제2철 이온을 이용한 상온조건에서 하수슬러지의 생물전기화학 혐기성소화 성능향상 Ferric Chloride Addition Enhances Performance of Bioelectrochemical Anaerobic Digestion of Sewage Sludge at Ambient Temperature

풍 경 · 송영채^{*} · 장성호^{*}

Qing Feng · Young-Chae Song^{*} · Seong-Ho Jang^{*}

한국해양대학교 환경공학과 · *부산대학교 바이오환경에너지학과

Department of Environmental Engineering, Korea Maritime and Ocean University

*Department of Bioenvironmental Energy, Pusan National University

(Received October 18, 2016; Revised November 14, 2016; Accepted November 28, 2016)

Abstract : The influence of ferric ion (Fe^{3+}) on bioelectrochemical anaerobic digestion for sewage sludge was explored at ambient temperature (25°C). Before the addition of ferric ion, the removal of volatile solids (VS) was 65.9% and the specific methane production rate was 370 mL/L/d. After the addition of ferric ion (200 ppm) to feed sludge, the bioelectrochemical anaerobic digester was more stable in the state variables including pH, alkalinity, COD and VFAs, and the VS removal and specific methane production rate were increased to 69.8% and 396 mL/L/d, respectively. However, the methane content in biogas was slightly reduced by the addition of ferric ion, indicating that the activity of planktonic anaerobic bacteria (PAB) was more improved after the addition of ferric ion. The dominances of syntrophic bacteria (*Cloacamonas*) and hydrolytic bacteria (*Saprospiraceae*, *Ottowia pentelensis*) in the PAB were increased by the addition of ferric ion. The addition of ferric ion improved the performance of bioelectrochemical anaerobic digestion for sewage sludge at ambient temperature.

Key Words : Bioelectrochemical, Anaerobic Digestion, Ferric Ion, Sewage Sludge, Ambient Temperature

요약 : 상온조건(25°C)에서 하수슬러지처리를 위한 생물전기화학 혐기성소화조의 성능에 미치는 제2철 이온(Fe^{3+})의 영향을 연구하였다. 생물전기화학 혐기성소화조를 상온에서 운전하였을 때 pH, 알칼리도, COD 및 VFAs 등의 상태변수들은 안정하였으며, VS 제거율과 비메탄발생율은 각각 65.9% 및 370 mL/L/d이었다. 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온(200 ppm)을 주입한 후 상태변수들의 안정도는 더욱 향상되었으며, VS 제거율 및 비메탄발생량은 각각 69.8%, 396 mL/L/d로 증가하였다. 그러나, 제2철 이온을 주입 이후에 바이오가스의 메탄함량은 76.6%로 주입 이전의 77.3%에서 비하여 약간 감소하였다. 부유슬러지의 미생물 군집을 변화를 분석한 결과 공생 혐기성미생물(*Cloacamonas*) 및 가수분해균(*Saprospiraceae*, *Ottowia pentelensis*) 등의 우점균의 비율이 제2철 이온의 주입으로 증가하였다. 이것은 철이온의 주입으로 부유혐기성미생물(planktonic anaerobic bacteria, PAB)의 활성이 증가하였음을 나타낸다. 제2철 이온은 상온조건에서 하수슬러지처리를 위한 생물전기화학 혐기성소화조의 성능을 향상시킨다.

주제어 : 생물전기화학, 혐기성소화, 철이온, 하수슬러지, 상온조건

1. 서론

유기성폐기물을 안정화시키고 메탄가스를 생산하기 위하여 널리 사용하고 있는 혐기성소화는 운전온도에 따라 저온, 중온 및 고온소화로 구분하고 있다. 일반적으로 고온혐기성소화는 중온소화에 비하여 유기물의 혐기성분해 속도가 높다고 알려져 있다.¹⁻³⁾ 그러나, 혐기성소화조를 고온조건에서 운전하는 경우 가온을 위하여 많은 양의 에너지를 외부에서 공급하여야 하며, 소화조의 상태변수들이 상대적으로 불안정하고 유출수의 수질이 좋지 않다는 단점들이 있다.^{1,2)} 저온혐기성소화는 중온소화에 비하여 유기물의 혐기성분해를 측면에서 큰 차이를 보이기 때문에 제한적으로 특별한 경우에만 사용하고 있다.^{2,3)} 따라서, 지금까지 대부분의 혐기성소화조는 중온조건에서 운전하여 왔다. 그러나, 중온혐기성소화의 경우도 여전히 가온에 상당한 양의 에너

지를 필요하고 성능도 만족스럽지 못한 상황이다. 이 분야 연구자들은 열처리, 산 및 알칼리처리, 초음파처리, 극초단파처리 등과 같은 방법으로 시료를 전처리하여 중온조건에서 혐기성소화효율을 개선하기 위한 연구들을 진행하여 왔다.²⁾ 그러나, 시료전처리 방법으로 개선 가능한 성능이 기대치에 미치지 못하였으며, 중온보다 낮은 온도조건에서 혐기성소화 효율개선에는 거의 성과가 없었다. 최근 생물전기화학기술을 혐기성소화에 접목하여 낮은 운전온도에서 높은 소화효율을 달성하고자 하는 문제의 해답을 찾고자 하는 시도들이 있다.^{3,4)} 이들은 하수슬러지를 대상으로 한 연구에서 생물전기화학기술을 혐기성소화조에 접목하면 소화조의 성능이 크게 향상되며 바이오가스의 메탄함량이 높아질 수 있음을 보였다.⁵⁻⁹⁾ 생물전기화학기술은 일반적으로 혐기성소화조에 산화전극과 환원전극으로 이루어진 전기화학장치를 설치하고 전극에 작은 전압을 인가하는 방법으로 혐

