

(12) 活性汚泥法における微生物反応の 酸化還元電位

OXIDATION REDUCTION POTENTIAL OF MICROORGANISMS REACTION IN ACTIVATED SLUDGE PROCESS

深川勝之*・村上定暲*・中西 弘**

Masayuki Fukagawa*, Sadaaki Murakami*, Hiroshi Nakanishi**

ABSTRACT; Decomposition of organic substances, nitrification and denitrification occur consecutively in a completely mixing type reactor of activated sludge process.

These phenomena were demonstrated by modelling the reaction of microorganisms from the point of view of the chemical thermodynamics. The standard oxidation reduction potentials (ORP) for decompositions of the organic substances are minus at pH 7.0. The ORP for nitrification was 430 mV and that for denitrification was 747 mV at pH 7.0. Then, the organic substances may be sufficiently decomposed under the foregoing ORP level for nitrification. And if the potential of the system is maintained between these two values, both nitrification and denitrification may be occurred simultaneously. Thus, the ORP is an important index for the simultaneously proceeding of nitrification and denitrification in a completely mixing type reactor.

KEYWORDS; oxidation reduction potential, activated sludge process, nitrification, denitrification, consecutive reaction

1. はじめに

わが国においては生物脱窒の技術はし尿処理において開発され、既に実用化されて久しい。一方、下水処理においても窒素を除去するために循環法¹⁾や内性脱窒法²⁾、あるいは間欠曝気法³⁾などが試みられている。これらの方法は反応槽を好気槽と嫌気槽に分離するとか、強制的に好気・嫌気槽⁴⁾を設けるとか、あるいは単一反応槽でも微小部分において、好気部分と嫌気部分とを存在させるとかの方法などがとられている。これらはどれも好気状態と嫌気状態を、時間的または場所的に作り出したものである。

有機物・窒素の同時除去に対する、動力学的取り扱い⁴⁾は石川ら⁴⁾によって行われた。そこでは DO濃度が低いことがそのまま硝化反応が不十分であるという結論にはならなかった。すなわち DO濃度の高低が必ずしも厳密な硝化、脱窒の反応の状況を正確に反映する指標とはなっていない。また単一反応槽において有機物・窒素の同時除去を行い得る最適の条件が DO濃度が 0.0mg/Lに近い低 DO濃度下であったわけであるが、

*宇部工業高等専門学校物質工学科(Dept. of Chemical and Biological Eng., Ube Technical College)

**山口大学工学部社会建設工学科(Dept. of Civil Eng., Yamaguchi University)

その酸化、還元の状態は微妙であり、この状態を DO を指標として制御することは操作上必ずしも適切であるとは言えなかった。この有機物の酸化、硝化と脱窒の 3 反応が酸化・還元反応を伴う逐次並列反応であることに着目すれば、反応系の雰囲気をもより統一的であり適確に表わしているものの一つに酸化還元電位(以下 ORP)が挙げられる。ORP は系内に存在する酸化物質及び還元物質に由来しており、微生物が行う反応を直接反映するものではないかもしれないが、酸化還元反応が存在する以上、反応系の化学種により酸化還元の状態を間接的に反映することになると考えるべきであろう。ORP を生物学的排水処理に応用しようとする研究はかなり行われているものの⁴⁻¹⁰⁾ 運転管理に関するものが多く、特に単一反応槽における同時除去に関する理論的根拠は得られるに至っていない。著者ら¹¹⁾ も、し尿や下水処理における同時除去に対して、ORP を指標とすることの有効性を明らかにした。

本研究では ORP が系の液相内化学種で決まり、何故、完全混合型で 3 種類の相異なる反応の同時進行が可能であるかを明らかにするとともに、ORP が硝化、脱窒の反応の指標として大きな意義があり、し尿や下水などの有機物・窒素の同時除去に対する指標として有効であることを熱力学的立場から明らかにすることを試みた。

