

1 イオンクロマトグラフ法による硫酸アンモニア中の 硫青酸化物及びスルファミン酸同時測定

廣井利明¹, 白井裕治¹

キーワード スルファミン酸, アミド硫酸, 硫青酸化物, チオシアン酸アンモニウム, 肥料,
硫酸アンモニア, イオンクロマトグラフ

1. はじめに

スルファミン酸(別名, アミド硫酸(Fig. 1))は, 6-ナイロン原料である ϵ -アミノカプロラクタムの製造工程における回収品の硫酸アンモニア(肥料の公定規格¹⁾における名称. 学術用語では, 硫酸アンモニウム)中に含まれることがある. 硫青酸化物(測定成分としては, チオシアン酸アンモニウム. 以下, 「チオシアン酸」ともいう(Fig.1))は, 石炭ガスまたはコークス炉ガスから副生される硫酸アンモニアに, 石炭に由来する硫黄化合物として混入することがある. これらの有害成分は, 一定量以上の濃度では発芽障害などの植害があることから, 含有する可能性のある硫酸アンモニア等の肥料(窒素質肥料及び複合肥料のうち 15 種類)の公定規格において, それぞれ「スルファミン酸」及び「硫青酸化物」として, その含有を許される最大量(以下, 「含有許容値」という.)が設定されている²⁾.

スルファミン酸及びチオシアン酸の測定については, 公定法である肥料分析法³⁾にはそれぞれ, 亜硝酸ナトリウム法及び硫酸銅法が採用されており, 両方法とも外部指示薬による滴定操作において, 終点の判定に高度な修練が必要である^{4, 5)}. また, 肥料の種類によっては, 試料溶液の着色や共存物質の影響により, 終点の判定が困難となり精確な測定が行えないという問題がある.

公定規格において, スルファミン酸の含有許容値が設定されている肥料については, チオシアン酸も設定されていること, また, スルファミン酸は紫外外部吸収を持たないが, 電気伝導度検出器で測定を行うイオンクロマトグラフでの測定が可能であり, チオシアン酸は紫外外部吸収を持つが, 電気伝導度検出器での測定例の報告も数多くあるため, これらの 2 成分を同時に測定することで効率化が図られると考えられる. そこで, スルファミン酸及びチオシアン酸について, 電気伝導度検出器を用いたイオンクロマトグラフ法により, 迅速かつ精確に定量することを目的に, 測定条件の検討及び単一試験室での妥当性確認を行ったので, その結果を報告する.

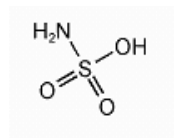
なお, 検討の当初は, スルファミン酸及びチオシアン酸の含有許容値が設定されている肥料(15 種類)に適用可能な測定方法について検討したが, 有機酸を多く含む肥料ではスルファミン酸定量の妨害となるという課題があったため, 平成 23 年度は, 対象を硫酸アンモニアのみとして検討を行った.

2. 材料および方法

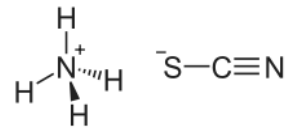
1) 供試試料

市販肥料の硫酸アンモニア 17 点を, それぞれ目開き 500 μm のスクリーンを通過するまで粉砕し分析用試料とし, 使用時までビニール袋に密封して常温保管した.

¹ 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

sulfamic acid H_3NSO_3

MW: 97.10 CAS No.: 5329-14-6

ammonium thiocyanate NH_4SCN

MW: 76.12 CAS No.: 1762-95-4

Fig.1 Chemical structures of sulfamic acid and ammonium thiocyanate

2) 試薬等の調製

- (1) アセトニトリル: HPLC 用試薬.
- (2) 1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液: イオンクロマトグラフィー用試薬.
- (3) 10.0 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液-アセトニトリル[22+3]: 1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液を水で希釈して調製した 10.0 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液 880 mL とアセトニトリル 120mL を混合した.
- (4) 硫酸: 有害重金属測定用試薬.
- (5) 水: 水道水を日本ミリポア製 Elix Advantage5及びMilliQ Academic A-10により精製したもの.
- (6) フタル酸: 純度 98 %以上の試薬
- (7) *p*-ヒドロキシ安息香酸: 純度 95 %以上の試薬
- (8) 1-オクタンスルホン酸ナトリウム: イオンペアクロマトグラフィー用試薬(純度 98 %以上の試薬)
- (9) 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム: イオンペアクロマトグラフィー用試薬(純度 98 %以上の試薬)
- (10) ほう酸: JIS K 8863 に規定する特級試薬
- (11) 溶離液(0.5 mmol/L フタル酸+4.0 mmol/L *p*-ヒドロキシ安息香酸+0.9 mmol/L 1-オクタンスルホン酸ナトリウム+2.0 mmol/L 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム+100 mmol/L ほう酸):フタル酸 0.083 g, *p*-ヒドロキシ安息香酸 0.552 g, 1-オクタンスルホン酸ナトリウム 0.195 g, 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム 0.376 g, ほう酸 6.183 g を全量フラスコ 1 L にはかりとり, 水約 500 mL を加え, 超音波発生器で超音波処理して溶かし, 標線まで水を加えた. 親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過した.
- (12) スルファミン酸標準液(1,000 mg/L): 容量分析用標準物質 アミド硫酸(HOSO_2NH_2 :シリカゲルデシケーター中で 48 時間乾燥したもの) 0.1 g をひょう量皿にとり, その質量を 0.1 mg のけたまで測定した. 少量の水を加えて溶かし, 全量フラスコ 100 mL に移し入れ, 標線まで水を加えた.
- (13) チオシアン酸アンモニウム標準液(1,000 mg/L): JIS K 8863 に規定する特級試薬 チオシアン酸アンモニウム(NH_4SCN :シリカゲルデシケーター中で 48 時間乾燥したもの) 0.1 g をひょう量皿にとり, その質量を 0.1 mg のけたまで測定した. 少量の水を加えて溶かし, 全量フラスコ 100 mL に移し入れ, 標線まで水を加えた.
- (14) 混合標準液(10 mg/L): 使用時に, (12), (13)の各標準液(1,000 mg/L)の 2.5 mL を全量フラスコ 250 mL にとり, 混合後, 標線まで水を加えた.
- (15) 検量線用混合標準液(0.3 mg/L~3 mg/L): 使用時に混合標準液(10 mg/L)の 3 mL~30 mL を全量フラスコ 100 mL に段階的にとり, 標線まで水を加えた.
- (16) その他の試薬は, 特級又は同等の品質の試薬を用いた.

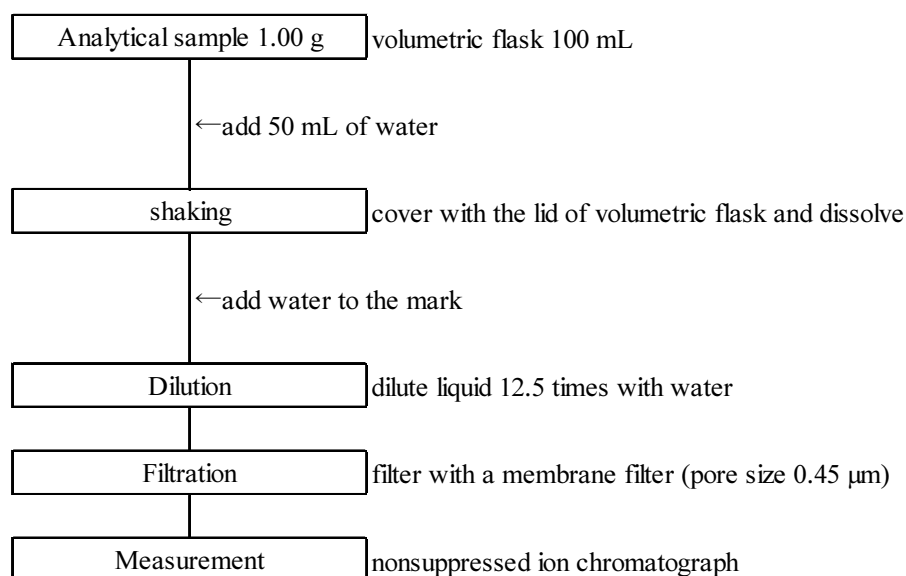
3) 器具及び装置

- (1) イオンクロマトグラフ:メトローム製 850 Professional IC
- (2) カラム:昭和電工製 Shodex IC NI-424(内径 4.6 mm,長さ 100 mm, 粒径 5 μ m, 充填剤 第4級アンモニウム基を結合した親水性メタクリレート系ゲル)
- (3) メンブレンフィルター:ADVANTEC 製 DISMIC-13HP(孔径 0.45 μ m)
- (4) 超音波発生器:ヤマト化学製 8510J-MT 高周波出力 250W

4) 試験操作

(1) 試料溶液の調製

分析試料 1.00 g を全量フラスコ 100 mL にはかりとり, 水約 50 mL を加え, 全量フラスコの蓋をして, 振り混ぜて溶かし, 標線まで水を加える. 溶解液の一定量を取り, 水で 12.5 倍希釈し, メンブレンフィルター(孔径 0.45 μ m) でろ過し, 試料溶液とした (Scheme 1).



Scheme 1 Analytical procedure for sulfamic acid and ammonium thiocyanate in ammonium sulfate

(2) イオンクロマトグラフ測定条件

- 検出器 : 電気伝導度検出器
 サプレッサ : なし
 カラム : Shodex IC NI-424 (昭和電工製 内径 4.6 mm, 長さ 100 mm, 粒径 5 μ m, 充填剤 第4級アンモニウム基を結合した親水性メタクリレート系ゲル)
 溶離液 : 0.5 mmol/L フタル酸 + 4.0 mmol/L *p*-ヒドロキシ安息香酸 + 0.9 mmol/L 1-オクタンスルホン酸ナトリウム + 2.0 mmol/L 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム + 100 mmol/L ほう酸
 流量 : 1.0 mL/min
 注入量 : 20 μ L
 カラム槽温度 : 58 $^{\circ}$ C

(3) 計算

得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、分析試料中のスルファミン酸、チオシアン酸(チオシアン酸アンモニウム)濃度を算出した。

3. 結果および考察

1) イオンクロマトグラフ測定条件の検討

イオンクロマトグラフにより肥料中のスルファミン酸及びチオシアン酸を測定するにあたり、肥料中に含まれる、測定の妨害となる様々な成分(無機陰イオンや有機酸イオン等)を分離し精度よく測定するためには、充填剤の基材やイオン交換基が異なるカラムの選定が重要である⁶⁾。そのため、Table 1 に示した4つのカラムを用いて最適な測定条件を検討した。

Table 1 Separation columns used in this study

Separation mode	Suppressor	Column	Size, long×i.d.	Resin	Particle size, μm	Function group
Ion-exchange	Suppressed	Shodex IC SI-52 4E	250 × 4.0 mm	PVA ^{a)}	5	QA ^{c)}
Ion-exclusion	Nonsuppressed	Shodex RSpak KC-811	300 × 8.0 mm	PVA ^{a)}	6	sulfo
Ion-exclusion	Nonsuppressed	TSKgel Super IC-A/C	150 × 6.0 mm	PM ^{b)}	4	carboxyl
Ion-exchange	Nonsuppressed	Shodex IC NI-424	100 × 4.6 mm	PM ^{b)}	5	QA ^{c)}

a)PVA: polyvinyl alcohol, b)PM: polymethacrylate, c)QA: quaternary ammonium

(1) イオン交換方式カラム(サプレッサ法)の検討

この方式は、陰イオン測定において現在最も広範に適用されている。塩基性溶離液(炭酸ナトリウム等)により陰イオン交換分離された陰イオンは、サプレッサにより対応する酸に変換され高電気伝導度化されるとともに、溶離液は炭酸や水のような低電気伝導度成分に変換されるため、検出器に到達する溶離液のバックグラウンド電気伝導度を下げることにより対象イオンの高感度検出ができる⁷⁾。まず、この方式(以下、「サプレッサ法」という。)のカラムにより検討を行った。

