

イオン排除クロマトグラフィーと富栄養化成分の
分析化学に関する研究

田 中 一 彦

近年、閉鎖性水域の水質汚濁として富栄養化現象の進行があり、この防止対策としては閉鎖性水域に流入する種々な排水中の有機性汚濁物質としてのBOD成分の除却は勿論のこと、主として窒素およびリンの富栄養化成分の適正な処理が望まれている。現在、これら富栄養化成分の高効率処理および経済的な処理システムの確立のためには、処理工程の自動計測管理法による最適化システムの開発が不可決かつ緊急な課題である。

本研究は、富栄養化成分の処理工程自動計測管理法の中核となる水質汚濁成分の化学計測法を確立するために、イオン排除クロマトグラフィーの基礎的ならびに開発的研究を遂行して、その成果を富栄養化成分の処理工程に適用し、自動計測管理法による最適システムの確立化を目的とした。

イオン排除クロマトグラフィーは、1953年、イオンクロマトグラフィーの創始者の一人でもあるBaumanらによって研究された種々なイオンの分離分析法であり、現在、広義のイオンクロマトグラフィーとして取り扱われ、イオン排除型イオンクロマトグラフィーと呼ばれている。しかしながら、Baumanらによる発明以来、この方法は、これに適用しうるカラム効率の高いイオン交換樹脂および高感度な万能型検出器が未開発であったため、本法の基礎および応用に関する研究例は極めて少ない。そこで、本研究においては検出器として電量および紫外吸光検出器を用いる水素型陽イオン交換樹脂による陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーおよび検出器として電量検出器を用いる水酸化物型陰イオン交換樹脂による陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーについての基礎的研究を発展させた。すなわち、水溶液による種々な無機および有機の陰イオンおよび陽イオンの溶離挙動と、これら陰イオンおよび陽イオンの保持における溶離液中の有機溶媒および強酸の影響などについて研究を行った結果、イオン排除クロマトグラフィーは、種々な陰イオンおよび陽イオンの分離分析化学として十分に適用されることが認められ、特に、従来法の水質分析法よりも迅速かつ高感度で多成分を同時に分離定量できる方法であることが分かった。

そこで、以上の基礎的研究結果を、富栄養化成分の処理工程、すなわち、BOD処理工程水中の脂肪族カルボン酸イオンの分離定量、脱窒素処理工程水中の炭酸水素、アンモニウム、硝酸および亜硝酸イオンの分離定量、更には、脱リン処理工程水中のリン酸イオンの分離定量に応用した所、本法が、これら処理工程排水中の種々な富栄養成分を迅速かつ高感度で同時に分離定量することができ、これら処理工程の自動計測管理法として最適な方法であることを認めた。更に、環境化学の分野において今後の発展の基礎となる多くの知見を得ることができたので、ここに本論文を纏めた次第である。

目次

第一編 緒論	1
第一章 本研究の目的	1
第二章 本研究の意義	4
第二編 陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの基礎	11
第一章 緒言	11
第二章 水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンのイオン排除クロマトグラフィー	12
1 電量検出器による陰イオンの検出	12
1.1 まえがき	12
1.2 実験	12
1.2.1 装置	12
1.2.2 試薬	12
1.2.3 操作	13
1.3 結果および考察	13
1.3.1 電量検出器による水素イオンの検出	13
1.3.2 陽イオン交換反応による酸の生成	14
1.3.3 陰イオンの価数と検出感度の間の関係	14
1.3.4 陰イオンの検量線	16
2 水溶液による陰イオンの溶離挙動	17
2.1 まえがき	17

2. 2	実験	17
2. 2. 1	装置	17
2. 2. 2	試薬	17
2. 2. 3	操作	17
2. 3	結果および考察	18
2. 3. 1	陰イオンの保持容量	18
2. 3. 2	陰イオンの保持容量とその酸の第一次解離定数の間の関係	19
2. 3. 3	カラム内部容量の測定	20
2. 3. 4	陰イオンの分布係数	20
3	水-有機溶媒-強酸溶離液による強酸と弱酸の陰イオンのイオン排除分離	22
3. 1	まえがき	22
3. 2	実験	22
3. 2. 1	装置	22
3. 2. 2	試薬	22
3. 2. 3	操作	23
3. 3	結果および考察	23
3. 3. 1	塩化物イオンとリン酸イオンの分離におけるカラム温度の影響	23
3. 3. 2	塩化物イオンとリン酸イオンの分離における溶離液中のアセトンの影響	24
3. 3. 3	塩化物イオンとリン酸イオンの分離における溶離液の誘電率の影響	25
3. 3. 4	アセトン-水溶離液によるリン酸イオンの電量検出器応答	25
3. 3. 5	有機溶媒-水溶離液によるリン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの分離	26
3. 3. 6	過塩素酸-水溶離液によるリン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの分離	28
3. 3. 7	有機溶媒-水による縮合リン酸イオンの分離	28
3. 3. 8	硝酸および亜硝酸イオンの保持容量における溶離液のpHの影響	31

3. 3. 9	硝酸および亜硝酸イオンの分離効率における溶離液のpHの影響	32
4	要約	33
第三章 水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる陽イオンのイオン排除クロマトグラフィー		
	トグラフィー	34
1	電量検出器による陽イオンの検出	34
1. 1	まえがき	34
1. 2	実験	34
1. 2. 1	装置	34
1. 2. 2	試薬	34
1. 2. 3	操作	35
1. 3	結果および考察	35
1. 3. 1	電量検出器による水酸化物イオンの検出	35
1. 3. 2	陰イオン交換反応による塩基の生成	36
1. 3. 3	陽イオンの電量検出器応答	37
1. 3. 4	陽イオンの検量線	37
2	水溶離液による陽イオンの溶離挙動	39
2. 1	まえがき	39
2. 2	実験	39
2. 2. 1	装置	39
2. 2. 2	試薬	39
2. 2. 3	操作	39
2. 3	結果および考察	40
2. 3. 1	無機陽イオンの保持容量	40
2. 3. 2	有機陽イオンの保持容量	40
3	有機溶媒-水溶離液による陽イオンのイオン排除分離	42
3. 1	まえがき	42

3. 2	実験	42
3. 2. 1	装置	42
3. 2. 2	試薬	42
3. 2. 3	操作	42
3. 3	結果および考察	43
3. 3. 1	無機陽イオンの保持容量におけるカラム温度の影響	43
3. 3. 2	脂肪族アミンイオンの保持容量におけるカラム温度の影響	43
3. 3. 3	無機陽イオンの保持容量における溶離液中の有機溶媒の影響	43
3. 3. 4	脂肪族アミンイオンの保持容量における溶離液中の有機溶媒の影響	44
3. 3. 5	アセトン-水溶離液による脂肪族アミンイオンの相互分離	44
4	要約	46
第三編 イオン排除クロマトグラフィーの富栄養化成分の排水処理工程への応用		49
第一章 緒言		49
第二章 BOD処理工程水への応用		
1	水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによるn-ブタノールの活性汚でい処理工程水中の脂肪族カルボン酸イオンの分離定量	50
1. 1	まえがき	50
1. 2	実験	50
1. 2. 1	装置	50
1. 2. 2	試薬	51
1. 2. 3	操作	51
1. 2. 4	生物分解に用いた装置	51
1. 3	結果および考察	52
1. 3. 1	脂肪族カルボン酸イオンの分離	52

1. 3. 2	検量線	52
1. 3. 3	検出限界	53
1. 3. 4	再現性	53
1. 3. 5	炭酸水素イオンの除去	53
1. 3. 6	種々の生物分解条件下におけるカルボン酸イオンの定量	55
2	要約	57
第三章 生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用		58
1	水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の炭酸水素イオンの定量	58
1. 1	まえがき	58
1. 2	実験	59
1. 2. 1	装置	59
1. 2. 2	試薬	59
1. 2. 3	操作	59
1. 2. 4	生物学的硝化-脱窒素処理装置	59
1. 3	結果および考察	60
1. 3. 1	共存陰イオンからの炭酸水素イオンのイオン排除分離	60
1. 3. 2	検量線	61
1. 3. 3	検出限界	62
1. 3. 4	再現性	62
1. 3. 5	都市河川水および硝化処理工程水への応用	62
2	水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中のアンモニウムイオンの定量	64
2. 1	まえがき	64
2. 2	実験	64
2. 2. 1	装置	64
2. 2. 2	試薬	64

2. 2. 3	操作	65
2. 2. 4	生物学的硝化-脱窒素処理装置	65
2. 3	結果および考察	65
2. 3. 1	共存陽イオンからのアンモニウムイオンのイオン排除分離	65
2. 3. 2	検量線および検出限界	65
2. 3. 3	再現性	66
2. 3. 4	分離カラムの耐久性	66
2. 3. 5	BOD処理工程水および河川水への応用	67
2. 3. 6	生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用	68
3	水素型陽イオン交換樹脂を用いる紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量	70
3. 1	まえがき	70
3. 2	実験	70
3. 2. 1	装置	70
3. 2. 2	試薬	71
3. 2. 3	操作	71
3. 2. 4	生物学的硝化-脱窒素処理装置	71
3. 3	結果および考察	71
3. 3. 1	ロングカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンのメタノール-水によるイオン排除分離	71
3. 3. 2	検出器応答におけるカラム温度の影響	73
3. 3. 3	ショートカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンのメタノール-水によるイオン排除分離	74
3. 3. 4	紫外吸光検出器による硝酸および亜硝酸イオンの共存陰イオンからの選択的検出	74
3. 3. 5	再現性	75
3. 3. 6	検量線および検出限界	75
3. 3. 7	都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用	76

4	溶離液として希硫酸のメタノール水溶液を用いるイオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量	77
4.1	まえがき	77
4.2	実験	77
4.2.1	装置	77
4.2.2	試薬	77
4.2.3	操作	78
4.2.4	生物学的硝化-脱窒素処理装置	78
4.3	結果および考察	78
4.3.1	ロングカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンの検出器 応答における溶離液のpHの影響	78
4.3.2	ショートカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンの硫酸 -メタノール-水によるイオン排除分離	79
4.3.3	再現性	80
4.3.4	検量線および検出限界	80
4.3.5	都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水への 応用	81
5	陽イオンおよび陰イオン交換樹脂カラムを結合したイオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンの同時定量	83
5.1	まえがき	83
5.2	実験	83
5.2.1	装置	83
5.2.2	試薬	84
5.2.3	操作	84
5.2.4	生物学的硝化-脱窒素処理装置	85
5.3	結果および考察	85
5.3.1	メタノール-水溶離液による硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンのイオン排除分離	85
5.3.2	遅延コイルによる陰イオンと陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの結合	87
5.3.3	検量線	87

5. 3. 4	検出限界	87
5. 3. 5	再現性	89
5. 3. 6	生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用	89
6	要約	91
第四章 脱リン処理工程水への応用		92
1	水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる脱リン処理工程水中のリン酸イオンの分離定量	92
1. 1	まえがき	92
1. 2	実験	92
1. 2. 1	装置	92
1. 2. 2	試薬	93
1. 2. 3	操作	93
1. 2. 4	脱リン処理装置	93
1. 3	結果および考察	93
1. 3. 1	アセトン-水溶離液による共存陰イオンからのリン酸イオンのイオン排除分離	93
1. 3. 2	検出器応答における溶離液中のアセトンの影響	94
1. 3. 3	検量線	96
1. 3. 4	検出限界	96
1. 3. 5	再現性	96
1. 3. 6	都市下水および脱リン処理工程水への応用	96
2	要約	98
第四編 総括		101
謝辞		104
報文対称表		105

第一章 本研究の目的

近年、内湾、内海および湖沼などのいわゆる閉鎖性水域の富栄養化が大きな社会問題となってきた。この富栄養化現象においては、有機態の炭素化合物に起因する生物化学的酸素要求量（BOD）に加えて、無機態窒素化合物（アンモニウム、硝酸および亜硝酸イオン）や無機態リン化合物（リン酸イオン）がその主要な原因物質として知られている。

この富栄養化を防止するためには、種々な排水中（工業排水、農業排水および都市下水など）に含まれるこれら富栄養化成分を適正に処理した後に水域中に放流する必要がある。更に、近い将来においては、窒素およびリン成分に関する国の環境基準の制定が予想されるので、これら富栄養化成分を含む種々な排水の処理の適正化を図るため、処理工程自動計測管理法の確立が急務である。

現在、種々な排水中に含まれるBOD成分の処理は、そのほとんどが活性汚でいを用いる生物学的BOD処理法により行われている。この方法は、活性汚でい中に含まれる有機態炭素化合物を唯一の炭素源として摂取することのできる他栄養性の細菌（BOD酸化菌）の作用により、BOD成分を好氣的に同化させると共に、これを水と炭酸ガスにまで分解して処理する方法に基づいている。したがって、この処理工程の自動計測管理法(1,2,3)においては、pH、温度、溶存酸素（DO）、酸化還元電位（ORP）、活性汚でい濃度（MLSS）やBOD負荷量などの適正な維持に加へ、BOD成分が水と炭酸ガスに酸化分解されるまでの過程における中間体としての有機酸イオンの挙動を把握することが極めて重要である。

無機態窒素化合物（アンモニウムイオン）の処理は、そのほとんどがBOD成分の処理と同様に活性汚でいを用いることによる生物学的硝化-脱窒素処理法(4,5)により行われている。この方法は、前述した他栄養性のBOD酸化菌とは異なり、活性汚でい中に含まれる無機態炭素化合物（炭酸水素イオン）を唯一の炭素源として摂取することのできる自栄養性の細菌（硝化菌）の作用により、種々の排水中に含まれるアンモニウムイオンと無機栄養源としての炭酸水素イオンを好氣的に同化させると共に、アンモニウムイオンを亜硝酸イオンあるいは硝酸イオンにまで生物学的に酸化（硝化）させた後、他栄養性の細菌（脱窒素菌）の作用により、水素供与体（メタノール、酢酸およびBOD成分など）の存在下でこの両者を嫌氣的条件下で同化させると共に、これらを、窒素ガスにまで還元（脱窒素）して処理する方法に基づいている。したがって、この処理工程の自動計測管理法(6,7)においては、BOD処理におけると同様に、pH、温度、DO、ORPおよびMLSSなどの適正な維持に加へ、おのおのの処理工程水中のアンモニウム、炭酸水素、亜硝酸および硝酸イオンなどの迅速で高感度な自動計測が極めて重要である。

無機態リン化合物の処理は、主として無機凝集剤（塩化鉄、塩化アルミニウムなど）を用いる凝集沈澱法(8,9)により行われている。この方法は、リン酸イオンを水に不溶なリン酸鉄あるいはリン酸アルミニウムとして沈澱させた後、固液分離を行って処理する方法に基づいている。したがって、この処理工程の自動計測管理法(10)においては、リン酸鉄あるいはリン酸アルミニウ

ムの沈澱を適正に生成させるためのpHの計測に加へ、処理工程水中のリン酸イオンを自動計測して、これに対応した上述の無機凝集剤を化学量論的に添加することにより、脱リン処理工程を適正に管理することが極めて重要である。

以上の処理工程水中の陰イオンおよび陽イオンの定量において、BOD処理工程水中の有機酸イオンは、それが強極性のために直接定量が困難であり、通常、それをエステル化した後、ガスクロマトグラフィー(11,12)により定量されている。一方、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の炭酸水素イオンは、pH4.5におけるアルカリ度として滴定法(13)により間接的に定量されているので、工程水中に遊離の有機酸やアンモニアが存在すると、その値は炭酸水素イオンとして正しく評価することができない。加えて、これらの方法は前処理が必要など測定時間が長く、しかも操作が煩雑であり、排水処理工程の自動計測法としては甚だ不向きである。

アンモニウム、亜硝酸、硝酸およびリン酸イオンなどの富栄養化成分の定量は、通常、JIS法(14)およびStandard Methods(15)に代表される様に、種々な反応試薬を用いる比色法により行われている。しかしながら、これらの方法は、共存イオンの妨害を受けやすく、しかも操作が煩雑で測定に長時間を要するなど多くの問題がある。加えて、反応試薬としてのアンモニウムイオンの定量におけるフェノールや水銀塩、硝酸イオンの定量におけるブルシン、更には硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元する際に使用する還元カラムからのカドミウムの様な有害物質の流出などが問題となっており、環境保全の立場から、これらの使用は極力低減すべきである。又、リン酸イオンの定量法は、前述したアンモニウム、亜硝酸および硝酸イオンのそれと同様に共存イオンの妨害を受けやすく、測定に長時間を要するなど富栄養化成分の処理工程における自動計測法としては甚だ不向きであり、これら富栄養化成分の迅速な自動計測法の確立が強く要望されている。

そこで、本研究においては、以上述べた処理工程水中における陰イオンおよび陽イオンの定量を、電量および紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーにより自動計測する方法について検討した。すなわち、本研究の目的は、陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎を確立するためと、その応用としてのこれらイオン排除クロマトグラフィーが、従来の方法に変わる方法として、富栄養化成分の処理工程水中の陰イオンおよび陽イオンの迅速かつ高感度な自動計測法として有用であることを明らかにすることにある。

著者は、有機酸、炭酸水素、リン酸、縮合リン酸、脂肪族アミンおよびアンモニウムイオンの対応する酸および塩基が、おのおの弱酸および弱塩基であることに着目して、水素イオンあるいは水酸化物イオンが検出できる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる分離定量法について検討した。又、亜硝酸および硝酸イオンの同時定量に関して、両者は、紫外領域(210 nm)に強い吸収を持っているが、共存陰イオン(塩化物、硫酸、リン酸および炭酸水素イオン)は吸収を持っていないことに着目して、水素型陽イオン交換樹脂を用いる紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーによる選択的な同時定量法についても検討した。

本論文は、第一編 緒論、第二編 陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィー、第三編 イオン排除クロマトグラフィーの富栄養化成分の排水処理工程への応用、第四編 総括から成る。

第二編においては、イオン排除クロマトグラフィーを、上述の富栄養化成分の処理工程水中の種々な陰イオンおよび陽イオンの分離定量に対して応用するための基礎的研究を遂行した。すなわち、陰イオンを水素型陽イオン交換樹脂を用いて、その対応する酸として溶出させた時、その

酸から解離した水素イオンを定電位下におけるp-ベンゾキノンによるヒドロキノンへの還元を利用して有機酸、リン酸、亜リン酸、次亜リン酸、縮合リン酸および炭酸水素イオンなどが高感度に検出、定量できる方法について研究した。又、Smallら(16)による陰イオンのイオンクロマトグラフィーにおいて使用される導電率検出器と、水素イオンが検出できる電量検出器の応答特性についても比較検討し、炭酸水素イオンの様な弱酸性陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける電量検出器の有用性を明かにした。

更に、第二編においては、水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーにおいて、水を用いる溶離による種々の陰イオンの溶離挙動についての基礎的検討を行うと共に、本法をイオン排除作用に基づくゲルクロマトグラフィーとして説明するための考察を行い、ゲルクロマトグラフィーにおける保持に関する関係式を用いてイオン排除クロマトグラフィーにおける陰イオンの分布係数を算出した。又、水以外の溶離液として有機溶媒あるいは強酸を含む水溶離液による強酸性および弱酸性陰イオンの溶離挙動についても詳しく検討することにより、接近した保持容量を示す弱酸性陰イオン、たとえば、リン酸、亜リン酸、次亜リン酸、ピロリン酸、トリポリリン酸およびメタリン酸イオンなどの分離定量分析に成功した。

一方、本研究においては、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーについて研究した。すなわち、陽イオンを水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いてその対応する塩基として溶出させた時、その塩基から解離した水酸化物イオンを定電位下におけるヒドロキノンによるp-ベンゾキノンへの酸化を利用して、脂肪族アミンおよびアンモニウムイオンを高感度に検出、定量できる方法について成功した。この方法により水および有機溶媒-水溶離液を用いるアルカリ、アルカリ土類および重金属陽イオンの溶離挙動についても基礎的研究を行った。前述したSmallら(16)による陽イオンのイオンクロマトグラフィーにおいて常用される導電率検出器と、水酸化物イオンが検出できる電量検出器による種々な陽イオンの応答特性についても比較検討した所、アンモニウムイオンの様な弱塩基性陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける電量検出器の有用性を明かにすることができた。

第三編においては、前述した三種類の富栄養化成分の処理における工程水、すなわち、生物学的BOD処理工程水中の脂肪族カルボン酸イオン、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の炭酸水素、硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオン、脱リン処理工程水中のリン酸イオン、更には、これら処理工程からの処理水が流入する都市河川水中のこれら陰イオンおよび陽イオンの分離定量のため、以上述べた電量および紫外吸光検出器を用いる陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーを応用し、迅速に高感度で多成分を同時に分離定量することができた。

第四編においては、本研究を総括した。

1 陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの基礎

1. 1 陰イオンのイオン排除クロマトグラフィー

イオン排除クロマトグラフィーは、1953年、Wheaton およびBaumanら(17)によって研究された種々なイオンの分離法であり、この方法は、強酸性の陽イオン交換樹脂（水素型）を用いて溶質成分（酸）の移動相（溶離液）と固定相（イオン交換樹脂）中のスルホン酸の間でのDonnan膜平衡に基づき分配作用を基本原理とし、強酸性陰イオンからの弱酸性陰イオンの分離に対して有効とされている。しかしながら、この方法は、1964年、Harlowら(18)により水素型陽イオン交換樹脂および水溶離液を用いて50種以上の有機および無機陰イオンの分離に関する報告がなされて以来、現在に至るまでその詳細な報告は見当らない。わずかに、1975年、Smallら(16)により発明された導電率検出器を用いるイオンクロマトグラフィーにおいて、強酸性の陰イオン（塩化物、硫酸および硝酸イオン）と共に、リン酸イオンと若干の弱酸性陰イオン（ギ酸、酢酸および炭酸イオン）の分離が報告されているのみである(19)。このイオン排除クロマトグラフィーは、イオンクロマトグラフィーにおける溶離液除去カラムをその分離カラムとして用いる方法で、現在、広義のイオンクロマトグラフィーのカテゴリーに入るとされており、イオン排除型イオンクロマトグラフィーとも呼ばれている(20)。

一方、高田および武藤(21,22,23)によって研究された電量検出法は、フロー電解セル中で目的成分を電気化学的に反応させる際に移動した電氣量を測定する原理に基づく検出方法であり、印加電圧と反応試薬の選択により広範囲のイオン種が選択的かつ高感度に検出可能な方法である。この方法は、液体クロマトグラフィー、特にイオンを対象とする液体クロマトグラフィーにおける検出器として有用である。

本研究は、前述したイオンクロマトグラフィーとほぼ同一時期に独立して行なわれたもので、水素型陽イオン交換樹脂を用いるイオン排除クロマトグラフィーと高田(21)らによって報告されている水素イオンが検出できる電量検出法との組み合わせを主体としてなされたものである。

本研究における電量検出器による陰イオンの検出は、分離カラム内での陽イオン交換反応により生成した酸からの水素イオンとp-ベンゾキノンの間の定電位電解反応における電量測定を利用する検出方法であり、この方法は、陰イオンの検出を可能にするので、イオンクロマトグラフィーにおける検出器として応用されている(24)。

本研究の成果により、水溶離液を用いて種々の陰イオンの保持容量とその酸の第一次解離定数の指数(pK_1)との間の関係（検量線）から、イオン排除作用に基づきゲルクロマトグラフィーとしての説明可能なことが分り、種々な陰イオンの分布係数が0と1の間の値を示すことを明かにした。

一方、水を用いる溶離において接近した pK_1 を有するために接近した保持容量を示す陰イオンの相互分離、たとえば、塩化物イオンからのリン酸イオンの分離、リン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの相互分離、更に、ピロリン酸、トリポリリン酸およびメタリン酸イオンなどの縮

合リン酸イオンの相互分離は、水溶液液中に有機溶媒を添加することによる弱酸性陰イオンだけの保持容量の増大効果を利用しておのおのイオン種の分離に成功した。この場合の弱酸性陰イオンの保持容量の増大は、有機溶媒濃度の増大による溶液の誘電率の減少に起因するもので、その pK_1 の増大効果により支配されることを明かにした。以上の結果は、陰イオン、特に、弱酸性陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおけるその保持容量の推定、接近した pK_1 を持つ陰イオンの相互分離など、イオン排除クロマトグラフィーの応用分野の拡大に寄与したものと考えている。

1. 2 陽イオンのイオン排除クロマトグラフィー

イオン排除クロマトグラフィーに関する基礎的研究は、そのほとんどが陰イオン相互の分離を対象とした結果であり、陽イオンに関してはほとんど報告されていない。そこで、本研究においては、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーを開発するため、Smallら(16)により使用された陽イオンのイオンクロマトグラフィーにおける溶液除去カラム（水酸化物型陰イオン交換樹脂）と同じものを分離カラムとして用い、陽イオンを対応する塩基として溶質成分（塩基）の移動相（溶液）と固定相（イオン交換樹脂）中の第四級アンモニウムの間でのDonnan膜平衡を利用して分離させ、その塩基からの水酸化物イオンを検出できる電量検出器を用いて、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの確立のための研究を遂行した。

その結果は、陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおけると同様に、 pK の違いにより、弱塩基性陽イオン、たとえば、アンモニウムイオンがナトリウムやカリウムイオンの様な強塩基性陽イオンからイオン排除によって分離することを可能にした。又、脂肪族アミンイオンの様に疎水基を有する陽イオンは、イオン排除作用よりはむしろ疎水性の違いを利用する吸着クロマトグラフィーにより、これらの相互分離を可能にすることができた。以上の結果は、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける弱塩基性陽イオンの分離定量の応用分野の拡大に寄与するものである。

2 イオン排除クロマトグラフィーの富栄養化成分の排水処理工程への応用

2. 1 BOD処理工程水への応用

有機性汚濁物質としてのBOD成分を活性汚でい法により適正に処理する場合、その処理工程自動計測管理法の研究の一環として、モデル的な基質として n -ブタノールを選び、種々な生物分解条件下、たとえば、DOが適正な濃度の場合、DOが低濃度の場合および銅イオン、シアン化物イオンおよびホルムアルデヒドの様な阻害作用を有する毒性物質の存在する場合の影響の研究において、 n -ブタノールの代謝生産物である脂肪族カルボン酸イオン（ギ酸、酢酸、 n -プロピオン酸および n -酪酸イオン）の相互分離のために、水素型陽イオン交換樹脂を用い、電量

検出型イオン排除クロマトグラフィーを応用した。その結果、上述のカルボン酸イオンを本法により迅速に分離定量することを可能にして、BOD処理工程におけるカルボン酸イオンの動態を明かにすることができた。その結果、本法が、BOD処理工程の円滑、適正な運転のための管理指標となりうることを見いだした。

2. 2 生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用

種々な排水中に含まれるアンモニウムイオンは、BOD処理法と同様に活性汚でいを用いることによる生物学的硝化-脱窒素処理法によって処理される。この処理法は、無機態の炭素化合物（炭酸水素イオン）の存在下で、アンモニウムイオンを亜硝酸イオンあるいは硝酸イオンに酸化する硝化処理工程と、有機態の炭素化合物から成る水素供与体（メタノール、酢酸およびBOD成分など）の存在下で、両者を窒素にまで還元する脱窒素処理工程の組み合わせからなっている。したがって、以上の処理工程を適正に管理するためには、おのおのの処理工程水中の炭酸水素、亜硝酸、硝酸およびアンモニウムイオンを迅速に自動計測する必要がある。

生物学的硝化処理工程水中の炭酸水素イオンは、水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより、水素イオンを検出できる電量検出器を用いて迅速に分離定量できることが分かった。この際、導電率検出器も使用可能であったが、検量線が広範囲にわたって良好な直線を示す点で電量検出器の方が有用であることを見いだした。本法により、種々のpH条件下での硝化処理工程中の炭酸水素イオン濃度を求め、これと後述の陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーによるアンモニウムイオンの定量値から求めたその処理（硝化）効率の関係から、本処理工程におけるアンモニウムイオンの硝化効率は、炭酸水素イオン濃度に依存することを見いだした。すなわち、炭酸水素イオンが約10ppm存在した時のpH条件下（pH7以上）においてのみアンモニウムイオンの硝化効率がほぼ100%を示すことを明かにした。以上のごとく、本法による炭酸水素イオンの自動計測は硝化処理工程の円滑、適正な運転のための重要な管理指標となりうることを示した。

生物学的硝化-脱窒素処理工程水中のアンモニウムイオンは、水酸化物イオンを検出できる電量検出器により水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いるイオン排除クロマトグラフィーで迅速に分離定量を可能にした。この際、導電率検出器も使用可能であったが、アンモニウムイオンの検量線が広範囲にわたって直線性を示す点で、電量検出器の方が有用であることを見いだした。

以上の結果は、炭酸水素イオンやアンモニウムイオンの様に弱酸や弱塩基のイオンのイオン排除クロマトグラフィーにおいて、導電率検出器よりも電量検出器の方が有用であることを示したものである。これは、炭酸水素イオンやアンモニウムイオンのイオンクロマトグラフィーにおいても、電量検出器の方が有用であることを示すものであり(25)、本研究の成果は、イオンクロマトグラフィーにおける電量検出法が、他の分野での今後の利用、発展に寄与するものでもある。本法は、河川水など環境水に対しても適用可能であり、地球化学の分野を含む種々な分野での今後の利用、発展が大いに期待される。

一方、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の亜硝酸および硝酸イオンは、水素型陽イオン交換樹脂を用いるイオン排除クロマトグラフィーにより迅速かつ高感度に分離定量が可能であった。この際、検出器としては、種々の共存陰イオンを含む試料から両者を高感度かつ選択的に検出す

るために、上述の酸に対して万能型の検出器である電量および導電率検出器の代りに、210 nmにおける紫外吸光検出器を使用した。尚、溶離液としては、硝酸イオンから亜硝酸イオンをイオン排除によって完全に分離するために、イオン排除クロマトグラフィーの基礎に関する研究成果を利用して、溶離液中のメタノールの濃度の増大、あるいは強酸（硫酸）の濃度の増大による溶離液のpHの減少におのおの起因する弱酸性陰イオンである亜硝酸イオンの保持容量の増大効果を利用したメタノール-水、あるいはメタノール-硫酸-水溶離液を用いる方法を検討した。これにより、両者は効率よく約5分で分離定量できた。紫外吸光検出器の使用は、イオン排除クロマトグラフィーにおいて、硝酸イオンと同一の保持容量を示す強酸性陰イオン（塩化物および硫酸イオン）からそれを選択的に検出するために不可欠なものであると同時に、この結果は、陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーの応用分野を拡大させたものである。すなわち、本研究は、イオン排除クロマトグラフィーが弱酸性の陰イオンの分離ばかりではなく、イオン排除分離において選択性を示さない硝酸イオンの様な強酸性陰イオンの分離に対しても適用可能であることを見いだした点で意義がある。又、本法は、都市下水処理場からの処理水が流入している都市河川水中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に対しても適用可能であると同時に、この方法が、硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に関するイオンクロマトグラフィーに対しても応用可能なことを示すものであり(22)、本法の種々な分野での今後の発展および利用が大いに期待されるものである。

以上述べた生物学的硝化-脱窒素処理工程において、アンモニウム、亜硝酸および硝酸イオンは酸化あるいは還元作用を受けてその形態が刻々変化するので、本法により迅速に同時定量できる結果は分析化学に貴重な意義を有している。そこで、亜硝酸および硝酸イオンの同時定量のための紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーとアンモニウムイオンの定量に関する陽イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーが、共に水系の溶離液を使用していることに着目して、遅延コイルを用いる方法により、硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンを約30分で同時定量できる方法を開発した。本法は、実際試料に良好に適用でき、1台の分析装置により、陰イオンと陽イオンの両方が同時定量できることを明かにした点で大きな意義があり、本法の環境水を含む他の分野での今後の利用および発展が期待される。

2. 3 脱リン処理工程水への応用

種々な排水中に含まれるリン酸イオンは、金属塩を用いる凝集沈殿法により処理されている。この処理工程においては、リン酸イオンに対応するアルミニウムや鉄塩などを化学量論的に適正に添加する必要がある。このためには、リン酸イオンを迅速に自動計測して、この処理工程を適正に管理する必要がある。

本研究においては、脱リン処理工程水中のリン酸イオンを水素イオンが検出できる電量検出器を用い、水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより種々な共存陰イオンを含む試料から迅速に分離定量することを可能にした。この際、検出器としては、上述した炭酸水素イオンと同様に、リン酸イオンが弱酸性陰イオンであるため、検量線の直線性の点と溶離液中の有機溶媒（アセトン）濃度の増大による検出器応答の減少が少ない点で導電率検出器よりも電量検出器の方が有用であることが分かった。又、溶離液は、共存する強酸性陰イオン（塩

化物、硝酸および硫酸イオン) と炭酸水素イオンからリン酸イオンを良好に分離するために、60%アセトン-水を用いて成功した。本法は、都市下水処理場の処理工程水に対しても適用可能であり、環境水を含む他の分野での今後の利用が期待される。

文献

- 1) 石原 豊, 田中 一彦, 砂原 広志: 水処理技術, 14, 1279 (1973).
- 2) 石原 豊, 田中 一彦, 砂原 広志, 鈴木 宏: *ibid.*, 16, 253 (1975).
- 3) 石原 豊, 田中 一彦, 砂原 広志: *ibid.*, 16, 659 (1975).
- 4) 遠矢 泰典, 鈴木 康司, 矢口 昌司: 用水と廃水, 12, 1076 (1970).
- 5) 遠矢 泰典, 鈴木 康司, 矢口 昌司: *ibid.*, 13, 182 (1971).
- 6) 田中 一彦, 安江 敏次, 大津 正見, 石原 豊, 中嶋 邦雄: 水処理技術, 23, 591 (1982).
- 7) 田中 一彦, 安江 敏次, 大津 正見, 石原 豊, 中嶋 邦雄: 水処理技術, 23, 689 (1982).
- 8) 小島 貞男, 須藤隆一, 桜井 敏郎, 松本 利通: "脱窒・脱磷技術と富栄養化対策", p. 1,007 (1977), (アイピーシー).
- 9) E. F. Barth and D. Stensel: J. Water Pollu. Contr. Fed., 53, 1691 (1981).
- 10) 上養 義則, 田中 一彦, 中嶋 邦雄, 石原 豊, 石塚 紀夫: 水処理技術, 22, 209 (1981).
- 11) T. Fujii and K. Tonomura: 微工研報告, 41, 29 (1972).
- 12) H. Kobayashi and H. Suzuki: *ibid.*, 44, 29 (1973).
- 13) 小島 貞男, 須藤隆一, 桜井 敏郎, 松本 利通: "脱窒・脱磷技術と富栄養化対策", p.481 (1977), (アイピーシー).
- 14) JIS, K 0102 (1981).
- 15) "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters", American Public Health Association (1975).
- 16) H. Small, T. S. Steavens, and W. C. Bauman: Anal. Chem., 47, 1801 (1975).

