衛生化学
EISEI KAGAKU
30 (3) 149-155 (1984)

水質汚濁指標に関する研究 (第3報)

脂肪酸の COD_{Mn} について

松本久男, 宮島幸子, 小原由子

徳島文理大学薬学部

Investigations on the Water Pollution Index. III.

On the Chemical Oxygen Demand of Fatty Acids Using Permanganate

HISAO MATSUMOTO, SACHIKO MIYAZIMA and YOSHIKO OHARA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University,

Yamashiro-cho, Tokushima-shi 770, Japan

(Received September 9, 1983)

COD_{Mn} of fatty acids is fundamentally important because various materials will produce fatty acids as the results of COD treatment. In acidic method, formic acid consumed oxygen up to 29.3% of theoretical value, but catalytic effect of AgNO_3 was not recognized. The other fatty acids indicated a very promoting effect of the addition of AgNO_3 to their oxygen consumption. In alkaline method, formic acid consumed oxygen up to nearly 100%, but lower carbon chain fatty acids, from acetic acid to valeric acid, showed no COD values. COD values of longer carbon chain fatty acids a little increased with an increase in the carbon number. As the reaction products of these acids, fatty acids of reduced carbon number, one after another, were determined with GC and GC-MS. On pivalic acid, *tert*- C_5 -acid, an increase in acidic COD value was rather recognized, but the BOD value was much diminished. BOD values of the other fatty acids were considerably high and attention will be necessary when lower COD values of acidic method were estimated. Very lower COD value of alkaline method compared with the BOD values will be better to be avoided.

Keywords — water pollution; chemical oxygen demand; fatty acid; catalytic effect silver nitrate

緒言

過マンガン酸カリウムを使用する化学的酸素要求量 (COD_{Mn}) は JIS K 0102-1981,¹⁾ 日本薬学会衛生試験法 (1980)²⁾ 等に収載され、環境基準、排水基準として採用されている。近藤ら³⁾ は酸性法を使用して各種有機化合物の COD を測定しているが、直火により10分加熱と云う JIS 法と著しく異なる条件を使用しているので、JIS 条件による各種物質の COD は未だ不明の点が多い。

COD_{Mn} は物質の種類によって酸化率が非常に異なることは知られているが、それが如何なる官能基または酸

化分解産物に起因しているかを解明しなければ、測定結果を適切に解釈することは出来ないと考えられる。すなわち、従来のようにマクロ的に単に BOD や TOC 等と比較するのみでは、その考察は表面的なものに終る恐れがある。従って COD_{Mn} の測定をより有意義に活用し、更に欠点を改良するためにはまず各物質の種類別に検討を進める必要がある。

著者ら⁴⁾ は先に COD_{Mn} のマイクロ法を検討し、JIS 法とよく一致する条件を見出して報告した。今回はこのマイクロ法により脂肪酸をまずとり上げ、酸性とアルカリ性法の比較、銀塩の効果等も含めて検討することにした。

各種脂肪酸は用水、下水、排水、し尿等の中に含まれていることが報告されている。⁵⁻¹⁰⁾ 従って COD の測定がこれら脂肪酸による汚濁指標として適切であるかどうかをまず検討した結果について報告する。

試薬および装置

1. 試薬 (1) 蒸留水および COD_{Mn} 測定用試薬類は前報⁹⁾ と同じものを使用した。

(2) 脂肪酸——ギ酸 (C₁-酸), 酢酸 (C₂-酸), プロピオン酸 (C₃-酸), 酪酸 (C₄-酸), 吉草酸 (C₅-酸), トリメチル酢酸 (ピバリン酸), エナント酸 (C₇-酸), ミリスチン酸 (C₁₄-酸) は和光純薬特級を使用した。カプロン酸 (C₆-酸), ペラルゴン酸 (C₉-酸), カプリン酸 (C₁₀-酸) は和光純薬 1 級を使用した。カプリル酸 (C₈-酸), パルミチン酸 (C₁₆-酸), ステアリン酸 (C₁₈-酸) は東京化成特級を使用した。ラウリン酸 (C₁₂-酸) は東京化成 1 級を使用した。

