活性汚泥の管理指標に関する研究 (第6報)¹⁾
活性汚泥混合液の Dimethyl Disulfide 生成能について²⁾

富田 伴一,^a 浜村 憲克,^a 小瀬 洋喜^b
愛知県衛生研究所,^a 岐阜薬科大学^b

Studies on the Control Index of Activated Sludge. VI.¹⁾
The Dimethyl Disulfide Formation Ability in
Mixed Liquor of Activated Sludge.²⁾

BANICHI TOMITA,^a NORIKATSU HAMAMURA^a
and YUUKI OSE^b

Aichi Prefectural Institute of Public Health,^a 7-6, Nagare, Tsuji-machi,
Kita-ku, Nagoya and Gifu College of Pharmacy,^b
5-6-1, Mitahora-higashi, Gifu

(Received October 13, 1981)

Formation of dimethyl disulfide (DMDS) from methionine added in the mixed liquor of activated sludge was investigated.

Though the formation of DMDS was influenced by culture time, the content of methionine added, concentration of mixed liquor suspended solids, pH and temperature of the liquor, the condition of activated sludge influenced more significantly the formation of DMDS.

As the condition of activated sludge became worse, the formation of DMDS increased, which was found on addition of not only L-methionine but also D-methionine.

Keywords—activated sludge ; dimethyl disulfide ; formation ability ; activated sludge condition ; L-methionine ; D-methionine

緒 言

著者らは、合成下水を用いて高BOD負荷量で活性汚泥を培養することにより、活性汚泥の状態を悪化させ、状態悪化の初期に曝気槽混合液中に dimethyl disulfide (以下、DMDS と示す) が生成することを認め、DMDS 濃度の変化は従来より用いられている BOD や汚泥容量示標 (以下、SVI と示す) 等の指標や、還元条件下亜硝酸窒素生成パターン³⁾ の変化と一致することにより、DMDS を活性汚泥の管理指標の一つとして使用できることを報告した。⁴⁾ また、DMDS は好氣的条件下で活性汚泥の作用によってメチオニンよりメチルメルカプタンが生成し、それが空気酸化を受けることにより生成することを認めた。¹⁾

本報では、活性汚泥の状態悪化時に DMDS が曝気槽中に生成する原因を明らかにするために、良好な活性汚泥と悪化した活性汚泥の両者を用いてメチオニン添加に

よる DMDS 生成条件の検討を行ない、さらに、活性汚泥の状態変化と DMDS 生成能の関係を追求したので報告する。

実 験 方 法

1. メチオニン添加による 活性汚泥 曝気槽 混合液の DMDS 生成能

1) DMDS 生成能の測定方法——活性汚泥曝気槽混合液 100 ml (または活性汚泥曝気槽混合液の適量を取り蒸留水で 100 ml としたもの) を内容積 350 ml の三角フラスコにとる。これに 1 mg/ml メチオニン溶液 2.0 ml を正確に加え、あらかじめテフロンシートで表面を覆ったダブルゴム栓で直ちに密栓する。これを約 25°C で 20 分間マグネチックスターラーを用いて攪拌培養する。20 分後に気層の一定量を FPD (S) ガスクロマトグラフィー⁴⁾ に注入して気層中の DMDS 濃度を測定する。一方、活性汚泥混合液は速やかに東洋濾紙 No. 5A で濾過し、濾液中の DMDS 濃度を Head

Space 法⁴⁾により測定する。気層中と液層中の全 DMDS 量を求め、この値からメチオニンを添加せずに同様に操作して求めた DMDS 量を差し引いた値をメチオニン添加による活性汚泥曝気槽混合液の DMDS 生成能 ($\mu\text{g-DMDS/g-活性汚泥浮遊物質}$ (以下, MLSS と示す) $\cdot 20 \text{ min}$) とする。

2) DMDS 生成能に影響を及ぼす因子の検討——実験室培養活性汚泥を連続式活性汚泥装置³⁾を用いて合成下水⁴⁾ (BOD : N=100 : 11) により負荷量 $0.5 \text{ kg-BOD/m}^3 \cdot \text{d}$ で約 1 カ月間培養することにより、活性汚泥沈殿率 (以下, SV と示す) = 23—40%, SVI = 37—58, 硝化率⁵⁾ = 58.8—89.3%, 酸化還元電位 (以下, ORP と示す) = +287—+420 mV, 溶存酸素 (以下, DO と示す) = 7.0—9.5 ppm で沈降性が良く、酸化分解が進行しており、好気性状態にあって良好な状態の活性汚泥混合液 A—E を得た。一方、負荷量 $6.1 \text{ kg-BOD/m}^3 \cdot \text{d}$ で約 2 週間培養することにより、SV = 89—98%, SVI = 92—160, 硝化率 = 0.0—3.5%, ORP = -30—+100 mV, DO = 0.4—3.0 ppm で沈降性が悪く、酸化分解が不十分で嫌気性状態に近づいており、悪化した状態の活性汚泥混合液 F—J を得た。それぞれの活性汚泥の性状を Table I に示す。