使用するイオンクロマトグラフのメーカーであるメトローム社のイオンクロマトグラフ測定アプリケーション⁸⁾を参考に、陰イオン分析用カラム Shodex IC SI-52 4E(昭和電工製 内径 4.0 mm,長さ 250 mm, 粒径 5 μm , 充填剤 第4級アンモニウム基を結合したポリビニルアルコール系多孔質粒子)及びケミカルサプレッサを用いた測定条件を検討した。3.6 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液の溶離液(溶離液 A)100%の測定により、スルファミン酸のピーク検出後(測定開始から15分後)に、6.4 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液-アセトニトリル[7+3]の溶離液(溶離液 B)100%の組成とするグラジエント分析により、スルファミン酸、チオシアン酸の混合標準液(10 mg/L)の測定を行ったところ、Fig. 2 のとおり良好な測定結果となった。

スルファミン酸は保持の弱い陰イオンであるため、3.6 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液で保持時間8分程度で溶出するが、保持の比較的強い陰イオンであるチオシアン酸は炭酸ナトリウム溶液の濃度を6.4 mmol/L まで高くしても溶出は早まらないため⁹⁾、アセトニトリル30%を混合することで溶出を早め40分以内で測定する条件となっている。

しかし、この条件により肥料の水抽出溶液(分析試料1gを水1Lに溶かし、メンブレンフィルター(孔径0.45 μm)でろ過した溶液。以下、「水抽出溶液」という。)を測定したところ、有機物(特に、アミノ酸発酵廃液を原料とした副産複合肥料)を多く含む化成肥料において、Fig. 3 のとおりスルファミン酸のピークと重なる保持時間に有機酸と考えられる多くの妨害ピークが検出され、スルファミン酸の測定が不可能であった。スルファ

ミン酸の妨害ピークとして検出される物質について調べるため、スルファミン酸標準液に各種の試薬を添加して測定したところ、スルファミン酸ピークの直前及び直後に、それぞれプロピオン酸及びギ酸が検出されることが確認できた。

分離を改善するために、溶離液の濃度及び種類(炭酸ナトリウム, 炭酸水素ナトリウム, 水酸化ナトリウム), カラム槽温度の検討を行った結果から、最適と考えられる測定条件を Table 2 のとおり設定した。

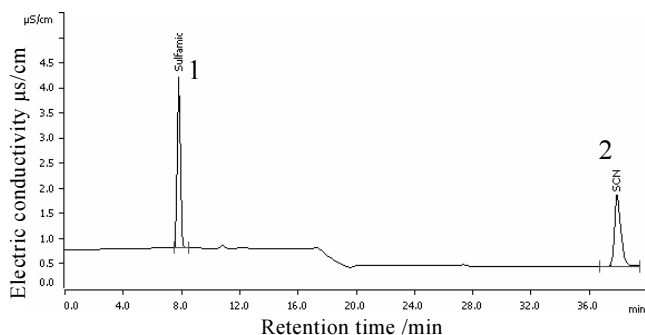


Fig. 2 Ion chromatogram of standard solution of sulfamic acid and thiocyanic acid
Peaks: 1=sulfamic acid (10 mg/L);
2=thiocyanic acid (10 mg/L)

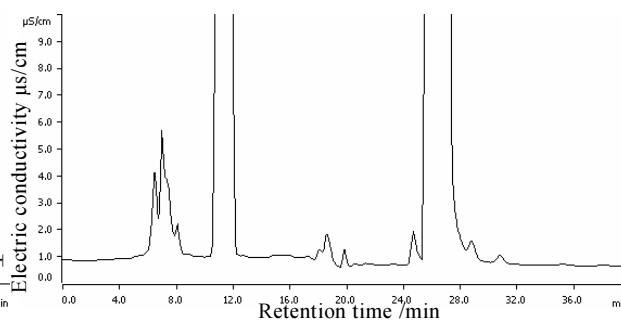


Fig. 3 Ion chromatogram of sample solution of compound fertilizer including organic matter

Table 2 Analytical conditions for suppressed ion chromatography

Detection	Conductivity
Suppressor	Chemical suppressor
Column	Shodex IC SI-52 4E
Mobile phase	A: 0.3 mmol/L sodium carbonate solution B: 10.0 mmol/L sodium carbonate solution – Acetonitrile [22 + 3] 0 min (100 v/v%A) → 25 min (100 v/v%A) → 29 min (100 v/v%B) → 82min (100 v/v%B) → 86min (100 v/v%A) → 90min (100 v/v%A)
Flow rate	0.8 mL/min
Injection volume	20 μL
Column temp.	40 °C
Scavenger	50 mmol/L H ₂ SO ₄
Cleaning fluid	H ₂ O

Fig. 3 で妨害ピークによりスルファミン酸の測定ができなかった有機入り化成肥料の水抽出溶液にスルファミン酸及びチオシアン酸各 5 mg/L 相当添加した試料溶液を Table 2 の測定条件によって測定した。クロマトグラムは Fig.4 のとおりであり、概ね他の妨害ピークから分離した状態でスルファミン酸及びチオシアン酸を測定時間 70 分程度で測定することができた (Fig. 4 左)。しかし、スルファミン酸、プロピオン酸及びギ酸の混合標準液で測定条件を検討した場合よりも、スルファミン酸とギ酸の分離が悪くなっていた (Fig. 4 右)。これは、他の共存イオンの影響によると考えられる。特に、ギ酸は多くの肥料から検出され、スルファミン酸と誤認識してしまうことや、今回測定した肥料よりも有機酸含有量の多い肥料では、ピークが重なり正確な測定ができなくなる可能性が高いと考えられる。

また、試料溶液調製の前処理での有機酸除去を検討するため、各種の固相抽出カートリッジによりスルファミン酸、プロピオン酸及びギ酸の混合標準液の精製を試み、標準液の pH を酸性、中性、アルカリ性に変化させて固相抽出処理を行ったが、プロピオン酸及びギ酸のみ、又はスルファミン酸のみを固相抽出できる条件を見つけることはできなかった。このため、他の分離方式のカラムによる検討を行うこととした。

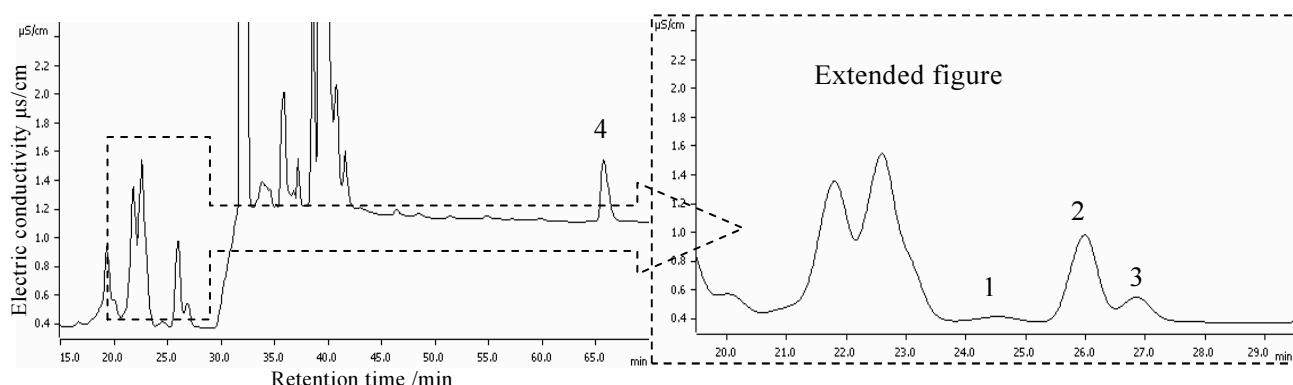


Fig. 4 Ion chromatograms of sample solution of compound fertilizer including organic matter which was spiked with sulfamic acid and thiocyanic acid

Peaks: 1=propionic acid; 2=sulfamic acid (5 mg/L); 3=formic acid; 4=thiocyanic acid (5 mg/L)

近年、粒状肥料原料の2種類以上を配合したバルクブレンド肥料用途に、粒径2~5 mm程度の大粒径を有する粗大硫酸アンモニア結晶の製造が求められており、その製造方法として、硫酸アンモニア溶液から晶析工程を経て粒状硫酸アンモニアを製造する際、硫酸アンモニア母液に媒晶剤としてスルファミン酸塩を肥料公定規格の含有許容値未満の濃度となるように添加して晶析する方法が開発されている^{10, 11)}。以下の検討では、多様なマトリックスを含む各種の肥料を一度に検討することは困難であると判断し、スルファミン酸の混入する可能性が最も高いと考えられる肥料である硫酸アンモニアを対象として検討を行うこととした。

しかし、硫酸アンモニアの中にもスルファミン酸測定を妨害する有機酸と思われる成分を含有するものが確認されたため、サプレッサ法ではない他の分離方式のカラムによる測定条件を検討した。

(2) イオン排除方式カラム(強酸性陽イオン交換樹脂カラム)の検討

イオン排除方式は、カラムのイオン交換基とそれと同符号の試料イオンとの間に生じるイオン排除および浸透の差を利用した分離方法である。本方式に関する報告例で最も多いのが、ギ酸や酢酸などの脂肪族カルボン酸を対象とした分析例である。カルボン酸の分離に用いられる溶離液は、硫酸や硝酸などの強酸あるいはプロピオン酸や安息香酸などの弱酸などが一般的である。これは、カルボン酸の解離が、酸性の溶離液を用いることによって抑制されるため、イオン交換樹脂に浸透しやすくなるためである¹²⁾。

検討には、イオン排除クロマトグラフィ用カラム Shodex RSpak KC-811(昭和電工製 内径 8.0 mm,長さ 300 mm, 粒径 6μm, 充填剤 スルホン基を結合したポリビニルアルコール系多孔質粒子)を使用し、溶離液に様々な酸(りん酸, 過塩素酸, 硫酸, 硝酸, くえん酸, こはく酸)を使用し、カラム温度や溶離液流量を変えて、スルファミン酸及びチオシアン酸標準液の測定を行ったところ、どの測定条件でも、スルファミン酸とチオシアン酸のピークが重なり、分離して測定することはできなかった(Fig. 5)。これは、強酸性の無機陰イオンであるスルファミン酸とチオシアン酸のイオン排除分離は、強酸性陽イオン交換樹脂カラムを用いた場合、イオン交換基であるスルホン基の強い静電反発によって分離が困難なためと考えられる¹²⁾。このため、他の分離カラムによる測定条件を検討する必要があると考え、引き続き検討を行った。

