



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

工學博士 學位論文

생물전기화학의 원리를 이용한 하폐수의
고도처리

Advanced treatment of wastewater based on the
Bioelectrochemical principles

指導教授 宋 永 彩

2019年 8月

韓國海洋大學校 大學院

土木環境工學科

崔 泰 善

본 논문을 최태선의 공학박사 학위논문으로 인준함.

위원장	김 인 수
위 원	고 성 철
위 원	채 규 정
위 원	김 수 한
위 원	송 영 채



2019년 07월

한국해양대학교 대학원

목 차

제 1 장 서론	1
제 2 장 문헌연구	5
2.1 국내 하수처리시설 현황	5
2.2 국내 처리시설 방류수 수질기준	7
2.3 3차 처리 및 고도 처리 공정	11
2.4 생물학적 공정에서의 기질 친화도(반포화 상수)	13
2.3 생물전기화학 시스템	15
2.4 생물전기화학 기술을 이용한 저강도 하폐수처리의 원리	17
제 3 장 생물전기화학 고도 처리에서 전도성 물질의 영향	18
3.1 연구 목적	18
3.2 실험 및 방법	18
3.2.1 전극 및 전도성물질	18
3.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건	20
3.2.3 분석 및 계산	21
3.2.4 미생물 분석	22
3.3 결과 및 고찰	23

3.3.1 유기물질의 생물전기화학적 처리	23
3.3.2 생물전기화학적 질소 제거	26
3.3.3 바이오매스의 전기화학적 특징	31
3.3.4 미생물 군집 분석	34
3.4 결론	37

제 4 장 생물전기화학 고도처리에서 전도성 입자의 물리적 특성에 따른 영향

4.1 연구 목적	38
4.2 실험 및 방법	38
4.2.1 전극과 전도성 입자	38
4.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건	40
4.2.3 분석 및 계산	42
4.2.4 미생물 분석	43
4.3 결과 및 고찰	44
4.3.1 활성탄의 표면 특성	44
4.3.2 유기물의 생물전기화학적 제거	46
4.3.2 생물전기화학적 질소 제거	48
4.3.3 3차 처리를 위한 생물전기화학적 영향 인자 마이닝	52
4.3.4 미생물 군집 분석	56

4.4 결론	60
제 5 장 생물전기화학 고도처리에서 인가된 전계의 강도에 따른 영향	61
5.1 연구 목적	61
5.2 실험 및 방법	61
5.2.1 전극	61
5.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건	61
5.2.3 분석 및 계산	64
5.2.4 미생물 분석	64
5.3 결과 및 고찰	66
5.3.1 유기물의 생물전기화학적 제거	66
5.3.2 생물전기화학적 질소 제거	68
5.3.3 전계 강도의 생물전기화학적 영향 인자 마이닝	71
5.3.4 미생물 군집 분석	75
5.4 결론	79
제 6 장 하수처리시설 2차 처리수의 생물전기화학 고도처리	80
6.1 연구 목적	80
6.2 실험 및 방법	80
6.2.1 전극 및 전도성 물질	80

6.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건	81
6.2.3 분석 및 계산	83
5.2.4 미생물 분석	83
6.3 결과 및 고찰	85
6.3.1 하수처리장 2차 처리수 유기물의 생물전기화학적 제거	85
6.3.2 생물전기화학적 질소 제거	87
6.3.3 전기화학분석	90
6.3.4 미생물 균집 분석	93
6.4 결론	97
제 7 장 실하수의 생물전기화학 고도처리	98
7.1 연구 목적	98
7.2 실험 및 방법	98
7.2.1 전극 및 전도성 물질	98
7.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건	99
7.2.3 분석 및 계산	101
7.3 결과 및 고찰	102
7.3.1 실하수 유기물의 생물전기화학적 제거	102
7.3.2 생물전기화학적 질소 제거	104
6.4 결론	107

제 8 장 종합 결론108

참고문헌110

List of Tables

Table 2.1 The changes of discharge standards for the wastewater treatment plant in korea	7
Table 2.2 Discharge standards for the wastewater treatment plant in korea	9
Table 2.3 Discharge standards for the personal wastewater treatment plant in korea	10
Table 4.1 EDX data and conductivity for Activated carbons	45
Table 6.1 Various resistance values according to the operation time of the bioelectrochemical reactor.	92

List of Figures

Fig. 2.1 Number of wastewater treatment plants in Korea per year	5
Fig. 2.2 Percentage according to the process of wastewater treatment plant in Korea	6
Fig 2.3 Illustration of the parameters limiting growth kinetics at different substrate availabilities.	13
Fig 2.4 Resistance-in-series model to represent the different factors influencing half-saturation indices	14
Fig 2.5 Schematic overview of various types of bioelectrochemical systems (BESs)	16
Fig 3.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor	21
Fig 3.2 The effluent COD in the upflow bioelectrochemical reactors	25
Fig 3.3 The biomass concentrations in the upflow bioelectrochemical reactors	25
Fig 3.4 Effluent $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in the bioelectrochemical reactors	26
Fig 3.5 Effluent $\text{NO}_2^-\text{-N}$ in the bioelectrochemical reactors	27
Fig 3.6 Effluent $\text{NO}_3^-\text{-N}$ in the bioelectrochemical reactors	27
Fig 3.7 Effluent pH in the bioelectrochemical reactors	30
Fig 3.8 (a) Differential pulse voltammogram for the bulk solution, (b) Nyquist plot for the electrodes in the bioelectrochemical reactor	33

Fig 3.9 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) class and (b) genus in the bulk solution of the bioelectrochemical reactor ...	36
Fig 4.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor	41
Fig 4.2 SEM images of the activated carbons surfaces prepared by the fenton oxidation (a), microwave (b), ordinary	45
Fig 4.3 Profiles of the effluent COD in the upflow bioelectrochemical reactor	47
Fig 4.4 Profiles of the effluent COD in the upflow bioelectrochemical reactor	47
Fig 4.5 Effluent nitrogen of steady state in the bioelectrochemical reactor	50
Fig 4.6 Profiles of the biomass concentrations in the upflow bioelectrochemical reactor	51
Fig 4.7 Equivalent circuit for the upflow bioelectrochemical reactor	52
Fig 4.8 Nyquist plot for the bulk solution in (a) BER-F, (b) BER-M, (c) BER-A, and (d) Control in the bioelectrochemical reactor	53
Fig 4.9 Decision tree for water quality in the bioelectrochemical reactor	55
Fig 4.10 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) phylum, (b) genus and (c) species in the bulk solution of the bioelectrochemical reactor	59
Fig 5.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor	63
Fig 5.2 Profiles of the effluent COD in the upflow bioelectrochemical reactor	67

Fig 5.3 Effluent nitrogen of steady state in the bioelectrochemical reactor	69
Fig 5.4 Profiles of the biomass concentrations in the upflow bioelectrochemical reactor	70
Fig 5.5 Equivalent circuit for the upflow bioelectrochemical reactor	71
Fig 5.6 Nyquist plot for the bulk solution in (a) BER0.2m, (b) BER0.4, (c) BER0.83, and (d) BER1.7 in the bioelectrochemical reactor	72
Fig 5.7 Decision tree for water quality in the bioelectrochemical reactor	74
Fig 5.8 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) phylum, (b) genus and (c) species in the bulk solution of the bioelectrochemical reactor	78
Fig 6.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor	82
Fig 6.2 Profiles of the effluent COD in the upflow reactor	86
Fig 6.3 Effluent nitrogen of steady state in the reactor	88
Fig 6.4 Profiles of the biomass concentrations in the upflow reactor	89
Fig 6.5 Equivalent circuit for the upflow bioelectrochemical reactor	90
Fig. 6.6 Nyquist plot for the bulk solution in the bioelectrochemical reactor	91
Fig 6.7 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) phylum, (b) genus and (c) species in the bulk solution of the reactor	96
Fig 7.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor	100

Fig 7.2 Profiles of the effluent COD in the upflow reactor 103

Fig 7.3 Effluent nitrogen of steady state with (a) HRT 1, (b) HRT 3,
(c) HRT 5, (d) 0.5Q in the reactors 106

Advanced treatment of wastewater based on the Bioelectrochemical principles

Choi Tae Seon

Department of Civil and Environmental Engineering
Graduate School of Korea Maritime and Ocean University

Abstract

Biological processes for advanced wastewater treatment are an integral part of managing the water environment. However, the conventional biological processes have some technical limitations based not only on thermodynamics but also on the physiological properties of microorganisms. Interestingly, it has been revealed that electroactive microorganisms that catalyze the polarized electrode can enrich the bioelectrochemical reaction, and the redox potential of the bioelectrochemical reaction can be shifted by the polarized potential on the electrode surface. The shift of the redox potential can alter the thermodynamic equilibrium of the bioelectrochemical reaction. This indicates that the bioelectrochemical reaction has the great potential to enable advanced wastewater treatment beyond the limits of conventional biological treatment.

In this thesis, an upflow bioelectrochemical reactor (UBER) for advanced wastewater treatment was devised, and the optimal design and operational conditions of UBER were investigated. In details, the conductive materials and applied voltage that affect the advanced wastewater treatment were studied in UBER using the synthetic wastewater with the standard discharge quality for the wastewater treatment plant. The advanced treatment performance of UBER was examined using the effluent discharged from a sewage treatment plant and the raw sewage to be treated in a sewage treatment plant.

In the UBER, electroactive microorganisms were enriched by the polarized electrodes, and the organic matter, as well as nitrogen compounds, contained in the low strength synthetic wastewater with the standard discharge quality, were removed by the direct interspecies electron transfer (DIET). The effluent concentrations in COD and ammonia nitrogen were less than 3.5 mg/L and 7.46 mg/L at the 1 hour of HRT (Hydraulic Retention Time), respectively. This suggests that the polarized potential of the electrodes can improve the substrate affinity of bacteria. However, when conductive materials, including activated carbon particle and graphite fiber sheet, were added into the UBER, the effluent concentrations in COD and ammonia nitrogen were improved up to 1.98 mg/L and 2.65 mg/L, respectively, by the conductive sheets. It seems that the conductive materials between the electrodes in UBER not only increased the biomass retention but also further improved DIET by altering the abundance of dominant bacterial groups. This suggests that conductive materials between the electrodes are an essential part of UBER for the advanced wastewater treatment process.

