu\text{m}$ particle size)
Eluent	1.8 mmol/L Sodium carbonate + 1.7 mmol/L Sodium bicarbonate
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 $\mu\text{L}$
Column temp.	25 $^\circ\text{C}$

## 3. 結果及び考察

## 1) 機器測定条件の検討

リン酸水素二アンモニウム及び硫酸アンモニウムを用いて水溶性りん酸 30.6 %、硫酸イオン 31.3 % に調製した試料を水で抽出及び希釈して試料溶液を作成し、Shodex のカラムのテクニカルレポート<sup>6)</sup>を参考に測定条件を設定し測定したクロマトグラムを Figure 1 に示した。当該カラムでは硫酸イオンのピークの前にリン酸イオンのピークが生じるが、両ピークの分離度は 2.842 となり、硫酸イオンピーク形状も良好で、1 試料につき 20 分程度で測定できた。

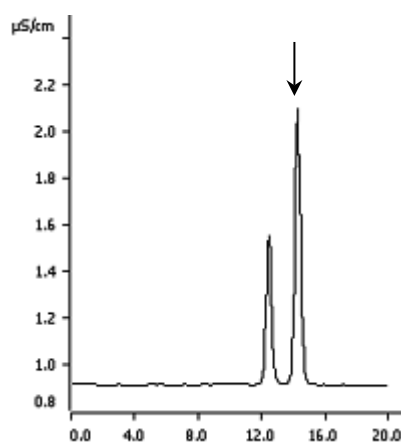


Figure 1 Chromatogram  
(Arrow: sulfate ion peak)

また、0.05 mg/L ~ 10 mg/L 相当量の検量線用標準液を調製し、2. 4) (2) の条件で測定して得られた面積を用いて検量線を作成したところ、濃度が高くなるに従い応答値の上昇が大きくなる検量線となった (Figure 2)。サブレッサー法で炭酸系溶離液を使用した場合、今回のように直線性が得られない場合があることが知られている<sup>7)</sup>。

そのため、本法の検量線は二次式を用いることとした。

標準液の範囲によっては高濃度の影響を受け、低濃度では実際の濃度と検量線で算出した濃度に乖離する場合があったので、検量線の濃度範囲について検討した。標準液の濃度範囲を変えて検量線を作成し、再度低濃度の標準液を測定し、調製濃度と測定値を比較した (Table 4)。その結果、0.2 mg/L～5 mg/L で検量線を作成した場合、標準液濃度に対する測定値の割合が最も 100% に近かったことから、検量線作成の標準液濃度を 0.2 mg/L～5 mg/L とした。

0.2 mg/L～5 mg/L の範囲で作成した検量線の決定係数 ( $r^2$ ) はピーク面積及びピーク高さいずれの検量線においても 0.999 以上を示した (Figure 3)。

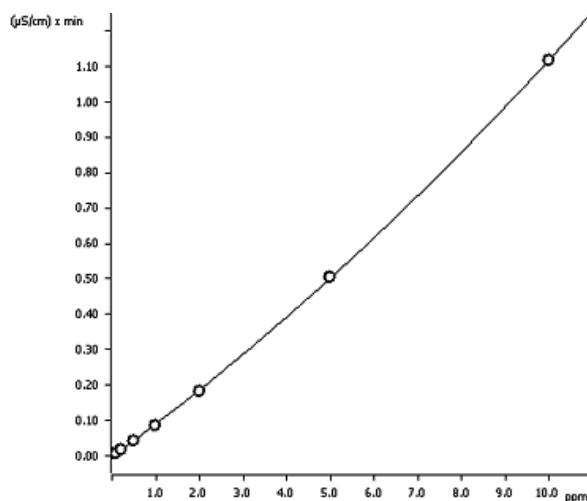


Figure 2 Calibration curve (concentration range 0.05 mg/L～10 mg/L)

Table 4 Relationship between the calibration curve concentration range and the measured value

