

5 液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)による肥料中の

スルファミン酸の測定

伊藤浩平¹, 藤田真理子², 橋本良美¹, 白井裕治¹

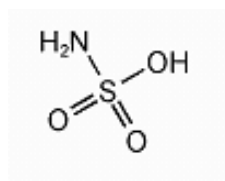
キーワード スルファミン酸, 肥料, LC-MS 法

1. はじめに

肥料中の有害成分であるスルファミン酸(別名, アミド硫酸(Fig.1))の定量については, 肥料分析法において亜硝酸ナトリウム法が定められている^{1, 2)}が, 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。また, 肥料の種類によっては, 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。

平成 23 年度及び平成 24 年度において, イオンクロマトグラフ法により肥料中のスルファミン酸の測定の検討を行った。当初は, スルファミン酸及び硫酸化物の含有許容値が設定されている肥料に適応可能な同時測定について検討した。しかし, 有機酸等を多く含む肥料ではスルファミン酸定量の妨害となる共存物質が多く存在し, 妨害物質の除去や分離が困難であるという課題があったため, 平成 23 年度は硫酸アンモニアのみを対象とした 2 成分同時測定について検討を行った³⁾。平成 24 年度は, 他の肥料の種類については, 2 成分の含有許容量がより低いこと, また, 定量の妨害となる共存物質も多様であることから, 2 成分を個別に検討することとした。2 成分のうちスルファミン酸は紫外外部吸収を持たないことから, 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検討を行った⁴⁾。まず, 有機酸等の妨害物質について前処理時の除去方法を検討したが, 完全に除去はできなかった。また, サプレッサー法及びノンサプレッサー法により, 妨害ピークとスルファミン酸ピークとの分離可能な測定条件を検討したが, 完全に分離可能な測定条件は確立できなかった。以上より, イオンクロマトグラフ法による有機酸等を多く含む肥料中のスルファミン酸の測定は困難であることが明らかとなった。

このため, 高速液体クロマトグラフィー質量分析計(以下「LC-MS」という。)により有機酸等を多く含む肥料中のスルファミン酸を迅速かつ精確に定量することを目的に測定条件の確認等の検討を行った。



Sulfamic acid [HOSO₂NH₂]

Fig.1 Chemical structures of sulfamic acid

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

² 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)福岡センター

2. 材料及び方法

1) 供試試料

供試試料は硫酸アンモニウムや、有機酸を多量に含むアミノ酸発酵廃液を原材料とした肥料を対象とし、硫酸アンモニア 1 点、副産窒素肥料 1 点、副産複合肥料 1 点、化成肥料 1 点、液状複合肥料 1 点、家庭園芸用複合肥料 1 点の計 6 点を用いた。固形の試料は、それぞれ目開き 500 μm のスクリーンを通過するまで粉碎したものを分析用試料とし、使用時までポリエチレン製の袋に密封して常温保管した。

2) 試薬等の調製

(1) 水:水精製装置 (Elix Advantage5 及び Milli-Q Academic A-10, Millipore) で精製した JIS K 0557 に規定する A4 の水を用いた。

(2) アセトニトリル: LC-MS 用試薬。

(3) ぎ酸: LC-MS 用試薬。

(4) ぎ酸アンモニウム緩衝液 (pH 3.2): 純度 95 % (質量分率) 以上のぎ酸アンモニウム 3.153 g を水に溶かして 500 mL とし、ぎ酸により pH 3.2 となるよう調整した。

(5) スルファミン酸標準液 (1 mg/mL): JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質アミド硫酸 0.1 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg の桁まで測定する。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。

(6) スルファミン酸標準液 (10 $\mu\text{g/mL}$): 使用時に、標準液 (1 mg/mL) 2.5 mL を全量フラスコ 250 mL にとり、標線まで水を加えた。

(7) スルファミン酸標準液 (200 ng/mL): 使用時に、標準液 (10 $\mu\text{g/mL}$) 5 mL を全量フラスコ 250 mL にとり、標線まで水を加えた。

(8) 検量線用スルファミン酸標準液 (10 ng/mL ~ 600 ng/mL): 使用時にスルファミン酸標準液 (10 $\mu\text{g/mL}$) の 2.5 mL ~ 6 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。同様に、スルファミン酸標準液 (200 ng/mL) の 5 mL ~ 50 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。

3) 器具及び装置

(1) 高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS): 島津製作所 LCMS-2010EV
カラム: phenomenex Luna HILIC (内径 2.0 mm, 長さ 100 mm, 粒径 5 μm , 架橋型ジオールを化学結合したシリカゲルカラム)