- 17) R. M. Wheaton and W. C. Bauman: *Ind. Eng. Chem.*, 45, 228 (1953).
- 18) G. A. Harlow and D. H. Morman: *Anal. Chem.*, 36, 2438 (1964).
- 19) W. C. Rich, F. Smith, Jr., L. Macneil, and T. Sidebottom: "Ion chromatographic Analysis of Environmental Pollutants", Vol.2 (Ed. by J. D. Mulik and E. Sawicki) p.17 (1979), (Ann Arbor).
- 20) 田中 一彦: "イオンクロマトグラフィー", (武藤 義一, 及川 紀久雄編) p.78, (1983), (講談社).
- 21) Y. Takata and G. Muto: *Anal. Chem.*, 45, 1864 (1973).
- 22) 高田 芳矩, 有川喜次郎: *分化*, 23, 1522 (1973).
- 24) Y. Takata and K. Fujita: *J. Chromatogr.*, 108, 255 (1975).
- 24) J. E. Girard: *Anal. Chem.*, 51, 836 (1979).
- 25) 田中 一彦, 石原 豊, 中嶋 邦雄: *分化*, 32, 439 (1983).
- 26) 田中 一彦, 石原 豊: *水処理技術*, 23, 767 (1982).

第一章 緒言

近年、種々な無機性および有機性のイオンの高感度な多成分同時分析法としてイオンクロマトグラフィーが注目されている。この方法は、1975年、Small, Steavens および Bauman(1) によって研究されたイオン交換クロマトグラフィーの一種で、mMオーダーの希薄な塩基あるいは酸を含む水溶液を溶離液として用い、陰イオンあるいは陽イオンを、低交換容量の陰イオンあるいは陽イオン交換樹脂によりイオン交換分離した後、溶離液中に含まれる電解質成分を水あるいは炭酸や水などの様な低電解質成分に変換する溶離液除去カラム（水素型あるいは水酸化物型のイオン交換樹脂）によりおのおの対応する酸あるいは塩基として溶出させた後、これらを導電率検出器を用いて定量する方法に基づいている。この方法は、ppb レベルのイオン種の多成分同時定量を可能にした点で特筆されるべきものであり、特に、米国環境保護庁が大気汚染に関連する酸性雨などの公害分析に対して、この方法を積極的に採用したことにより(2,3)、種々な環境水や排水処理工程水を含む種々な工程水中の各種なイオンの定量のために急速に普及しつつある。

イオン排除クロマトグラフィーは、イオン排除型イオンクロマトグラフィー(4,5)とも呼ばれており、前述のイオンクロマトグラフィーにおける溶離液除去カラムと同じものを分離カラムとして用い、陰イオンあるいは陽イオンを、水溶離液によりDonnan膜平衡をおのおのを利用して分離するものである。前述のイオンクロマトグラフィーと同様に、陰イオンは対応する酸として、陽イオンは対応する塩基として分離溶出させた後、検出器としては、イオンクロマトグラフィーにおけると同様に導電率検出器が使用される。したがって、イオン排除クロマトグラフィーは、広義のイオンクロマトグラフィーといえるものである。この方法は、1953年、Baumanら(6) および Wheaton(7) によって研究されて以来、この方法に適用しうるカラム効率の高いイオン交換樹脂カラム、高い圧力に耐えうる耐薬品性の送液ポンプ、更には導電率検出器の様な高感度な万能型検出器が未開発であったことなどにより、分析化学的基礎に関する研究例は非常に少ない。

そこで、本編では、陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎を確立するために研究した。すなわち、水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーと水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおいて電量検出器を主体とする検出方法、水および水-有機溶媒を用いる強酸性および弱酸性の陰イオンと強塩基性および弱塩基性の陽イオンの溶離挙動などについて種々検討を行うことにより、これらのイオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎を確立した。

第二章 水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンのイオン排除クロマトグラフィー

1 電量検出器による陰イオンの検出

1. 1 まえがき

陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおいて、陰イオンは対応する酸として分離カラムから溶出されるので、この酸を何らかの方法によりモニターすれば、陰イオンが間接的にモニター可能なことが予想される。Small ら(1)によるイオンクロマトグラフィーにおいては、溶離液除去カラムから溶出した陰イオンを、その酸として導電率検出器によりモニターしている。しかしながら、この検出器は、高感度な検出器ではあるけれども、酸の強さによりその当量導電率に依存して、その感度に変化するという短所を有するのに加へ、弱電解質成分の検量線の非直線性が問題となっている(8,9)。

そこで、本研究では、分離カラム内での陽イオン交換によって生成した酸からの水素イオンが検出できる電量検出法(10,11)により、陰イオンが間接的にモニターできる方法について検討した。すなわち、強酸性および弱酸性陰イオンを含む種々の無機および有機陰イオンに対する検出感度および検量線などの検出器応答特性についての検討を加へ、この電量検出法が陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーに対して適用可能なことを明かにすることを目的とした。

1. 2 実験

1. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフあるいはSpectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を用い、酸からの水素イオンを検出した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのこの検出器からの信号により陰イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

1. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陽イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの硫酸により水素型とし、内径9mm x 長さ550mmのジャケット付ガラスカラムに充填して使用した。

反応液：水素イオンを検出するための電量検出器(10,11)における作用極側に流入する反応液

としては、10 mM p-ベンゾキノン、1 mM ハイドロキノンおよび0.1 M 塩化カリウムから成る5%メタノール水溶液を用いた。

電解液：電量検出器における対極側に流入する電解液としては、0.5 M ヨウ化カリウム水溶液を用いた。

尚、以上の溶液は、電量検出器に内蔵されている送液ポンプにより、おのおの電解セル内の各電極中に流入される。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液 (1000 ppm) は、和光純薬製特級品の対応する酸あるいはその塩 (ナトリウム、カリウムおよびアンモニウム塩) から調製し、適宜希釈して使用した。

1. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5 ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、水を用いる溶離により各陰イオンのクロマトグラムを得た。

1. 3 結果および考察

1. 3. 1 電量検出器による水素イオンの検出

電量検出器における作用極に印加される電圧は、酸からの水素イオンとp-ベンゾキノンの間の定電位電解反応における重要なファクターである。そこで、Eqn. 2.1に示した反応を用いて水素イオンを検出した(10)。

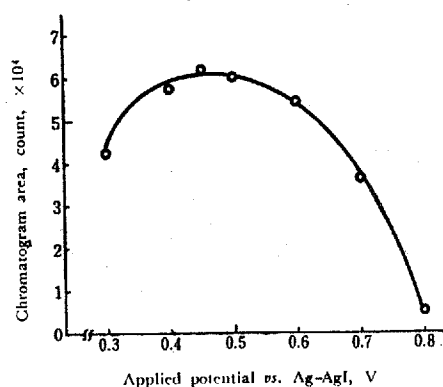


Fig. 2.1 Relationship between chromatogram area and applied potential vs. Ag-AgI for the determination of sulfate ion obtained with flow coulometric detector (FCD) for detecting hydrogen ion
Sample volume: 0.5 ml; Sample concn.: 100 ppm of sulfate ion (sodium sulfate); Column: Hydrogen-form cation exchange resin (9 mm i.d. x 550 mm long); Column temp.: 55° C; Eluent: Water (1 ml/min)



ここに、Qはp-ベンゾキノン、H⁺は水素イオン、e⁻は定電位電解反応によって移動した電子、H₂Qはヒドロキノンをおのおの示す。

試料として硫酸ナトリウムを分離カラム内に注入し、水を用いる溶離による陽イオン交換により生成した硫酸からの水素イオンについて、印加電圧と感度（ピーク面積）の関係を検討した。その結果、Fig. 2.1に示す様に、+0.45 V vs. 銀-ヨウ化銀において最大感度を示して高田ら(10)によって報告されている印加電圧に関する理論値(+0.45 V vs. 銀-ヨウ化銀)と良好に一致し、本法においても水素イオンがモニターされていることを示した。すなわち、これにより、陰イオン（硫酸イオン）が間接的にモニターできることが分かった。又、この検出法は、溶離液除去カラムとして水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンのイオンクロマトグラフィーに対しても応用可能であり(12)、陰イオンを間接的にモニターする方法として有用であることが明らかとなった。

1. 3. 2 陽イオン交換反応による酸の生成

分離カラム内での陽イオン交換反応による酸の生成が当量的に進行していることを確認するために、試料として塩酸、塩化カリウムおよび塩化アンモニウムを用いてこれらを分離カラム内におのおの注入し、電量検出器によりモニターした。その結果、Table 2.1に示す様に、三者共保持容量および感度（マイクロモルあたりのクロマトグラムのピーク面積）は一致し、三者共塩酸に変換され、これからの水素イオンが検出されていることを示した。すなわち、陽イオンの形態が異なっても、陽イオン交換反応が当量的に進行し、生成した酸からの水素イオンが電量検出器によりモニターされていることが分かった。

Table 2.1 Peak area per micro mole of chloride ion in hydrochloric acid, potassium chloride, and ammonium chloride solutions obtained with FCD

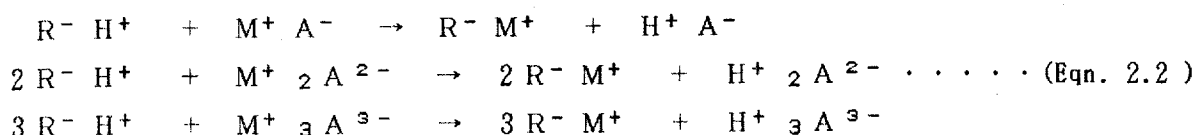
Compound used	Retention volume(ml)	Peak area(counts/ μ mole)	Ratio of area
Hydrochloric acid	12.5	55259	1.00
Potassium chloride	12.5	54052	0.98
Ammonium chloride	12.5	54820	0.99

Sample concn.: 100 ppm as chloride ion

1. 3. 3 陰イオンの価数と検出感度との関係

Eqn. 2.2に示す様に、1価の陰イオンは、陽イオン交換生成した酸の水素イオンとそのモル比が等しくなるが、2価、3価の陰イオンでは1価のそれに対しておのおの2倍、3倍の水素イオ

ンが生成する。



ここに、 R^- は陽イオン交換樹脂、 H^+ は水素イオン、 M^+ は陽イオン、 A^- 、 A^{2-} および A^{3-} はおのおの1価、2価および3価の陰イオンを示す。そこで、Eqn. 2.2に示した関係を検討するために、代表的な1価、2価および3価の陰イオンについての水素イオンを電量検出器によりモニターし、得られたクロマトグラムのピーク面積を比較した。結果は、Table 2.2 に示す様に、1価の陰イオンの間ではクロマトグラムのピーク面積比の一致した値が得られ、2価の硫酸イオンでは、1価の陰イオンに対して2倍の値が得られ、陽イオン交換反応がおのおの当量的に進行していることが分かった。

しかしながら、Table 2.2 より明かな様に、炭酸イオンではそれが2価の陰イオンであるにもかかわらず、1価の陰イオンと同じ値であり、又、リン酸イオンではそれが3価であるにもかかわらず、2価のそれと同じ値が得られた。このことは、炭酸イオンにおいて、炭酸の2段解離 ($pK_1 : 6.4$, $pK_2 : 10.4$.) の内、 pK_1 に相当する炭酸水素イオンとの解離における水素イオンが、一方、リン酸イオンにおいて、リン酸の3段解離 ($pK_1 : 2.0$, $pK_2 : 6.7$, $pK_3 : 12.4$) の内、 pK_1 と pK_2 に相当するリン酸水素イオンとの解離における水素イオンがおのおの電量検出器により検出されていることをおのおの示した。すなわち、以上の結果は、そのpKが約7までの陰イオンが電量検出器により検出されていることを示している。したがって、Table 2.2 に示す様に、その酸のpKが9.1であるシアン化物イオンは検出されないことを示した。

以上の結果は、イオンクロマトグラフィーにおいて酸を検出するために用いられる導電率検出器が、弱酸程 (pKが大きいく程) その検出感度が、それ自身の当量導電率に依存して低下する特性 (8) を有していることとは対称的に、電量検出法が、そのpKが少なく共約7までの弱酸性陰イオ

Table 2.2 Peak area per micro mole for various anions obtained with FCD

Anion	Peak area(counts/ μ mole)	Ration of area
Chloride ion	54063	1.00
Nitrate ion	53441	0.99
Dodecylbenzen sulphonate ion	55226	1.02
Sulfate ion	109829	2.03
Carbonate ion	54604	1.01
Phosphate ion	109748	2.03
Cyanide ion	ND	0

Sample concn.: 100 ppm as anion

ND: Not detected by FCD

ンの検出に対して検出感度が同じである点で極めて有効であることを示すものである。

尚、強酸性の陰イオン（塩化物イオン）、弱酸性の陰イオン（リン酸イオン）および極めて弱い酸の陰イオン（炭酸水素イオン）の電量および導電率検出器による応答特性の比較は、第三編第四章において詳述される。

1. 3. 4 陰イオンの検量線

電量および導電率検出器による炭酸水素イオンの濃度と検出器応答の関係（検量線）を検討した。電量検出器と導電率検出器についての比較は、10から200 ppmの濃度範囲で行った。その結果、Fig. 2.2に示す様に、導電率検出器によって得られた検量線（ピーク高さ法）は、炭酸水素イオンの濃度の増大により傾斜し、非直線性を示した。これは、分離カラム内で生成した炭酸が極めて弱い酸であるため、その解離度が濃度の増大により減少し、その結果として導電率が減少することに起因するものである。

しかしながら、電量検出器によって得られた検量線は、良好な直線性を示した。これは、炭酸が極めて弱い酸であるにもかかわらず、電量検出器における炭酸からの水素イオンとp-ベンゾキノンとの間の定電位電解反応が化学量論的に進行していることを示すものである。これは、電量検出器の際立った特長である。尚、硫酸イオンの様な強酸性の陰イオンの検量線は、両検出器共良好な直線性を示した。

以上の結果は、炭酸水素イオンの様な弱酸性陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける電量検出器の有用性を示すものである。

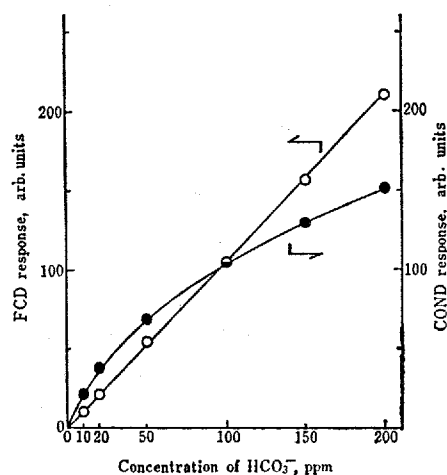


Fig. 2.2 Calibration curves of bicarbonate ion obtained with conductometric detector (COND) and FCD

—●— COND; —○— FCD

2 水溶離液による陰イオンの溶離挙動

2. 1 まえがき

陰イオンを、水素型陽イオン交換樹脂を用いてその対応する酸として水を用いる溶離により溶出させた時、水素イオンを検出する電量検出器によってモニターできることは、前述した。

そこで、本研究では、水を用いる溶離による種々の無機および有機陰イオンの溶離挙動について詳細に検討することにより、イオン排除クロマトグラフィーにおける陰イオンの分離機構を、イオン排除作用に基づくゲルクロマトグラフィーとして評価することを目的とした。

2. 2 実験

2. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器、日立製230型蛍光検出器、Spectra-Physics社製770型紫外吸光検出器および柳本製C-202型導電率検出器をおのおの用い、酸を検出した。尚、試料中の不純物により複数のピークを示す陰イオンについては、必要に応じて分取し、比色法により確認した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を二台用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのおのの検出器からの信号により陰イオンのクロマトグラムの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

2. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陽イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの硫酸により水素型とし、内径9mm×長さ550mmのジャケット付ガラスカラムに充填して、50°Cで使用した。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液(1000ppm)は、和光純薬製特級品の対応する酸あるいは塩（ナトリウム、カリウムおよびアンモニウム塩）から調製し、適宜希釈して使用した。

2. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、水を用いる溶離により各陰イオンのクロマトグラムを得た。

2. 3 結果および考察

2. 3. 1 陰イオンの保持容量

22種類の強酸性および弱酸性の無機および有機陰イオンを、その塩として水素型陽イオン交換樹脂カラム内に注入して水を用いる溶離によりその酸として分離し、電量、導電率、紫外吸光および蛍光検出器によりおのおのクロマトグラムを得た。得られた陰イオンの保持容量をTable 2.3 に示す。

ヨウ化物、臭化物、塩化物、硫酸および硝酸イオンの様に、それらの酸が強酸であるために水中で完全にイオン化している強酸性陰イオンの保持容量は、すべて12.8 ml を示した。一方、シユウ酸、亜リン酸、次亜リン酸、リン酸、亜硫酸、フッ化物、ギ酸、酢酸およびプロピオン酸イオンの様に、それらの酸が弱酸であるために水中で不完全にイオン化している弱酸性陰イオンの保持容量は、13.0から25.5 ml をおのおの示した。更に、炭酸、シアン化物、ホウ酸、フェノー

Table 2.3 Retention volumes of anions by elution with water

Anion	Retention volume(ml)
Iodide ion	12.8
Bromide ion	12.8
Perchlorate ion	12.8
Chloride ion	12.8
Sulfate ion	12.8
Nitrate ion	12.8
Oxalate ion	13.0
Phosphite ion	13.8
Hypophosphite ion	14.0
Phosphate ion	14.2
Sulfite ion	14.5
Fluoride ion	18.4
Formate ion	19.5
Acetate ion	23.0
Propionate ion	25.5
Butyrate ion	30.0
Bicarbonate ion	28.5
Cyanide ion	28.5
Borate ion	28.5
Phenol	28.2
Methanol	28.8
Sulfide ion	34.8

ルおよびメタノールの様に、それらの酸が極めて弱い酸であるために水中でほとんどイオン化していない弱酸性陰イオンの保持容量は、ほとんど28.5 mlを示した。しかしながら、酪酸イオンと硫化物イオンの保持容量は、おのおの30.0と34.8 mlを示した。

以上の結果は、上記の陰イオンの保持容量が、その酸の強さ、すなわち、その酸の解離定数(pK)に依存することを示唆するものである。

2. 3. 2 陰イオンの保持容量とその酸の第一次解離定数の間の関係

イオン排除クロマトグラフィーによる陰イオンの分離機構を明かにするために、陰イオンの保持容量とその酸の第一次解離定数(pK₁)の間の関係について検討した。

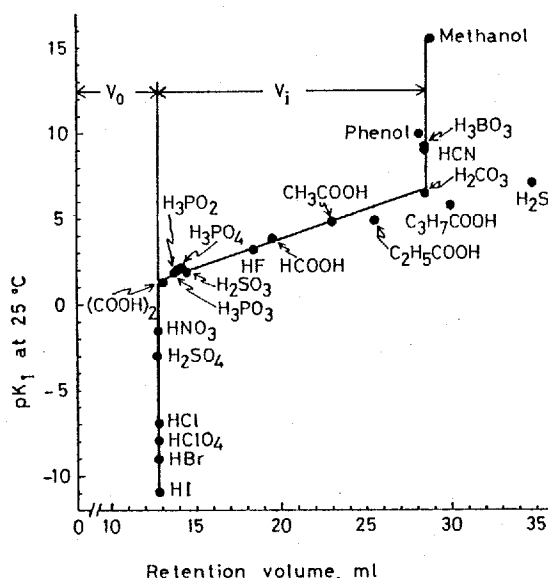


Fig. 2.3 Relationship between retention volume of anions and first dissociation constant(pK₁) of corresponding acids

それぞれの陰イオンの保持容量を、25°Cにおけるその酸のpK₁に対してプロットした所、Fig. 2.3に示す様な関係(検量線)が得られた。

この検量線は、pK₁が-11から-1.6までを有する強酸性陰イオンの酸からの水素イオンが、Donnan膜平衡に基づいて水素型陽イオン交換樹脂相中の完全解離しているスルホン基の固定水素イオンにより、完全にイオン排除されていることを示した。一方、pK₁が1.3から6.4までを有する弱酸性陰イオンの酸からの水素イオンが、Donnan膜平衡に基づいて水素型陽イオン交換樹脂相中の完全解離している固定水素イオンによって、不完全にイオン排除され、樹脂相中に浸透していることを示した。又、pK₁が6.4から15.5までを有する極めて弱い酸の陰イオンの水素イオンが、Donnan膜平衡に基づいて水素型陽イオン交換樹脂相中の完全解離している水素イオンによってまったくイオン排除されず、樹脂相中に完全に浸透していることを示した。一方、この検量線からはずれた陰イオン(プロピオン酸、酪酸および硫化物イオン)においては、イオン排除作用以外の副作用、たとえば、吸着作用が関与していることを示唆した(10,14)。

以上述べた結果から、本法がイオン排除作用に基づくゲルクロマトグラフィーとして説明することが可能と思われた。

そこで、Fig. 2.3の関係より、立体排除作用に基づくゲルクロマトグラフィーに関する一般式であるEqn. 2.3 (13) を用いて、本法におけるカラムパラメーターを求めた。

$$V_r = V_o + K_d \cdot V_i \dots\dots\dots (Eqn. 2.3)$$

ここに、 V_r は各陰イオンの保持容量、 V_o はカラム間隙容量、 K_d は分布係数、 V_i はカラム内部容量をおのおの示す。

すなわち、Fig. 2.3に示した結果は、Eqn. 2.3において、完全イオン排除される強酸性陰イオンの保持容量が V_o を、完全浸透する極めて弱い酸の保持容量が $(V_o + V_i)$ をおのおの意味し、個々の陰イオンの K_d はその V_r から算出できることを示すものである。

2. 3. 3 カラム内部容量の測定

Fig. 2.3で示した陰イオンの検量線により得られたカラム内部容量 (V_i) の値の妥当性を他の方法と比較することによって評価した。この V_i の測定は、Eqn. 2.4に示した方法(13)により行った。

$$V_i = (W - W_t - W_r - \rho V_o) / \rho \dots\dots\dots (Eqn. 2.4)$$

ここに、 W はカラムの全重量、 W_t は空カラムの重量、 W_r はイオン交換樹脂の乾燥重量、 ρ は水の比重をおのおの示す。 W_r は、イオン交換樹脂を80°Cで8時間真空乾燥することによって求めた。 V_o は、前述の陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける検量線から求めた値を使用した。その結果、Eqn. 2.4より求めた V_i の値 (2回の平均値) は、15.5 ml であり、Fig. 2.3に示した陰イオンの検量線から得られたそれ(15.7ml)と良好に一致した。したがって、陰イオンの検量線から得られた V_i の値は妥当な値であることが分った。

2. 3. 4 陰イオンの分布係数

おのおの陰イオンの分布係数 (K_d) は、Table 2.3 に示した各陰イオンの保持容量を、前述のEqn. 2.3に代入することによって算出された。

Table 2.4 より明かな様に、強酸性陰イオンの K_d は0を、弱酸性陰イオンのそれは0.01から0.65を、極めて弱い酸のそれは1をおのおの示した。すなわち、シュウ酸から炭酸水素イオンまでの K_d はその酸の pK_1 の増大に比例して増大することが分った。Table 2.4 で示した陰イオンの内、酪酸および硫化物イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおいては、それらの K_d 値が1以上であったので、イオン排除作用よりはむしろ副作用としての吸着作用がこれらの分離に関与していることを示唆した(10,14)。

以上の結果から、水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーの分離機構は、その酸の移動相 (水) とイオン交換樹脂相間でのイオン排除に起因する分配作用

を利用するゲルクロマトグラフィーとして説明できることが分った。

Table 2.4 Distribution coefficient of anions by elution with water

Anion	Distribution coefficient(Kd)
Iodide ion	0
Bromide ion	0
Perchlorate ion	0
Chloride ion	0
Sulfate ion	0
Nitrate ion	0
Oxalate ion	0.01
Phosphite ion	0.06
Hypophosphite ion	0.08
Phosphate ion	0.09
Sulfite ion	0.11
Fluoride ion	0.36
Formate ion	0.43
Acetate ion	0.65
Propionate ion	0.81
Butyrate ion	1.10
Bicarbonate ion	1.00
Cyanide ion	1.00
Borate ion	1.00
Phenol	0.98
Methanol	1.02
Sulfide ion	1.40

3 水-有機溶媒-強酸溶離液による強酸と弱酸の陰イオンのイオン排除分離

3. 1 まえがき

前述の第二編第二章の2において、陰イオンを水素型陽イオン交換樹脂を用いてその対応する酸としてイオン排除に起因する分配作用を利用したゲルクロマトグラフィーにより、種々の pK_1 を有する陰イオンが分離可能なことを述べた。この場合、溶離液としては水が用いられるので、 pK_1 が接近しているために接近した保持容量を示す陰イオンの分離は困難であった。

そこで、本研究では、水を用いる溶離においてしばしば接近した保持容量を示す陰イオン、たとえば、強酸性陰イオン（塩化物イオン）からの弱酸性陰イオンであるリン酸イオンの分離、リン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの相互分離、縮合リン酸イオン（リン酸、ピロリン酸、トリポリリン酸およびメタリン酸イオン）の相互分離、更には硝酸イオンからの亜硝酸イオンの分離をおのおの達成するために、カラム温度、溶離液組成（水-有機溶媒、水-強酸）について検討した所、これらは良好に分離でき、有機溶媒（エタノール、メタノール、アセトン、ジオキサンなど）の濃度の増大に起因する溶離液の誘電率の減少、更には強酸の濃度の増大に起因する水溶離液のpHの減少などが弱酸性陰イオンのイオン排除クロマトグラフ分離に関する重要なファクターであることが分かったのでここに報告する。

3. 2 実験

3. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフあるいはSpectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を用い、水素イオンを検出した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのおのの検出器からの信号により陰イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

3. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陽イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ 、架橋度8%）を約2Nの硫酸により水素型とし、内径9mm×長さ535mmのジャケット付ガラスカラムに充填して使用した。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液（1000ppmあるいは0.1M）は、和光純薬製特級品の対応する塩（ナトリウムおよびカリウム塩）から調製し、適宜希釈して使用した。

有機溶媒：和光純薬製特級品のメタノール、エタノール、アセトン、ジオキサンを用い、蒸留

水中にこれらを適当な濃度に溶解し、溶離液とした。

強酸：和光純薬製特級品の過塩素酸および硫酸を用い、蒸留水中にこれらを適当な濃度に溶解し、溶離液として使用した。

3. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5 ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、おのおのの検出器により各陰イオンのクロマトグラムを得た。

3. 3 結果および考察

3. 3. 1 塩化物イオンとリン酸イオンの分離におけるカラム温度の影響

本報告においては、おのおのの陰イオンの保持容量は接近した値であるためにその差は小さいので、キャパシティー比(k')として表示した。 k' は以下の式(Eqn. 2.5)により求めた。

$$k' = (V_r - V_o) / V_o \dots \dots \dots \text{(Eqn. 2.5)}$$

ここに、 k' はキャパシティー比、 V_r は陰イオンの保持容量、 V_o はカラム間隙容量をおのおの示す。 V_o は、イオン交換樹脂相から完全にイオン排除される強酸性陰イオン(塩化物イオン)の保持容量とした。ここで、この V_o の測定は以下の様な方法で行った。すなわち、1 mM硫酸-水溶離液と電量検出器を用い、試料として水を分離カラム内に注入してこれによるバックグラウンドからの負方向のピークをモニターし、このイオン交換相互作用を受けない水の保持容量を V_o とした。この値は、強酸性陰イオンの保持容量と同じ値であり、したがって、塩化物イオンの k' は、Eqn. 2.5より0として示される。

そこで、塩化物イオンからリン酸イオンをイオン排除によって分離するために、26から80°Cのカラム温度の影響について検討した。水中のリン酸の pK_1 は、温度の増大によって増大するので(15)、 k' はその pK_1 の増大に伴ってほぼ直線的に増大した。この結果を、Fig. 2.4に示す。しかしながら、塩化物イオンの k' は常に V_o を示すので、両者間の分離度(R_s)はリン酸イオンの k' の増大に比例してほぼ直線的に増大し、更に、カラム温度の増大と共にリン酸イオンのHETPは減少した。すなわち、カラム効率は増大した。50から80°Cの温度範囲では、HETPの値の変化は少ないけれども、カラム温度50°Cにおいて、リン酸イオンは塩化物イオンからイオン排除によって分離することが可能なことが分った。以上の結果は、カラム温度の増大による溶離液の誘電率の減少に伴なってリン酸イオンの pK_1 が増大し、これによってリン酸イオンの k' だけが増大したものと考えられた。

そこで、以下の実験では、水素型陽イオン交換樹脂の熱的安定性を考慮して特にことわらない限りカラム温度50°Cで行った。

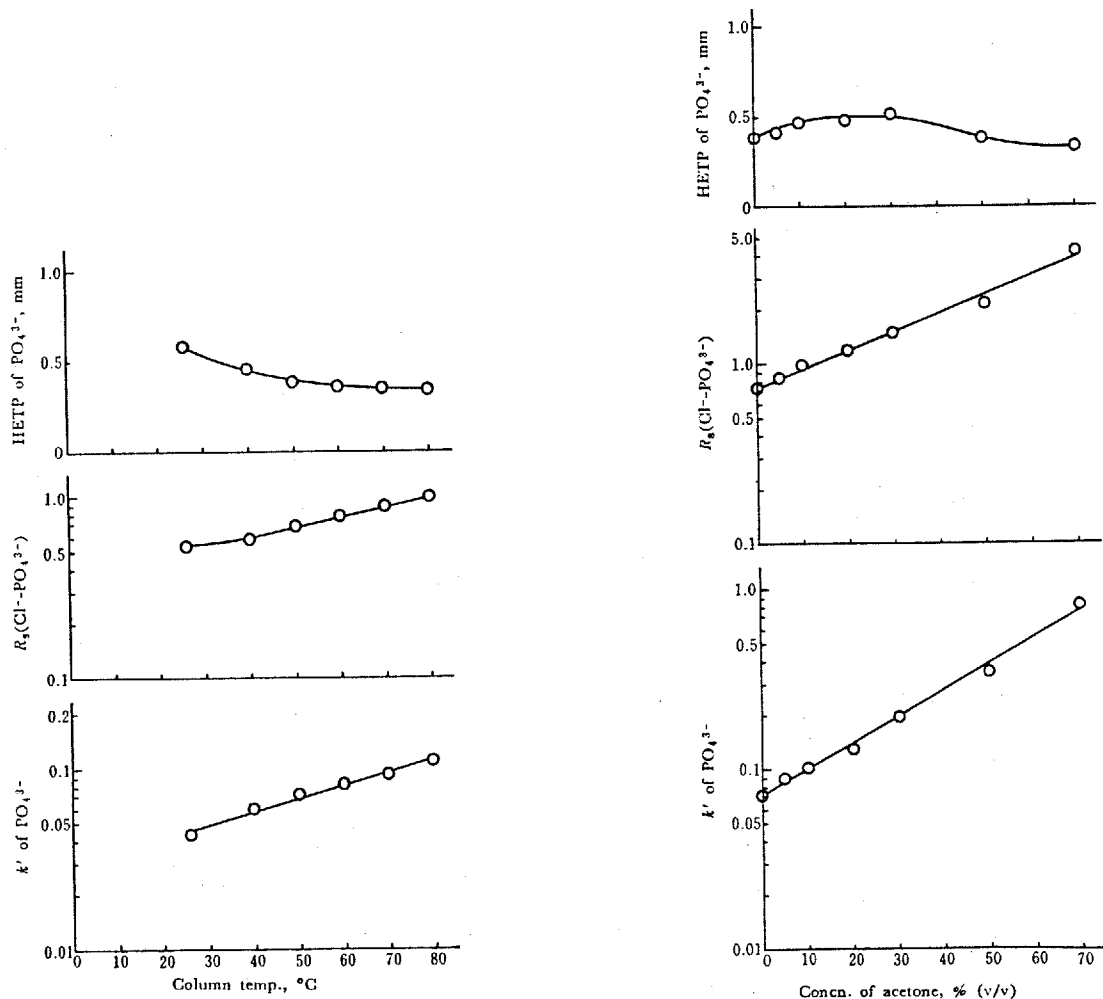


Fig. 2.4 Effect of column temp. on capacity factor (k') and HETP of phosphate ion and peak resolution (R_s) between chloride and phosphate ions

k' of chloride ion: 0; Eluent: Water (1 ml/min); Sample concn.: 100 ppm; Detector: FCD