Calibration curve concentration range (mg/L)	Measuring standard solution (mg/L)									
	0.05		0.1		0.2		0.5		1	
	Measured value <sup>a)</sup> (mg/L)	Ratio <sup>b)</sup> (%)	Measured value <sup>a)</sup> (mg/L)	Ratio <sup>b)</sup> (%)	Measured value <sup>a)</sup> (mg/L)	Ratio <sup>b)</sup> (%)	Measured value <sup>a)</sup> (mg/L)	Ratio <sup>b)</sup> (%)	Measured value <sup>a)</sup> (mg/L)	Ratio <sup>b)</sup> (%)
0.05 ~ 10	0.077	(153)	0.119	(119)	0.212	(106)	0.494	(99)	0.96	(96)
0.1 ~ 10	-	-	0.129	(129)	0.221	(111)	0.502	(100)	0.96	(96)
0.2 ~ 10	-	-	-	-	0.232	(116)	0.511	(102)	0.97	(97)
0.5 ~ 10	-	-	-	-	-	-	0.532	(106)	0.99	(99)
0.1 ~ 5	-	-	0.106	(106)	0.204	(102)	0.502	(100)	0.99	(99)
0.2 ~ 5	-	-	-	-	0.206	(103)	0.503	(101)	0.99	(99)

a)  $n=4$

b) Ratio of measured standard solution

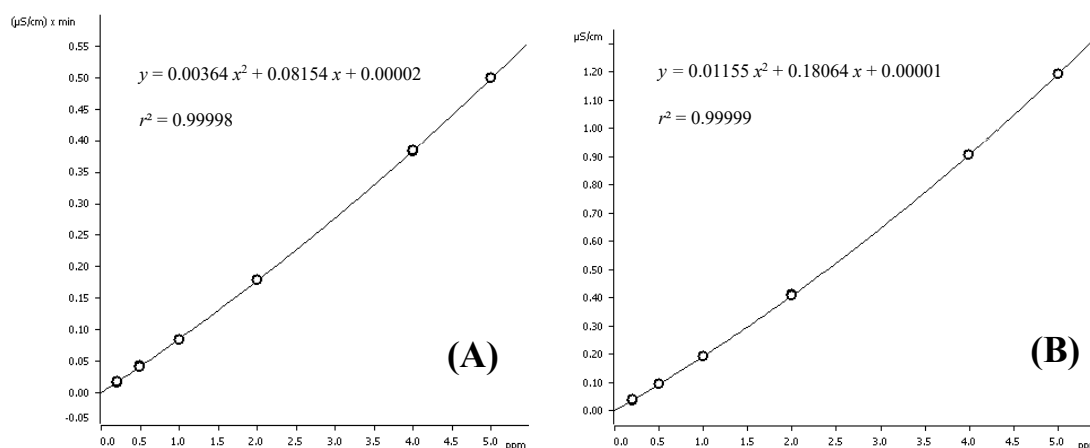


Figure 3 Calibration curve (concentration range 0.2 mg/L~5 mg/L)

(A): Calculated from peak area (B): Calculated from peak height

## 2) 抽出方法の検討

硫酸イオンは多くの金属元素と安定な塩をつくる。大部分は水溶性だが、アルカリ土類金属塩、鉛塩、銀塩などは難溶であることが知られている<sup>8)</sup>。肥料中に含まれる硫酸塩のうち、硫酸アンモニアや硫酸苦土肥料などに含まれる硫酸塩は水溶性であるが、過りん酸石灰、重過りん酸石灰や石こう等に含まれる硫酸カルシウムは水に難溶で酸に溶解する。そこで、硫酸カルシウム二水和物を用い、抽出方法の検討を行った。抽出液として、土壌中の可給態硫黄を測定する方法を参考に<sup>9, 10)</sup> 0.01 mol/L リン酸二水素カルシウム、肥料等試験法の可溶性成分抽出に用いられている塩酸(1+23)及び水を用いて予備検討を行った。硫酸カルシウム二水和物 1 g に各液 100 mL 加え、10 分間スターラーで抽出したところ、水及び 0.01 mol/L リン酸二水素カルシウムを用いた場合には溶解残りが認められたが、塩酸(1+23)を用いたところすべて溶解した。今回使用したカラムでは硫酸イオンのピークの直前にりん酸イオンのピークがあり、りん酸二水素カルシウムの濃度を高めるとピークが重なる恐れがあったことから、希塩酸で抽出を検討することとした。

硫酸カルシウム二水和物並びに流通肥料の過りん酸石灰、重過りん酸石灰及び石こう各 1 g に塩酸濃度を段階的に変えた抽出液を各 100 mL 加え 10 分間振とうし、水で適宜希釈したものをイオンクロマトグラフィーで測定した。Table 5 に示すとおり、塩酸(1+35)まではほぼ同じ定量値を示したが、より薄い濃度では定量値の低下が認められたことから、塩酸(1+35)で抽出を行うこととした。なお、塩酸(1+35)は約 0.3 mol/L に相当する。