2. 微生物による酸化還元反応のモデル化

微生物の酸化還元反応は同化反応、異化反応及び呼吸反応に大別できる。これらは模式的には Fig. 1¹²⁾ のように簡略的に表すことができる。図は好気的な場合を示してあるが、硝酸呼吸の場合も同様に考えられる。微生物培養系における生物化学的反応は微生物細胞内で行われることが多い。したがって、微生物の外側で計測される ORP が、何を示すものであるかは従来から不明のままにされている。そこで、微生物により酸化還元を受け、微生物に摂取あるいは放出される化学種により ORP が決定されるはずであるとの立場から、Fig. 1 をモデル化したものを Fig. 2 に示した。微生物反応を異化・呼吸反応部分と合成反応部分に分けて考えた。図中、H₂O の生成については全て省略した。Fig. 2 A は微生物一般が行う反応を酸化還元反応の立場から微生物における物質の出入りをみたものである。このうち環境で測定される ORP は細胞外の物質によって決まるものとすれば Fig. 2 A の異化・呼吸反応部分のみを考えればよいことになる。同図、B は有機物酸化菌、C はアモニア酸化菌、D は亜硝酸酸化菌、E は脱窒菌がそれぞれ行う異化・呼吸反応部分を示した。図中、微生物内に示した化合物は中間生成物として反応を促進させる酵素が確認されているものである。脱窒菌については亜硝酸を摂取し還元することも多いが、ここでは簡単のため省略した。

反応は動的平衡にあり、それぞれに対応した ORP をもつものとする。これらの標準酸化還元電位は Gibbs の自由エネルギーより計算される。Table 1 に有機物分解、硝化及び脱窒反応に関係する Gibbs の自由エネルギー ΔG° ^{13), 14)} を示した。

3. 微生物反応における酸化還元電位

水溶液中で酸化還元反応が次のような平衡にあるとき



$$Eh^{\circ} = -\Delta G^{\circ}/nF \quad (2)$$

(1) の ORP は Nernst の式

$$Eh = Eh^{\circ} + (RT/nF) \ln([B][H^+]^n/[A]) \quad (3)$$

で表される。さらに、(3) 式は

$$Eh = Eh^{\circ} - (RT/F) \ln[H^+] + (RT/nF) \ln([B]/[A]) \quad (4)$$

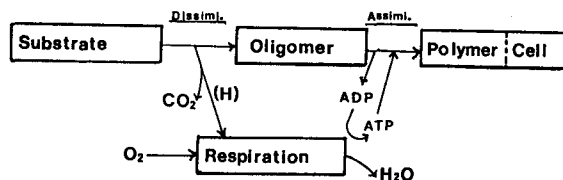


Fig.1 Model of microorganism reaction(1)

であるから, $R=8.314\text{J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$, $T=298.15\text{K}$, $F=96485\text{C}$ を代入して整理すると

$$E_h = E_h^0 - 59.17\text{pH} + (59.17/n)\log([A]/[B]) \quad (5)$$

生化学関係では $\text{pH}=7$ の電位で評価され, 例えば (5) 式は次式ようになる。

$$\begin{aligned} E_h^0 &= E_h^0 - 59.17 \times 7 \\ &= E_h^0 - 414.2 \text{ (mV)} \end{aligned} \quad (6)$$

4. 同化反応

同化反応は基質を S とすれば次式のように表される。



細胞合成反応が単なる縮合反応の場合は酸化還元反応ではないが, 光合成細菌や化学合成細菌が行う合成反応の場合は酸化還元反応である。このときの ORP は

$$E_{hS1} = E_h^0_{S1} + (RT/nF)\ln([S]/[\text{Cells}]) \quad (8)$$

となる。このように同化反応における ORP は, 活性汚泥濃度及び基質度によって決まると考えられる。

5. 異化・呼吸反応

異化・呼吸反応では基質 (S) が電子供与体となり, その酸化体を Ox で表すと次のようになる。



$$E_{hS2} = E_h^0_{S2} + (RT/nF)\ln\left(\frac{[Ox][H^+]^n}{[S_2]}\right) \quad (10)$$

