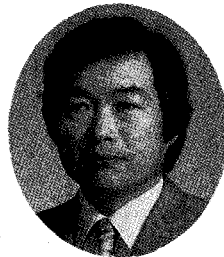


생물학적 수처리의 효율제고 방안



南相虎

〈건국대 환경공학과 교수〉

目次

- I. 緒論
- II. 研究方法
 - 1. 實驗裝置
 - 2. 基質
 - 3. 實驗方法
- III. 實驗結果 및 討義
 - 1. TF의 定量
 - 2. TTC 反應條件決定
 - 3. 運轉條件에 따른 TF 生成變化
- IV. 結論
- 參考文獻

I. 緒論

微生物을 이용한 水處理는 어떠한 形態의 工程을 取하더라도 除去하고자 하는 基質에 대한 微生物의 比를 考慮하지 않을 수 없다. 우리나라의 生物學的 水處理工法은 90% 以上이 浮遊微生物을 利用한

活性슬러지 工法을 採擇하고 있다. 活性슬러지 工法에서 微生物 因子는 F/M 比, 處理效率, 슬러지 返送率, 슬러지 廢棄率, SRT를 決定하는데 絶對的인 項目이라 할 수 있다. 본 논문은 活性슬러지중의 非活性슬러지 部分의 影響을 最小化하고 活性슬러지의 活性이란 用語 그대로 活性微生物의 活性度를 한 生化學的 方法으로 測定하는 方法을 提示함으로서 水處理의 設計 및 運轉에 도움을 주고자 한다. 脫水素酵素의 測定方法에 關하여 實驗研究한 結果와 提示한 實驗結果의 活動度 評價式은 本문 내용과 같다.

生物學的 水處理工程의 設計 및 運轉에 關한 諸般因子는 반응조의 微生物量 評價를 기초로 결정된다. 현재 널리 이용되고 있는 固形物測定(MLSS 또는 MLVSS)은 유입수의 無生物的 有·無機物이 포함되며 固形物 中 活性微生物量의 比率變化로 微生物量評價에 불확실한

결과를 가져온다.¹⁾ 이러한 결점을 보완하기 위하여 유기질소, 단백질 DNA, ATP 등 細胞構成物質의 含量 또는 代謝活動 測定이 활발히 연구되어 왔다.

本研究의 對象物質인 TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride)는 有機物分解時 脫水素酵素의 反應에 의해 TF(2,3,5-triphenyl formazan)로 환원되는 특성을 가지고 있다.^{2,3)}

TF는 붉은색을 띄게 되므로 吸光光度計에 의해 쉽게 定量이 가능하다. 微生物의 活性度를 評價하는 TTC測定은 保存성이 없고 分析이 간편하여 實理的인 評價方法으로 인식되고 있다.

II. 研究方法

1. 實驗裝置

本研究를 위한 實驗裝置는 實驗실 규모의 활성슬러지 裝置로 Fig.1과 같다. 동일한 규격으로 제작된 3



槽을 有機物負荷를 달리하여 동시에 운전하였다. 實驗은 1년 2개월 (1987.9~1988.10) 동안 실시하였다. 曝氣槽은 유효 용량 5ℓ의 아크릴제 장방형水槽이며 槽內水溫은 20±0.5°C를 유지하였다. 각 槽의 運轉條件은 Table 1과 같다.

2. 基質

基質은 流入濃度の 변동에 따른 實驗誤差를 없애기 위하여 人工製造하였으며 有機物濃度는 一般都市下水의 濃度範圍로 하였다. 人工基質의 pH는 7.4, Alkalinity는 CaCO₃로 180mg/ℓ이며 COD/BOD는 1.21, COD/TKN은 6.6이었다.

3. 實驗方法

TTC測定의 反應條件決定은 일반적으로 既存의 研究結果를 참고로 하고, 다음 TTC還元과 關係되는 反應因子에 대하여 最適化를 기하였다. 實驗순서는 우선 TF의 定量方法을 결정한 후 주어진 實驗조건에 따라 微生物의 活性에 의한 TF生成率을 파악하였다. TF 定量時 固液分離는 Sorvall RT-6000(Du Pont社) 遠心分離基를 이용, 3,000rpm(1,200g)에서 10분간 分離하였으며 吸光度測定은 UV-240(Shimadzu社) 吸光光度計를 이용하였다.