Interestingly, the effluent quality in UBER was affected by the physicochemical properties of conductive materials. In control without the activated carbon, the effluent COD and T-N from UBER were 2.72 ± 0.08 mg/L and 11.62 ± 0.05 mg/L, respectively. However, the

effluent COD and T-N were improved to less than 1.66 ± 0.06 mg/L and 4.45 ± 0.03 mg/L, respectively, by the addition of conductive particles, especially activated carbons pretreated with Fenton oxidation, to UBER. Fenton oxidation improved the surface area and electric conductivity of activated carbon. Based on the decision tree for the effluent quality and EIS data, it has appeared that the effluent quality (COD and T-N) in UBER is highly dependent on the charge transfer resistance and the biomass amount.

Another parameter affecting the removals of nitrogen compounds in UBER was the intensity of the electrostatic field created to the bulk solution by the polarized electrodes. The effluent T-N gradually decreased as the electrostatic field increased in the range of 0.2 to 0.83 V/cm. It seems that AOE and DNE enriched more under the higher electrostatic field to promote the DIET between them for nitrogen removal. However, the organic matter was easily degraded in UBER with a low intensity of the electrostatic field, and the effluent COD was not significantly affected by the electrostatic field.

The continuous UBER with high porous conductive particles and 0.83 V/cm of the electrostatic field was designed and the advanced treatment performance for the effluent discharged from a sewage treatment plant was examined. The effluent COD of the UBER was at 1.61 ± 0.03 mg/L at the steady state, which was significantly less than 4.90 ± 0.40 mg/L in the control without the electrostatic field. In the case of T-N, the effluent concentration in the UBER was as low as 2.74 ± 0.12 mg/L. It suggests that when the electric field is exposed to the bulk solution of the UBER, electroactive microorganisms, including AOE and DNE, are enriched and the removals of organic matter and nitrogen compounds are promoted by the DIET between them.

The treatment performance in UBER for a sewage to be treated in a sewage treatment plant was also examined. The effluent COD was 1.89 ± 0.04 mg/L at HRT longer than 3 hours. However, the effluent

T-N was 6.67 ± 2.17 mg/L at the 3 hours of HRT, which was decreased to 4.31 ± 0.14 mg/L at the 5 hours of HRT. In addition, it has found that the effluent T-N can be further decreased to 3.26 ± 0.45 mg/L by recycling of the effluent at 0.5Q.

It can be concluded that UBER can be applied not only as a tertiary treatment process for the effluent discharged from the sewage treatment plant but also as an advanced treatment process for raw sewage. Furthermore, UBER is also expected to be applicable to the advanced treatment of various wastewater, such as industrial wastewater, agricultural wastewater, and fishery wastewater if the design and operational conditions are obtained from the pilot test.

KEY WORDS: Low-strength wastewater treatment, Bioelectrochemical tertiary treatment, Electroactive bacteria, Bioelectrochemical advanced treatment

제 1 장 서론

하수처리시설에서 방류되는 2차 처리수는 강이나 연안 해수와 같은 수생환경으로 지속적으로 방류되어 수질 환경을 악화시키는 주된 원인 중 하나이다(Kaya and Picard, 1996). 하수처리장의 방류수는 인근 환경의 수질을 보존하고 깨끗한 생태계와 건강한 인간 생활을 유지하기 위하여 오염물질을 제거하는 3차 처리를 거쳐야 한다(Kaya and Picard, 1996). 하수처리장의 방류수의 수질은 방류수 수질 기준에 의해 관리되었지만 빈번하게 발생하는 부영양화와 같은 수질 환경 문제를 해결하기에는 충분하지 않았다(Kim et al., 2017). 따라서 깨끗한 수질 환경을 유지하기 위해 방류수 수질 기준은 더욱 엄격해지고 있다(Wang et al., 2015). 수질 환경 문제를 방지하기 위한 정부 정책인 방류수 수질 기준의 주요 오염원은 유기물뿐만 아니라 질소 및 인과 같은 영양염류이다 (Rodriguez-Garcia et al., 2011).

현재 생물학적 영양염류의 제거 과정은 주요 오염물질에 대한 엄격한 방류수 수질 기준을 초과하지 않기 위해 채택되었다(Rodriguez-Garcia et al., 2011). 그러나 겨울철 수온이 낮거나 유입수의 부하가 급격한 변동으로 인하여 생물학적 영양염류의 제거 과정이 불안정하게 되어 방류수 수질 기준을 초과하는 경우가 많았다(Chang et al., 2014). 또한, 생물학적 영양염류의 제거 과정에는 높은 에너지 소비와 외부 탄소원 보충과 같은 몇 가지 취약점이 있다(Xu et al., 2017). 이는 생물학적 영양염류의 제거 공정으로만 방류수의 수질을 향상시키는데 약간의 한계가 있다는 것을 의미한다. 따라서 기존 하수처리시설은 3차 처리 공정을 도입하여 방류수의 수질을 개선하였다(Butterworth et al., 2016; Gharbia et al., 2016; Khan et al., 2011). 이온 교환, 응집 침전, 막 여과, 활성탄 흡착, 화학적 산화와 같은 물리화학적 3차 처리 공정들이 하수처리시설의 방류수 수질을 개선하기 위하여 시도 되었다(Hou et al., 2015; Khan et al., 2011). 그러나 물

리화학적 공정은 하수처리시설의 운영비용이 비교적 높다(Khan et al., 2011). 또한, 생물막 및 미세조류를 이용하는 공정과 같은 생물학적 3차 처리 공정이 방류수의 수질을 개선하기 위해 연구되었지만 생물막 공정은 생물막에 부착된 미생물량의 임의 조절이 어려우며, BOD 부하가 높아 슬러지의 축적속도가 상승하거나 부유물의 부하가 높으면 막힘 현상이 일어나기 쉽다. 미세 조류를 이용한 공정은 활성슬러지 공법에 비하여 하수 처리 시간이 오래 걸리며 미세 조류를 따로 분리하는 공정이 추가로 필요하다(Butterworth et al., 2016; Gharbia et al., 2016; Khan et al., 2011).

생물학적 3차 처리 과정의 경우 낮은 기질의 농도로 인한 낮은 기질친화도로 인하여 미생물 성장에 대한 대사 활성이 매우 낮다(Arnaldos et al., 2015; Button, 1986). 따라서 생물학적 3차 처리 공정은 아직까지 주목받지 못하고 있다. 미생물의 기질친화도는 미생물 세포로의 기질 유동과 기질을 대사를 위한 생화학적 산화 환원 반응으로 인하여 결정된다(Arnaldos et al., 2015). 생물 반응조의 기질 농도가 낮을 때 미생물 세포로의 기질유동을 개선하는 것은 어렵지만, 인가된 전압으로 분극된 전극 표면의 생화학적 산화 환원 반응을 전기 화학적으로 촉진할 수 있다(Bagotsky, 2005; Feng et al. 2016; Feng et al., 2017; Song et al., 2015a). 생물전기화학 반응조에서 전기활성미생물은 분극된 전극 표면과 벌크 용액에서 성장하여 생화학적 산화 환원 반응을 촉진한다(Feng et al., 2016; Feng et al., 2017). 이는 전기활성 미생물이 높은 기질 친화도를 가지며 기질의 농도가 낮아도 성장할 수 있음을 나타낸다. 현재까지, 생물 전기화학 기술은 주로 혐기성 소화에서 메탄생성을 향상시키기 위하여 연구되어 왔다(Song et al., 2015a; Feng et al., 2017). 그러나 생물전기화학 반응조는 하수처리시설에서 배출되는 방류수의 수질을 향상시킬 수 있는 생물학적 3차 처리공정으로 발전할 가능성이 크다. 또한, 생물전기화학 반응조에 전도성 물질 첨가하면 전기활성 미생물 종들 사이의 직접 전자 전달을 매개함으로써 생화학적 산화 환원 반응을 더욱 개선시킬 수 있다(Feng et al., 2017).

전기활성 미생물의 직접종간전자전달(DIET, Direct interspecies electron transfer)을 통한 생화학반응은 반응 매개체를 통한 효소 반응보다 열역학 및 동역학적으로 유리하다는 점에서 주목받고 있다(Choi et al., 2018; Song et al., 2018; Joicy et al., 2018; Feng et al., 2018). 이는 전기활성 미생물 사이의 DIET가 하수의 3차 처리에 큰 잠재력을 제공할 수 있음을 의미한다. C형 시토크롬(cytochrome type C)과 선모(pili)와 같은 전도성 보조 인자를 통해 외부와 전자를 직접 교환할 수 있는 전자방출균(exoelectrogens)과 전자이용균(electrotrophs)은 전기활성 미생물이다(Busalmen et al., 2008; Sydow et al., 2014). 전기활성 미생물은 전자수용체가 미생물 세포 밖에 있는 극도의 혐기성 환경에서 관찰되었다(Koch and Harnisch, 2016).

최근 전기활성미생물은 미생물 연료 전지 및 분극 전극을 갖는 혐기성 반응조를 포함한 생물전기화학 반응조에서도 성공적으로 농축되었다(Song et al., 2016; Fung et al., 2018; Doyle and Marsili, 2015). 생물전기화학 반응조에서 전자는 전극의 표면에서 부착성장 하는 전기미생물 이외에도 벌크용액에서 부유 성장하는 전기활성 미생물 사이에서 직접 전달된다는 사실이 발견되었다(Feng et al., 2018; Harnisch and Frequia, 2011). 흥미롭게도, 전기활성 미생물은 혐기성 반응조에서 DIET의 도선 역할을 하는 활성탄, 탄소나노튜브(carbon nanotube) 및 자철석(magnetite)과 같은 전도성 물질의 표면에서도 성장하는 것을 발견하였다(Dang et al., 2016; Tremblay et al., 2017). 생물전기화학 혐기성 소화에서의 바이오가스 생산은 전기활성 미생물의 DIET에 의해 크게 개선될 수 있다(Song et al., 2016; Fung et al., 2018). 또한, 전도성 물질을 포함하는 혐기성 반응조의 분극 전극은 이전 연구에서 DIET를 통해 메탄 생성을 상당히 개선할 수 있었다(Choi et al., 2018; Dang et al., 2016; Zhao et al., 2015). 최근에는 DIET가 메탄 생산뿐만 아니라 하수의 유기오염물질 및 질소를 제거할 가능성이 큰 것으로 밝혀졌다(Song et al., 2015a, Song et al., 2018; Joicy et al., 2019). 2차 처리에서의 주요 처리 물질은 일반적

으로 저농도의 유기물과 질소이다(유순주 등, 2013). 따라서, DIET에 영향을 미치는 요인에 대한 이해는 2차 처리수를 대상으로 하는 생물전기화학 3차 처리의 열역학 및 동력학적 문제에 대한 해결책을 제공한다. DIET에 영향을 미치는 요인은 i)전도성 공동 인자를 통한 전자 전달에 필요한 활성화 과전압, ii)전자 전달을 위한 도선 역할을 하는 전도성 물질의 옴 저항, 및 iii)반응물과 생성물의 확산과 관련된 분극 과전압이다(Song et al., 2015a; Blasco-Gomez et al., 2017). 옴 저항은 전자 전달을 매개하는 전도성 물질의 전도성에 따라 달라지며, 분극 과전압은 생물전기화학 반응조에서 유체의 난류에 따라 달라진다(Song et al., 2015a). 그러나 활성화 과전압은 생체적합성, 다공성 및 거칠기와 같은 전도성 물질의 물리적 성질과 전기활성 미생물의 바이오매스 양에 따라서 영향을 받을 수 있다(Choi et al., 2018; Yang et al., 2017; Kato et al., 2012).