^{*} Corresponding author E-mail: soyoc@kmou.ac.kr Tel: 051-410-4417 Fax: 051-410-4415

기성소화에 활용할 수 있다. 이때 산화전극 및 환원전극의 표면에서 부착성장하는 전기적으로 활성을 가진 혐기성미생물들은 적절한 전극 전위에서 활성이 크게 높아지게 된다. 따라서, 생물전기화학 혐기성소화조의 산화전극에서는 유기산 등의 유기물이 생물전기화학적으로 빠르게 분해되어 이산화탄소와 전자, 양성자를 생성하고, 환원전극에서는 이산화탄소와 전자, 양성자가 연속적으로 결합하여 메탄을 생성하게 된다. 따라서, 재래식 중온혐기성소화조와 비교할 때 생물전기화학 혐기성소화조는 운전하는 동안 소화상태가 매우 안정하고, 유기물의 혐기성분해율이 높으며 메탄생성량이 많은 것으로 알려지고 있다.^{8,9)} 특히, 이전 연구들에 의하면 전극표면에서 일어나는 생물전기화학반응은 온도의 영향을 상대적으로 작게 받는다.^{11,10)} 이것은 중온 이하의 낮은 온도조건에서도 메탄생성반응이 전극의 생물전기화학반응에 의해 유지될 수 있음을 의미한다. 그러나, 생물전기화학 혐기성소화조의 성능은 전극의 생물전기화학반응과 부유혐기성미생물의 활성에 의해서 동시에 영향을 받는다.^{8,9)} 따라서, 생물전기화학 혐기성소화조에 있어서도 정도의 차이가 있지만 운전온도가 낮아지면 소화효율의 감소는 필연적으로 나타나게 된다. 한편, 이전 연구들에 의하면 미량 금속원소들을 재래식 혐기성소화조에 주입하면 부유상태로 존재하는 혐기성미생물들의 활성을 높일 수 있어 혐기성 소화공정의 안정성과 바이오가스 생성율을 향상시킬 수 있었다.^{11,12)} 특히, 코발트와 니켈 등의 미량 금속원소들은 혐기성미생물의 대사과정과 관련된 효소들의 활성에 관여함으로써 혐기성소화조의 성능에 큰 영향을 미치는 물질들이다.¹¹⁻¹⁴⁾ 또한, 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입하여 철이온을 전자전달 매개체 역할을 하도록 함으로써 산화환원반응의 속도를 향상시켜 혐기성소화성능을 개선시킨 사

례들이 보고되고 있다.^{11,14)} 이러한 연구결과들은 혐기성소화조에 생물전기화학장치를 설치하고 철이온을 주입하면 낮은 온도에서도 소화효율의 큰 저하없이 혐기성소화조의 운전이 가능할 것이라는 것을 암시한다.

따라서, 본 연구에서는 하수슬러지를 대상으로 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입하여 상온(25℃)에서 성능향상이 가능한지를 연구하였다. 이를 위해 이전연구에서 보고한 바와 같이 실험실 규모의 재래식 혐기성소화조에 산화전극과 환원전극을 설치하고 직류전원공급장치를 이용하여 0.3 V를 인가한 뒤 소화효율과 소화조의 상태변수들을 평가하였다.⁹⁾ 또한, 생물전기화학 혐기성소화조가 정상상태에 도달한 뒤 제2철 이온을 주입함으로써 제2철 이온이 생물전기화학 혐기성소화공정의 성능개선과 미생물군집 변화에 미치는 영향을 비교 분석하였다.

2. 연구방법

2.1. 생물전기화학 혐기성소화조 및 운전

본 연구에서 사용한 실험실 규모의 생물전기화학 혐기성소화조는 아크릴수지로 제작한 원통형(직경 24 cm, 유효부피 12 L)의 완전혼합형 반응조를 사용하였다(Fig. 1).⁸⁾ 생물전기화학 혐기성소화조의 내부에는 전극-분리막 일체형 장치(Separator and electrode assembly, SEA, 6 cm × 24 cm) 6조를 이전연구에서와 같이 나선형으로 설치하여 전극이 내용물의 교반을 방해하지 않도록 하였다.¹⁵⁾ 또한, 생물전기화학 혐기성소화조의 외벽은 열선으로 피복하고 온도조절기의 열감지기를 소화조 내용물에 잠기게 하여 내용물의 온도조절이 가능하도록 하였다. 산화전극과 환원전극은 도선을

Fig. 1. Schematic diagram of bioelectrochemical anaerobic digester and SEA.