(1) 培養時間：良好な活性汚泥混合液 A と悪化した活性汚泥混合液 F を用いて、それぞれの MLSS 濃度を 3290 ppm, 2450 ppm に調製し、各 100 ml に対して DL-メチオニン 2.0 mg を正確に添加した。これを両活性汚泥混合液について 6 個ずつ調製し、約 25°C で 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 分間マグネチックスターラーで攪拌

培養後の DMDS 量を測定し、培養時間と各時間培養後の DMDS 量の関係を求めた。

(2) 添加メチオニン量：良好な活性汚泥混合液 B と悪化した活性汚泥混合液 G を用いて、それぞれの MLSS 濃度を 4100 ppm, 3870 ppm に調製した。各 100 ml ずつに対して DL-メチオニンを 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg 添加して約 25°C で 20 分間マグネチックスターラーで攪拌培養し、DL-メチオニン添加量と 20 分間培養後の DMDS 量の関係を求めた。

(3) MLSS 濃度：良好な活性汚泥混合液 C と悪化した活性汚泥混合液 H を用いて、各活性汚泥混合液を約 10 分間静置し、沈降部分を各活性汚泥混合液の滲液で希釈することにより、MLSS 濃度を 0, 1000, 2500, 5000 ppm に調製した。それぞれの MLSS 濃度の活性汚泥混合液 100 ml に対して、DL-メチオニン 2.0 mg を添加した。これを約 25°C で 20 分間マグネチックスターラーで攪拌培養し、MLSS 濃度と 20 分間培養後の DMDS 量の関係を求めた。

(4) pH 値：良好な活性汚泥混合液 D と悪化した活性汚泥混合液 I を用いて、それぞれの MLSS 濃度を 3280 ppm, 2440 ppm に調製した。各活性汚泥混合液を HCl 溶液または NaOH 溶液を数滴添加することにより、pH 値を 2.6—10.4, 2.7—10.3 に調製した。pH 値を調製したそれぞれの活性汚泥混合液 100 ml に DL-メチオニン 2.0 mg を添加した。これを約 25°C で 20 分間マグネチックスターラーを用いて攪拌培養し、pH 値と 20 分間培養後の DMDS 量の関係を求めた。

(5) 水温：良好な活性汚泥混合液 E と悪化した活性汚

TABLE I. Properties of Activated Sludge

Used activated sludge		Sludge volume (SV) (%)	Mixed liquor suspended solids (MLSS) (ppm)	Sludge volume index (SVI)	pH	Oxidation reduction potential (ORP) (mV)	Dissolved oxygen (DO) (ppm)	Rate of nitrification ^{a)} (%)
Activated sludge of normal condition	A	31	6580	47	4.8	+347	9.5	84.9
	B	40	8190	49	4.9	+420	8.6	71.5
	C	23	4090	56	4.2	+287	7.0	62.2
	D	24	6560	37	4.6	+386	9.5	89.3
	E	26	4520	58	4.4	+320	7.2	58.8
Activated sludge of worse condition	F	95	9780	97	7.8	-20	0.4	0.0
	G	89	9670	92	7.5	+100	3.0	3.5
	H	94	5890	160	7.7	+71	2.5	0.4
	I	98	9760	100	7.3	-30	0.7	0.0
	J	94	9060	104	7.6	-22	0.4	0.0

a) $(\text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N} / \text{NH}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}) \times 100$.

泥混合液 J を用いて、それぞれの MLSS 濃度を 4520 ppm, 2270 ppm に調製した。各活性汚泥混合液の約 150 ml ずつを 5—45°C, 4—42°C の恒温槽中で約 30 分間マグネチックスターラーで攪拌培養することにより一定温度とした。一定温度になった各活性汚泥混合液 100 ml をとり、DL-メチオニン 2.0 mg を添加して各温度で 20 分間マグネチックスターラーを用いて攪拌培養し、水温と 20 分間培養後の DMDS 量の関係を求めた。