2. 装置 セミマイクロ法 COD 測定装置: 前報⁴⁾ のものを使用した。

ガスクロマトグラフ (GC): 島津 GC 7AG (水素イオン化検出器付) にレコーダー R-112 型, クロマトパック C-E1B を接続して使用した。

ガスクロマトグラフ・マススペクトロメーター (GC-MS): 島津 LKB-9000B にデータ処理装置 GCMS-PAC 300 FDG を接続して用いた。

検圧法 BOD 測定装置: エルメント工業 EBG-33C 型を使用した。

実験方法

1. COD_{Mn} 測定操作 先に報告したように, 酸性法, アルカリ性法共に試料溶液を 20 ml に減少したセミマイクロ法により実施した。

2-1) 酸性 COD_{Mn} による分解生成物の分離と確認 1×10⁻²M 脂肪酸溶液 100 ml を 300 ml 丸底フラスコにとり, (1+2) H₂SO₄ 10 ml, 20% AgNO₃ 5 ml および 0.25 N KMnO₄ 10 ml を加え, 沸騰水浴中で一定時間加熱した。還流する時は蛇管冷却器を接続した。0.25 N シュウ酸ナトリウムを液が脱色するまで加え, 蒸留水で全量 130 ml とし, 直火で蒸留し 5 N HCl 0.16 ml を入れたシンダー内に 80 ml 採取した。この液 5 μl を GC カラムに注入し, 留液中の脂肪酸の濃度を算出した。蒸留分離による回収率は C₂-酸 (85.2%), C₄-酸 (133%), C₆-酸 (134%) であった。

なお, 加熱分解処理をセミマイクロ法で行う時は, 試験溶液 20 ml を 50 ml 摺合せ三角フラスコにとり, 他の試薬類も比例的に減少して操作した。また残存する脂肪酸および分解生成物の主要ピークについては GC-MS によ

る確認を行った。

ガスクロマトグラフィーの条件は次の通りである。ガラスカラム, 内径 3 mm, 長さ 1.6 m; 充填剤, 3% Thermon-3000/Shimalite TPA (60-80メッシュ); 温度, カラム恒温槽 150°C, 試料注入口および検出器 220°C; Rang 10², Attenuation 8。

GC-MS の条件は次の通りである。カラム, 内径 3 mm, 長さ 1.5 m; 充填剤, GC と同じ; 温度, カラム恒温槽 160°C, 注入口 200°C, セパレーター 250°C, イオン源 270°C; キャリヤガス He 30 ml/min; イオン化電圧 20/70 eV; イオン化電流 60 μA。

2-2) アルカリ性 COD_{Mn} における分解生成物の分離と確認 5×10⁻³M 脂肪酸の溶液 100 ml に 20% NaOH 2 ml, 0.25 N KMnO₄ 10 ml を加え, 酸性法と同様に加熱処理を行った。これに 10% H₂SO₄ 10 ml を加え, 0.25 N シュウ酸ナトリウムを脱色するまで加え, 水で全量 130 ml とした。本液を蒸留して留液 80 ml を留取し, その 5 μl を GC に注入した。セミマイクロ法で分解する時は試料溶液 20 ml について操作した。

3. BOD 測定法 植種水は河川水にスキムミルクを添加しながら曝気培養したものの上澄液を使用した。エルメント社製の BOD 試薬 0.5 ml および植種水として検水の 10% を測定びんに入れ, BOD ゲージを取り付けて 20°C のインキュベーターに入れ, スタラーで攪拌した。5 日経過後のゲージ目盛から BOD 値を算出した。

実験結果および考察

1. 脂肪酸の濃度と COD の関係

酸性法におけるモル濃度と COD の関係をグラフに書き, 濃度-COD 曲線として示した。モル濃度を採用したのは分解機構の解明に好都合であるからである。被酸化物質の濃度と COD 測定値の関係は種々の場合が考えられ, COD 値算出の基本的条件の一つである。JIS 等では添加した KMnO₄ の約半量が残存する場合, すなわち COD 値 10 mg/l 付近に対応する試料濃度から COD 値を算出することになっているので, COD 曲線が必要である。