Fig. 2.5 Effect of acetone concn. on k' and HETP of phosphate ion and R_s between chloride and phosphate ions

k' of chloride ion: 0; Column temp.: 50 °C; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.4

3. 3. 2 塩化物イオンとリン酸イオンの分離における溶離液中のアセトンの影響

3. 3. 1で述べた様に、リン酸イオンの k' はカラム温度の増大によって増大する。しかしながら、その増大の程度は余り大きくないので、リン酸イオンの k' を更に増大させるために、有機溶媒（アセトン）の影響について検討した。

アセトン-水溶離液において、アセトンの濃度を0 から70% (v/v, 以下同じ) まで変化させてカラム温度50 °C の条件下でリン酸イオンの k' および塩化物イオンとの間の R_s について検討した所、Fig. 2.5に示す様に、リン酸イオンの k' および R_s は共にアセトン濃度の増大によ

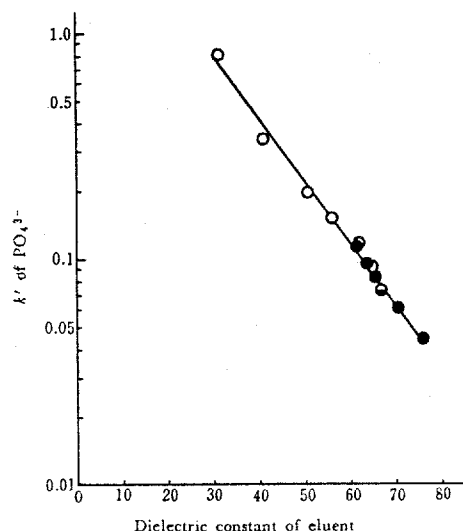


Fig. 2.6 Relationship between dielectric constant of eluent and k' of phosphate ion
 k' of chloride ion: 0; —●— Column temp.: 26-80° C, eluent: water;
 —○— Column temp.: 50° C, eluent: 0-70 % acetone-water; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

りほぼ直線的に増大した。この増大は、カラム温度の増大による k' の増大に比較して、かなり大きかった。以上の結果は、アセトン濃度の増大により溶離液の誘電率が減少することに基づいてリン酸イオンの $\text{p}K_1$ が増大し、これによって、リン酸イオンの k' だけが増大したことに起因するものと考えられる。

3. 3. 3 塩化物イオンとリン酸イオンの分離における溶離液の誘電率の影響

3. 3. 1 および 3. 3. 2 で述べた様に、リン酸イオンの k' はカラム温度およびアセトン濃度の増大によって増大する。これは、それぞれの増大によってリン酸の $\text{p}K_1$ が増大し、それに伴ってその k' が増大したものと考えられたので、おのおのの影響に対応する溶離液の誘電率とリン酸イオンの k' の間の関係について検討した。その結果、水を用いる溶離による 26 から 80 ° C のカラム温度に対応する誘電率とリン酸イオンの k' の間の関係と、アセトン-水を用いる溶離によるカラム温度 50 ° C における 0 から 70 % のアセトン濃度に対応する誘電率 (16) とリン酸イオンの k' の間の関係は、Fig. 2.6 に示す様に、同一直線上にプロットすることができた。以上の結果から、リン酸イオンの様な弱酸性陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおいては、溶離液の誘電率は弱酸性陰イオンの k' だけを増大させる意味で重要なファクターであることが分った。

3. 3. 4 アセトン-水溶離液によるリン酸イオンの電量検出器応答

カラム温度 50 ° C, 20 % アセトン-水溶離液の条件下における電量検出器によるリン酸イオン

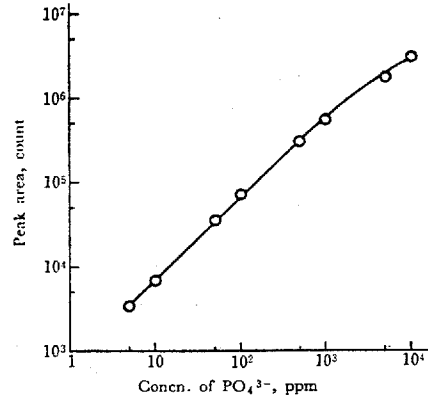


Fig. 2.7 Relationship between concn. of phosphate ion and chromatogram peak area by elution with 20 % acetone-water

The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

の検出器応答（検量線）は、Fig. 2.7に示す様に、5 から1000 ppmの濃度範囲で良好な直線関係が得られ、水溶液を用いた場合と同様な結果であった。

尚、リン酸イオンに関するこの電量検出器と導電率検出器による検量線の比較の詳細は、第三編第四章において述べられる。

3. 3. 5 有機溶媒-水溶液によるリン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの分離

リン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの水中における解離はおおのこの1段、2段および3段解離しており、Table 2.5 に示す様に、これらの pK_1 は接近している。したがって、これらリン酸イオンの保持容量をイオン排除クロマトグラフィー的に考察すると、これらは接近した pK_1 を有しているので、接近した保持容量を示し、得られた結果(Table 2.5)はそれを裏づけた。すなわち、これらリン酸イオンの溶出順序は、その差は小さいけれども、 pK_1 の小さい順となった。そこで、接近した k' を示すこれらリン酸イオンをイオン排除によって分離するために、おのこのリン酸イオンの k' における溶液組成の影響について検討した。

Table 2.5 Retention volume and k' of phosphate, phosphite, and hypophosphate ions by elution with water

Anion	Retention volume(*1) (ml)	k' (*2)	pK_1 of acid (25° C)
Phosphate ion	12.59	0.051	2.1
Phosphite ion	12.20	0.018	1.8
Hypophosphite ion	12.43	0.038	2.0

*1 Retention volume of chloride ion: 11.98 ml, *2 k' of chloride ion: 0

溶離液として、メタノール、エタノールおよびアセトンについて0 から70%の濃度範囲について検討した所、Fig. 2.8に示す様に、70%アセトン-水溶離液が最も良好な分離を示した。すなわち、70%アセトン-水溶離液が最も大きいリン酸イオンの k' の増大効果を示した。これは、アセトンが検討した三者の溶離液の中で最も誘電率が小さく、したがって、これらリン酸イオンの pK_1 の増大効果が大きいから、それによっておのおののリン酸イオンの保持容量を増大させたものと考えられる。

Fig. 2.9は、リン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの k' における溶離液中のアセトンの影響を示す。これらのリン酸イオンの k' は、アセトン濃度の増大によってほぼ直線的に増大した。この直線は、ほぼ同じ傾斜を示したが、アセトン濃度の増大と共に各リン酸イオンの k' の実際の値は差は増大した。

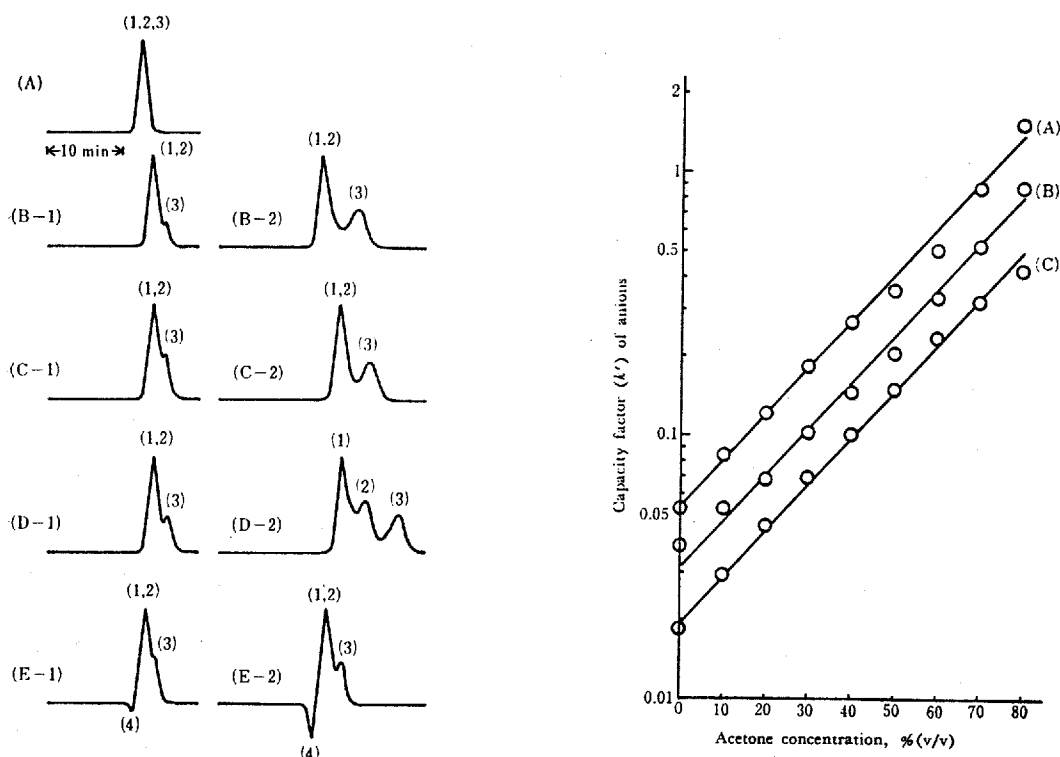


Fig. 2.8 Chromatographic profiles of the mixture of phosphate, phosphite, and hypophosphate ions

(A) Water; (B-1) 40 % methanol-water; (B-2) 70 % methanol-water; (C-1) 40 % ethanol-water; (C-2) 70 % ethanol-water; (D-1) 40 % acetone-water; (D-2) 70 % acetone-water; (E-1) 0.01 % perchloric acid-water; (E-2) 0.05 % perchloric acid-water; (1) Phosphite ion; (2) Hypophosphite ion; (3) Phosphate ion; (4) Water in sample solution; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

Fig. 2.9 Effect of acetone concn. on k' of phosphate, phosphite, and hypophosphite ions

(A) Phosphate ion; (B) Hypophosphite ion; (C) Phosphite ion; The chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

3. 3. 6 過塩素酸-水溶離液によるリン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンの分離

前述した様に、リン酸、亜リン酸および次亜リン酸イオンは弱酸性陰イオンであり、これらは水溶離液中に過塩素酸や硫酸の様な強酸を添加することにより、その解離度の減少を利用して分離が達成できることが考えられる。

そこで、0.01から0.05%の過塩素酸の濃度範囲について検討した所、Fig. 2.8に示す様に、これらリン酸イオンが分離される傾向を示した。しかしながら、検出器として電量および導電率検出器を用いると、Fig. 2.8に示す様に、これらが酸の対して万能型の検出器であるために溶離液中の過塩素酸の濃度に比例したバックグラウンドの増大が認められ、その濃度を0.05%以上にすることはできず、この方法の限界を示した。しかしながら、この方法は、検出器として溶離液中の酸に対して応答しない検出器、たとえば、紫外吸光検出器などの使用によって有用な検出方法になりうることが示唆された。

3. 3. 7 有機溶媒-水溶離液による縮合リン酸イオンの分離

縮合リン酸イオンの酸としての強さは、Beukenkamp (17)によって報告されている様に、メタリン酸イオン>トリポリリン酸イオン>ピロリン酸イオン>リン酸イオンの順で、リン酸イオンを除き、これらはかなり強い酸の陰イオンである。そこで、有機溶媒-水溶離液による縮合リン酸イオンの相互分離について検討した。この際、縮合リン酸イオンがかなり強い酸の陰イオンであることを考慮して、これらの陰イオンの pK_1 の増大効果の大きいアセトン（誘電率：21.7）に加へ、ジオキサン（誘電率：2.1）が溶離液として用いられ、両者が比較検討された。

Fig. 2.10 は、水を用いる溶離による縮合リン酸イオンの混合物のクロマトグラムを示す。お

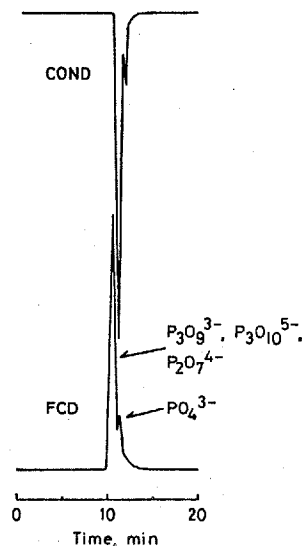


Fig. 2.10 Chromatograms of the mixture of phosphates obtained by elution with water alone

Concn. of phosphates: 1 mM; FCD: 5 mA F.S.; COND: 1000 μ S/cm F.S.; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

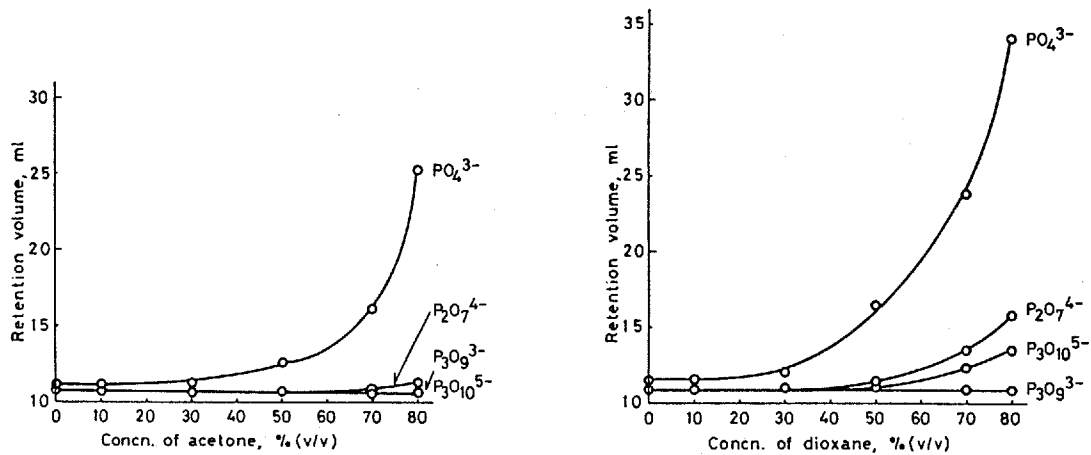


Fig. 2.11 Effect of acetone on retention volumes of phosphates

The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.10

Fig. 2.12 Effect of dioxane on retention volumes of phosphates

The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.10

のおのの縮合リン酸イオンの酸としての強さから予想される様に、 pK_1 が2.1であるリン酸イオンを除き、他の縮合リン酸イオンの保持容量は同じ値を示し、これらがイオン交換樹脂相から完全にイオン排除される結果、カラムパラメーター V_0 を示した。一方、リン酸イオンの保持容量は、 V_0 より大きい値を示し、それが弱酸性陰イオンであるためイオン交換樹脂相中に浸透していることを示したが、縮合リン酸イオンとの分離は良好でなかった。そこで、これら縮合リン酸イオンを相互分離するために、アセトン-水およびジオキサン-水溶離液についておのの検討し、両者を比較した。

Fig. 2.11 および2.12は、アセトン-水およびジオキサン-水溶離液による縮合リン酸イオンの混合物における保持容量の影響をおのの示す。これらの結果は、アセトンおよびジオキサンの濃度の増大による溶離液の誘電率の減少によって縮合リン酸イオンの保持容量が増大していることを示した。この増大の程度は、アセトンよりも誘電率の小さいジオキサンにおいて大きく、80%ジオキサン-水によりこれら縮合リン酸イオンが相互分離可能なことを示した。以上述べた縮合リン酸イオンの分離機構については、上述の誘電率の減少による pK_1 の増大効果に加へ、以下の様な考察も可能と考えられる。すなわち、有機溶媒-水溶離液を用いた時、陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける副作用としての二相間での分配作用を考慮する必要がある。なぜなら、水だけを溶離液として用いると、イオン交換樹脂相中の溶媒組成は、移動相中のそれと同一となり、溶媒組成の違いに起因する分配効果は無視できるが、有機溶媒-水を溶離液として用いると、イオン交換樹脂中に含まれるスルホン酸基の水和作用によりイオン交換樹脂相内は水和され、水がリッチとなる。しかしながら、イオン交換樹脂のマトリックス自身は疎水性を有するため、その性質によりその近傍にある移動相は、有機溶媒がリッチとなる。したがって、この溶媒組成の違いに起因する分配効果はイオン排除クロマトグラフィーにおける副作用として重要なファクターであることが推察された(18,19,20)。

Fig. 2.13 および2.14は、均一溶媒溶離法による80%ジオキサン-水による縮合リン酸イオンの混合物のクロマトグラムおよび勾配溶離法による0から80%のジオキサン-水による縮合リン酸イオンの混合物のクロマトグラムをおのの示す。Fig. 2.13 および2.14より明かな様に、両

者共良好な分離が得られ、特に、電量検出器による勾配溶離法において良好な分離結果が得られた。

尚、以上の分離においては、電量検出器に加えて導電率検出器も使用可能であったけれども、

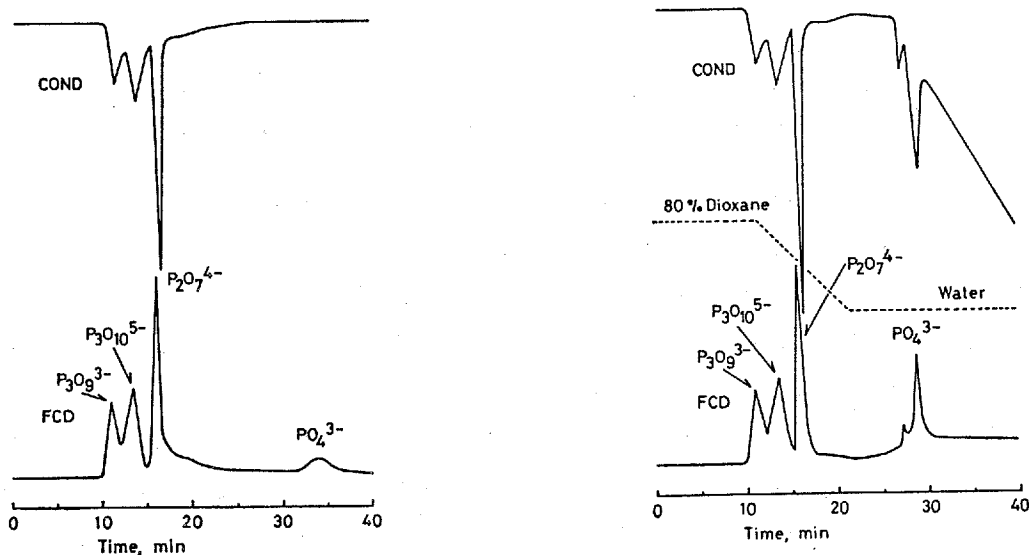


Fig. 2.13 Chromatograms of the mixture of phosphates obtained by isocratic elution with 80 % dioxane-water
FCD: 2 mA F.S.; COND: 50 μ S /cm F.S.; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.10

Fig. 2.14 Chromatograms of the mixture of phosphates obtained by gradient elution with 80 % dioxane-water
FCD: 2 mA F.S.; COND: 50 μ S /cm F.S.; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.10

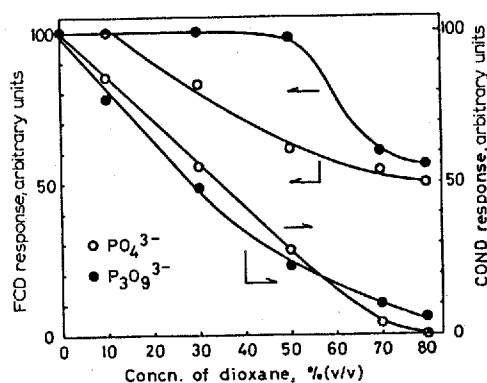


Fig. 2.15 Effect of dioxane on detector responses of phosphates
The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.10

Fig. 2.15 に示す様に、弱酸性陰イオンとしてのリン酸イオンと強酸性陰イオンとしてのメタリン酸イオンの溶離液中のジオキサン濃度の増大による検出器応答の減少の程度が、共に極立って小さい点で、電量検出器の使用が推奨されることが分かった。この有機溶媒-水溶離液によるこれら検出器の応答特性に関する詳細は、第三編第四章で述べられる。

3. 3. 8 硝酸および亜硝酸イオンの保持容量における溶離液のpHの影響

3. 3. 6で少し述べた様に、イオン排除クロマトグラフィーにおいて、溶離液のpHは、強酸性陰イオンからの弱酸性陰イオンの分離に関する重要なファクターである。そこで、溶離液として水-硫酸を用い、そのpHが5.8から2.7のpH範囲（実測値）における強酸性陰イオンとしての硝酸イオン(pK:-1.6)および弱酸性陰イオンとしての亜硝酸イオン(pK:3.4)の保持容量の影響について検討した。

溶離液としては1 mMから0.01 mMの硫酸を含む水溶離液を用いた。この時、前述した電量および導電率検出器の両方は、溶離液中の硫酸によるバックグラウンドの増大により使用不可能であったので、硝酸および亜硝酸イオンを選択的に検出するために、210 nmにおける紫外吸光検出器が用いられた(20)。得られた結果は、Fig. 2.16に示す様に、亜硝酸イオンの保持容量は、硫酸濃度の増大による溶離液のpHの減少により増大することを示した。しかしながら、硝酸イオンの保持容量は変化せず、カラムパラメーター V_0 を示した。以上の結果は、亜硝酸イオンが溶離液のpHの減少によるその解離度の減少により、Donnan膜平衡に基づいてイオン交換樹脂相中に浸透しており、又、硝酸イオンが検討したpH範囲(5.8-2.7)において完全にイオン化しているので、イ

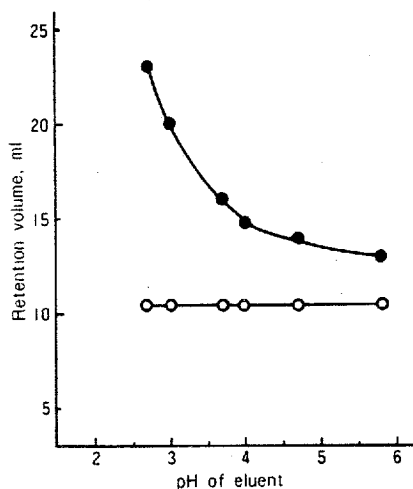


Fig. 2.16 Effect of pH of eluent on retention volumes of nitrate and nitrite ions using the long column

Long column: Hydrogen-form cation exchange resin(9 mm i.d. x 550 mm long);
 Detector: Ultraviolet spectrophotometric detector(UVD) at 210 nm; Column
 temp.: 30° C; Eluent flow rate: 1 ml/min; Sample volume: 0.5 ml; Sample
 concn.: 10 ppm; -○-Nitrate ion; -●-Nitrite ion

オン交換樹脂中の固定水素イオンによってイオン交換樹脂相から完全にイオン排除されていることを示した。

以上と同様な結果は、亜硝酸と同様に弱酸であるモノ、ジおよびトリクロロ酢酸のイオン排除クロマトグラフィーにおいても認められており(21,22)、溶離液のpHは、弱酸のイオン排除クロマトグラフィーにおける弱酸性陰イオンの保持容量を増大させる意味で重要なファクターであることが分った。

3. 3. 9 硝酸および亜硝酸イオンの分離効率における溶離液のpHの影響

3. 3. 8で述べた溶離条件下で硝酸および亜硝酸イオンの分離効率(HETP)における溶離液のpHの影響を検討した。Fig. 2.17より明かな様に、硝酸イオンのHETPは、溶離液のpHの影響を受けず、ほぼ一定の値(0.6 mm)を示した。一方、亜硝酸イオンのHETPは、溶離液のpHの減少と共に1.45から0.25mmまで急激に減少し、カラム効率が增大していることを示した。

以上と同様な結果は、亜硝酸と同様に弱酸であるモノ、ジおよびトリクロロ酢酸のイオン排除クロマトグラフィーにおいても認められており(21,22)、溶離液のpHは、弱酸性陰イオンのカラム効率を増大させる点においても陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける重要なファクターであることが分った。又、本法は、溶離液として硫酸を使用しているため、分離カラムの再生を必要としない長所を有する。

尚、硝酸および亜硝酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける紫外吸光検出器の有用性に関する詳細については、第三編第三章において述べられる。

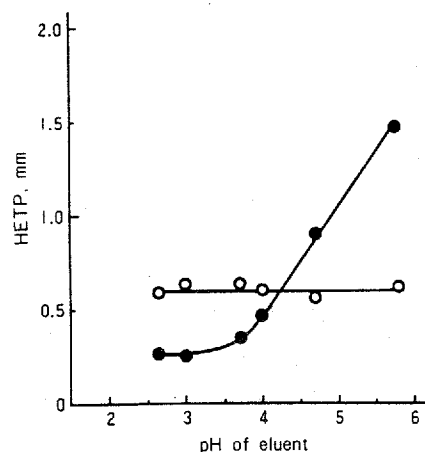


Fig. 2.17 Effect of pH of eluent on HETP of nitrate and nitrite ions using the long column

—○—Nitrate ion; —●—Nitrite ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.16

4 要約

本章では、水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎研究について検討した。すなわち、陰イオンを、分離カラム内の陽イオン交換反応により対応する酸として溶出させた後、この酸からの水素イオンを電量検出器により測定することによって分離、検出する方法を確立した。本法における種々の陰イオンの溶離挙動について詳しく研究した所、水を用いる溶離による種々の陰イオンの保持容量は、その酸の pK_1 に依存して増大し、本法の原理は、イオン排除作用に基づくゲルクロマトグラフィーであることが分かり、種々な陰イオンの分離過程を説明可能にすることができた。すなわち、 pK_1 に差のある陰イオンは、水を用いる溶離により分離可能であり、水を用いる溶離において、接近した pK_1 を有するために接近した保持容量を示す弱酸性陰イオンの分離は、水溶離液中にアセトンやジオキサンの様な低誘電率の有機溶媒を添加することによるその pK_1 の増大効果あるいは強酸の添加によるその解離度の減少効果を利用することにより効果的に分離を達成できることを見いだした。以上の様に、本法が弱酸性陰イオンの分離定量に対して有効な手段であることを明かにした。

1 電量検出器による陽イオンの検出

1. 1 まえがき

陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおいて、陽イオンは、対応する塩基として分離カラムから溶出されるので、この塩基を何らかの方法によりモニターすれば、陽イオンが間接的にモニター可能なことが予想される。Small ら(1)によるイオンクロマトグラフィーにおいては、溶離液除去カラムから溶出した陽イオンを、その塩基として導電率検出器によりモニターしている。しかしながら、この検出器は、高感度な検出器ではあるけれども、塩基の強さによりその当量導電率に依存して、その感度に変化するという短所を有するのに加へ、弱電解質成分の検量線の非直線性が問題となっている(9)。

そこで、本研究では、前章で述べた陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーとは逆の手法、すなわち、分離カラム内での陰イオン交換によって生成した塩基からの水酸化物イオンが検出できる電量検出法を開発し、これにより、陽イオンが間接的にモニターできる方法について検討した。すなわち、強塩基性および弱塩基性陽イオンを含む種々の無機および有機陽イオンに対する検出感度および検量線などの検出器応答特性についての検討を加えることにより、この電量検出法が、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーに対して適用可能なことを明かにすることを目的とした。

1. 2 実験

1. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフあるいはSpectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を用い、塩基からの水酸化物イオンを検出した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのおのの検出器からの信号により陽イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

1. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2632型強塩基性陰イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの水酸化ナトリウムにより水酸化物型とし、内径9mm×長さ550mmのジャケット付ガラスカラ

ムに充填して使用した。

反応液：本研究で用いた水酸化物イオンを検出するための電量検出器中の電解セルにおける作用極側に流入される反応液としては、前章で述べた水素イオンを検出するための電量検出法とは逆の組成である。すなわち、10 mM ハイドロキノン、1 mM p-ベンゾキノンおよび0.1 M 塩化カリウムから成る5%メタノール水溶液を用いた。

電解液：電量検出器における対極側に流入される電解液としては、0.5 M ヨウ化カリウム水溶液を用いた。

尚、以上の溶液は、電量検出器に内蔵されている送液ポンプにより、おのおの電解セル内の各電極に流入される。

陽イオンの標準溶液：陽イオンの標準水溶液 (1000 ppm) は、和光純薬製特級品の対応する塩基あるいはその塩 (塩化物および硫酸塩) から調製し、適宜希釈して使用した。

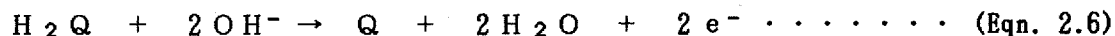
1. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5 ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、水を用いる溶離により各陽イオンのクロマトグラムを両検出器により得た。

1. 3 結果および考察

1. 3. 1 電量検出器による水酸化物イオンの検出

電量検出器における作用極に印加される電圧は、塩基からの水酸化物イオンとヒドロキノンの間の定電位電解反応における重要なファクターである。そこで、前章で述べた水素イオンを検出するための電量検出法における定電位電解反応とは逆の反応を用いて水酸化物イオンを検出した。すなわち、Eqn. 2.6に示した反応を利用して水酸化物イオンを検出する方法について検討した(23)。



ここに、 H_2Q はヒドロキノン、 OH^- は塩基からの水酸化物イオン、 Q はp-ベンゾキノン、 H_2O は水、 e^- は定電位電解反応によって移動した電子をおのおの示す。

試料として塩化ナトリウムを分離カラム内に注入し、水を用いる溶離による陰イオン交換により生成した水酸化ナトリウムからの水酸化物イオンについて、印加電圧と感度(ピーク面積)の間の関係を検討した。その結果、Fig. 2.18に示す様に、+0.45 V vs. 銀-ヨウ化銀において最大感度を示し、前章で述べた水素イオンとp-ベンゾキノンの間の定電位電解反応における最適印加電圧(+0.45V vs. 銀-ヨウ化銀)と一致し、本法においても水酸化物イオンがモニター可能なことを示した。Eqn. 2.6に示した関係から、この定電位電解反応において移動した電子の流れる方向は、前章で述べた水素イオンとp-ベンゾキノンの間のそれ(Eqn. 2.1)とは全く逆の関係にあるが、得られた結果も逆方向のシグナルを示した。以上の結果より、本法が陽イオン(ナト

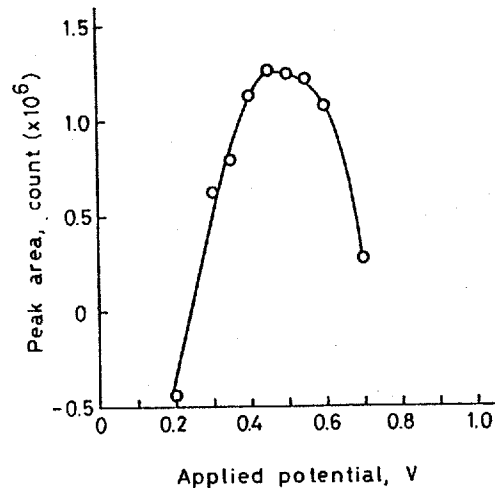
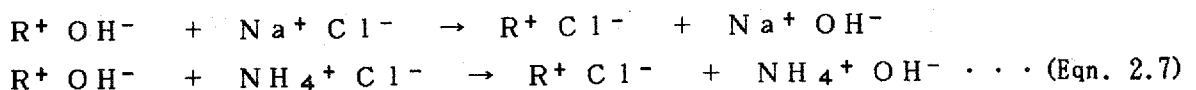


Fig. 2.18 Relationship between peak area and applied potential vs. Ag-AgI for the determination of sodium ion obtained with FCD for detecting hydroxide ion
 Column: Hydroxide-form anion exchange resin(9 mm i.d. x 550 mm long);
 Eluent: Water(1 ml/min); Column temp.: 50 ° C; Sample concn.: 100 ppm of sodium ion(sodium chloride); Sample volume: 0.1 ml; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.18

リウムイオン)を間接的にモニターする方法として有用であることが分かった。又、この検出法は、溶離液除去カラムとして水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる陽イオンのイオンクロマトグラフィーに対しても応用可能であり(24)、陽イオンを間接的にモニターする方法として有用であることが分かった。

1. 3. 2 陰イオン交換反応による塩基の生成

分離カラム内での陰イオン交換反応による塩基の生成が当量的に進行していることを確認するために、試料として塩化ナトリウムおよび塩化アンモニウムを用い、これらを分離カラム内におのおの注入し、電量検出器によりモニターした。Eqn. 2.7は、その陰イオン交換反応を示す。



ここに、R⁺は陰イオン交換樹脂、OH⁻は水酸化物イオン、Na⁺はナトリウムイオン、NH₄⁺はアンモニウムイオン、Cl⁻は塩化物イオンをおのおの示す。

その結果、Table 2.6に示す様に、両者共保持容量および感度(マイクロモルあたりのクロマトグラムのピーク面積)は一致し、両者がおのおの水酸化ナトリウムおよび水酸化アンモニウムに変換され、その水酸化物イオンがおのおのモニターされていることを示した。すなわち、陰イ

