

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*

田 中 一 彦**

(1982年7月7日受理)

富栄養化成分である NH_4^+ を含む工業排水を、生物学的に脱窒素処理する際の硝化及び脱窒素処理工程水中の NO_3^- , NO_2^- 及び NH_4^+ を同時定量する方法について研究した。本法は、 NO_3^- と NO_2^- を定量するための紫外吸光検出器を用いる 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、電量検出器を用いる OH^- 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法の結合から成っている。これら二つのイオン排除クロマトグラフ法は、 NH_4^+ のピークから、 H^+ 型陽イオン交換樹脂カラム内での不完全な陽イオン交換に起因する陽イオン (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} 及び Ca^{2+}) のゴーストピークを分離するために、内径 1 mm × 長さ 10 m (内容積: 7.85 ml) の遅延コイルにより結合されている。1台の送液ポンプ、2連式試料注入器、 H^+ 型陽イオン交換樹脂カラム、 OH^- 型陰イオン交換樹脂カラム、紫外吸光検出器及び電量検出器を備えた1台の液体クロマトグラフ装置が用いられた。この装置の2連式試料注入器中に同一の試料を充てんした後、各々のイオン交換樹脂カラム内に同時注入し、10%メタノール-水を用いる溶離により、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の NO_3^- , NO_2^- 及び NH_4^+ は30分以内に同時定量できた。

1 緒 言

近年、閉鎖性水域の富栄養化が大きな社会問題となってきた。この富栄養化をもたらす原因物質として、種々の排水中に含まれる無機態窒素化合物が知られている。無機態窒素化合物は NO_3^- , NO_2^- 及び NH_4^+ の合計として示されている。これら無機態窒素化合物は、種々の排水中に含まれる NH_4^+ を生物学的硝化-脱窒素処理法により処理する際の工程水中において、微生物の作用により酸化あるいは還元作用を受け、その形態が変化する。従って、これら窒素化合物は同時定量する必要がある。

そこで、上記の処理工程水中の NO_3^- , NO_2^- 及び NH_4^+ を同時定量するために、既報^{1)~3)}で述べた NO_3^- 及び NO_2^- の同時定量に関する紫外吸光検出器を用いる 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、 NH_4^+ の定量に関する電量検出器を用い

る OH^- 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法が、ともに水系の溶離液を使用していること及び紫外吸光検出器が非破壊の検出器であることに着目して、この二つのイオン排除クロマトグラフ法を結合した方法について検討した。

本法は、1台の送液ポンプ、二つのループを有する2連式の試料注入器、 H^+ 型陽イオン交換樹脂カラム、 OH^- 型陰イオン交換樹脂カラム、遅延コイル、紫外吸光検出器及び電量検出器を備えた1台の液体クロマトグラフ装置を用いている。この装置内の2連式試料注入器内のループ中に同一の試料を充てんした後、各々のイオン交換樹脂カラム内に同時注入し、10%メタノール-水を用いる溶離により、生物学的硝化-脱窒素処理工程水中の NO_3^- , NO_2^- 及び NH_4^+ は30分以内に同時定量できたので報告する。

2 実 験

2.1 試 薬

溶離液：和光純薬製特級品のメタノールを用い、10% (v/v) 水溶液とした。

標準溶液： NO_3^- , NO_2^- 及び NH_4^+ の標準溶液は、

* 電量検出型液体クロマトグラフィーに関する研究 (第11報)。前報は、K. Tanaka, T. Ishizuka: *Water Res.*, **16**, 719 (1982)

** 名古屋工業技術試験所：名古屋市北区平手町 1-1

和光純薬製特級品の硝酸カリウム、亜硝酸ナトリウム及び塩化アンモニウムを各々用いて 1000 ppm 水溶液とし、適宜希釈して用いた。

電解液³⁾⁴⁾： NH_4^+ を、 NH_4^+ 分離カラムによりアンモニアとした後、それからの OH^- を電量検出器によってモニターした。このとき用いた作用極側の電解液 (10^{-2}M ヒドロキノン、 10^{-2}M *p*-ベンゾキノン及び 0.1M 塩化カリウムの混合水溶液) は、和光純薬製特級品から調製した。