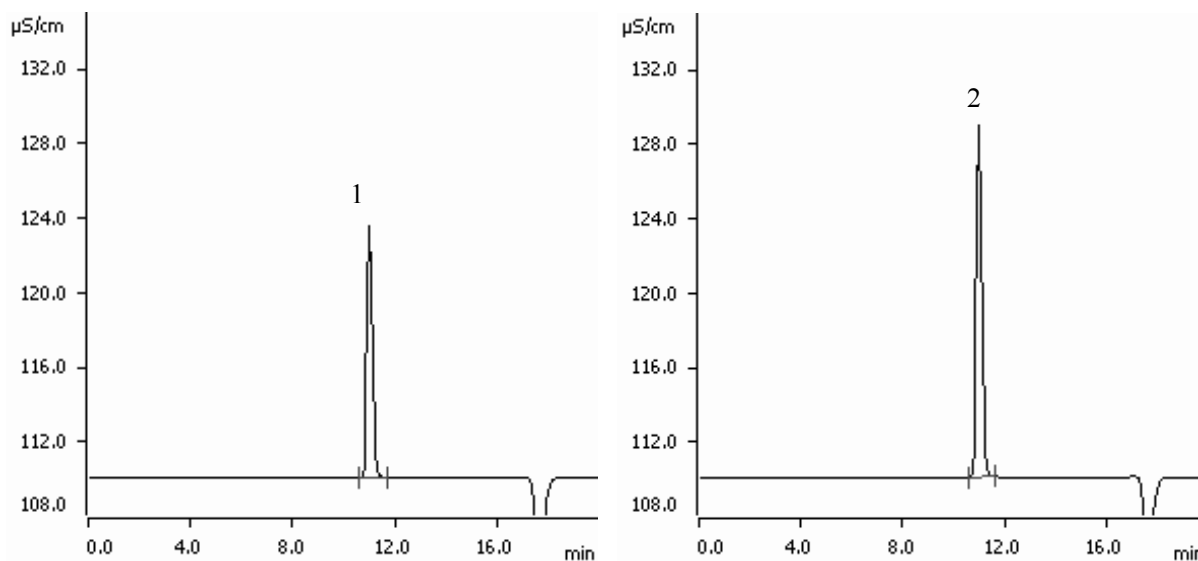


Fig. 5 Ion-exclusion chromatograms of standard solution of sulfamic acid and thiocyanic acid

Eluent: 2.5 mmol/L succinic acid, Column temp: 40 °C, Flow rate: 0.5 mL/min,

Peaks: 1=sulfamic acid (50 mg/L); 2=thiocyanic acid (50 mg/L)

(3) イオン排除/陽イオン交換方式カラム(弱酸性陽イオン交換樹脂カラム)の検討

本カラムは、上記(2)の強酸性陽イオン交換樹脂カラムと異なり、弱酸性陽イオン交換樹脂と弱酸の溶離液の組み合わせによって、酸性の硫酸イオン、塩化物イオン、硝酸イオン、ギ酸イオン等を分離することができるという報告があり、河川水等の水質モニタリング分析に適用されている¹³⁾。これを参考に、イオン排除/陽イオン交換型クロマトグラフィ用カラム TSKgel Super IC-A/C(東ソー製 内径 6.0 mm,長さ 150 mm, 粒径 4 μm, 充填剤 カルボキシル基を結合したポリメタクリレート系多孔質粒子)を使用し、溶離液に様々な酸(こはく酸、くえん酸、フタル酸、りん酸、過塩素酸、硫酸、スルホサリチル酸)を使用してスルファミン酸及びチオシアン酸標準液の測定を行った。その結果、Fig.6 のとおり、溶離液をくえん酸 20 mmol/L とした場合に、スルファミン酸とチオシアン酸を分離して測定することができた(Fig.6(A), (B))が、スルファミン酸のピーク付近(保持時間 3.6 min)に他の陰イオン(硫酸、塩化物、硝酸等)が溶出し(Fig.6(C))、更に、硫酸含有量の多い硫酸アンモニア水抽出溶液を測定した場合には、硫酸とその直後に溶出するスルファミン酸のピークが重なり、スルファミン酸の測定が不可能であった。本カラムは、酸性溶離液においてカラムの弱酸性陽イオン交換樹脂中のカルボキシル基の解離がかなり抑制されるため、イオン排除作用に関する樹脂相中の水素イオン濃度は減少し、イオン排除作用に基づいて強酸や弱酸の陰イオンが相互分離できる¹⁴⁾。しかし、イオン交換方式カラムに比べて陰イオンの分離域が狭いため、肥料のように陰イオンのマトリックスの多い試料の測定は困難であると考えられる。このため、他の分離カラムによる測定条件を検討する必要があると考え、更に引き続き検討を行った。

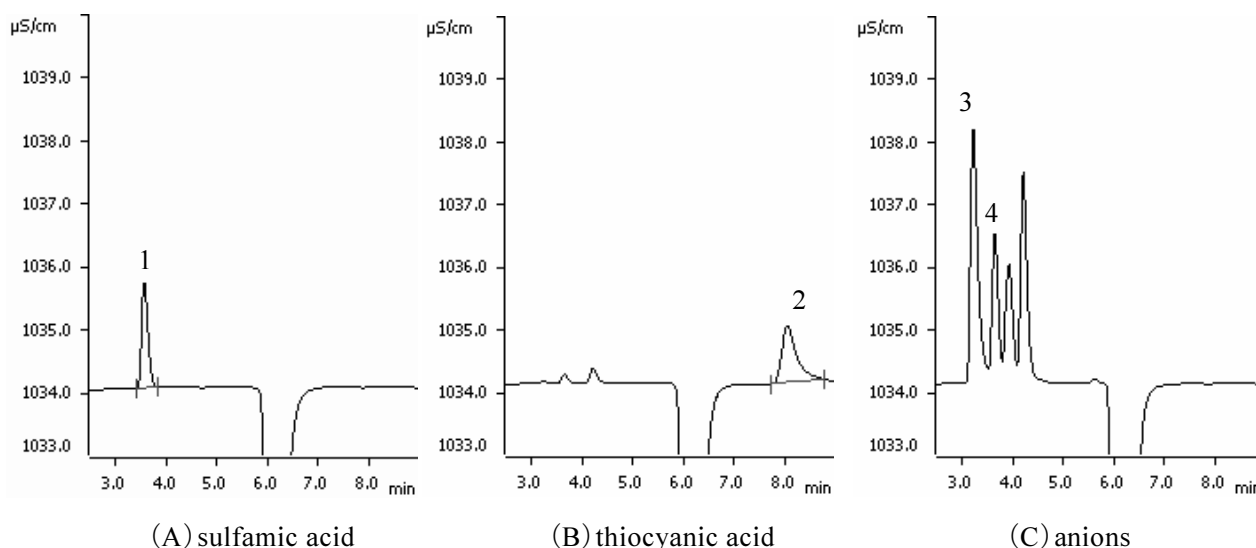


Fig. 6 Ion-exclusion/cation-exchange chromatograms of standard solution of sulfamic acid, thiocyanic acid and anions

Eluent: 20 mmol/L citric acid, Column temp: 35 °C, Flow rate: 0.6 mL/min,

Peaks: 1=sulfamic acid (5 mg/L); 2=thiocyanic acid (5 mg/L); 3=sulfuric acid (10 mg/L);

4=hydrochloric acid (4 mg/L))

(4) イオン交換方式カラム(ノンサプレッサ法)の検討

本方式は、上記(1)のサプレッサ法に類似しているが、サプレッサを使用せず、低交換容量のイオン交換分離カラムと低導電率の溶離液を用いて試料溶液中のイオンをイオン交換分離した後に導電率検出する方法を基本としている(以下、「ノンサプレッサ法」という.)。サプレッサ法に比べて溶離液のバックグラウンド導電率の増大によるノイズの増大があるものの、装置が簡便なことや一定の条件を満たす溶離液を使用する限り、pHや溶離イオンについての制限が緩いので、より多彩な測定条件を構築できるという利点もある^{7, 15)}。また、サプレッサ法では、使用する溶離液が塩基性のものに限定されてしまうため、スルファミン酸と有機酸の分離ができなかったが、ノンサプレッサ法では酸性溶離液を使用することができるので、有機酸の解離が抑制され、スルファミン酸との分離が調節可能となることが考えられる。

検討に用いたカラムは、陰イオン分析用カラム Shodex IC NI-424(昭和電工製 内径 4.6 mm,長さ 100 mm, 粒径 5 μ m, 充填剤 第4級アンモニウム基を結合した親水性メタクリレート系ゲル)である。

(4.1) 溶離液の最適化

① 一般的な溶離液での検討

既存の一般的な溶離液(8 mmol/L *p*-ヒドロキシ安息香酸+2.8 mmol/L Bis-Tris+2 mmol/L フェニルボロン酸+5 μ mol/L CyDTA)を使用し、スルファミン酸及びチオシアン酸の標準液に、フッ素、塩素、硝酸、硫酸、過塩素酸イオンを加えた溶液を測定したところ、Fig. 7のとおり、保持時間1~2分程度でシステムピークが検出され、その後、フッ素、スルファミン酸、塩素、硝酸、硫酸、チオシアン酸、過塩素酸の順に溶出した。

その他、文献やカラムメーカー測定アプリケーションで使用されている溶離液でスルファミン酸及びチオシアン酸の標準液を測定した結果を Table 3 に示した。溶離液の種類によっても異なるが、溶離液 pH を約 4 以下とするとシステムピークから分離しスルファミン酸の測定は可能であるが、チオシアン酸はカラムに強く保

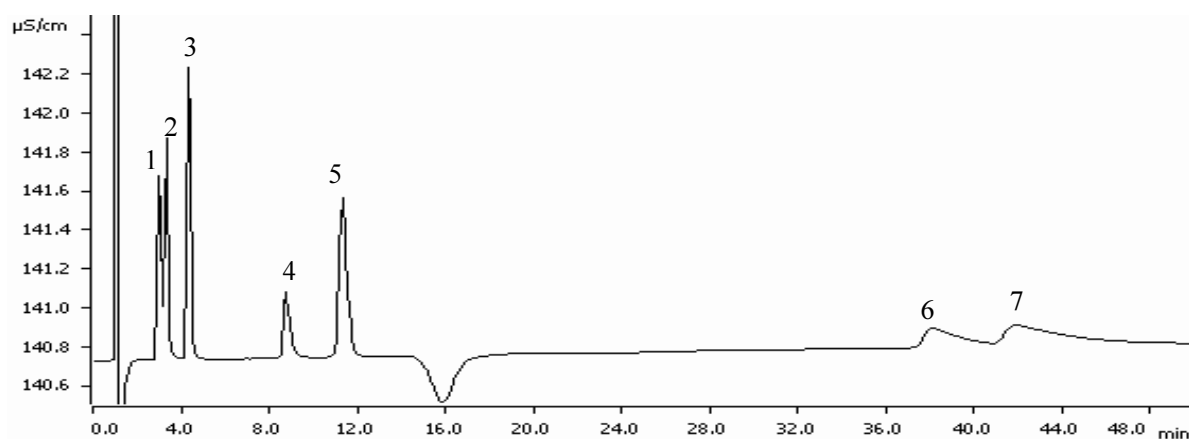


Fig. 7 Ion chromatogram of standard solution of anions using the eluent of maker recommendation
 Peaks: 1=hydrofluoric acid (10 mg/L); 2=sulfamic acid (20 mg/L); 3=hydrochloric acid (10 mg/L); 4=nitric acid (10 mg/L); 5=sulfuric acid (20 mg/L); 6=thiocyanic acid (20 mg/L); 7=perchloric acid (50 mg/L)

持され溶出までに 60 分以上を要する場合や、ピークが検出されなくなる場合もあった。溶離液 pH を上げるほどチオシアン酸の保持時間が短縮され、感度も向上するが、逆にスルファミン酸の保持時間が極端に短くなり、2 分以内に溶出してシステムピークと重複し測定不可能となった。また、硫酸アンモニア中のスルファミン酸及びチオシアン酸の含有許容値から算出した必要な測定用試料溶液の定量下限は 0.5 mg/L 未満であるため、標準液 50 mg/L を測定した際のピーク高さは 1.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 以上は必要と考えられる。スルファミン酸については、pH 約 4 未満の溶離液を使用することでその感度を得ることができたが、チオシアン酸は pH を 6 まで上げてても十分な感度は得られなかった。

Table 3 Retention time and peak hight of sulfamic acid and thiocyanic acid by different eluents and pH