본 연구는 3차 처리 및 고도처리가 가능한 상향류 생물전기화학 반응조를 고안하여 성능을 평가하였다. 고안된 상향류 생물전기화학 반응조의 성능 향상을 위하여 2차 처리수 수준의 인공폐수를 바탕으로 반응조내에 투입한 전도성 물질의 형상에 따른 영향 연구, 전도성 입자의 물리적 특성에 따른 영향 연구 및 인가된 전계의 강도에 따른 영향 연구를 수행하였다. 위의 연구 결과를 바탕으로 도출된 최적 조건으로 반응조의 실용화 가능성을 평가하였다. 하수처리장 2차 처리수를 대상으로 3차 처리의 성능을 평가하였으며, 실하수를 대상으로 고도 처리의 성능을 평가하였다.

제 2 장 문헌연구

2.1 국내 하수처리시설 현황

국내 처리시설은 1976년 청계천 하수처리장 준공부터 시작되어 지속적으로 확충되었다. 2004년 국내 공공하수처리시설은 1421개소로 일처리 500m³ 이상의 시설은 268개소, 500m³ 이하의 시설은 1153개소가 운영 중이었다(환경부, 2019). 2016년에는 공공하수처리시설이 3963개소로 그 중 일처리 500m³ 이상의 시설은 649개소 500m³ 이하의 시설은 3314개소가 운영 중으로 12년 사이에 공공하수처리시설이 2배 이상 증가 하였다(Fig 2.1).

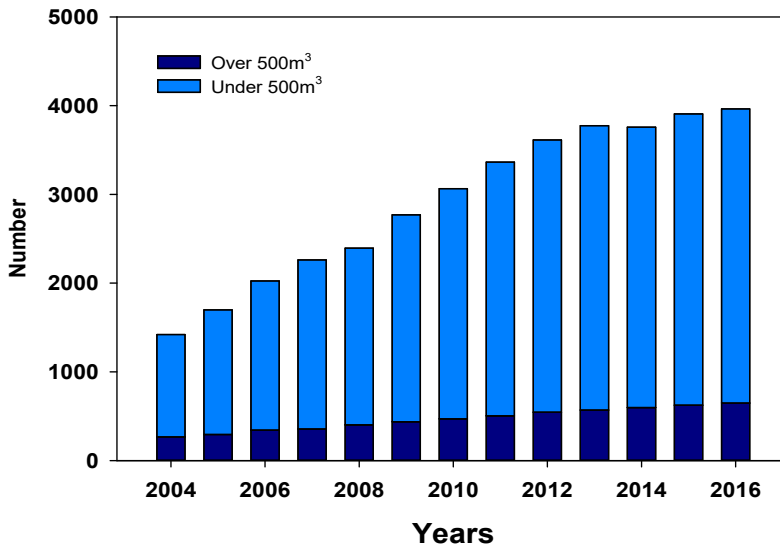


Fig. 2.1 Number of wastewater treatment plants in Korea per year

과거 하수처리시설의 처리공정은 활성슬러지공정이 주 공정이었으나 방류수 수질기준이 점차 강화되어 고도처리 공정이 적용되고 있다. 최근 국내에서 신설되는 하수처리시설은 계획단계에서부터 2차 처리공정으로 질소 및 인 등을 함께 제거 할 수 있는 처리공법으로 건설되고 있다. 또한, 기존의 하수처리시설에서도 2차 처리공정에 대한 고도처리 공정이 추가되거나 변경되고 있다(환경부 2019). 2004년 국내 하수처리장의 약 20% 정도만이 고도처리 공정이 적용되었으나 연간 증가하여 2016년에는 약 95%의 하수처리장이 고도처리 공정을 적용하여 운영 중인 것으로 확인되었다 (Fig 2.2).

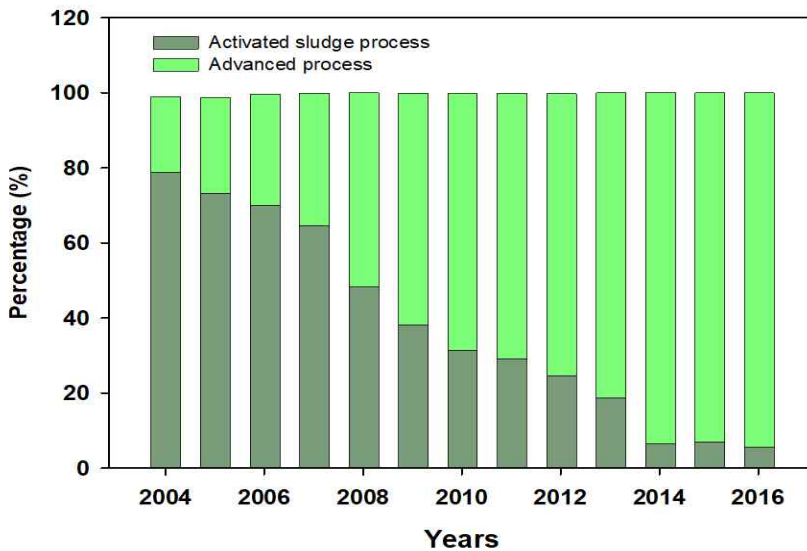


Fig. 2.2 Percentage according to the process of wastewater treatment plant in Korea

2.2 국내 처리시설 방류수 수질기준

국내 하수처리시설 방류수 수질기준은 1964년 10월 공해방지법에서 신설되었으며. 처리방법에 따라서 pH, BOD, SS, 총대장균수의 항목들이 적용되었다(유순주 등, 2013). 그 후 1983년 3월 처리방법별 구분 없이 방류수 수질기준 항목으로 BOD, SS가 적용되었으며, 1993년 COD, 1996년 T-N 및 T-P, 2001년 총대장균수, 2011년 생태독성 항목이 확대되었다. 또한 방류수 수질기준 항목은 1983년부터 2012년까지 BOD는 30mg/L에서 5mg/L, COD는 50mg/L에서 20mg/L, SS는 60mg/L에서 20mg/L, T-N은 60에서 20mg/L, T-P는 8에서 0.2mg/L, 총대장균수: 3000N.D/mL에서 1000N.D/mL로 점차 강화되었다(Table 2.1).

Table 2.1 The changes of discharge standards for the wastewater treatment plant in Korea(Korea's sewage law, 1983~2012)

Division	1983.3	1993.7	1996.1	2001.10 ¹⁾	2009.7 ²⁾	2011.1	2012.1 ³⁾
BOD(mg/L)	30	30	20	10	10	10	5
COD(mg/L)	-	50	40	40	40	40	20
SS(mg/L)	70	70	20	10	10	10	10
T-N(mg/L)	-	-	60	20	20	20	20
T-P(mg/L)	-	-	8	2	2	2	0.2
Total coliform count(N.D/mL)	-	-	-	3,000	3,000	3,000	1,000
Ecotoxicity(TU)	-	-	-	-	-	1	1

* Remark: 1) Specific area, 2) wastewater treatment capacity more than 50m³ per day, 3) Based on Area I(over 500m³: I-IV classify the area)

공공하수처리시설의 방류수 수질기준은 2012년을 기준으로 BOD, COD, SS, T-N, T-P, 총대장균군수, 생태독성의 항목에 대하여 시설 규모에 따라서 기준을 적용하고 있으며, 1일 하수처리용량 500m³ 이상의 시설에 대해서는 I~IV 지역으로 각기 다른 기준을 적용하고 있다. 또한 1일 하수처리용량 500m³ 미만인 시설에 적용되는 겨울철(12월 1일부터 3월 31일까지) 기준은 2014년 12월 31일까지 총질소는 60mg/L 이하, 총인은 8mg/L 이하로 적용된다(Table 2.2). 개인하수처리시설은 크게 오수처리시설과 정화조로 구분하여 관리하고 있으며, 방류수 수질기준은 오수처리시설에 대해서는 50m³ 미만과 50m³ 이상으로 구분하고 있다. 하수처리시설 규모별로 기준을 차등화 하고 있고, 50m³ 미만의 경우에는 지역에 따라 수변구역과 특정지역 및 기타지역으로 그 기준을 다시 구분하여 적용하고 있다(Table 2.3). 환경부는 하수도 수질관리를 위하여 공공하수처리시설의 방류수 수질기준 강화 및 수질원격감시체계(TMS; Tele Monitoring System)설치 운영관리 개선을 지속적으로 추진하고 있다.

Table 2.2 Discharge standards for the wastewater treatment plant in Korea(Korea’s sewage law, 2012)

Division	BOD (mg/L)	COD (mg/L)	SS (mg/L)	T-N (mg/L)	T-P (mg/L)	MPN (개/ml)	Ecology toxicity (TU)
Area I	<5	<20	<10	<20	<0.2	<1,000	
>500m ³ /d	Area II	<5	<20	<10	<20	<0.3	
	Area III	<10	<40	<10	<20	<0.5	
	Area IV	<10	<40	<10	<20	<2	<1
<500m ³ /d, >50m ³ /d	<10	<40	<10	<20	<2	<3,000	
<50m ³ /d	<10	<40	<10	<40	<4		

* Sewage treatment plants with a capacity of less than 500m³/d was operated under old effluent quality standards only for T-N (<60mg/L) and T-P (<8mg/L) during winter (Dec.1~ Mar. 31) and will be operated under the same standards until Dec.31.2014 after which new standards will be followed.