Table 5 Relationship between hydrochloric acid concentration and measured value

Extraction solution	Calcium sulfate dihydrate <sup>a)</sup>		Superphosphate		Triple superphosphate		Calcium sulfate dehydrate	
	Analytical value (%) <sup>b)</sup>	Ratio (%) <sup>c)</sup>	Analytical value (%) <sup>b)</sup>	Ratio (%) <sup>c)</sup>	Analytical value (%) <sup>b)</sup>	Ratio (%) <sup>c)</sup>	Analytical value (%) <sup>b)</sup>	Ratio (%) <sup>c)</sup>
HCl(1+11)	55.4	(100)	41.1	(100)	4.7	(100)	49.7	(100)
HCl(1+23)	55.6	(100)	41.3	(101)	4.6	(98)	49.5	(99)
HCl(1+35)	54.7	(99)	41.3	(101)	4.7	(99)	48.7	(98)
HCl(1+47)	50.7	(92)	40.4	(98)	4.7	(99)	47.3	(95)
HCl(1+71)	39.8	(72)	—	—	—	—	—	—
HCl(1+95)	33.5	(60)	—	—	—	—	—	—
Water	12.4	(22)	—	—	—	—	—	—

a) Theoretical concentration of sulfate ions in calcium sulfate dihydrate:55.8 %

b) Mass fraction

c) Ratio of analytical value extracted with HCl(1+11)

### 3) 希釈方法の検討

抽出に使用する塩酸(1+35)の pH は約 0.5 である一方、今回使用しているカラムの適用 pH は 3~12 であることから、測定液を適切な pH に調製する必要がある。水を使用して希釈した場合、pH を 3 以上に調整するには理論的には 300 倍程度希釈する必要がある。希釈倍率が高くなると定量下限が高くなるため、希釈倍率をより低く検討する必要がある。カートリッジカラムを使用する方法もあるが、コストや手間がかかる。そこで、機器測定の前液が pH 10 の緩衝溶液であることに着目し、前液を用いて希釈し測定することを検討した。

硫酸カルシウム二水和物を使用し、水または前液を用いて希釈した場合の pH を Table 6 に示した。その結果、水で希釈した場合、250 倍希釈では pH が 3 未満となるが、前液では 100 倍希釈でも pH は 3 以上であった。そこで、水で 625 倍に希釈した試料溶液と前液で 100 倍に希釈した試料溶液の濃度が同程度になるように硫酸カルシウム二水和物を添加し、調製した試料溶液を測定した (Figure 4)。その結果、保持時間及びピーク形状に大きな差はなく、測定値にも差は認められなかった。重過りん酸石灰、化成肥料、硫酸苦土肥料、指定配合肥料及び石こうを分析したところ、前液で希釈しても沈殿物は認められず、Table 7 に示したとおり定量値に差が認められなかったことから、本法では前液を用いて 100 倍以上で希釈することとした。

Table 6 Relationship between diluent and pH (pH)

Diluent	Dilution ratio				Eluent
	50	100	250	625	
Water	-	2.448	2.860	3.288	10.176
Eluent	2.805	6.875	9.438	10.018	

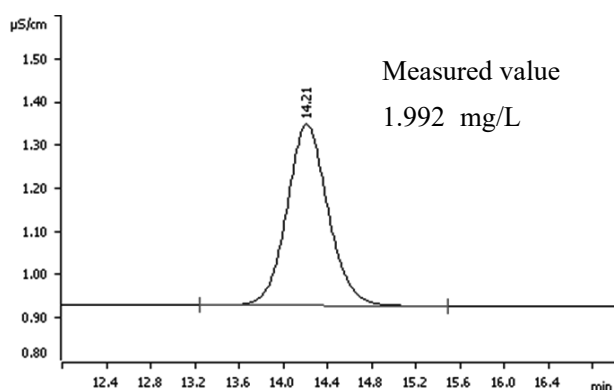


Figure 4-1 Chromatogram  
(Diluent: water, Dilution ratio:625)  
Peak top number : retention time

