5.7 スルファミン酸（アミド硫酸）

5.7.a イオンクロマトグラフ又は高速液体クロマトグラフ法（硫酸アンモニア）

（1） 概要

この試験法は硫酸アンモニアに適用する。この試験法の分類は Type D であり、その記号は 5.7.a-2017 又は AS-acid.a-1 とする。

分析試料に水を加えてスルファミン酸を抽出し、イオンクロマトグラフ（IC）又は高速液体クロマトグラフ（HPLC）に導入し、イオン交換カラムで分離し、電気伝導度検出器で測定し、分析試料中のスルファミン酸（アミド硫酸）を求める。なお、この試験法の性能は**備考 5** に示す。

この方法によって、スルファミン酸及び硫青酸化物（チオシアン酸アンモニウム）が同時定量できる（**備考 4** 参照）。

（2） 試薬等 試薬及び水は、次による。

a） 水： JIS K 0557 に規定する A3 の水。

b） フタル酸： 純度 98 %（質量分率）以上の試薬。

c） *p*-ヒドロキシ安息香酸： 純度 95 %（質量分率）以上の試薬。

d） 1-オクタンスルホン酸ナトリウム： 純度 98 %（質量分率）以上の試薬。

e） 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム： 純度 98 %（質量分率）以上の試薬。

f） ほう酸： JIS K 8863 に規定する特級又は同等の品質の試薬。

g） 溶離液[1][2]： 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 1000 mL 全量フラスコにはかりとり、水約 500 mL を加えて溶かし、更に標線まで水を加える。親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過する。

h） スルファミン酸標準液（1000 μg/mL）[1]： JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質アミド硫酸［$HOSO_2NH_2$］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 100 mL 全量フラスコに移し入れ、標線まで水を加える。

i） スルファミン酸標準液（10 μg/mL）[1]： 使用時に、スルファミン酸標準液（1000 μg/mL）2.5 mL を 250 mL 全量フラスコにとり、標線まで水を加える。

j） 検量線用スルファミン酸標準液（0.3 μg/mL～3 μg/mL）： 使用時にスルファミン酸標準液（10 μg/mL）の 3 mL～30 mL を 100 mL 全量フラスコに段階的にとり、標線まで水を加える。

注（1） 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

（2） 調製した溶液の濃度は、フタル酸 0.5 mmol/L、*p*-ヒドロキシ安息香酸 4.0 mmol/L、1-オクタンスルホン酸ナトリウム 0.9 mmol/L、1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム 2.0 mmol/L、ほう酸 100 mmol/L となる。

（3） 器具及び装置 器具及び装置は、次のとおりとする。

a） イオンクロマトグラフ又は高速液体クロマトグラフ： JIS K 0127 に規定するイオンクロマトグラフ又は JIS K 0124 に規定する高速液体クロマトグラフで次の要件を満たすもの。

1） カラム： 内径 4 mm、長さ 100 mm のステンレス鋼のカラム管に粒径 5 μm の第 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を充てんしたもの[3]。

2） カラム槽： カラム槽温度を 55 °C～60 °C で調節できるもの。

3） **検出部**： 電気伝導度検出器。

b） **メンブレンフィルター**： 孔径 0.5 μm 以下、親水性 PTFE 製

注(**3**） Shodex IC NI-424 等の名称で市販されている。

(**4**） **試験操作**

(**4.1**） **抽出** 抽出は、次のとおり行う。

a） 分析試料 1 g を 1 mg の桁まではかりとり、100 mL 全量フラスコに入れる。

b） 水約 50 mL を加え、振り混ぜて溶かし、更に標線まで水を加える。

c） 溶解液の一定量をとり、水で正確に 12.5 倍希釈する。

d） メンブレンフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過し、試料溶液とする。

(**4.2**） **測定** 測定は、JIS K 0127 又は JIS K 0124 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用するイオンクロマトグラフ又は高速液体クロマトグラフの操作方法による。

a） **イオンクロマトグラフ又は高速液体クロマトグラフの測定条件**： 測定条件の一例を以下に示す。これを参考にして設定する。

1） **カラム**： 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カラム（内径 4 mm、長さ 100 mm、粒径 5 μm）