이용하여 직류전원공급장치(OPM series, ODA Technologies Co. Ltd, Inchoen, Korea)에 접속함으로써 전극의 전위를 조절할 수 있도록 하였다. 전극-분리막 일체형 장치는 산화전극과 분리막으로 사용한 폴리프로필렌 부직포, 그리고 환원전극을 순서대로 적층한 뒤 가장자리를 틀로 고정하는 방법으로 제작하였다. 본 연구에서 사용한 환원전극은 흑연섬유직물(Graphite fiber fabric, GFF, Samjung C&G Co., Korea)의 표면에 다중벽탄소나노튜브(Multiwall carbon nanotube, MWCNT, Carbon Nano-material Technology Co., Ltd., Korea)와 니켈을 전기영동법(30 V, 30분)으로 전착시켜 제작하였다. 여기서 전기영동에 사용된 전해질은 MWCNT 1 g과 염화니켈(Sigma-Aldrich Co., USA) 0.25 g, polyethylenimine 0.5 g을 1 L의 증류수에 용해시켜 준비하였다. 산화전극은 환원전극제작에 사용한 방법으로 니켈과 MWCNT를 표면에 전착시킨 GFF를 건조시킨 뒤 팽창흑연(Exfoliated graphite, EG, Hyundai Coma Industry, Inc., Seoul, Korea)과 MWCNT, 그리고 결합제를 중량비 0.5 : 1 : 1로 혼합하여 만든 반죽을 표면에 스크린 프린팅하여 제작하였다. 이때 사용한 결합제는 나피온(20% wt, Nafion D2021, Dupont, USA)과 에폭시를 같은 중량비율로 혼합하여 사용하였다.^{8,15)} 생물전기화학 혐기성 소화조의 상부덮개에는 가스배출 밸브와 가스시료 채취구 그리고 하수슬러지를 주입할 수 있는 주입구를 설치하였고 상부덮개 중앙에는 교반을 위한 블레이드 축에 연결된 전기모터를 설치하였다. 생물전기화학 혐기성소화조를 운전하는 동안 상부의 전기모터를 100 rpm으로 일정하게 회전시켜 소화조 내용물을 교반하였다. 생물전기화학 혐기성소화조는 빠른 초기운전을 위하여 180일 정도 운전한 생물전기화학 혐기성소화조를 이전 연구에서 보고한 바와 같이 직류전원 공급장치를 이용하여 산화전극과 환원전극 사이의 전위차를 0.3 V에서 유지시키고 하수슬러지를 1일 1회 인입하는 방법으로 수리학적체류시간(hydraulic retention time, HRT) 20일에서 운전하였다.^{8,9)} 이때 소화조의 운전온도는 상온(25℃)으로 고정하였으며, Y 환경사업소에서 채취한 하수슬러지를 기질로 이용하였다. 이때 하수슬러지를 구성하는 생슬러지와 잉여슬러지의 비는 약 1대 3이었으며, 물리화학적 특성은 Table 1과 같다. 생물전기화학 혐기성소화조의 상태변수들이 안정화되었을 때 유입슬러지에 제2철이온($FeCl_3$, 200 ppm)을 첨가하여 소화조의 성능향상 정도와 미생물 군집의 변화를 평가하였다.

Table 1. Characteristics of the seed sludge and feed sewage sludge

Contents	Seed sludge	Feed sludge
pH	6.84	6.08±0.05
Alkalinity (mg/L as $CaCO_3$)	3,030	1,256±234
TS (mg/L)	37,000	47,163±1,462
VS (mg/L)	22,800	34,097±1,525
TCOD (mg/L)	22,046	43,028±5,028
SCOD (mg/L)	2,095	1,748±294

2.2. 분석 및 계산

생물전기화학 혐기성소화조를 운전하는 동안 발생하는 바이오가스는 부유식 가스수집기를 이용하여 1일 1회 정량하였으며, 바이오가스의 성상은 열전도도검출기와 Porapak Q 분리관(6 ft × 1/8" SS)이 장착된 GC (Series 580, GawMac Instrument Co., PA, USA)을 이용하여 1일 1회 분석하였다. 이때 메탄가스 발생량은 아래 식 (1)을 이용하여 표준상태 (standard temperature and pressure, STP)로 환산하였다.

$$V_{CH_4}(at STP mL) = V_{CH_4}(at T, mL) \times \frac{273}{273 + T} \times \frac{760 - W}{760} \quad (1)$$

여기서, W는 운전온도에서의 포화수증기압(mmHg)이며, T는 실험온도(25℃)이다. 생물전기화학 혐기성소화조의 상태를 관찰하기 위하여 유출슬러지의 화학적산소요구량(chemical oxygen demand, COD), 총휘발성지방산(total volatile fatty acids, VFAs), 총고형물(total solids, TS) 및 휘발성고형물(volatile solids, VS)을 Standards Methods (2005)에 준하는 방법으로 주 2회 분석하였다. pH와 알칼리도를 1일 1회 pH미터(Orion Model 370)와 Standards Methods (2005)에 따라 각각 분석하였다. 생물전기화학 혐기성소화조의 상태가 안정화 되었을 때 VFAs의 성상을 Aminex HPX-87H 분리관과 UV (ultraviolet) 검출기가 장착된 HPLC (DX-500, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 기준전극(Ag/AgCl, RE-1B, ALS Co., LTD., Tokyo, Japan)을 가능한 작업전극에 인접하도록 액상의 소화조 내용물에 위치시키고 작업전극(산화전극 및 환원전극)의 전위를 휴대용멀티미터(DM-1010, Dong Hwa Electroics, Co., Incheon, Korea)를 이용하여 측정하였다. 또한, 생물전기화학 혐기성소화조의 전극사이에 흐르는 전류는 디지털멀티미터(Digital mutimeter, DMM, Keithley 2700, Keithley Instruments Inc., Ohio, USA)를 이용하여 모니터링 하였으며, 생물전기화학 혐기성소화조의 에너지효율은 아래 식 (2)에서와 같이 발생한 메탄가스가 함유한 에너지량을 공급된 전기에너지량과 제거된 유기물이 함유한 에너지량의 합으로 나누어 계산하였다.

$$\eta_T(\%) = \frac{W_{CH_4}}{W_E + W_S} \times 100 \quad (2)$$

여기서, W_E ($= C \times E_{APP}$)는 공급된 전기에너지량(kJ/day)이다. 이때 C는 시간에 따른 전류를 누적한 쿨롱이며, E_{APP} (V)는 환원전극과 산화전극 사이에 인가한 전위차이다. W_S ($= n_s \times \Delta G_S$)는 제거된 COD로부터 계산한 기질의 에너지함량이며, n_s 는 제거된 기질의 몰수이다. ΔG_S 는 포도당이 물과 이산화탄소로 산화될 때의 자유에너지변화량($\Delta G_S = -2870$ kJ/mol)이다. W_{CH_4} ($= n_{CH_4} \times \Delta C_{CH_4}$)는 메탄생성량($= n_{CH_4}$, mol/day)과 메탄이 물과 이산화탄소로 산화될 때의 자유에너지변화량($\Delta G_{CH_4} = -818$ kJ/mol)로부터 구하였다.