Table 2.6 Detector responses of sodium and ammonium ions

Detector	Relative peak area per micro mole		Ratio (Ammonium ion / Sodium ion)
	Sodium ion	Ammonium ion	
FCD	100	102.3	1.02
COND	100	20.09	0.20

オンの形態が異なっても、陰イオン交換反応が当量的に進行し、生成した塩基からの水酸化物イオンが電量検出器によりモニターされていることが分かった。

1. 3. 3 陽イオンの電量検出器応答

電量および導電率検出器によって得られた陽イオン（ナトリウムおよびアンモニウムイオン）の検出感度（マイクロモル当りのピーク面積）の比は、Table 2.6 に示す様に、電量検出法において1を、導電率検出法において0.2をおのおの示した。以上の結果は、イオン排除クロマトグラフィーと同様に陽イオンをその塩基として検出するイオンクロマトグラフィーにおいて用いられる導電率検出器が、弱塩基程(pK が大きい程) その検出感度がそれ自身の当量導電率に依存して低下する特性(9)を有していることとは対称的に、電量検出法においては、アンモニウムイオンの様な弱塩基性陽イオンの検出感度がナトリウムの様な強塩基性の陽イオンと同じである点で極めて有効であることを示すものである。以上述べた様に、水酸化物イオンを検出する電量検出法は、前章で述べた水素イオンを検出するそれと同様に、イオン排除クロマトグラフィーにおける極めて有用な検出法であることを認めた。

1. 3. 4 陽イオンの検量線

電量および導電率検出器によるアンモニウムイオンの濃度と検出器応答の関係（検量線）を検討した。電量検出器と導電率検出器についての比較は10から100 ppmの濃度範囲で行った。得られた結果は、Fig. 2.19に示す様に、導電率検出器によって得られた検量線（ピーク高さおよびピーク面積法）が、アンモニウムイオンの濃度の増大により傾斜し、共に非直線性を示した。これは、分離カラム内で生成した水酸化アンモニウムが弱塩基であるため、その解離度が濃度の増大により減少し、その結果として導電率が減少することに起因するものである。

しかしながら、電量検出器によって得られた検量線は、良好な直線性を示した。これは、水酸化アンモニウムが弱い塩基であるにもかかわらず、電量検出器における水酸化アンモニウムからの水酸化物イオンとヒドロキソンの間の定電位電解反応が化学量論的に進行していることを示すものである。これは、電量検出器の際立った特長である。尚、ナトリウムイオンの様な強塩基性陽イオンの検量線は、両検出器共良好な直線性を示した。

以上の結果は、前章で述べた炭酸水素イオンの様な弱酸性陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける電量検出器の有用性と同様に、アンモニウムイオンの様な弱塩基性陽イオンのイ

オン排除クロマトグラフィーにおける電量検出器の有用性を示すものである。

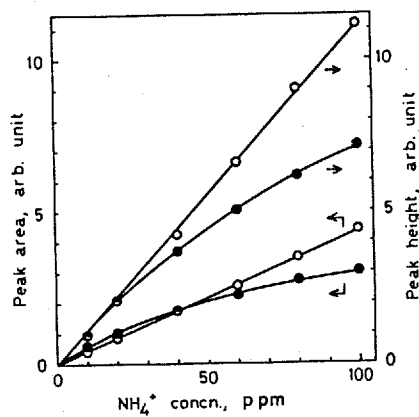


Fig. 2.19 Calibration curves of ammonium ion obtained with FCD and COND

—○— FCD; —●— COND

2 水溶離液による陽イオンの溶離挙動

2. 1 まえがき

陽イオンを、水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いてその対応する塩基として水を用いる溶離により溶出させた時、水酸化物イオンを検出する電量検出器によってモニターできることは、前章において述べた。

そこで、本報告では、水を用いる溶離による種々の強塩基性および弱塩基性の無機および有機陽イオンの溶離挙動について詳細に検討することにより、本法における陽イオンの分離機構を明かにすることを目的とした。

2. 2 実験

2. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフあるいはSpectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を用い、塩基からの水酸化物イオンを検出した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのこの検出器からの信号により陽イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

2. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2632型強塩基性陰イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの水酸化ナトリウムにより水酸化物型とし、内径9mm×長さ550mmのジャケット付ガラスカラムに充填して使用した。

陽イオンの標準溶液：陽イオンの標準水溶液（1000ppm）は、和光純薬製特級品の対応する塩基あるいはその塩（塩化物および硫酸塩）から調製し、適宜希釈して使用した。

2. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、水を用いる溶離により各陽イオンのクロマトグラムを両検出器により得た。

2. 3 結果および考察

2. 3. 1 無機陽イオンの保持容量

種々な強塩基性および弱塩基性の無機陽イオンを、その塩として水酸化物型陽イオン交換樹脂カラム内に注入して水を用いる溶離によりその塩基として溶離し、電量および導電率検出器によりおのおのクロマトグラムを得た。得られた陽イオンの保持容量をTable 2.7 に示す。得られた結果は、リチウム、ナトリウムおよびカリウムイオンの様に、それらの塩基が強塩基であるために水中で完全にイオン化している強塩基性陽イオンの保持容量が、ほとんど13.0 ml を示し、これがカラムパラメーター V_0 であることを示した。一方、カルシウム、マグネシウムおよびアンモニウムイオンの様に、そのpKがおのおの 1.3, 2.6 および4.7 を有する弱塩基性陽イオンは、それらの塩基が弱塩基であるために水中で不完全にイオン化しているため、その保持容量はpKに依存して増大し、13.32, 14.72および17.22 mlをおのおの示した。

以上の結果は、陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーと同様に、陽イオンの保持容量が、その塩基の強さ、すなわち、その塩基の解離定数(pK)に依存することを示唆するものである。

Table 2.7 Retention volumes of cations by elution with water

Cation	Retention volume(ml)
Lithium ion	13.01
Sodium ion	13.05
Ammonium ion	17.22
Potassium ion	13.15
Rubidium ion	13.23
Cesium ion	13.32
Beryllium ion	ND
Magnesium ion	14.72
Calcium ion	13.31
Strontium ion	13.71
Barium ion	14.50
Cupric ion(II)	ND
Nickel ion(II)	ND
Chromium ion(III)	ND
Ferric ion(III)	ND

ND: Not detected with FCD and COND

2. 3. 2 有機陽イオンの保持容量

有機陽イオンとして脂肪族アミンイオンを、水酸化物型陽イオン交換樹脂カラム内に注入して

水を用いる溶離により分離し、電量検出器および導電率検出器によりおのおのクロマトグラムを得た。これら陽イオンの保持容量をTable 2.8 に示す。これら脂肪族アミンイオンのpKは、3.1から3.4 とほぼ同様な値を有するが、保持容量は17.3 ml (メチルアミンイオン) から76.0 ml (n-ヘプチルアミンイオン) と大きく増大することを示した。

メチルアミンイオン(pK:3.4)の保持容量は、カラムパラメーター V_0 より大きい値を示したので、メチルアミンイオンからの水酸化物イオンと陰イオン交換樹脂中の第四級アンモニウム基からの固定水酸化物イオンの間でのイオン排除作用がこの分離に関して支配的であることが考えられたが、高級アミンイオンの保持容量は、メチルアミンイオンとそのpKに大きな差がないにもかかわらず、その分子量の増大(疎水性の増大)に依存して増大したので、この分離機構に関しては、イオン排除作用よりはむしろ疎水性の差に基づくイオン交換樹脂への吸着作用に依存する様に思えた。したがって、この溶離により得られたおのおのクロマトグラムのピーク高さは、高級脂肪族アミンイオンになるほど減少し、n-オクチルアミンにおいては、その吸着により最早ピークが認められなかった。以上の結果は、脂肪族アミンイオン、特に、高級脂肪族アミンイオンの分離機構が吸着クロマトグラフィーであることを示唆する。以上と同様な結果は、前章で述べた水素型陽イオン交換樹脂によるイオン排除クロマトグラフィーにおける副作用としての疎水性の差を利用した吸着クロマトグラフィーによる高級脂肪族カルボン酸イオンの分離においても認められている(10)。したがって、疎水性を有する高級脂肪族アミンイオンの溶離は、これに対する溶解度を増大させることによって可能と思われた。

Table 2.8 Retention volume of aliphatic amines by elution with water

Amine	Retention volume(*1) (ml)	pK (25° C)
Methylamine (MeA)	17.3	3.4
Ethylamine (EtA)	17.4	3.4
Diethylamine (Et ₂ A)	18.0	3.1
Triethylamine (Et ₃ A)	21.5	3.1
n-Propylamine (PrA)	19.3	3.5
iso-Propylamine (i-PrA)	18.3	3.4
n-Butylamine (BuA)	23.6	3.4
n-Amylamine (AmA)	30.0	3.4
n-Hexylamine (HxA)	49.5	3.4
n-Heptylamine (HpA)	76.0	3.4
n-Octylamine (OctA)	--- (*2)	3.4

*1 Column void volume(V_0):13.0ml

*2 n-OctA was absorbed onto the anion exchange resin column

3 有機溶媒-水溶離液による陽イオンのイオン排除分離

3. 1 まえがき

前章において、接近した保持容量を示す弱酸性の陰イオンの分離は、有機溶媒-水溶離液による水素型陽イオン交換樹脂を用いるイオン排除クロマトグラフィーにより達成できることを述べた。

そこで、本研究では、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける強塩基性陽イオンであるナトリウムイオンと、弱塩基性陽イオンであるアンモニウムおよび脂肪族アミンイオンの分離におけるカラム温度および溶離液組成（アセトン-水、ジオキサソ-水）についておのおの検討し、これらの溶離挙動を明かにすることを目的とした。

3. 2 実験

3. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフあるいはSpectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を用い、水酸化物イオンを検出した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのおのの検出器からの信号により陰イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

3. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2632型強塩基性陽イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの水酸化ナトリウムにより水酸化物型とし、内径9mm x 長さ550mmのジャケット付ガラスカラムに充填して使用した。

陽イオンの標準溶液：陽イオンの標準水溶液（1000 ppm）は、和光純薬製特級品の対応する塩基あるいは塩（ナトリウムおよびカリウム塩）から調製し、適宜希釈して使用した。

有機溶媒：和光純薬製特級品のアセトンおよびジオキサソを用い、蒸留水中にこれらを適当な濃度に溶解し、溶離液とした。

3. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1 ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、おのおのの検出器により各陽イオンのクロマトグラムを得た。

3. 3 結果および考察

3. 3. 1 無機陽イオンの保持容量におけるカラム温度の影響

ナトリウムおよびアンモニウムイオンの保持容量におけるカラム温度の影響について 20 から 60° C の温度範囲で検討した。その結果、両陽イオンの保持容量は、ほとんど一定であり、カラム温度の増大によって影響を受けないことが分かった。

3. 3. 2 脂肪族アミンイオンの保持容量におけるカラム温度の影響

脂肪族アミンイオンの保持容量におけるカラム温度の影響を30から60° C の温度範囲で検討した。その結果、Fig. 2.20 に示す様に、脂肪族アミンイオンの保持容量は、カラム温度の増大により、ヘキシルおよびヘプチルアミンイオンにおいてわずかに減少する傾向を示したが、オクチルアミンイオンについてはイオン交換樹脂への吸着によりピークを検出することができず、この方法の限界を示した。

そこで、以下の実験では、陰イオン交換樹脂の熱的安定性を考慮して、特にことわらない限りカラム温度30° C で行った。

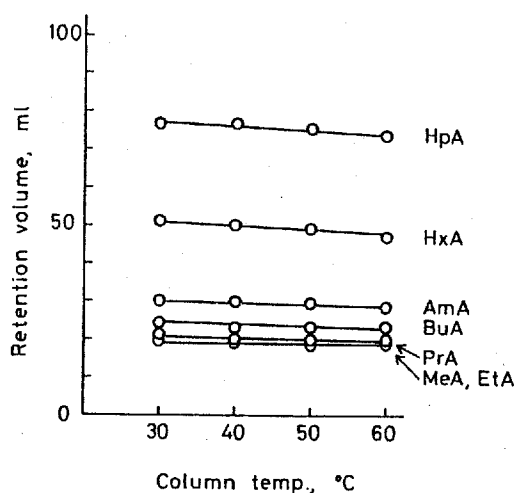


Fig. 2.20 Effect of column temp. on retention volumes of amines

The chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.18

* n-Octylamine(OctA) was absorbed onto the column

3. 3. 3 無機陽イオンの保持容量における溶離液中の有機溶媒の影響

ナトリウムおよびアンモニウムイオンの保持容量における溶離液中の有機溶媒（アセトンおよびジオキサン）の影響を検討するために、その濃度をおのおの0 から70%の濃度範囲で変化させた。その結果、Fig. 2.21 に示す様に、ナトリウムおよびアンモニウムイオンの保持容量は、両者共溶離液中のアセトンおよびジオキサンの濃度の増大により増大した。この増大の程度は、ナトリウムイオンよりもアンモニウムイオンの方が大きかった。これは、アセトンの濃度の増大により、アンモニウムイオンが弱塩基性の陽イオンであるためにそのpKが増大し、それによって保

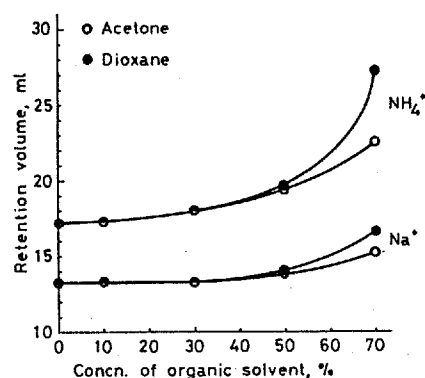


Fig. 2.21 Effect of concn. of organic solvents on retention volumes of sodium and ammonium ions

The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.18

持容量が増大したものと考えられる。したがって、アンモニウムイオンの保持容量の増大効果はアセトン-水溶離液よりも誘電率が小さくそのpKの増大効果の大きいと考えられるジオキサ-水溶離液において大きかった。

一方、溶離液中のアセトンおよびジオキサンの濃度の増大によるナトリウムイオンの保持容量の増大効果は、ナトリウムイオンが強塩基性陽イオンなので、前述のアセトンおよびジオキサンの濃度の増大によるアンモニウムイオンの保持容量の増大の結果とは異なり、ナトリウムイオンのpKの増大によるものとは考えにくいので、前章で述べた有機溶媒-水溶離液による縮合リン酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける結果と同様に、副作用としての陰イオン交換樹脂の近傍で起きる溶離液組成の違いに起因する陽イオンの移動相と固定相間での分配作用によるものと考えられる(18,19)。

3. 3. 4 脂肪族アミンイオンの保持容量における溶離液中の有機溶媒の影響

脂肪族アミンイオンの保持容量における溶離液中の有機溶媒（アセトン）の影響を0から40%の濃度範囲で検討した。その結果、脂肪族アミンイオンの保持容量は、Fig. 2.22 に示す様に、アセトンの濃度の増大によりほぼ直線的に減少した。この増大の程度は、高級脂肪族アミンイオンの方が低級のそれよりも大きかった。すなわち、この結果は、前述したアンモニウムイオンの保持容量が溶離液中のアセトンの濃度のよって増大することとはまったく逆の結果を示すものである。以上の結果は、脂肪族アミンイオンの陰イオン交換樹脂への吸着作用を示すものであり、溶離液中アセトンの濃度の増大により、その溶離液に対する高級脂肪族アミンイオンの溶解度が増大した結果と考えられた。

3. 3. 5 アセトン-水溶離液による脂肪族アミンイオンの相互分離

カラム温度30°C, 20%アセトン-水の溶離条件下で、メチルアミン, エチルアミン, プロピ

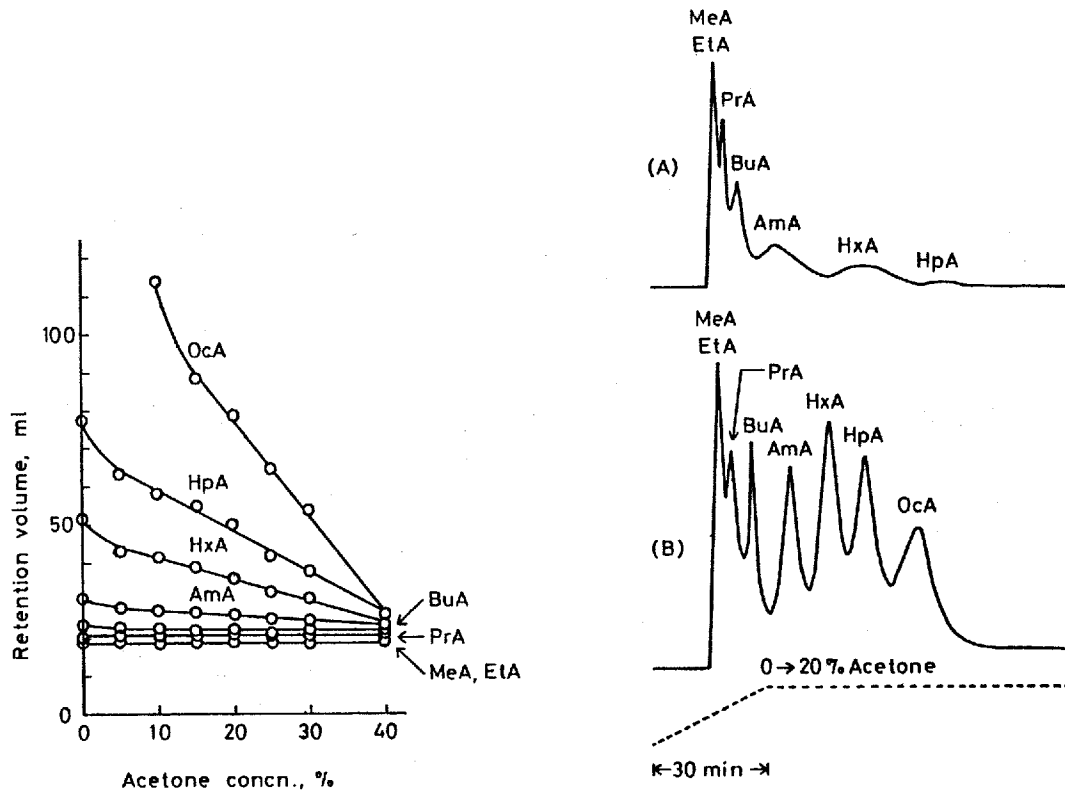


Fig. 2.22 Effect of acetone concn. on retention volumes of amines

The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.18

Fig. 2.23 Chromatograms of the mixture of n-alkyl amines

(A) Isocratic elution method(water); (B) Gradient elution method(acetone-water); The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.18

ルアミン, ブチルアミン, アミルアミン, ヘキシルアミン, ヘプチルアミンおよびオクチルアミンイオンの混合物の相互分離を, 均一溶離法および勾配溶離法により行い, 両法を比較した. 得られたクロマトグラムをFig. 2.23 に示す. 水溶離液だけを用いる均一溶離法によって得られたクロマトグラムは, ヘプチルアミンイオンまでの分離を示したが, それよりも更に疎水性の大きいオクチルアミンイオンは, それが陰イオン交換樹脂に吸着されるためにピークは検出されなかった. しかしながら, 20%アセトン-水溶離液を用いる勾配溶離法によるクロマトグラムは, ヘプチルアミンイオンのこの溶離液に対する溶解度の増大により, そのピークは検出され, ヘプチルアミンイオンまでの良好な分離を示した.

4 要約

本章においては、水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる陽イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎について研究を遂行した。すなわち、陽イオンを、分離カラム内での陰イオン交換反応により対応する塩基として溶出させた後、この塩基からの水酸化物イオンを電量検出器を用いて測定することにより、分離、検出する方法を確立した。本法における種々の陽イオンの溶離挙動についても詳細に検討した結果は、陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおけると同様に、 pK の違いにより、弱塩基性陽イオン、たとえば、アンモニウムイオンが強塩基性陽イオン（ナトリウムおよびカリウムイオン）からイオン排除によって分離が可能なことを示した。更に、脂肪族アミンイオンの様に疎水基を有する陽イオンは、イオン排除作用よりはむしろ疎水性の違いを利用した吸着クロマトグラフィーにより、これらの相互分離が可能なることを明かにした。以上の結果により、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける弱塩基性陽イオンの溶離挙動に関する基礎的知見を得ることができ、本法が弱塩基性陽イオンの分離定量に対して有効な手段であることを認めた。

文献

- 1) H. Small, T. S. Steavens, and B. C. Bauman: *Anal. Chem.*, 47, 1801 (1975).
- 2) "Ion Chromatographic Analysis of Environmental Pollutants", Vol. 1 (Ed. by E. Sawicki, J. D. Mulik, and E. Wittgenstein), (1978), (Ann Arbor).
- 3) "Ion Chromatographic Analysis of Environmental Pollutants", Vol. 2 (Ed. by J. D. Mulik and E. Sawicki), (1979), (Ann Arbor).
- 4) 田中 一彦: "イオンクロマトグラフィー" (武藤 義一, 及川 紀久雄編) p.78 (1983), (講談社).
- 5) "Ion Chromatography", J. S. Fritz, D. J. Gjerde, and C. Pohlant, (1982), (Huthig).
- 6) R. M. Wheaton and W. C. Bauman: *Ind. Eng. Chem.*, 45, 228 (1953).
- 7) R. M. Wheaton: *Chem. Eng. Progr.*, 52, 425 (1956).
- 8) W. C. Rich, F. Smith, Jr., L. Macneil, and T. Sidebottom: 文献3)のp.17.
- 9) S. A. Bouyoucos: *Anal. Chem.*, 49, 401 (1977).
- 10) 高田 芳矩, 有川 喜次郎: *分化*, 23, 1522 (1973).
- 11) Y. Takata and G. Muto: *Anal. Chem.*, 45, 1864 (1983).
- 12) J. E. Girard: *Anal. Chem.*, 51, 836 (1979).
- 13) D. Saunders and R. H. Pocsok: *Anal. Chem.*, 40, 44 (1968).
- 14) P. Jandera and J. Churacek: *J. Chromatogr.*, 86, 351 (1973).
- 15) 藤代 亮一, 和田 悟郎, 玉虫 伶太: "溶液の性質", II, 現代物理化学講座 8巻, p.12 (1968), (東京化学同人).
- 16) G. P. Srivastava and V. P. Vashini: *Z. Anal. Chem.*, 213, 30 (1960).
- 17) Beukenkamp, W. Rieman, and S. Lindenbaum: *Anal. Chem.*, 26, 505 (1954).

- 18) O. Samuelson, "Ion Exchange Separations in Analytical Chemistry", p.138 (1963),
(Amqvist and Wisksell).
- 19) E. Martinsson and O. Samuelson: J. Chromatogr., 50, 429 (1970).
- 20) J. Slanina, W. A. Lingerak, and L. Bergman: Z. Anal. Chem., 80, 365 (1976).
- 21) V. T. Turkelsen and M. Richards: Anal. Chem., 50, 1420 (1979).
- 22) M. Richards: J. Chromatogr., 115, 259 (1975).
- 23) J. C. Abbott and J. W. Collat: Anal. Chem., 35, 859 (1963).
- 24) 田中 一 彦, 石原 豊, 中嶋 邦雄 : 分化, 32, 439 (1983).

第一章 緒言

第二編で述べたごとく、種々な陰イオンと陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーに関する分析化学的基礎研究を遂行して、陰イオンおよび陽イオンの分離分析法を確立したので、これを富栄養化成分の排水処理工程に応用した。

BOD成分の処理は、活性汚でいを用いる生物学的処理法によって行われている。この処理法は、活性汚でい中に含まれるBOD酸化菌の作用により、BOD成分を好氣的に同化させると共に、これを水と炭酸ガスにまで分解して処理する方法に基づいている。したがって、この処理工程の自動計測管理法(1,2,3)においては、BOD成分が水と炭酸ガスに酸化分解されるまでの過程における有機酸イオンの挙動を把握することが必要である。

無機態窒素化合物の処理は、そのほとんどがBOD処理と同様に活性汚でいを用いることによる生物学的硝化-脱窒素処理法(4,5)により行われている。この方法は、炭酸水素イオンの存在下で、活性汚でい中に含まれる硝化菌の作用により、種々の排水中に含まれるアンモニウムイオンを、好氣的条件下で亜硝酸イオンあるいは硝酸イオンにまで酸化させた後、脱窒素菌の作用により、水素供与体の存在下でこの両者を嫌氣的条件下で窒素ガスにまで還元して処理する方法に基づいている。したがって、この処理工程の自動計測管理法(6,7)においては、おのおのの処理工程水中のアンモニウム、炭酸水素、亜硝酸および硝酸イオンなどの迅速で高感度な自動計測が必要である。

無機態リン化合物の処理は、主として無機凝集剤(塩化鉄、塩化アルミニウムなど)を用いる凝集沈澱法(8,9)により行われている。この方法は、リン酸イオンを水に不溶なリン酸鉄あるいはリン酸アルミニウムとして沈澱させた後、固液分離を行って処理する方法に基づいている。したがって、この処理工程の自動計測管理法(10)においては、リン酸鉄あるいはリン酸アルミニウムの沈澱を適正に生成させるために、リン酸イオンを自動計測して、これに対応した上述の無機凝集剤を化学量論的に添加し、脱リン処理工程を適正に管理することが必要である。

そこで、第三編においては、以上述べた処理工程水中における陰イオンおよび陽イオンの定量を、電量および紫外吸光検出器を用いる陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにより自動計測する方法について研究した。本研究の目的は、これらのイオン排除クロマトグラフィーが、生物学的BOD処理工程水中の脂肪族カルボン酸イオン、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の炭酸水素、亜硝酸、硝酸およびアンモニウムイオン、脱リン処理工程水中のリン酸イオン、都市下水および都市河川水中のこれら陰イオンおよび陽イオンを迅速に分離定量するための水質自動計測法として有用であることを明らかにすることにある。

第二章 BOD 処理工程水への応用

1 水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる n-ブタノールの活性汚でい処理工程水中の脂肪族カルボン酸イオンの分離定量

1. 1 まえがき

活性汚でいによるBOD成分の処理を円滑、適正な状態で管理するためには、その処理工程の計測管理が必要であり、著者らはすでにDO、ORPおよび温度を計測し、管理する方法についてかなりの知見を得てきた(1,2,3)。しかしながら、排水の負荷変動、阻害物質の混入などにより、しばしば異常な状態がみられるので、処理工程を適正に管理するためには、上記測定項目外に活性汚でいによるBOD成分の分解過程を検討する必要があると考へ、BOD成分である有機系排水の活性汚でいによる分解過程に生成する中間体としての有機酸イオンの挙動について着目した。

そこで、モデル的なBOD成分としてn-ブタノールを選び、活性汚でいによる好氣的な分解過程時において、適正なDO状態、DO欠乏状態および二、三の阻害物質が添加された状態での有機酸イオンの挙動について検討した。活性汚でいによるn-ブタノールの生物分解は、適正なDO存在下では、その β 酸化によりn-酪酸および酢酸イオンなどのカルボン酸イオンの生成が考えられるので(11)、第二編第二章で述べた水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーにより分離定量する方法についての検討を行った。

本報告では、低級脂肪族カルボン酸イオンの分離条件、検量線、検出限界、再現性、更にはn-酪酸イオンをイオン排除によって分離する際に妨害となる炭酸水素イオンの除去のための前処理法を検討した後、種々の生物分解条件下での実際試料に対して本法を応用した結果について述べる。

1. 2 実験

1. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器を用い、酸からの水素イオンを検出した。

記録計：日立製056型記録計を用いた。

インテグレーター：タケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、電量検出器からの信号により陰イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

ガスクロマトグラフ：日立製F-6型ガスクロマトグラフを用い、活性汚でい水中の未分解のn-ブタノールを定量した。

1. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陽イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの硫酸により水素型とし，内径9mm x 長さ500mmのジャケット付ガラスカラムに充填して使用した。

カルボン酸イオンの標準溶液：ギ酸，酢酸，*n*-プロピオン酸および*n*-酪酸イオンの標準水溶液(0.1M)は，和光純薬製特級品の対応する酸から調製し，適宜希釈して使用した。

1. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.5ml容量のループインジェクターを用いて，メンブランフィルター(0.22 μm)によりろ過された実際試料を分離カラム内に注入し，1ml/minの溶離液流量下で各カルボン酸イオンを55°Cで溶離し，電量検出器によりクロマトグラムを得た。

1. 2. 4 生物分解に用いた装置

都市下水処理場からの活性汚でいを，常法(1)により順養した後，Fig. 3.1に示す装置を用いて*n*-ブタノールの生物分解を行い，適宜，試料を採取し，分析に供した。

Table 3.1に*n*-ブタノールの生物分解条件を示す。生物分解条件(1)と(2)では，Fig. 3.1に示したマグネチックスターラーによりかくはんが行われ，それにより液表面から酸素が供給される。特に，生物分解条件(2)においてはその中に*n*-ブタノールの添加後，2時間目に阻害物質（銅イオン，ホルムアルデヒドおよびシアン化物イオン）がおのおの添加された。生物分解条件(3)は，生物分解条件(1)および(2)に比べてマグネチックスターラーによるかくはん速度が低く，酸素の供給はわずかである。生物分解条件(4)は，*n*-ブタノールの添加後，マグネチックスターラーによるかくはんをストップさせたもので，ほとんど酸素が供給されない条件である。

Table 3.1 Biodegradation conditions of *n*-butanol

Biodegradation condition No.	Biodegradation condition		Inhibitor(ppm)		
	DO(ppm)	MLSS(ppm)	Cupric ion	Formaldehyde	Cyanide ion
1	2	2370	---	---	---
2	2	2370	2	---	---
2	2	2370	---	250	---
2	2	2370	---	---	10
3	ND	3870	---	---	---
4	ND	1580	---	---	---

Concentration of *n*-butanol: 1000 ppm, DO: Dissolved oxygen, MLSS: Mixed liquor suspended solid, ND: Not detected by DO sensor

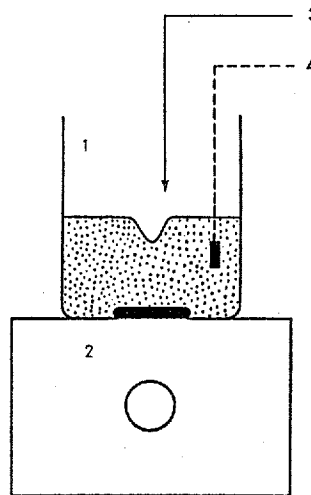


Fig. 3.1 Apparatus for biodegradation of n-butanol

(1) Aeration vessel(500 ml); (2) Magnetic stirrer; (3) Loading(100 ppm n-butanol); (4) Sensor(DO, pH)

1. 3 結果および考察

1. 3. 1 脂肪族カルボン酸イオンの分離

Takataら(12)は、溶離液として10%メチルセロソルブ-水を用いて脂肪族カルボン酸イオンの分離を行っているが、ここではメチルセロソルブ-水溶離液におけるメチルセロソルブ濃度とカラム温度の影響について更に詳しく検討した。その結果、5%メチルセロソルブ-水溶離液が最も良好な分離を示した。得られた結果をFig. 3.2に示す。

カラム温度の影響については20から80°Cの温度範囲で検討した所、得られたクロマトグラムには大きな変化が認められなかった。したがって、以下の実験では、水素型陽イオン交換樹脂の熱的安定性を考慮して特にことわらない限りカラム温度55°Cで行った。

1. 3. 2 検量線

ギ酸、酢酸、n-プロピオン酸およびn-酪酸イオンの電量検出器による検量線について検討した。酢酸イオンの検量線は、Fig. 3.3に示す様に、10から1000 ppmの濃度範囲で良好な直線性が得られた。酢酸イオンの1000 ppm以上における検量線の傾斜は、それが高濃度のために電解効率が低下したためと考えられる。尚、他のカルボン酸イオンについても酢酸イオンと同様な検量線が得られた。

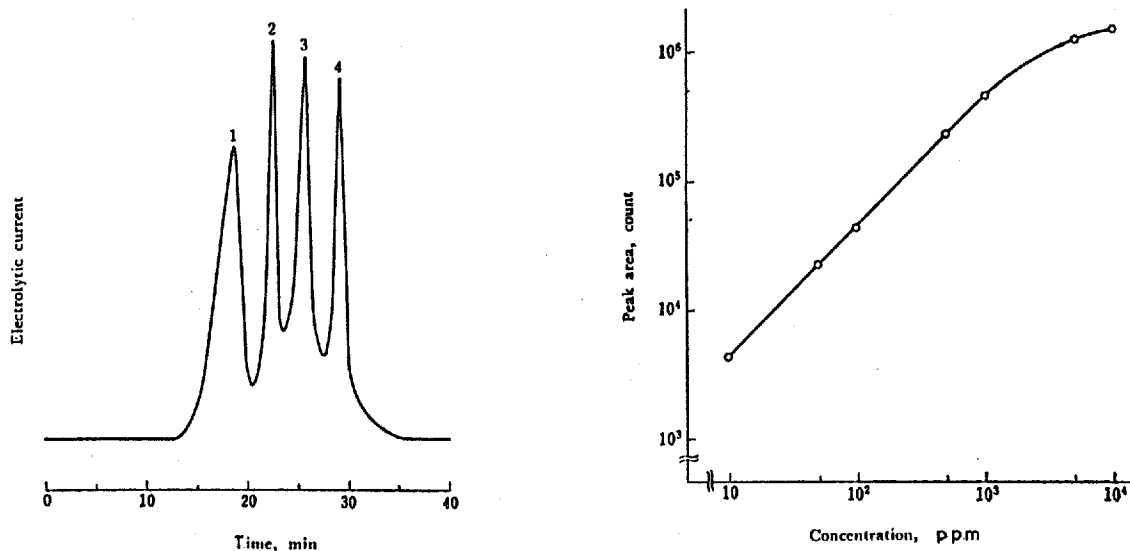


Fig. 3.2 Chromatogram of several carboxylic acid anions in authentic mixture obtained with FCD

