

7 イオンクロマトグラフィーによる硫酸イオン分析における抽出方法の改良

平田絵理香¹

キーワード イオンクロマトグラフィー, 硫酸イオン, 塩酸濃度, 単一試験室による妥当性確認

1. はじめに

肥料中の硫酸塩を評価する分析法として、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を用いて硫酸塩を硫酸イオンとして測定する方法が令和 2 年度に坂井田ら¹⁾によって検討され、その真度及び精度の性能について単一試験室による妥当性 (SLV: Single Laboratory Validation) を確認している。しかし、この分析法は抽出溶液に塩酸 (1+35) を用いており、肥料等試験法 (2020)²⁾ 収載の他分析法で使用されている抽出溶液の塩酸濃度と異なっている。抽出溶液の塩酸濃度を可溶性成分抽出に用いられている塩酸 (1+23) と統一することができれば、同じ抽出液を使用しての分析が可能となり、使用する塩酸溶液濃度を複数パターン調製する必要がなくなることから、肥料等試験法を使うユーザーにとって有益であると考えた。

以上のことから、本法の抽出方法及び希釈操作について検討を行い、改良した分析法について単一試験室における妥当性を確認したので、その概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料

流通している固形肥料等について、12 種類の肥料を合計 13 点 (硫酸苦土肥料 2 銘柄, 硫酸アンモニア, 硫酸グアニル尿素, 過りん酸石灰, 重過りん酸石灰, 硫酸加里, 化成肥料, 腐植酸苦土肥料, 混合苦土肥料, 硫酸マンガン肥料, 指定配合肥料, 石こう) 用いた。各試料については、目開き 500 μm のふるいを通すまで粉砕した。

加えて、硫酸イオンを 10% (質量分率) 含有する調製試料 1 点を分析用試料に用いた。調製のために使用した原料の配合割合及び成分設計を Table 1 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、他の試料と同様に粉砕した。

Table 1 The preparation of analytical samples

Sample	The mixing ratio of the materials (%) ^{a)}			Design component (%) ^{a)}			
	Ammonium Dihydrogenphosphate ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	Potassium Chloride (KCl)	Ammonium Sulfate ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	N	P_2O_5	K_2O	SO_4^{2-}
10 % preparation sample	18.1	68.1	13.8	5.1	11.2	43.0	10.0

a) Mass fraction

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) 試薬の調製

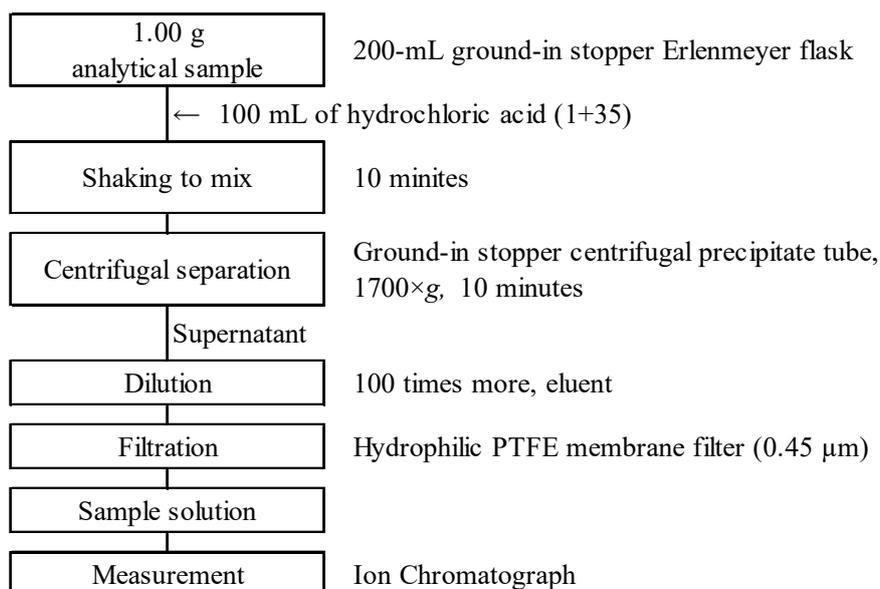
- (1) 硫酸イオン標準液(SO_4^{2-} 1 mg/mL): JCSS 硫酸イオン標準液(SO_4^{2-} 1000 mg/L) (関東化学)
- (2) 検量線用硫酸イオン標準液(0.2 mg/L ~ 5 mg/L): 硫酸イオン標準液の一定量を水で希釈して調製した。
- (3) 炭酸緩衝溶液 pH=10 (溶離液): JIS K 8625 に規定する特級の炭酸ナトリウム(関東化学)0.191 g 及び JIS K 8622 に規定する特級の炭酸水素ナトリウム(富士フィルム和光純薬)0.143 g を水に溶かして 1000 mL とした。
- (4) 塩酸: 富士フィルム和光純薬;有害金属測定用
- (5) 塩酸(1+23): 塩酸の体積 1 と水の体積 23 とを混合したもの。
- (6) 塩酸(1+35): 塩酸の体積 1 と水の体積 35 とを混合したもの。
- (7) 硫酸: 富士フィルム和光純薬;有害金属測定用
- (8) 硫酸アンモニウム: JIS K 8960 に規定する試薬(関東化学;特級)
- (9) 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)
- (10) 塩化カリウム: JIS K 8121 に規定する試薬(富士フィルム和光純薬;特級)
- (11) 水: 超純水製造装置(Direct-Q UV5, Millipore)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