2.3. 미생물군집분석

생물전기화학 혐기성소화조가 정상상태일 때 부유 슬러지시료를 채취한 뒤 아래의 절차에 따라 미생물 군집을 분석하고 비교하였다.

2.3.1. DNA 추출 및 PCR 증폭

생물전기화학 혐기성소화조에서 채취한 부유슬러지의 metagenomic DNA를 추출하기 위하여 MO BIO Power Soil DNA Kit를 사용하였다. 실험절차는 다음과 같이 Kit protocol에 따랐다. 먼저 추출된 DNA는 0.8% TAE 아가로스 젤(15 ul per lane)에서 전기영동법으로 확인하였다. 대조구 시료의 forward primer (GAGTTTGATCMTGGCTCAG, universal primer, 27F/1492R)와 reverse primer(WTACC GCGGCTGCT GG)를 사용하여 16S rRNA 유전자의 500 bp DNA fragment를 증폭하였다. DNA 증폭은 initial denaturation (95℃, 2분)을 한 후, denaturation (95℃, 30초), annealing (55℃, 30초), elongation (72℃, 30초), extension (72℃, 5분)을 25회 반복하였다. 증폭한 PCR 산물을 1개의 PCR 튜브에 모으고 ethidium bromide를 함유한 아가로스 젤을 이용하여 시각화하였으며, DNA gel extraction kit을 이용하여 정제하였다.

2.3.2. 미생물군집의 파이로시퀀싱 분석

부유 슬러지 시료의 미생물군집에 대한 profile은 16S rRNA gene-based 파이로시퀀싱기법으로 분석하였다. 16S rRNA gene은 454 GS FLX Junior Sequencing System (accession number CP003117, Roche, Branford, CT, USA)을 사용하여 metagenomic DNA로부터 증폭하였으며, 이전연구에 따라 amplification, construction of the sequencing library, sequencing, bioinformatic analyses를 수행하였다.^{16,17)} High quality sequences는 고유 바코드에 의해 시료들을 배정하였다. Raw sequence read는 origin에서 분리하여 평가점수 <25 또는 >300 bp를 가지고 있는 read는 제거하고, 최소 길이 200 bp만 선정하였다. 시퀀스는 SILVA 정렬법에 의하여 정렬하였고, OTUs (operational taxonomic units)로 군집화하였다.¹⁸⁾ 변차 레벨 0.10까지 도달한 OTUs는 소프트웨어 패키지 MOTHUR 1.15.0을 사용하여 희박화 곡선, 일정한 범위의 풍부도(Ace), 풍요도(Chao), Shannon 다양성, Simpson 다양성 지수 및 Good's coverage를 분석하였다.^{19,20)} 데이터의 키메라 체크 및 분류 할당은 EzTaxon database (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net>)에 통하여 획득했다. Individual sequence reads는 다음 유사성의 기준에 의하여 분류하였다(x = 유사성): 문($80\% > x > 75\%$), 강($85\% > x > 80\%$), 목($90\% > x > 85\%$), 과($94\% > x > 90\%$), 속($97\% > x > 94\%$), 종($x > 97\%$). Mothur program 및 OTUs에서 SILVA 랜덤 계산에서 80% 신뢰수준을 보이는 통계학상 및 미생물군집 분류는 CL community software로 인해 일치하지 않은 데이터 번호 및 클러스터 분석을 표준화시키기 위해 대입하였다(Chunlab, Inc., Seoul, Republic of Korea).

3. 결과 및 고찰

3.1. 소화조 상태변수(pH, 알칼리도 및 VFAs)

생물전기화학 혐기성소화조를 25℃의 상온에서 0.3 V를 인가하고 운전하였을 때 초기 pH는 약 6.8이었으나 운전일수가 경과함에 따라 점차 7 이상으로 증가하였으며 정상상태의 pH는 7.13이었다.⁹⁾ 운전 40일부터 제2철 이온을 주입한 결과 pH는 좀더 증가하는 경향을 보였으며(Fig. 2(a)), 정상상태의 pH는 7.16이었다(Table 2). 일반적인 혐기성소화

Fig. 2. Behaviors of (a) pH and (b) alkalinity according to the operation time before and after ferric ion addition.

Table 2. Properties of bioelectrochemical anaerobic digester before and after ferric ion addition

State variables	Before ferric ion ⁹⁾	After ferric ion
pH	7.13±0.05	7.16±0.03
Alkalinity (mg/L as CaCO ₃)	3,992±131	4,362±178
SCVFAs (mg COD/L)	620±23	450±48
VFAs/Alkalinity	0.16±0.01	0.10±0.01
SCOD (mg/L)	463±136	175±44
Potentials (mV)		
Anode	-211±34	-230±13
Cathode	-510±23	-533±21
Current density (mA/m ²)	195±1.5	205±1.6