Eluent: 5 % methylcellosolve-water(1 ml/min); Column: Hydrogen-form cation exchange resin(9 mm i.d. x 500 mm long); Sample volume: 0.5 ml; Sample concn.: 1-2 mM; (1) Formate ion; (2) Acetate ion; (3) Propionate ion; (4) Butyrate ion

Fig. 3.3 Calibration curve of acetate ion obtained with FCD

The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.2

1. 3. 3 検出限界

送液ポンプの脈流に起因する電量検出器からのシグナルのバックグラウンドノイズをデジタルインテグレーターにより測定した所、約100 カウントあったので、300 カウントに相当する量を検出限界とした(S/N=3)。その結果、酢酸イオンについての検出限界は約 0.5 μ g (1 ppm) であり、満足すべき結果であった。

1. 3. 4 再現性

酢酸イオンの100 ppm 注入時において電量検出器により得られたクロマトグラムのピーク面積の再現性は、変動係数1.36% (n=6) であり、満足すべき結果であった。

1. 3. 5 炭酸水素イオンの除去

n-ブタノールが添加されていない試料を分離カラム内に注入した所、Fig. 3.4に示す様なクロマトグラムが得られた。Fig. 3.4中のピークは、n-ブタノールが添加されていないので、カルボン酸イオンによるものとは考えにくい。そこで、本実験では水道水として井水を使用したので、試料としてこの井水を分離カラム内に注入した所、Fig. 3.4とほぼ同様なクロマトグラムが

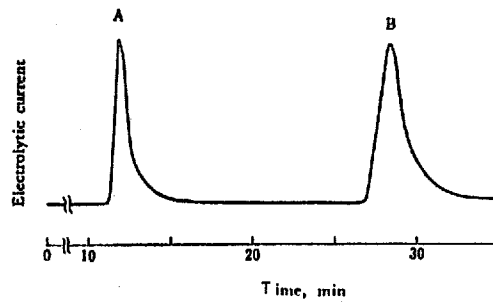


Fig. 3.4 Chromatogram of filtrate from activated sludge water under the conditions of no loading

(A) Strong acid snions such as chloride, sulfate, and nitrate ions; (B) Bicarbonate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.2

Table 3.2 Removal of bicarbonate ion from prepared samples

Prepared sample	Concentration(ppm)	Peak area(count)	
		No treated	Treated(*)
Bicarbonate ion	100	28785	0
n-Butyrate ion	100	38436	37929
Bicarbonate ion + n-Butyrate ion	100+100	67126	38083

* Acidified with 10 mM hydrochloric acid and bubbled for 3 min with nitrogen

得られた。したがって、これらのピークは、分離カラム内での陽イオン交換によって生成した酸のクロマトグラム、すなわち、陰イオンのイオン排除クロマトグラムであることを示すものである。Fig. 3.4のAのピークは、井水中に含まれる塩化物および硫酸イオンの様な強酸性陰イオンのピーク、Bのピークは極めて弱い酸の陰イオンである炭酸水素イオンのピークであることが分かった。しかしながら、炭酸水素イオンのピークはn-酪酸イオンのそれと重なるので、n-酪酸イオンの分離定量においては炭酸水素イオンを前もって除去する必要があることが分かった。

そこで、炭酸水素イオンを除去するための方法として、Schafferら(13)による方法について検討した。すなわち、試料を塩酸によりpH2から3にした後、遊離した炭酸ガスを窒素ガスによりバージすることにより炭酸水素イオンを除去した。得られた結果を、Table 3.2に示す。この操作により、炭酸水素イオンのほぼ100%が除去できた。この時、n-酪酸イオンは窒素ガスバージによるその濃度の減少が認められなかったが、低沸点を有するギ酸、酢酸およびn-プロピオン酸イオンはその減少が認められたので、これらの定量は炭酸水素イオンを除去する前に行った。

1. 3. 6 種々の生物分解条件下におけるカルボン酸イオンの定量

Table 3.1 に示した生物分解条件下で、各カルボン酸イオンの定量をイオン排除クロマトグラフィーにより行った。得られた結果をFig. 3.5に示す。

生物分解条件(1)において、1000 ppmになる様に添加したn-ブタノールの生物分解時間は、Fig. 3.5のAに示す様に、約7時間を要し、この間カルボン酸イオンは活性汚でのろ液中には認められなかった。これは、生物分解反応が極めて迅速に進行し、n-ブタノールが最終生成物である水と炭酸ガスに分解されていることを示唆した。

生物分解条件(2)においては、(1)の条件下で阻害物質として銅イオン、ホルムアルデヒドおよびシアン化物イオンをおのおの添加したが、銅イオンを、2 ppmになる様に添加した場合は、Fig. 3.5のBに示す様に、その添加後約1時間目で酢酸およびn-酪酸イオンが認められ、生物分解時間の経過と共にその濃度は増大した。このことは、銅イオンの阻害作用と考えられ、したがって、n-ブタノールの分解時間も生物分解条件(1)の7時間から20時間と約3倍もの長時間を要した。

ホルムアルデヒドを250 ppmになる様に添加した場合は、Fig. 3.5のCに示す様に、ギ酸およびn-酪酸イオンの生成が認められた。ギ酸イオンの生成は、ホルムアルデヒドの生物酸化によるものと考えられ(11)、n-ブタノールがろ液中に認められない時点においてもギ酸およびn-酪酸イオンが認められるので、ホルムアルデヒドの阻害作用と考えられる。尚、10 ppmのシアン化物イオンの存在においては、生物分解条件(1)と同様に、カルボン酸イオンの生成が認められず、阻害作用のないことを示した。

生物分解条件(3)は、n-ブタノールの生物酸化に必要なDOが不足している状態であり、この様な条件下ではFig. 3.5のDに示す様に、酢酸およびn-酪酸イオンを認めた。この時、DOが少ないため、n-ブタノールの生物分解時間は約3倍に増大した。

生物分解条件(4)は、酸素の供給が極端に少ない生物分解条件であり、この様な条件下ではn-ブタノールはほとんど分解されず、生物分解容器の底部に沈降した活性汚での自己分解による低級カルボン酸イオンの生成を約3日目から認めた。ここで生成したカルボン酸イオンは、Fig. 3.5のEに示す様に、酢酸、n-プロピオン酸およびn-酪酸イオンであり、本実験とほぼ同様な分解条件であるメタン発酵において認められる低級脂族カルボン酸イオンと同様な結果であった(14)。

以上述べた様に、水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーは、n-ブタノールの生物分解過程中的低級脂肪酸イオンの分離定量法として有用であることが分かった。

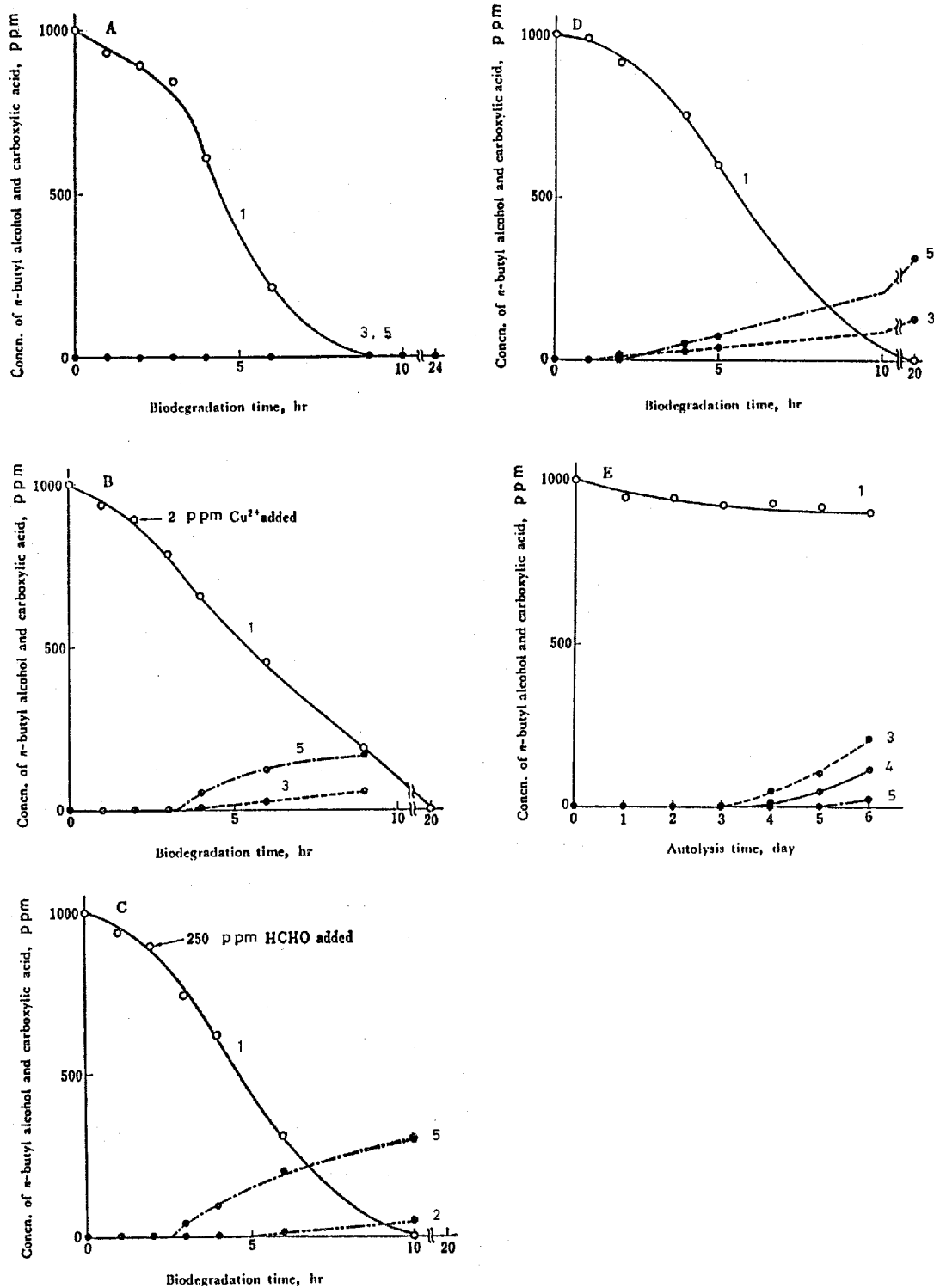


Fig. 3.5 Biodegradation curves for n-butanol

(A): Biodegradation condition(1); (B) and (C): Biodegradation condition(2); (D): Biodegradation condition(3); (E): Biodegradation condition(4); (1) n-Butanol; (2) Formate ion; (3) Acetate ion; (4) n-Propionate ion; (5) n-Butyrate ion; The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.2

* n-Butanol was determined by gas chromatography

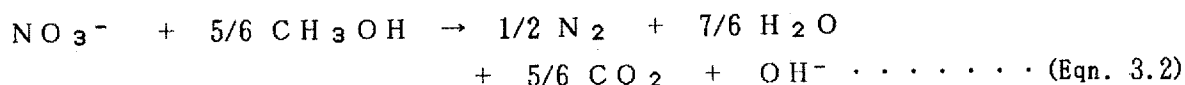
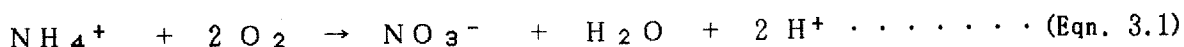
2 要約

有機性の水質汚濁物質のBOD成分を活性汚でい法により適正に処理するためには、その処理工程の自動計測管理法の確立が必要であり、その研究の一環として、基質としてn-ブタノールを選び、種々な生物分解条件下、たとえば、適正なDO濃度が存在する場合、DO濃度が極めて低い場合および銅イオン、シアンイオンおよびホルムアルデヒドの様な活性汚でいに対する阻害物質が存在する場合の影響を研究するため、n-ブタノールの代謝生産物である脂肪族カルボン酸イオン（ギ酸、酢酸、n-プロピオン酸およびn-酪酸イオン）の分離定量を、水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーにより遂行した。その結果、上述の脂肪族カルボン酸イオンは、本法により迅速に分離定量が可能であることが分かり、BOD処理工程におけるカルボン酸イオンの動態を明かにすることができ、本法が、BOD処理工程の円滑、適正な運転のための管理指標となりうることを見いだした。

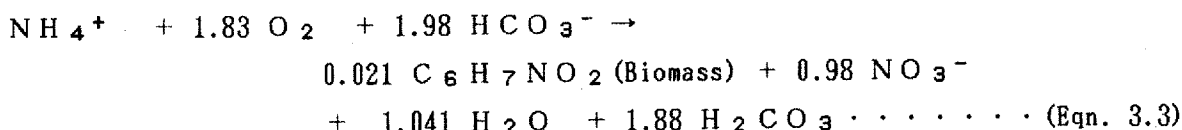
1 水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の炭酸水素イオンの定量

1. 1 まえがき

種々な排水中に含まれる無機態窒素化合物の処理は、そのほとんどがBOD成分の処理と同様に活性汚でいを用いることによる生物学的硝化-脱窒素処理法(4,5)により行われている。この処理法は、Eqn. 3.1の生物学的酸化反応に示す様に、活性汚でい中に含まれる硝化菌の作用により排水中に含まれるアンモニウムイオンを、亜硝酸イオンあるいは硝酸イオンにまで酸化させる硝化処理工程と、Eqn. 3.2の生物学的還元反応に示す様に、メタノールの様な水素供与体の存在下で、活性汚でい中に含まれる脱窒素菌の作用により、この両者を嫌氣的条件下で窒素ガスにまで還元して処理する脱窒素処理工程との組合せから成っている。



一方、菌体の合成を加味した生物学的硝化-脱窒素反応において、脱窒素菌は、他栄養性の細菌であるので有機栄養源としてメタノールを必要とし、それを利用して菌体は増殖するが、硝化菌は自栄養性の細菌であるので、その菌体の増殖のためには、Eqn. 3.3に示す様に、無機栄養源として炭酸水素イオンを必要とする(15)。



したがって、この処理工程を適正に自動計測管理するためには、BOD処理工程と同様に、DO, pH, ORP, 温度およびMLSSなどに加へ、硝化処理工程水中のアンモニウム、亜硝酸および硝酸イオン、更には炭酸水素イオンの迅速で高感度な自動計測が極めて重要である。

硝化処理工程水中の炭酸水素イオンは、pH4.5におけるアルカリ度として滴定法(16)により間接的に定量されているので、工程水中に遊離の有機酸やアンモニアが存在すると、その値は炭酸水素イオンとして正しく評価することができない。加えて、これらの方法は、測定時間が長く、しかも操作が煩雑であり、排水処理工程の自動計測法としては甚だ不向きである。

そこで、本研究では、種々の共存陰イオンを含む硝化処理工程水中の炭酸水素イオンを分離定量するために、前編で述べた水素イオンが検出できる電量検出器を用いる水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーについて検討した。本法により、種々のpH条件下での

硝化処理工程におけるアンモニウムイオンの処理（硝化）効率と炭酸水素イオン濃度の間の関係を求めた所、その関係から本処理工程における炭酸水素イオンの存在量は、そのpHに依存することを見いだすなど、炭酸水素イオンの自動計測は硝化処理工程の円滑、適正な運転のための管理指標となりうるということが分かったのでここに報告する。

尚、本処理工程水中のアンモニウム、硝酸および亜硝酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーによる分離定量については後述される。

1. 2 実験

1. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：Spectra-Physics 社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を用い、酸からの水素イオンを検出した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製 System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのおのの検出器からの信号により陰イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

1. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陰イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの硫酸により水素型とし、内径9mm x 長さ200mmのジャケット付ガラスカラムに充填して、30°Cで使用した。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液（1000 ppm）は、和光純薬製特級品の対応する塩（ナトリウムおよびカリウム塩）から調製し、適宜希釈して使用した。

1. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.5 ml容量のループインジェクターを用いて、試料を分離カラム内に注入し、水を用いる溶離により炭酸水素イオンのクロマトグラムを両検出器により得た。

1. 2. 4 生物学的硝化－脱窒素処理装置

Fig. 3.6に用いた処理装置(17,18)のフローダイヤグラムを示す。この処理装置中の硝化処理工程中に合成排水としてリン酸イオンを含むアンモニウムイオンを、400 ml/minで連続的に負荷し、炭酸水素イオンの存在下で硝化処理した。尚、硝化処理の結果生成した亜硝酸および硝酸イオンの両方は、後段の脱窒素処理工程でメタノールの存在下で脱窒素処理された後、沈殿工程で固液分離され、放流される。

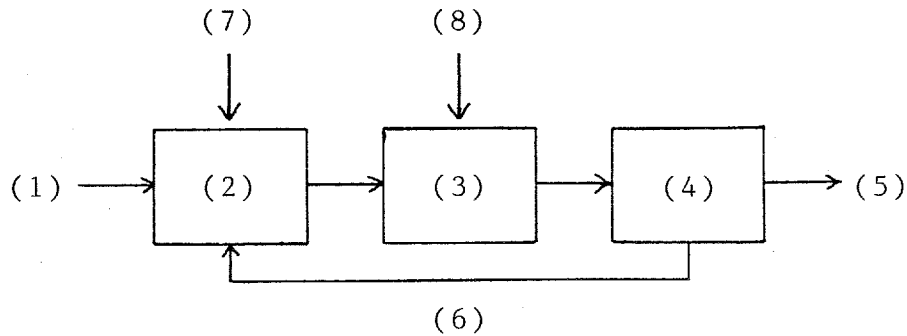


Fig. 3.6 Schematic diagram of biological nitrification-denitrification process for nitrogen removal
 (1) Raw water containing ammonium ion(400-500 ml/min); (2) Nitrification process(500 l); (3) Denitrification process(500 l); (4) Settling process (250 l); (5) Treated water; (6) Return sludge; (7) Bicarbonate ion; (8) Methanol

硝化処理工程中のDOはDO計により3 ppmになる様に空気でばっ気し、コントロールした。硝化処理工程水のpHは、Eqn. 3.1に示した様に、硝化反応の進行と共に減少するので、pH計により5から10の範囲で一定になる様に炭酸水素イオンの補給もかねて水酸化ナトリウムを添加し、コントロールした。又、脱窒素処理工程水のORPは、ORP計により約-150 mVになる様にメタノールを添加し、コントロールした(18)。

1. 3 結果および考察

1. 3. 1 共存陰イオンからの炭酸水素イオンのイオン排除分離

炭酸が共存陰イオン（塩化物、硫酸、硝酸、亜硝酸およびリン酸イオン）に対応する酸に比較して際立って弱い酸であることに着目して分離を行った。すなわち、おのおの10 ppmの炭酸水素イオンと前述した共存陰イオンから成る混合試料を分離カラム内に注入し、水を用いる溶離によりクロマトグラムを得た所、炭酸水素イオンは、共存陰イオンからイオン排除によって良好に分離できた。この時得られた電量および導電率検出器によるクロマトグラムを、Fig. 3.7に示す。Fig. 3.7のクロマトグラム中の1番目の大きいピークは強酸性陰イオン（塩化物、硫酸および硝酸イオン）および弱酸性陰イオン（リン酸および亜硝酸イオン）から成るピークであり、2番目の小さいピークは炭酸水素イオンのピークである。分離カラムが短いため弱酸性陰イオンは強酸性陰イオンから分離できなかつたが、単独に分離を行った時は強酸性陰イオンの保持容量より大きい値を示した。以上の結果は、強酸性陰イオンのすべてがイオン交換樹脂相から完全にイオン排除され、弱酸性陰イオンはわずかにイオン交換樹脂相内に浸透し、炭酸水素イオンは完全にイオン交換樹脂相内に浸透していることを示し、本法がイオン交換樹脂相と移動相との間でのイオン排除作用に基づくゲルクロマトグラフィーであることを示した。

Fig. 3.7の電量および導電率検出器によるクロマトグラムにおいて、1番目の大きいピークと

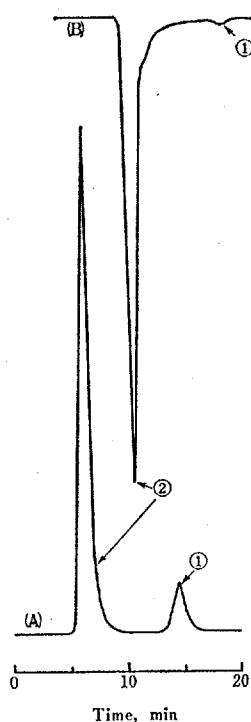


Fig. 3.7 Ion-exclusion chromatographic separation of bicarbonate ion from the solution containing chloride, sulfate, nitrate, nitrite, and phosphate ions
 Eluent: Water (1 ml/min); Column: Hydrogen-form cation exchange resin (9 mm i.d. x 200 mm long); Column temp.: 30° C; Sample concn.: 10 ppm each; Sample volume: 0.5 ml; (A) FCD (1 mA F.S.); (B) COND (300 μ S/cm F.S.); (1) Bicarbonate ion; (2) Chloride, sulfate, nitrate, nitrite, and phosphate ions

炭酸水素イオンのその相対的なピーク高さはかなり異なった結果を示した。そこで、ピーク面積による強酸性陰イオンと炭酸水素イオンのモル当たりの検出感度比（炭酸水素イオン／塩化物イオン）を両検出器により比較検討した。その結果、導電率検出器によって得られた感度比は、0.05であった。これは、塩酸よりも炭酸の方がその当量導電率が低いことによるものである。しかしながら、電量検出器によって得られた感度比は、約1であった。これは、電量検出器において、炭酸からの水素イオン（ pK_1 ）とp-ベンゾキノンの間の定電位電解反応が、塩酸からの水素イオン（完全解離）とp-ベンゾキノンの間のそれと同様に、化学量論的に進行していることを示すもので、 pK が約7以下の弱酸は感度よく検出できることを示した。これは、電量検出器の際立った特長である。

1. 3. 2 検量線

第二編第二章の1で詳細に述べた様に、10から200 ppmの濃度範囲における炭酸水素イオンの検量線は、導電率検出器において非直線性を、電量検出器において良好な直線性を示す。

た。これは、陰イオン、特に、弱酸性の陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける電量検出器の有用性を示すものである。そこで、以下の実験では電量検出器を用いた。

1. 3. 3 検出限界

1 ppm 炭酸水素イオンの0.5 ml注入時における検出限界は、S/N=2 において、0.15 ppm (0.075 μ g)であり、電量検出器は高感度な検出器であることを認めた。

1. 3. 4 再現性

10 ppm炭酸水素イオンの0.5 ml注入時における電量検出器によるクロマトグラムのピーク面積の再現性は、変動係数1.9 % (n=10)であり、満足すべき結果であった。

1. 3. 5 都市河川水および硝化処理工程水への応用

本法を、種々のpH条件下における硝化処理工程水中の炭酸水素イオンの定量に応用した。試料はすべて0.45 μ m のメンブランフィルターによりろ過し、ろ液を分離カラム内に注入してクロマトグラムを得た。

pH7.5 における硝化処理工程水とそれよりも多量の陰イオンを含んでいると考えられる都市下水処理場からのBOD処理水が流入している都市河川水を、本法で定量した。

Fig. 3.8は硝化処理工程水のクロマトグラムを、Table 3.3 は両試料の分析結果をおのおの示す。Table 3.3 より明かな様に、両試料中の炭酸水素イオンの回収率は良好であり、本法が種々の共存陰イオンを含む実際試料水中の炭酸水素イオンの分離定量に対して良好に応用できることを示した。

Table 3.3 Determination of bicarbonate ion in actual samples

Sample	Concn. (ppm)			
	Added	Found	Error	Recovery (%)
Biological nitrification process water (pH:7.5)	0	17.8	---	---
	20	37.2	-0.6	98.7
	40	57.6	-0.2	99.7
Urban river water	0	51.6	---	---
	20	72.2	+0.6	100.8
	40	91.6	0	100.0

Fig. 3.9は、5 から10のpH条件下における硝化処理工程水の炭酸水素イオンの濃度とアンモニ

ウムイオンの処理（硝化）効率の間の関係を示す。ここで、硝化効率は、硝化処理工程中に流入する原水と処理水中のアンモニウムイオンの濃度を、第二編第三章で述べた水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーにより定量した値から求めたものである。Fig. 3.9より明かな様に、アンモニウムイオンの硝化効率は、炭酸水素イオンが多量に存在する時、ほぼ100%を示したが、炭酸水素イオンが約5 ppm (pH:6)以下の時、低下した。

以上の結果から、アンモニウムイオンの硝化反応は、少なくとも8.6 ppmの炭酸水素イオン濃度で、pHが7以上の時に効率よく進行することが分かった。この結果は、pH4.5におけるアルカリ度として測定された値（約10 ppm）とよく一致した(16)。

以上述べた様に、水溶液を用いる水素型陽イオン交換樹脂における陰イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーは、種々の共存陰イオンを含む生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の炭酸水素イオンの分離定量に対して良好に応用できることが分かり、この方法により硝化処理工程の最適なpH条件が明かとなった。

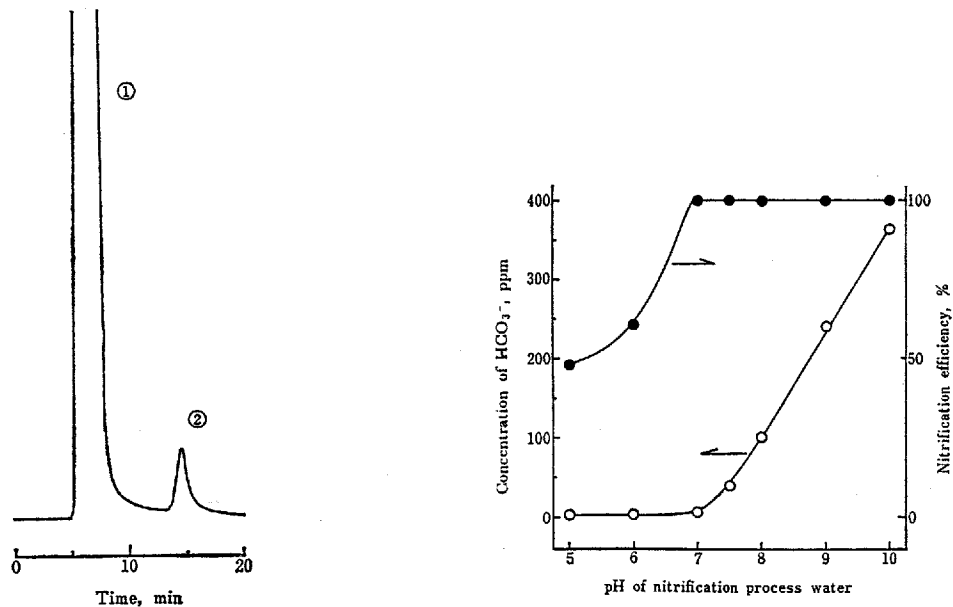


Fig. 3.8 Ion-exclusion chromatogram of biological nitrification process water at pH 7.5 obtained with FCD
FCD: 1 mA F.S.; (1) Strong acid anions and phosphate ion; (2) Bicarbonate ion; The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.7

Fig. 3.9 Relationship between nitrification efficiency of ammonium ion and concn. of bicarbonate ion in the process water over the pH range 5-10
* Ammonium ion was determined by ion-exclusion chromatography with coulometric detection

2 水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中のアンモニウムイオンの定量

2. 1 まえがき

前述した様に、生物学的硝化-脱窒素処理工程を適正に管理するためには、この処理工程水中のアンモニウムイオンを迅速に感度よく定量する必要がある。この処理工程水中のアンモニウムイオンは、通常、JIS法(19)およびStandard Methods(20)に代表される様に、種々な反応試薬を用いる比色法により定量されている。しかしながら、これらは、共存イオンの妨害を受けやすく、しかも操作が煩雑で測定に長時間を要するなど多くの問題がある。加えて、反応試薬としてのインドフェノール法におけるフェノールやネスラー法における水銀塩の様な有害物質の使用が問題となっており、環境保全の立場から、これらの使用は極力低減すべきである。又、これらの方法は、前処理を必要とするのに加へ、共存イオンの妨害を受けやすく、測定に長時間を要するなど富栄養化成分の処理工程における自動計測法として甚だ不向きであり、アンモニウムイオンの迅速な自動計測法の確立が強く要望されている。

そこで、本研究においては、アンモニウムイオンのイオン排除クロマトグラフィーについて検討した。すなわち、アンモニウムイオンを、水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いてその対応する塩基として溶出させた時、その塩基から解離した水酸化物イオンを定電位下におけるハイドロキノンによるp-ベンゾキノンへの酸化を利用してアンモニウムイオンが高感度に定量できる方法を検討し、生物学的硝化-脱窒素処理工程水および都市下水処理場からのBOD処理工程水が流入している都市河川水を含む種々な河川水中のアンモニウムイオンを分離定量に応用することを目的とした。

2. 2 実験

2. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフあるいはSpectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製030型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を用い、塩基からの水酸化物イオンを検出した。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、おのおのの検出器からの信号により陽イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

2. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2632型強塩基性陰イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの水酸化ナトリウムにより水酸化物型とし、内径9mm×長さ550mmのジャケット付ガラスカラ

ムに充填して使用した。

陽イオンの標準溶液：陽イオンの標準水溶液（1000 ppm）は、和光純薬製特級品の対応する塩（塩化物および硫酸塩）から調製し、適宜希釈して使用した。

自記分光光度計：日立製323型自記分光光度計を用い、実際試料水中のアンモニウムイオンを比色法(20)により定量した。

2. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5 ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、水を用いる溶離によりアンモニウムイオンのクロマトグラムを両検出器により得た。尚、実際試料水中のアンモニウムイオンの定量の際には、試料を0.45 μ mのメンブランフィルターによりろ過し、ろ液を分析に供した。

2. 2. 4 生物学的硝化-脱窒素処理装置

第三編第二章の1で述べたFig. 3.6に示した処理装置(17,18)を用い、この処理装置中の硝化処理工程に合成排水としてリン酸イオンを含むアンモニウムイオンを、400 ml/minで連続的に負荷して硝化处理し、各処理工程から試料を採取した。

2. 3 結果および考察

2. 3. 1 共存陽イオンからのアンモニウムイオンのイオン排除分離

実際試料水中にはナトリウムおよびカリウムイオンの様なアルカリ金属イオンやマグネシウムおよびカルシウムイオンの様なアルカリ土類金属イオンが含まれる。そこで、アンモニウムイオンを含むアルカリ金属イオンと、アンモニウムイオンを含むアルカリおよびアルカリ土類金属イオンの混合物をおのおの水酸化物型陽イオン交換樹脂カラム内に注入し、水を用いる溶離によりその塩基として分離し、電量検出器および導電率検出器によりクロマトグラムを得た。得られたクロマトグラムは、Fig. 3.10に示す様に、両者共良好な分離を示し、アンモニウムイオンがイオン排除により共存するアルカリ金属イオンおよびアルカリ土類金属イオンから分離可能なことを示した。尚、第二編第三章でも述べた様に、鉄や銅イオンの様な重金属イオンは、これらが余りにも弱い塩基であり、分離カラム中で不溶性の水酸化物の沈澱を生成するので検出されず、アンモニウムイオンの分離定量に対して妨害しないことが分かった。

2. 3. 2 検量線および検出限界

第二編第三章の1でも述べた様に、導電率検出器とは異なり、電量検出器によるアンモニウムイオンの検量線は広い濃度範囲にわたって良好な直線性を有している。そこで、電量検出器を用いて100 ppmのナトリウムイオンを含む10から100 ppmの濃度範囲におけるアンモニウムイオンの検量線を作製した。その結果、電量検出器によるアンモニウムイオンの検量線は、良好な直線

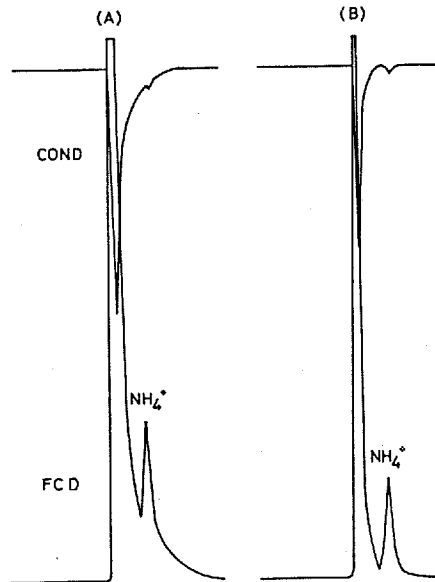


Fig. 3.10 Typical chromatograms of ammonium ion in authentic mixtures of alkali metal cations(B) or alkali and alkaline earth metal cations(A)
 Sample concn.(ppm): Lithium ion, 10; Sodium ion, 30; Ammonium ion, 20; Potassium ion, 50; Rubidium, 100; Cesium ion, 100; Magnesium ion, 30; Calcium ion, 50; Strontium ion, 100; Barium ion, 100; Sample volume: 0.1 ml