III. 實驗結果 및 討議

1. TF의 定量

TF 抽出劑는 ethyl alcohol, methyl alcohol, 1-butanol등이 사용되어 왔으나 본실험에서는 抽出效果가 확인된 ethyl alcohol을 擇하여 濃度에 따른 抽出效果를 검토하였다(Fig. 2). Ethyl alcohol 농도 80% 이상에서 좋은 效果를 보였으며 95% ethyl alcohol을 사용하여 1次抽出(吸光度 0.8~1.0)한 슬릿지에

대한 2次抽出結果 吸光度는 0.02이하로서 만족할 效果를 보였다. TF 檢量線作成時 95% ethyl alcohol을 사용, 0.1, 0.5, 1.0 TF mole/10ml의 標準溶液으로 吸光度를 測定한 결과 最適吸光度長은 485nm이었다(Fig. 3). TF 檢量線은 吸光度 1.4(0.91μ mole TF/10ml)까지 거의 比例적으로 나타났으나 실험에는 0.0~1.0의 吸光度 값만 이용하였다.

2. TTC 反應條件決定

1) 培養時間

微生物試料에 TTC를 주입한 후 15分 間격으로 측정된 TF생성량은 1時間이내에서 時間에 比例적으로 나타났으며 (Fig. 4) 이후 완만한 增加를 보였다. 48時間까지의 反應에서 Fig. 5와 같이 TF생성이 制限되었다.

TTC의 反應停止劑로는 一般적으로 황산과 ethyl alcohol이 이용되어 왔으나 黃酸이 效果의인 것으로 보고되고 있다.¹⁰⁾ 본 실험에서는 황산과 포르말린을 擇하여 比較하

Table 1. Operating condition

	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3
MCRT (d)	27.0	12.3	5.2
F/M (1/d)	0.1	0.3	0.65
HRT (hr)	18	8	4

Table 2. Compositiorc of synthetic substrate

Composition	Concentration(g / 20ℓ)
Peptone	2
Yeast extract	1
Glucose	1.33
NH ₄ Cl	0.46
KH ₂ PO ₄	0.16
K ₂ HPO ₄	0.44
Na ₂ HPO ₄	0.66
MgSO ₄	0.46
CaCl ₂	0.56
FeCl ₃	0.05

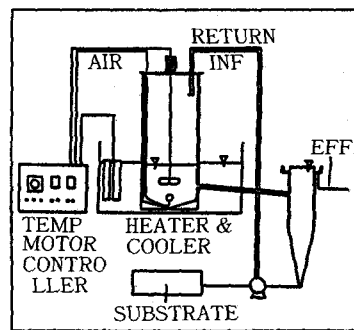


Fig. 1. Schematic diagram of experimental apparatus

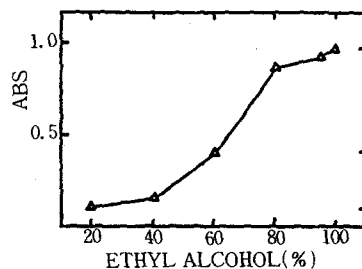


Fig. 2. Effect of extraction of ethyl alcohol(35%) at various concentration.

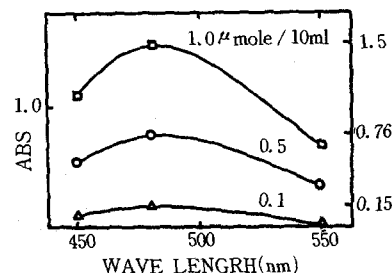


Fig. 3. The maximum absorption wavelength range of TF standard solution

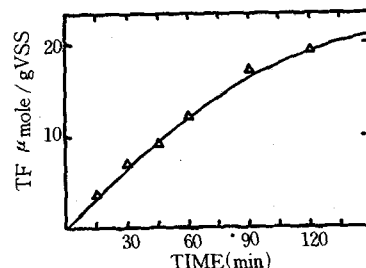


Fig. 4. TF production of various incubation time(1)



였으며 Fig. 6과 같이 거의 동일한 효과를 보였다. 다만 TF 抽出時 遠心分離과정에서 포르말린을 사용한 試料의 分離가 황산사용에 비해 良好한 것으로 나타났다. 포르말린은 衛生上의 觀點에서 取扱이 용이하지 않은 단점이 있다.