2） **カラム槽温度**： 58 ℃

3） **溶離液**： (**2**)**g**)により調製したもの。

4） **流量**： 1 mL/min

5） **注入量**： 20 μL

6） **検出器**： 電気伝導度検出器

b） **検量線の作成**

1） 各検量線用標準液 20 μL をイオンクロマトグラフ又は高速液体クロマトグラフに注入し、電気伝導度のクロマトグラムを記録し、ピーク面積を求める。

2） 各検量線用標準液の濃度と電気伝導度のピーク面積との検量線を作成する。
検量線の作成は、試料の測定時に行う。

備考 1. 試料溶液の測定において、マトリックスの影響によりピーク高さでの濃度算出では回収率が低下する場合がある。このため、ピーク面積を用いて検量線を作成すること。

c） **試料の測定**

1） 試料溶液 20 μL を **b**)**1**)と同様に操作する。

2） ピーク面積から検量線よりスルファミン酸量を求め、分析試料中のスルファミン酸（アミド硫酸）を算出する。

備考 2. 検量線の作成と同様に、試料溶液中のマトリックスの影響を防止するため、ピーク面積から濃度を算出すること。

備考 3. 溶離液にイオンペア試薬を使用しているため、ベースライン安定化のために時間を要するので注意

すること。測定開始前に、約 120 分程度の安定化時間をとるとよい。

備考 4. 本試験法ではスルファミン酸及び硫青酸化物（チオシアン酸アンモニウム）の同時測定が可能である。その場合は、スルファミン酸標準液（1000 μg/mL）、チオシアン酸アンモニウム標準液（1000 μg/mL）の一定量を混合し、水で希釈して混合標準液（10 μg/mL）を調製し、（**2**）**i**）のスルファミン酸標準液（10 μg/mL）に変えて使用する。以下、（**4.2**）**b**）と同様に操作し、分析試料中の各測定対象物質濃度を算出する。

備考 5. 硫酸アンモニア（3 銘柄）の回収試験の結果は、0.25 %（質量分率）及び 0.075 %（質量分率）の添加レベルで平均回収率が 99.4 %～103.5 %及び 94.4 %～100.8 %であった。

なお、この試験法の定量下限は 0.04 %（質量分率）程度と推定された。

参考文献

1） 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)