2. 活性汚泥に対する負荷量増加時の水質と DMDS 生成能の関係

1) 活性汚泥培養方法——実験 I：曝気槽容積が 7650 ml の連続式活性汚泥装置に MLSS が約 5000 ppm になるように実験室培養活性汚泥をとり、水道水を 9160 ml/d, 合成下水⁴⁾を 1280 ml/d それぞれ微量定量ポンプを用いて連続注入した。このときの曝気槽滞留時間は約 18 時間、負荷量は 0.45 kg-BOD/m³・d であった。この条件で約 1 カ月間培養することにより、SVI=77, BOD 除去率=99%, 硝化率=72%, 還元条件下亜硝酸性窒素生成パターン=Type A, DMDS=不検出の良好な活性汚泥を得た。実験開始 5 日目以降、合成下水の濃度を 10 倍に濃くすることにより、活性汚泥への負荷量を 4.5 kg-BOD/m³・d に増加し、水質と DL-メチオニン添加時の DMDS 生成能の関係を求めた。

実験 II：生活排水を処理している下水処理施設の活性汚泥混合液を MLSS が約 3500 ppm になるように連続式活性汚泥装置にとり、水道水 11700 ml/d と合成下水 1440 ml/d をそれぞれ微量定量ポンプで連続注入した。このときの曝気槽滞留時間は約 14 時間、負荷量は 0.51 kg-BOD/m³・d であった。この条件で約 1 カ月間培養することにより、SVI=115, BOD 除去率=99%, 硝化率=73%, DMDS=不検出の良好な活性汚泥を得た。実験開始 6 日目以降、合成下水の濃度を 12 倍に濃くすることにより、活性汚泥への負荷量を 6.1 kg-BOD/m³・d に増加し、水質と L-メチオニンおよび D-メチオニン添加時の DMDS 生成能の関係を求めた。

2) 測定項目および検体——メチオニン添加による DMDS 生成能の他に、pH 値、ORP、DO、硝化率、BOD、COD、400 nm 吸光度、還元条件下亜硝酸性窒素生成パターン、DMDS については前報⁴⁾と同様の方法で測定した。測定用検体は pH 値、ORP、DO、還元条件下亜硝酸性窒素生成パターン、メチオニン添加による DMDS 生成能については曝気槽混合液を、硝化率、BOD、COD、400 nm 吸光度、DMDS については曝気槽混合液を東洋濾紙 No. 5A で速やかに濾過した濾液を用いた。

実験結果

1. DMDS 生成能に影響を及ぼす因子の検討

1) 培養時間 Fig. 1 に示すように、良好な活性汚泥混合液と悪化した活性汚泥混合液はともに培養時間の経過にともなって DMDS 生成量が増加したが、良好な活性汚泥混合液に比較して悪化した活性汚泥混合液では明らかに DMDS 生成量の高いことより、DMDS 生成には活性汚泥の状態が大きく影響することを認めた。

2) 添加メチオニン量 Fig. 2 に示すように、良好な活性汚泥混合液と悪化した活性汚泥混合液はともに添加メチオニン量の増加にともなって DMDS 生成量が増加したが、良好な活性汚泥混合液に比較して悪化した活性汚泥混合液では明らかに DMDS 生成量が高かった。このことより、DMDS 生成には添加メチオニン量よりもむしろ活性汚泥の状態が大きく影響することを認めた。

3) MLSS 濃度 Fig. 3 に示すように、良好な活性汚泥混合液に比較して悪化した活性汚泥混合液では明らかに DMDS 生成量の高いことを認めた。両活性汚泥混合液とも MLSS 濃度の増加にともなって DMDS 生成

Fig. 1. Effect of Culture Time on Formation of DMDS

○: Activated sludge A of normal condition (sludge volume index (SVI)=47, pH=4.8, oxidation reduction potential (ORP)=+347 mV, rate of nitrification=84.9%).

Mixed liquor suspended solids (MLSS) concentration was made to 3290 ppm with distilled water.

●: Activated sludge F of worse condition (SVI=97, pH=7.8, ORP=-20 mV, rate of nitrification=0.0%). MLSS concentration was made to 2450 ppm with distilled water.

Added DL-methionine=2.0 mg/100 ml.

Fig. 2. Effect of Added DL-Methionine on Formation of DMDS

- : Activated sludge B of normal condition (SVI=49, pH=4.9, ORP=+420 mV, rate of nitrification=71.5 %).
MLSS concentration was made to 4100 ppm with distilled water.
- : Activated sludge G of worse condition (SVI=92, pH=7.5, ORP=+100 mV, rate of nitrification=3.5 %).
MLSS concentration was made to 3870 ppm with distilled water.
Culture time=20 min.