조의 적정 pH 범위는 6.5-7.6이며, 추천 pH는 7.0-7.2이다.^{2,8)} 위의 pH 결과는 생물전기화학 혐기성소화조는 상온조건에서 안정하게 운전할 수 있다는 것으로 나타낸다. Fig. 2(b)에서는 생물전기화학 혐기성 반응조에서 알카리도의 변화를 보여주고 있다. 제2철 이온을 주입하기 이전의 정상상태 알카리도는 3,992 mg/L as CaCO₃였으나,⁹⁾ 제2철 이온 주입 이후 알카리도는 4,362 mg/L as CaCO₃로 약간 증가하였다 (Table 2). 혐기성소화조의 알카리도는 유기질소 성분의 분해에 의해 생성되는 암모니아, 정인산, VFA의 농도, 메탄 생성반응 및 황산염의 환원반응의 활성 그리고 바이오가스의 이산화탄소 함량 등의 다양한 상태변수들에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다.^{1,8,9,15)} 생물전기화학 혐기성소화조에서는 제2철 이온을 주입 이후 알카리도가 증가한 것이 철이온이 부유혐기성미생물에 의한 환원반응에 긍정적인 영향을 미쳤다는 것을 의미한다.

혐기성분해반응의 중간생성물인 VFAs 농도는 혐기성소화조의 상태를 판단하는데 필요한 중요한 지표이다. 혐기성소화조에서 낮은 VFAs 농도는 소화조가 정상적으로 운전되고 있음을 의미한다. 본 연구에서 제2철 이온을 주입하기 전과 후의 VFAs의 농도는 각각 620 mg COD/L 및 450 mg COD/L이었다(Fig. 3(a)). 알카리도에 대한 VFAs의 비는 혐기성소화조의 안정성을 평가하기 위하여 널리 사용한

다. 정상적으로 운전되고 있는 재래식 중온혐기성소화조의 경우 VFAs/알카리도 비는 0.1-0.3이다.^{8,21,22)} 제2철 이온을 주입하기 이전 VFAs/알카리도의 비는 0.16이었으며,⁹⁾ 제2철 이온을 주입하고 난 이후 VFAs/알카리도의 비는 0.1로 감소하였다. 이 결과는 제2철 이온의 주입에 의해 생물전기화학 혐기성소화조의 pH에 대한 안정성이 더욱 향상되었음을 의미한다. 생물전기화학 혐기성소화조 유출수의 VFAs는 제2철 이온 주입여부에 관계없이 초산과 프로피온산으로 구성되었다(Fig. 3(b)). 그러나, 제2철 이온 주입 이후 초산 함량이 증가하고 프로피온산이 감소하였다. 이결과는 제2철 이온 주입 이후 생물전기화학 혐기성소화조의 수소이용메탄균의 활성이 증가하여 수소분압이 더욱 감소하였기 때문으로 여겨진다.¹⁾

산화전극에서 유기물이 산화되고 환원전극에서 이산화탄소가 환원되어 메탄을 생성하는 생물전기화학반응의 반쪽반응식들은 각각 아래 식 (3) 및 (4)와 같다.^{4,8)}

Fig. 3. (a) Levels of VFAs and (b) the compositions of VFAs at steady state before and after ferric ion addition.

식 (3) 및 (4)에서 보면 생물전기화학 혐기성소화에서 표준상태의 산화전극 반응은 -486 mV (vs. Ag/AgCl) 이상에서 열역학적으로 가능하며, 환원전극에서 메탄이 생성되는 반응은 전극의 전위가 -455 mV (vs. Ag/AgCl) 이하일 때 이루어질 수 있다.^{8,15)} 본 연구에서 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입하기 이전에 산화전극 및 환원전극의 전위는 각각 -211 mV (vs. Ag/AgCl) 및 -510 mV (vs. Ag/AgCl)로서 열역학적으로 전극에서 산화 및 환원반응이 모두 가능한 범위에 있었다. 그러나, 제2철 이온 주입 이후 -230 mV (vs. Ag/AgCl) 및 -533 mV (vs. Ag/AgCl)로서 음의 방향으로 약 21 mV 이동하였다. 산화전극과 환원전극의 전위는 산화전극에서 유기물의 산화반응에 의한 전자의 생성반응과 환원전극에서 이산화탄소의 환원에 의한 전자의 소모반응 속도 차이에 의해서 결정된다.^{8,23)} 제2철 이온 주입에 의해 산화전극의 전위가 -211 mV (vs. Ag/AgCl)에서 -230 mV (vs. Ag/AgCl)로 변한 것은 제2철 이온 주입에 의하여 유기물을 산화시켜 전자를 생산하는 산화전극의 반응이 좀 더 촉진되었음을 의미한다.

3.2. 메탄발생량 및 유기물제거율

생물전기화학 혐기성 소화조에서 발생한 메탄발생량은 제2철 이온의 주입에 의해 증가하였다(Fig. 4(a)). 초기운전 이후 메탄발생량은 점차적으로 증가하여 16일경부터 안정화되었으며, 정상상태의 비메탄발생율은 370 mL CH₄/L/d 이었다.⁹⁾ 그러나, 제2철 이온 주입 이후 메탄발생율은 초기에 약간 감소하였으나 빠르게 안정화되었으며, 정상상태의

Table 3. Performance of bioelectrochemical anaerobic digester before and after ferric ion addition

Contents	Before ferric ion ⁽⁹⁾	After ferric ion	Previous study ⁽⁸⁾
OLR (g VS/L/d)	1.71	1.71	1.44
Temperature (25 °C)	25	25	35
VS removal (%)	65.9±2.2	69.8±0.7	70.5±1.5
TCOD removal (%)	55.4±2.1	61.1±2.9	64.0±1.1
Specific CH ₄ production rate (mL CH ₄ /L/d)	370±7	396±10	407±16
CH ₄ content (%)	77.3±0.9	76.6±0.6	76.9±0.7
Methane yield (mL CH ₄ /g CODr)	330±27	316±19	368±7.6
Overall energy efficiency (%)	62.99	63.73	69.1