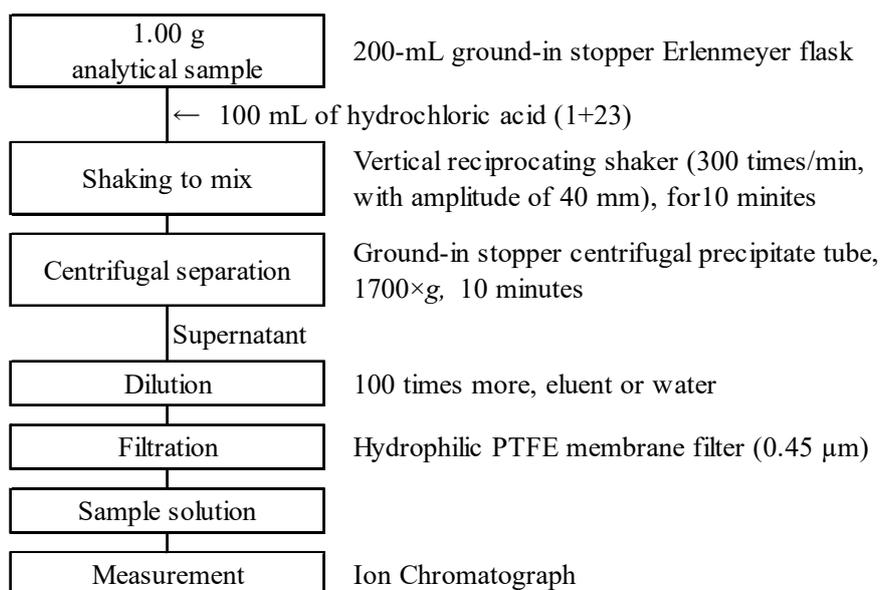
- (1) 振とう機: TAITEC SR-2DW
- (2) 遠心分離機: KUBOTA テーブルトップ遠心機 4000
- (3) イオンクロマトグラフ(IC): メローム 850 Professional IC ケミカルサプレッサー方式
- (4) カラム: Shodex IC SI-90 4E(内径 4.0 mm, 長さ 250 mm, 粒径 9 μm , 充填剤 ポリビニルアルコール基材に第 4 級アンモニウム基を化学結合した陰イオン交換体)
- (5) メンブレンフィルター: ADVANTEC 製 DISMIC-13HP(孔径 0.45 μm)
- (6) ポリプロピレン製ねじ口容器: 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
- (8) 粉碎機: Retsch ZM-200

4) 分析方法

肥料等試験法²⁾に記載されている硫酸イオンのイオンクロマトグラフ法(6.10.1.a)を Scheme 1-1 で示した。また, Scheme1-1 を元に使用した試薬や試験操作を変更した分析方法を Scheme 1-2 に示した。Scheme1-2 での変更点として, 分析試料を量りとった後に加える試薬に塩酸(1+23)を用いるようにし, 抽出液を希釈する際に用いる溶液として, 溶離液に加えて水を使用できるようにした。また, Scheme 1-1 で振り混ぜ方法を明記していなかったことから, Scheme1-2 では振り混ぜ方法を示した。



Scheme 1-1 Flow sheet for sulfate ion in fertilizers
("6.10.1.a" in Testing Methods for Fertilizer 2020)