（**5**） **スルファミン酸試験法フローシート** 硫酸アンモニア中のスルファミン酸試験法のフローシートを次に示す。

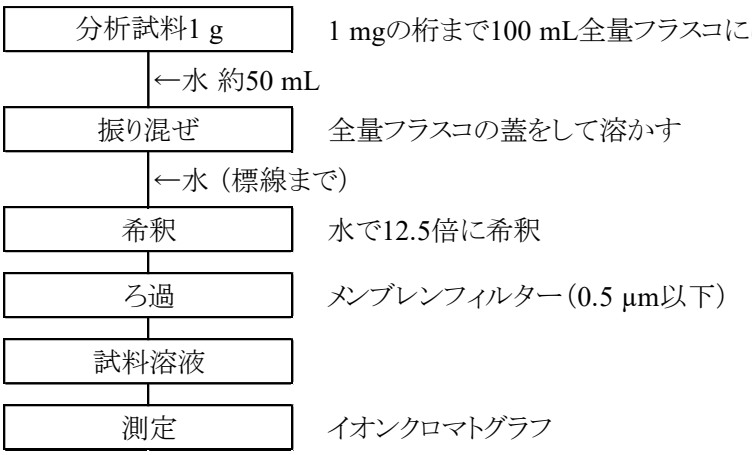
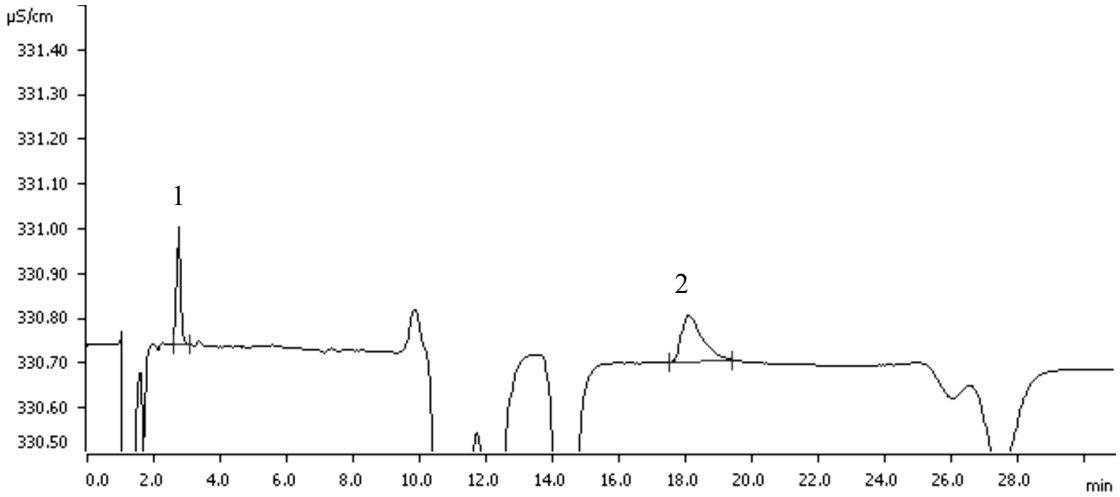
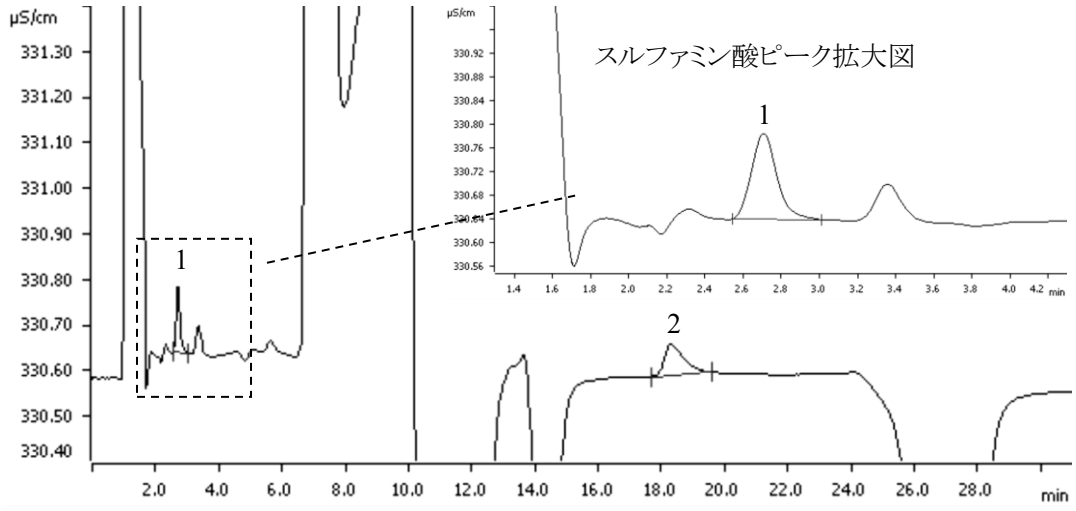


図 硫酸アンモニア中のスルファミン酸試験法フローシート

参考 検量線用標準液及び試料溶液（硫酸アンモニア）のスルファミン酸及びチオシアン酸の IC クロマトグラム例を次に示す。



（A）混合標準液（スルファミン酸、チオシアン酸アンモニウムとして各 60 ng 相当量（3 μg/mL、20 μL））



（B）試料溶液（硫酸アンモニア中にスルファミン酸、チオシアン酸アンモニウムとして各 0.25 %（質量分率）（2500 μg/g）相当量添加）

参考図　スルファミン酸及びチオシアン酸の IC クロマトグラム
（ピーク：1.スルファミン酸、2.チオシアン酸アンモニウム）

IC の測定条件

カラム：　Shodex IC NI-424（内径 4.6 mm、長さ 100 mm、粒径 5μm）

その他の条件は（**4.2**）**a**）の測定条件の例示のとおり