Division	Scope
Area I	a. Protected areas of water source according to Article7 of 「Water service law」
	b. Special protected areas of water conservation according to Article7(1) of 「Basic Environmental policy law」
	c. Riparian zone according to Article4(1) of 「Acts of Han river water quality improvement and social support」, Article4(1) of 「Acts of Nakdong river water management and social support」, Article4(1) of 「Acts of Geum river water management and social support」, Article4(1) of 「Acts of Yongsan river & Seomjin river water management and social support」
	d. Areas where rivers inflow to Saemangeum project area according to Article2(1) of 「Special laws of the Saemangeum project promotion」
Area II	Medium influenced areas according to Article22(2) of 「Laws of water quality and ecosystem integrity」 which also have COD and T-P values closer to or higher than the standard according to Article24(2) of 「Laws of water quality and ecosystem integrity」
	Medium influenced areas shown in Article22(2) of 「Laws of water quality and ecosystem integrity」 which are close to Han, Geum, Nakdong, Yongsan and Seomjin river.
Area III	
Area IV	Except Area I, II, III

Table 2.3 Discharge standards for the personal wastewater treatment plant in Korea(Korea's sewage law, 2012)

Division	1 day processing capacity	Area	Water quality item	Discharge standards
Wasterwater treatment plant	<50m ³	Waterfront area	BOD(mg/L)	<10
			SS(mg/L)	<10
		Specific area and other area	BOD(mg/L)	<20
			SS(mg/L)	<20
	>50m ³	all area	BOD(mg/L)	<10
			SS(mg/L)	<10
			T-N(mg/L)	<20
			T-P(mg/L)	<2
		Total coliform count(N.D/mL)	<3000	
Septic tank	More than 11 people	Waterfront area and specific area	BOD removal rate(%)	>65
			BOD(mg/L)	<100
		other area	BOD removal rate(%)	>50

2.3 3차 처리 및 고도 처리 공정

하수 처리 공정은 크게 1차, 2차, 3차 처리로 구분할 수 있다. 1차 처리는 물리적 방법을 사용하는 단순한 처리공정으로 하수 처리장의 유입 하수 내에 존재하는 고형물을 제거하는 공정으로 1차 침전지가 대표적이다. 2차 처리는 하수 처리 공정에서 보편적인 처리 공정으로 2차 처리는 특정한 오염물질을 포함하지 않는 유기물과 고형물의 제거하는 공정이다(Tchobanoglous et al., 1991). 2차 처리 후에 제거되지 않는 오염물질의 처리를 위하여 설치하는 추가공정을 3차처리(tertiary treatment)라 하며, 이는 후속공정에 질소와 인 등의 처리를 위한 경우가 많다. 이와 유사한 개념으로 고도처리(advanced treatment)는 2차 하수처리에서 얻을 수 있는 이상의 깨끗한 처리수 수질을 확보하기 위한 처리공정을 말한다.

기존의 하수처리시설은 보다 엄격해지는 방류수 수질기준으로 인하여 2차 처리 공정을 채택하였으나, 일반적으로 하수는 2차 처리과정을 거친 후에도 오염물질을 완벽하게 제거하기 어렵다. 따라서 하수처리시설은 2차 처리수의 처리를 목적으로 막분리, 화학적 고도산화, 생물막 여과, 미세 조류 등을 중심으로 3차 처리 공정을 도입하였다(Butterworth et al., 2016; Gharbia et al., 2016; Khan et al., 2011). 막분리 공정은 처리효율은 우수하나 용존성 유기물, 질소 및 인의 제거는 이루어지지 않아서 상대적으로 높은 설치비와 막폐색 문제, 세정비 및 막교체비용 등이 많이 요구된다(Ye et al., 2005; Kimura et al., 2005; Chang et al., 2002). 화학적 고도산화공정은 공정이 복잡하고 약품비 등이 문제가 된다(Choi and Lee., 2017). 생물막 여과공정은 생물막에 부착된 미생물량의 임의 조절이 어려워, BOD 부하가 높아 슬러지의 축적속도가 상승하거나 부유물의 부하가 높으면 막힘 현상이 일어나기 쉽다(Mosqueda-Jimenez et al., 2009). 미세 조류를 이용한 공정은 활성슬러지 공법에 비하여 하수 처리 시간이 오래 걸리며 미세 조류를 따로 분리하는 공정이 추가로 필요하다. 3차 처리

공정은 물리적, 화학적, 생물학적 방법이든 그 공정의 특성상 부지소요가 적어야 하며 운전의 신뢰성, 편의성, 경제성 그리고 안정성 등을 고루 갖추어야 한다(유순주, 2013). 특히 실하수를 대상으로 한 종래의 공법과 달리 매우 낮은 유기물 및 질소 부하에도 안정적인 처리효율을 나타낼 정도의 유연성을 지니고 있어야 한다.

고도처리는 질산화 및 탈질을 이용한 질소 제거 공정과 철, 알루미늄, 칼슘 화합물을 투입하여 화학적으로 침전시켜 인을 제거하는 공정이 주요 공정이다. 이 외에도, 암모니아 스트리핑, 파괴점 염소주입, 이온교환 등의 방법이 질소 및 인 제거를 위해 사용된다(Tchobanoglous et al., 1991). 고도처리 공정은 질소와 인 외에도 2차 처리시설에서 완벽히 처리되지 않고 하수 내에 잔류하는 다른 물질의 처리를 위해서도 사용된다. 잔류 부유고형물을 제거를 위해서 급속여과, 마이크로스트레이너 공정과 용존 유기물 제거를 위해서는 활성탄, 막분리, 오존산화 공정 등이 이에 해당된다. 그러나 모든 공법들은 생물학적 처리기술의 기본적인 한계, 즉, 유입수 중 탄소원이 부족한 경우 탈질 및 인 방출이 저해되는 점, 동결기 시 수온이 저하되는 경우 생물학적인 활성이 떨어진다는 점, 최종적으로는 처리수질이 침전조의 성능에 크게 좌우되며, 순간적인 고부하에 적응이 어렵고, 우기나 집중 호우 시 다량의 우수가 순간적으로 유입되어 SS제거가 효율이 급격히 떨어지는 등의 문제점을 가지고 있다(Tchobanoglous et al., 1991). 이는 최적화된 운전기술 만으로는 해결하기 힘든 기술적 한계로써 생물반응조와 중력식 침전조의 결합이라는 종래의 하수처리 기본 공정 흐름을 채택하고 있는 한 해결하기 힘든 문제이다. 즉, 단순한 질소 및 인의 처리라는 개념을 넘어서 계절에 관계없이 안정적인 질소 및 인의 처리하여야 한다. 즉, 최소의 비용으로 최적의 처리수를 생산함으로써 수질, 수량, 경제적인 측면 모두에서 진정한 의미의 방류수 재이용이 가능한 수준의 하수처리가 가능한 새로운 패러다임의 기술도입이 필요함을 의미한다.

2.4 생물학적 공정에서의 기질 친화도(반포화 상수)

일반적으로 하수 처리장에서 생물학적 처리 공정의 대부분을 모델링하는데 Monod 식이 사용되었다. 미생물 성장 및 기질 분해 동역학을 설명하기 위해 다른 모델을 사용할 수 있지만 Monod 식은 단순하며, 상대적으로 정확하다는 장점을 가지고 있다(Tchobanoglous et al., 1991). Monod 식은 실제 미생물 거동을 모방하기 위해 높은 기질 농도에서는 0차 성장 동력학으로 낮은 기질 농도에서는 1차 성장 동력학으로의 변경되도록 되어있다(Arnaldos et al., 2015)(Fig 2.3a). 높은 기질농도에서의 성장 동력학은 기질농도와 무관하며 대신에 최대비성장속도에 의하여 결정된다(Fig 2.3b). 대조적으로 낮은 기질 농도에서의 성장 동력학은 기질농도에 제한되고, 반 포화 상수(K_s) 또는 기질 친화도 상수가 성장률에 영향을 미치는 주된 매개변수가 된다(Fig 2.3b).

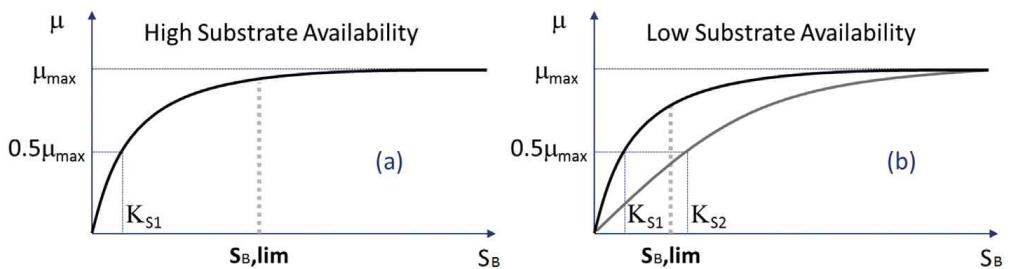


Fig 2.3 Illustration of the parameters limiting growth kinetics at different substrate availabilities(Arnaldos et al., 2015)

낮은 기질 농도 조건에서 기질에 대한 가장 높은 친화도(낮은 K_s)를 가진 미생물이 반응조내에 존재하는 다른 미생물보다 유리하다는 것이 일반적이다. 이는 Monod식으로 설명할 수 있다. 낮은 기질농도에서 낮은 K_s

를 갖는 미생물은 높은 K_s 값을 갖는 미생물보다 높은 성장률을 나타내지만 최대비성장속도(μ_{max})는 동일하다.

따라서 낮은 기질농도 상태에서 공정의 성능은 반 포화상수 즉, 기질친화도에 의해 크게 결정된다. 반 포화 상수의 값은 전자수용체가 활성 슬러지까지의 이동과 활성 슬러지에서 활성 슬러지 내의 활성 미생물까지의 이동에 의한 물리적인 요소, 활성 미생물 세포벽, 주변세포질, 주변세포막의 생화학반응과 같은 생물학적인 요소에 의하여 결정된다(Arnaldos et al., 2015)(Fig2.4). 따라서 기질친화도를 높이기 위해서는 물리적인 요소인 교반 및 혼합, 활성 슬러지의 응집 크기를 조절하여 높일 수 있고, 생물학적인 요소는 세포벽에서 전달 특성이 우수한 미생물 종을 활용하거나 새로운 생화학 반응 경로를 탐색하여야 한다. 일반적으로 물리적인 요소는 이미 많은 연구가 진행되었고 실용화되었다. 그러나 생물학적인 요소 중 하나인 새로운 생화학 반응 경로에 대한 연구는 아직 연구단계에 머물고 있으며 실용화되지 않았다.