2) 反應溫度

溫度的 영향은 親溫性微生物의 特性을 보였다. 20~37°C까지의 TF 생성변화를 Arrhenius式으로 표현하면 다음과 같다.

$$\frac{K_T}{K_{37}} = 1.057^{(T-37)}$$

20°C를 기준으로하여 溫度別 TF 생성량을 他研究와 비교한 결과, 본 실험의 결과가 평균값에 근사함을 보였다(Fig. 8).

3) pH

실험에 이용된 試料의 평균 pH값은 6.4이었으며 TTC용액은 4.3이었다. Fig. 9는 0.1 M-수산화칼륨 용액으로 反應試料의 pH를 조정하여 TF 생성량을 측정한 결과이며 pH 8.6에서 最大값을 보였다. 그러나 試料의 pH를 각각 4.0, 7.0, 11.0으로 조정 후 時間別로 관찰한 결과 微生物에 대한 衝擊으로 인하여 TF 생성이 90분 이후에 비로소 안정되어졌으며 생성량은 中性, 酸性, 알칼리성의 순이었다.

4) 溶存酸素

TTC는 水素電子를 收容함에 있어 溶存酸素와 경쟁관계에 있다. 따라서 好氣性 微生物인 경우 酸素를 除去함으로써 TTC測定의 不確實性을 최소화시킬 수 있다.

溶存酸素의 除去方法은 微生物呼吸에 의한 방법(豫溫), 還元劑添加 방법 및 遠心分離 후 상등액을 熱處理한 증류수와 치환하는 방법이 있다. 豫溫은 酸素를 제거함과 동시에 微生物의 溫度적응력을 높일 수 있는 이점이 있다. DO 3.4mg/l인 試料에 대하여 세 방법으로

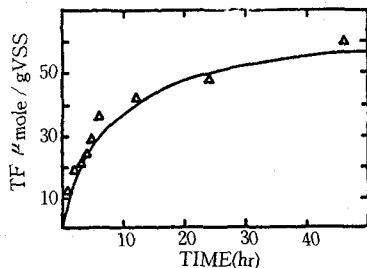


Fig. 5. TF production of various incubation time(2)

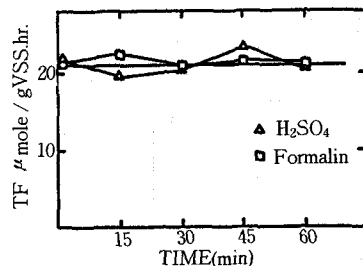


Fig. 6. Effect of stoppers on TF production

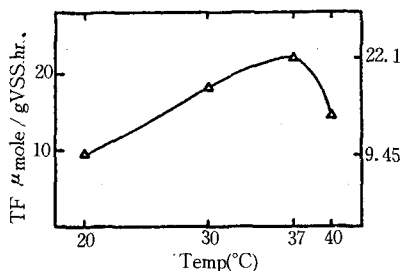


Fig. 7. Effect of temperature on the TF production

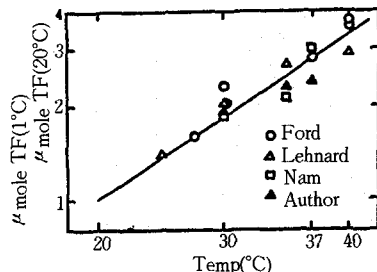


Fig. 8. Ratio of the TF production at various temperature to at 20°C

Table 3. Comparison of oxygen removal methods on TF production

Oxygen removal	Respiration	Chemical adding	Centrifuging
μmole TF / gVSS hr	16.4	21.2	25.2

산소제거 후 측정된 결과는 Table 3과 같다. 원심분리 방법과 환원제 첨가방법은 거의 같은 결과를 보였으나 환원제 첨가가 조작성 간편하여 사용상 有利하였다.