又、対極側の電解液として用いた 0.1M ヨウ化カリウム水溶液も同様に和光純薬製特級品から調製した。

その外に用いた試薬はすべて和光純薬製特級品である。

2.2 装置

液体クロマトグラフ：日立製 034 型を用いた。なお、この装置は、後述するように、 H^+ 型及び OH^- 型のイオン交換樹脂カラム、二つのループを有する 2 連式試料注入器、遅延コイル、紫外吸光検出器及び電量検出器を備えている。

NO_3^- 及び NO_2^- 分離用カラム：内径 9mm × 長さ 110mm のジャケット付きガラスカラムに、蒸留水で十分に洗浄された日立製 2613 型陽イオン交換樹脂 (H^+ 型) を湿式充てんした後、分離カラム内を溶離液により十分に洗浄して使用した。

NH_4^+ 分離用カラム：内径 9mm × 長さ 550mm のジャケット付きガラスカラムに、蒸留水で十分に洗浄された日立製 2632 型陰イオン交換樹脂 (OH^- 型) を湿式充てんした後、分離カラム内を溶離液により十分に洗浄して使用した。

試料注入器：ガスクロ工業製の二つのループ (各々 0.1ml) を有する 2 連の 6 弁方式の試料注入器を用いた。各々のループ内の同一の試料は、 NO_3^- 及び NO_2^- 分離用カラム及び NH_4^+ 分離用カラム内に 1 回の弁切り替え操作で同時に注入される。

遅延コイル：後述する不完全な陽イオン交換によって引き起こされた NH_4^+ のクロマトグラムのピークの近傍に生じる陽イオンのゴーストピークを、 NH_4^+ のピークよりも遅らせるために、内径 1mm × 長さ 10m (内容積： 7.85ml) の遅延コイル (テフロンチューブ) を、紫外吸光検出器と NH_4^+ 定量用試料注入器の間に挿入した。

紫外吸光検出器：柳本製 M-215 型紫外吸光検出器を用い、検出波長を 210nm ¹⁾ とした。

電量検出器：日立製 030 型電量検出器を用い、ヒドロキノンとアンモニア ($\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$) からの OH^- の間の定電位電解反応 ($+0.45\text{V}$ vs. 銀-ヨウ化銀) を利用して NH_4^+ をモニターした³⁾⁴⁾。

記録計：島津製 R23 I 型記録計を用い、紫外吸光検出器及び電量検出器からの出力を記録し、二つのクロマトグラムを同時に得た。

2.3 方法

NO_3^- 、 NO_2^- 及び NH_4^+ を同時定量するための装

置のフローシートを Fig. 1 に示す。まず、直列に配置された NO_3^- 及び NO_2^- 定量用ループ、 NO_3^- 及び NO_2^- 分離用カラム、紫外吸光検出器、遅延コイル、 NH_4^+ 定量用ループ、 NH_4^+ 分離用カラム及び重量検出器の順に溶離液 (10% メタノール-水) を $1\text{ml}/\text{min}$ 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 0.1ml 充てんした後、各々の分離カラム内に同時に注入し、各々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得る。

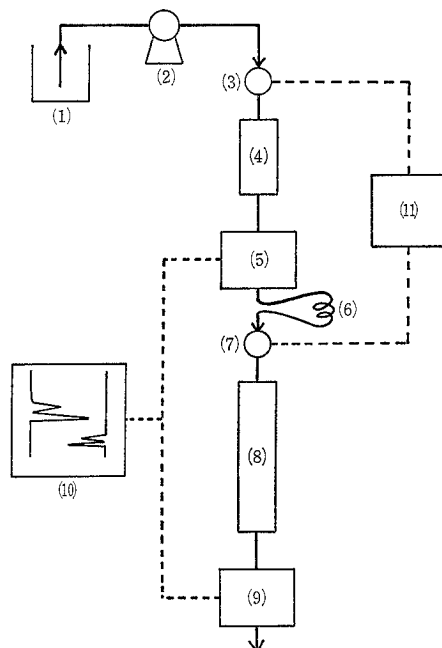


Fig. 1 Schematic flow diagram for ion-exclusion chromatography coupled with cation- and anion-exchange resin columns