Scheme 1-2 Improved flow sheet for sulfate ion in fertilizers

3. 結果及び考察

1) 方法間比較による真度の評価

真度を評価するため、分析用試料 14 点を用いて、Scheme 1-1 及び Scheme 1-2 で分析した結果によって方法間比較を行った。イオンクロマトグラフの測定条件を Table 2 で示す。

Table 2 Analytical condition

Detection	Conductivity detector
Suppressor	Chemical suppressor (Column type)
Column	Shodex IC SI-90 4E(4.0 mm i.d., 250 mm L, 9 μm particle size)
Eluent	1.8 mmol/L Sodium carbonate +1.7 mmol/L Sodium bicarbonate
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 μL
Column temp.	25°C

得られた分析値の相関並びに 95 %予測区間を回帰直線の周囲に描き, Figure 1 で示した. 回帰直線 ($y=1.001x+0.423$, $r=0.999$)の傾き (b)の 95 %信頼区間は 0.973~1.028, 切片 (a)の 95 %信頼区間は-0.770~1.616 であり, 肥料等試験法に示されている真度の推奨範囲を満たす結果となった.

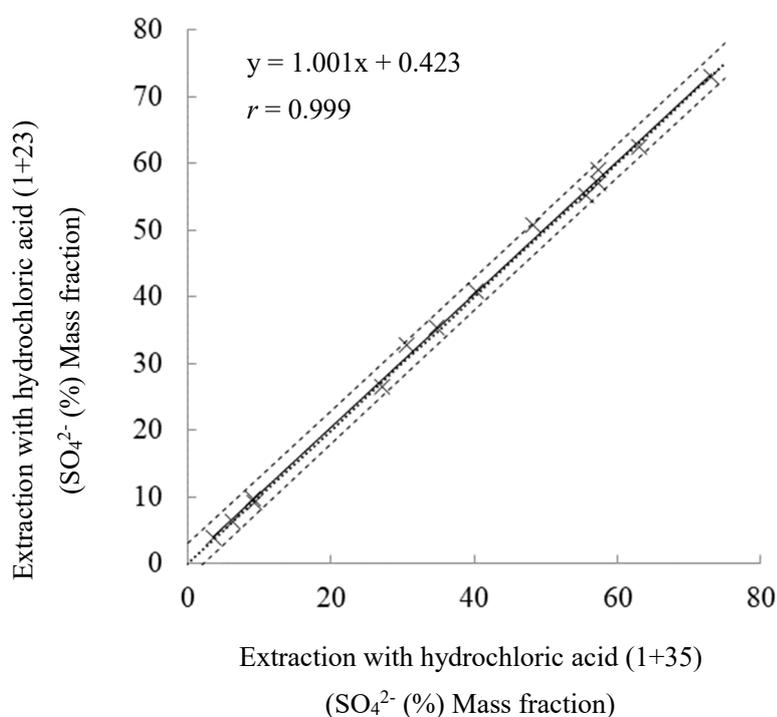


Figure 1 Comparison of analysis value (SO_4^{2-}) between extraction with hydrochloric (1+35) and with hydrochloric (1+23)

Heavy line : Regression line

Dotted lines : Upper and Lower limit of 95 % prediction intervals

Thin line : $y=x$

2) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を評価するため, 硫酸加里及び重過りん酸石灰を用いて 2 濃度の硫酸イオンを 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 3 に示した. また, これらの結果から, 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 4 に示した.

硫酸加里の平均値は 56.69 % (質量分率) で, 併行相対標準偏差は 1.16 %, 中間相対標準偏差は 1.71 % で

あった。また、重過りん酸石灰の硫酸イオンの平均値は 3.74 % (質量分率) で、併行相対標準偏差は 0.76 %、中間相対標準偏差は 1.33 % であった。これらの結果は、肥料等試験法²⁾で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。

Table 3 Individual result of sulfate ion for accuracy estimateion (%)^{a)}

Sample	Test day				
	1	2	3	4	5
Potassium sulfate	57.06	56.48	55.93	57.71	56.86
	58.59	55.93	55.38	56.73	56.20
Triple superphosphate	3.78	3.69	3.67	3.71	3.77
	3.77	3.77	3.67	3.73	3.81