(2) メンブレンフィルター: ADVANTEC DISMIC-13HP (孔径 0.45 μm)

(3) 高速遠心分離機: HSIANGTAI MCD-2000

(4) 遠心分離機: コクサン H-26F

(5) マグネチックスターラー: ADVANTEC SRS261PA

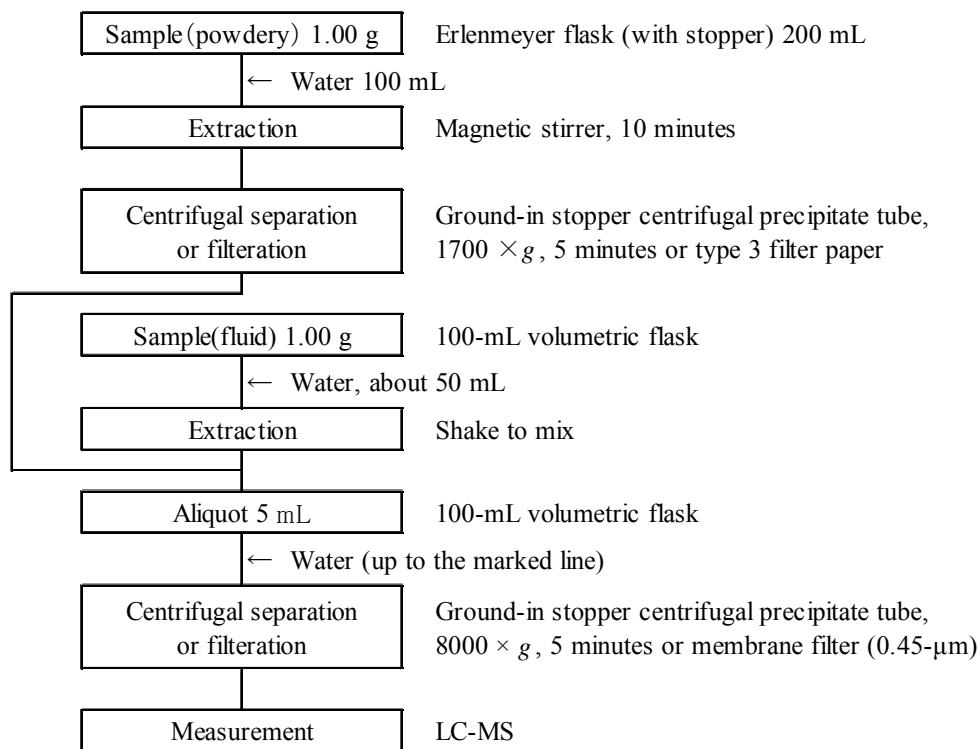
4) 試験操作

(1) 試料溶液の調製

粉状の分析用試料の場合、分析試料 1.00 g 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、遠心力 1700 $\times g$ で約 5 分間遠心分離した上澄み液、またはろ紙 3 種でろ過したろ液を抽出液とした。

液状の分析用試料の場合、分析試料 1.00 gをはかりとり、全量フラスコ 100 mLに入れ、水約 50 mLを加えて振り混ぜ、更に標線まで水を加えて抽出液とした。

抽出液は 5 mL 分取し、全量フラスコ 100 mL に入れ、標線まで水を加え 20 倍に希釈した。この希釈液をポリプロピレン製の共栓遠心沈殿管 1.5 mL にとり、遠心力 $8000 \times g$ で約 5 分間遠心分離した上澄み液、またはメンブレンフィルター(孔径 0.45 μm)でろ過したろ液を測定用試料溶液とした (Scheme 1)。



Scheme 1 Flow sheet for sulfamic acid in fertilizers

(2) 測定

試料溶液 1 μL を LC-MS に注入し、Table 1 の測定条件に従って、選択イオン検出(以下「SIM」という。)クロマトグラムを得た。得られた SIM クロマトグラムからピーク面積を求めた。

Table 1 LC-MS Conditions

Column	Phenomenex, LUNA HILIC (2.0 mm i.d. \times 100 mm L, 5 μm particle size)
Mobile phase	Ammonium formate buffer - acetonitrile (1+9)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 $^{\circ}\text{C}$
Injection volume	1 μL
Measurement time	20 minutes
Ionization method	Electrospray ionization (ESI) negative ion mode
Capillary voltage	- 3.5 kv
Ion source temperature	300 $^{\circ}\text{C}$
Nebulizer gas flow rate	1.5 L/min
Desolvation gas temperature	250 $^{\circ}\text{C}$
Monitor ion	m/z 95.9

3. 結果及び考察

1) 測定条件

スルファミン酸検量線用標準液(600 ng/mL 相当量)のSIMクロマトグラムをFig. 2及びFig. 3に示した. 株式会社島津製作所のカラムのアプリケーション⁵⁾を参考にLC-MS測定条件(Table 1)を設定したところ, 10 ng/mL~600 ng/mLの範囲でスルファミン酸のピークが確認できた.