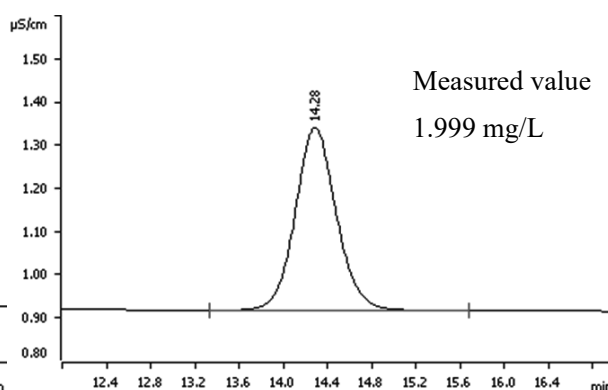


Figure 4-2 Chromatogram  
(Diluent: eluent, Dilution ratio:100)  
Peak top number : retention time

Table 7 Analytical value for each diluent

Sample	Analytical value (%) <sup>a)</sup>	
	Water	Eluent
Triple superphosphate	3.45	3.63
Complex fertilizer	9.11	9.13
Magnesium sulfate fertilizer	56.6	57.8
Designated mixed fertilizer	27.7	27.1
Calcium sulfate dehydrate	48.7	47.4

a) Mass fraction

#### 4) マトリックスイオンによる影響の確認

IC を用いてマトリックスイオンが多量に含まれる試料を測定する場合、測定に影響をおよぼす場合がある。そこで本法における影響の有無を確認した。

##### (1) 保持時間に対する影響

マトリックスイオンが一定以上存在すると、カラム内で炭酸イオンの代わりにマトリックスイオンが対象イオンを溶出させるため、保持時間が通常よりも長くなる場合がある<sup>11)</sup>。この影響を確認するために、硫酸アンモニウム及びリン酸二水素アンモニウムを使用し、硫酸イオン直前のピークであるリン酸濃度を変え、硫酸イオンの保持時間を確認した (Table 8)。その結果、リン酸二水素アンモニウムを分析試料量である 1 g 相当量供試した場合のリン酸イオン濃度においても、保持時間は大きく影響されなかった。



Table 8 Effect of phosphate ions on the retention time of sulfate ions

Amount of ammonium dihydrogen phosphate (g)	Concentration of sulfate ion (%) <sup>a)</sup>	Retention time (min)	Analytical value (%) <sup>a)</sup>
0	5.0	14.16	4.81
0.3	5.0	14.20	4.76
0.5	5.0	14.19	4.78
0.8	5.0	14.21	4.74
1	5.0	14.23	4.75

a) Mass fraction

## (2) ミクログラジエント溶出作用

マトリックスイオンが一定以上存在すると、測定対象イオンのピークの収束性が低下しピークの幅が広がる「ミクログラジエント溶出作用」という特殊な分離条件をカラム内で作り出すことが知られている<sup>11)</sup>。そのため、(1)で測定したリン酸二水素アンモニウムの添加量が異なるクロマトグラムを比較した (Figure 5)。その結果、いずれのリン酸イオン濃度においても硫酸イオンのピーク形状に差は認められなかった。

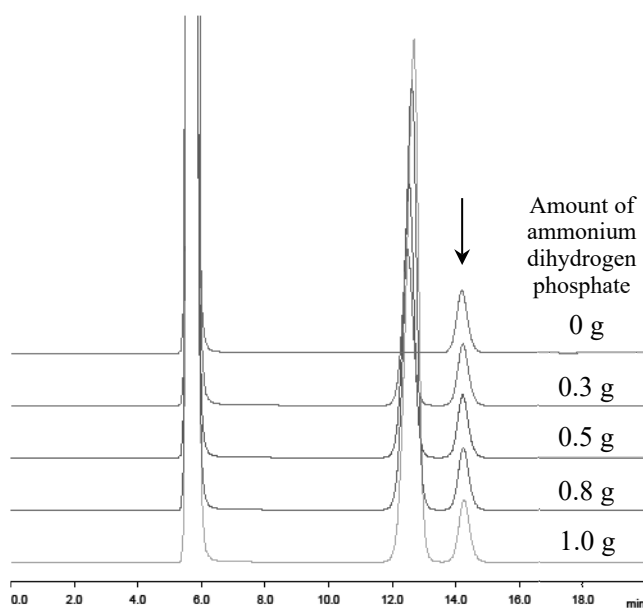


Figure 5 Effect of phosphate ions on peak shape of sulfate ions (Arrow: sulfate ions)

## (3) サプレッサー誤差

サプレッサーによりマトリックス中の陽イオンは水素イオンに置き換わるため、水素イオン濃度が極めて高い環境下で陰イオンが検出される。この時硫酸イオンのように水素イオンと結合する性質を持つイオン種の場合、硫酸イオンの電気伝導度が著しく低下する可能性があることが知られている<sup>11)</sup>。この場合、同じ抽出液であっても希釈倍率が低い試料溶液は希釈倍率が高い試料溶液に比べ低く定量される。そのため、本法における影響の有無について確認した。

Table 8 においてリン酸二水素アンモニウムを 1 g 供試した試料について、抽出後 100 倍及び 500 倍に希釈

してそれぞれ測定した (Table 9). その結果, 定量値に大きな差は認められなかった.