性を有することが分かった。尚、100 ppm のナトリウムイオンを含む10ppm のアンモニウムイオンの0.5 ml注入時における検出限界は、S/N=3 において、約10 ppbであり、電量検出器が高感度な検出器であることを認めた。

2. 3. 3 再現性

20 ppmのアンモニウムイオンの0.1 ml注入時におけるクロマトグラムのピーク面積による再現性は、6回の繰り返し測定において、2.7%であり満足すべき結果であった。

一方、長期間(30日間)の再現性は、実際試料の測定に先だつ1日1回のアンモニウムイオンの標準溶液による測定において、その繰り返し再現性は2.4%であり、長期間にわたる測定にもかかわらず、上述の短期間の再現性とほぼ同様な結果を示すことが分かった。以上の結果は、本法が、実際試料のオンライン測定に適用可能なことを示唆するものである。

2. 3. 4 分離カラムの耐久性

本法を実際試料に適用した際の分離カラムの耐久性を検討した。この実験は、アンモニウムイオンの標準溶液と後述する生物学的硝化-脱窒素処理法における各処理工程から採取された4種類の実験試料の合計150回を分離カラムへ注入した時、この操作により得られたアンモニウムイオンのピーク面積と強塩基性陽イオン(ほとんどが300-500 ppmのナトリウムイオン)のピーク面積から求めた総陽イオン量から分離カラム内での陰イオン交換によって消費した水酸化物イオ

ンの総量を見積ることによって行った。結果は、消費された水酸化物イオンの総量が、分離カラムの全交換容量の約5.8%であることを示し、したがって、更に多くの測定が可能であることが分かった。

2. 3. 5 BOD処理工程水および河川水への応用

本法を、都市下水処理場の活性汚でいを用いるBOD処理における流入水および処理水とその処理水が流入している都市河川水、更には大河川の中流域で採取した実際試料水中のアンモニウ

Table 3.4 Analytical results for actual samples

Sample	Ammonium ion concn.(ppm)	
	Present method	Phenate method
Activated sludge process water (influent water)	35.3	37.2
Activated sludge process water (treated water)	17.7	15.4
River water (Kiso river)	ND	ND
River water (Syonai river)	1.35	1.23

ND: Not detected by FCD

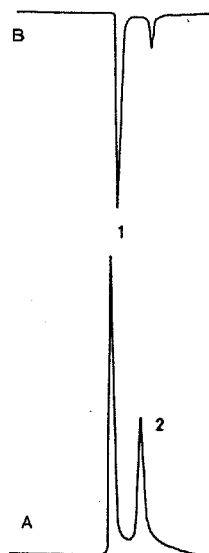


Fig. 3.11 Chromatograms of ammonium ion in activated sludge process water obtained with FCD and COND

(A) FCD; (B) COND; (1) Strong basic cations; (2) Ammonium ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.18

ムイオンの分離定量に対して応用し、比色法(20)と比較した。

得られた結果は、Table 3.4 に示す様に、両法の間には良好な分析結果の一致が認められ、本法が実際試料に適用可能なことを示した。Fig. 3.11 には、BOD処理工程水のイオン排除クロマトグラムを示したが、本法により種々の陽イオンを含む実際試料水中のアンモニウムイオンが良好に分離できることが分かった。又、以上の分析結果は、都市下水処理場の活性汚でい処理により、アンモニウムイオンの約半分程度が処理されることを示した。

2. 3. 6 生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用

1. 3. 5と同じ手法により種々な条件化での生物学的硝化-脱窒素処理工程水中のアンモニウムイオンを定量した。

アンモニウムイオンとして120 から130 ppm を含む原水を、Table 3.5 に示す処理条件下で連続負荷し、各処理工程から試料を採取した。これらの試料によって得られたイオン排除クロマトグラムを、Fig. 3.12 のA、BおよびCにおおの示し、各処理工程水中のアンモニウムイオンの分析結果をTable 3.5 に示す。Fig. 3.12 のクロマトグラムAは、原水によって得られたもので、共存陽イオンからのアンモニウムイオンの良好な分離を示した。この時のアンモニウムイオ

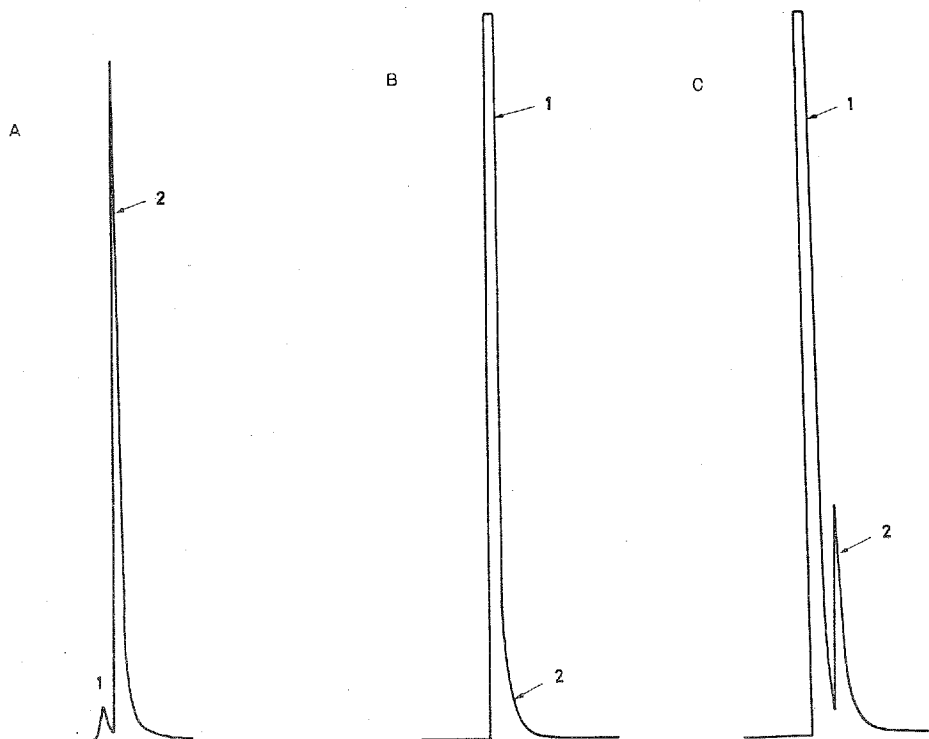


Fig. 3.12 Ion-exclusion chromatograms of ammonium ion in biological nitrification-denitrification process waters obtained with FCD
(A) Raw water; (B) Nitrification process water; (C) Nitrification process water; (1) Strong basic cations; (2) Ammonium ion; The chromatographic conditions are the same as in Fig. 2. 18

Table 3.5 Determination of ammonium ion in treatment process water under the various nitrification conditions

Nitrification condition				Ammonium ion concn. (ppm)			
DO (ppm)	pH	ORP (mV)	MLSS (ppm)	Raw water	Nitrification process water	Denitirfication process water	Treated water
3	8	+130	2950	120(*1)	ND(*2)	ND	ND
0	8	-70	3080	127	39(*3)	26	14
3	6	+120	2690	128	123	122	110

*1: Chromatogram(A) in Fig. 3.12, *2: Chromatogram(B) in Fig. 3.12, *3: Chromatogram(C) in Fig. 3.12, ND: Not detected by FCD

ンの濃度は120 ppmであったが、この様な処理条件下で硝化処理工程のDOおよびpHを変化させると、アンモニウムイオンの濃度はかなり変化した。すなわち、Table 3.5 およびFig. 3.13 のBより明かな様に、DO: 3 ppm, pH: 8 ではアンモニウムイオンは認められず、アンモニウムイオンがほぼ完全に硝化されたことを示した。しかしながら、DO: 0 ppm, pH: 8 では、Table 3.5 およびFig. 3.11 のCに示す様に、アンモニウムイオンは39 ppm認められ、硝化に必要な酸素が不足していることを示し、このアンモニウムイオンは後段の脱窒素処理工程においても完全に処理されないことを示した。一方、たとえDOが3 ppm 存在したとしても、pHが6の時は、アンモニウムイオンが認められ、それがほとんど硝化されないことを示した。したがって、このアンモニウムイオンは後段の脱窒素処理工程においてもほとんど処理されないことを示した。pH 6におけるアンモニウムイオンの硝化効率が低いのは、第三編第三章の1で述べた様に、生物学的硝化反応に必要な無機炭素栄養源としての炭酸水素イオンが不足しているためである。以上述べた様に、水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーは、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中のアンモニウムイオンの分離定量に対して良好に応用でき、本法がこの処理工程の自動計測管理法における有用な計測手段であることを認めた。

3 水素型陽イオン交換樹脂を用いる紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーによる 生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量

3. 1 まえがき

前述した様に、活性汚でいを用いるアンモニウムイオンの生物学的硝化-脱窒素処理を適正に管理するためには、硝化処理工程でのアンモニウムイオンの硝化により生成した硝酸および亜硝酸イオンを迅速に感度よく同時定量する必要がある。この処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンは、通常、JIS法(19)およびStandard Methods(20)に代表される様に、種々な反応試薬を用いる比色法により定量されている。しかしながら、これらの方法は、共存イオンの妨害を受けやすく、しかも操作が煩雑で測定に長時間を要するなど多くの問題がある。加えて、反応試薬としてのブルシン法による硝酸イオンの定量におけるブルシンの使用、カドミウム還元-ナフチルエチレンジアミン法による硝酸イオンの亜硝酸イオンへの還元の際に使用する還元カラムからのカドミウムの様な有害物質の流失が問題となっており、環境保全の立場から、これらの使用は極力低減すべきである。以上の理由から、これらの方法は、富栄養化成分の処理工程における自動計測法としては問題があり、硝酸および亜硝酸イオンの迅速で高感度な自動計測法の確立が強く要望されている。

そこで、本研究においては、第二編で述べた陰イオンのイオンのイオン排除クロマトグラフィーによる硝酸および亜硝酸イオンの同時定量法について検討した。すなわち、硝酸および亜硝酸イオンを水素型陽イオン交換樹脂を用いてその対応する酸として溶出させた後、その酸を210 nmにおける紫外吸光検出器を用いて、種々の共存陰イオンから両者を選択的かつ高感度にモニターして定量する方法について検討した。本法を、生物学的硝化-脱窒素処理工程水および都市下水処理場からのBOD処理工程水が流入している都市河川水を含む種々な河川水に対して応用した所、良好な結果が得られたので報告する。

3. 2 実験

3. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：Spectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：Spectra-Physics社製770型紫外吸光検出器、日立製630型電量検出器および柳本製C-202型導電率検出器を直列に接続し、硝酸および亜硝酸イオンに加へ、共存陰イオンをおのおの検出した。尚、電量および導電率検出器は、紫外吸光検出器による硝酸および亜硝酸イオンの両方に対する選択性を明かにするために使用したものである。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を2台用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型および島津製クロマトパック1AX形コンピューティングインテグレーターを用い、おのおのの検出器からの信号により陰イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

分光光度計：島津製UV210型分光光度計を用い、実際試料水中の硝酸および亜硝酸イオンを比

色法(20)により定量した。

3. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陰イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2N硫酸により水素型とし，内径9 mm x 長さ550 mmのジャケット付ガラスカラム（ロングカラム）および内径9 mm x 長さ100 mmのジャケット付ガラスカラム（ショートカラム）におのおの充填し，10から70°Cの間で使用した。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液（1000 ppm）は，和光純薬製特級品の対応する塩（ナトリウムおよびカリウム塩）から調製し，適宜希釈して使用した。

3. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5 ml容量のループインジェクターを用いて試料をおのおのの分離カラム内に注入し，水およびメタノール-水を用いる溶離により硝酸および亜硝酸イオンのクロマトグラムを両検出器により得た。

3. 2. 4 生物学的硝化-脱窒素処理装置

第三編第二章の1のFig. 3.6に示した処理装置(17,18)を用い，この処理装置中の硝化処理工程に合成排水としてリン酸イオンを含むアンモニウムイオンを，400 ml/minで連続的に負荷して硝化处理し，各処理工程から試料を採取した。

3. 3 結果および考察

3. 3. 1 ロングカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンのメタノール-水によるイオン排除分離

硝酸イオンは強酸性陰イオン(pK:-1.6)であり，亜硝酸イオンは弱酸性陰イオン(pK:3.4)であるので，第二編で述べたイオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎の結果から予想される様に，両者は水を用いる溶離により分離可能なことが考えられる。そこで，ロングカラムを用いておのおの10 ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物の0.5 mlをロングカラム内に注入し，水溶離液を用いて紫外吸光検出器によりクロマトグラムを得た。得られたクロマトグラムは，Fig. 3.13に示す様に，イオン排除による硝酸イオンからの亜硝酸イオンの分離を示した。しかしながら，両者間の分離度(Rs)は1.44と良好でなかった。

そこで，第二編で述べた弱酸性陰イオンの保持容量だけが溶離液中の有機溶媒の濃度の増大により増大することを利用して，両者間のRsを更に増大させる方法について検討した。ここで，有機溶媒としては210 nm附近に吸収を持たないメタノールを使用した。硝酸および亜硝酸イオンの保持容量における溶離液中のメタノールの影響は，Fig. 3.14に示す様に，強酸性陰イオンである硝酸イオンの保持容量は変化せず，それがイオン交換樹脂相から完全にイオン排除されたこと

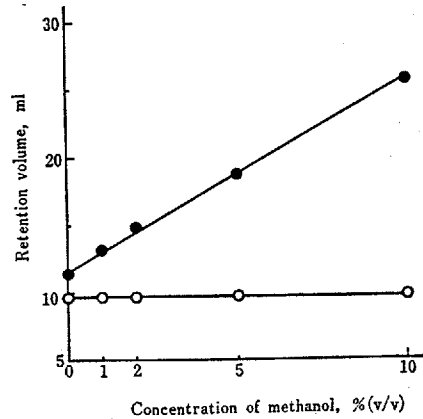
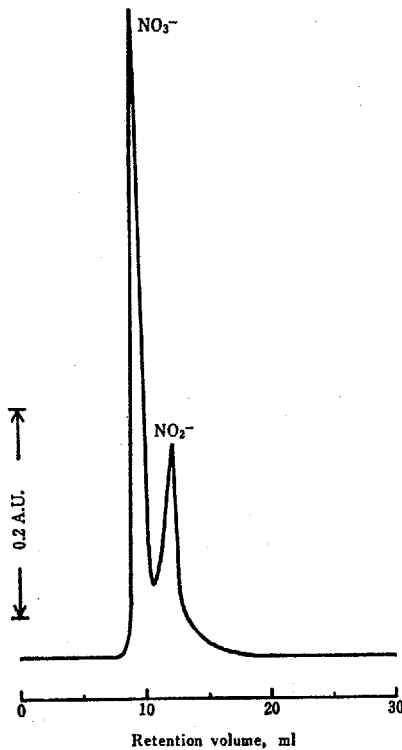


Fig. 3.13 Ion-exclusion chromatogram of the mixture of nitrate and nitrite ions obtained by elution with water alone using the long column

Detector: UVD at 210 nm; Column: Hydrogen-form cation exchange resin (9 mm i.d. x 550 mm long); Column temp.: 30 ° C; Eluent flow rate: 1 ml/min; Sample volume: 0.5 ml; Sample concn.: 10 ppm each

Fig. 3.14 Effect of methanol on retention volumes of nitrate and nitrite ions

—○— Nitrate ion; —●— Nitrite ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.13

を示した。しかしながら、亜硝酸イオンの保持容量は、溶離液中のメタノールの濃度の増大によりほぼ直線的に増大し、それがイオン交換樹脂相中に浸透していることを示した。したがって、両者間のRsも1.44から4.25まで増大した。以上述べた亜硝酸イオンの保持容量の増大は、溶離液中のメタノールの濃度の増大による溶離液の誘電率の減少による亜硝酸イオンのpKの増大に加えて、溶離液中の水とメタノールのイオン交換樹脂相と移動相間での組成比の違いに起因する分配作用によるものと考えられる(21,22)。

Fig. 3.15 は、5%メタノール-水を用いる溶離による硝酸および亜硝酸イオンの混合物のクロマトグラムおよび亜硝酸イオンだけのクロマトグラムをおのおの示す。両者間のRsは3.74と良好な結果を示したが、亜硝酸イオンのピークはFig. 3.15 のAおよびBに示す様に、リーディングを示した。そこで、このリーディング部分を分取し、この中に含まれる成分を比色法(20)により確認した所、亜硝酸イオンは全く含まず、硝酸イオンだけを含んでいた。このような現象は、溶離液中の溶存酸素を窒素パージにより除去した場合でも観察されたことから、この酸化は溶存酸

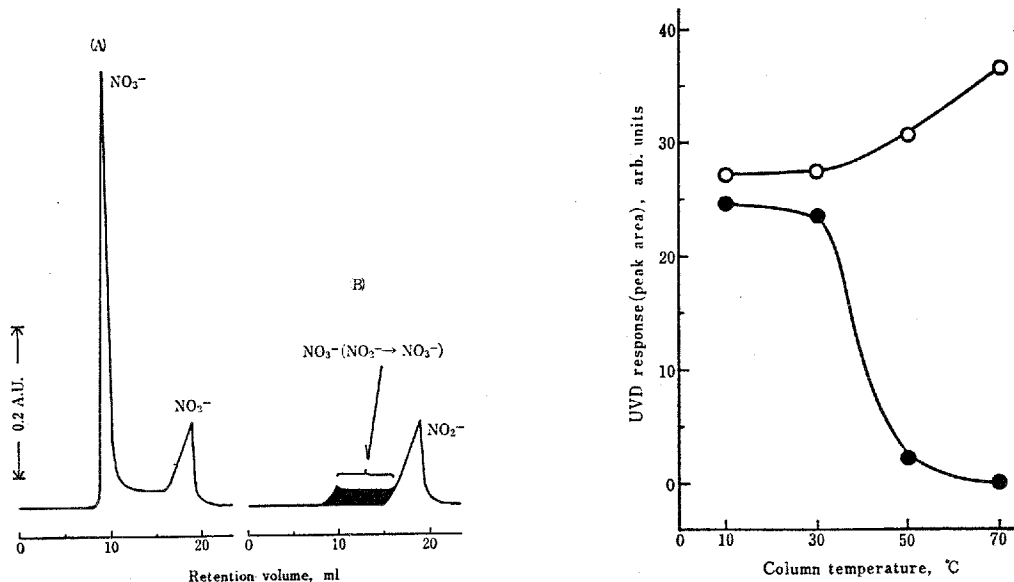


Fig. 3.15 Ion-exclusion chromatograms of the mixture of nitrate and nitrite ions (A) and nitrite ion alone (B) obtained by elution with 5 % methanol-water using the long column

The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.13

Fig. 3.16 Effect of column temp. on UVD responses of nitrate and nitrite ions using the long column

—○— Nitrate ion; —●— Nitrite ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.13

素によるものではなく、亜硝酸イオンがロングカラム内でのクロマトグラフ分離が進行している間中、イオン交換樹脂中のスルホン酸の水素イオンとの接触によって分解され、その一部分が硝酸イオンに酸化されていることを示した(23)。したがって、ロングカラム内での亜硝酸イオンの酸化分解を抑制するためには、亜硝酸イオンのロングカラム内での滞留時間を短くすることによって可能であることが示唆された。すなわち、ショートカラムの使用が推奨された。

亜硝酸イオンが水素型陽イオン交換樹脂中で不安定であることは、本法と類似した方法であるイオンクロマトグラフィーにおいても認められている(24, 25, 26, 27)。

3. 3. 2 検出器応答におけるカラム温度の影響

亜硝酸イオンは温度の上昇によって分解することが知られている(23)。そこで、おのおの10 ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物の0.5 mlをロングカラム内に注入し、紫外吸光検出器応答におけるカラム温度の影響を10から70°Cの温度範囲で検討した。この時使用した溶離液は5%メタノール-水である。結果は、Fig. 3.16に示す様に、亜硝酸イオンの検出器応答がカラム温度の増大と共に急激に減少し、70°Cではほぼ完全に分解されることを示した。一方、硝酸イオンの検出器応答はカラム温度の増大と共に少しずつ増大し、亜硝酸イオンの一部分が硝酸イオ

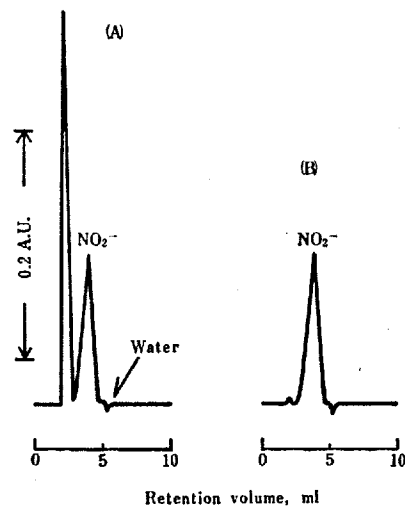


Fig. 3.17 Ion-exclusion chromatograms of the mixture of nitrate and nitrite ions (A) and nitrite ion alone (B) obtained by elution with 20 % methanol-water using the short column

Short column: 9 mm i.d. x 100 mm long; Sample volume: 0.1 ml; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.13

ンに変化したことを示した。以上の結果から、硝酸イオンと亜硝酸イオンの分離に関する最適なカラム温度は30°C以下であることが分かった。

3. 3. 3 ショートカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンのメタノール-水によるイオン排除分離

3. 3. 1で述べた様に、亜硝酸イオンはロングカラム内で不安定であるので、ショートカラムを用いてその接触時間を1/5以下とし、おのおの10ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物の分離について検討した。

ショートカラムを用いることによって硝酸イオンと亜硝酸イオンの間のRsは減少するので、硝酸イオンから亜硝酸イオンを完全に分離するためには、溶離液中のメタノールの濃度をロングカラムを用いた時のそれよりも更に増大させる必要があった。硝酸イオンと亜硝酸イオンの間の良好な分離は、Fig. 3.17のAに示す様に、20%メタノール-水を用いる溶離により達成できた。この様な溶離条件下での亜硝酸イオンは、Fig. 3.17のBに示す様に、硝酸イオンへの酸化を示さないクロマトグラムを示し、良好な結果であった。

以上の結果から、ショートカラムによる硝酸および亜硝酸イオンのイオン排除分離は、20%メタノール-水を用いる溶離により約5分で達成できることが分かった。

3. 3. 4 紫外吸光検出器による硝酸および亜硝酸イオンの共存陰イオンからの選択的検出

Slanina(28) は、210 nmにおける紫外吸光法を用いる直接定量法が、塩化物、硫酸、リン酸および炭酸水素イオンを含む試料水中の硝酸イオンあるいは亜硝酸イオンに対して選択的であることを報告している。そこで、おのおの10ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物と、おのおの10 ppmの硝酸および亜硝酸イオンを含むおのおの100 ppmの塩化物、硫酸、リン酸および炭酸水素イオンの混合物を、ショートカラム内に注入して20%メタノール-水を用いて溶離し、紫外吸光検出器に加へ、電量および導電率検出器によりクロマトグラムを得た。その結果、紫外吸光検出器によって得られたクロマトグラムは、両試料共同のピーク面積およびピーク高さを示し、少なく共100 ppmの塩化物、硫酸、リン酸および炭酸水素イオンは硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に妨害しないことを示した。

一方、電量および導電率検出器によって得られた硝酸および亜硝酸イオンの混合物のクロマトグラムは、硝酸および亜硝酸イオンに相当する二つのピークを示した。しかしながら、硝酸、亜硝酸、塩化物、硫酸、リン酸および炭酸水素イオンの混合物のクロマトグラムにおいては三つのピークを示した。すなわち、1番目の大きいピークは、硝酸イオンに加えて、これと同様に完全イオン排除される強酸性陰イオンである塩化物および硫酸イオンと弱酸性陰イオンであるためにわずかにイオン交換樹脂相中に浸透できるリン酸イオンの存在を示し、2番目のそれは、リン酸イオンよりも弱い酸の陰イオンであるためにかなりイオン交換樹脂相中に浸透できる亜硝酸イオンの存在を示し、3番目のそれは、極めて弱い酸の陰イオンであるために完全にイオン交換樹脂相中に浸透できる炭酸水素イオンの存在を示した。

以上の結果は、電量および導電率検出器は酸に対して万能型の検出器であるので、それが塩化物、硫酸、リン酸および炭酸水素イオンを含む試料中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に応用できないことを示し、紫外吸光器を用いるイオン排除クロマトグラフィーが、上記の共存陰イオンを含む試料中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に対して有用であることを示した。

3. 3. 5 再現性

おのおの10ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物の0.1 mlを、ショートカラムに注入して20%メタノール-水を用いて溶離し、紫外吸光検出器によりクロマトグラムを得た。得られたクロマトグラムのピーク高さの再現性(n=6)は、硝酸イオンに関して0.8%、亜硝酸イオンに関して1.1%の変動係数であり、亜硝酸イオンが不安定な陰イオンであるにもかかわらず、ショートカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーは、良好な再現性の得られる方法であることを認めた。

3. 3. 6 検量線および検出限界

おのおの1から20 ppmの硝酸および亜硝酸イオンのピーク高さおよびピーク面積による検量線は良好な直線性を示した。

おのおの1 ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物を、ショートカラム内に注入し、これによって得られたクロマトグラムのピーク面積から求めた検出限界は、S/N=2において、硝酸イオンに関して6.2 ppb (0.62 μ g)、亜硝酸イオンに関して5.7 ppb (0.57 μ g)であり、本法が極めて

高感度な方法であることが分かった。

3. 3. 7 都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用

本法により、アンモニウムイオンを含む排水を脱窒素処理するための生物学的硝化-脱窒素処理工程水と、これより更に種々の陰イオンを含んでいると思われる都市下水処理場からのアンモニウムイオンを含む二次処理水（BOD処理水）が流入している都市河川水中の硝酸および亜硝酸イオンを同時定量した。試料はすべて0.45 μ mのメンブランフィルターによりろ過後、ショートカラム内に注入した。

Table 3.6 Analytical results for actual samples

Sample	Concn. (ppm)			
	Present method		Colorimetry	
	Nitrate ion	Nitrite ion	Nitrate ion	Nitrite ion
Biological nitrification process water	118(*1)	32.3(*1)	111(*2)	32.1(*2)
Biological denitrification process water	0.06	ND	0.04	ND
Urban river water	1.14	0.11	1.20	0.14
Urban river water	5.90	1.00	5.63	0.93

*1: 10-fold dilution, *2: 100-fold dilution, ND: Not detected by UVD

その結果、すべての実際試料について良好なクロマトグラムが得られ、本法と比色法の間での分析結果の一致は、Table 3.6 に示す様に良好であった。

以上述べた様に、水素型陽イオン交換樹脂を用いる紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーは、都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に良好に応用できることが分かった。

4 溶離液として希硫酸のメタノール水溶液を用いるイオン排除クロマトグラフィーによる生物的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量

4. 1 まえがき

都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンが、メタノール水を用いる溶離による水素型陽イオン交換樹脂を用いる紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーにより同時定量できることは、第三編第二章の3ですでに述べた。この方法における硝酸イオンからの亜硝酸イオンのイオン排除分離は、溶離液中のメタノールの濃度の増大による溶離液の誘電率の減少に起因する弱酸性陰イオンである亜硝酸イオンの保持容量の増大に基づいている。

そこで、本研究では、第二編第二章の3で述べた亜硝酸イオンの保持容量が溶離液のpHの減少によって増大することを利用した硝酸イオンからの亜硝酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーにより、都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンを同時定量する方法について検討した。

本法は、前述したメタノール水溶離液による水素型陽イオン交換樹脂を用いる紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーに比べ、硝酸および亜硝酸イオンの検量線の直線範囲の増大および亜硝酸イオンのカラム効率の増大、更には、溶離液として硫酸を用いているのでイオン交換樹脂カラムの再生を要しない利点を有する方法であることが分かった。以下、得られた結果について述べる。

4. 2 実験

4. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：Spectra-Physics 社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：Spectra-Physics 社製770型紫外吸光検出器により硝酸および亜硝酸イオンを選択的にモニターした。

記録計：ナショナル製VP-6541A型2ペン記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製 System I型コンピューティングインテグレーターを用い、紫外吸光検出器からの信号により硝酸および亜硝酸イオンの保持時間およびピーク面積を印字記録した。

分光光度計：島津製UV210型分光光度計を用い、実際試料水中の硝酸および亜硝酸イオンを比色法(20)により定量した。

4. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陰イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの硫酸により水素型とし、内径9mm x 長さ550mmのジャケット付ガラスカラム（ロングカラム）

および内径9 mm×長さ100 mmのジャケット付ガラスカラム（ショートカラム）におのおの充填して、30°Cのカラム温度で使用した。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液（1000 ppm）は、和光純薬製特級品の対応する塩（ナトリウムおよびカリウム塩）から調製し、適宜希釈して使用した。

4. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1あるいは0.5 ml容量のループインジェクターを用いて試料をおのおのの分離カラム内に注入し、水およびメタノール-水を用いる溶離により硝酸および亜硝酸イオンのクロマトグラムを得た。

4. 2. 4 生物学的硝化-脱窒素処理装置

第三編第二章の1のFig. 3.6に示した処理装置(17,18)を用い、この処理装置中の硝化処理工程中に合成排水としてリン酸イオンを含むアンモニウムイオンを、400 ml/minで連続的に負荷して硝化処理し、各処理工程から試料を採取した。

4. 3 結果および考察

4. 3. 1 ロングカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンの検出器応答における溶離液のpHの影響

硫酸の濃度の増大に起因する溶離液のpHの減少による硝酸および亜硝酸イオンの溶離挙動に関する詳細は第二編第二章の3において述べられているので、ここでは硝酸および亜硝酸イオンの検出器応答における溶離液のpHの影響について検討した。

硝酸および亜硝酸イオンの検出器応答と溶離液のpHの間の関係をFig. 3.18に示す。ここで、強酸としては210 nm附近に吸収を持たないことと液体クロマトグラフ内の送液ポンプと配管の腐食性を考慮して硫酸を使用した。

得られた結果は、亜硝酸イオンの検出器応答が溶離液のpHの減少と共に急激に減少することを示した。一方、硝酸イオンの検出器応答は、溶離液のpHの減少と共に少しずつ増大し、pH3.7附近で一定となり、亜硝酸イオンの一部分が硝酸イオンに変化したことを示した。そこで、pH3.7の溶離液（0.1 mM硫酸-水）を用いて硝酸および亜硝酸イオンのイオン排除クロマトグラムを得た。Fig. 3.19のAおよびBは、0.1 mM硫酸-水を用いる溶離による硝酸および亜硝酸イオンの混合物のイオン排除クロマトグラムと亜硝酸イオンだけのそれをおのおの示す。この分離は良好な結果を示したが、亜硝酸イオンのピークはFig. 3.19のAおよびBに示す様に、リーディングを示した。そこで、このリーディング部分を分取し、この中に含まれる成分を比色法(20)により確認した所、亜硝酸イオンは全く含まず、硝酸イオンだけを含んでいた。この様な現象は、溶離液中の溶存酸素を除去した場合でも観察されたことから、この酸化は溶存酸素によるものではなく、亜硝酸イオンが分離カラム内でのクロマトグラフ分離が進行している間中、イオン交換樹脂中のスルホン酸からの水素イオンによって酸化分解されることに加へ、溶離液中の硫酸からの水

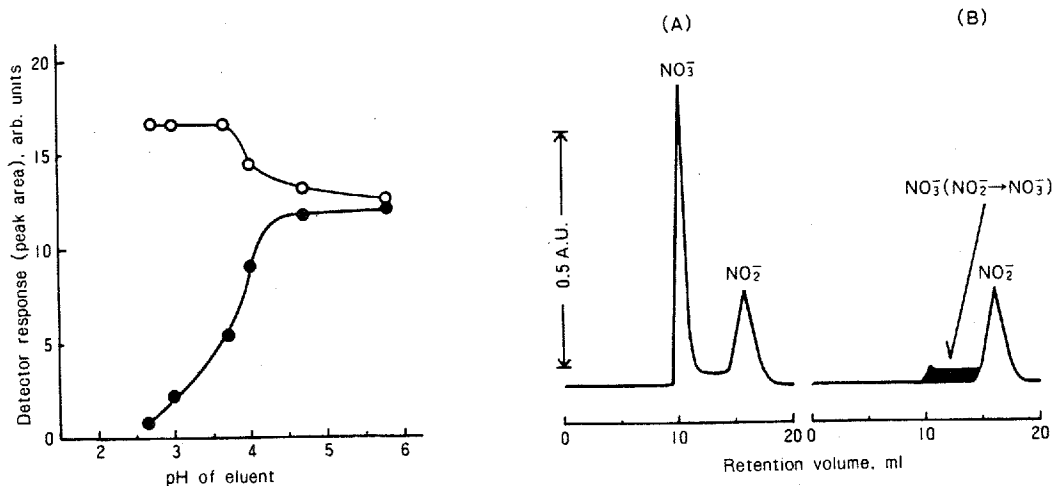


Fig. 3.18 Effect of pH of eluent on UVD responses of nitrate and nitrite ions
 -○- Nitrate ion; -●- Nitrite ion; The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.13