Eluent (mmol/L)	Eluent pH ^{b)}	Sulfamic acid ^{a)}		Thiocyanic acid ^{a)}	
		Retention time (min)	Peak hight ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Retention time (min)	Peak hight ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Phthalic acid (2.5)	2.9	5.7	10.070	—	—
Phthalic acid (2.5)	4.7	— ^{c)}	—	15.4	0.348
Phthalic acid (2.5)	6.0	—	—	9.5	0.473
Phthalic acid (2.5)+BTC ^{c)} (0.005)	6.0	—	—	10.2	0.537
4-hydroxybenzoic acid (8.0)	3.7	6.9	1.691	—	—
4-hydroxybenzoic acid (8.0) + others ^{d)}	4.3	3.0	1.540	37.8	0.220
Succinic acid (2.5)	3.4	26.0	2.050	—	—
Succinic acid (5.0)	4.7	—	—	48.5	0.075
Citric acid (2.5)	3.0	14.6	3.160	—	—
Citric acid (2.5)	3.7	5.4	0.576	—	—
Citric acid (2.5)	4.7	—	—	11.1	0.368
Citric acid (2.5)	6.0	—	—	7.6	0.661
Tartaric acid (1.0)	3.2	14.1	3.330	—	—
Tartaric acid (1.0)	6.0	—	—	22.6	0.222
5-sulfosalicylic acid (1.0)	2.9	2.3	10.180	26.1	0.170
Sodium 1-octanesulfonate (0.9)+boric acid (20.0)	5.3	—	—	8.1	0.691

a) Concentration: 50 mg/L, Column temp.: 40 °C, Flow rate: 1.0 mL/min

b) pH was prepared by tris(hydroxymethyl)aminomethane or Bis-tris.

c) 1,3,5-Benzenetricarboxylic Acid

d) 8 mmol/L 4-hydroxybenzoic acid + 2.8 mmol/L Bis-Tris + 2 mmol/L Phenylboronic Acid + 5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ CyDTA

e) —; A measurement failure by duplication in a system peak, the shortage of sensitivity or elution took 60 minutes or more.

ノンサプレッサ法で一般的に環境測定分野等で使用されている、保持の弱いフッ素等を含めた陰イオンの同時分析を行う溶離液条件で測定した場合 (Fig. 7), スルファミン酸はシャープなピークとなり必要な感度を得られるが、それに比べて、チオシアン酸は疎水性を持つため、カラムのポリマー基材の陰イオン交換樹脂との疎水的相互作用によりピークがブロードとなり、高感度測定できないことが知られている¹⁶⁾。このように、スルファミン酸とチオシアン酸はイオン交換カラムにおける溶出特性が大きく異なるため、それぞれ個別の測定方法について報告がある。スルファミン酸単独の測定法としては、溶離液をくえん酸 2.5 mmol/L (pH 約 3) とし、スルファミン酸を溶出させた後に、5 mL のくえん酸 2.5 mmol/L (pH 6.0) を試料溶液として注入することで、肥料中の保持の強い残留イオン (硝酸、硫酸等) を早く溶出させ、連続分析での次の測定への影響を防ぎ、60 分程度で測定する方法⁵⁾が報告されている。チオシアン酸については、保持の強い疎水性を持つ硫黄化合物の同時分析法として、フタル酸に 1, 3, 5-ベンゼントリカルボン酸 (BTC) 等を添加した溶離液を使用する高感度測定法が報告されている⁹⁾。しかし、これらの方法では、スルファミン酸とチオシアン酸を同時に測定することは不可能であり、他の文献でも同時測定についての報告は確認できなかったため、両イオンの溶出時間のバランスが良好であり、かつ、必要な感度が得られるような溶離液条件を検討した。

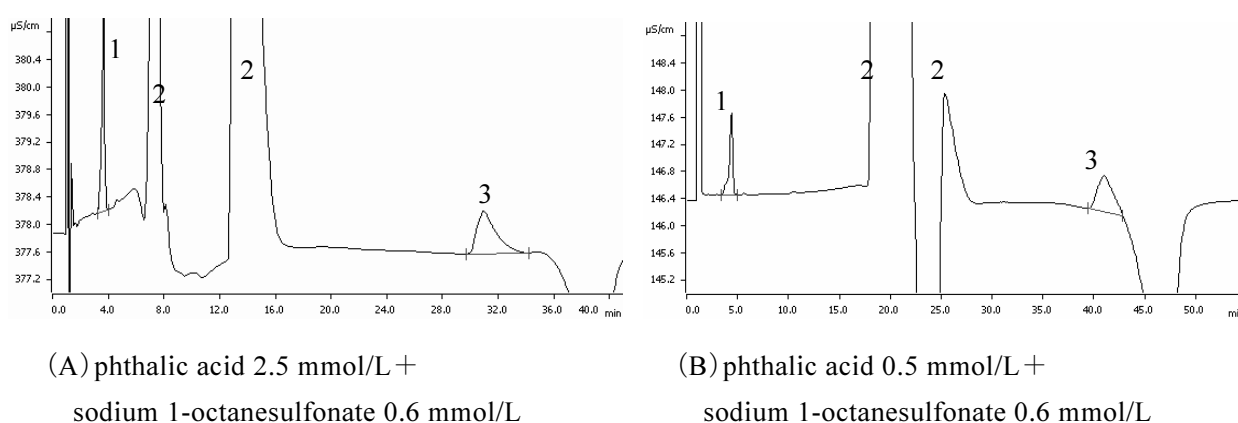
② 混合溶離液 A (フタル酸+オクタンスルホン酸) での検討

上記 Table 3 で使用した溶離液を混合することでどのような溶出挙動や感度を示すか検討した。フタル酸、くえん酸、こはく酸等に 1-オクタンスルホン酸ナトリウム (以下、「オクタンスルホン酸」という。) を混合した溶離液でスルファミン酸及びチオシアン酸の標準液を測定した結果を Table 4 に示した。オクタンスルホン酸を混合することにより、スルファミン酸をシステムピークよりも後に溶出させ、併せてチオシアン酸をより高感度に測定することができた。オクタンスルホン酸等のイオン対試薬は、主に逆相クロマトグラフィーにおいて保持の弱いイオンを測定する場合に、試料イオンと対イオンとの疎水性の複合分子を形成させることで、固定相に保持され良い分離を得ることを目的に使用されている¹⁷⁾。本カラムの場合は、これと逆の原理により、チオシアン酸の疎水性が低下し、固定相への保持が弱くなったことが感度向上の一因として考えられる。オクタンスルホン酸の混合濃度を高くすると、スルファミン酸及びチオシアン酸の保持時間が短縮され、ピーク高さは増加した。しかし、Table 3 の各溶離液を用いて、硫酸アンモニア水抽出溶液にスルファミン酸及びチオシアン酸を添加した試料溶液を測定したところ、フタル酸にオクタンスルホン酸を混合した溶離液の場合のみ、硫酸とチオシアン酸のピークを十分に分離でき、Table 3 中のその他の有機酸溶離液では、両ピークが重複しチオシアン酸の測定は不可能であった。一方、フタル酸にオクタンスルホン酸を混合した溶離液での測定では、Fig. 8(A) のとおり、フタル酸濃度を 2.5 mmol/L と高くすると、スルファミン酸ピーク前後のベースラインが右肩上がりとなる現象が起り、フタル酸濃度を 0.5 mmol/L まで低くすると、ベースラインの上昇は抑制された (Fig. 8(B))。しかし、フタル酸濃度を 0.5 mmol/L と低くすると、スルファミン酸ピークがブロードとなるとともに、チオシアン酸とその直後のシステムピークが近接することが分かった (Fig. 8(B))。このため、引き続き検討を行った。

Table 4 Retention time and peak height of sulfamic acid and thiocyanic acid by different mixed eluents

Eluent (mmol/L)	Mixed concentration of sodium 1- octanesulfonate (mmol/L)	Sulfamic acid ^{a)}		Thiocyanic acid ^{a)}	
		Retention time (min)	Peak height ($\mu\text{S/cm}$)	Retention time (min)	Peak height ($\mu\text{S/cm}$)
Phthalic acid (2.5)	0.4	4.2	9.442	36.4	1.011
Phthalic acid (2.5)	0.6	3.7	9.982	30.3	1.505
Phthalic acid (2.0)	0.4	4.4	8.179	38.2	0.988
Phthalic acid (1.5)	0.5	4.4	7.890	37.5	1.087
Phthalic acid (1.0)	0.7	4.0	6.815	33.6	1.847
Phthalic acid (0.5)	0.6	4.6	4.772	39.4	1.278
4-hydroxybenzoic acid (8.0)	0.4	5.9	4.580	52.6	1.406
4-hydroxybenzoic acid (8.0)	0.6	4.8	4.999	36.1	1.601
Succinic acid (2.5)	0.4	6.7	3.550	43.4	0.880
Citric acid (2.5)	0.4	6.0	5.362	38.5	0.660
Tartaric acid (1.0)	0.4	5.9	5.888	42.9	0.544

a) Concentration: 50 mg/L, Column temp.: 40 °C, Flow rate: 1.0 mL/min



(A) phthalic acid 2.5 mmol/L +
sodium 1-octanesulfonate 0.6 mmol/L

(B) phthalic acid 0.5 mmol/L +
sodium 1-octanesulfonate 0.6 mmol/L

Fig. 8 Ion chromatograms of ammonium sulfate solution spiked with sulfamic acid and thiocyanic acid using a mixture of phthalic acid and sodium 1-octanesulfonate as eluent

Column temp.: 40 °C, Flow rate: 1.0 mL/min

Peaks: 1=sulfamic acid (20 mg/L); 2=sulfuric acid; 3=thiocyanic acid (20 mg/L)

③ 混合溶離液 B (フタル酸 + オクタンスルホン酸 + ヘキサンスルホン酸) での検討

次に、②で検討した混合溶離液 (フタル酸 + オクタンスルホン酸) に、オクタンスルホン酸と同様に逆相クロマトグラフィーなどでイオン対試薬として使用される 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム (以下、「ヘキサンスルホン酸」という。) ¹⁷⁾ を混合したところ、システムピークの溶出時間を変えることができ、Fig. 9 (A) のとおり、チオシアン酸の妨害とならない位置に溶出させることができた。また、スルファミン酸のピークもよりシャープなものとなった。フタル酸濃度を 0.5 mmol/L に固定し、オクタンスルホン酸とヘキサンスルホン酸の混合濃度を変えて、スルファミン酸及びチオシアン酸の標準液を測定し、両イオンの感度、システムピークの溶出位置及びベースラインの安定性を確認した。オクタンスルホン酸の混合濃度を高くするとスルファミン酸及びチオシアン酸の感度は良くなったが 0.9 mmol/L を超えると、スルファミン酸の感度が悪くなった。ヘキサンスルホン酸は

混合濃度を高くすると、チオシアン酸の感度は良くなるが、スルファミン酸の感度が悪くなり、また 2.0 mmol/L を超えると、ベースラインのノイズが大きくなった。以上のことから、「フタル酸 0.5 mmol/L+オクタンスルホン酸 0.9 mmol/L+ヘキサンスルホン酸 2.0 mmol/L」とした場合が、Fig. 9(A)のとおり、最もスルファミン酸及びチオシアン酸の感度のバランスが良く、システムピークとの分離も良好であることが分かった。しかし、この条件の溶離液で硫酸アンモニア水抽出溶液に必要な定量下限程度のスルファミン酸及びチオシアン酸を添加して測定すると、Fig.9(B)のとおり、スルファミン酸ピークがブロードとなり妨害ピークと近接し、更に、チオシアン酸測定のベースライン安定性が悪く高感度測定ができないことが分かった。このため、引き続き検討を行った。