Table 9 Effect of dilution ratio on analytical values

Amount of ammonium dihydrogen phosphate (g)	Dilution ratio	Analytical values (%) <sup>a)</sup>
1	100	4.75
1	500	4.70

a) Mass fraction

### 5) 選択性及び頑健性

流通肥料等 50 点について 2. 4) の条件で測定し, ピークの形状及び妨害ピークの有無を確認した. 代表的なクロマトグラムを Figure 6-1~6-6 に示す. 種類により硫酸イオンのピークの前後に他成分のピークが認められたが, 49 点について妨害ピークは認められなかった. ただし, 腐植酸加里肥料を測定したクロマトグラムに Figure 6-2 及び Figure 6-3 のような硫酸イオンのピーク形状があったので, ピーク高さで定量する必要が認められた.

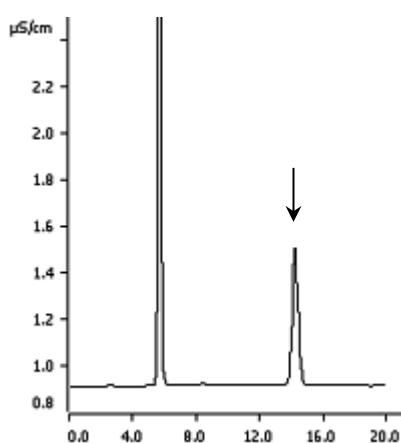


Figure 6-1 Chromatogram  
(Sample: ammonium sulfate)  
(Arrow: sulfate ion)

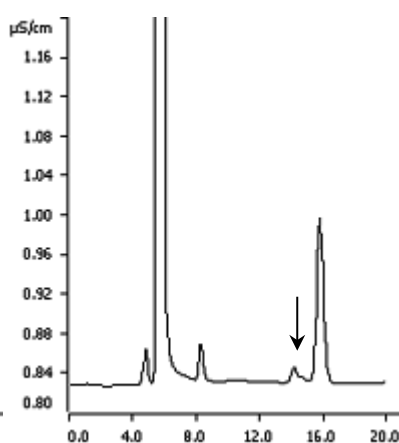


Figure 6-2 Chromatogram  
(Sample: potassium humate  
fertilizer)  
(Arrow: sulfate ion)

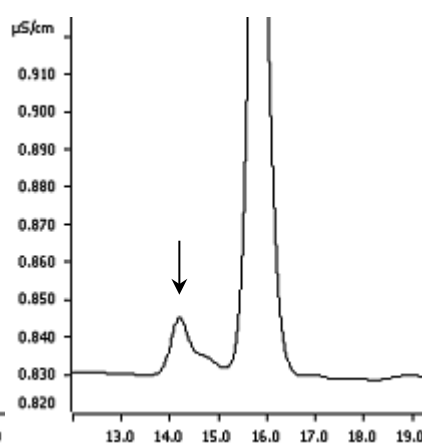


Figure 6-3 Chromatogram  
(magnify)  
(Sample: potassium humate  
fertilizer)  
(Arrow: sulfate ion)

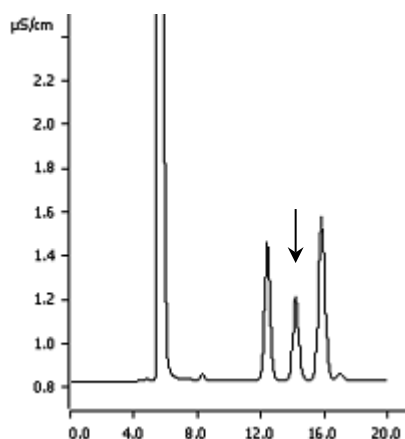


Figure 6-4 Chromatogram  
(Sample: nitrogenous guano)  
(Arrow:sulfate ion)