1: Eluent (10% methanol-water); 2: Pump ($1\text{ml}/\text{min}$); 3: Sample loop for determining NO_3^- and NO_2^- (0.1ml); 4: H^+ -form cation exchange resin column (9mm i. d. \times 110mm long); 5: Ultraviolet spectrophotometric detector (210nm); 6: "Delay coil tube" (1mm i. d. \times 10m long); 7: Sample loop for determining NH_4^+ (0.1ml); 8: OH^- -form anion exchange resin column (9mm i. d. \times 550mm long); 9: Flow coulometry detector (OH^- detection); 10: Two-pen strip chart recorder; 11: Dual sample injector with two sample loop

3 結果及び考察

3.1 メタノール-水溶離液による NO_3^- 、 NO_2^- 及び NH_4^+ のイオン排除クロマトグラフ分離

著者は、既報¹⁾において、種々の陰イオンを含む生物

学的硝化-脱窒素処理工程水中の NO_3^- 及び NO_2^- が、メタノール-水溶液による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り分離定量できることを報告した。

そこで、この溶液により、種々の陽イオン（アルカリ及びアルカリ土類金属イオン）を含む混合物から NH_4^+ を分離するために、10%メタノール-水溶液による電量検出器を用いるイオン排除クロマトグラフ法を検討した。

10 ppm の NO_3^- 及び NO_2^- の混合物を NO_3^- 及び NO_2^- 定量用ループに、100 ppm の Na^+ 及び NH_4^+ の混合物を NH_4^+ 定量用ループに各々充てんし、10%メタノール-水溶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. 2) は両者とも良好な分離を示した。すなわち、溶液として 10%メタノール-水が、 H^+ 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法による NO_3^- 及び NO_2^- の分離だけでなく、 OH^- 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法による NH_4^+ の分離に対しても適用できることを示した。

次に、 NO_3^- 及び NO_2^- 定量用ループ及び NH_4^+ 定量用ループ内に同一の試料 (10 ppm NO_3^- , 10 ppm NO_2^- , 100 ppm Na^+ 及び 100 ppm NH_4^+ の混合物) を充てんし、同時に各々の分離カラム内に注入してクロマトグラムを得た。得られたクロマトグラム (Fig. 3) は、 NO_3^- 及び NO_2^- に関しては良好な結果を示した。しかし、 Na^+ 及び NH_4^+ のクロマトグラムに関しては、 Na^+ 及び NH_4^+ に相当するピークに加え、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、 NO_3^- 及び NO_2^- 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、 Na^+ (塩化ナトリウム) 及び NH_4^+ (塩化アンモニウム) が対応する酸 (各々塩酸) ではなく塩の形で NH_4^+ 分離用カラム (OH^- 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ナトリウム及びアンモニアの生成に基づくゴーストピークによるものと考え、 NO_3^- 及び NO_2^- 定量用ループ内には 10 ppm NO_3^- , 10 ppm NO_2^- , 100 ppm Na^+ 及び 100 ppm NH_4^+ の混合物を、 NH_4^+ 定量用ループ内には水だけを充てんし、各々の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. 4 に示すように、 NH_4^+ 定量用ループにより水だけを NH_4^+ 分離用カラムに注入したにもかかわらず、 Na^+ と NH_4^+ に相当するピークが認められた。従って、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

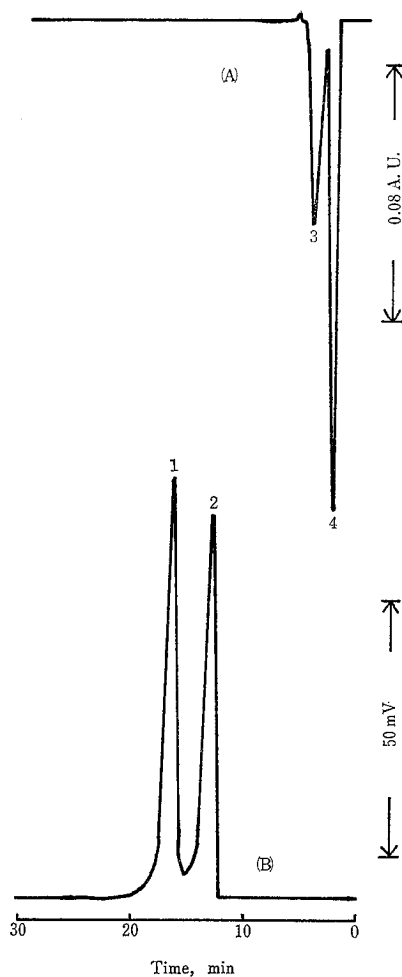


Fig. 2 Ion-exclusion chromatograms of NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , and Na^+ by elution with 5% methanol-water