Fig. 1 のように C₁-酸, C₂-酸は COD 値が非常に低く, C₃-酸ではかなり高くなり, C₄-酸では更に高くなるが, C₅-酸, C₆-酸では増加が小さい。一般にモル濃度の増加に対して COD 値の増大はゆるやかで下にわん曲を示している。C₁₂-酸では COD は低下し, C₁₄-酸, C₁₆-酸では非常に低くなっている。これら高級脂肪酸では溶解度に限界があり, 白濁するので KMnO₄ と充分反応しなくなるためと考えられる。

Fig. 1. Acidic COD Values of Fatty Acids as the Function of Mol Concentration (20% AgNO_3 (1.0 ml) was added)

heating time A : 20 min, B : 30 min.

次にアルカリ性法においては, Fig. 2 に示すように C_2 -酸から C_5 -酸に至る低級脂肪酸ではほとんど COD 値を示さない. しかし C_1 -酸のみはかなり高い COD 値を示している. C_6 -酸ではかなり高くなり, C_7 -酸はそれより低い. C_{14} -酸, C_{16} -酸になると徐々に低下を示している. これら高級脂肪酸は酸性と異なり, かなり高い COD を示すのは, アルカリ水溶液に可溶であるためと考えられる.

2. 加熱時間による COD 値の変化

酸性法において 20% AgNO_3 を 1 ml 添加した場合の脂肪酸の加熱時間と COD 値の関係を Fig. 3A に示す. 時間と共に COD 値は徐々に上昇し 20 分後では未だあまり上昇していない. JIS 規定の 30 分後でも上昇途中であり, 80 分でやっと上昇がゆるやかになっている. この傾向はより高級の脂肪酸でも見られる. すなわち, 脂肪酸の酸性 KMnO_4 による分解は非常に長時間を要し, 通常規定による COD 測定時間では分解の初期段階に過ぎないことが分かる. 銀塩を添加しないと上昇は更に遅くなっている.

次にアルカリ性法では, Fig. 3B のように C_1 -酸では非常に急速に分解し, 約 20 分でプラトーに達している. C_6 -酸以上の酸では時間と共に徐々に上昇し, JIS 規定の 20 分では分解の初期段階であり, 薬学会規定の 60 分でも未だ上昇途中であることが分かる. 従って脂肪酸のように酸化に時間を要する物質を多く含む試料では, 加熱時

Fig. 2. Alkaline COD Values of Fatty Acids as the Function of Mol Concentration

heating time A : 40 min, B : 60 min.

Fig. 3. COD Values of Fatty Acids as the Function of Heating Time

間が 20 分では明らかに不足であり, 60 分以上の加熱が望ましいことが分かる. なお, 標準法の 60 分はマイクロ法の 40 分に対応することを既に報告した.

3. 酸性 KMnO_4 法における銀塩添加の効果

硝酸銀の添加量を変化した場合の COD 値の変化を

Fig. 4. Effects of AgNO_3 Addition on COD Values of Fatty Acids

A

- formic acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- acetic acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- ▲—▲ propionic acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- △—△ *n*-butyric acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- *n*-valeric acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- △—△ pivalic acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).

B

- caproic acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- enanthic acid. ($1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- caprylic acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- pelargonic acid. ($2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- ×—× capric acid. ($2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$).
- myristic acid. ($2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$).

heating time A, B: 30 min.

Fig. 4 に示す. C_1 -酸は銀の影響は見られない. C_2 -酸では明らかに触媒効果が認められ, C_3 — C_6 -酸では顕著な効果が認められる.

JISの規定に対応する 20% AgNO_3 を 1 ml 添加した場合, 無添加の場合の COD 値と比較すると, 効果の比較的低い C_{14} -酸, C_{10} -酸で約 2 倍, ピバリン酸, C_8 -酸では約 10 倍をこえており, これら脂肪酸の平均では約 6.2 倍の上昇効果を示している.

全般的には 20% AgNO_3 3 ml の添加までは触媒効果の増加が認められ, それ以上の添加ではほぼ一定となっている. この添加量は衛生試験法²⁾の規定に対応する銀量に相当するが, 高価な銀塩を多量に要する点でなお検討の余地があると思われる.