還元劑(Na₂SO₃+CoCl₂)를 이용, DO를 제거한 시료를 曝氣하여 DO 濃度別로 채취한 試料를 대상으로 한 TF 생성변화는 Fig. 10과 같다. 각 試料에 다시 還元劑(Na₂SO₃ 1.4g/l + CoCl₂ 0.2g/l) 0.5ml를 가한 결과 TF 생성은 거의 일정하였으나(A線) 還元劑의 주입이 없는 試料는 DO의 증가에 따라 TF 생성이 현저히 감소하였다(B線). 각 濃도에서의 A線과 B線의 差異는 DO에 의해 TF 생성이 억제된 부분을 나타내고 있다.

5) 注入濃度 및 稀釋

微生物에 의한 TTC還元率は 아

주 낮으며 TTC濃度は 일반적으로 0.02~0.1%(最終濃度)로 주입하고 있다. 본 실험에서는 0.0~0.015%, 0.0~0.2%로 나누어 실시하였다.

TTC 0.0015%(시료내 0.224 μmole)에서 0.18 μmole TF가 생성되어 생성 mole수 / 주입 mole수로 표현되는 還元率在 80%이나 TTC 0.01%에서의 還元率は 21%로 감소하였다. 또한 Fig. 12에서나 같이 0.04%까지 거의 직선형태의 생성변화를 보였으나 0.1% 이상에서는 생성이 저하되어 TTC에 의한 毒性 영향이 있는 것으로 판단된다. Fig. 13는 TTC濃도와 微生物濃度の 관계를 나타내고 있다.

동일한 시료를 이용, VSS濃도 1.8g/l와 15g/l로 농축하여 TTC濃도별로 비교한 결과 微生物濃도가 높은 B線은 毒性 영향이 감



소하지만 TF 생성량은 A의 절반수준이었다. TF 생성의 감소원인은 單位微生物量당 TTC 및 基質의 공급이 상대적으로 작아지며 특히 反應시 슬러지가 沈澱, 壓縮되는 原因으로 판단된다. 그 영향을 최소화시키기 위해서는 試料를 適當한 濃度로 稀釋할 必要가 있다. VSS 7.5g / l 인 建國大學教 우유공장폐수 처리시설, 曝氣式 酸化池의 활성슬러지를 이용하여 稀釋효과를 검토하였다.

試料를 1/10~4/10까지 희석하였을 때 TF생성율은 比例의이었으나 6/10이상(4.5g / l)에서는 TF생성이 감소되었다. 試料의 微生物濃度는 VSS기준 3.5g / l 이하에서 좋은 稀釋효과를 보였다.

6) 基質除去

試料내 基質을 除去하고 2시간 폭기후 측정된 TF값은 內生呼吸狀態의 微生物자체에 의한 TF생성을 의미하며, 酸素가 적용된 基質을 공급하는 경우 微生物活性에 의한 TF가 생성된다.¹¹⁾ Fig. 15는 F /

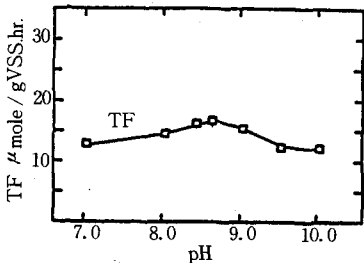


Fig. 9. Effect of pH on the TF production

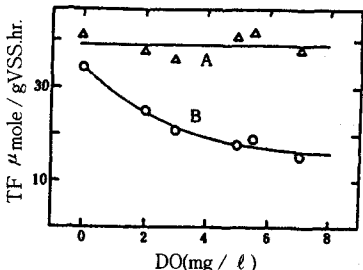


Fig. 10. Effect of DO concentration on the TF production

Table 4. Reaction condition of TTC-dehydrogenase activity test

Parameter	Condition
Sample volume	5~10ml
VSS concentration	<3.5g / l
Oxygen removal	Na ₂ SO ₃ +CoCl ₂
Substrate removal	Aeration
Final TTC concentration	0.1%
Incubation time	60min
Incubation temperature	37°C
Stopper	Formalin
Solid-Liquid separation	Centrifuger(1.200g, 10min)
Extraction reagent	Ethyl alcohol(95%) 10ml
Absorption wavelength	485nm

M比에 따른 內生呼吸 도달시간을 나타내고 있다.