비메탄발생율은 396 mL CH₄/L/d이었다. 제2철 이온 주입 이후 메탄발생량이 일시적으로 감소한 것은 메탄생성균과 기질경쟁관계에 있는 철환원균의 활성증가 때문으로 보인다. 제2철 이온 주입에 의해 메탄발생량이 증가하는 것은 재래식 혐기성소화조에서도 보고되고 있다.¹¹⁾ 이것은 철이온이 혐기성미생물의 중간 전자전달을 촉진시키기 때문으로 여겨진다. 중온조건에서 운전한 생물전기화학 혐기성소화조의 비메탄발생율은 이전연구에서 407 mL CH₄/L/d이었다(Table 3).⁸⁾ 이결과는 상온조건에서 운전하고 있는 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입하면 중온조건과 거의 유사한 정도의 비메탄발생율을 얻을 수 있음을 보여주는 흥미로운 결과이다. 제2철 이온의 주입은 생물전기화학 혐기성소화조에서 발생한 바이오가스의 메탄함량에도 다소 영향을 미쳤다(Fig. 4(b)). 제2철 이온 주입이전 정상상태의 바이오가스의 메탄함량은 77.3%로서 매우 안정한 값을 보였다. 제2철 이온을 주입한 이후 정상상태의 바이오가스의 메탄함량은 76.6 %로 제2철 이온을 주입하기 이전에 비하여 약간 감소하였다. 부유혐기성미생물에 의한 혐기성분해반응은 상대적으로 반응속도가 느리며, 바이오가스의 이산화탄소의 함량도 40-50% 가량으로 상대적으로 높다.⁹⁾ 그러나, 생물전기화학 혐기성소화조의 전극에서 이루어지는 생물전기화학반응에 의한 메탄생성반응은 이산화탄소의 환원반응에 기초를 두고 있기 때문에 바이오가스의 이산화탄소의 함량이 낮은 것이 특징이다.^{9,23)} 따라서, 제2철 이온 주입 이후 메탄발생량이 증가하였지만 바이오가스의 메탄함량이 다소 감소한 것을 제2철 이온 주입에 의해 부유혐기성미생물의 활성이 좀더 많이 증가하였기 때문으로 해석된다. 또한, 이전연구에서 중온조건에서 운전한 생물전기화학 혐기성소화조의 메탄함량은 76.9%이었다(Table 3).⁸⁾ 이 결과는 부유혐기성미생물의 활성이 상온조건보다 중온조건에서 높기 때문임을 나타낸다.

Fig. 5(a)는 생물전기화학 혐기성소화조의 유입 및 유출 슬러지의 COD 농도 및 제거율이다. 유입수의 TCOD 농도는 37,589-48,210 mg/L이었으며, 상온에서 초기운전 이후 정상상태의 TCOD 제거율은 55.4%이었으나, 제2철 이온을 주입하고 난 이후 TCOD 제거율은 61.1%로 증가하였다. 이

Fig. 4. Behaviors of (a) bioelectrochemical methane production and (b) methane content in biogas according to the operation time before and after ferric ion addition.

결과는 제2철 이온 주입에 의해 메탄발생량이 증가한 결과와 일치하는 것으로서 제2철 이온의 주입이 소화효율 향상에 긍정적인 효과가 있음을 나타낸다. 혐기성소화조의 SCOD는 가수분해산물인 단당류 그리고 산발효산물인 VFAs 등으로 구성된다. 따라서, 혐기성소화조의 SCOD 농도는 소화조의 상태를 간접적으로 판단할 수 있도록 해준다. 본 연구에서 제2철 이온 주입이전의 SCOD는 약 463 mg/L로서 매우 낮게 유지되었으나, 제2철 이온 주입이후 정상상태의 SCOD는 175 mg/L까지 감소하였다(Table 2). 이결과는 생물전기화학 혐기성소화조가 매우 안정한 상태에서 이상적으로 운전되고 있었음을 나타내며, 제2철 이온의 주입 이후 안정성이 더욱 향상되었음을 의미한다. 본 연구에서 유입 슬러지 VS의 농도는 31,900-36,018 mg/L로 큰 차이가 없었다(Fig. 5(b)). 이때 상온에서 초기운전 이후 정상상태의 VS 제거율의 경우는 66.2%이었다. 그러나, 제2철 이온 주입 이후 VS 제거율은 69.8%까지 증가하였다. 이결과는 TCOD에서와 일치하는 것으로서 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입하면 생물전기화학 혐기성소화조의 성능을 개선시킬 수 있다는 것을 의미한다. 하수슬러지를 대상으

Fig. 5. Behaviors of (a) TCOD and (b) VS in bioelectrochemical anaerobic digester according to the operation time before and after ferric ion addition.

로 한 이전연구에서 중온 생물전기화학 혐기성소화조의 VS 제거율이 70.5%였다.⁸⁾ 이 값은 상온조건에서 운전한 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입한 경우보다 크게 높지 않았다. 이것은 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입함으로써 중온 생물전기화학 혐기성소화조와 비슷한 정도의 성능을 가지도록 할 수 있다는 것을 의미한다.