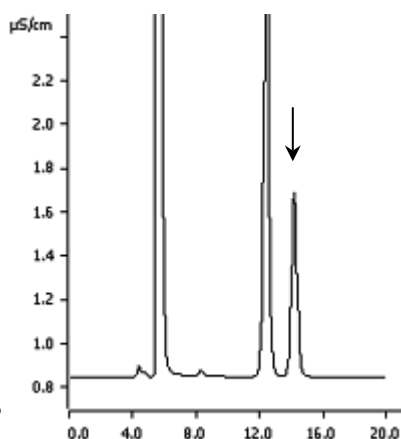


Figure 6-5 Chromatogram  
(Sample: complex fertilizer)  
(Arrow:sulfate ion)

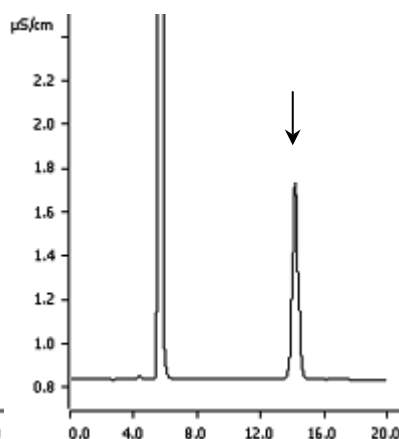


Figure 6-6 Chromatogram  
(Sample: Calcium sulfate  
dehydrate)  
(Arrow:sulfate ion)

## 6) 真度の評価

真度を評価するため、Table 2 の添加回収試験用試料 1～6 を用いて、3 点併行で添加回収試験を実施した (Table 10)。その結果、いずれも肥料等試験法に示されている真度回収率の目標範囲以内であったことから、十分な真度を有していることが確認された。

Table 10 Result of recovery test

Sample for recovery test	Spiked level (%) <sup>a)</sup>	Mean <sup>b)</sup> (%) <sup>a)</sup>	Recovery rate (%)	$RSD_r$ <sup>c)</sup> (%)	Criteria of the trueness <sup>d)</sup> (%)
1	72.7	71.8	98.7	0.4	90 ~ 108
2	40.0	39.3	98.2	0.4	90 ~ 108
3	20.0	19.5	97.5	1.7	90 ~ 108
4	10.0	10.1	100.5	2.0	90 ~ 108
5	5.00	4.74	94.9	1.5	85 ~ 110
6	1.00	1.04	103.5	2.1	85 ~ 110

a) Mass fraction

b) Mean value ( $n=3$ )

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of the trueness shown in Testing Method of Fertilizers

## 7) 併行精度及び中間精度の評価

本法の併行精度及び中間精度を確認するため、重過りん酸石灰、化成肥料、硫酸苦土肥料、指定配合肥料及び石膏を用い、それぞれ 2 点併行で日を変えて 5 回分析を行った。測定結果を Table 11 に示した。その結果を基に、一元配置分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 12 に示した。いずれの相対標準偏差も肥料等試験法に示されている併行精度 (併行相対標準偏差) 及び中間精度 (中間相対標準偏差) の

許容範囲内であったことから、本法は十分な精度を有していることが確認された。

Table 11 Individual result of repetition test of changing the date for the precision confirmation (%)

Test day	Triple superphosphate		Complex fertilizer		Designated mixed fertilizer		Calcium sulfate dehydrate		Magnesium sulfate fertilizer	
	1	3.63	3.66	9.13	9.06	27.1	27.0	47.4	47.0	57.8
2	3.62	3.63	9.13	9.10	26.7	27.0	46.2	47.0	56.3	56.3
3	3.73	3.73	9.23	9.27	27.9	28.0	47.3	46.6	57.4	57.3
4	3.54	3.50	8.98	9.03	27.5	27.7	46.8	47.0	56.5	57.4
5	3.59	3.62	9.00	8.99	27.0	27.5	48.6	48.6	56.6	55.5

Table 12 Statistical analysis result of repeatability test

Sample	Mean <sup>a)</sup> (%) <sup>b)</sup>	Repeatability precision			Intermediate precision		
		$s_r$ <sup>c)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$RSD_r$ <sup>d)</sup> (%)	$CRSD_r$ <sup>e)</sup> (%)	$s_{I(T)}$ <sup>f)</sup> (%) <sup>b)</sup>	$RSD_{I(T)}$ <sup>g)</sup> (%)	$CRSD_{I(T)}$ <sup>h)</sup> (%)
		Triple superphosphate	3.62	0.02	0.5	4.0	0.08
Complex fertilizer	9.09	0.03	0.3	4.0	0.10	1.2	6.5
Designated mixed fertilizer	27.3	0.2	0.8	4.0	0.5	1.7	6.5
Calcium sulfate dehydrate	47.2	0.4	0.8	4.0	0.8	1.8	6.5
Magnesium sulfate fertilizer	56.8	0.5	0.8	4.0	0.7	1.3	6.5

a) Total average(test-days(5)×parallel analysis(2))