4. 飽和一価脂肪酸の酸化分解生成物

以上述べた各物質の酸化分解機構を更に検討するため, 分解生成物の GC 法による測定を行った結果を Fig. 5, 6 に示す. まず酸性法により C_6 -酸を 30 分加熱したものが A である. C_6 -酸の残存ピーク (730 mg/l) の他に C_5 -酸のピーク (66 mg/l) が生成しており, 更に炭素数の少ない脂肪酸の小ピークが出現している.

更に加熱時間 60 分に延ばしたものが B であり, C_6 -酸のピーク (402 mg/l) は更に小さくなり, C_5 -酸のピーク

Fig. 5. GC Chart of Reaction Products after Acidic COD Treatment

A, B, C, D: *n*-caproic acid ($1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$).
E: *n*-valeric acid ($1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$).
a) : determined with GC-MS.
heating time A: 30 min, B: 60 min, C: 60 min (reflux),
D: 20 min (AgNO_3 not added), E: 60 min (reflux).

Fig. 6. GC Chart of Reaction Products after Alkaline COD Treatment

F, G: *n*-caproic acid ($0.5 \times 10^{-2} \text{ M}$).
heating time F: 40 min (reflux), G: 60 min (reflux).

(47 mg/l) も小さくなっている. これは脂肪酸群の分解の進行と揮発の増加が考えられる.

次に Fig. 5C は 60 分間還流した場合で, 残留 C_6 -酸

TABLE I. Relationship between Theoretical and Experimental COD Values Obtained with the Semimicro Acidic and Alkaline Method (Fatty Acids)

Fatty acids	A Theoretical COD (g/g)	B Experimental ^{a)} COD (g/g)		B/A (%)		COD (mg/l) at 1×10^{-4} M	
		Acidic	Alkaline	Acidic	Alkaline	Acidic	Alkaline
Formic acid	0.348	0.102	0.318	29.3	91.4	0.470	1.46
Acetic acid	1.066	0.078	0.011	7.35	1.02	0.470	0.065
Propionic acid	1.512	0.130	0.001	8.58	0.089	0.962	0.010
<i>n</i> -Butyric id	1.816	0.186	0.005	10.2	0.281	1.64	0.045
<i>n</i> -Valeric acid	2.037	0.157	0.003	7.69	0.168	1.60	0.035
<i>n</i> -Caproic acid	2.204	0.189	0.046	8.58	2.09	2.20	0.531
Enanthoic acid	2.335	0.273	0.029	11.7	1.23	3.55	0.375
Caprylic acid	2.441	0.336	0.041	13.8	1.78	4.85	0.585
Pelargonic acid	2.528	0.269	0.045	10.6	1.78	4.25	0.710
Capric acid	2.601	0.327	0.070	12.6	2.68	5.64	1.20
Lauric acid	2.710	0.267	0.092	9.85	3.40	5.34	1.85
Myristic acid	2.803	0.098	0.085	3.50	3.02	2.23	1.94
Palmitic acid	2.870	0.033	0.011	1.15	0.379	0.850	2.79
Stearic acid	2.925	0.023	0.003	0.786	0.105	0.660	0.839
Mean ^{b)}	2.296	0.182	0.034	8.18	1.39	2.63	0.844
S. D.	0.559	0.107	0.032	4.12	1.17	1.86	0.872
Iso butyric acid	1.816	0.247	0.026	13.6	1.43	2.17	0.230
Iso valeric acid	2.037	0.144	0.062	7.07	3.05	1.47	0.635
Pivalic acid	2.037	0.642	0.003	31.5	0.168	6.56	0.035

a) Heating time : 20 min in acidic, 60 min in alkaline.

b) Except formic acid.

