

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*

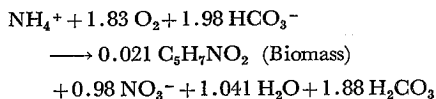
田 中 一 彦**

(1980年11月10日受理)

溶離液として水を用いる H⁺ 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法により、生物学的硝化工程水中の HCO₃⁻ が定量された。分離カラムから溶出した HCO₃⁻ は炭酸として導電率検出器及び H⁺ を検出するための電量検出器によってモニターされた。種々の共存陰イオン (Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, NO₂⁻ 及び PO₄³⁻) からの HCO₃⁻ の良好な分離は内径 9mm×200mm の分離カラムを用いることによって達成できた。炭酸は極めて弱い酸であるため導電率検出器による検量線は非直線性を示したが、電量検出器によるそれは少なくとも 200 ppm まで良好な直線性を示した。電量検出器による HCO₃⁻ のクロマトグラムのピーク面積再現性は 1.9% の変動係数 (n=10) であった。種々の pH 条件下での硝化工程水中の HCO₃⁻ を定量したところ、NH₄⁺ の NO₃⁻ への硝化反応における効率が 100% 以下になる pH 領域では HCO₃⁻ が 5 ppm 以下となることが分かった。

1 緒 言

近年、閉鎖水域における赤潮などの富栄養化現象が大きな社会問題となってきている。富栄養化現象を引き起こす原因物質の一つに NH₄⁺ がある。都市下水及び工業排水中の NH₄⁺ の処理は物理化学的な方法 (アンモニアストリッピング法、イオン交換法など) 及び生物学的な方法 (活性汚水法) によって可能であるが、このうち活性汚水法を用いる硝化脱窒法は NH₄⁺ を二次公害のない窒素に変換する点で優れた処理法である¹⁾。この方法において、NH₄⁺ は好気的な条件下で独立栄養型細菌の一つである硝化菌によって NO₂⁻ を経て NO₃⁻ に酸化された後、けん氣的条件下及び水素供与体 (メタノール、グルコース及び酢酸など) の存在下で窒素に変換される。NH₄⁺ の NO₃⁻ への硝化においては、下式に示すような無機態炭素の存在が不可欠である²⁾。



すなわち、硝化菌は溶存酸素の存在下で NH₄⁺ と HCO₃⁻ とを同化し、増殖する。従って、上記の反応を硝化処理装置内で効率よく進行させるには硝化工程水中の HCO₃⁻ をモニターして装置を管理する必要がある。しかしながら、硝化工程水中の HCO₃⁻ は通常 pH 4.5 におけるアルカリ度として測定されているので³⁾、その中に有機酸及び遊離のアンモニアが存在するとその値は HCO₃⁻ として正しく評価することができない。

そこで、著者はイオン排除クロマトグラフ法と電量検出法とを組み合わせた方法により、種々の pH (5~10) 条件下における硝化工程水中の HCO₃⁻ を定量した。

炭酸が極めて弱い酸 (pK₁=6.4) であることに着目して硝化工程水中に通常含まれることの多い共存陰イオン (Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, NO₂⁻ 及び PO₄³⁻) から HCO₃⁻ を、水溶離液を用いる H⁺ 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法で分離し、電量検出法及び導電率検出法によりモニターしたところ、電量検出法が検量線の直線性の点で導電率検出法よりも優れていることが分かった。本法を種々の pH 条件下における硝化工程水中の HCO₃⁻ の定量に応用したところ、満足すべき結果が得られたので報告する。

2 実 験

2.1 装 置

液体クロマトグラフ: Spectra-Physics 社製 3500 B 型

* 電量検出型液体クロマトグラフィーに関する研究 (第9報). 前報は K. Tanaka, T. Ishizuka: *J. Chromatogr.*, **190**, 77 (1980)

** 名古屋工業技術試験所: 愛知県名古屋市北区平手町 1-1

を用い、1 ml/min の流量の水で陰イオンをイオン排除的に分離した。

検出器：柳本製 C-202 型導電率検出器及び日立製 630 型電量検出器 (H^+ と *p*-ベンゾキノンとの間の定電位電解反応を利用⁹⁾) を用い、陰イオンをモニターした。なお、印加電圧は銀-ヨウ化銀電極に対して 0.45V である。

分離カラム：内径 9mm×長さ 200mm のジャケット付きガラスカラムに日立 2613 型陽イオン交換樹脂を H^+ 型として充てんし、30 °C のカラム温度で使用した。

記録計：ナショナル製 VP 6541 型 2 ペン記録計を用い、電量検出器と導電率検出器からの出力を各々記録した。

インテグレーター：両検出器からの出力を島津製クロマトパック 1AX 及び Spectra-Physics 社製 System 1 を用い、保持時間及び面積を記録印字した。