電子受容体が酸素であれば



$$E_{h_r} = E_h^0_r - 59.17\text{pH} + 14.79\log[O_2] \quad (12)$$

のようになる。

環境の ORP は異化・呼吸反応の反映あるいは細胞に環境から取り込まれる物質と, 細胞外部に放出される物質によるものとすれば (7) 反応は細胞内で行なわれることから, 考慮から外してもよいものと考えられる。以下同化反応を省略して議論する。

有機物分解, 硝化及び脱窒反応を模式的に表したのが, Fig. 2 B, C, D, E で

ある。有機物酸化細菌は酸素存在下で異化及び同化に有機物を利用し, 異化作用により有機物を分解する。しかし, 実際には排水中の BOD 物質は複雑であり, その ORP を特定することはできない。

5.1 有機物酸化反応

簡単のため有機物を $(CH_2O)_n$ で表すと, 異化及び呼吸反応は

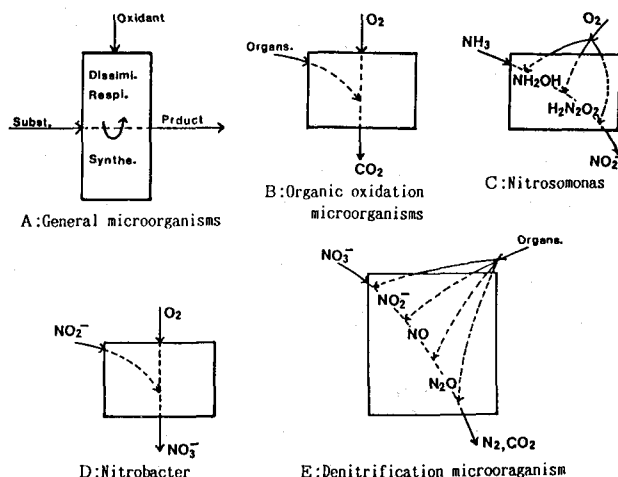


Fig. 2 Model of microorganism reaction(2)

-organic oxidation, nitrification and denitrification-(Formation of H_2O is omitted)

Table 1 Gibbs' free energy

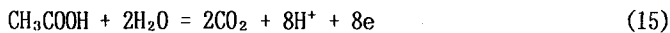
Material	ΔG^0_r (J/mol)
H_2	0
O_2	0
N_2	0
NH_3	-16500
NH_2OH	-106700
$H_2N_2O_2$	-130510
HNO_2	-46000
HNO_3	-80800
N_2O	104200
NO	86600
NO_2	51300
NH_4^+	-79400
NO_2^-	-37000
NO_3^-	-111300
H_2O	-237200
CO_2	-394360
CH_3COOH	-389600
$C_6H_{12}O_6$ (glucose)	-909400

$$(\text{CH}_2\text{O})_n + n\text{H}_2\text{O} = n\text{CO}_2 + 4n\text{H}^+ + 4ne \quad (13)$$

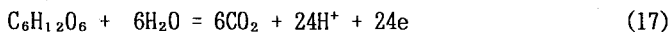
$$\text{Eh}_{\text{C1}} = \text{Eh}^{\circ}_{\text{C1}} - 59.17\text{pH} + (14.79/n)\log([\text{CO}_2]^n/[(\text{CH}_2\text{O})_n]) \quad (14)$$

のようになる。有機物が特定されない以上、(13)式の ORPは計算できない。電子受容体として酸素が作用し(11)となる。

排水処理系の有機物は多種多様であるため、有機物分解の ORPを特定することは困難であるが、一例として、酢酸及び グルコースの酸化分解における ORPを示すと次のようになる。



$$\text{Eh}_{\text{C2}} = \text{Eh}^{\circ}_{\text{C2}} - 59.17\text{pH} + 7.4\log([\text{CO}_2]^2/[\text{CH}_3\text{COOH}]) \quad (16)$$