2) 検量線の直線性

検量線用標準液(10 ng/mL~600 ng/mL)を本法に従ってLC-MSに注入し, 得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を作成した(Fig.4). その結果, 検量線用標準液は10 ng/mL~600 ng/mLの範囲で直線性が高く, 原点付近をとる検量線が得られた.

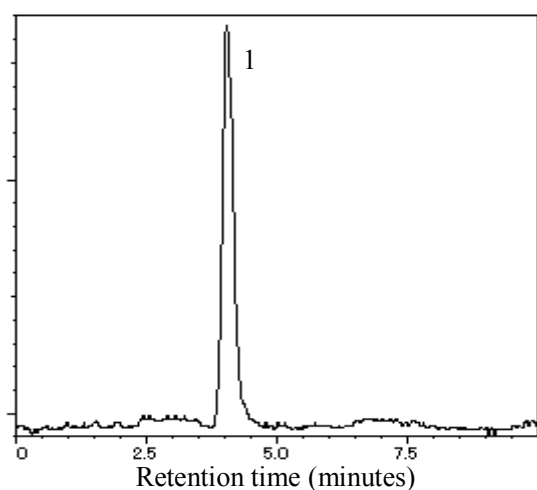


Fig.2 SIM chromatogram of standard mixture
Peak1 (Concentration): Sulfamic acid (600 ng/mL)

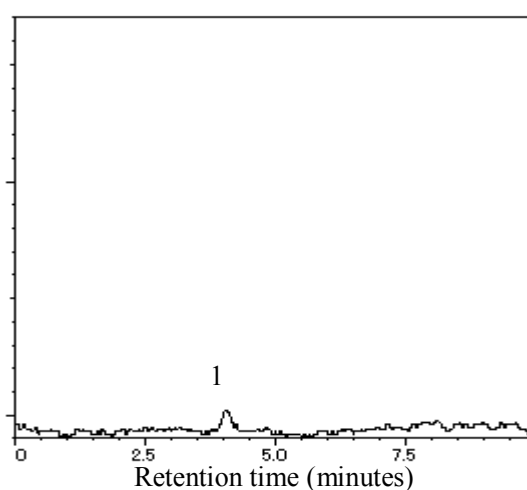


Fig.3 SIM chromatogram of standard mixture
Peak1 (Concentration): Sulfamic acid (25 ng/mL)

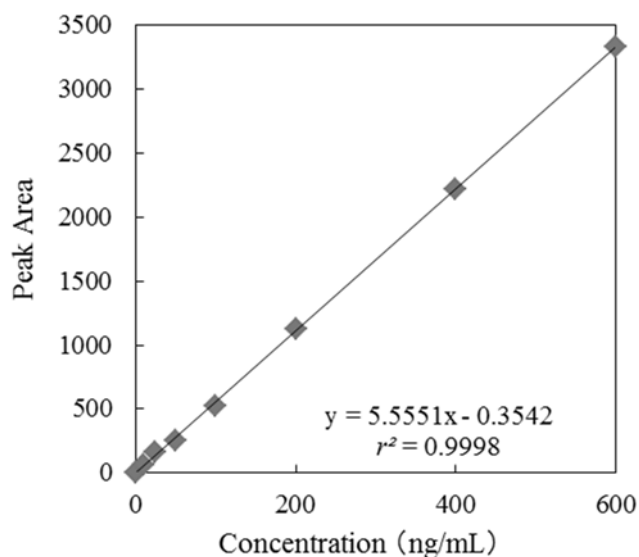


Fig.4 Calibration curve of sulfamic acid

3) 共存物質除去方法の検討

供試試料には共存物質が多量に含まれ、特にアミノ酸発酵廃液を原料とした肥料では、たんぱく質や核酸を多く含む可能性がある。これらの共存物質は測定の妨害物質となることがあるため、試料溶液を LC-MS に注入する前に可能な限り除去を行う必要がある。そこで、たんぱく質や核酸の除去が可能な限外ろ過フィルター(孔径 0.2 μm , ポリエーテルスルホン(PES)製)とメンブレンフィルター(孔径 0.45 μm , 親水性ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)製)の使用が可能か検討した。