Fig. 3. Effect of MLSS Concentration on Formation of DMDS

- : Activated sludge C of normal condition (SVI=56, pH=4.2, ORP=+287 mV, rate of nitrification=62.2 %).
- : Activated sludge H of worse condition (SVI=160, pH=7.7, ORP=+71 mV, rate of nitrification=0.4 %).
Added DL-methionine=2.0 mg/100 ml.
Culture time=20 min.

量の増加する傾向を認めたが、悪化した活性汚泥混合液の MLSS 5000 ppm においては 1000 ppm, 2500 ppm よりも低い値を示した。

4) pH 値 Fig. 4 に示すように、良好な活性汚泥混合液と悪化した活性汚泥混合液はともに pH 8—9 付

Fig. 4. Effect of pH on Formation of DMDS

- : Activated sludge D of normal condition (SVI=37, pH=4.6, ORP=+386 mV, rate of nitrification=89.3 %).
MLSS concentration was made to 3280 ppm with distilled water.
- : Activated sludge I of worse condition (SVI=100, pH=7.3, ORP=-30 mV, rate of nitrification=0.0 %).
MLSS concentration was made to 2440 ppm with distilled water.
Added DL-methionine=2.0 mg/100 ml.
Culture time=20 min.
pH was adjusted with HCl and NaOH.

近において DMDS 生成量の高くなる傾向が認められた。この場合も良好な活性汚泥混合液に比較して悪化した活性汚泥混合液では明らかに DMDS 生成量の高いことを認めた。

5) 水温 Fig. 5 に示すように、両活性汚泥混合液とも 35℃ 付近までは水温の上昇にともなって DMDS 生成量が増加したが、40℃ 以上では明らかな減少を認めた。この場合も DMDS 生成量は良好な活性汚泥混合液に比較して悪化した活性汚泥混合液では明らかに高いことを認めた。

2. 活性汚泥に対する 負荷量増加時の水質と DMDS 生成能の関係

実験 I において 負荷量を 0.45 kg-BOD/m³・d から 10 倍量の 4.5 kg-BOD/m³・d に増加したときの 水質と DL-メチオニン添加による DMDS 生成能の関係を Fig. 6 に示す。

負荷量を増加することにより、pH 値は上昇し、ORP、DO は低下して還元的状態に近づいた。硝化率は負荷量の増加により低下したが、11日目には一時上昇し、再び低下して20日目にはほとんど0%となり、酸化分解が不十分であることを認めた。溶解性 BOD、溶解性 COD は負荷量を増加することにより上昇し、11—15日目には低下の傾向を認めたが、20日目には明らかな上昇を示し、活性汚泥の状態悪化を認めた。曝気槽混合液中の DMDS

Fig. 5. Effect of Water Temperature on Formation of DMDS

○: Activated sludge E of normal condition (SVI=58, pH=4.4, ORP=+320 mV, rate of nitrification=58.8 %).

MLSS concentration was 4520 ppm.

●: Activated sludge J of worse condition (SVI=104, pH=7.6, ORP=-22 mV, rate of nitrification=0.0%). MLSS concentration was made to 2270 ppm with distilled water.

Added DL-methionine=2.0 mg/100 ml.

Culture time=20 min.

は11日目までは検出されなかったが、13日目以降検出され、20日目には 489 ppb となり悪化を認めた。

還元条件下亜硝酸性窒素生成パターンは負荷量を増加する前は活性汚泥の状態が良好なときに認められる Type A を示したが、負荷量を増加することにより悪化傾向にあるときに認められる Type C となり、11日目にはやや回復して Type B となったが、13日目には再び Type C となり、20日目には活性汚泥の状態が悪化したときに認められる Type D となった。

このような水質変化を示すときの、DL-メチオニン添加による DMDS 生成能は曝気槽混合液中に DMDS を検出しない 11 日目までは 16–19 $\mu\text{g-DMDS/g-MLSS} \cdot 20 \text{ min}$ であったが、曝気槽混合液中に DMDS を検出した 13 日目以降上昇し、15 日目には 74.0 $\mu\text{g-DMDS/g-MLSS} \cdot 20 \text{ min}$ 、20 日目には 78.7 $\mu\text{g-DMDS/g-MLSS} \cdot 20 \text{ min}$ となった。

実験 II において負荷量を 0.51 $\text{kg-BOD/m}^3 \cdot \text{d}$ から 12 倍量の 6.1 $\text{kg-BOD/m}^3 \cdot \text{d}$ に増加したときの水質と L-メチオニンおよび D-メチオニン添加時の DMDS 生成能の関係を Fig. 7 に示す。

負荷量の増加により、pH 値は上昇し、ORP、DO、

Fig. 6. Time Course of Component Contents when BOD Load was changed

a) Volumetric load was changed from 0.45 $\text{kg-BOD/m}^3 \cdot \text{d}$ to 4.5 $\text{kg-BOD/m}^3 \cdot \text{d}$.

b) Added DL-methionine=2.0 mg/100 ml, culture time=20 min.