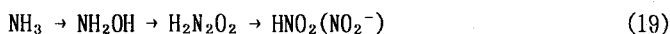
$$\text{Eh}_{\text{C3}} = \text{Eh}^{\circ}_{\text{C3}} - 59.17\text{pH} + 2.47\log([\text{CO}_2]^6/[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]) \quad (18)$$

Table 2 Oxidation reduction potential

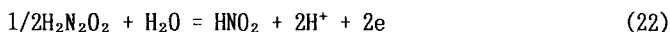
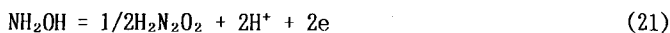
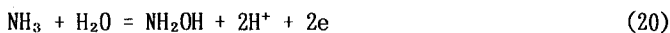
Red. Ox.	Eh° (mV)	Eh°' (mV)
N ₂ N ₂ O	1769	1355
H ₂ N ₂ O ₂ NO ₂ ⁻	1375	1287
N ₂ O NO	1587	1173
N ₂ NO ₂ ⁻	1511	959
H ₂ N ₂ O ₂ HNO ₂	1329	915
N ₂ NO ₃ ⁻	1244	747
NO HNO ₂	1084	670
NH ₄ ⁺ NH ₂ OH	1088	467
NO ₂ ⁻ NO ₃ ⁻	844	430
NH ₄ ⁺ NO ₃ ⁻	881	363
NH ₃ HNO ₂	769	354
NO ₂ ⁻ NO	1177	349
NH ₃ NH ₂ OH	762	348
NH ₄ ⁺ NO ₂ ⁻	893	340
HNO ₂ NO ₃ ⁻	891	270
NH ₄ ⁺ N ₂	274	-278
NH ₂ OH H ₂ N ₂ O ₂	215	-200
H ₂ O O ₂	1229	815
H ⁺ H ₂	0	-414
CH ₃ COOH CO ₂	98	-316
glucose CO ₂	-14	-428

5.2 アンモニア酸化反応

アンモニア酸化細菌は アンモニア及び酸素を異化・呼吸反応に利用し、二酸化炭素が同化反応に利用される。代表的なものとして nitroso-monasがよく研究され反応として確認されているのは次のような過程である⁽¹⁵⁾。



この過程の電子供与体は窒素化合物、電子受容体は酸素で次のように示される。



(21)の 1/2H₂N₂O₂は H₂Oではなく、NH₂OH自身であるとした。また(22)は電気的に中性の方が細胞膜を通過しやすいという理由から HNO₂としたものであり、NO₂⁻でも構わないが ORPは異なる。(20)、(21)、(22)の ORPは

$$\text{Eh}_{\text{N1}} = \text{Eh}^{\circ}_{\text{N1}} - 59.17\text{pH} + 29.59\log([\text{NH}_2\text{OH}]/[\text{NH}_3]) \quad (23)$$

$$\text{Eh}_{\text{N2}} = \text{Eh}^{\circ}_{\text{N2}} - 59.17\text{pH} + 14.79\log([\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_2]^{1/2}/[\text{NH}_2\text{OH}]) \quad (24)$$

$$\text{Eh}_{\text{N3}} = \text{Eh}^{\circ}_{\text{N3}} - 59.17\text{pH} + 29.59\log([\text{HNO}_2]/[\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_2]^{1/2}) \quad (25)$$

で表される。これらをFig. 2 参照 Cのように考えて、これらをまとめると



$$\text{Eh}_{\text{N4}} = \text{Eh}^{\circ}_{\text{N4}} - 59.17\text{pH} + 9.86\log([\text{HNO}_2]/[\text{NH}_3]) \quad (27)$$