2 濃度のスルファミン酸標準液(10 ng/mL 及び 100 ng/mL)を限外ろ過フィルターまたはメンブレンフィルターでろ過した溶液とろ過未実施のスルファミン酸標準液を調製し、本法に従って測定した。得られたピーク面積から、ろ過未実施の溶液を 100 %とした場合の各フィルターろ過溶液の回収率を算出するとともに、ろ過未実施の溶液と各フィルターろ過溶液の平均値の差による検定を行い、これらの結果を Table 2 に示した。

限外ろ過フィルターでろ過した場合、回収率は 10 ng/mL で 75.1 %及び 100 ng/mL で 79.6 %であり、ピーク面積はろ過未実施の標準液と比較すると有意に小さくなった(有意水準 5 %)。また、メンブレンフィルターでろ過した場合の回収率は 10 ng/mL で 97.0 %及び 100 ng/mL で 94.9 %であり、有意な差は認められなかった。

このことから、本検討で使用した PES 製の限外ろ過フィルターはろ液のスルファミン酸量が低下するため使用できないことが確認された。また、親水性 PTFE 製のメンブレンフィルターはろ液と未ろ過のスルファミン酸量に差がある証拠は見つからなかった。

Table 2 Influence of filtration process on recovery rate of sulfamic acid

Sample	Filtration process	Concentration (ng/mL)	Recovery rate ^{a)} (%)
Standard solution of sulfamic acid	Ultrafiltration ^{b)}	10	75.1
	Ultrafiltration	100	79.6
	Membrane filter ^{c)}	10	97.0
	Membrane filter	100	94.9

a) $n=3$

b) Polyether sulfone (PES) membrane

c) Hydrophilic polytetrafluoroethylene (PTFE) membrane

次に、供試試料のうちアミノ酸発酵廃液を主な原料としている副産窒素肥料を用いて、夾雑物質の除去方法の違いが測定値に及ぼす影響を確認した。試料にスルファミン酸標準液を 0.1 %含有するよう添加し、メンブレンフィルターでろ過して得られた測定溶液と、8000 \times g で 5 分間の遠心分離を行って得られた測定溶液を測定し、得られたスルファミン酸量から添加回収率を算出し比較した。また、標準液を添加しない試料についても同時に測定を行った。

結果は Table 3 のとおりで、回収率はろ過が 98.5 %, 遠心分離が 101.2 %となり、いずれの回収率もこの濃度範囲における肥料等試験法⁶⁾が示している真度(回収率)の目標以内であり、ろ過と遠心分離のどちらの方法を用いても測定値に影響はないことが確認された。また、標準液を添加しない試料にはスルファミン酸の含有は認められなかった。なお、これ以降の検討では多検体調製時の操作簡便化を考慮し、遠心分離により試験を実施した。

Table 3 Influence of separation method on recovery rate of sulfamic acid

Sample	Separation method	Content (%) ^{a)}	Recovery rate ^{b)} (%)
Byproduct nitrogen fertilizer	Centrifugal separation	0.1	101.2
	Filterlation ^{c)}	0.1	98.5

a) Mass fraction

b) $n=3$ c) Membrane filter (0.45 μm)

4) マトリックスの影響

硫酸アンモニア, 副産窒素肥料, 副産複合肥料, 化成肥料, 液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料の6種類の肥料を本法に従って測定したところ, 定量を直接妨害するような夾雑ピークは認められなかった. また, 連続分析の安定性を確認するため, 供試試料3検体につき1点の割合でスルファミン酸標準液(100 ng/mL)の分析を行った. 連続15時間で供試試料30検体と標準液15検体を分析し, 標準液の保持時間とピーク面積を確認した. その結果, Fig.5 のとおり, 標準液ピークの保持時間とピーク面積は前の測定試料の影響を受けることなく一定の値を示しており, 長時間・多検体分析の安定性が確認された.