基質除去時間은 운전조건등에 따른 微生物活性에 관계된다. F / M比 0.62인 시료는 曝氣 12時間이후 거의 안정된 값을 보였고 F / M比 0.3 이하의 경우 24時間 曝氣후 충분히 內生呼吸狀態에 도달된 것으로 볼 수 있다.

7) 表現方法

TTC測定은 微生物代謝活動을 간접적으로 表現하므로 實驗結果간 比較가 가능하도록 單位의 일괄성

이 요구된다. TTC反應에 의한 TF 생성은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$TF(\mu\text{mole/g VSS}\cdot\text{hr}) = \frac{TF(\mu\text{mole/10ml}) \times 10^3}{\text{試料量(ml)} \times \text{VSS濃度(g/l)} \times \text{培養時間(hr)}}$$

윗식은 培養時間 1시간 이내에서 적용이 가능하다. 본 연구결과로부터 얻은 TTC-脫水素酸素反應의 測定條件은 Table 4와 같다.

3. 運轉條件에 따른 TF 生成變化

生物學의 水處理工程의 微生物單位重量당 活性部分은 F / M比, 運轉條件등과 관계되며 TF생성량으로 나타낼 수 있다.⁵⁾ 微生物滯留時間(θc)이 각각 5.2, 12.3, 27.3일로 운전된 試料에 대하여 內生呼吸狀態의 TF생성량(De)를 측정된 결과, Fig. 16과 같이 θc가 길수록 De는 낮은 것으로 나타났다.

동일한 試料를 취하여 基質을 除去한 후 人工基質의 有機物濃度를 COD로써 0~1,500mg / l 까지 조정, 주입한 결과, TF생성은 Fig.17과 같았다. 各 基質濃度에서 전체 TF생성을 Pt라 할 때 基質에 의한 TF생성량(Ds)는 Dt-De이며 De는 基質濃度 0mg / l의 TF생성량이다. Dt는 θc에 따라 差異가 있으나 De에 따른 Ds값(Ds / De)은 Fig. 18과 같았다. 즉 De를 VSS중

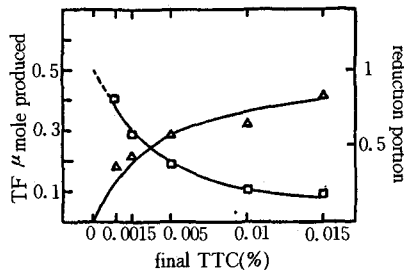


Fig. 11. Effect of TTC concentration(1)

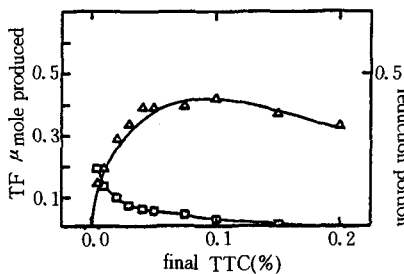


Fig. 12. Effect of TTC concentration(2)

活性部分에 의한 TF 생성으로 볼 때, 微生物중 活性部分당 D_s 는 運轉條件과 상관없는 것을 시사하고 있다.

IV. 結論

生物學的水處理에 있어서 微生物活性度 評價를 위한 TTC-脫水素酸素反應을 본 實驗結果는 다음과 같다.

1. TF 생성은 溶存酸素(Δ — Δ)에 의해 영향을 받으며 酸素除去는 培養전 還元劑의 添加가 효과적이었다.

2. VSS 2.7g/l에서 TTC의 毒性은 最終注入濃度 0.1% 이상에서 관찰할 수 있었으며 VSS 농도가 높을수록 毒性影響은 감소하였다.

3. VSS를 기준으로 한 單位微生物量당 TF 생성은 VSS가 증가할수록 감소하였다. 슬러지試料의 稀釋은 VSS 3.5g/l 이하에서 가능하였다.

4. 內生呼吸狀態의 TF 생성(D_e)는 微生物滯留時間別 活性部分으로 평가될 수 있으며 基質에 의한 TF 생성(D_s)은 VSS보다는 D_e 와 관계를 갖는 것으로 나타났다.