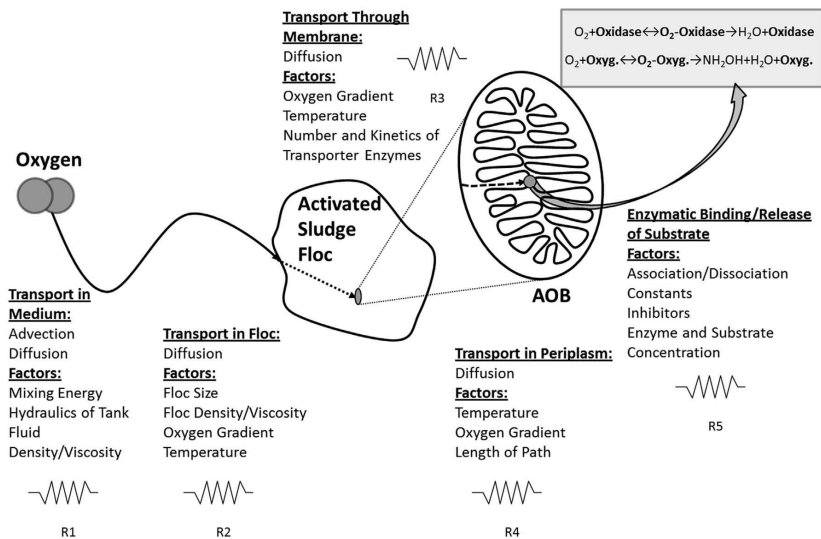


Fig 2.4 Resistance-in-series model to represent the different factors influencing half-saturation indices(Arnaldos et al., 2015)

2.3 생물전기화학 시스템

생물전기화학 시스템(Bioelectrochemical system, BES)은 다양한 폐수처리 기술 접목하거나 폐수 처리와 전기생산을 동시에 수행할 수 있는 지속 가능한 기술로 현재까지 많은 연구가 진행되어왔다. BES는 다양한 분야와의 접목이 가능하기 때문에 미생물학, 전기화학, 생명공학, 환경공학, 재료공학 등의 분야에서 활발하게 연구되어 전 세계적으로 수행되어 왔다. 이러한 BES는 산화전극(Anode)과 환원전극(Cathode) 및 이들을 공간적으로 분리하는 분리막, 그리고 산화전극과 환원전극을 연결하는 도선으로 이루어진 외부회로로 구성되며, 산화전극의 산화 반응과 환원전극의 환원 반응으로 인하여 형성된 전위차는 전자가 자발적으로 낮은 전위에서 높은 전위로 전달될 수 있는 구동력이 된다(Kelly and He, 2014). 이러한 전자 흐름은 전류로 측정된다. 미생물 또는 효소가 위와 같은 산화 또는 환원 반응에 관여하게 되면 유기물질을 분해하여 전기를 생성하는 미생물연료 전지(Microbial fuel cell, MFC)와 외부회로에서 인가된 전압으로 인하여 대상이 되는 화학물질을 분해 또는 생성하는 미생물전해전지(Microbial electrolysis cell, MEC)로 구분 할 수 있다. 현재까지 BES는 다양한 연구를 통하여 MFC 및 MEC 뿐만 아니라 미생물 담수화 전지(Microbial desalination cell, MDC), 미생물 태양 전지(Microbial solar cell, MSC), 미생물 전기합성(Microbial electrosynthesis, MES)등으로 세분화되어 다양한 분야에 적용되었다(Ghafari et al., 2008)(Fig 2.5). BES는 폐수 처리 및 에너지 생산을 위하여 전극의 재료, 반응조 설계 및 운전조건과 같이 성능에 영향을 주는 주요인자들을 실험실 규모에서만 연구가 주로 진행되어왔다. 따라서 BES는 실용화를 위한 기술, 과학 및 경제적인 문제가 여전히 해결되지 않았다.

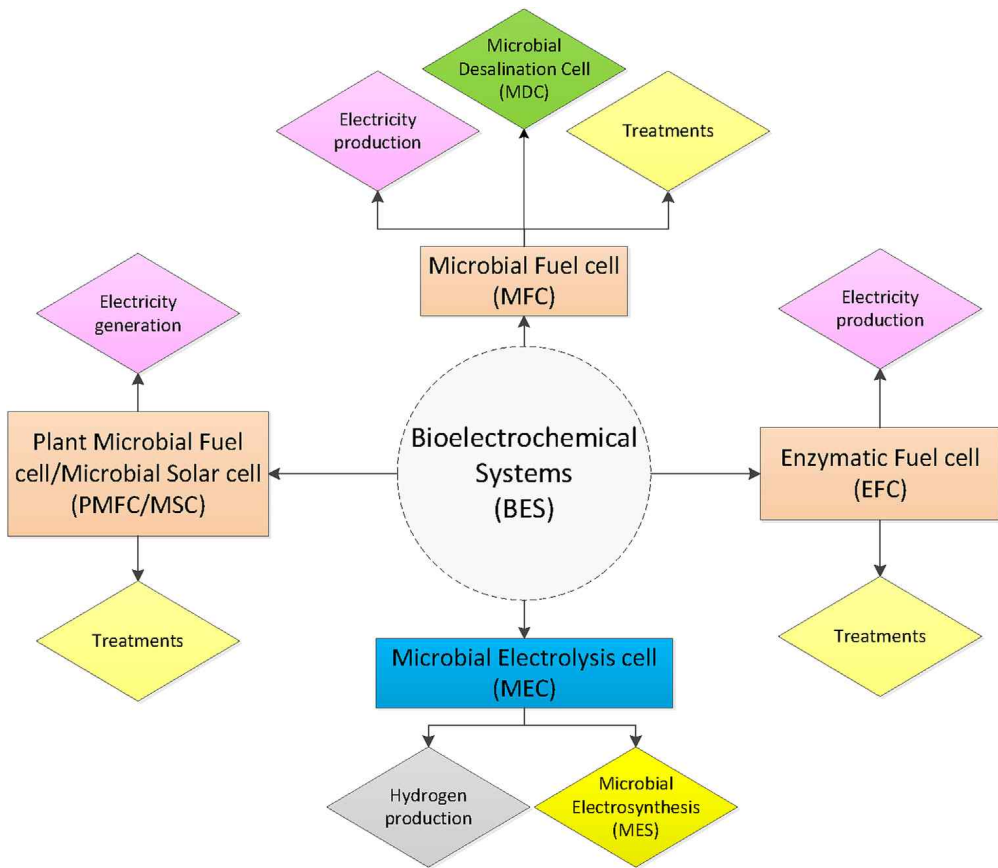


Fig 2.5 Schematic overview of various types of bioelectrochemical systems (BESs)(Neethirajan et al., 2018)

2.4 생물전기화학 기술을 이용한 저장도 하폐수처리의 원리

일반적으로 미생물의 기질 친화도는 Monod 식 형태의 미생물 성장 동력학식에서 반속도상수에 반비례하는 값으로 나타난다. 이때 반 속도 상수는 다음 식 (1)과 같이 자유 에너지 변화량의 함수로서 나타낼 수 있다. 여기서, K_s 는 반 속도 상수(mg/L)이며, ΔG^0 및 ΔG 는 표준 상태와 현재 상태의 자유에너지 변화량 그리고 R 및 T는 이상기체상수 및 절대온도이다. 식 2.1에서 현재 상태의 자유 에너지변화량(ΔG)이 커지면 K_s 값이 작아지게 되어 기질 친화도가 증가하기 때문에 미생물은 낮은 기질농도에서도 상대적으로 높은 성장을 할 수 있게 된다. 산화 및 환원반응에 있어서 자유 에너지 변화량은 Nernst 식과 자유에너지식을 결합하면 다음 식 (2)와 같이 나타낼 수 있다(Liu, 2006).

$$K_s = e^{((\Delta G^0 - \Delta G)/RT)} \tag{2.1}$$

$$\Delta G = -nFE \tag{2.2}$$

따라서, 생물전기화학기술이 적용된 반응조내에 설치된 분극된 전극의 전위 또는 전극 사이의 전기장은 영구 쌍극자를 지향함으로써 시스템의 엔탈피와 엔트로피를 변화시켜 반응의 활성화 에너지를 열역학적으로 유리하게 감소하게 된다(Song and Oh, 2015). 이는 분극된 전극 또는 전계가 미생물의 기질 친화도를 향상시킴으로써 저장도 하폐수의 유기 오염물을 더 제거할 수 있음을 의미한다.

제 3 장 생물전기화학 고도 처리에서 전도성 물질의 영향

3.1 연구 목적

본 연구에서는 0.6V의 낮은 전압을 인가한 상향류 생물전기화학 반응조를 이용하여 하수처리시설의 방류수 수질 기준 수준의 저강도 하수 처리를 조사하였다. 또한, 전도성 시트 및 전도성 입자와 같은 전도성 물질이 상향류 생물전기화학 반응조의 유기물 및 질소 제거에 미치는 영향과 반응조내의 우점 미생물군의 성장 및 바이오매스 보유량에 미치는 영향에 대하여 평가하였다.

3.2 실험 및 방법

3.2.1 전극 및 전도성물질

본 실험에서 사용한 전극은 흑연섬유직물(GFF, Samjung C&C Co., Korea, Kyeong, South Korea, 5cm × 20cm) 표면에 다중벽탄소나노튜브(MWCNT, Carbon Nano-material Technology Co., Ltd., Pohang, South Korea)와 니켈화합물을 전기영동법으로 고정하여 제작하였다(Feng et al., 2016). 이때 전기영동에 사용된 전해질 용액은 초순수 1L에 1g의 MWCNT와 0.5g의 polyethyleneimine(Thermo Fisher Scientific Inc., NJ, USA) 및 0.25g의 nickel chloride(NiCl_2 , Sigma-AldrichCo.,MO,USA)를 혼합하고 초음파로 30분간 분산시켜 준비하였다. 작업전극으로 GFF를 사용하였으며, 대전극은 스테인레스 망을 사용하였다. 작업전극과 대전극을 평행하게 설치한 후 두 전극 사이에 30V의 전압을 인가하여 GFF 표면에 MWCNT와 니켈을 30분 동안 부착시켰으며, 150°C에서 열처리를 하여 완

성하였다.