生物学的硝化脱窒処理装置：当研究室に設置されているパイロットプラントのうち、内容積 500 l の硝化そうを用いた⁴⁾。硝化そう中の活性汚濁濃度は約 2000 ppm であり、この中へ 100 ppm の NH_4^+-N と 5 ppm の $PO_4^{3-}-P$ を含んでいる水道水から調製された合成排水を 400 ml/min の流量で連続負荷した。硝化そう中の溶存酸素は溶存酸素電極を用いて 3 ppm になるように空気ではっ気し、コントロールした。硝化そうの pH は硝化反応の進行とともに減少するので、pH 電極を用いて 10% (w/v) の水酸化ナトリウムにより一定にコントロールした。なお、硝化そうの pH は 5~10 の間で設定した。

2.2 試薬

HCO_3^- 標準液：市販特級品の炭酸水素ナトリウムを蒸留水に溶かし、1000 ppm 溶液とした。

その他の標準液： Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 及び PO_4^{3-} の 1000 ppm 標準液は市販特級品の対応するナトリウム塩を蒸留水に溶かして調製した。

電量検出器に用いた電解液：作用電極側（カーボンクロス製）に流入する電解液は市販特級品の *p*-ベンゾキノン、ヒドロキノン及び塩化カリウムを用いて各々 10^{-2} M、 10^{-3} M 及び 0.1 M の 2% エタノール水溶液とした。参照電極側（銀メッシュ製）に流入する電解液は市販特級品のヨウ化カリウムを用いて 0.5 M 水溶液とした。

硝化工程に用いた試薬：工業用の硫酸アンモニウム及びリン酸二水素カリウムを用い、各々 1% 及び 500 ppm 水道水溶液とし、水道水によって更に 100 倍に希釈して硝化そうに連続負荷した。

その他用いた試薬はすべて市販特級品である。

3 結果及び考察

3.1 共存陰イオンからの HCO_3^- の分離

炭酸が共存陰イオン (Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 及び PO_4^{3-}) に対応する酸に比べて際立って弱い酸であ

ることに着目して分離を行った。内径 9mm×長さ 200mm のカラムを用い、各々 10 ppm の HCO_3^- 及び共存陰イオンの混合水溶液を、水溶解液によってクロマトグラフィーを行い、電量検出器及び導電率検出器によってモニターしたところ、 HCO_3^- は共存陰イオンからイオン排除によって分離できた (Fig. 1)。Fig. 1 の A 及び B のクロマトグラムの 1 番目の大きいピークは強酸性陰イオン (Cl^- 、 SO_4^{2-} 及び NO_3^-) と弱酸性陰イオン (PO_4^{3-} 及び NO_2^-) であり、2 番目の小さいピークは HCO_3^- である。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ったが、単独にクロマトグラフィーを行ったときは強酸性陰イオンの保持容量よりもわずかに大きい保持容量を示した。以上の結果は、強酸性陰イオンのすべてが樹脂中の固定水素イオンにより完全にイオン排除され、弱酸性陰イオンはわずかに樹脂相内に浸透し、 HCO_3^- は完全に浸透したことを示し、本法が樹脂相と移動相との間のイオン排除作用

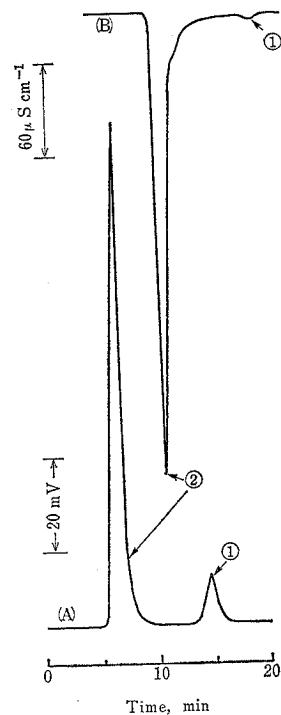


Fig. 1 Ion-exclusion chromatographic separation of HCO_3^- from the solution containing Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、and PO_4^{3-}

(A) Flow coulometric detector (FCD); (B) Conductometric detector (COND); Concentration of anions: 10 ppm; ① HCO_3^- ; ② Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 PO_4^{3-}