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of Repeatability precision(Repeatability relative standard deviation)

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of Intermediate precision(Intermediate relative standard deviation)

## 8) 定量下限等の推定

定量下限及び検出下限の推定を行うために、塩化カリウムに硫酸イオン 0.2%相当となるように塩酸(1+35)で溶解させた硫酸アンモニウム溶液を添加し、本法に従って7点併行試験を実施した。0.2%は、最も低希釈倍率である100倍で希釈し試料溶液を作成した場合、最も低濃度の検量線用標準液である0.2 mg/L相当になる濃度である。得られた分析値の標準偏差を10倍して定量下限を推定し、また、標準偏差を $2 \times t(n-1, 0.05)$ 倍として検出下限を推定した結果をTable 13に示した。その結果、定量下限は0.07%、検出下限は0.02%であった。しかし、0.07%の試料を100倍希釈した試料溶液は0.07 mg/L相当にあたり、検量線範囲を外れ十分な真度を

得られない。そのため、添加回収試験を実施して確認したところ、回収率は 97.4 %であり、肥料等試験法に示されている真度評価の目標を満たしていた。これらより、定量下限は 0.2 %とした。また、検出下限は 0.02 %と推定された。

Table 13 Calculated *LOQ* and *LOD* values

Sample	Mean <sup>a)</sup> (%) <sup>d)</sup>	Estimated <i>LOQ</i> and <i>LOD</i> values			Recovery test			
		Standard deviation (%) <sup>d)</sup>	<i>LOQ</i> <sup>b)</sup> (%) <sup>d)</sup>	<i>LOD</i> <sup>c)</sup> (%) <sup>d)</sup>	Spiked level (%) <sup>d)</sup>	Recovery rate (%)	Relative standard deviation (%)	Criteria of the trueness <sup>e)</sup> (%)
KCl+ (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.195	0.007	0.07	0.02	0.2	97.4	2.7	85 ~ 110

a) Mean value ( $n=7$ )

b) Standard deviation $\times 10$

c) Standard deviation $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$

d) Mass fraction

e) Criteria of the trueness shown in Testing Method of Fertilizers

#### 4. まとめ

イオンクロマトグラフィー (IC 法) による硫酸イオンの試験法について単一試験室による妥当性確認を実施したところ、次の結果を得た。

(1) カラムメーカーのテクニカルレポートを参考に測定条件を設定したところ、約 20 分程度で測定が可能であった。検量線を検討したところ、0.2 mg/L~5 mg/L の範囲で作成することとし、検量線は二次式で算出することとした。この濃度範囲でピーク面積、ピーク高さともに決定係数( $r^2$ )は 0.999 以上を示した。

(2) 抽出方法を検討した結果、塩酸(1+35)で抽出することとし、抽出後溶離液を用いて 100 倍以上で希釈することとした。

(3) マトリックスイオンによる影響を確認したところ、本法では影響は認められなかった。

(4) 流通肥料等 50 点を測定したところ、49 点については定量を妨害する夾雑ピークは認められなかったが、腐植酸加里肥料はピーク形状が他と異なったため、ピーク高さで定量する必要性が認められた。

(5) 真度評価のため添加回収試験用試料 6 点を用いて 3 点併行分析を行った結果、平均添加回収率は 94.9 %~103.5 %であり、肥料等試験法に示されている真度の目標を満たしていた。

(6) 肥料 5 種類を用いて、併行精度及び中間精度の確認を行った結果、併行相対標準偏差は 0.3 %~0.8 %、中間相対標準偏差は 1.2 %~2.1 %であり、肥料等試験法に示されている精度の許容範囲を満たしていた。