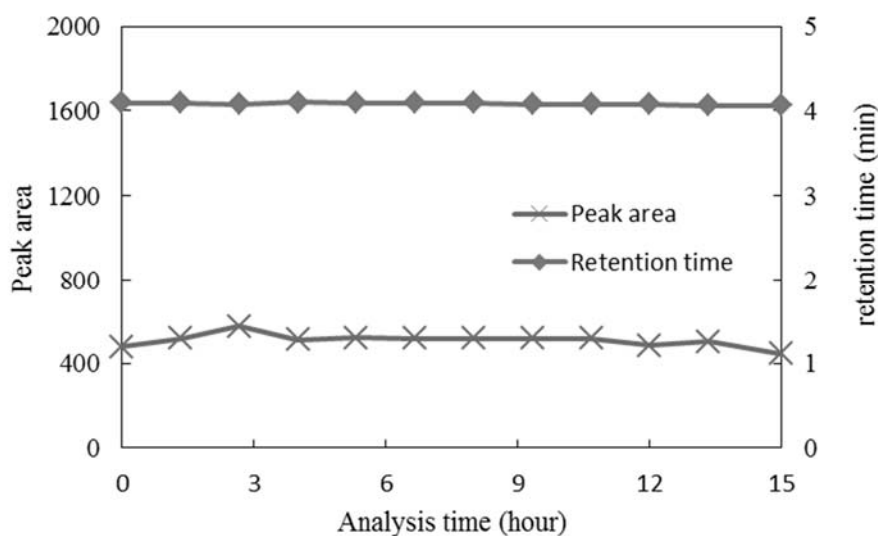


Fig.5 Peak area and retention time of standard mixture prepared 100 ng/mL sulfamic acid in continuous analysis

5) 添加回収試験による真度の評価

硫酸アンモニア, 副産窒素肥料, 副産複合肥料, 化成肥料及び液状複合肥料の5種類の肥料に, Table 4に示した含有量に相当するスルファミン酸標準液を加え,十分に溶媒を揮散させた試料を調製し,3点併行で本法に従って添加回収試験を行った.スルファミン酸の含有を許される最大量(含有許容量)は,主成分の合計量の含有率1%につき質量分率0.005%~0.01%と普通肥料の公定規格で規定されており,含有すべき主成分の最小量からスルファミン酸の最小含有許容量を算出すると家庭園芸用複合肥料を除いて副産複合肥料が質量分率0.025%であった.添加濃度は,この質量分率0.025%を基準とし,その1/5,1及び4倍の含有量とした.

最も低い含有許容量である、家庭園芸用複合肥料の最小含有許容量は質量分率 0.001 %をとるが、この場合測定溶液中のスルファミン酸濃度は 5 ng/mL となり、本法では検量線の範囲外でピークの検出が困難となるため今回は除外した。

添加回収試験の結果は Table 4 のとおり、回収率は 95.2 %~111.2 %で、その相対標準偏差は 0.7 %~4.8 %であった。いずれの回収率もこの濃度範囲における肥料等試験法⁵⁾ が示している真度(回収率)の目安以内であり、肥料中のスルファミン酸の測定値を得るのに十分な正確さを有していることが確認された。なお、参考のため添加回収試験における試料溶液の SIM クロマトグラムの一例を Fig.6 及び Fig.7 に示した。