생물전기화학 혐기성소화에서 제거된 COD 당 메탄생성량을 의미하는 메탄수율은 상온조건에서 330 mL CH₄/g COD_r이었으나,⁹⁾ 제2철 이온을 주입한 이후 메탄수율은 316 mL CH₄/g COD_r로 약간 감소하였다. 이 결과는 제2철 이온 주입에 의해 부유혐기성미생물에 의한 메탄발생량이 상대적으로 더욱 증가하였기 때문이다(Table 3). 부유혐기성미생물에 의한 메탄수율은 일반적으로 생물전기화학반응에 의한 메탄수율보다 낮다.^{4,8,9)} Table 3에서는 가온에 필요한 에너지를 고려하지 않고 계산한 소화조의 에너지효율을 보여주고 있다. 상온에서 생물전기화학 혐기성소화의 에너지효율은 63.0%이었으나,⁹⁾ 제2철 이온 주입한 후 63.7%로 거의 비슷하였다. 이전연구에서는 중온 생물전기화학 혐기성소화조의 에너지효율이 69.1%로 본 연구에서의 상온조건에서보다 약 6% 가량 높았다. 상온조건에서 에너지효율이 상대적으로 낮은 것은 상온에서의 생물전기화학반응을 위해 필요한 활성화에너지가 중온조건보다 상대적으로 크게 때문으로 생각된다. 그러나, 에너지효율 계산에 소화조 가온에 필요한 에너지를 고려한다면 상온조건에서의 생물전기화학 혐기성소화조의 에너지효율은 크게 개선될 것으로 판단된다.

3.3. 미생물군집변화

상온에서 운전 중인 생물전기화학 혐기성소화조에서 채취한 부유혐기성미생물의 군집은 제2철 이온의 주입 전후에 큰 차이를 보였다(Fig. 6). 생물전기화학 혐기성소화조의 부유혐기성미생물의 우점문은 *Porteobacteria*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* 등이었다(Fig. 7(a)). 특히 *Proteobacteria*는 제2철 이온 주입이전에 31.01%로서 가장 큰 비중을 차지하였으며, 제2철 이온 주입 이후 38.65%로 더욱 크게 증가하였다. Fig. 7(b)에서는 제2철 이온 주입 전후의 부유혐기성미생물 강을 보여주고 있다. 부유혐기성미생물의 우점강은 α -*proteobacteria* 및 β -*proteobacteria* 두 가지이었다. 그러나, 제2철 이온 주입 전후 이들 우점강의 비율은 26.1%에서 32.1%로 크게 증가

Fig. 6. Pie charts showing the relative abundance of the phylum with species level of the microbial communities in bioelectrochemical anaerobic digester at ambient temperature: (a) before and (b) after ferric ion addition.

Fig. 7. Composition of (a) phylum, (b) class and (c) species for suspended sludge in bioelectrochemical anaerobic digester.

하였다. Fig. 7(c)는 제2철 이온 주입 전후 미생물 종의 비율을 도시한 그래프이다. 제2철 이온 주입 전후 모두 우점한 부유혐기성미생물종은 *Cloacamonas*이었다.⁹⁾ *Cloacamonas*는 아미노산을 발효시키는 *Syntrophic* 균으로서 재래식 혐기성소화조에서도 우점하는 것으로 알려져 있다.²⁴⁾ 제2철 이온 주입 이전 부유슬러지에서 *Cloacamonas*의 비율은 7.6%이었으나, 제2철 이온 주입이후 9.0%까지 우점도가 증가하였다. 또한, 제2철 이온을 주입한 이후 *Saprospiraceae*와 *Ottowia pentelensis*의 비율이 증가하였는데 이들은 가수분해반응을 담당하는 것으로 알려지고 있다.⁹⁾ 이상의 결과는 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입한 이후 가수분해 및 아미노산 발효균의 증가하여 소화율 및 메탄생성을 향상으로 이어졌다는 것을 나타낸다.

4. 결론

상온조건에서 하수슬러지를 처리하는 생물전기화학 혐기성소화조의 상태변수들은 안정하였으나 VS 제거율과 비메탄발생율은 각각 65.9% 및 370 mL CH₄/L/d이었다. 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입한 결과 pH 및

알칼리도가 증가하고 VFAs 및 SCOD 값이 감소하여 소화조의 안정성은 더욱 향상되었다. 특히, VS 제거율 및 메탄발생량은 각각 69.8% 및 396 mL CH₄/L/d로 증가하였다. 그러나, 제2철 이온 주입 후 바이오가스의 메탄함량이 약간 감소하였으며, 부유슬러지에서 공생 혐기성미생물인 *Cloacamonas*와 가수분해균인 *saprospiraceae* 및 *Ottowia pentelensis*의 우점도가 증가하였다. 이것은 제2철 이온 주입에 의해 향상된 VS 제거율과 비메탄생성량은 부유혐기성미생물의 활성증가 때문임을 의미한다. 상온에서 운전 중인 생물전기화학 혐기성소화조에 제2철 이온을 주입하는 것은 생물전기화학 혐기성소화조의 효율향상 및 운전의 안정성을 향상시키는데 도움이 된다.

Acknowledgement

이 논문은 2014년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구입니다(No. 2014R1-A2A1A11054448).