の増加と、 C_5 -酸ピーク (89 mg/l) の増大が見られる。これはBに比し揮発が少ないためと考えられる。Dは $AgNO_3$ を加えなかった場合で、 C_5 -酸のピーク (54 mg/l) が小さくなっているのは分解生成量が減少したためと考えられる。

Eは吉草酸を60分間還流加熱した場合で、分解生成した C_4 -酸の大きいピークを認めた。

次にアルカリ性法で加熱処理した場合を Fig. 6 に示す。Fは40分間、Gは60分間還流したものであり、 C_6 -酸の大部分がそのまま残留し、 C_4 、 C_3 -酸等の生成はごく少量であることを示している。

なお、これらの生成脂肪酸については Fig. 5 に示すピークについて GC-MS による確認を行なった。 C_5 -酸は親イオンピークは認めなかったが、 m/z 73, 41, 45, 87の相対強度が標品とほぼ一致した。 C_4 -酸では小さいながら m/z 87の親イオンピークを認め、 m/z 73, 41, 45の相対強度がほぼ一致したことにより確認した。

つぎに、 C_6 -酸を酸性で30分間 COD 処理した場合について、GC の各ピークに対応する脂肪酸のモル濃度を求め、炭素数の1個多い脂肪酸との差を合計した。炭素

鎖が1個短くなるごとに酸素3原子が反応することになるので、これからそれぞれの低級脂肪酸が生成するに要した酸素消費量の合計を計算した。ギ酸は測定出来なかったので省いて計算すると、0.032 (g/g) の酸素消費量となり、理論値に対して2.14%の酸化率となった。これは Table I の酸化率8.58% よりも低い値となったが、これはギ酸の生成と分解を省いたことが影響していると考えられるので、次のように分解機構を推定した。

一価脂肪酸の COD 操作における分解は、高温下の $KMnO_4$ によりカルボキシル基の α 位の炭素が酸化されて酸基となり、 CO_2 が遊離する。これは更に短い脂肪酸へと分解が進行するものと考えられ、生物化学的な分解が主として β 位の炭素に酸化が起り、炭素数が2個ずつ短い脂肪酸を生成するのとは異なっている。

5. 飽和脂肪酸の COD による分解率と BOD との関係

Table I において、A欄は理論 COD 値 (g/g) を表わし、この値は C_1 、 C_2 、 C_3 -酸の3物質を除くと2-3 g/gを示している。酸性 COD 実測値はB欄に示すように低級の2物質、高級の3物質を除くとほぼよく似た値を示

し、その総平均は 0.182 g/g、理論値に対する割合は 8.18%と低い値を示している。

Iso-C₄, Iso-C₅ 酸も *n*-酸とあまり変わらぬ値を示したが、ピバリン酸はかなり大きい値を示した。

アルカリ性 COD においては更に低い値となり、COD 総平均 0.034 g/g、酸化率 1.39%に過ぎない。アルカリ性 COD が著しく低いのが飽和脂肪酸の COD の特長と云える。

各脂肪酸の同じモル濃度 1×10^{-4} M で比較すると、酸性 COD 値ではあまり大きな差は見られない。しかし、脂肪酸 1 分子当りにすると C₁, C₂-酸では約 0.3 原子、C₄, C₅-酸では約 1 原子、C₇-酸では約 2 原子、C₈, C₉-酸では約 3 原子、C₁₀, C₁₂-酸では約 3.5 原子の酸素が反応していることになる。

一方、アルカリ性では C₁-酸では約 0.9 原子であるが、その他の低級酸では非常に少なく、例えば C₄-酸では約 0.03 原子に過ぎない。C₁₂-酸に至ってやっと約 1.2 原子に達している。

次に、これらの脂肪酸の BOD 値を測定した結果を Table II に示す。ピバリン酸の BOD 値が非常に低いのは炭素鎖が分岐しているためと考えられ、これを除くといずれもかなり高い BOD (g/g) を示している。これを Mowat¹¹⁾ の測定値と比べると、C₁, C₂-酸はほぼ一致し、C₃-酸はかなり低い、萩原¹²⁾ が示す値よりは大きい。C₆-酸以上のものも萩原の値よりもかなり大きくなっている。

今回測定した BOD の平均酸化率は 49.7% となり、これら脂肪酸が良好な酸化分解を示すのは微生物によって β 酸化形式で酸化が良好に進むためと考えられる。従って脂肪酸の含有量の多い試料水の場合は COD 値と BOD 値の差が大きくなり、銀塩を添加するとその触媒効果は著しいが、やはり COD のみで水質汚濁を評価すると、負荷量を低く見積もり過ぎる恐れがあると考えられる。