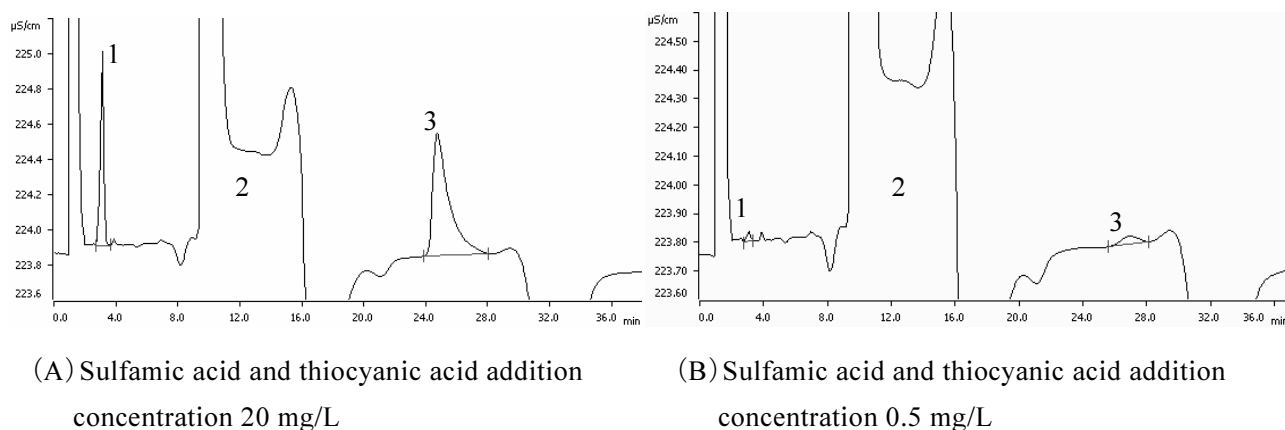


Fig. 9 Ion chromatograms of ammonium sulfate solution spiked with sulfamic acid and thiocyanic acid using a mixture of 0.5 mmol/L phthalic acid, 0.9 mmol/L sodium 1-octanesulfonate and 2.0 mmol/L sodium 1-hexanesulfonate as eluent
Column temp.: 45 °C, Flow rate: 1.0 mL/min
Peaks: 1=sulfamic acid (20 mg/L); 2=sulfuric acid; 3=thiocyanic acid (20 mg/L)

④ 混合溶離液 C(フタル酸+オクタンスルホン酸+ヘキサンスルホン酸+p-ヒドロキシル安息香酸)での検討

上記③の状況のうち、スルファミン酸ピークのブロード化を改善するためには、溶離液をより酸性にする必要があると考えられるが、フタル酸濃度を高くすることはスルファミン酸付近のベースラインの上昇を招くため不可能である。また、チオシアン酸測定のベースラインを安定化させるためには、前後に発生するシステムピークの間隔を広げる必要がある。それらを改善するために、ノンサプレッサ法においてフタル酸とともに一般的に使用される p-ヒドロキシル安息香酸、こはく酸又はくえん酸等の混合を検討したところ、p-ヒドロキシル安息香酸を 4.0 mmol/L 以上の濃度で混合した場合に、スルファミン酸と妨害ピークとの分離を改善するとともに、ベースラインを安定化させ、より低濃度まで測定することができた。そこで、p-ヒドロキシル安息香酸の混合濃度を検討するため、4, 5, 6 mmol/L と変えて硫酸アンモニア水抽出溶液にスルファミン酸及びチオシアン酸 2.5 mg/L 添加した溶液を測定し、ピーク高さを比較した結果を、Table 5 に示した。また、混合濃度 4 mmol/L として測定したクロマトグラフを Fig. 10 に示した。

p-ヒドロキシル安息香酸の混合濃度を上げるとスルファミン酸のピークは高くなり、チオシアン酸は低くなる傾向があった。スルファミン酸に比べて、チオシアン酸のピークは常によりブロードとなっており、必要な定量下限を得るためにチオシアン酸の感度を極力上げる必要があると考えられたため、p-ヒドロキシル安息香酸

の混合濃度は 4.0 mmol/L とすることとした。

Table 5 Effect of concentration of 4-hydroxybenzoic acid in eluent containing 0.5 mmol/L phthalic acid, 0.9 mmol/L sodium 1-octanesulfonate and 2.0 mmol/L sodium 1-hexanesulfonate on the peak height of sulfamic acid and thiocyanic acid

Eluent (mmol/L)	Mixed concentration of 4-hydroxybenzoic acid (mmol/L)	Sulfamic acid ^{a)}	Thiocyanic acid ^{a)}
		Peak height ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Peak height ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Phthalic acid(0.5) + Sodium 1-octanesulfonate (0.9) + Sodium 1-hexanesulfonate (2.0)	4	0.167	0.093
	5	0.178	0.089
	6	0.183	0.086

a) Concentration: 2.5 mg/L, Column temp.: 58 °C, Flow rate: 1.0 mL/min

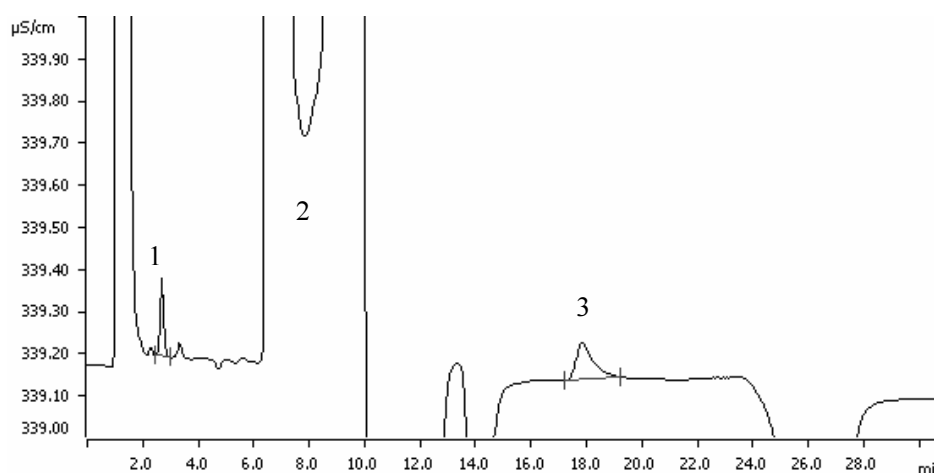


Fig. 10 Ion chromatogram of ammonium sulfate solution spiked with sulfamic acid and thiocyanic acid using a mixture of 0.5 mmol/L phthalic acid, 4.0 mmol/L 4-hydroxybenzoic acid, 0.9 mmol/L sodium 1-octanesulfonate and 2.0 mmol/L sodium 1-hexanesulfonate as eluent
Column temp.: 58 °C, Flow rate: 1.0 mL/min
Peaks: 1=sulfamic acid (2.5 mg/L); 2=sulfuric acid; 3=thiocyanic acid (2.5 mg/L)

以上の結果から、溶離液を「フタル酸 0.5 mmol/L + *p*-ヒドロキシ安息香酸 4.0 mmol/L + オクタンスルホン酸 0.9 mmol/L + ヘキサンスルホン酸 2.0 mmol/L」として測定した場合に、定量の妨げとなる妨害ピークの有無について確認したところ、Fig. 11 のとおり、くえん酸がスルファミン酸とほぼ同じ保持時間で溶出しピークが重なることが分かった。くえん酸は、スルファミン酸と同様に粒状の硫酸アンモニアを製造する工程で媒晶剤として使用する技術が開発されており¹⁸⁾、くえん酸を含有する硫酸アンモニアを測定した場合、スルファミン酸と誤認識する可能性がある。このため、スルファミン酸とくえん酸の分離が可能な溶離液条件について、引き続き検討した。

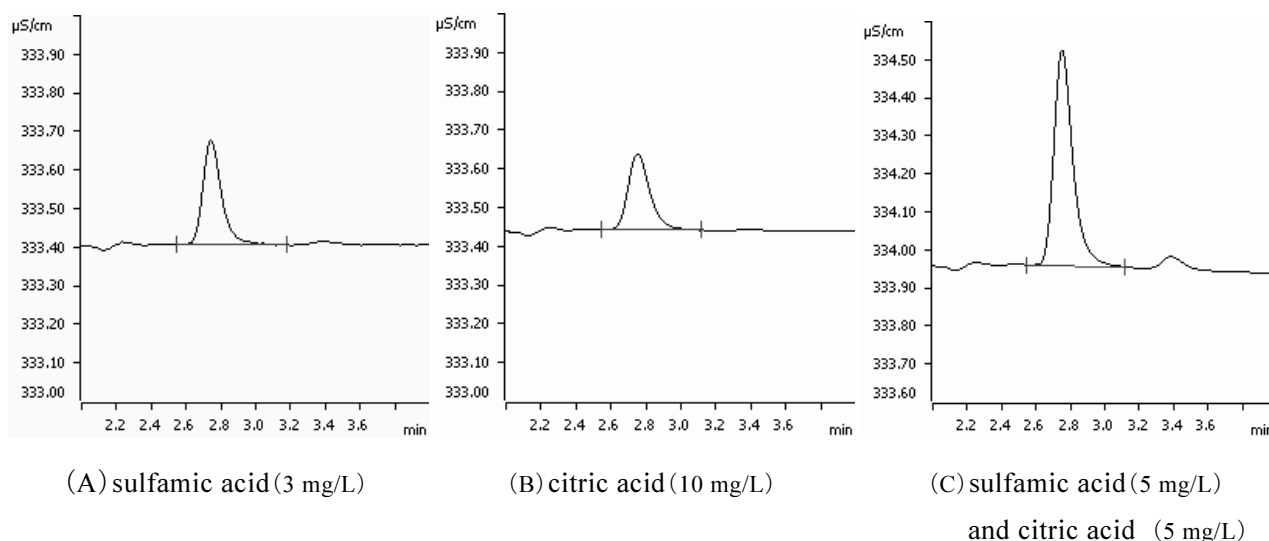


Fig. 11 Ion chromatograms of standard solution of sulfamic acid or citric acid using a mixture of 0.5 mmol/L phthalic acid, 4.0 mmol/L 4-hydroxybenzoic acid, 0.9 mmol/L sodium 1-octanesulfonate and 2.0 mmol/L sodium 1-hexanesulfonate as eluent
Column temp.: 58 °C, Flow rate: 1.0 mL/min

⑤ 混合溶離液 D (フタル酸 + オクタンスルホン酸 + ヘキサンスルホン酸 + *p*-ヒドロキシ安息香酸 + ほう酸) での検討

ノンサプレッサ法による水質分析で課題とされていたフッ化物イオンとリン酸イオンの分離を改善するために、水溶液中でフッ化物イオンと反応して疎水性の高いホウフッ化物イオン (BF_4^-) を形成するほう酸 (100 mmol/L 程度) を溶離液に混合し、フッ化物イオンに由来するピークの溶出位置を選択的に遅らせる方法が開発されている¹⁹⁾。そこで、このほう酸の混合がスルファミン酸及びくえん酸ピークの分離にどのように影響するかを検討した。ほう酸混合濃度を 50, 100, 150 mmol/L と変えて硫酸アンモニア水抽出溶液にスルファミン酸及びくえん酸各 5 mg/L を添加した溶液を測定したクロマトグラムを、Fig. 12 (スルファミン酸ピークの拡大図) に示した。