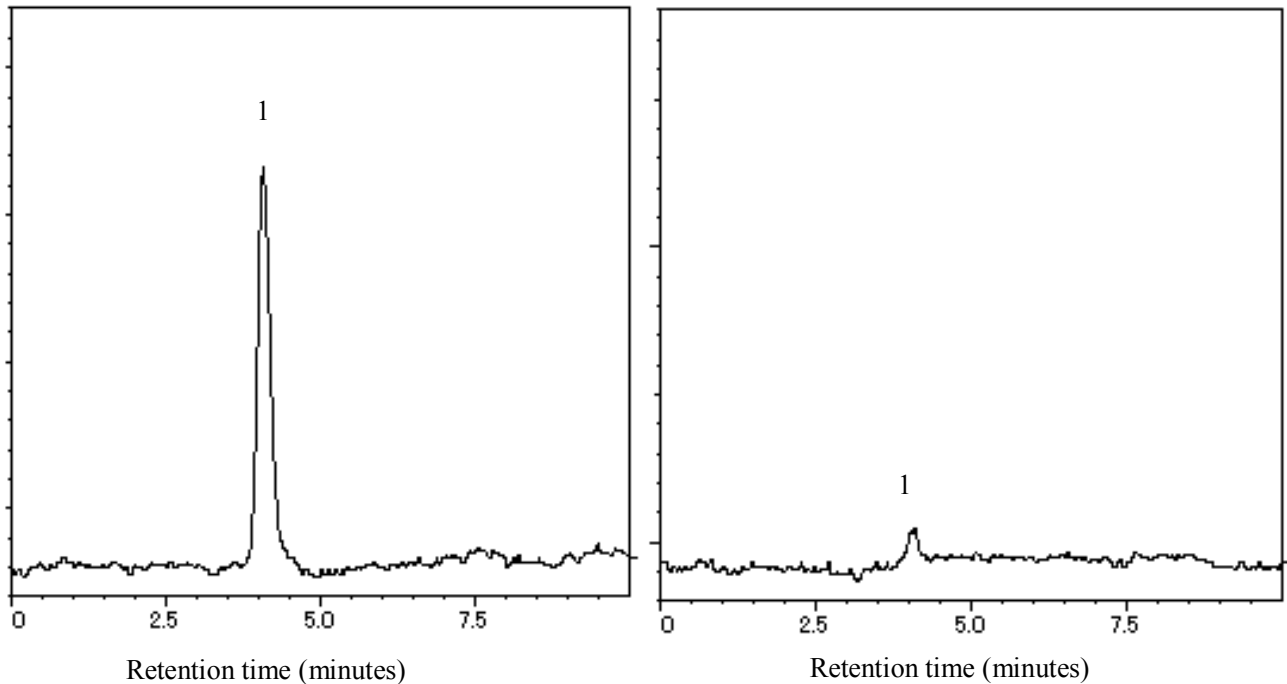


Fig.6 SIM chromatogram of ammonium sulfate

Fig.7 SIM chromatogram of byproduct nitrogen fertilizer

Peak1 (content): Sulfamic acid (0.1 % mass fraction)

Peak1(content): Sulfamic acid (0.005 % mass fraction)

Table 4 Result of recovery test

Sample	Sulfamic acid			Criteria of the trueness (%)
	Content (%) ^{a)}	Recovery rate ^{b)} (%)	RSD ^{c)} (%)	
Ammonium sulfate	0.005	102.6	2.0	70 ~ 120
	0.025	99.3	1.1	80 ~ 115
	0.1	98.7	1.6	85 ~ 110
Byproduct nitrogen fertilizer	0.005	111.2	4.8	70 ~ 120
	0.025	107.0	0.7	80 ~ 115
	0.1	104.2	0.7	85 ~ 110
Byproduct mixed fertilizer	0.005	100.1	2.8	70 ~ 120
	0.025	99.1	3.8	80 ~ 115
	0.1	99.2	1.4	85 ~ 110
Compound fertilizer	0.005	96.4	2.9	70 ~ 120
	0.025	95.2	2.5	80 ~ 115
	0.1	99.3	0.8	85 ~ 110
Fluid mixed fertilizer	0.005	99.6	3.6	70 ~ 120
	0.025	101.8	1.4	80 ~ 115
	0.1	97.6	1.5	85 ~ 110

a) Mass fraction

b) Average recovery rate ($n=3$)

c) Relative standard deviation

6) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため、硫酸アンモニア、副産窒素肥料及び化成肥料にスルファミン酸としてそれぞれ質量分率 0.1 %、0.07 %及び 0.005 %となるように調製した試料について、2点併行で日を変えて5回試験を実施して得られた結果を Table 5 に示した。また、この結果から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 6 に示した。硫酸アンモニアは平均値が質量分率 0.097 %、併行相対標準偏差が 1.1 %、中間相対標準偏差が 2.7 %であった。副産窒素肥料は平均値が質量分率 0.066 %、併行相対標準偏差が 2.1 %、中間相対標準偏差 2.6 %であった。また、化成肥料は平均値が質量分率 0.0051 %、併行相対標準偏差が 2.4 %、中間相対標準偏差は 5.8 %であった。

これらの濃度におけるいずれの相対標準偏差も肥料等試験法⁵⁾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)の目安内であったことから、肥料中のスルファミン酸の測定値を得るのに十分な精度を有していることが確認された。

Table 5 Result of repeated test on 5 different days (% Mass fraction)

Test day	Ammonium sulfate		Byproduct nitrogen fertilizer		Compound fertilizer	
1	0.098	0.099	0.068	0.067	0.0048	0.0050
2	0.093	0.095	0.064	0.065	0.0053	0.0050
3	0.096	0.096	0.066	0.068	0.0053	0.0054
4	0.101	0.099	0.064	0.066	0.0053	0.0054
5	0.098	0.098	0.063	0.065	0.0047	0.0047