(7) 定量下限等の確認を行った結果、本法における定量下限は 0.2 %とし、検出下限は 0.02 %程度と推定された。

以上のことから、本法は肥料中の硫酸イオンを測定するために、十分な性能を有していることが確認された。

## 文 献

- 1) 山崎 耕宇, 杉山 達夫, 高橋 英一, 茅野 充男, 但野 利秋, 麻生 昇平: 植物栄養・肥科学, p.83~84, 株式会社朝倉書店, 東京(2002)
- 2) 辻 藤吾: ペースト肥料による水稻の初期生育抑制障害と障害に対する資材の施用効果, 日本土壤肥料学雑誌, 71(4), 454-463(2000)
- 3) 中川進平, 田村美樹, 伊藤千春, 渡辺恭平, 伊藤正志: 水稻の硫黄欠乏に対する石膏施用の効果, 日本土壤肥料学会 2019 年静岡大会講演要旨集(2019)  
< [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dohikouen/65/0/65\\_109\\_3/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dohikouen/65/0/65_109_3/_article/-char/ja/)>
- 4) 水野直治, 丸岡孔一, 後藤英次, 稲津脩: 十勝岳火山泥流(1926)による酸性硫酸塩土壌の問題と対策, 農業及び園芸, 91(3), 325-336(2016)
- 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(2019)  
< [http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenhoho\\_2019.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenhoho_2019.pdf)>
- 6) Shodex: テクニカルレポート 陰イオン(19)(SI-90 4E)  
< <http://www.shodex.com/ja/dc/07/05/01.html>>
- 7) 田中一彦: 役にたつイオンクロマト分析, p.92~93, 株式会社みみずく舎, 東京(2009)
- 8) 理化学辞典 第5版, p.170, 岩波書店, 東京(2004)
- 9) 波多野隆介: イオンクロマトグラフ分析法の理論と実際(2)ー土壌・植物への応用例ー, 日本土壤肥料学雑誌, 57(5), 518-520(1986)
- 10) 菅野均志, 葉上恒寿, 清水健太郎, 牧野知之: 定点調査試料からみた水田土壌の可給態硫黄の変化ー岩手県と広島県における測定事例ー, 日本土壤肥料学会 2019 年静岡大会講演要旨集(2019)  
< [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dohikouen/65/0/65\\_82\\_1/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dohikouen/65/0/65_82_1/_article/-char/ja/)>
- 11) 古月文志: イオンクロマトグラフィーマトリックスイオンによる妨害とその対策ー, ぶんせき, No.3, p.153~155(2004)
- 12) 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, 最終改正令和2年5月11日, 農林水産省告示第939号(2020)

## Determination of Sulfate ion by Ion Chromatography

SAKAIDA Satoko <sup>1</sup>, KOZUKA Kenji <sup>2</sup> and SHIRAI Yuji <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Fertilizer and Feed Inspection Department

<sup>2</sup> FAMIC, Fertilizer and Feed Inspection Department (Now) Kobe Regional Center

We examined the measurement method of sulfate ion in fertilizer by ion chromatography. After setting the measurement conditions, it was possible to measure in about 20 minutes. As a result of examining the calibration curve, the calibration curve was calculated by the quadratic equation in the range of 0.2 mg/L to 5 mg/L. The coefficient of determination ( $r^2$ ) was 0.999 or higher in this concentration range. We decided to extract with hydrochloric acid (1+35) and dilute more than 100 times with eluent after extraction. As a result of confirming the influence of matrix ions, the influence was not detected in this method. As a result of measuring 50 points such as distribution fertilizers, 49 samples did not show interference peak, but the peak shape of the potassium humate fertilizer was different from the other. Therefore, we thought that there was a necessity to quantify at the peak height. As the estimation method of trueness, for 6 test samples of different concentration, conducted respective repeatability tests using 3 analytical samples and evaluate by obtaining the recovery using the mean of the observed values. As a result, the mean recoveries ranged from 94.9 % - 103.5 %, they were within the criteria of trueness of the Testing Methods for Fertilizers. Intermediate precision and repeatability were estimated by duplicate test per 5 tests on different days using two analytical samples of different concentration. As a result, Repeatability relative standard deviations were 0.3 % - 0.8 %, intermediate relative standard deviations were 1.2 % - 2.1 %. They were within the criteria of repeatability and intermediate precision of the Testing Methods for Fertilizers. The limit of quantitative value ( $LOQ$ ) was 0.2 % (mass fraction). Those results indicated that the developed method was valid for the determination of sulfate ion in fertilizer.

*Key words* ion chromatography (IC method), sulfate ion, suppressor method

(Research Report of Fertilizer, **13**, 50-64, 2020)