전도성 물질은 폴리프로필렌(poly propylene) 부직포의 표면에 MWCNT를 부착하여 전도성 시트(5cm x 20cm)를 제작하였다. 부착을 위해 부직포를 MWCNT 1.0g과 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine) 0.5g이 함유된 용액에 넣고 60분간 초음파 처리를 하여 완성하였다. 전도성 입자는 질산 처리 후 건조 공정에서 응집된 MWCNT 덩어리를 1mm 이하로 분쇄하여 제작하였다. 전극과 전도성 물질은 SDS(sodium dodecyl sulfate) 1% 용액에 담지하여 친수성을 향상시켰다.

3.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건

본 실험을 위한 상향류 생물 반응조는 아크릴 수지로 제작하였다(Fig 3.1). 유입수는 상향류 반응조 하부 측벽에 위치하도록 하였고, 유출수의 배출구는 상부 측벽에 위치하도록 하였다. 상향류 반응조 바닥면에 다공판을 설치하여 유입수가 고르게 분배하도록 하였으며, 유출수의 월류를 막기 위하여 상단벽에 월류구가 위치하도록 하였다. 산화전극과 환원전극 사이에 부직포를 삽입하여 SEAs(Separator and electrode assemblies)를 제조한 후 3개의 SEAs를 반응조에 3cm의 간격을 갖도록 수직으로 배치하여 상향류 생물전기화학 반응조를 완성하였다. 상향류 생물전기화학반응조에 설치된 SEAs 사이에 준비된 전도성 시트 4개를 수직으로 설치한 반응조(BER-CS)와 반응조 하단 SEAs 사이의 공간에 4g의 전도성 입자를 채워 반응조(BER-CP)를 완성하였다. 생물전기화학 반응조에 설치한 SEAs의 전극은 티타늄 도선으로 외부 직류 전원공급 장치(DP 30-03TP Toyotech, Japan)에 연결하였다.

식중 슬러지는 하수 슬러지 혐기성 소화조(S WWTP, B-metrocity, Korea)에서 혐기성 소화 슬러지를 채취하여 1mm 체로 체거름 하였다. 식중 슬러지는 저장도 인공폐수와 1:9의 비율로 혼합하여 반응조를 채웠다. 저장도 인공폐수는 수돗물 1L에 CH_3COONa 0.051g, KCl 0.005g, NH_3Cl 0.061g, NaNO_2 0.002g, KNO_3 0.023g을 용해시켜 합성하였다. 인공폐수의 초기 성상은 COD 40mg/L, T-N 20mg/L 였으며, 암모니아성 질소, 아질산성질소, 질산성 질소의 비율은 각각 80%, 2%, 18%였다. 용존 산소 및 황산염의 초기 농도는 약 4.0mg/L 및 33.5mg/L이었으며, 저장도 합성폐수는 방류수 수질기준과 국내 하폐수처리장에서 배출되는 방류수의 성상에 기반으로 합성되었다(유순주 등, 2013). 생물전기화학 반응조는 전극 사이에 0.6V의 전압을 인가하였으며, 수리학적체류시간은(HRT, Hydraulic Retention Time) 60분이 되도록 유입수를 공급하여 운전하였다.

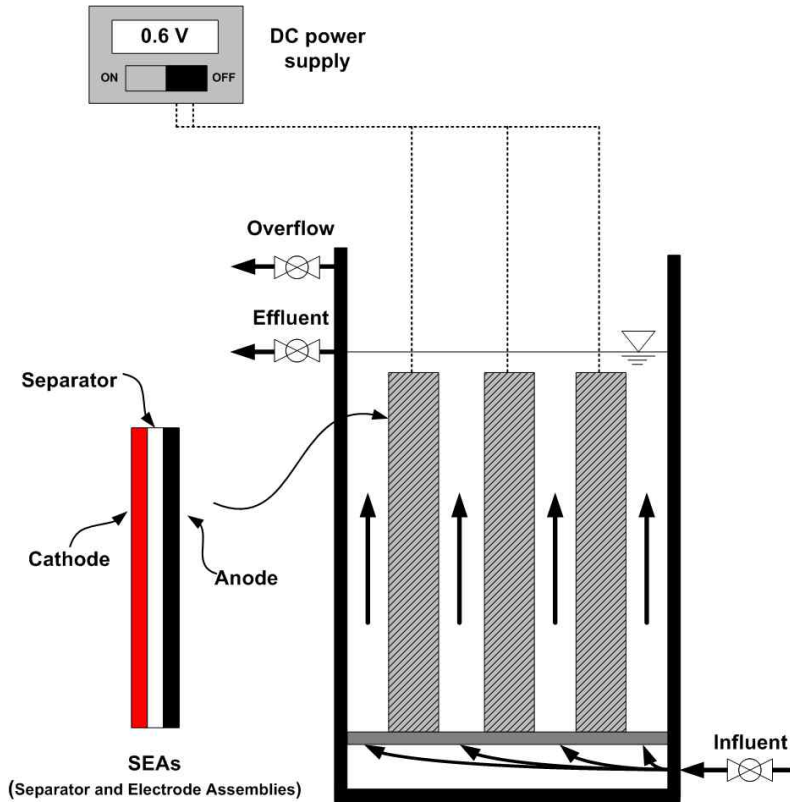


Fig 3.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor

3.2.3 분석 및 계산

상향류 생물전기화학 반응조를 운전 중에 COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 및 휘발성 고형물(VS)을 포함한 유입수 및 유출수의 성상을 모니터링 하였다. COD는 Standard Methods (2005)의 closed reflux 방법으로 측정 하였으며, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 은 Phenate 방법으로 분석하였고 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 과 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 은 각각 자외선 분광 광도법과 비색법으로 얻었다. VS는 Standards Methods (2005)에 따라 측정되었고, 반응조의 바이오매스 함량

을 추정하는데 사용되었다.

정상 상태에서의 생물전기화학 반응조내의 전극 및 벌크 용액의 미생물에 대한 전기화학적 특성을 살펴보기 위하여 전기화학 장비(Zive SP1 WonATech)를 사용하여 EIS(electrochemical impedance spectroscopy) 실험과 DPV(differential pulse voltammetry) 실험을 수행하였다. 전극에 대한 EIS 실험에서는 Ag/AgCl 전극을 기준 전극으로 사용하였으며, 전위파 신호는 25mV, 주파수 범위는 100 kHz에서 10 MHz로 설정하였다. 임피던스 응답은 운동 제어와 확산 제어 기능이 혼합된 Randles 등가 회로 모델과 적합하였다. Randles 등가회로 모델에는 이중층 커패시터와 직렬로 연결된 용액 오믹 저항이 포함되어 있다. 이는 Faradaic 반응 임피던스와 병렬이며, 전자전달저항과 Warburg 임피던스가 직렬로 구성되어 있습니다(Feng et al, 2017). 벌크 용액에 대한 DPV 실험에서는 클럭 시간 및 펄스 높이를 각각 5 초와 50mV로 하였다. DPV 및 EIS 분석결과는 SMART Manger 소프트웨어(Zive Lap Wonatech, Korea)를 사용하여 분석하였다.

3.2.4 미생물 분석

DNA 추출 및 PCR 증폭을 위해 MO BIO Power Soil DNA Kit를 이용하였으며, 벌크 용액의 부유 슬러지로부터 Metagenomic DNA를 추출 후 Kit 절차에 따라 사용하였다. 파이로시퀀싱(pyrosequencing)에 앞서 genomic DNA의 증폭은 미생물의 16S rRNA 유전자의 V1에서 V3 영역을 목표로 하는 바코드 프라이머(barcode primers)를 사용하여 진행하였다. 증폭 및 서열 분석은 “Chun et al., 2010”에 기술된 방법에 따라 454 GS FLX 티타늄 시퀀싱 시스템(Roche, Branford, CT)으로 Chunlab Inc. (Seoul, Korea)에 의뢰하여 수행되었다. 서열 판독은 16S rRNA 서열 데이터를 기초로 EzTaxon-e 데이터베이스(<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>, (Kim et al., 2012))를 이용하여 확인 하였다.

3.3 결과 및 고찰

3.3.1 유기물질의 생물전기화학적 처리

모든 생물전기화학 반응조의 유출수 COD는 운전 이후 기하급수적으로 감소하여 30 여일 후부터 3.5mg/L 미만의 낮은 값으로 안정화되었다(Fig 3.2). 이 결과는 0.6V의 전압으로 인가한 생물전기화학 반응조에서 저장도 유기물질을 더 처리 할 수 있음을 확인할 수 있었다. 생물학적 처리에서 미생물의 기질 친화도는 유출수에 영향을 미친다(Song et al., 2015). 기질 친화도 지수로 알려진 반 포화 상수는 미생물 성장에 관여하는 이류, 확산 및 생물학적 요인의 영향을 나타낸다(Arnaldos et al., 2015). 본 실험에 사용한 반응조는 상향류였으며, 외력에 의한 교반은 없었다. 이는 기질 친화도가 이류 및 확산 인자보다 생물학적 인자에 의해 향상되었음을 의미한다. 생물학적 요인은 전자를 전자공여체가 전자수용체로 전달하는 미생물 대사로 전압이 인가된 분극 전극이 생물전기화학 반응조의 미생물 대사를 향상 시켰음을 의미한다(Song et al., 2015). 활성 슬러지공정의 설계에 사용되는 반포화 상수는 20~60mg/L 정도로 높기 때문에 미생물의 기질 친화도가 충분하지 않으며, 저장도의 하폐수를 처리하는 종래의 생물 공학적 공정에서 바이오매스를 유지할 수 없음을 나타낸다(Tchobanoglous et al., 2014).