結 論

脂肪酸は COD 測定において酸化機構の解明のために基本的に重要であるので、まず、とり上げて検討した。酸性法において、ギ酸は分解率がかなり高いが銀塩の触媒効果は無かった。酢酸から炭素数の増加と共に COD 値 (g/g) も増加したがラウリン酸以上では上昇せず、

TABLE II. BOD Values of Fatty Acids
(Saturated Monocarboxylic
Fatty Acids)

Fatty acid	B Experimental BOD (g/g)	B/A (%)	BOD (mg/l) at 1×10^{-4} M
Formic acid	0.190	54.7	0.874
Acetic acid	0.833	78.1	5.00
Propionic acid	0.567	37.5	4.20
<i>n</i> -Butyric acid	1.64	90.2	14.4
<i>n</i> -Valeric acid	1.19	58.4	12.2
<i>n</i> -Caproic acid	1.79	81.4	20.8
Enanthic acid	1.26	53.9	16.4
Caprylic acid	1.06	43.5	15.3
Pelargonic acid	1.32	52.2	20.9
Capric acid	1.60	61.4	27.5
Lauric acid	1.65	60.8	33.0
Palmitic acid	1.97	33.7	24.8
Stearic acid	0.851	36.0	24.2
Mean ^{a)}	1.31	57.3	18.2
S. D.	0.431	18.5	8.69
Iso butyric acid	1.19	66.0	10.6
Iso valeric acid	1.35	66.4	13.8
Pivalic acid	0.059	2.88	0.60

A: Theoretical COD (g/g).

a) Except formic acid.

低下したのは溶解度と関係している。分岐型のピバリン酸は意外に高い COD を示した。また、ギ酸以外の脂肪酸では、銀塩の添加により著しい COD 値上昇効果が認められた。

アルカリ性においては、ギ酸の酸化率は 100% に近く、揮発もほとんど無いと考えられる。酢酸から吉草酸までの COD 値はほとんど検出しない。より高級酸では炭素数と共に COD 値は上昇したが、その値は非常に低かった。

分解生成物として、酸性では炭素数の 1 個少ない脂肪酸を認め、それ以下の脂肪酸も少量ずつ検出した。

これら脂肪酸の BOD は、ピバリン酸以外は高い酸化率を示した。これに対し COD の分解率は低いので水質汚濁の評価をする場合に注意を要する。しかし、このような点を考慮すれば、酸性法は脂肪酸を含む試料水にも一応適用できるが、アルカリ性は特に低いので避けた方がよい場合が多いと考えられる。

引 用 文 献

- 1) 日本工業規格, “工場排水試験方法 JIS K 0102-1981,” 日本規格協会, 東京, 1981, p. 33.
- 2) 日本薬学会, “衛生試験法注解1980,” 金原出版, 東京, 1980, p. 824.
- 3) 近藤準子, 山崎康男, 第7回下水道研究発表会講演要旨, 215 (1970).

- 4) 松本久男, 宮島幸子, 小原由子, 衛生化学, **28**, 357 (1982).
- 5) 藤木素士, 田島静子, 佐々弘之, 伝勉, 日衛誌, **22**, 601 (1968).
- 6) 小瀬洋喜, 船坂隼三, 佐藤孝彦, 衛生化学, **19**, 239 (1973).
- 7) R. Gloor, A. Leidner, *Chromatographia*, **9**, 618 (1976).
- 8) M.J. Barcelona, H.M. Litjestrang, J.J. Morgan, *Anal. Chem.*, **52**, 321 (1980).
- 9) 松井三郎, 山本良子, 井手慎司, 水処理技術, **21**, 993 (1980).
- 10) 宗宮 功, 河村清史, 水処理技術, **21**, 3 (1980).
- 11) A. Mowat, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **48**, 853 (1976).
- 12) 萩原耕一, “新版 B.O.D. 試験法解説,” 續文堂出版, 東京, 1977, p. 81.