スルファミン酸は、ほう酸混合濃度を高くするとその保持時間はほぼ変わらないが、くえん酸の保持時間が遅くなり、両ピークを分離することができた。ほう酸濃度を高くするほど、スルファミン酸とくえん酸の分離は良くなるが、スルファミン酸の直前に溶出するフッ素との分離が悪くなる可能性が考えられる。硫酸アンモニア中にはフッ素は多量には含まれないため、あまり問題にはならないと考えられるが、念のため、くえん酸及びフッ素との分離のバランスが最も良くなるよう、ほう酸の混合濃度は 100 mmol/L とした。チオシアン酸は、検討したほう酸混合濃度の範囲においては、妨害ピークとの近接等の影響はみられなかった。

以上の結果から、溶離液を「フタル酸 0.5 mmol/L + *p*-ヒドロキシ安息香酸 4.0 mmol/L + オクタンスルホン酸 0.9 mmol/L + ヘキサンスルホン酸 2.0 mmol/L + ほう酸 100 mmol/L」とすることとし、以下の検討を行った。

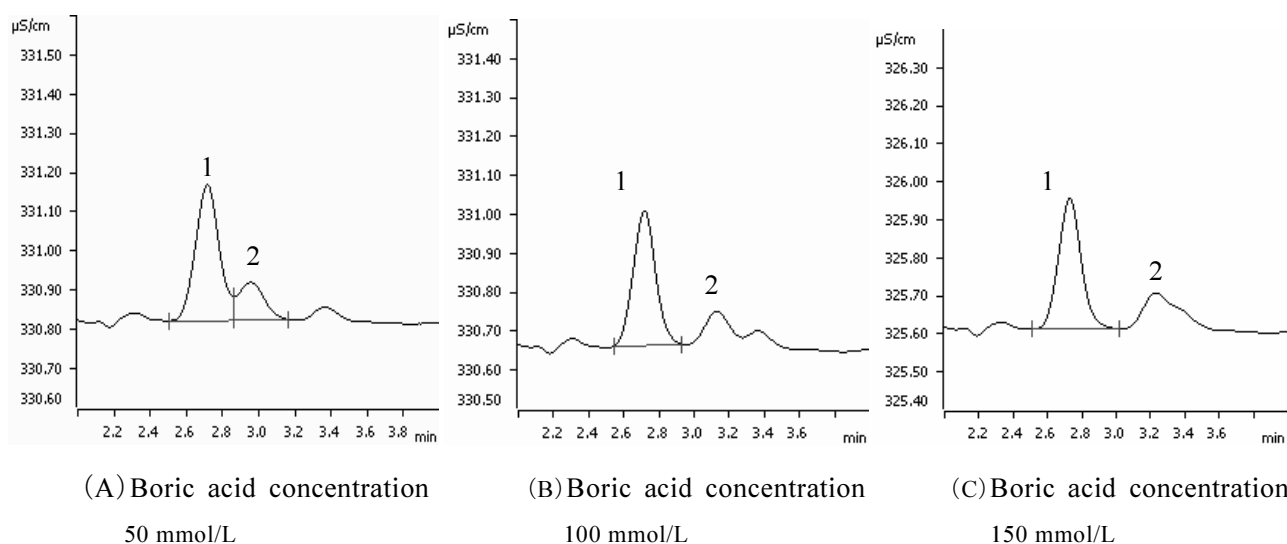


Fig. 12 Ion chromatograms of ammonium sulfate solution spiked with sulfamic acid and citric acid using the eluent which mixed different boric acid concentration

Column temp.: 58 °C, Flow rate: 1.0 mL/min

Peaks: 1=sulfamic acid (5 mg/L); 2=citric acid (5 mg/L)

(4.2) 最適カラム槽温度

カラム槽温度の違いによる、測定感度や保持時間の変化を確認するため、カラム槽温度を 50 °C, 54 °C, 58 °C と変えて硫酸アンモニア水抽出溶液にスルファミン酸及びチオシアン酸 2.5 mg/L を添加した溶液を測定し、ピーク高さを比較した結果を、Table 6 に示した。温度を 50 °C 未満とするとチオシアン酸ピークに対してシステムピークが妨害となること、カラムの使用上限温度が 60 °C であることからカラムの耐久性を考慮し、検討する温度範囲を 50 °C ~ 58 °C とした。

カラム槽温度を上げるとスルファミン酸のピーク高さは低くなり、チオシアン酸は高くなる傾向があった。カラム槽温度 50 °C ~ 58 °C の範囲では、温度の違いにより、測定対象成分のピークにシステムピーク等の妨害となるピークが影響することはなかった。スルファミン酸に比べて、チオシアン酸のピークは常にブロードとなっており、必要な定量下限を得るためにチオシアン酸の感度を極力上げる必要があると考えられたため、カラム槽温度は 58 °C とすることとした。

Table 6 Effect of column temp on the peak hight of sulfamic acid and thiocyanic acid

Column temp (°C)	Sulfamic acid ^{a)}	Thiocyanic acid ^{a)}
	Peak hight (μS/cm)	Peak hight (μS/cm)
50	0.170	0.083
54	0.168	0.087
58	0.167	0.093

a) Concentration: 2.5 mg/L, Flow rate: 1.0 mL/min

(4.3) 溶離液の最適流量

溶離液の流量の違いによる、測定感度や保持時間の変化を確認するため、流量を 0.8 mL/min, 1.0

mL/min, 1.2 mL/min と変えて硫酸アンモニア水抽出溶液にスルファミン酸及びチオシアン酸 2.5 mg/L を添加した溶液を測定したクロマトグラムを, Fig. 13 (スルファミン酸ピークの拡大図) に示した. カラムの標準的な流量が 1.0 mL/min であり, 使用上限が 1.2 mL/min であるため, 検討する流量の範囲を 0.8 mL/min~1.2 mL/min とした.

スルファミン酸は, 流量を 1.0 mL/min とした場合が, 最も妨害ピークから分離して測定することができた. チオシアン酸は, 設定した範囲の流量においては, 妨害ピークとの近接等の影響はみられなかった. このため, 溶離液の流量は 1.0 mL/min とすることとした.

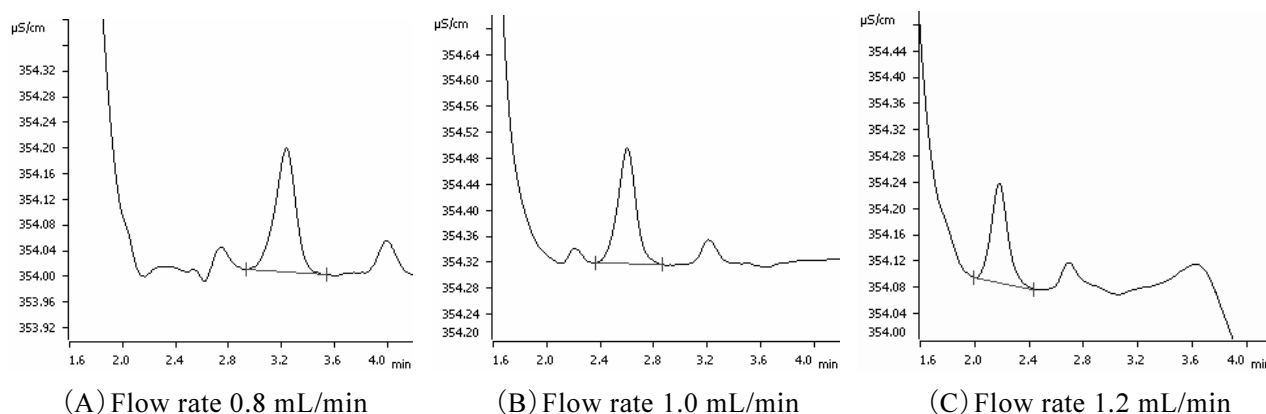


Fig. 13 Effect of flow rate on the separation of sulfamic acid

以上の結果から, イオンクロマトグラムの測定条件は, 2.4).(2)の条件とし, 最も遅く発生するシステムピーク及び連続分析に移る際の安定化時間を含めて約 35 分以内でスルファミン酸及びチオシアン酸を測定することができた. この条件により, 以下の検討を行った.

2) 検量線の直線性の確認

2.2) (12)~(14)に従って調製した標準液を 0.3 mg/L~10 mg/L まで段階的に希釈し, 20 μ L をイオンクロマトグラフに注入し, 得られたクロマトグラムからピーク面積及び高さを求めて検量線を作成した. その結果, 0.3 mg/L~10 mg/L (6 ng~200 ng) の範囲で直線性を示した. 参考として検量線の一例を Fig. 14 に示した.

3) 試料溶液調製方法の検討

肥料分析法³⁾のスルファミン酸測定における硫酸アンモニウム塩の試料溶液調製方法は, 「分析試料 10 g~20 g をビーカーにとり, 水約 100 mL を加えて溶かす」としている. 一方で, チオシアン酸測定では, 含有許容値の設定されている肥料全体を対象として, 分析試料 5 g をビーカーにとり, 水を加えて溶かし, 煮沸したものを試料溶液としており, 抽出方法が異なる. また, 肥料中のスルファミン酸測定において, 分析試料 2.5 g を全量フラスコ 250 mLにとり, 水約 200 mL を加え回転振とう機でそれぞれ 30 分, 60 分, 120 分間振り混ぜて抽出した場合, 30 分, 60 分, 120 分いずれの抽出時間でも測定値に差は認められないという報告²⁾がある.

本検討では適用対象を硫酸アンモニアのみとしており, 硫酸アンモニア, スルファミン酸及びチオシアン酸は, 水への溶解度が非常に高いため(水への溶解度は, それぞれ 70.6 g/100 g (0 $^{\circ}$ C), 14.689 g/100 g (0 $^{\circ}$ C), 120 g/100 g (0 $^{\circ}$ C))²⁰⁾, 分析試料に水を加えて手で振り混ぜることで容易に溶解する. このため,

試料溶液調製方法は極力簡便なものとし、分析試料 1.00 g を全量フラスコ 100 mL にはかりとり、水約 50 mL を加え、全量フラスコの蓋をして振り混ぜて溶かし、標線まで水を加えることとした。

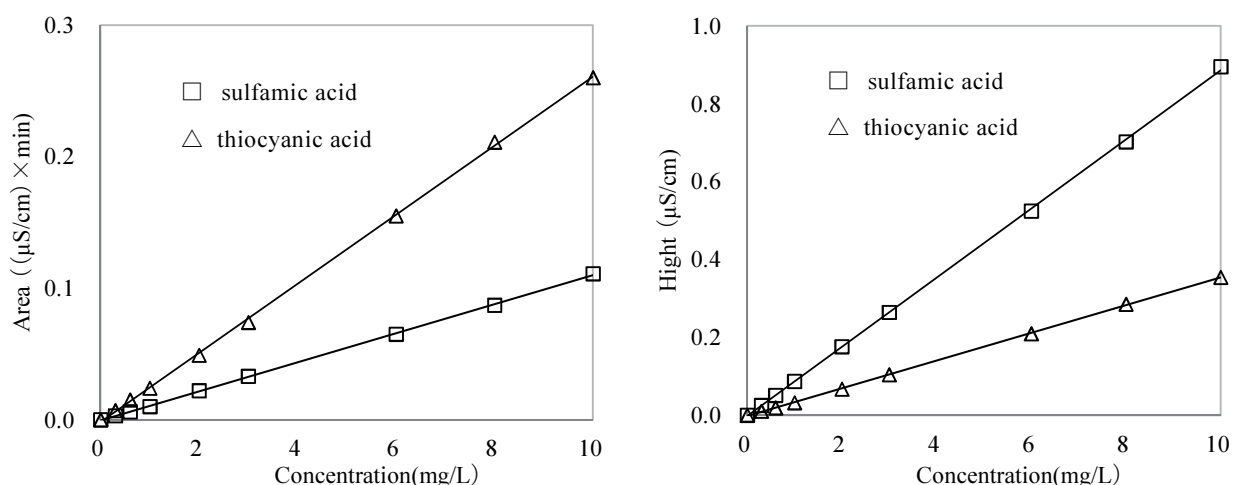


Fig. 14 Calibration curves of sulfamic acid and thiocyanic acid by peak area (left) and peak height (right)