參考文獻

1. C.L. Weddle et al., The viability and activity of activated sludge, *Water Res.* 5, 1971.
2. A.W. Nineham, The chemistry of formazolium salts, *Chem. Rev.* 55, 1955.
3. H. Mollering et al, Visualization of NAD(P)-dependent reactions, In *Methods of Enzymatic analysis*, Academic press, 1970.
4. G. Lehnard et al., The measurement of dehydrogenase activity of activated sludge, *Proc. 2nd Ind. Wat. Poll. Res. Conf.*,

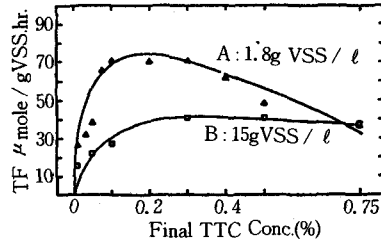


Fig. 13. Effect of TTC concentration(3)

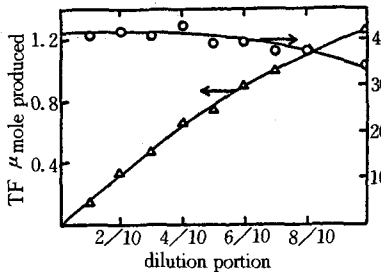


Fig. 14. Effect of dilution on the TF production

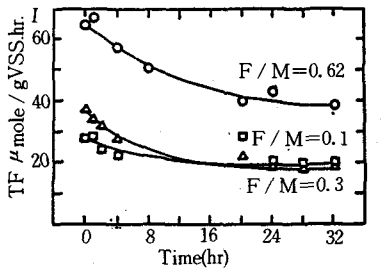


Fig. 15. TF production of different F/M ratio at various incubation time

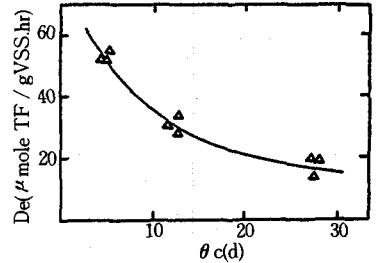


Fig. 16. TF production of endogenous phase on various θc

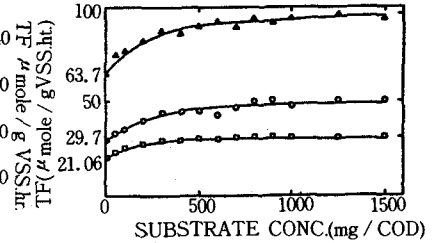


Fig. 17. TF production at various substrate concentration
: $\theta c=5.2$ days : $\theta c=12.3$ days
: $\theta c=27.3$ days

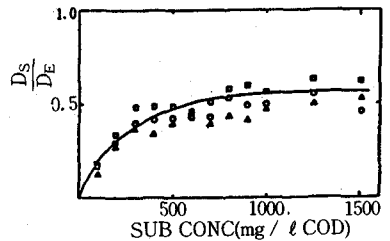


Fig. 18. Ratio of substrate TF production to endogenons TF production and substrate concentration

Tokyo, 1964.

5. D.L. Ford, Dehydrogenase enzyme as parameter of activated sludge activities, *Proc. 21st Ind. Waste. Conf. Purdue Univ.*, 1966.
6. P.H. Jones et al, The use of tetrazolium salts as a measure of sludge activity, *JWPCF* 41,11, 1969.
7. A. Klapwijk et al., A modified procedure for the TTC-dehydrogenase test in activated sludge, *Water Res.* 8, 1974.
8. H. Rissov-Nielsen, Measure-

ment of inhibition of respiration in activated sludge by a modified determination of the TTC-dehydrogenase activity, *Water Res.*9,1975.

9. 橋本 裝, 巖屈 惠祐, 活性汚泥法 制御における微生物の濃度 評價, 用水と廢水, p.28, 1986.
10. 南相虎, 生物學的水處理에 있어서 好氣性 微生物의 活性度 評價를 위한 TTC 測定方法에 관한 研究, 建大 産業技術研究所 研究報告 第21輯, 1987.
11. 須藤 隆一, 廢水處理の生物學 産業用水調査會, 1977. ◻