Table 6 Statistical analysis result of repeated test on 5 different days

Sample	Total Mean ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate percision		
		s_r ^{c)} (%) ^{b)}	RSD_r ^{d)} (%)	$CRSD_r$ ^{e)} (%)	$s_{I(T)}$ ^{f)} (%) ^{b)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)} (%)	$CRSD_{I(T)}$ ^{h)} (%)
Ammonium sulfate	0.097	0.0011	1.1	4	0.0027	2.7	6.5
Byproduct nitrogen fertilizer	0.066	0.0014	2.1	4	0.0017	2.6	6.5
Compound fertilizer	0.0051	0.00012	2.4	6	0.00029	5.8	9

a) $n=10$ (5 test days \times 2 replicate measurement)

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability (repeatability relative standard deviation)

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate percision (intermediate relative standard deviation)

7) 定量下限等の確認

スルファミン酸として質量分率 0.005 % 相当量を含有する副産窒素肥料を調製し、7 点併行でスルファミン酸の試験を実施した結果を Table 7 に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ を用いて算出したところ、定量下限は質量分率 0.002 % 及び検出下限は質量分率 0.0007 % 程度と推定された。なお、肥料等試験法⁵⁾に示されているこの濃度における回収率の目標は 70 %~120 % であり、調製した試料の回収率 106 % は許容範囲内であった。

スルファミン酸の最小含有許容量は、家庭園芸用複合肥料を除いて質量分率 0.025 % であり、推定した定量下限値(質量分率 0.002 %)はこの含有許容量(質量分率 0.025 %)の 1/5 以下であった。このことから本法は、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。ただし、一部の家庭園芸用複合肥料は推定定量下限を下回る基準値となるため、さらなる低濃度での測定についての検討も必要と考えられた。

Table 7 Lower limit of quantitation (LOQ) and Lower limit of detection (LOD) of this method

Sample	Content (%) ^{f)}	Mean ^{a)} (%) ^{f)}	Recovery rate ^{b)} (%)	s_r ^{c)} (%) ^{f)}	LOQ ^{d)} (%) ^{f)}	LOD ^{e)} (%) ^{f)}
Byproduct nitrogen fertilizer	0.005	0.0053	106	0.00019	0.0019	0.0007

a) $n=7$

b) (Mean / Content) $\times 100$

c) Standard deviation

d) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

e) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1, 0.05)$)

f) Mass fraction

8) 低濃度の家庭園芸用複合肥料における定量下限等の確認

本法における、推定定量下限を下回る基準値をとるような家庭園芸用複合肥料は、主成分の合計量の含有率が1%未満となる夾雑物質の少ない液状の肥料であることが多い。そこで、本法から抽出液の希釈操作を省略した方法の検出下限及び定量下限を確認し、家庭園芸用複合肥料の最小含有許容量である質量分率0.001%のスルファミン酸を含有する試料において測定が可能か検討した。

主成分の合計量の含有率が0.4%(含有許容量が質量分率0.002%)の家庭園芸用複合肥料にスルファミン酸として質量分率0.001%相当量を含有するよう調製し、本法から抽出液の希釈を省略した方法を用いて7点併行でスルファミン酸の試験を実施した結果をTable 8に示した。その結果、定量下限は質量分率0.0002%及び検出下限は質量分率0.00007%程度と推定された。なお、肥料等試験法⁵⁾に示されているこの濃度における回収率の目標は70%~120%であり、調製した試料の回収率97%は許容範囲内であった。

推定した定量下限値(質量分率0.0002%)は家庭園芸用複合肥料の最小含有許容量である質量分率0.001%の1/5以下であった。このことから、含有許容量が質量分率0.002%未満となる家庭園芸用複合肥料の場合、希釈操作を省略した方法は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。

Table 8 LOQ and LOD which was calculated using the low density sample^{a)}

Sample	Content (%) ^{g)}	Mean ^{b)} (%) ^{g)}	Recovery rate ^{c)} (%)	s_r ^{d)} (%) ^{g)}	LOQ ^{e)} (%) ^{g)}	LOD ^{f)} (%) ^{g)}
Home gardenuse mixed fertilizer	0.001	0.00097	97	0.000018	0.00018	0.00007

a) It omits the dilution operation of extract

b) $n=7$

c) $(\text{Mean} / \text{Content}) \times 100$

d) Standard deviation

e) Lower limit of quantitation ($LOQ = s_r \times 10$)

f) Lower limit of detection ($LOD = s_r \times 2 \times t(n-1, 0.05)$)

g) Mass fraction

4. まとめ

LC-MS法を用いて肥料中のスルファミン酸の分析について検討を行ったところ、次のような結果が得られた。

(1) 架橋型ジオールを化学結合したシリカゲルカラムに移動相としてギ酸アンモニウム緩衝液-アセトニトリル(1+9)を用いて夾雑成分より分離し、エレクトロスプレーイオン化法によりイオン化したスルファミン酸を m/z 95.9で測定することにより、ピーク形状及び分離度を満足するピークが得られた。