a) Mass fraction

Table 4 Statistical analysis of repetition test result for estimating percision

Sample	Mean of sulfate ion ^{a)} (%) ^{b)}	Repeatability			Intermediate precision		
		s_r ^{c)}	RSD_r ^{d)}	$2*CRSD_r$ ^{e)}	$s_{I(T)}$ ^{f)}	$RSD_{I(T)}$ ^{g)}	$2*CRSD_{I(T)}$ ^{h)}
		(%) ^{b)}	(%)	(%)	(%) ^{b)}	(%)	(%)
Potassium sulfate	56.69	0.66	1.16	8	0.97	1.71	13
Triple superphosphate	3.74	0.03	0.76	8	0.05	1.33	13

a) Mean value (n = Sample number of parallel test (2) × Number of Test days (5))

b) Mass fraction

c) Repeatability standard deviation

d) Repeatability relative standard deviation

e) Criteria of repeatability relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2020

f) Intermediate standard deviation

g) Intermediate relative standard deviation

h) Criteria of intermediate relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2020

3) 希釈倍率の検討

抽出に使用する塩酸濃度を(1+23)に変更するに当たって、当試験室で使用しているカラム(Shodex SI 90-4E)の適用 pH が 3~12 であることから、試料溶液を適切な pH に調整するための希釈濃度を検討した。坂井田ら¹⁾の報告では、機器測定の溶離液である 1.8 mM 炭酸ナトリウム+1.7 mM 炭酸水素ナトリウムの炭酸塩溶離液が pH 10 の緩衝溶液であることから、溶離液を用いて 100 倍以上に希釈することとしている。そこで、塩酸(1+23)の抽出液を水または炭酸塩溶離液で希釈した場合の pH を Table 5 に示した。その結果、塩酸(1+23)においても溶離液で 100 倍希釈したところ、pH が 3 以上であった。

また、他社製カラムの中には適用 pH が 1~14 とされているものがあり³⁾、pH 調整のために必ずしも溶離液で希釈する必要がないカラムも存在したことから、希釈には水または溶離液を用いて 100 倍以上で希釈することとした。

Diluent	Dilution ratio				Eluent
	50	100	250	625	
Water	1.969	2.237	2.638	3.046	10.034
Eluent	2.258	5.616	7.739	9.840	

4) 機器測定条件の検討 : 単一試験室における直線検量線の評価

サプレッサーを用いたイオンクロマトグラフィーでの測定で炭酸系溶離液を使用する場合、検量線の直線性が得られない場合があることが知られている⁴⁾。そのため、坂井田らの報告¹⁾では、本法の検討に二次式を用いた検量線を使用していた。しかし、所有するイオンクロマトグラフ(メトローム, 850 Professional IC)では、炭酸サプレッサーを使用しない場合に検量線の直線性が得られることがあると機器メーカー情報があり、Table 2 の測定条件で検量線に用いる回帰式を再度検討することとした。

検量線用標準液を調製するにあたって、濃度範囲は坂井田ら¹⁾が検討した 0.2 $\mu\text{g/mL}$ ~5 $\mu\text{g/mL}$ とした。調製した標準液濃度と Table 2 の条件により測定した値を比較した結果を Figure 2 に示した。その結果、0.2 $\mu\text{g/mL}$ ~5 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で一次式を用いて検量線を作成した場合、ピーク面積およびピーク高さのいずれにおいても決定係数(r^2)が 0.999 以上を示した。肥料等試験法²⁾で示す分析法の妥当性確認の手順において、検量線の決定係数(r^2)が 0.99 以上であれば使用可能であるとされていることから、当該機器において Table 2 の測定条件であれば一次式を用いた検量線が使用できることを確認した。