References

1. Song, Y. C., Kwon, S. J. and Woo, J. H., "Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic-and thermophilic digestion of sewage sludge," *Water Res.*, **38**(7), 1653~1662(2004).
2. Jain, S., Jain, S., Wolf, I. T., Lee, J. and Tong, Y. W., "A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste," *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **52**, 142~154(2015).
3. Liu, D., Zhang, L., Chen, S., Buisman, C. and Heijne, A. T., "Bioelectrochemical enhancement of methane production in low temperature anaerobic digestion at 10°C," *Water Res.*, **99**, 281~287(2016).
4. Feng, Q. and Song, Y. C., "Surface modification of a graphite fiber fabric anode for enhanced bioelectrochemical methane production," *Energ. Fuel.*, **30**, 6467~6474(2016).
5. Sasaki, K., Morita, M., Sasaki, D., Hirano, S., Matsumoto, N., Watanabe, A., Ohmura, N. and Igarashi, Y., "A bioelectrochemical reactor containing carbon fiber textiles enables efficient methane fermentation from garbage slurry," *Bioresour. Technol.*, **102**(13), 6837~6842(2011).
6. Tartakovsky, B., Mehta, P., Bourque, J. S. and Guiot, S. R., "Electrolysis-enhanced anaerobic digestion of wastewater," *Bioresour. Technol.*, **102**(10), 5685~5691(2011).
7. Villano, M., Monaco, G., Aulenta, F. and Majone, M., "Electrochemically assisted methane production in a biofilm reactor," *J. Power Sources*, **196**(22), 9467~9472(2011).
8. Song, Y. C., Feng, Q. and Ahn, Y. T., "Performance of the bio-electrochemical anaerobic digestion of sewage sludge at different hydraulic retention times," *Energ. Fuel.*, **30**(1), 352~359(2016).
9. Feng, Q., Song, Y. C. and Bae, B. U., "Influence of applied voltage on the performance of bioelectrochemical anaerobic digestion of sewage sludge and planktonic microbial communities at ambient temperature," *Bioresour. Technol.*, **220**, 500~508(2016).
10. Larrosa-Guerrero, A., Scott, K., Head, I. M., Mateo, F., Ginesta, A. and Godinez, C., "Effect of temperature on the performance of microbial fuel cells," *Fuels*, **89**(12), 3985~3994(2010).
11. Bao, Y., Ziyang, L., Dongling, Z., Aidang, S., Haiping, Y., Nanwen, Z. and Kanghan, Z., "Variations of organic matters and microbial community in thermophilic anaerobic digestion of waste activated sludge with the addition of ferric salts," *Bioresour. Technol.*, **179**, 291~298(2015).
12. Karlsson, A., Einarsson, P., Schnürer, A., Sundberg, C., Ejlerthsson, J. and Svensson, B. H., "Impact of trace element addition on degradation efficiency of volatile fatty acids, oleic acid and phenyl acetate and on microbial populations in a biogas digester," *J. Biosci. Bioeng.*, **114**(4), 446~452(2012).
13. Gustavsson, J., Yekta, S. S., Sundberg, C., Karlsson, A., Ejlerthsson, J., Skyllberg, U. and Svensson, B. H., "Bioavailability of cobalt and nickel during anaerobic digestion of sulfur-rich stillage for biogas formation," *Appl. Energ.*, **112**, 473~477(2013).
14. Zhang, J., Zhang, Y., Quan, X. and Chen, S., "Effects of ferric iron on the anaerobic treatment and microbial biodiversity in a coupled microbial electrolysis cell (MEC)-Anaerobic reactor," *Water Res.*, **47**(15), 5719~5728(2013).
15. Kim, D. H., Song, Y. C. and Feng, Q., "Influence of Applied Voltage for Bioelectrochemical Anaerobic Digestion of Sewage Sludge," *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, **37**(9), 542~549(2015).
16. Chun, J., Kim, K. Y., Lee, J. H. and Choi, Y., "The analysis of oral microbial communities of wild-type and toll-like receptor 2-deficient mice using a 454 GS FLX titanium pyrosequencer," *BMC Microbiol.*, **10**, 101(2010).
17. Kim, O. S., Cho, Y. J., Lee, K., Yoon, S. H., Kim, M., Na, H., Park, S. C., Jeon, Y. S., Lee, J. H., Yi, H., Won, S. and Chun, J., "Introducing EzTaxon-e: A prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **62**, 716~721(2012).
18. Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B. M., Ludwig, W., Peplies, J. and Glackner, F. O., "SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB," *Nucleic Acids Res.*, **35**, 7188~7196(2007).
19. Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R. A., Oakley, B. B., Parks, D. H., Robinson, C. J., Sahl, J. W., Stres, B., Thallinger, G. G., Van Horn, D. J. and Weber, C. F., "Introducing mothur: open source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities," *Appl. Environ. Microbiol.*, **75**, 7537~7541(2009).
20. Wang, L., Liu, L., Zheng, B., Zhu, Y. and Wang, X., "Analysis of the bacterial community in the two typical intertidal sediments of Bohai Bay, China by pyrosequencing," *Mar. Pollut. Bull.*, **72**, 181~187(2013).
21. Padilla-Gasca, E., López-López, A. and Gallardo-Valdez, J., "Evaluation of Stability Factors in the Anaerobic Treatment of Slaughterhouse Wastewater," *J. Biorem. Biodegrad.*, **2**(114), 2155~6199(2011).
22. Feng, Q., Song, Y. C., Yoo, K., Lal, B., Kuppanan, N., Subudhi, S. and Choi, T. S., "Performance of Upflow Anaerobic Bioelectrochemical Reactor Compared to the Sludge Blanket Reactor for Acidic Distillery Wastewater Treatment," *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, **38**(6): 279~290(2016).
23. Feng, Q. and Song, Y. C., "Decoration of graphite fiber fabric cathode with electron transfer assisting material for enhanced bioelectrochemical methane production," *J. Appl. Electrochem.*, doi:10.1007/s10800-016-1003-8(2016).
24. Eric, P., Annett, K., Stéphanie, B., Zoé, R., Gábor, G., Rakia, C., Delphine, R., Akila, G., Patrick, D., Abdelghani, S., Georges, N. C., Claudine, M., Jean, W. and Denis, Le P., "'Candidatus Cloacamonas Acidaminovorans': Genome Sequence Reconstruction Provides a First Glimpse of a New Bacterial Division," *J. Bacteriol.*, **190**(7), 2572~2579(2008).