に基づくゲルクロマトグラフ法であることを示している⁹⁾。

Fig. 1 の電量検出器及び導電率検出器によって得られたクロマトグラムにおいて、1 番目のピークと HCO_3^- のピークの相対的な高さはかなり異なった結果を示した。そこで、強酸性陰イオン (Cl^-) と HCO_3^- のモル当たりの検出感度比 ($\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$) 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、塩酸よりも炭酸の導電率が低いためである。しかしながら、電量検出器によって得られたそれは約 1 であった。これは、電量検出器において、炭酸からの H^+ ($\text{p}K_1=6.4$) と *p*-ベンゾキノンとの間の定電位電解反応が、 HCl からの H^+ (完全解離) と *p*-ベンゾキノンと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しており、 $\text{p}K$ が約 7 以下の弱酸は感度よく検出できることを示した⁹⁾。これは電量検出器の際立った特長である。

3.2 検量線

(10~200) ppm の濃度範囲における HCO_3^- の検量線が電量検出器及び導電率検出器を用いてピーク高さ法及びピーク面積法により作成された。0.5 ml の試料がカラム内に注入された。

Fig. 2 は両検出器による HCO_3^- の検量線 (ピーク高さ法) である。導電率検出器によって得られた検量線はピーク高さ法及びピーク面積法とも傾斜し、非直線であった。これは分離カラム内で生じた炭酸が極めて弱い酸であるため、その解離度が濃度によって変化するため

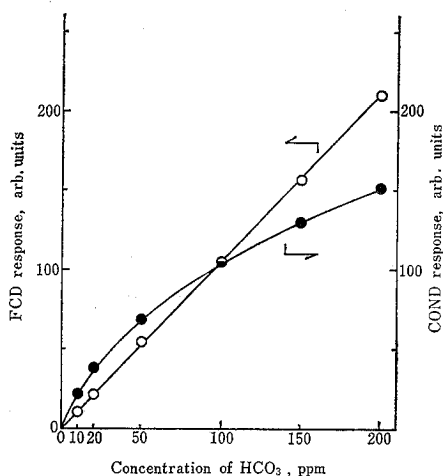


Fig. 2 Calibration curves for HCO_3^- obtained by COND (●) and FCD (○)

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ピーク高さ及びピーク面積法とも良好な直線性を示した。これは炭酸が極めて弱い酸にもかかわらず、電量検出器における炭酸からの H^+ 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。

以上述べた結果と同様な結果は、 OH^- 型陰イオン交換樹脂を用いる弱塩基性陽イオン (NH_4^+) の OH^- を検出する電量検出器を用いるイオン排除クロマトグラフ法においても認められている⁶⁾⁷⁾。

以上の結果から、イオン排除クロマトグラフ法による HCO_3^- の定量は導電率検出器を用いるよりも電量検出器を用いるほうが有効であることが分かった。

3.3 検出限界

1 ppm HCO_3^- の 0.5 ml をカラム内に注入することによって得られたクロマトグラムのピーク面積から計算されたその検出限界は、 $\text{S/N}=2$ において 0.15 ppm (0.075 μg) であり、電量検出法は高感度な検出法であることを認めた。

3.4 再現性

10 ppm HCO_3^- の 0.5 ml を 10 回繰り返しカラム内に注入することによって得られたクロマトグラムのピーク面積の再現性は、電量検出器において 1.9% の変動係数であり、導電率検出器において 2.1% の変動係数であった。

3.5 実際試料中の HCO_3^- の定量

本法を種々の pH 条件下における硝化工程水中の HCO_3^- の定量に応用した。試料はすべて 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過後、カラム内に注入した。

pH 7.5 における硝化工程水と硝化工程水よりも更に多くの陰イオンを含んでいると考えられる都市下水処理場の処理水が流入している河川水を本法で定量した。

Fig. 3 は硝化工程水のクロマトグラムである。Table 1 は両試料の分析結果を示す。Table 1 から明らかのように両試料中の HCO_3^- の回収率は良好であり、本法が種種の陰イオンを含む実際試料中の HCO_3^- の定量に応用できることを示した。

Fig. 4 は 5~10 の pH 条件下における硝化工程水での HCO_3^- の濃度と NH_4^+ の硝化効率の間の関係を示した。硝化効率は硝化そうに流入する原排水と処理水中

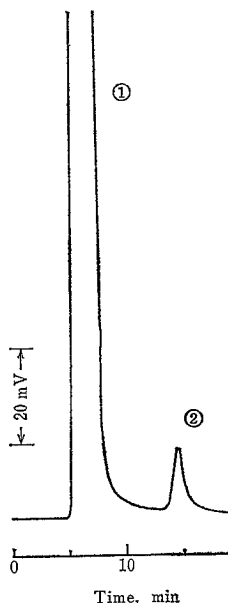


Fig. 3 Ion-exclusion chromatogram of biological nitrification process water at pH 7.5 obtained by FCD