Fig. 3.19 Ion-exclusion chromatogram of the mixture of nitrate and nitrite ions (A) and nitrite ion alone (B) obtained by elution with 0.1 mM sulfuric acid-water (pH:3.7) using the long column

Detector: UVD at 210 nm; Long column: Hydrogen-form cation exchange resin (9 mm i.d. x 550 mm long); Column temp.: 30 ° C; Eluent flow rate: 1 ml/min; Sample volume: 0.5 ml; Sample concn.: 10 ppm each

素イオンによって、その一部分が硝酸イオンに酸化されていることを示した(23)。したがって、分離カラム内での亜硝酸イオンの酸化分解を抑制するためには、第三編第三章の3で述べた結果と同様に、亜硝酸イオンの分離カラム内での滞留時間を短くすることによって可能であることが示唆され、ショートカラムの使用が推奨された。

4. 3. 2 ショートカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンの硫酸-メタノール-水によるイオン排除分離

ショートカラムを用いることにより硝酸イオンから亜硝酸イオンを完全に分離するためには、溶離液のpHをロングカラムを用いた時のそれよりも更に減少させる必要があるが、これによって亜硝酸イオンはますます分解されるので好ましくない。そこで、第三編第二章の3で述べた溶離液中のメタノール濃度の増大による亜硝酸イオンの保持容量の増大効果を利用した。すなわち、0.1 mM硫酸-水溶離液中にメタノールを添加し、これによって硝酸イオンから亜硝酸イオンを分離する方法について検討した。

溶離液中のメタノールの濃度を、0 から20%の濃度範囲で検討した所、亜硝酸イオンの保持容量だけが増大し、Fig. 3.20 に示す様に、0.1 mM硫酸-5 %メタノール-水溶離液により硝酸イオンと亜硝酸イオンは良好に分離できた。

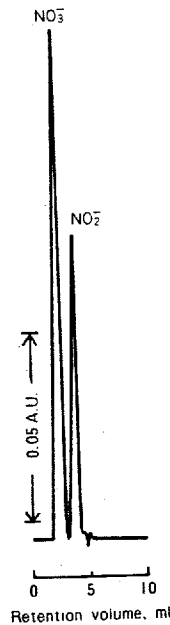


Fig. 3.20 Ion-exclusion chromatograms of the mixture of nitrate and nitrite ions obtained by elution with 0.1 mM sulfuric acid-5 % methanol-water using the short column
 Short column: 9 mm i.d. x 100 mm long; Sample volume: 0.1 ml; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.19

4. 3. 3 再現性

おのおの10ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物の0.1 mlをショートカラムに注入して0.1 mM硫酸-5 %メタノール-水を用いて溶離し、紫外吸光検出器によりクロマトグラムを得た。得られたクロマトグラムのピーク高さの再現性(n=6)は、硝酸イオンに関して0.3 %、亜硝酸イオンに関して0.6 %の変動係数であり、亜硝酸イオンが不安定な陰イオンであるにもかかわらず、ショートカラムを用いる硝酸および亜硝酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーは、良好な再現性の得られる方法であることを認めた。

4. 3. 4 検量線および検出限界

おのおの5 から50 ppmの硝酸および亜硝酸イオンのピーク高さ法による検量線は、Fig. 3.21に示す様に、良好な直線性を示し、溶離液として20%メタノール-水を用いる方法に比べ、検量線の直線範囲が増大することが分かった。

おのおの1 ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物のショートカラム内への0.1 ml注入時における検出限界は、S/N =2において、硝酸イオンに関して6.2 ppb (0.62 μg)、亜硝酸イオンに関して10.3 ppb (1.03 μg)であり、本法が極めて高感度な方法であることを認めた。

4. 3. 5 都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用

本法により、アンモニウムイオンを含む排水を脱窒素処理するための生物学的硝化-脱窒素処理工程水とこれより更に多くの陰イオンを含んでいると思われる都市下水処理場からのアンモニウムイオンを含む第二次処理水（BOD処理水）が流入している都市河川水中の硝酸および亜硝酸イオンを同時定量した。試料はすべて0.45 μm のメンブランフィルターによりろ過後、ショー

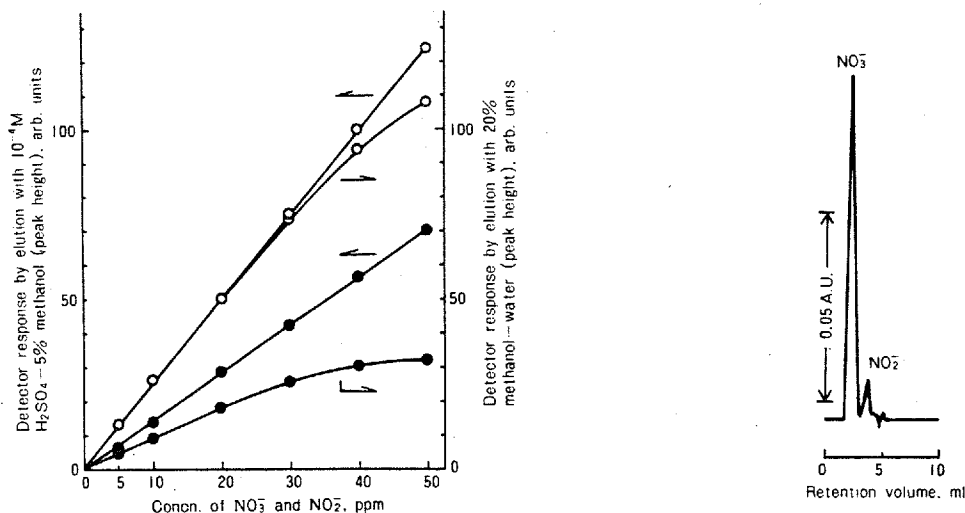


Fig. 3.21 Calibration curves of nitrate and nitrite ions by elution with 0.1 mM sulfuric acid-5 % methanol-water and with 20 % methanol-water alone
 -○- Nitrate ion; -●- Nitrite ion; The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.19

Fig. 3.22 Ion-exclusion chromatogram of nitrification process water
 The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.19

Table 3.7 Analytical results for actual samples

Sample	Concn. (ppm)			
	Present method		Colorimetry	
	Nitrate ion	Nitrite ion	Nitrate ion	Nitrite ion
Biological nitrification process water	116(*1)	33.5(*1)	111(*2)	32.1(*2)
Biological denitrification process water	0.05	ND	0.04	ND
Urban river water	5.85	0.88	5.63	0.93

*1: 10-fold dilution, *2: 100-fold dilution, ND: Not detected by UVD

トカラム内に注入した。

その結果、すべての実際試料について良好なクロマトグラムが得られ、一例として硝化処理工程水のイオン排除クロマトグラムをFig. 3.22 に示す。実際試料による本法と比色法(20)の間の分析結果の一致は、Table 3.7 に示す様に良好であった。

以上述べた様に、溶離液として0.1 mM硫酸-5 %メタノール-水を用いる水素型陽イオン交換樹脂における紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーは、前述の20%メタノール-水溶離液を用いる方法に比較して、カラム効率の増大および検量線の直線範囲の増大、更には分離カラムの再生を必要としない利点を有し、本法は、都市河川水および生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に良好に応用できることが分かった。

5 陽イオンおよび陰イオン交換樹脂カラムを結合したイオン排除クロマトグラフィーによる生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンの同時定量

5. 1 まえがき

生物学的硝化-脱窒素処理法(4,5)による無機態窒素化合物(アンモニウムイオン)の処理において、アンモニウムイオンは、活性汚でい中に含まれる硝化菌の作用により、炭酸水素イオンの存在下で、亜硝酸イオンあるいは硝酸イオンにまで酸化され、その後、メタノールのような水素供与体の存在下で、この両者を嫌氣的条件下での脱窒素菌の作用により窒素ガスにまで還元して処理される。この生物学的硝化-脱窒素処理工程において、硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンなどの無機態窒素化合物はその形態が刻々と変化するので、これらは、一回の分析的操作により同時に自動計測することが望ましい。

そこで、本研究では、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中のアンモニウム、亜硝酸および硝酸イオンを同時に分離定量するために、前述した紫外吸光検出器を用いる硝酸および亜硝酸イオンの同時定量に関するイオン排除クロマトグラフィーと、電量検出器を用いるアンモニウムイオンの定量に関するイオン排除クロマトグラフィーが共に水系の溶離液を使用していることと紫外吸光検出器が非破壊の検出器であることにおのおの着目して、この二つのイオン排除クロマトグラフィーを“遅延コイル”により結合した方法について検討した。

本法により、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンが一回の分析的操作により約30分以内に同時定量できたのでここに報告する。

5. 2 実験

5. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：日立製034型液体クロマトグラフを用いた。

検出器：柳本製M-215型紫外吸光検出器により硝酸および亜硝酸イオンをモニターし、日立製630型電量検出器により塩基からの水酸化物イオンをモニターした。

記録計：島津製R23I型2ペン記録計を用い、陰イオンと陽イオンのクロマトグラムをおのおの同時記録した。

試料注入器：ガスクロ工業製の二つのループ(おのおの0.1 ml)を有する2連の6方弁方式の試料注入器を用い、おのおののループにより、試料がおのおのの分離カラム内に同時に注入された。

遅延コイル：後述する硝酸および亜硝酸分離用カラムでの不完全な陽イオン交換によって引き起こされたアンモニウムイオンのクロマトグラムの近傍に生じる陽イオンのゴーストピークを、アンモニウムイオンのそれよりも遅らせるために、内径1 mm x 長さ10 m (内容積：7.85 ml)の遅延コイルを紫外吸光検出器とアンモニウムイオン定量用ループの間に挿入した。

5. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陽イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの硫酸により水素型とし，内径9mm×長さ100mmのジャケット付ガラスカラムに充填して亜硝酸および硝酸イオンをイオン排除分離した。一方，日立製2632型強塩基性陰イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2Nの水酸化ナトリウムにより水酸化物型とし，内径9mm×長さ550mmのジャケット付ガラスカラムに充填してアンモニウムイオンをイオン排除分離した。

溶離液：10%メタノール-水を用いた。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液（1000 ppm）は，和光純薬製特級品の対応する塩（ナトリウムおよびカリウム塩）から調製し，適宜希釈して使用した。

陽イオンの標準溶液：陽イオンの標準水溶液（1000 ppm）は，和光純薬製特級品の対応する塩（塩化物および硫酸塩）から調製し，適宜希釈して使用した。

5. 2. 3 操作

Fig. 3.23 に硝酸，亜硝酸およびアンモニウムイオンを同時定量するために用いた液体クロマ

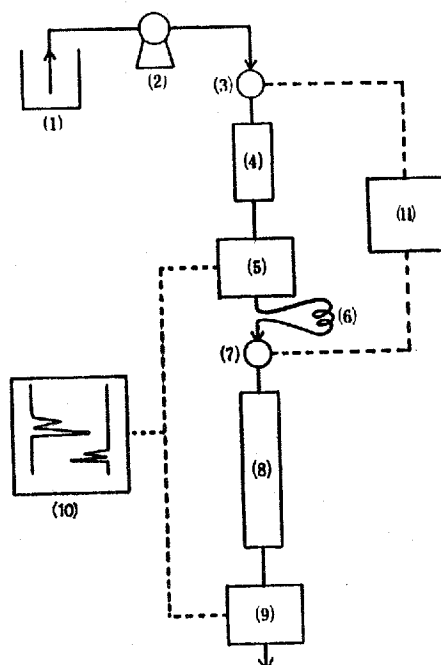


Fig. 3.23 Schematic flow diagram for ion-exclusion chromatography coupled with cation and anion exchange resin columns

(1) Eluent(10% methanol-water); Pump(1 ml/min); (3) Sample loop for determining of nitrate and nitrite ions(0.1 ml); (4) Hydrogen-form cation exchange resin column(9 mm i.d. x 110 mm long); (5) UVD; (6) "Delay coil tube"(1 mm i.d. x 10 m long); (7) Sample loop for determining ammonium ion (0.1 ml); (8) Hydroxide-form anion exchange resin column(9 mm i.d. x 550 mm long); (9) FCD; (10) 2-pen strip chart recorder; (11) Dual sample injector with 2-sample loop

トグラフ装置のフローシートを示す。まず、直列に配置された硝酸および亜硝酸イオン定量用ループ、硝酸および亜硝酸イオン分離用カラム、紫外吸光検出器、遅延コイル、アンモニウムイオン定量用ループ、アンモニウムイオン分離用カラムおよび電量検出器の順に溶離液を1 ml/minの流量で流しておく。次に、上記の二つのループ内に同一の試料を0.1 ml充填した後、おのおのの分離カラム内にそれらを同時に注入し、おのおのの検出器からの出力を記録して二つのクロマトグラムを同時に得た。

5. 2. 4 生物学的硝化-脱窒素処理装置

第三編第二章の1で述べたFig. 3.6に示した処理装置(17,18)を用い、この処理装置中の硝化処理工程中に合成排水としてリン酸イオンを含むアンモニウムイオンを、400 ml/minで連続的に負荷して硝化-脱窒素処理し、各処理工程から試料を採取した。

5. 3 結果および考察

5. 3. 1 メタノール-水溶離液による硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンのイオン排除分離

第三編第三章の3において、硝酸および亜硝酸イオンは、メタノール-水を用いる溶離によりイオン排除分離できることを述べた。そこで、この溶離液により、種々な陽イオン（アルカリおよびアルカリ土類金属イオン）を含む混合物からアンモニウムイオンを分離するために、10%メタノール-水溶離液を用いる陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーを検討した。

まず最初に、10 ppmの硝酸および亜硝酸イオンの混合物を、硝酸および亜硝酸イオン定量用ループに、100 ppmのナトリウムおよびアンモニウムイオンの混合物をアンモニウムイオン定量用ループにおのおの充填し、10%メタノール-水溶離液を用いておのおのクロマトグラムを得た。得られた二つクロマトグラム(Fig. 3.24)は、両者共良好な分離を示した。すなわち、溶離液としての10%メタノール-水が、硝酸および亜硝酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーだけでなくアンモニウムイオンのイオン排除クロマトグラフィーに対しても適用できることを示した。

次に、10 ppmの硝酸および亜硝酸イオンと100 ppmのナトリウムおよびアンモニウムイオンから成る混合物を、硝酸および亜硝酸イオン定量用ループとアンモニウムイオン定量用ループにおのおの充填し、10%メタノール-水溶離液を用いてクロマトグラムを得た。得られた二つのクロマトグラム(Fig. 3.25)は、硝酸および亜硝酸イオンに関しては良好な分離を示した。しかしながら、ナトリウムおよびアンモニウムイオンのクロマトグラムに関しては、ナトリウムおよびアンモニウムイオンに相当するピークに加へ、他に二つのピークが認められた。

そこで、この二つのピークの出現は、硝酸および亜硝酸イオン分離用カラム内での注入試料中の陽イオン濃度が高いために起因する不完全な陽イオン交換により、ナトリウムイオン（塩化ナトリウム）およびアンモニウムイオン（塩化アンモニウム）が対応する酸（おのおの塩酸）ではなく、塩の形でアンモニウムイオン分離用カラム（水酸化物型陰イオン交換樹脂）内に流入し、ここで陰イオン交換することによる水酸化物ナトリウムおよび水酸化物アンモニウムの生成に基づくゴーストピークによるものと考え、硝酸および亜硝酸イオン定量用ループには10 ppmの硝酸

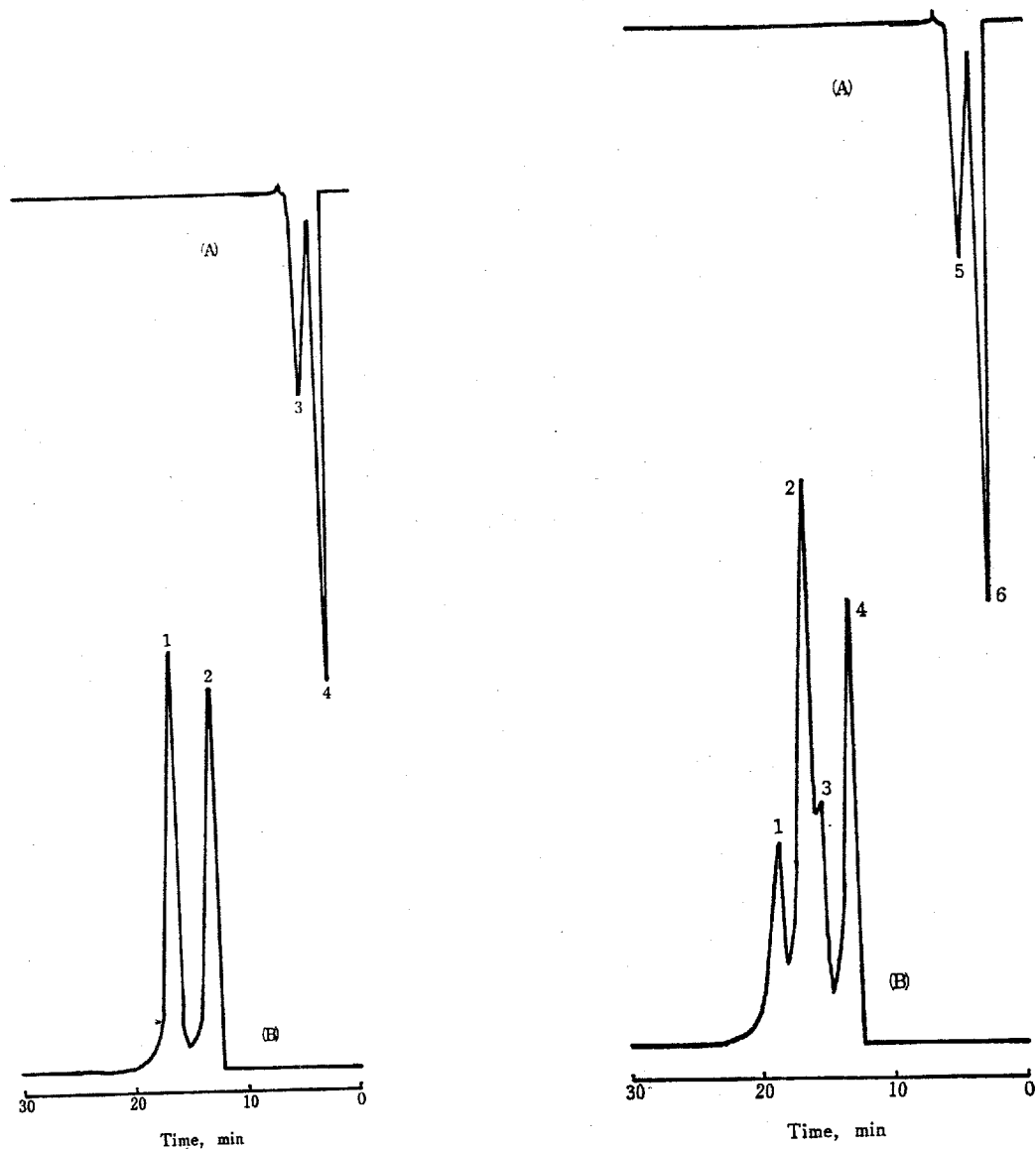


Fig. 3.24 Ion-exclusion chromatograms of nitrate and nitrite, ammonium, and sodium ions by elution with 10 % methanol-water
 (A) Mixture solution containing nitrate ion(10 ppm) and nitrite ion(10 ppm); (B) Mixture solution containing ammonium ion(100 ppm) and sodium ion(100 ppm); (1) Sodium ion; (2) Ammonium ion; (3) Nitrate ion; (4) Nitrite ion; FCD: 2 mA F.S.; UVD: 0.32 A.U.F.S.; The retention volumes of potassium, magnesium, and calcium ions were the similar to that of sodium ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.23

Fig. 3.25 Ion-exclusion chromatograms of nitrate and nitrite, ammonium, and sodium ions by elution with 10 % methanol-water
 (A) and (B): Mixture solution containing nitrate ion(10 ppm), nitrite ion(10 ppm), ammonium ion(100 ppm), and sodium ion(100 ppm); (1) Ghost peak (ammonium ion); (2) Ammonium ion; (3) Ghost peak(sodium ion); (4) sodium ion; (5) Nitrite ion; (6) Nitrate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.23

および亜硝酸イオンと100 ppm のナトリウムおよびアンモニウムイオンから成る混合物を、アンモニウムイオン定量用ループには水だけをおのおの充填し、これらを分離カラム内に同時注入してクロマトグラムを得た。その結果、Fig. 3.26 に示す様に、アンモニウムイオン定量用ループにより水だけをその分離カラム内に注入したにもかかわらず、ナトリウムおよびアンモニウムイオンから成るピークを認めた。したがって、多量の陽イオンを含む試料においては、ゴーストピークを除去するか、あるいはそれをアンモニウムイオンのピークの後に遅らせる必要のあることが分かった。尚、カリウム、マグネシウム、およびカルシウムイオンの保持時間は、ナトリウムイオンのそれとほぼ同様であり、これらの混合物のクロマトグラムでは一つのピークを示した。

5. 3. 2 遅延コイルによる陰イオンと陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの結合

硝酸および亜硝酸イオン分離用カラムでの陽イオン交換反応を完全に進行させるためにその長さを増大させると、第三編第三章の3で述べた様に、亜硝酸イオンはますます分解されやすくなるので、好ましくない。そこで、アンモニウムイオンのピークからゴーストピークを分離する方法について検討した。これは、紫外吸光検出器とアンモニウムイオン定量用ループの間の死容量を増大させることにより可能と思われた。そこで、両者間に内径1 mm x 長さ10 m (内容積: 7.85 ml) の“遅延コイル”を設置した所、ナトリウムおよびアンモニウムイオンのゴーストピークは7.85 ml (7.85 分) 後方に遅らせることができ、Fig. 3.27 に示す様に、良好なクロマトグラムが得られた。

5. 3. 3 検量線

おのおの5 から50 ppmの硝酸および亜硝酸イオンと、おのおの50から500 ppm のナトリウムおよびアンモニウムイオンを含む混合物の0.1 mlを、硝酸および亜硝酸イオン定量用ループとアンモニウムイオン定量用ループにおのおの充填し、10%メタノール-水溶液を用いてクロマトグラムを得た。その結果、得られたクロマトグラムのピーク高さ法による検量線は、Fig. 3.28 に示す様に、アンモニウムイオンに関して少なくとも500 ppm まで、硝酸および亜硝酸イオンに関して少なくとも20 ppmまで良好な直線性を示した。

尚、別の実験で得られた検量線の下限值は、硝酸イオンに関して0.05 ppm、亜硝酸イオンに関して0.05 ppmおよびアンモニウムイオンに関して0.2 ppm 程度であった。

5. 3. 4 検出限界

おのおのの分離カラムへの0.1 ml注入時における検出限界は、S/N=2 において、硝酸イオンに関して 6.2 ppb、亜硝酸イオンに関して5.7 ppb およびアンモニウムイオンに関して33 ppbであり、本法が高感度な分析法であることを認めた。

5. 3. 5 再現性

おのおの10 ppmの硝酸および亜硝酸イオンと100 ppm のアンモニウムイオンを含む混合物の

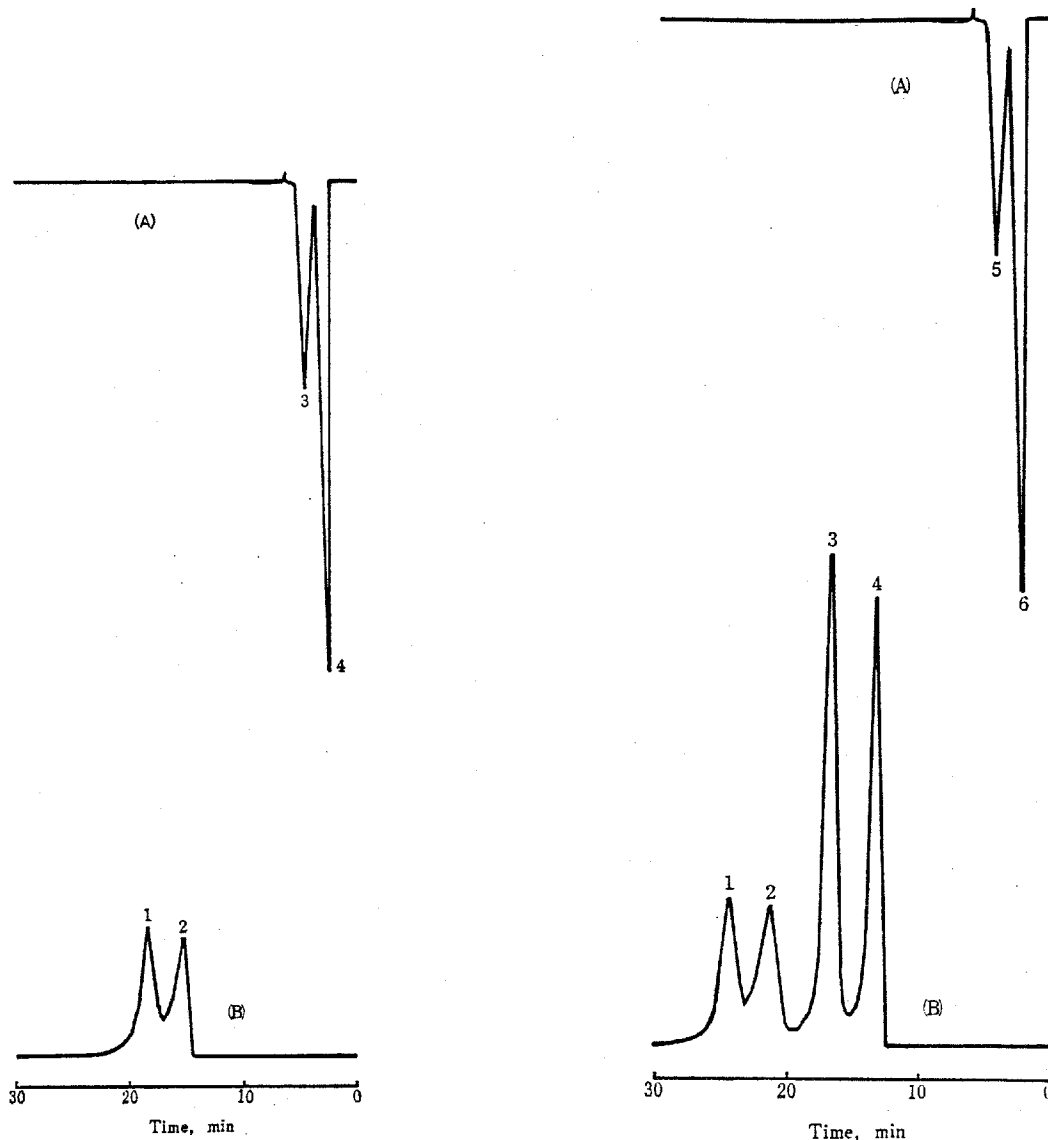


Fig. 3.26 Ion-exclusion chromatograms of nitrate, nitrite, ammonium, and sodium ions by elution with 10 % methanol-water

(A) Mixture solution containing nitrate ion(10 ppm), nitrite ion(10 ppm), ammonium ion(100 ppm), and sodium ion(100 ppm); (B) Water alone; (1) Ghost peak(ammonium ion); (2) Ghost peak(sodium ion); (3) Nitrite ion; (4) Nitrate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.23

Fig. 3.27 Ion-exclusion chromatograms of nitrate, nitrite, ammonium, and sodium ions by elution with 10 % methanol-water using "delay coil tube"

(A) and (B): Mixture solution containing nitrate ion(10 ppm), nitrite ion(10 ppm), ammonium ion(100 ppm), and sodium ion(100 ppm); (1) Ghost peak(ammonium ion); (2) Ghost peak(sodium ion); (3) Ammonium ion; (4) Sodium ion; (5) Nitrite ion; (6) Nitrate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.23

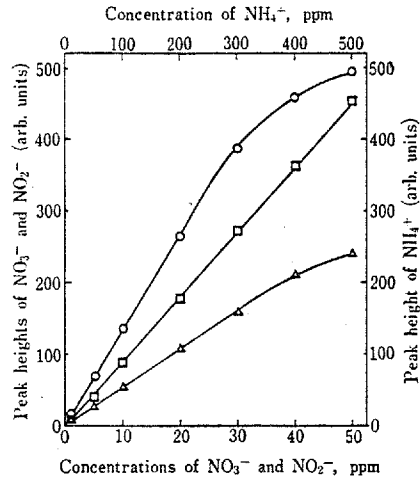


Fig. 3.28 Calibration curves of nitrate, nitrite, and ammonium ions
 -○- Nitrate ion; -△- Nitrite ion; -□- Ammonium ion

0.1 ml 注入時におけるピーク高さの再現性 (n=6) は、硝酸イオンに関して1.2 %、亜硝酸イオンに関して2.2 %およびアンモニウムイオンに関して2.0 %の変動係数であり、満足すべき結果であった。

5. 3. 6 生物学的硝化-脱窒素処理工程水への応用

本法を、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンの同時定量に応用した。試料はすべて0.45 μm のメンブランフィルターによりろ過後、同一の試料をおのおのの分離カラム内に注入した。

Fig. 3.29 の A, B および C は、原水、硝化処理工程水および脱窒素処理工程水のクロマトグラムをおのおの示す。Fig. 3.29 より明かな様に、三者共良好なクロマトグラムが約30分以内に得られ、本法が生物学的硝化-脱窒素処理工程水に対して良好に応用できることを認めた。

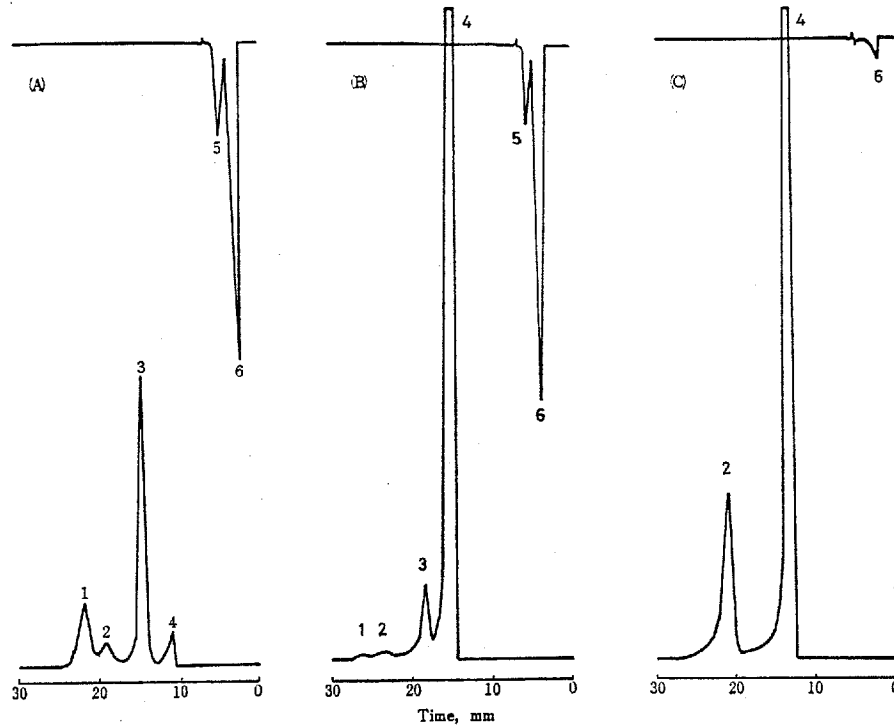


Fig. 3.29 Ion-exclusion chromatograms of biological nitrification-denitrification process waters

(A) Raw water in biological nitrification-denitrification; (B) Nitrification process water (The sample solution of 25-fold dilution was injected onto the cation exchange resin column for the determination of nitrate and nitrite ions); (C) Denitrification process water; (1) Ghost peak (ammonium ion); (2) Ghost peak (sodium, potassium, magnesium, and calcium ions); (3) Ammonium ion; (4) Sodium, potassium, magnesium, and calcium ions; (5) Nitrite ion; (6) Nitrate ion; The chromatographic conditions are the same as in Fig. 3.23

6 要約

種々の排水中に含まれる無機態窒素化合物の活性汚でいを用いる生物学的硝化-脱窒素処理において、その処理工程を自動計測管理し、適正な処理を遂行するための研究の一環として、この処理工程において重要な役割を演ずるアンモニウム、亜硝酸および硝酸イオン、更には炭酸水素イオンの迅速で高感度な自動計測法を開発した。すなわち、硝化処理工程水中の炭酸水素イオンは、水素イオンが検出できる電量検出器を用いる水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより、硝化および脱窒素処理工程水中のアンモニウムイオンは水酸化物イオンが検出できる電量検出器を用いる水酸化物型陰イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより、硝化および脱窒素処理工程水中の硝酸および亜硝酸イオンは、紫外吸光検出器を用いる水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより分離定量することのできる方法を確認した。更に、硝化および脱窒素処理工程水中の硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンは、紫外吸光検出器を用いる水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーと電量検出器を用いる水酸化物型陰イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーとを遅延コイルを用いて結合した方法により同時定量することができた。以上の結果のごとく、イオン排除クロマトグラフィーは、生物学的硝化-脱窒素処理における処理工程の円滑、適正な運転のための管理指標となりうることを示すなど、本法の有用性を明かにした。