4) 希釈倍率の検討

イオンクロマトグラフ法においては、試料中の硫酸イオンなどのマトリックスが高濃度に存在すると測定対象イオンの溶出バンドの収束性が低下する「マイ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²¹⁾。また、硫酸イオンが測定用試料溶液中に高濃度に存在すると、ベースラインの不安定化や、測定対象イオンのピークと重なり妨害となる場合もある。そこで、マトリックスの影響を抑えるため、上記3)で調製した試料溶液の希釈倍率について検討した。希釈倍率を5倍、10倍、12.5倍、20倍と変え、希釈後の濃度がそれぞれ 2.5 mg/L となるようにスルファミン酸及びチオシアン酸を添加した硫酸アンモニアの試料溶液を測定し、ピーク高さ又は面積により算出した回収率を比較した結果を Table 7 に示した。

スルファミン酸は、希釈倍率を上げることで回収率が改善したが、20倍としてもピーク高さで算出した回収率は90%未満であった。面積算出の回収率は、10倍以上の希釈で良好な回収率となった。これは、マトリックスである硫酸イオンによるマイクログラジエント溶出作用が起きているためと考えられる。チオシアン酸については、5倍～20倍のいずれの回収率も良好な結果となった。チオシアン酸は、硫酸イオンの後に溶出するため、その影響をあまり受けないと考えられる。このことから、マトリックスの影響を抑えるためには20倍以上の希釈が必要であるが、必要な定量下限が得られなくなる可能性があるため、希釈倍率は12.5倍とし、濃度の算出は面積で行うこととした。

したがって、試験操作としては、上記3)の溶解液の一定量を正確にとり、水で正確に12.5倍希釈し、メンブレンフィルター(孔径 0.45 μm)でろ過し、イオンクロマトグラフに供する試料溶液とすることとした(2.4)(1)の試料溶液の調製)。

Table 7 Results of recovery test for sulfamic acid and thiocyanic acid at the different liquid dilution

Analyte	Dilution, fold	Spiked level ^{a)} (mg/L)	Peak high	Peak area
			Recovery ^{b)} (%)	Recovery ^{b)} (%)
Sulfamic acid	5	2.5	50.8	66.8
	10	2.5	73.4	99.1
	12.5	2.5	80.6	102.0
	20	2.5	89.8	101.4
Thiocyanic acid	5	2.5	97.7	97.4
	10	2.5	100.1	99.9
	12.5	2.5	96.9	99.2
	20	2.5	97.7	96.9

a) Solution intermediary concentration for measurement after dilution

b) Mean recovery ($n=3$)

5) マトリックスの検討

硫酸アンモニアは、製造方法により主に 3 種類に分けられる。副生硫酸アンモニア(以下、「副生硫酸」という。)は、石炭もしくは重油に含まれる窒素酸化物が分解され、生成したアンモニアを硫酸で捕集することで得られる。カプロラクタム回収硫酸アンモニア(以下、「カプロラクタム回収硫酸」という。)は、カプロラクタムの製造工程で中和用にアンモニアを使用し多量に生成される。アクリロニトリル回収硫酸アンモニア(以下、「アクリロニトリル回収硫酸」という。)は、アクリロニトリルの加水分解で生成するアクリルアミドは硫酸溶液で得られることから、これをアンモニアで中和して得られる²²⁾。

収集することができた硫酸アンモニア 17 銘柄(副生硫酸 10, カプロラクタム回収硫酸 5, アクリロニトリル回収硫酸 2)を本法により測定し、定量を妨げる妨害ピークの有無について確認した。その結果、スルファミン酸及びチオシアン酸の測定に対して妨害となるピークは確認されなかった。

また、硫酸アンモニア 1 銘柄を用いて本法の試料溶液調製方法により調製し、スルファミン酸及びチオシアン酸を含有許容値程度添加した試料溶液中に、各種の試薬を添加して、定量の妨げとなる物質の有無を確認した。添加した試薬は、無機陰イオンとして、りん酸、ふっ素、臭素酸、塩素酸、亜塩素酸、塩素、亜硝酸、硝酸、亜硫酸、チオ硫酸、硫酸、よう素、過塩素酸、また、有機酸イオンとして、酢酸、乳酸、ピログルタミン酸、りんご酸、プロピオン酸、ピルビン酸、くえん酸、酪酸、マロン酸、しゅう酸である。その結果、スルファミン酸及びチオシアン酸とほぼ同じ保持時間に溶出する成分はなかった。添加した成分のうち、特にスルファミン酸の保持時間の直前に溶出するふっ素及びプロピオン酸は濃度が高い場合は、スルファミン酸とピークが重なる場合があったが、硫酸アンモニア中にはこれらの成分が高濃度で含まれることはないため、特に問題とはならないと考えられる。試薬を添加した本試験でのクロマトグラフの一例を Fig. 15 に示した。

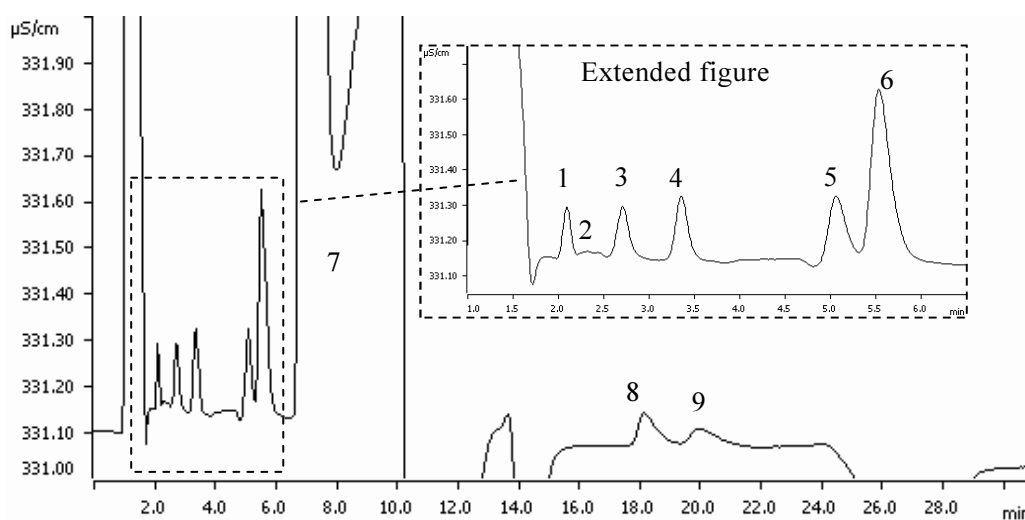


Fig. 15 Ion chromatograms of ammonium sulfate solution spiked with standard solution of anions obtained by the matrix check test in the proposed method

Peaks: 1= formic acid (5 mg/L); 2= propionic acid (5 mg/L); 3=sulfamic acid (2 mg/L); 4=hydrochloric acid (0.5 mg/L); 5= chloric acid (2.5 mg/L) ; 6=nitric acid (5 mg/L); 7=sulfuric acid; 8=thiocyanic acid (2 mg/L); 9=perchloric acid (2 mg/L)

Table 8 Recovery test for sulfamic acid and thiocyanic acid

Analyte	Sample	Spiked level (%) ^{a)}	Concentration ^{b)}	SD ^{c)} (%) ^{a)}	RSD ^{d)} (%)	Recovery ^{e)} (%)
Sulfamic acid	Ammonium sulfate 1	0.075	0.076	0.001	1.6	100.8
	(Byproduct)	0.250	0.252	0.006	2.3	101.0
	Ammonium sulfate 2	0.075	0.071	0.001	0.7	94.4
	(Caprolactam recovered)	0.250	0.259	0.004	1.4	103.5
	Ammonium sulfate 3	0.075	0.071	0.002	2.1	95.1
	(Acrylonitrile recovered)	0.250	0.249	0.003	1.3	99.4
Thiocyanic acid	Ammonium sulfate 1	0.075	0.073	0.001	1.1	97.1
	(Byproduct)	0.250	0.255	0.010	4.0	102.1
	Ammonium sulfate 2	0.075	0.073	0.000	0.6	97.4
	(Caprolactam recovered)	0.250	0.259	0.012	4.8	103.7
	Ammonium sulfate 3	0.075	0.070	0.004	5.9	93.9
	(Acrylonitrile recovered)	0.250	0.254	0.004	1.8	101.8

a) Mass percent

b) Mean value ($n=3$)

c) Standard deviation (SD)

d) Relative standard deviation (RSD)

e) Mean recovery ($n=3$)

6) 添加回収試験及び併行精度確認

肥料公定規格において、硫酸アンモニア中のスルファミン酸及びチオシアン酸の含有許容値は、窒素 1.0 %につき、0.01 %と定められている¹⁾。現在、肥料登録されている硫酸アンモニアのうち、窒素保証成分量の最大は 21.0 %、最小は 20.5 %であり、含有許容値の最大は 0.210 %、最小は 0.205 %となる。このことから、測定する可能性のある濃度範囲を考慮し、各成分について高濃度として 0.25 % (2,500 μg/g)、低濃度

として 0.075 % (750 $\mu\text{g/g}$) 相当量を添加した硫酸アンモニアについて回収試験を行った。

硫酸アンモニア 3 銘柄 (副生, カプロラクタム回収, アクリロニトリル回収硫酸の各 1 銘柄) に, スルファミン酸, チオシアン酸 (チオシアン酸アンモニウム) としてそれぞれ 0.075 % (750 $\mu\text{g/g}$) 及び 0.25 % (2,500 $\mu\text{g/g}$) 相当量添加し, 本法により 3 点併行分析を行い, 得られたその平均回収率及び併行相対標準偏差を Table 8 に示した. スルファミン酸及びチオシアン酸の平均回収率は 93.9 %~103.7 %, それらの併行相対標準偏差 (RSD) は 0.6 %~5.9 % であり, 良好な回収率及び併行精度が得られた。