전자공여체 및 수용체의 균형은 상향류 생물전기화학 반응조의 COD 제거에 중요한 정보를 제공한다. 유입되는 인공폐수의 전자공여체는 COD 40mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 16mg/L이며, 전자수용체는 DO 및 $\text{NO}_2\text{-N}$ 0.4mg/L, $\text{NO}_3\text{-N}$ 3.6mg/L가 함유되어있다. 산소는 반응조 상부에서 확산되어 우입될 수 있으나, 전자 수용체는 미생물이 전자 공여체를 완전히 대사하기에 충분하지 않다. 혐기성 조건의 생물전기화학 반응조에서는 exoelectrogens

및 electrotrophs를 포함한 전기활성 미생물이 주로 성장하며, exoelectrogens에서 electrotrophs로 전자를 직접 전달하여 유기물질을 발효함으로써 메탄 또는 수소를 생성한다(Chabert et al., 2015; Dubé & Guiot, 2015; Feng et al., 2017, Rotaru et al., 2014; Zhao et al., 2015). 생물전기화학 반응조에 유입된 COD는 DO, NO_2^- -N 및 NO_3^- -N와 같은 전자 수용체에 의해 부분적으로 산화되고, 잔류 COD는 직접종간전자전달(DIET, Direct interspecies electron transfer)를 통한 발효와 같은 다른 대사에 의해 제거된 것으로 판단된다.

흥미롭게도 전도성 시트를 설치한 생물전기화학 반응조의 유출수 COD는 $1.98 \pm 0.16 \text{mg/L}$ 로 전도성 입자를 주입한 반응조의 $2.41 \pm 0.31 \text{mg/L}$ 와 전도성물질을 사용하지 않은 대조구 반응조의 $3.28 \pm 0.03 \text{mg/L}$ 보다 약간 낮게 측정되었다. 각 반응조 벌크 용액에서의 바이오매스 함량은 전도성 시트를 설치한 반응조가 3.46gVS/L 로 가장 높았으며, 전도성 입자를 주입한 반응조의 경우 2.34gVS/L , 대조구는 1.62gVS/L 였다(Fig 3.3). 이는 전도성 물질에 의해 바이오매스 보유량이 증가하지만, 증가량은 전도성 물질의 유형에 따라 다른 결과를 보여준다는 것을 나타낸다. 전도성 물질은 바이오매스의 유실을 막음으로써 바이오매스 보유에 좋은 영향을 미쳤을 가능성이 높다. 그러나 전도성 물질은 전기활성미생물 사이의 종간직접전자전달 발달을 매개 할 수 있다(Kato et al., 2012; Shrestha and Rotaru, 2014; Yang et al., 2017). DIET는 미생물의 성장률 및 미생물 공동체를 변화시켜 바이오매스를 증가 시키는 것으로 알려져 있다(Yang et al., 2017). 이는 전도성 물질이 미생물의 기질 친화도를 향상시키고, 0.6V의 인가전압을 갖는 생물전기화학 반응조의 유출수 COD를 더욱 개선시킨다는 것을 나타낸다.

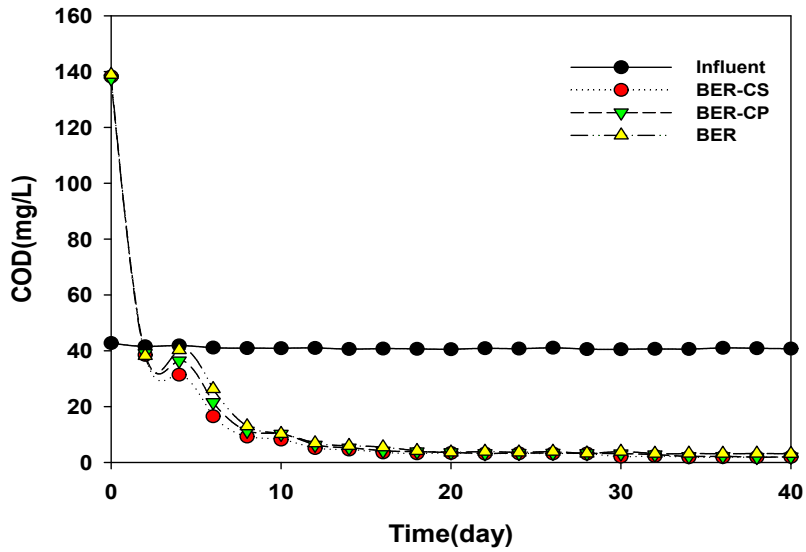


Fig 3.2 The effluent COD in the upflow bioelectrochemical reactors

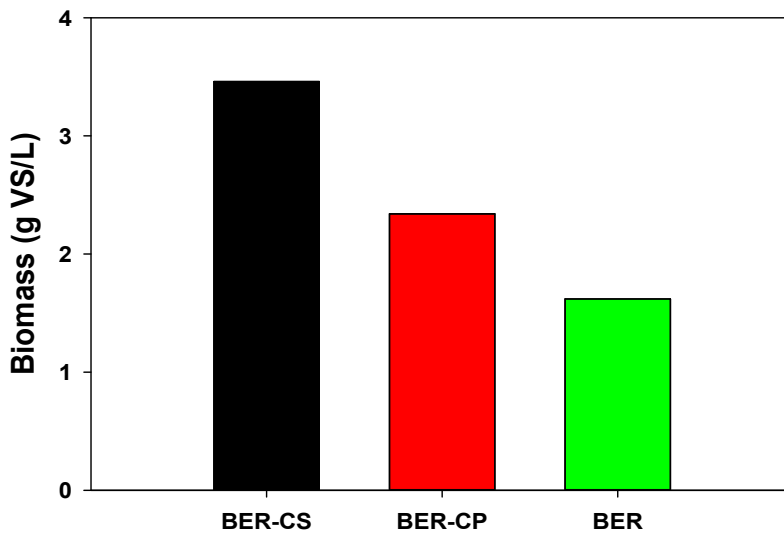


Fig 3.3 The biomass concentrations in the upflow bioelectrochemical reactors.

3.3.2 생물전기화학적 질소 제거

생물전기화학 반응조에서 유출수 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도는 농도는 운전 시작 후 급수적으로 감소하여 30 여일부터 안정화되었다(Fig 3.4). 그러나 유출수 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도는 생물전기화학 반응조에 설치 및 주입된 전도성 물질에 따라서 차이를 보였다. 전도성 시트의 경우 안정화 상태에서 유출수 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도가 $2.65 \pm 0.09 \text{mg/L}$ 로 감소하여 전도성 입자의 $3 \pm 0.11 \text{mg/L}$ 보다 더 감소하였다. 그러나 전도성 물질을 사용하지 않은 반응조의 유출수 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 농도는 $7.46 \pm 0.11 \text{mg/L}$ 로 높게 측정되었다. $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 및 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 농도의 경우 모든 생물전기화학 반응조에서 유입수보다 약간 높았다(Fig 3.5, 6). 이 결과는 유출수의 총질소 농도를 낮추기 위해서는 아질산성 질소와 질산성제거에 대한 추가 연구가 필요함을 나타낸다.

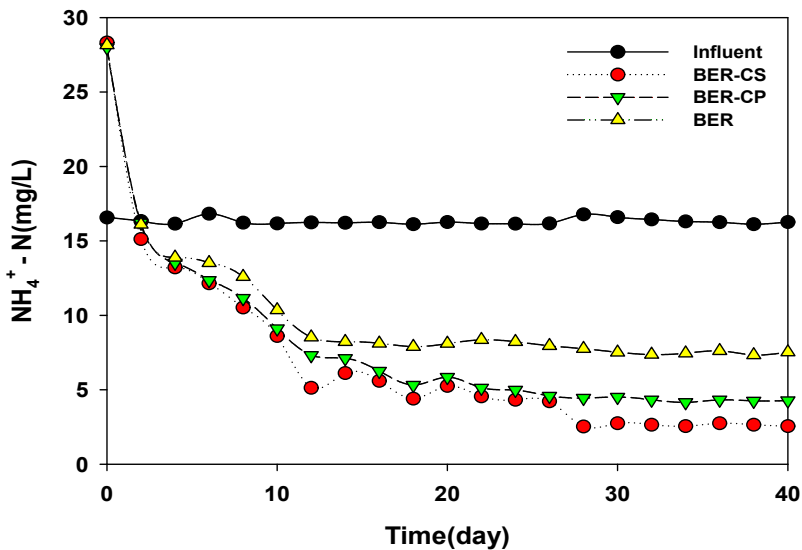


Fig 3.4 Effluent $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in the bioelectrochemical reactors

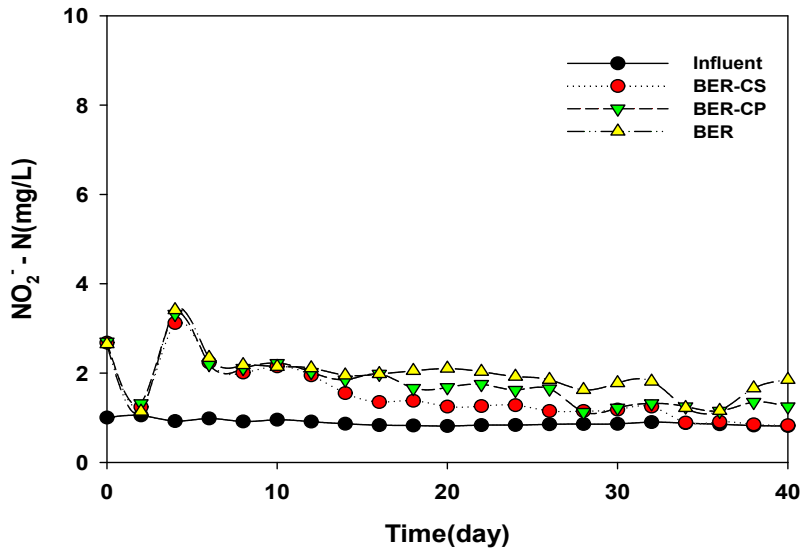


Fig 3.5 Effluent NO₂⁻-N in the bioelectrochemical reactors

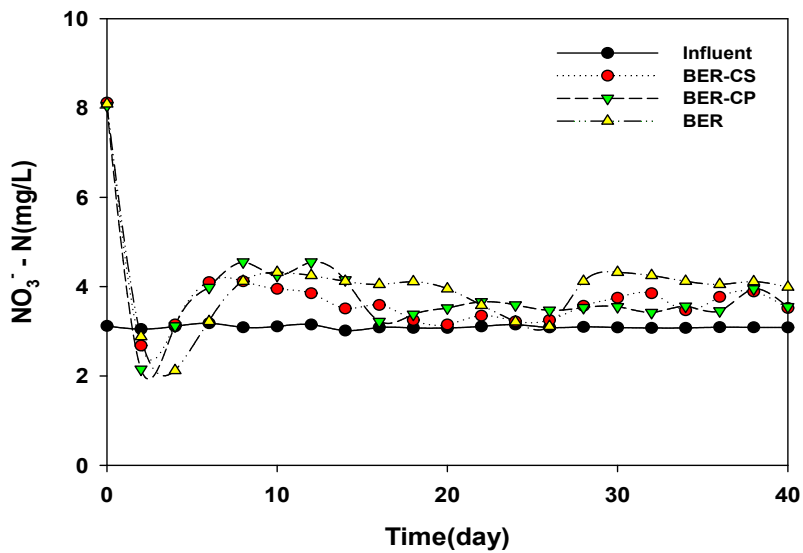
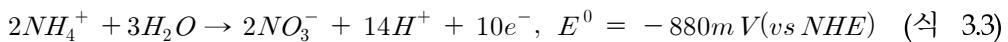
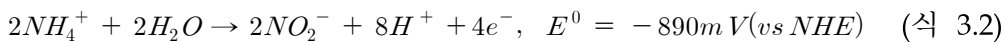
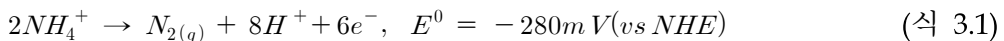