(2) 硫酸アンモニア、副産窒素肥料、副産複合肥料、化成肥料、液状複合肥料及び家庭園芸用複合肥料の6種類の肥料の分析において、測定を直接妨害する夾雑ピークの検出やベースラインの変動は認められなかった。

(3) 5種類の肥料に副産複合肥料の最小含有許容量である質量分率0.025%の1/5~4倍相当量のスルファミン酸を添加した試料を用いて回収試験を行った結果、質量分率0.005%~0.1%の濃度レベルで平均回収率

は 95.2%~111.2%であり、その相対標準偏差は 0.7%~4.8%であった。

(4) 硫酸アンモニア、副産窒素肥料及び化成肥料について、スルファミン酸を 2 点併行で日を変えて 5 回試験を実施したところ、それぞれの試料の平均値は質量分率 0.097%、0.066%及び 0.0051%で、併行相対標準偏差は 1.1%、2.1%及び 2.4%、中間相対標準偏差は 2.7%、2.6%及び 5.8%であった。

(5) 低濃度試料を用いた定量下限の確認の結果、定量下限は質量分率 0.002%程度と推定された。また、推定定量下限以下の含有許容量をとる家庭園芸用複合肥料を想定し、本法から希釈操作を省略した方法の定量下限を確認した結果、定量下限は質量分率 0.0002%程度と推定された。

以上のとおり本法は、肥料中のスルファミン酸を測定するに十分な性能を有していた。

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 27 年 1 月 9 日, 農林水産省告示第 52 号(2015)
- 2) 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)
- 3) 廣井利明, 白井裕治: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, 肥料研究報告, **5**, 1~23 (2012)
- 4) 藤田真理子, 白井裕治: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測定, 平成 24 年度肥料等技術検討会資料
- 5) (株)島津製作所:アプリケーションニュース No.C105 LC/MS を用いた肥料中スルファミン酸の分析
<<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnnavi/n/search/a-lcms.htm>>
- 6) 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(2015)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2015.pdf>

Determination of Sulfamic Acid in Fertilizer by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC-MS)

Kohei ITO¹, Mariko FUJITA², Yoshimi HASHIMOTO¹ and Yuji SHIRAI¹

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

²Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Fukuoka Regional Center

Titrimetric determination is used for determination of sulfamic acid in fertilizer. However, the method is difficult to measure because of using external indicator and is unable to use some type of fertilizer such as contained much organic material. Then we have developed Liquid chromatography/mass spectrometry (LC-MS) method. Sample extracted with water was centrifuged or filtered, and it was analyzed by LC-MS. Separation was carried out on a silicagel column bound chemically to cross-linked diol using mixed solution of ammonium formate buffer and acetonitrile in the ratio of 1:9 as mobile phase. Sulfamic acid was ionized by electrospray ionization method, and it was detected by selected ion monitoring (SIM) mode.

As a result of 3 replicate analysis of 5 fertilizer samples prepared to contain 0.005 %, 0.025 % and 0.1 % mass fraction of sulfamic acid, the mean recovery rates were ranged from 95.2 % to 111.2 %. As a result of repeated test of 3 fertilizer samples on 5 different days, mean values were 0.0051 %, 0.066 % and 0.097 % mass fraction, repeatability relative standard deviation (RSD_r) were 2.4 %, 2.1 % and 1.1 %, intermediate relative standard deviation ($RSD_{I(T)}$) were 5.8 %, 2.6 % and 2.7 %, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of fertilizer samples added sulfamic acid, the lower limit of quantitation (LOQ) was estimated to approximately 0.002 %. These results satisfy the criteria shown in Testing Methods for Fertilizers. In conclusion, this method is available for determination of sulfamic acid in fertilizer.

Key words Sulfamic acid, Fertilizer, LC-MS

(Research Report of Fertilizer, **8**, 38-49, 2015)