A: Mixture solution containing NO_3^- (10 ppm) and NO_2^- (10 ppm); B: Mixture solution containing NH_4^+ (100 ppm) and Na^+ (100 ppm); Peaks—1: NH_4^+ , 2: Na^+ , 3: NO_2^- , 4: NO_3^- ; The retention volumes of K^+ , Mg^{2+} , and Ca^{2+} were the similar to that of Na^+ .

除去するか、あるいはそれを NH_4^+ のピークよりも後方に遅らせる必要のあることが分かった。

なお、 K^+ , Mg^{2+} 及び Ca^{2+} の保持時間は Na^+ 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。

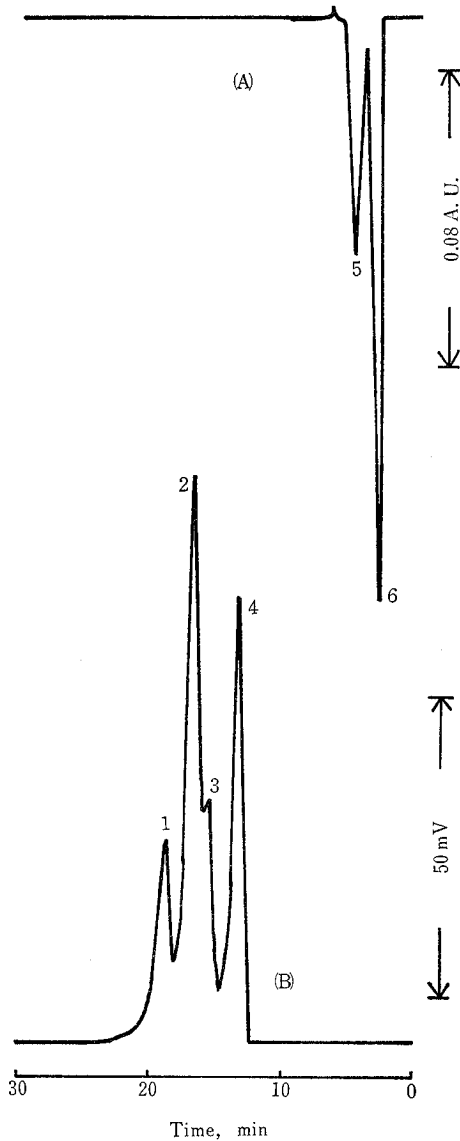


Fig. 3 Ion-exclusion chromatograms of NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , and Na^+ by elution with 10% methanol-water

A and B: Mixture solution containing NO_3^- (10 ppm), NO_2^- (10 ppm), NH_4^+ (100 ppm), and Na^+ (100 ppm); Peaks—1: Ghost peak (NH_4^+), 2: NH_4^+ , 3: Ghost peak (Na^+), 4: Na^+ , 5: NO_2^- , 6: NO_3^-

3.2 遅延コイルによる陰イオン及び陽イオンのイオン排除クロマトグラフ法の結合

NO_3^- 及び NO_2^- 分離用カラム内の陽イオンの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、既報¹⁾でも述べたように NO_2^- はその中の固