Fig. 7. Time Course of Component Contents when BOD Load was changed

a) Volumetric load was changed from 0.51 kg-BOD/m³·d to 6.1 kg-BOD/m³·d.
b) Added methionine=2.0 mg/100 ml, Culture time=20 min.

硝化率はしだいに低下して還元的状態に近づいた。溶解性 BOD, 溶解性 COD, 汙液の濁りをみるために測定した 400 nm 吸光度, 曝気槽混合液中の DMDS は負荷量を増加することによりしだいに上昇し, 活性汚泥の状態悪化を認めた。

このような水質変化を示すときの, L-メチオニンおよび D-メチオニン添加による DMDS 生成能は類似した変化を示し 8 日目にはそれぞれ 243, 193 μg-DMDS/g-MLSS · 20 min, 9 日目には, それぞれ 361, 345 μg-DMDS/g-MLSS · 20 min となり, L 体, D 体ともに活性汚泥の状態悪化にともなって上昇した。しかし, 12 日目, 14 日目には, 活性汚泥の状態がさらに悪化しているにもかかわらず DMDS 生成能の低下を認めた。

考 察

活性汚泥に対する負荷量増加時の水質と DMDS 生成能の関係について検討した実験 I, II の結果より, 活性汚泥の状態が悪化し始めたときに, 曝気槽混合液中に DMDS が検出されるのはメチオニンよりの DMDS 生成能が上昇するためであることを認めた。

メチオニンの分解によるメチルメルカプタン, DMDS の生成に関しては単一菌を用いて酵素精製を行なった報告がある。Ruiz-Herrera らは D-メチオニンよりの分解生成を報告しているが,⁶⁾ Kreis ら, Ito らは L-メチオニ

ンよりの分解生成を報告している。⁷⁾ 今回の活性汚泥を用いた実験では L-メチオニン, D-メチオニンともに DMDS の生成を認めたことより, 活性汚泥は多種類の細菌の混合培養系であるために L-メチオニン, D-メチオニン両者の分解菌の存在やラセマーゼの存在が推測された。

Fig. 3 の悪化した活性汚泥の MLSS=5000 ppm において DMDS 量の減少が認められたことや, Fig. 7 の 12—14 日目において活性汚泥の状態がさらに悪化しているにもかかわらず DMDS 生成能の低下が認められたことより, 活性汚泥の状態が, さらに悪化した場合には DMDS 生成能の低下や DMDS 分解菌の増殖などが考えられた。

結 論

1. メチオニン添加による DMDS 生成能に影響を及ぼすと考えられる培養時間, 添加メチオニン量, MLSS 濃度, pH 値, 水温について, 良好な活性汚泥混合液と悪化した活性汚泥混合液の両者を用いて検討した。その結果, いずれの因子においても悪化した活性汚泥混合液の方が良好な活性汚泥混合液に比較して明らかに DMDS 生成能の高いことを認め, DMDS 生成には活性汚泥の状態が大きく影響することを認めた。

2. 曝気槽混合液中に DMDS を検出し, 活性汚泥の

状態が悪化し始めたときには、メチオニン添加による DMDS が検出されるものと考えられる。

DMDS 生成能の上昇を認めた。この傾向は L-メチオニン、D-メチオニンの両者に認められた。

謝辞 御校閲を賜った愛知県衛生研究所長・井上裕正博士に感謝いたします。

以上の結果より、活性汚泥の状態が悪化し始めたときに DMDS 生成能が上昇するために曝気槽 混合液中に

引用文献および注

- 1) 第5報：富田伴一，浜村憲克，小瀬洋喜，衛生化学，**27**，98 (1981)。
- 2) 日本薬学会第101年会，熊本，1981年4月要旨講演。
- 3) 富田伴一，浜村憲克，小瀬洋喜，衛生化学，**25**，13 (1979)。
- 4) 富田伴一，浜村憲克，小瀬洋喜，衛生化学，**26**，218 (1980)。
- 5) 富田伴一，浜村憲克，小瀬洋喜，衛生化学，**25**，338 (1979)。
- 6) J. Ruiz-Herrera, R. L. Starkey, *J. Bacteriol.*, **99**, 764 (1969)。
- 7) W. Kreis, C. Hession, *Cancer Research*, **33**, 1862 (1973); S. Ito, T. Nakamura, Y. Eguchi, *J. Biochem.*, **79**, 1263 (1976)。