なお, 標準液及び添加回収試験で得られた硫酸アンモニアにおけるクロマトグラムの一例を Fig. 16 に示した。

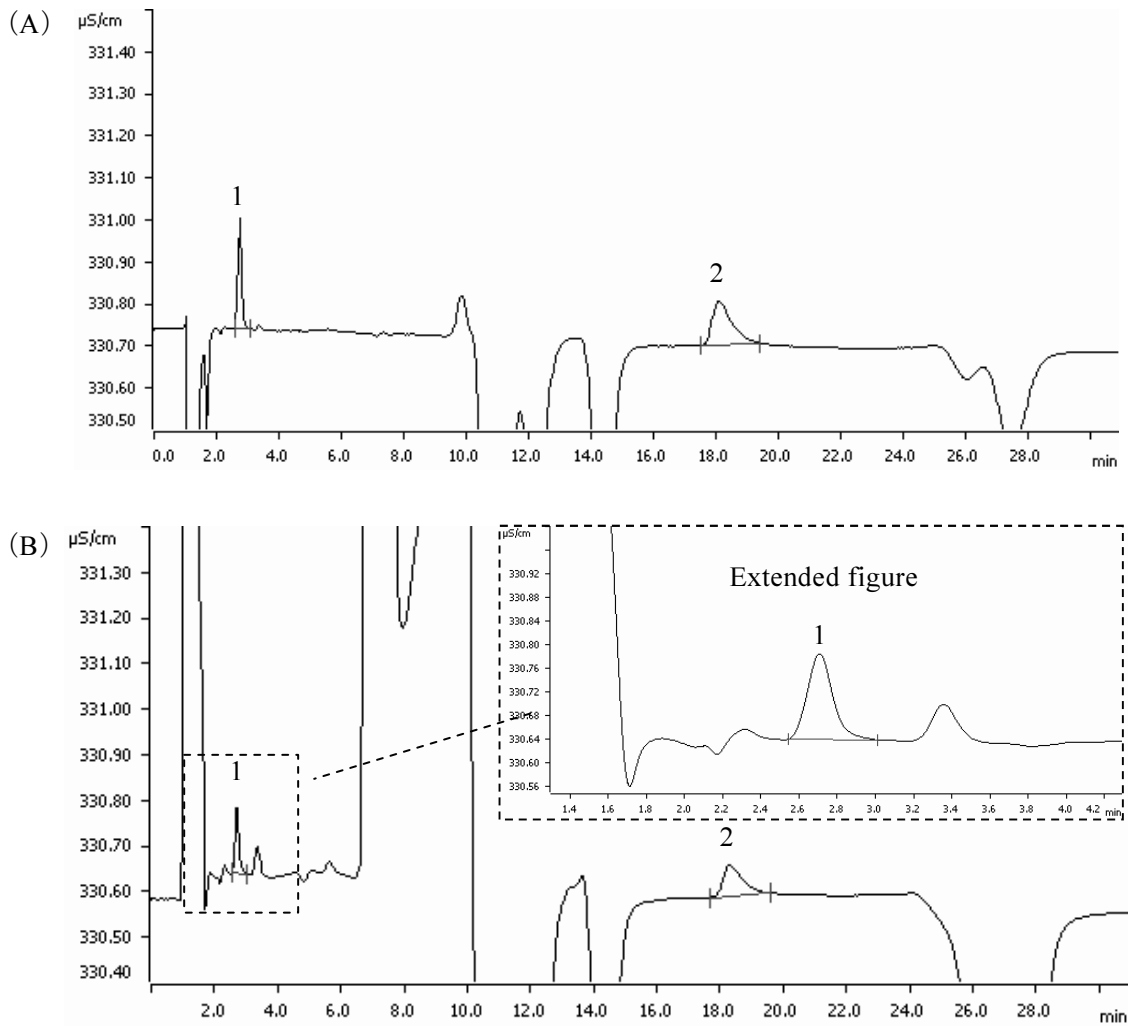


Fig. 16 Ion chromatograms of standard solution and sample solution

(A) Standard solution of sulfamic acid and thiocyanic (each 3 mg/L)

(B) Sample solution of ammonium sulfate (spiked with sulfamic acid and thiocyanic acid at 0.25 mass% (2500 $\mu\text{g/g}$))

Peaks: 1=sulfamic acid; 2=thiocyanic acid

7) 定量下限及び検出下限の確認

硫酸アンモニア1点を用いて, 分析試料中のスルファミン酸及びチオシアン酸アンモニウムの含有量として 0.05 % (500 $\mu\text{g/g}$) になるようにそれぞれ添加して 7 点併行試験を実施し, 定量下限及び検出下限の確認

試験を行った結果を Table 9 に示した. 定量下限は(標準偏差) $\times 10$, また, 検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ として示される²³⁾ので, 本法の定量下限及び検出下限は 0.04 % (400 $\mu\text{g/g}$) 程度及び 0.02 % (200 $\mu\text{g/g}$) 程度と推定された. これは, 含有許容値の最低濃度である 0.20 % (2,000 $\mu\text{g/g}$) のそれぞれ 1/5 及び 1/10 以下であり, コーデックス委員会の受け入れ基準を満たしていた²⁴⁾.

Table 9 Limit of quantitation and detection of sulfamic acid and thiocyanic acid

Analyte	Spiked level	Concentration ^{a)}	SD ^{b)}	(mass%)	
				LOQ ^{c)}	LOD ^{d)}
Sulfamic acid	0.05	0.047	0.0034	0.034	0.013
Thiocyanic acid	0.05	0.047	0.0035	0.035	0.014

a) Mean value ($n=7$)

b) Standard deviation (SD)

c) $\text{SD} \times 10$

d) $\text{SD} \times 2 \times t(n-1, 0.05)$

4. まとめ

イオンクロマトグラフ法による硫酸アンモニア中の硫黄酸化物(チオシアン酸アンモニウム)及びスルファミン酸の定量法の単一試験室における妥当性確認のための試験を実施したところ, 次の結果を得た.

- 1) 使用する分離カラムを検討したところ, イオン交換方式(ノンサプレッサ法)のカラム(充填剤 第4級アンモニウム基を結合した親水性メタクリレート系ゲル)が最適であった.
- 2) 測定条件を検討したところ, 溶離液は「フタル酸 0.5 mmol/L + *p*-ヒドロキシ安息香酸 4.0 mmol/L + オクタンスルホン酸 0.9 mmol/L + ヘキサンスルホン酸 2.0 mmol/L + ほう酸 100 mmol/L, カラム槽温度 58 °C, 流量 1.0 mL/min が最適であり, この条件での測定時間は 35 分程度であった.
- 3) ピーク面積又は高さを用いて検量線を作成したところ, 0.3 mg/L ~ 10 mg/L (6 ng ~ 200 ng) の範囲で直線性を示した.
- 4) 17 銘柄の硫酸アンモニアについて本法に従ってスルファミン酸及びチオシアン酸測定を実施した結果, 定量を妨害する夾雑ピークはなかった.
- 5) 3 銘柄の硫酸アンモニアについてスルファミン酸, チオシアン酸(チオシアン酸アンモニウム)としてそれぞれ 0.075 % (750 $\mu\text{g/g}$) 及び 0.25 % (2,500 $\mu\text{g/g}$) 相当量添加し, 添加回収試験を行った結果, 平均回収率は 93.9 ~ 103.7 %, その併行精度は併行相対標準偏差(RSD)として 0.6 % ~ 5.9 % であった.
- 6) 本法における硫酸アンモニア中のスルファミン酸及びチオシアン酸の定量下限及び検出下限は 0.04 % 程度及び 0.02 % 程度と推定された.

本法で使用する測定機器は, グラジエント機能やサプレッサといった高価な設備を必要とせず, 電気伝導度検出器を用いたイオンクロマトグラフ又は高速液体クロマトグラフで測定することができるため, 日常的な品質管理用の測定法として活用が期待される.

文 献

- 1) 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, 最終改正平成 22 年 4 月 9 日, 農林省告示第 589 号 (2010)
- 2) 越野正義:第二改訂詳解肥料分析法, 234~237.245~247, 養賢堂, 東京 (2005)
- 3) 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)
- 4) 田中壽雄:イオンクロマトグラフィーによる肥料中の硫青酸化物, 肥検回報, **48**, 33~39 (1995)
- 5) 坂上光一:イオンクロマトグラフィーによる肥料中のスルファミン酸(アミド硫酸)肥検回報, **49**, 26~32 (1996)
- 6) 岡田哲男, 山本敦, 井上嘉則:研究者・技術者のための手引書 クロマトグラフィーによるイオン性化学種の分離分析, 107~108, 株式会社エヌ・ティー・エス, 東京 (2002)
- 7) 田中一彦:役にたつイオンクロマト分析, 4~5.58, 株式会社みみずく舎, 東京 (2009)
- 8) メトロムジャパン株式会社:IC アプリケーション A-040
<http://www.metrohm.jp/export/Homepages/Japan/IC_application/1ic_appli.html>
- 9) 三浦恭之:無機硫黄陰イオン混合物の迅速・高感度イオンクロマトグラフィー, 分析化学, **54** (8), 651~664 (2005)
- 10) 柴山人之, 津崎昌夫, 藤原聡, 浦和雄:粒状硫安の製造方法, 特願平 5-210260
- 11) 別役仁:硫安結晶の製造方法, 特願 2000-226211
- 12) 田中一彦:役にたつイオンクロマト分析, 14~16, 株式会社みみずく舎, 東京 (2009)
- 13) 小崎大輔, 後藤良三, 増田和香子, 齋藤大輔, 中谷暢丈, 中越信和, 森勝伸, 田中一彦:イオン排除/陽イオン交換型イオンクロマトグラフィーの中小都市河川水の水質モニタリングへの応用, 分析化学, **57** (8), 651~658 (2008)
- 14) 田中一彦:イオン排除型イオンクロマトグラフィーによる水質モニタリング法の開発に関する研究, 分析化学, **55** (5), 275~289 (2006)
- 15) 岡田哲男, 山本敦, 井上嘉則:研究者・技術者のための手引書 クロマトグラフィーによるイオン性化学種の分離分析, 113~114, 株式会社エヌ・ティー・エス, 東京 (2002)
- 16) 東ソー株式会社:SEPARATION REPORT No.041 イオンクロマトグラフィーその実際, 13
- 17) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課:LC/MS を用いた化学物質分析法開発マニュアル, 32~33 <<http://www.env.go.jp/chemi/anzen/lcms/index.html>>
- 18) 北山拓郎, 大橋清:粒状硫安の製造方法, 特願 2000-390427
- 19) 岡田哲男, 山本敦, 井上嘉則:研究者・技術者のための手引書 クロマトグラフィーによるイオン性化学種の分離分析, 118, 株式会社エヌ・ティー・エス, 東京 (2002)
- 20) 化学大辞典編集委員会:化学大辞典, **1**, 245, **5**, 812, **9**, 690, 共立出版株式会社, 東京 (1960)
- 21) 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—, ぶんせき, **3**, 153~154 (2004)
- 22) 尾和尚人, 木村真人, 越野正義, 三枝正彦, 但野利秋, 長谷川功, 吉羽雅昭:肥料の辞典, 79~80, 株式会社朝倉書店, 東京 (2006)
- 23) 環境省水・大気環境局水環境課:要調査項目等調査マニュアル(水質, 底質, 水生生物), 平成 20 年 3 月, 8~11 (2008)
- 24) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, 66 (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>

Simultaneous Determination of Sulfamic Acid and Ammonium Thiocyanate in Ammonium Sulfate by Nonsuppressed Ion Chromatography

Toshiaki HIROI¹ and Yuji SHIRAI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

An analytical method using ion chromatograph (IC) for simultaneous determination of sulfamic acid and ammonium thiocyanate in ammonium sulfate was developed. Sulfamic acid and ammonium thiocyanate was extracted with water. The eluate was filtered through membrane filter and analyzed using IC. IC was performed with an anion exchange column (4.6 mm internal diameter, 100 mm length, 5 µm particle size) at a flow-rate of 1.0 mL/min, using mobile phase of phthalic acid 0.5 mmol/L + 4-hydroxybenzoic acid 4.0 mmol/L + sodium 1-octanesulfonate 0.9 mmol/L + sodium 1-hexanesulfonate 2.0 mmol/L + boric acid 100 mmol/L. Sulfamic acid and ammonium thiocyanate was detected with a conductivity detector. The means recovery rates from 3 samples with concentration of 0.075 and 0.25 % of dicyandiamide ranged from 93.9 to 100.8 % and from 99.4 to 103.7 %, respectively. The relative standard deviations (RSD) were from 0.6 to 5.9 % and from 1.3 to 4.8 %, respectively. The result of 7 replicate measurements of sulfamic acid and ammonium thiocyanate in ammonium sulfate, the lower limit of quantitation value was 0.04 %. These results show the method has sufficient sensitivity and accuracy for determination of sulfamic acid and ammonium thiocyanate in ammonium sulfate.

Key words fertilizer, ammonium sulfate, sulfamic acid, ammonium thiocyanate, ion chromatograph

(Research Report of Fertilizer, **5**, 1~23, 2012)