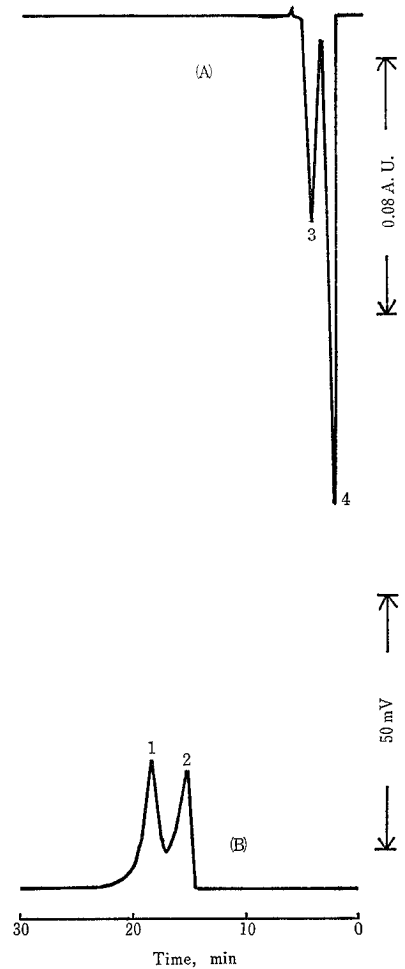


Fig. 4 Ion-exclusion chromatograms of NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , and Na^+ by elution with 10% methanol-water

A: Mixture solution containing NO_3^- (10 ppm), NO_2^- (10 ppm), NH_4^+ (100 ppm), and Na^+ (100 ppm); B: Water alone; Peaks—1: Ghost peak (NH_4^+), 2: Ghost peak (Na^+), 3: NO_2^- , 4: NO_3^-

定 H^+ により分解されるので、好ましくない。そこで、 NH_4^+ のピークからゴーストピークを分離する方法を検討した。これは、紫外吸光検出器と NH_4^+ 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 1mm×長さ 10m (内容積 785 ml) の遅延コイルを設置したところ、 Na^+ 及び NH_4^+ のゴーストピークは後方に遅らせることができ、良好なクロマトグラムが得られた (Fig. 5)。

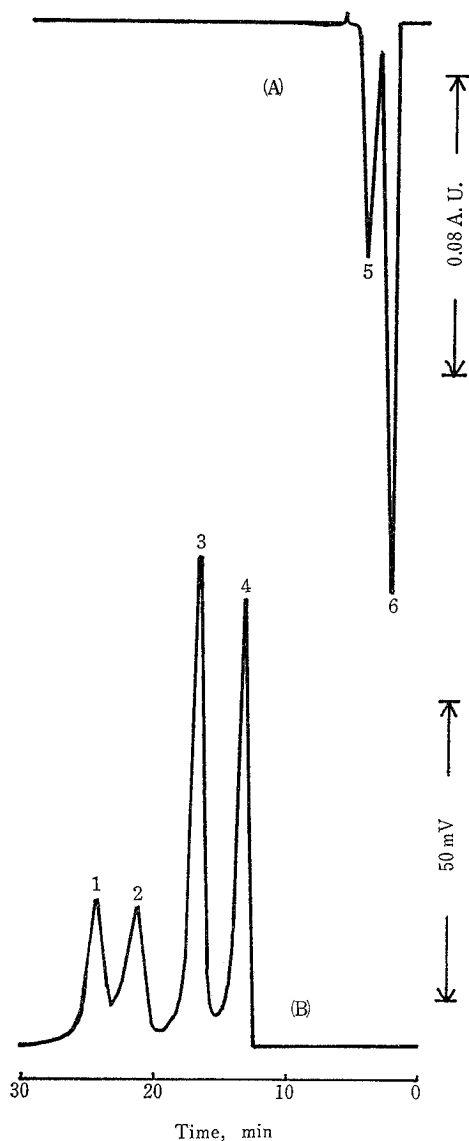


Fig. 5 Ion-exclusion chromatograms of NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , and Na^+ by elution with 10% methanol-water using "delay coil tube"

A and B : Mixture solution containing NO_3^- (10 ppm), NO_2^- (10 ppm), NH_4^+ (100 ppm), and Na^+ (100 ppm); Peaks—1: Ghost peak (NH_4^+), 2: Ghost peak (Na^+), 3: NH_4^+ , 4: Na^+ , 5: NO_2^- , 6: NO_3^-

3.3 検量線

各々 (1~50) ppm の NO_3^- , NO_2^- 及び各々 (10~500) ppm の NH_4^+ , Na^+ を含む混合物の 0.1 ml を, NO_3^- 及び NO_2^- 定量用試料注入器及び NH_4^+ 定量用

試料注入器中に充てんし, 10% メタノール-水溶液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法による検量線は, Fig. 6 に示すように, NH_4^+ に関して少なくとも 500 ppm まで, NO_3^- 及び NO_2^- に関して少なくとも 20 ppm まで各々直線であった.