のようになり、全体として

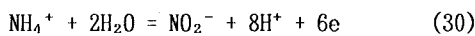


である。硝化反応が進行すると pHが低下することが知られているが、これは活性汚泥のような中性に近い水溶液系では事実上、フリーの アンモニアは殆ど存在しないで NH₄⁺の形となっているため(28)反応は結果的に

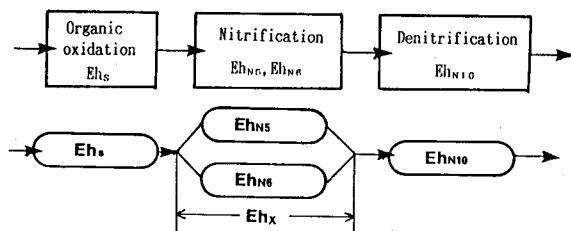
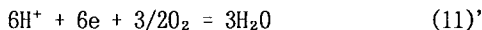


のようになっているものと考えられる。このことは硝化反応における ORPが(11)、(29)によってのみ決定

されるのではなく、(29)による pHの影響をも考慮すべきことを示している。(29)が動的に平衡にあるとした場合の ORPは次の通りである。



$$\begin{aligned} \text{Eh}_{\text{N5}} &= \text{Eh}_{\text{N5}}^0 - 78.9\text{pH} \\ &\quad + 9.861\log([\text{NO}_2^-]/[\text{NH}_4^+]) \quad (31) \end{aligned}$$



A: Three reactors

5.3 亜硝酸酸化反応

亜硝酸酸化に対しては nitrobacterがよく知られており、亜硝酸は異化反応に、二酸化炭素が同化反応に利用される。異化・呼吸反応は Fig.2の 5M Dである。この場合亜硝酸酸化の酸素は H₂O由来であることが分かっており¹⁶⁾



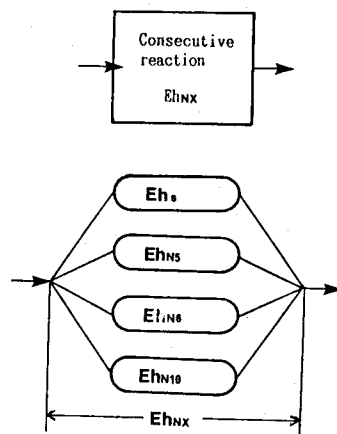
$$\text{Eh}_{\text{N6}} = \text{Eh}_{\text{N6}}^0 - 88.76\text{pH} + 29.59\log([\text{NO}_3^-]/[\text{NO}_2^-]) \quad (33)$$



で示される。全体としては



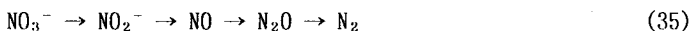
となる。HNO₃は強電解質なので中性付近では存在せず、全てイオンの形をとるので NO₃⁻とした。



B: One reactor

5.4 脱窒反応

脱窒反応では各窒素酸化物は異化・呼吸反応に、有機物は異化・同化反応に利用される。生物反応で脱窒される過程は次の通りである。



この各過程の酸化還元反応は有機物を電子供与体、窒素酸化物を電子受容体として次のように示される。



$$\text{Eh}_{\text{N7}} = \text{Eh}_{\text{N7}}^0 - 59.17\text{pH} + 59.17\log([\text{HNO}_2]/[\text{NO}]) \quad (38)$$



$$\text{Eh}_{\text{N8}} = \text{Eh}_{\text{N8}}^0 - 59.17\text{pH} + 59.17\log([\text{NO}]/[\text{N}_2\text{O}]^{1/2}) \quad (40)$$



$$\text{Eh}_{\text{N9}} = \text{Eh}_{\text{N9}}^0 - 59.17\text{pH} + 29.59\log([\text{N}_2\text{O}]/[\text{N}_2]) \quad (42)$$