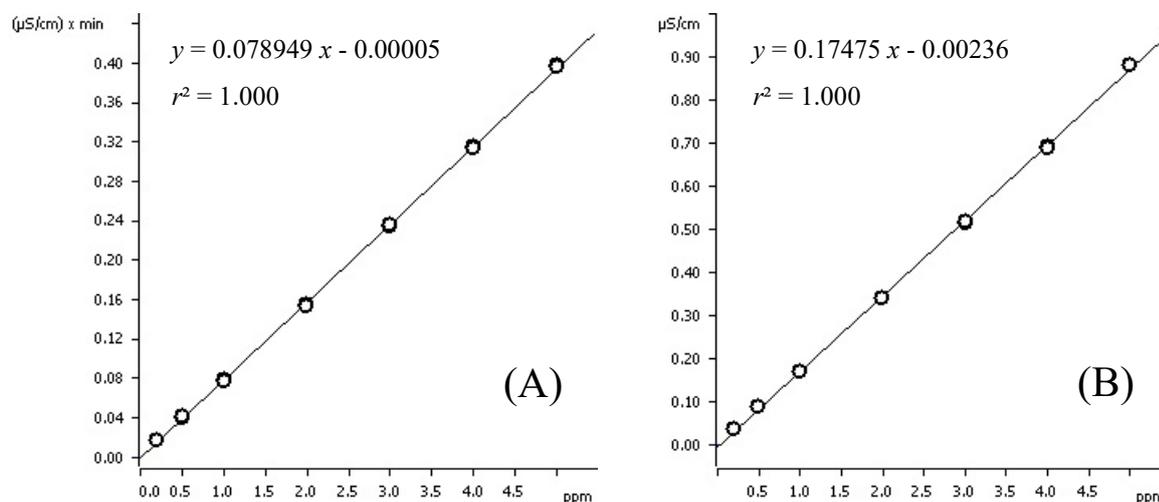


Figure 2 Calibration curve (concentration range SO_4^{2-} 0.2 mg/L~5 mg/L)

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

4. まとめ

肥料等試験法²⁾に記載されている硫酸イオン測定法(イオンクロマトグラフ法)について、抽出方法の検討を行い、単一試験室における分析法の妥当性確認を実施したところ、次の結果を得た。

(1) 塩酸(1+23)を用いた抽出方法を検討するにあたり真度を確認するため、肥料 14 点で塩酸(1+23)及び塩酸(1+35)を用いた抽出液の分析値について方法間比較を行った結果、肥料等試験法で示す真度の基準を

満たしていた。

(2) 塩酸(1+23)を用いた抽出方法により肥料2点を用いて5日間2点併行で測定した値で併行精度及び中間精度を推定した結果、いずれも肥料等試験法に示されている精度の許容範囲内であった。

(3) 機器及びカラム等の調査により、カラムには pH の適用範囲が pH 3~12 のタイプと pH 1~14 のように pH の適用範囲が広いタイプがあることが判明したことから、試料液の希釈操作における pH の変化を確認し、希釈操作に溶離液だけでなく水も使用できることを確認した。

(4) 炭酸サプレッサーを使用せず 0.2 µg/mL~5 µg/mL の範囲で検量線を作成した結果、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、検量線の直線性を確認できた。

以上のことから、本法において試料溶液の調製に用いる抽出溶液の塩酸濃度を塩酸(1+23)に変更し、希釈操作に溶離液又は水を使用できるように変更した。また、修正後の分析法について、単一試験室における妥当性を確認した結果、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できた。

文 献

- 1) 坂井田里子, 小塚健志, 白井裕治: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, 肥料研究報告, **13**, 50-64 (2020)
- 2) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2020)
<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2020.pdf>
- 3) Thermo Scientific:Dionex IonPac AS22 and Dionex IonPac AS22-Fast Column Product Manual
<<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/manuals/Man-065119-IC-IonPac-AS22-Fast-Man065119-EN.pdf>>
- 4) 四角目和広, 横山幸雄, 佐藤寿邦: サプレッサー付電気伝導率検出方式陰イオンクロマトグラフィーにおける直線検量線の妥当性, 分析化学, **52**(5), p297-304 (2003)

Improvement of the Extraction method of Sulfate ion in Ion Chromatography

HIRATA Erika ¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Fertilizer and Feed Inspection Department

Considering the efficiency of test, we improved the extraction method of sulfate ion (SO_4^{2-}) analysis by ion chromatography. Specifically, I changed the extraction solution at a ratio of 1:23, which is a mixture hydrochloric acid and water. As a single-laboratory, we validated the improved extraction method. First, I compared the values extracted using the 1:23 mixed hydrochloric acid solution with those extracted using the 1:35 mixed hydrochloric acid solution about 14 different fertilizer samples. The trueness estimated from the measured values was satisfied recommended reference by Testing Methods for Fertilizers. Next, I conducted the test using two fertilizer samples in the duplicate, per five different days. Based on the measurements, I estimated that the repeatability relative standard deviations (RSD_r) were 0.76 %-1.16 % and the intermediate relative standard deviations ($RSD_{I(T)}$) were 1.33 %-1.71 %. These results were within the criteria of repeatability and intermediate precision of the Testing Methods for Fertilizers. In conclusion, this improved extraction method are valid for the determination of the sulfate ion in the fertilizer.

Key words ion chromatography, sulfate ion, hydrochloric acid concentration, single laboratory validation

(Research Report of Fertilizer, **14**, 79-86, 2021)