なお, 別の実験で得られた検量線の下限值は, NO_3^- に関して 0.05 ppm, NO_2^- に関して 0.05 ppm 及び NH_4^+ に関して 0.2 ppm 程度であった.

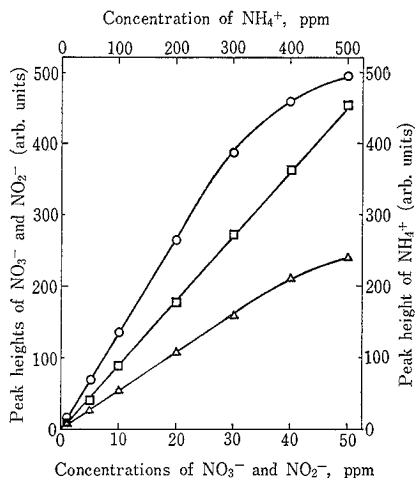


Fig. 6 Calibration curves of NO_3^- , NO_2^- , and NH_4^+

—○— NO_3^- ; —△— NO_2^- ; —□— NH_4^+

3.4 検出限界

各々の分離カラムへの 0.1 ml の試料注入時における検出限界は, $S/N=2$ において, NO_3^- に関して 6.2 ppb, NO_2^- に関して 5.7 ppb 及び NH_4^+ 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られた.

3.5 再現性

各々 10 ppm の NO_3^- , NO_2^- 及び 100 ppm の NH_4^+ を含む混合物の 0.1 ml を繰り返し各々の分離用カラム内に注入したとき得られたピーク高さの再現性 ($n=6$) は, NO_3^- に関して 1.2%, NO_2^- に関して 2.2% 及び NH_4^+ 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.