脱窒反応を行う細菌は多種多様で¹⁷⁾、全てが明らかにされているわけではない。例えば pseudomonasのあるものは硝酸を亜硝酸にすみやかに還元するけれども、それ以上は還元しない。またあるものは硝酸から窒素 1 まで還元する。現在まで知られているものは後者が圧倒的に多い。したがって、Fig.2の 5M Eのように、殆どが硝酸から窒素 1 まで還元され、途中の反応は細胞内で行われると仮定すると、脱窒反応の ORPは次の通りである。



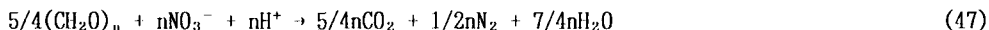
$$Eh_{N10} = Eh^0_{N10} - 71.0pH + 11.83\log([NO_3^-]/[N_2]^{1/2}) \quad (44)$$

亜硝酸から脱窒される場合には

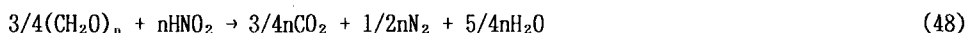


$$Eh_{N11} = Eh^0_{N11} - 59.17pH + 19.72\log([HNO_2]/[N_2]^{1/2}) \quad (46)$$

硝酸からの脱窒の全反応は



であり、亜硝酸からの脱窒の全反応は



である。

6. 有機物・窒素同時除去の熱力学的根拠

Table 2に Eh^0 及び $Eh^{0'}$ の計算結果を示した。摂取あるいは放出される化学種が不明なものも多いのでイオンと分子について示した。また微生物反応として確認されていないものについても示してある。ところで、有機物分解の ORPは低く、しかも分子量が増大するにつれて Eh^0 が小さくなる。したがって先に行った同化反応は考えなくてよいという仮定は有機物分解、硝化及び脱窒の系の場合には正しいといえる。以上の反応が有機物酸化槽、硝化槽、脱窒槽など独立した反応系であれば ORPは容易に理解されるが、単一反応槽のような混相系では測定された電位が何であるか、また、測定された ORPの状況でどのような反応は行われているかを知ることは容易ではない。Fig. 3の Aは有機物酸化、硝化及び脱窒反応がそれぞれ別の反応槽で行われる場合を、ORPの立場から説明したものである。Fig. 3の Bは単一反応槽における同時反応の場合を説明したものである。直列に配置した場合には、それぞれの反応を促進させるのに必要な ORPを与えることによ