第四章 脱リン処理工程水への応用

1 水素型陽イオン交換樹脂を用いる電量検出型イオン排除クロマトグラフィーによる脱リン処理工程水中のリン酸イオンの分離定量

1. 1 まえがき

閉鎖性水域の富栄養化においては、種々の排水中に含まれる前述したBOD成分や窒素成分に加えて、無機態のリン成分がその主要な原因物質として知られている。

種々の排水中に含まれるリン酸イオンは、金属塩を用いる凝集沈澱法により処理されるが、この処理工程においては、リン酸イオンに対応してアルミニウムや鉄塩を化学量論的に添加する必要があるため、リン酸イオンの迅速な自動計測法がこの処理工程を適正に管理するためには是非とも必要である。

リン酸イオンの定量は、通常、JIS法(19)およびStandard Methods(20)に代表される様に、種々な反応試薬を用いる比色法(モリブデンイエロー法あるいはモリブデンブルー法)により行われている。しかしながら、これらの方法は、前述したアンモニウム、亜硝酸および硝酸イオンのそれと同様に、共存イオンの妨害を受けやすく、測定に長時間を要するなど富栄養化成分の処理工程における自動計測法としては甚だ不向きであり、リン酸イオンの迅速な自動計測法の確立が強く要望されている。

そこで、本研究においては、以上述べた脱リン処理工程におけるリン酸イオンの定量を、電量検出型イオン排除クロマトグラフィーにより自動計測する方法について検討した。すなわち、本研究の目的は、このイオン排除クロマトグラフィーが、従来の方法に変わる方法として、脱リン処理工程水中のリン酸イオンの迅速かつ高感度な自動計測法として有用であることを明らかにすることにある。

その結果、脱リン処理工程水中のリン酸イオンは、水素イオンが検出できる電量検出器を用いる水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより、種々の共存陰イオンを含む試料から迅速に分離定量が可能であることが分かったので報告する。

1. 2 実験

1. 2. 1 装置

液体クロマトグラフ：Spectra-Physics社製3500B型高速液体クロマトグラフを用いた。

検出器：日立製630型電量検出器および柳本製C-202型導電率を検出器をおのおのお使い、酸からの水素イオンを検出し、両者の検出器応答を比較した。

記録計：日立製056型記録計を用いた。

インテグレーター：Auto Lab社製System I型コンピューティングインテグレーターおよびタケダ理研製TR-2213型デジタルインテグレーターを用い、両検出器からの信号により陰イオン

の保持時間およびピーク面積を印字記録した。

分光光度計：島津製UV-210型分光光度計を用い、実際試料水中のリン酸イオンを比色法(20)により定量した。

1. 2. 2 試薬

イオン交換樹脂：日立製2613型強酸性陽イオン交換樹脂（粒径 $17\mu\text{m}$ ，架橋度8%）を約2N硫酸により水素型とし、内径9 mm x 長さ550 mmのジャケット付ガラスカラムに充填して 30°C で使用した。

陰イオンの標準溶液：陰イオンの標準水溶液（1000 ppm）は、和光純薬製特級品の対応する塩（ナトリウムおよびカリウムイオン）から調製し、適宜希釈して使用した。

有機溶媒：和光純薬製特級品のアセトンを用いて蒸留水中に溶解し、溶離液として用いた。

1. 2. 3 操作

液体クロマトグラフ内に付設されている0.1 mlから2 ml容量のループインジェクターを用いて試料を分離カラム内に注入し、1 ml/minの溶離液流量によりリン酸イオンを含む陰イオンのクロマトグラムを両検出器により得た。

1. 2. 4 脱リン処理装置

鉄やアルミニウムなどの金属塩を用いる凝集沈澱法に基ずく脱リン処理装置(10)を用いてこの処理工程から試料を適宜採取し、分析に供した。

1. 3 結果および考察

1. 3. 1 アセトン-水溶離液による共存陰イオンからのリン酸イオンのイオン排除分離

第二編第二章の3において、リン酸イオンは、塩化物イオンや硫酸イオンの様な強酸性陰イオンから水を用いる溶離により完全分離できないがアセトン-水を用いる溶離により分離可能なことを述べた。そこで、強酸性の陰イオンとして塩化物、硫酸および硝酸イオンを、極めて弱い酸の陰イオンとして炭酸水素イオンをおのおのの選び、これらを含む試料中のリン酸イオンのイオン排除分離について検討した。

Fig. 3.30 は、水溶離液による共存陰イオンとリン酸イオンのイオン排除クロマトグラムを示す。これら共存陰イオンのpKから予想される様に、リン酸イオンの強酸性陰イオンからの不完全な分離と炭酸水素イオンからの完全な分離を示した。しかしながら、溶離液中のアセトン濃度の増大によりリン酸イオンの保持容量が増大し、炭酸水素イオンのそれは少し減少し、60%アセトン-水溶離液では、Fig. 3.31 に示す様に、リン酸イオンは強酸性陰イオンと炭酸水素イオンからの良好に分離できた。そこで、以下の実験ではこの溶離液を用いることとした。

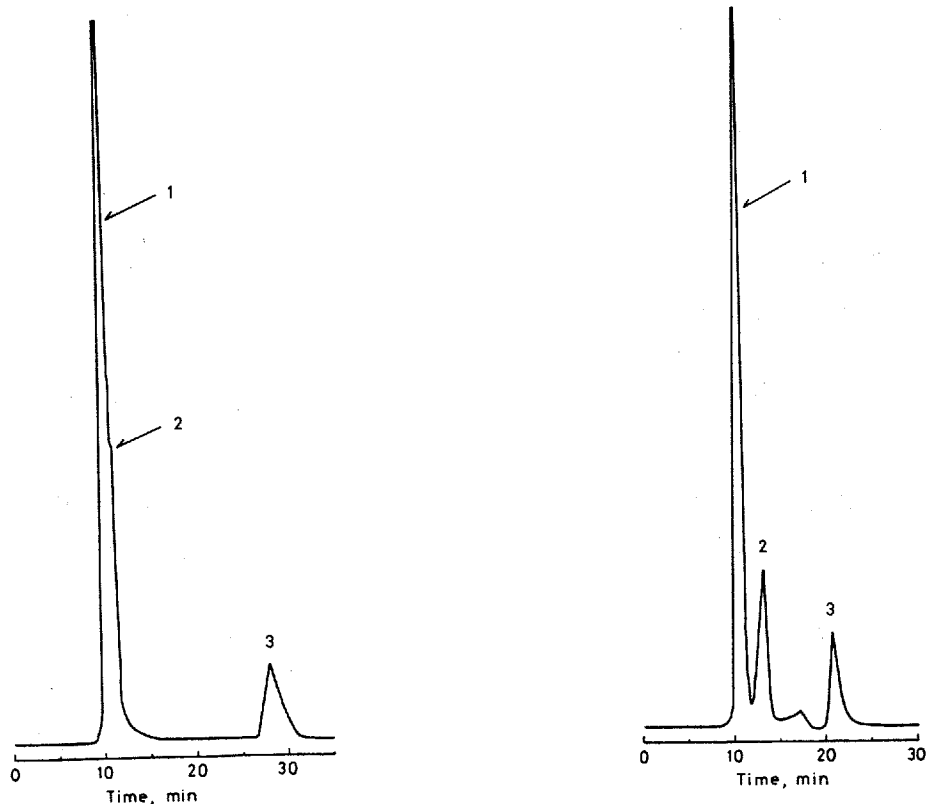


Fig. 3.30 Ion-exclusion chromatogram of the mixture of chloride, sulfate, nitrate, phosphate, and bicarbonate ions obtained by elution with water alone
 Detector: FCD(1 mA F.S.); (1) Chloride, sulfate, and nitrate ions; (2) Phosphate ion; (3) Bicarbonate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

Fig. 3.31 Ion-exclusion chromatogram of the mixture of chloride, sulfate, nitrate, phosphate, and bicarbonate ions obtained by elution with 60 % acetone-water
 Detector: FCD(1 mA F.S.); (1) Chloride, sulfate, and nitrate ions; (2) Phosphate ion; (3) Bicarbonate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

1. 3. 2 検出器応答における溶離液中のアセトンの影響

強酸性の陰イオン（塩化物イオン）、弱酸性の陰イオン（リン酸イオン）および極めて弱い酸の陰イオン（炭酸水素イオン）の電量および導電率検出器における溶離液中のアセトンの影響を0から60%の濃度範囲で検討した。

Fig. 3.32 は、おのおの10 ppmの上記の陰イオンのクロマトグラムピーク面積から求めた相対値として、導電率検出器によって得られた結果を示す。0%アセトン-水（水）溶離液によって得られた導電率検出器応答は、塩酸、リン酸および炭酸の順に減少し、その当量導電率の減少の順に減少することが分かった。一方、導電率検出器応答は、溶離液中のアセトン濃度の増大により、三者共ほぼ直線的に減少することを示し、炭酸水素イオンに致っては40%アセトン-

水溶液において最早検出されなかった。しかしながら、電量検出器によって得られた結果は、Fig. 3.33 に示す様に、アセトン濃度の増大によりリン酸イオンと炭酸水素イオンにおいて少し減少し、塩化物イオンに致っては全く減少しなかった。以上の結果は、塩化物イオンが60%アセトン-水においても完全にイオン化しており、この水素イオンが電量検出器によりモニターされていることを示した。一方、リン酸イオンと炭酸水素イオンの60%アセトン-水における電量検出器応答の減少が、同じ条件下での導電率検出器応答に比較して極立って小さい結果は、電量検出器におけるこれらの弱酸からの水素イオンとp-ベンゾキノンの間の定電位電解反応が、60%

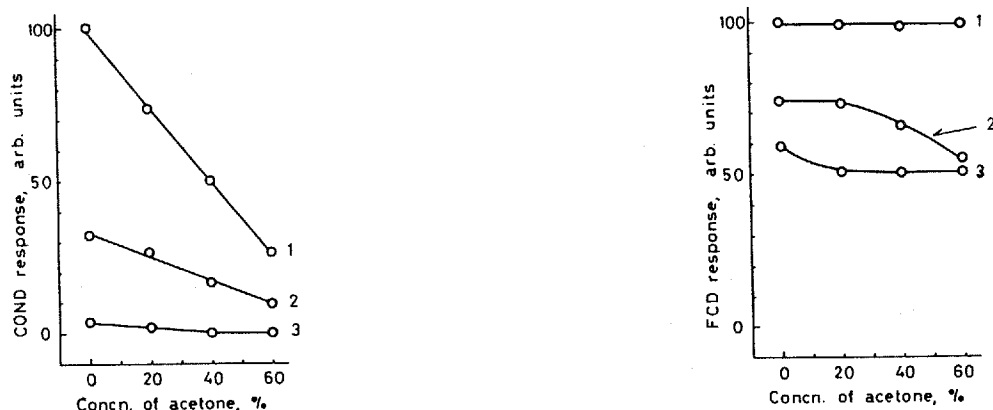


Fig. 3.32 Effect of acetone on COND responses of strong acid anion(chloride ion), weak acid anion(phosphate ion), and very weak acid anion(bicarbonate ion) (1) Chloride ion; (2) Phosphate ion; (3) Bicarbonate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

Fig. 3.33 Effect of acetone on FCD responses of strong acid anion(chloride ion), weak acid anion(phosphate ion), and very weak acid anion(bicarbonate ion) (1) Chloride ion; (2) Phosphate ion; (3) Bicarbonate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

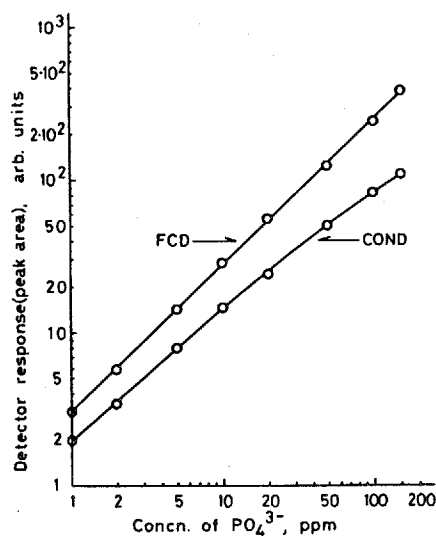


Fig. 3.34 Relationship between FCD or COND responses and concn. of phosphate ion

アセトン-水においてさえもかなり進行していることを示唆するものである。これは、電量検出器の際立った特長である。

1. 3. 3 検量線

電量および導電率検出器によるリン酸イオンの検量線を、1 から150 ppm の濃度範囲で検討した。用いた溶離液は60%アセトン-水であり、この時の試料注入容量は2 mlである。得られた検量線は、Fig. 3.34 に示す様に、電量検出器において良好な直線を示したが、導電率検出器において傾斜した。これと同様な結果は、第二編第二章で述べた炭酸水素イオンの検量線の結果においても認められており、リン酸イオンの様な弱酸性陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける電量検出器の有用性を示すものである。

そこで、以下の実験では電量検出器を用いた。

1. 3. 4 検出限界

1 ppm のリン酸イオンの1 ml注入時における電量検出器によって得られた検出限界は、S/N=2 において、26.8ppb (26.8 ng) であり、電量検出器が高感度な検出器であることを認めた。

1. 3. 5 再現性

電量検出器による10 ppmのリン酸イオンの1 ml注入時におけるクロマトグラムのピーク面積の再現性は、2.2 %の変動係数(n=6) であり、満足すべき結果であった。

1. 3. 6 都市下水および脱リン処理工程水への応用

本法を、都市下水のBOD処理における流入水(原水)と処理水および工業排水の凝集沈澱法による脱リン処理工程水中のリン酸イオンの分離定量に対しておのおの応用した。Fig. 3.35 に

Table 3.8 Analytical results for actual samples

Sample	Phosphate ion concn. (ppm)	
	Present method	Molybdenum-blue method
Domestic sewage(influent water)	5.1	5.2
Domestic sewage(treated water)	4.5	4.2
Phosphorus removal process water (influent water)	23.6	24.4
Phosphorus removal process water (treated water)	1.4	1.4

脱リン処理工程水のクロマトグラムを示す。原水および処理水のクロマトグラムは、共に共存陰イオンからのリン酸イオンの良好な分離を示した。

Table 3.8 に、実際試料の本法と比色法(20)による分析結果の比較を示す。両者の間には良好分析結果の一致が認められた。

この様に、電量検出器を用いるリン酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーは、種々な実際試料に対して良好に応用できることを認めた。

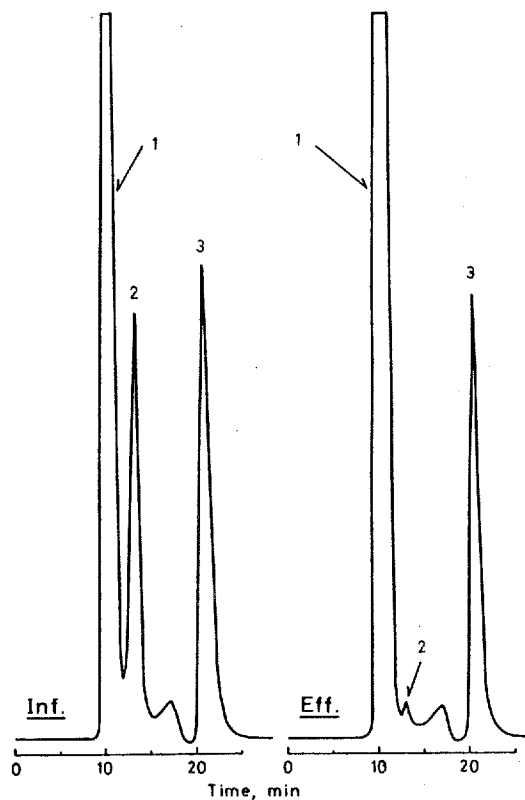


Fig. 3.35 Ion-exclusion chromatograms of phosphorus removal process water
FCD: 0.5 mA F.S.; (1) Strong acid anions; (2) Phosphate ion; (3) Bi-carbonate ion; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 2.5

2 要約

種々な排水中に含まれるリン酸イオンを凝集沈澱法により脱リン処理する際の処理工程自動計測管理法に関する研究のため、溶離液として60%アセトン-水を用いる水素型陽イオン交換樹脂による電量検出型イオン排除クロマトグラフィーをリン酸イオンの迅速な定量分析法として研究した。その結果、脱リン処理工程水、都市下水の処理工程水中のリン酸イオンは、本法により高感度かつ迅速に分離定量することを可能にした。本法においては、リン酸イオンが弱酸性陰イオンであるため、検量線の直線性の点と溶離液中の有機溶媒（アセトン）濃度の増大による検出器応答の減少が少ない点で導電率検出器よりも電量検出器の方が有用であることが分かった。この様に、電量検出器を用いるイオン排除クロマトグラフィーは、種々の共存陰イオンを含む実際試料中のリン酸イオンの分離定量に対して有効な計測法であることを認めた。

文献

- 1) 石原 豊, 田中 一彦, 砂原 広志: 水処理技術, 14, 1279 (1973).
- 2) 石原 豊, 田中 一彦, 砂原 広志, 鈴木 宏: *ibid.*, 16, 253 (1975).
- 3) 石原 豊, 田中 一彦, 砂原 広志: *ibid.* 16., 659 (1975).
- 4) 遠矢 泰典, 鈴木 康司, 矢口 昌司: 用水と廃水, 12, 1076 (1970).
- 5) 遠矢 泰典, 鈴木 康司, 矢口 昌司: *ibid.* 13., 182 (1971).
- 6) 田中 一彦, 安江 鉦次, 大津 正見, 石原 豊, 中嶋 邦雄: 水処理技術, 23, 591 (1982).
- 7) 田中 一彦, 安江 鉦次, 大津 正見, 石原 豊, 中嶋 邦雄: 水処理技術, 23, 689 (1982).
- 8) 小島 貞男, 須藤隆一, 桜井 敏郎, 松本 利通: "脱窒・脱磷技術と富栄養化対策", p.1,007 (1977), (アイピーシー).
- 9) E. F. Barth and D. Stensel: *J. Water Pollu. Contr. Fed.*, 53, 1691 (1981).
- 10) 上養 義則, 田中 一彦, 中嶋 邦雄, 石原 豊, 石塚 紀夫: 水処理技術, 22, 209 (1981).
- 11) R. A. Mackinney: "Microbiology for Sanitary Enginners". p.68 (1962), (Magraw-Hill).
- 12) Y. Takata and G. Muto: *Anal. Chem.*, 45, 1864 (1973).
- 13) R. B. Schaffer, C. E. Van Hall, G. N. McDermatt, D. Barth, V. A. Stenger, S. J. Sebesta, and S. H. Griggs: *J. Water Poll. Contr. Fed.*, 37, 1545 (1965).
- 14) 田中 正雄, 山口 昇, 小野 英男: 発酵研報告, 25, 51 (1964).
- 15) E. R. Hall and K. L. Murphy: *Water Res.*, 14, 297 (1980).
- 16) 文献 8) のp.481.

- 17) 田中 一彦, 安江 鉦次, 大津 正見, 石原 豊, 中嶋 邦雄: 水処理技術, 23, 591 (1982).
- 18) 田中 一彦, 安江 鉦次, 大津 正見, 石原 豊, 中嶋 邦雄: 水処理技術, 23, 689 (1982).
- 19) JIS, K 0102 (1981).
- 20) "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters", American Public Health Association (1975).
- 21) O. Samuelson, "Ion Exchange Separations in Analytical Chemistry", p.138, (1963), (Amqvist and Wisksell).
- 22) E. Martinsson and O. Samuelson: J. Chromatogr., 50, 429 (1970).
- 23) K. Jones: "Comprehensive Inorganic Chemistry", (Ed. by J. Bailar, R. J. Emeleus, R. Nyholm, and Trotman-Dickenson, p.366 (1973), (Pergamon, Oxford).
- 24) W. F. Koch: Anal. Chem., 51, 1571 (1979).
- 25) T. S. Steavens and J. C. Davis: Anal. Chem., 53, 1488 (1981)
- 26) Y. Hanaoka, T. Murayama, S. Muramoto, T. Matuura, and A. Nanba: J. Chromatogr., 239, 537 (1982).
- 27) 田中 一彦, 石原 豊: 水処理技術, 23, 767 (1982)
- 28) J. Slanina, W. A. Lingerak, and L. Bergman: Z. Anal. Chem., 280, 365 (1976)

第四編 総括

本研究は、閉鎖性水域における富栄養化現象の原因物質である排水中に含まれるBOD、窒素およびリン成分の処理において、最適な処理のための排水処理工程自動計測管理法を確立するための研究の一環である。これら富栄養化成分の処理における工程水中の陰イオンおよび陽イオンを、迅速かつ高感度におのおの自動計測するための方法を確立するために、水素型および水酸化物型のイオン交換樹脂を用いて電量および紫外吸光検出器型イオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎研究を遂行し、処理工程の自動計測管理に適用することを目的としたものである。

第一編では、上述の富栄養化成分の処理法とその処理工程自動計測管理法の現状、更には陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの現状について述べると共に、本研究の目的と意義について述べた。

第二編では、イオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎として、水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーについて研究した。すなわち、陰イオンを分離カラム内での陽イオン交換反応により対応する酸として溶出させ、この酸からの水素イオンを電量検出器により測定することにより分離、検出する方法を確立すると共に種々の陰イオンの溶出挙動についても詳しく研究した。その結果、水を用いる溶離による種々な陰イオンの保持容量は、その酸の pK_1 に依存して増大し、イオン排除作用に基づくゲルクロマトグラフィーとして説明可能であることが分かった。すなわち、 pK_1 に差のある陰イオンは、水を用いる溶離により分離を可能にした。又、水を用いる溶離において接近した pK_1 を有するために接近した保持容量を示す弱酸性陰イオンの分離は、水溶離液中にアセトンやジオキサンの様な低誘電率の有機溶媒を添加することによるその pK_1 の増大効果あるいは強酸の添加によるその解離度の減少効果を利用して分離を可能にした。以上の様に、イオン排除クロマトグラフィーにおける陰イオンの溶離挙動に関する基礎的な知見を得ることができ、本法が弱酸性陰イオンの分離分析法として有効な方法であることを認めた。

第二編では、水酸化物型陰イオン交換樹脂を用いる陽イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーについて研究した。すなわち、陽イオンを分離カラム内での陰イオン交換反応により対応する塩基として溶出させ、この塩基からの水酸化物イオンを電量検出器により測定することにより分離、検出する方法を確立すると共に、種々な陽イオンの溶出挙動についても研究した。その結果は、陰イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおけると同様に、 pK の違いにより弱塩基性陽イオン、たとえば、アンモニウムイオンが強塩基性陽イオン（ナトリウムおよびカリウムイオン）からイオン排除によって分離が可能なることを示した。又、脂肪族アミンイオンの様に疎水基を有する陽イオンは、イオン排除作用よりはむしろ疎水性の違い（分子量の違い）を利用した吸着クロマトグラフィーであり、これらの相互分離が可能なることを認めた。以上の結果は、陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーにおける弱塩基性陽イオンの応用分野において有効な分離法であることを示すものである。

第三編では、富栄養化成分の処理工程水、すなわち、生物学的BOD処理工程水中の脂肪族カルボン酸イオン、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の炭酸水素、亜硝酸、硝酸およびアンモニウムイオン、脱リン処理工程水中のリン酸イオン、都市下水および都市河川水中のこれら陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーによる分離定量法について研究した。

BOD処理工程水中の脂肪族カルボン酸イオンは、水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーにより、迅速に分離定量できることが分かり、BOD処理工程における脂肪族カルボン酸イオンの動態を明かにすることができ、本法がBOD処理工程の円滑、適正な運転のための管理指標となりうることを見いだした。

生物学的硝化処理工程水中の炭酸水素イオンは、水素型陽イオン交換樹脂を用いる陰イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーにより迅速に分離定量を可能にした。検出器として導電率検出器も使用可能であったが、検量線が広範囲にわたって良好な直線性を示す点で、電量検出器の方が有用であることを認めた。本法により、種々のpH条件下での炭酸水素イオンの動態を明かにすることができ、炭酸水素イオンの自動計測は硝化処理の円滑、適正な運転のための管理指標となりうることを認めた。

生物学的硝化処理工程水中のアンモニウムイオンは、水酸化物イオンが検出できる電量検出器を用いる水酸化物型陰イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより迅速に分離定量を可能にした。この際、検出器としては導電率検出器も使用可能であったが、アンモニウムイオンの様な弱塩基性の陽イオンの検量線が広範囲にわたって直線を示す点で、電量検出器の方が有用であることが分かった。

生物学的脱窒素処理工程水中の亜硝酸および硝酸イオンは、水素型陽イオン交換樹脂を用いるイオン排除クロマトグラフィーにより迅速に同時定量が可能であった。この場合の検出器としては、種々の共存陰イオンから両者を高感度かつ選択的に検出するために、電量あるいは導電率検出器の代りに、210 nmにおける紫外吸光検出器を使用した。溶離液としては、硝酸イオンから亜硝酸イオンをイオン排除により完全分離するために、溶離液中の有機溶媒濃度（メタノール）の増大、あるいは強酸（硫酸）の添加による溶離液のpHの減少による亜硝酸イオンの保持容量の増大効果を利用するため、メタノール-水あるいはメタノール-硫酸-水溶離液を用いた所、両者は効率よく短時間（約5分）で完全分離することができた。紫外吸光検出器の使用は、イオン排除クロマトグラフィーにおいて、硝酸イオンと同一の保持容量を示す強酸性陰イオン（塩化物、硫酸イオン）からそれを選択的に検出するために不可欠なものである。又、本法は、都市下水の処理水およびその他の環境水に対しても適用可能である。

以上述べた生物学的硝化-脱窒素処理工程において、アンモニウム、亜硝酸および硝酸イオンは酸化あるいは還元作用を受けてその形態が刻々変化するので、これらを同時定量することが必要であり、亜硝酸および硝酸イオンの同時定量に関する陰イオンの紫外吸光検出型イオン排除クロマトグラフィーと、アンモニウムイオンの定量に関する陽イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィーを遅延コイルを用いて結合することにより、アンモニウム、亜硝酸および硝酸イオンが約30分で同時定量できる方法を開発した。本法は、実際試料にも良好に適用できることが判明した。

脱リン処理工程水中のリン酸イオンは、水素イオンが検出できる電量検出器を用いる水素型陽イオン交換樹脂におけるイオン排除クロマトグラフィーにより、種々の共存陰イオンを含む試料から、迅速に分離定量が可能であった。この際、検出器としては上述した炭酸水素イオンと同様

にリン酸イオンが弱酸性陰イオンであるため、検量線の直線性の点と溶離液中の有機溶媒（アセトン）濃度の増大による検出器応答の低下が少ない点で、導電率検出器よりも電量検出器の方が有用であることを認めた。本法は、都市下水処理場におけるBOD処理工程水に対しても適用可能であった。

以上のごとく、本研究によって得られた成果は、陰イオンおよび陽イオンのイオン排除クロマトグラフィーの分析化学的基礎を確立し、その応用としては富栄養化成分の処理工程の自動計測管理において重要な役割を演ずる脂肪族カルボン酸、炭酸水素、硝酸、亜硝酸およびリン酸イオンの様な陰イオンを電量および紫外吸光検出器を用いるイオン排除クロマトグラフィーにより、アンモニウムイオンの様な陽イオンを電量検出器を用いるイオン排除クロマトグラフィーにより迅速に高感度で分離定量する分析化学的な方法を確立したものである。

この成果により、富栄養化成分の処理を適正にする自動計測管理法に極めて有効な分析法であり、更に、環境水中の各種イオンの迅速測定に役立ち、環境化学における重要な分析法として有効であることを認めた。

謝辞

本研究の遂行に当たり、終始有意義な御指導と御助言を賜わった広島大学工学部教授 砂原 広志先生に厚く感謝します。又、本論文を纏めるに当たり、貴重な御助言をいただいた広島大学工学部教授 須沢 利郎先生、同教授 服部 信先生、同教授 永井 史郎先生、同教授 木曾 義之先生に厚く御礼申し上げます。

本研究は、工業技術院 特別研究“臨海型産業排水の総合自動管理システムに関する研究”（昭和49年度より昭和53年度）、“富栄養化成分による環境汚染の防止技術に関する研究”（昭和54年度より昭和55年度）および“排水高度処理システムの計測管理に関する研究”（昭和56年度より昭和59年度）の一部として遂行されたものである。長期に亘る本研究の遂行に際して御激励を頂くと共に、御便宜を計って頂いた工業技術院 名古屋工業技術試験所 第三部第一課 主任研究官 工学博士 石塚 紀夫氏、同所 第三部第一課長 理学博士 柴田 正三氏、同所第三部長 工学博士 村松 広重氏、同所 所長 工学博士 長瀬 俊治氏、同所 元所長 理学博士 犬飼 鑑氏に対し、衷心より感謝致します。尚、本研究の遂行に当たり、同所、第三部第一課の諸兄の御協力と御援助をいただいたことを付記し、ここに深謝いたします。

報文対称表

本論文 編 章	報 文	掲 載 誌	共 著 者
二 二	1) 水素型陽イオン交換樹脂による陰イオンの電量検出型液体クロマトグラフィー.	分析化学, 24, 235 (1975).	石原 豊 砂原 広志
	2) Elution behaviour of acids in ion-exclusion chromatography using a cation exchange resin.	J. Chromatogr., 174, 153 (1979).	T. Ishizuka H. Sunahara
	3) 水素型陽イオン交換樹脂を用いるリン酸イオンのイオン排除クロマトグラフィー.	分析化学, 26, 102 (1977).	中嶋 邦雄 砂原 広志
	4) 水素型陽イオン交換樹脂を用いるリン酸、亜リン酸、次亜リン酸各イオンの電量検出型イオン排除クロマトグラフィー.	分析化学, 27, 95 (1978).	砂原 広志
	5) Ion-exclusion chromatography of condensed phosphates on an anion-exchange resin.	J. Chromatogr., 190, 77 (1980).	T. Ishizuka
二 三	6) Ion-exclusion chromatography of the ammonium ion on an anion-exchange resin. (note)	J. Chromatogr., 177, 21 (1979).	T. Ishizuka H. Sunahara
	7) Chromatography of aliphatic amines on an anion-exchange resin.	J. Chromatogr., 172, 484 (1979).	T. Ishizuka H. Sunahara
三 二	8) 電量検出型液体クロマトグラフィーによる有機酸の定量; プチルアルコールの活性汚水による分解過程への応用.	分析化学, 23, 380 (1974).	石原 豊 砂原 広志 三上 栄一
三 三	9) 電量検出器を用いるイオン排除クロマトグラフ法による生物学的硝化工程水中の炭酸水素イオンの定量.	分析化学, 30, 358 (1981).	
	10) 電量検出型イオン排除クロマトグラフ法による硝化および脱窒工程中のアンモニウムイオンの測定	水処理技術, 21, 1003 (1980).	石塚 紀夫

本論文 編 章	報文	掲載誌	共著者
三 三	1 1) 紫外吸光検出器を用いるイオン排除クロマトグラフ法による生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸及び亜硝酸の同時定量	分析化学, 30, 661 (1981).	
	1 2) 溶離液として希硫酸のメタノール水溶液を用いるイオン排除クロマトグラフ法による生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸及び亜硝酸の同時定量.	水処理技術, 23, 855 (1982).	石原 豊 中嶋 邦雄
	1 3) 陽イオン及び陰イオン交換樹脂カラムを結合したイオン排除クロマトグラフ法による生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の硝酸, 亜硝酸及びアンモニウムイオンの同時定量. (技術報告)	分析化学, 31, T106 (1982).	
三 四	1 4) Determination of phosphate in waste waters by ion-exclusion chromatography with coulometric detection.	Water Res., 16, 719 (1982).	T. Ishizuka

参 考 论 文

参考論文目録

- 1) 活性汚泥法の処理工程自動計測法：水処理技術，14，1279 (1973)，石原 豊，田中 一彦，砂原 広志。
- 2) 活性汚泥法によるフェノール系排水処理工程の計測管理法：水処理技術，16，253 (1975)，石原 豊，田中 一彦，砂原 広志，鈴木 宏。
- 3) 積分球式濁度法による活性汚泥量の測定：水処理技術，16，659 (1975)，石原 豊，田中 一彦，砂原 広志。
- 4) 活性汚泥法によるアンモニウムイオン含有排水硝化処理工程の計測管理法：水処理技術，23，591 (1982)，田中 一彦，安江 鉦次，大津 正見，石原 豊，中嶋 邦雄。
- 5) 酸化還元電位による生物学的脱窒素処理工程の自動制御：水処理技術，23，689 (1982)，田中 一彦，安江 鉦次，大津 正見，石原 豊，中嶋 邦雄。
- 6) 浸漬型固定床を用いる有機系排水の処理：水処理技術，23，935 (1982)，石原 豊，田中 一彦，中嶋 邦雄。
- 7) 電量検出器を用いるイオン排除クロマトグラフ法による金属工業排水中のフッ化物イオンの定量：分析化学，32，439 (1983)，田中 一彦。
- 8) 電量検出器を用いるイオンクロマトグラフィーによるアルカリ金属及びアルカリ土類金属イオンの分離定量：分析化学，32，626 (1983)，田中 一彦，石原 豊，中嶋 邦雄。