3.6 実際試料への応用

当研究室では, 種々の工業排水に含まれる富栄養化成分である NH_4^+ を, 活性汚泥を用いる生物学的硝化-

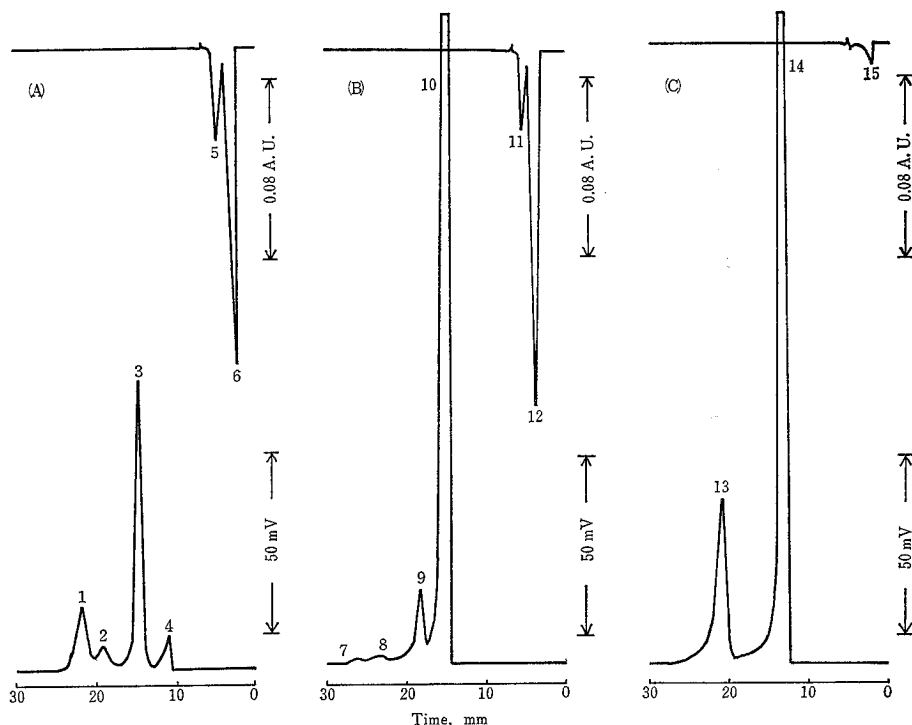


Fig. 7 Ion-exclusion chromatograms of actual samples

A: Raw water in biological nitrification-denitrification process; B: Biological nitrification process water (The sample solution of 25-fold dilution was injected onto the cation exchange resin column for the determination of NO_3^- and NO_2^-); C: Biological denitrification process water; Peaks—1: Ghost peak (NH_4^+), 2: Ghost peak (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), 3: NH_4^+ , 4: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , 5: NO_2^- , 6: NO_3^- , 7: Ghost peak (Na^+), 8: Ghost peak (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), 9: NH_4^+ , 10: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , 11: NO_2^- , 12: NO_3^- , 13: Ghost peak (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), 14: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , 15: NO_3^-

脱窒素処理法により処理する際の処理工程の自動計測管理法に関する研究を行っている³⁾⁵⁾⁶⁾。そこで、本法を、この生物学的硝化-脱窒素処理法における工程水中の NO_3^- 、 NO_2^- 及び NH_4^+ の同時定量に対して応用した。

Fig. 7 の A, B 及び C は、原水、硝化処理工程水及び脱窒素処理工程水のクロマトグラムを各々示す。Fig. 7 より明らかなように、三者とも良好なクロマトグラムが 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応用できることが分かった。

本実験の一部に協力した愛知工業大学河野秀明君（現在柳本商事株式会社）に深謝します。

文 献

- 1) 田中一彦：分化, **30**, 661 (1981).
- 2) K. Tanaka, T. Ishizuka, H. Sunahara : *J. Chromatogr.*, **177**, 21 (1979).
- 3) 田中一彦, 石塚紀夫 : 水処理技術, **21**, 1003 (1980).

- 4) K. Tanaka, T. Ishizuka, H. Sunahara : *J. Chromatogr.*, **172**, 484 (1979).
- 5) 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).
- 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**, 689 (1982).

☆

Simultaneous determination of nitrate, nitrite, and ammonium ions in biological nitrification-denitrification process water by ion-exclusion chromatography coupled with cation- and anion-exchange resin columns. Kazuhiko TANAKA (Government Industrial Research Institute, Nagoya, 1-1, Hirate-machi, Kita-ku, Nagoya-shi, Aichi)

The ion-exclusion chromatography (IEC) for the simultaneous determination of NO_3^- , NO_2^- , and NH_4^+ in biological nitrification-denitrification process water was investigated. This method consists of the combination of the IEC on a cation exchange resin in the H^+ -form with UV-detection for determining NO_3^- and NO_2^- and the IEC on an anion exchange resin in the OH^- -form with coulometry-detection for determining NH_4^+ . These IEC systems are coupled with a

"delay coil tube" (1 mm i. d. \times 10 m long) to separate NH_4^+ peak from a "ghost peak" of cations such as Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , and Ca^{2+} caused by the incomplete cation exchange reaction in the H^+ -form cation exchange resin column. The liquid chromatograph equipped with one delivery pump (1 ml/min), dual sample injector (0.1 ml each), H^+ -cation exchange resin column (9 mm i. d. \times 110 mm long), OH^- -form anion exchange resin column (9 mm i. d. \times 550 mm long), UV detector (210 nm), and flow coulometry detector (OH^- detection) was used. The same sample solution is simultaneously injected onto each column with each sample loop, and chromatographed by the ion-exclusion. Only one kind of eluent (10 % methanol-water) was used for the separation of NO_3^- , NO_2^- ,

and NH_4^+ . The simultaneous determination of NO_3^- , NO_2^- , and NH_4^+ in the actual samples was accomplished within 30 min with satisfactory results.

(Received July 7, 1982)

Keyword phrases

ion-exclusion chromatography with cation exchange resin and anion exchange resin columns; simultaneous determination of NO_3^- , NO_2^- , and NH_4^+ in biological nitrification-denitrification process water; methanol-water eluent; coulometric and UV detection.



☆

☆

7/165 (4)