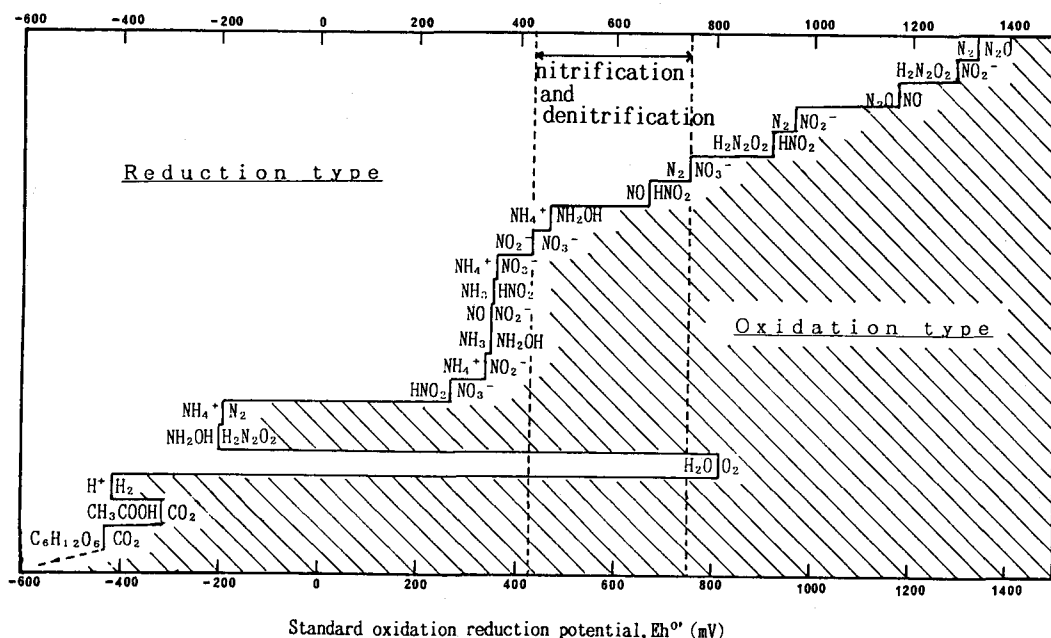


Fig. 4 Standard oxidation reduction potential on organic oxidation, nitrification and denitrification ($Eh^{0'}$ is Eh^0 at pH 7)

り、独立して制御が可能である。それに対して単一反応槽の場合は明らかに並列の関係にあり、全体の反応の状況はひとつの電位で表されることになる。

有機物、窒素除去で行われる反応のうち、関係すると思われる化学種についての ORP を Fig. 4 に示した。斜線の部分が酸化体を、左側が還元体を示す。排水中の有機物の酸化分解の ORP $E_h^{0'}$ は殆どが 0mV を下回る。例えば、酢酸の $E_h^{0'}$ は -316mV であるからこれ以上の電位であれば第 1 槽における有機物酸化分解は熱力学的には進行する。第 2 槽の硝化槽では アモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌が競合しているため、これらが同時に進行する条件は (30) 及び (32) 反応であるとすれば、 $E_h^{0'}$ はそれぞれ 340.4, 430mV であるから、高いほうの電位 430mV 以上の電位があればよいことを示している。逆に 340.4 と 430mV の間であれば、(31) 反応は進行しにくい。第 3 槽の脱窒槽では (43), (13) 反応であれば -316~747mV で両反応は進行し、(45), (13) であるとすれば、-316~959mV の範囲で両方進行する。

このように、熱力学的にはかなり広い範囲で脱窒反応は進行する。これに対して単一反応槽では (13), (30), (32), (43), (45) 反応を期待するものとすれば、これらを全て満足できる $E_h^{0'}$ の範囲は 430~747mV である。このように、単一反応槽でも有機物酸化、硝化、脱窒 3 反応が熱力学的には十分に可能であり、しかも電位の範囲はかなり広いことが分かる。また、 $H_2N_2O_2$ と HNO_2 , $H_2N_2O_2$ と NO_2^- の $E_h^{0'}$ はそれぞれ 915, 1287mV と極めて高いが、このような高い電位はこれまで実際には測定されていない。したがって細胞内の中間生成物に関わる ORP は関係しないという仮定は一応成立するものと考えられる。さらに脱窒の過程で NO や N_2O が少量確認されることが多いが、これは中間生成物が細胞外に洩れだすと考えらるべきであろう。

硝化反応においては、アモニア酸化細菌が NO_3^- のアモニアで摂取されることは明らかにされているものの、亜硝酸については NO_2^- の形かどうかははっきりしていない。硝酸についても同様である。弱酸や弱塩基は電気的に中性の分子として摂取される方が容易であるため考えやすいが、硝酸のような強電解質の場合には考えにくい。幸い、窒素化合物の標準酸化還元電位が極めて接近しているため、硝化・脱窒反応が同時に進行することがわかったが、系の ORP がどのような化学種によって決まってくるのかは残された課題である。