① Strong acid anions; ② HCO_3^-

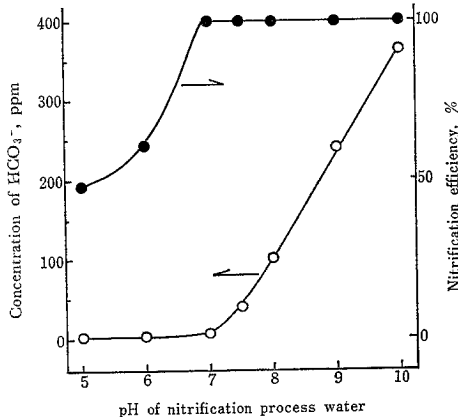


Fig. 4 Relationship between nitrification efficiency of NH_4^+ and concentration of HCO_3^- in the process water over the pH range 5~10

の NH_4^+ を既報⁶⁾で述べた OH^- が検出できる電量検出器と OH^- 型陰イオン交換樹脂とを用いるイオン排除クロマトグラフ法で定量して求めた。Fig. 4 から明らかのように NH_4^+ の硝化効率 HCO_3^- が硝化そう中に多量存在するとき 100% を示したが、 HCO_3^- が 5 ppm 以下のとき、硝化効率は低下した。この結果から、 NH_4^+

Table 1 Determination of HCO_3^- in actual samples

Sample	Concentration			
	Added (ppm)	Found (ppm)	Error (ppm)	Recovery (%)
Biological nitrification process water at 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

の硝化反応は HCO_3^- が約 8.6 ppm で pH が 7 以上のときに効率よく進行することが分かった。この結果はアルカリ度として測定された値 (約 10 ppm) とよく一致する¹⁾。

4 結 言

種々の共存陰イオンを含む生物学的硝化工程水中の HCO_3^- を分離定量するために、水溶液を用いる H^+ 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法とカラム流出液中の H^+ だけを検出する電量検出法とから成る方法を確立した。炭酸は極めて弱い酸であるため共存する強酸性及び弱酸性陰イオンからイオン排除によって良好に分離できた。一方、検量線は導電率検出法において非直線であったが、電量検出法において直線であった。本法により種々の pH 条件における生物学的硝化工程水中の HCO_3^- の定量が可能であった。

文 献

- 1) 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), (アイビーシー).
- 2) E. R. Hall, K. L. Murphy: *Wat. Res.*, **14**, 297 (1980).
- 3) 田中一彦, 石原 豊, 砂原広志: *分化*, **24**, 235 (1975).
- 4) 田中一彦, 石塚紀夫: *水処理技術*, **21**, 1003 (1980).
- 5) K. Tanaka, T. Ishizuka, H. Sunahara: *J. Chromatogr.*, **174**, 153 (1979).
- 6) K. Tanaka, T. Ishizuka, H. Sunahara: *J. Chromatogr.*, **172**, 484 (1979).
- 7) K. Tanaka, T. Ishizuka, H. Sunahara: *J. Chromatogr.*, **177**, 21 (1979).

☆

Determination of bicarbonate ion in biological nitrification process water by ion-exclusion chromatography with coulometric detection. Kazuhiko TANAKA (Government Industrial Research Institute, Nagoya, 1-1, Hirate-machi, Kita-ku, Nagoya-shi, Aichi)

The ion-exclusion chromatography with a cation exchange resin (H^+ form) using water as an eluent was investigated for the determination of HCO_3^- in biological nitrification process water. Bicarbonate ion in the effluent from the column was monitored by a conductometric detector (COND) and a flow coulometric detector (FCD) based on the electrochemical reaction of hydrogen ion from H_2CO_3 with *p*-benzoquinone at a constant applied potential (+0.45 V vs. Ag-AgI). A good separation of HCO_3^- from the diverse anions such as Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , PO_4^{3-} , and NO_2^- was accomplished by elution with water alone. The calibration graph for HCO_3^- obtained by the COND was nonlinear, probably because of the low dissociation of H_2CO_3 at higher concentrations. However, the linear relationship was obtained over the

range (10~200) ppm of HCO_3^- by the FCD. Therefore, it is recommended to use the FCD in this method. The reproducibility of the peak area of chromatogram of HCO_3^- obtained by the FCD was satisfactory with a coefficient of variation of 1.9% for ten determinations of 10 ppm of HCO_3^- . The present method was applied to the determination of HCO_3^- in the process water under the aerobic conditions over the pH range 5~10 with satisfactory results.

(Received Nov. 10, 1980)

Keyword phrases

ion-exclusion chromatography with cation exchange resin; determination of HCO_3^- in biological nitrification process water; flow coulometric detection.