7. まとめ

活性汚泥における微生物反応を酸化還元反応の立場から簡単な E_h 化を行い、有機物酸化、硝化及び脱窒反応が熱力学的に可能であることを明らかにした。有機物酸化反応の ORP は非常に低く、このため硝化反応が起こる ORP 下では十分に進行する。また、硝化反応 (アモニアが窒素酸化物に変化する反応を総称する) の ORP は 400mV 程度辺りに集中している。さらには、窒素酸化物間の ORP が極めて高く、これらのことが硝化及び脱窒反応の同時反応を可能にしている。単一反応槽で連続反応が可能な範囲は標準酸化還元電位 (pH 7.0) で 430mV と 747mV の間でかなり広い範囲で硝化反応と脱窒反応が同時に進行する。

[参考文献]

- 1) 田中和博：循環式硝化脱窒プロセスの E_h 解析, 下水道協会誌, Vol. 18, No. 209, (1981)
- 2) 森山克美, 佐藤和明, 他: 硝化・内性脱窒素に関する研究, 衛生工学研究論文集, Vol. 24, (1988)
- 3) 飯尾友幸, 原田良誠, 他: 間欠曝気法による窒素除去に関する研究, 下水道協会誌, Vol. 25, No. 285, (1988)
- 4) 石川宗孝, 中西 弘, 他: 好気性脱窒現象の E_h 化に関する研究, 衛生工学研究論文集, Vol. 19, (1983)
- 5) Roberts F.W., Rudd D.A.: Application of oxidation reduction potential to sewage purification, Water Pollut. Control, 3, 1963, (2), 227.
- 6) Coakley P., O'Neill J.: Sludge activity and fullscale plant control, Water Pollut. Control, 74, 1975, (4), 404

- 7) M. G. Burrows: The Redox Potential of Activated Sludge, Water Pollut. Control, (1977)
- 8) 藤井正博, 近藤三雄: 都市下水活性汚泥処理の酸化還元電位の研究, 水処理技術, Vol. 23, No. 7, (1982)
- 9) 藤井正博: ORP活性汚泥法による団地下水の処理, 水処理技術, Vol. 24, No. 9, (1983)
- 10) 田中一彦, 安江鉦次, 他: 酸化還元電位による生物学的脱窒処理工程の自動制御, 水処理技術, Vol. 23, No. 8, (1982)
- 11) 深川勝之, 竹内正美, 他: 生物脱窒における ORP管理に関する研究, 衛生工学研究論文集, Vol. 25, (1989)
- 12) 合葉修一, 永井史郎: 生物化学工学—反応速度論—, 科学技術社, (1978)
- 13) 化学便覧: 丸善, (1990)
- 14) 石本 真教授定年退官記念会: 石本 真業績集, 嫌気性呼吸と硫黄代謝, 北海道大学薬学部微生物薬品化学講座, (1989)
- 15) 山中健生: 硝化細菌, 微生物, Vol. 2, No. 5, (1986)
- 16) Suzuki, I & Kwok, S.: A partial resolution and reconstitution of the ammonia oxidizing system of *Nitrosomonas europaea*: Role of cytochrome c-554, Can. J. Biochem., Vol. 59, (1981)
- 17) M. Henze Christensen and P. Harremoës : BIOLOGICAL DENITRIFICATION OF SEWAGE : A LITERATURE REVIEW, Prog. Wat. Tech. Vol. 8, Nos. 4/5, (1977)

[使用記号の説明]

- ΔG°_r : Gibbsの標準自由エネルギー[J/mol]
 F : ファラデー定数[C]
 R : 気体定数[J/mol·K]
 T : 絶対温度[K]
 Eh° : 水素電極基準標準酸化還元電位[mV]
 $Eh^{\circ'}$: pH= 7における水素電極基準標準酸化還元電位[mV]
 Eh : 水素電極基準酸化還元電位[mV]
 $Eh_{N1} \sim Eh_{N6}$: アモニア及び亜硝酸酸化反応の水素電極基準酸化還元電位[mV]
 $Eh_{N7} \sim Eh_{N10}$: 脱窒反応の水素電極基準酸化還元電位[mV]