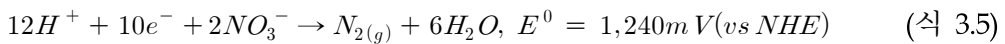
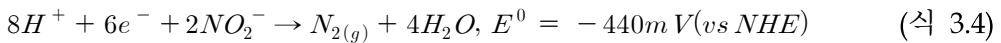
Fig 3.6 Effluent NO₃⁻-N in the bioelectrochemical reactors

생물전기화학 반응조에서 질소가 제거되는 잠재적 경로는 미생물의 세포 동화작용, 기존의 질산화 및 탈질과 산화전극의 암모니아 산화, 아나목스(Anammox) 및 황화물 생성과 관련된 질소 제거와 같은 생물전기화학 반응이다(Ma et al., 2016; Yang et al., 2009; Zhan et al., 2014). 저장도의 폐수를 처리하는 생물전기화학 반응조에서 동화작용에 이용되는 질소량은 상당히 낮을 것이다. 전기활성 미생물의 성장수율은 일반적으로 종래의 생물학적 처리 과정에서 호기성 미생물보다 작다(Wilson and Kim, 2016). 상향류 생물전기화학 반응조의 유입수 DO는 4.0mg/L로 낮게 측정되었으며, 반응조 하부에서 유입되는 DO는 유기물의 산화를 위해 빠르게 소모되어 중속영양 미생물이 질소제거를 위해 이용 가능한 유기물이 제한 된다. 이는 기존의 질산화 및 탈질 과정을 통한 질소제거가 중요하지 않음을 의미한다. 그러나 암모니아성 질소제거는 생물전기화학 반응조의 전도성 물질에 의해 향상되었다(Fig). 이 결과는 전기활성 암모니아 산화 미생물이 생물전기화학 반응조의 질소 제거에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다. 생물전기화학 반응조에서의 혐기성 암모니아 산화반응의 반쪽반응은 다음 식 3.1 및 3.2과 같다(Snoeyink and Jenkins, 1980).

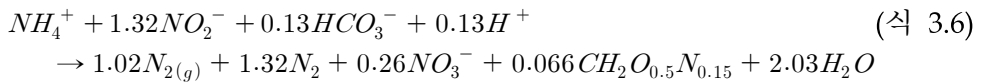


혐기성 암모니아 산화반응의 전위는 음의 값이기 때문에 열역학적으로 비자발적임을 나타낸다. 그러나 생물전기화학 반응조에서 암모니아 산화반응의 전위는 외부 직류전원공급 장치를 사용하여 전극에 인가된 전압에 의해서 양의 값으로 변경될 수 있다. 이는 이전연구 (Zhan et al., 2014; Zhu et al., 2017)에서 보고된 바와 같이 혐기성 암모니아 산화가 생물전기화학 반응조에서 가능하다는 것을 나타낸다. 한편, 암모니아에서 질소가

스로의 산화반응 전위는 아질산염 또는 질산염에서 질소가스로의 반응 전위보다 양의 값이다. 이는 생물전기화학 반응조에서 암모니아성 질소의 일부가 질소가스로 바로 산화되었음을 의미한다(Zhan et al., 2012; Zhan et al., 2014). 그러나 다음 식 3.4와 식 3.5에서와 같이 암모니아에서 산화된 아질산성 질소와 질산성질소는 환원전극에서 질소가스로 환원될 수 있다(Snoeyink and Jenkins, 1980; Su et al., 2012).



아나목스 공정은 암모니아 1.0mol, 아질산성 질소 1.32mol과 중탄산염 0.066mol을 합성하여 질소를 제거하지만, 다음 식 3.6와 같이 0.26 몰의 질산성 질소를 생성한다(Ma et al., 2016; Sabumon, 2008; Yang et al., 2009).



상향류 생물전기화학 반응조에서 유출수의 pH는 약간 감소하였으나 NO₃⁻-N의 농도는 증가하였다(Fig 3.7). 이 결과는 아나목스가 생물전기화학 반응조의 잠재적인 질소 제거 경로가 될 수 있음을 의미한다.

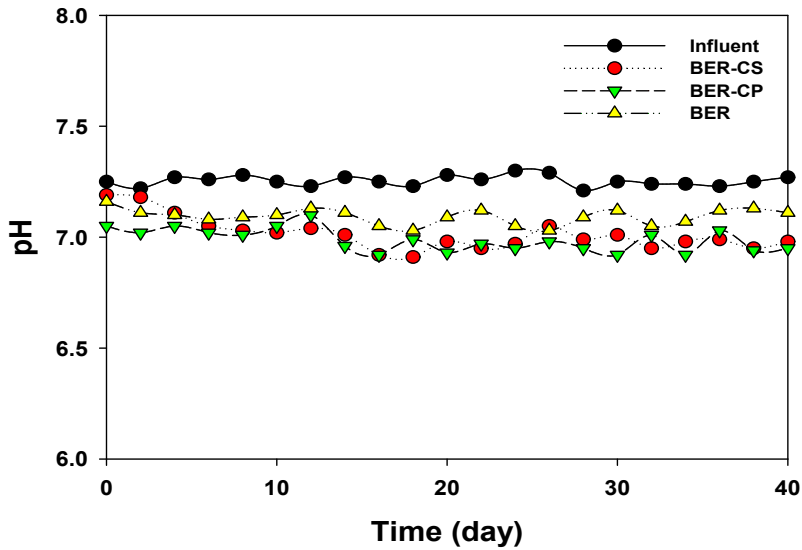
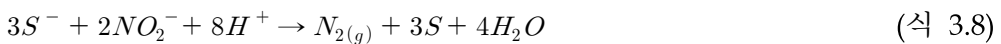
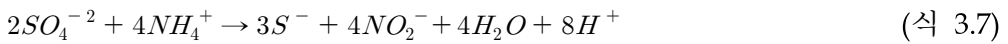


Fig 3.7 Effluent pH in the bioelectrochemical reactors

생물전기화학 반응조에서 암모니아는 전자수용체로 사용되는 황산염에 의해 산화되어 아질산성 질소이온과 황화물을 생성할 수 있다(Sabumon, 2008; Yang et al., 2009). 또한, 아질성 질소는 황화물이 황으로 산화될 때 질소 가스로 환원 될 수 있으며 암모니아는 아나목스에서와 같이 아질성 질소와 결합하여 질소 가스로 산화 될 수 있다.



황생성균(sulfidogenesis)와 관련된 암모니아성 질소제거 반응의 전체 반응식은 다음 식 3.10과 같다.



생물전기화학 반응조에 유입되는 저장도 폐수는 약 33.5mg/L의 황산염을 포함하기 때문에 황생성균과 관련된 암모니아 산화는 생물전기화학 반응조에서 관찰된 질소제거의 또 다른 잠재적인 경로이다(Sabumon, 2008; Yang et al., 2009).

3.3.3 바이오매스의 전기화학적 특징

생물전기화학 반응조의 벌크용액과 분극된 생체전극의 전기화학적 활성은 전도성 물질과의 상관성이 높았다. DPV 결과에서 각 반응조의 벌크용액 산화피크는 0.45V에서 0.028mA으로 측정되어 산화반응은 전도성물질에 의해 큰 영향을 받지 않았다(Fig 3.8a). DPV 그래프의 산화피크는 exoelectrogens 활성을 나타낸다(Saratale et al., 2017; Su et al., 2012). 전도성 시트를 사용한 반응조에서는 환원전위 -0.68V에서 0.165mA와 -0.52V에서 0.136mA 두 개의 환원피크가 나타났다. 그러나 전도성 입자를 사용한 반응조와 전도성 물질을 사용하지 않은 반응조에서는 각각 0.48V에서 0.17mA와 -0.34V에서 0.087mA로 하나의 피크만 나타내었다. DPV 그래프에서 피크의 감소는 exoelectrogens의 산화 환원 반응의 짝인 electrotrophs의 활성을 나타낸다(Saratale et al., 2017). 이 결과는 생물전기화학 반응조의 전도성 물질에 따라 electrotrophs의 미생물 집단에 약간의 차이로 인한 것으로 판단된다(Chen et al., 2014; Yang et al., 2017). 그러나 벌크 용액에 대한 환원피크는 산화피크보다 높게 측정되었다. 이는 벌크 용액에서의 산화 환원 반응

이 exoelectrogens의 산화 활성화에 의해 제어됨을 나타낸다.

EIS 그래프의 Nyquist 플롯에서 벌크 용액에 대한 음 저항은 19Ω 에서 38Ω 범위로 전도성 물질에 의한 영향이 크지 않았다(Fig 3.8b). 그러나 산화전극에 대한 전자전달저항은 163.7Ω 에서 193.0Ω 으로 전도성 시트, 전도성 입자 및 전도성 물질을 갖지 않은 생물전기화학 반응조의 순으로 높게 나타났다(Fig 3.8b). 환원전극의 전자전달저항은 574.4Ω 에서 700.6Ω 까지 다양했으며, 이는 산화전극보다 훨씬 높았다. 이결과는 전극에서의 산화 환원 반응이 산화전극 보다 환원전극의 전자 전달 저항에 의해 제어된다는 것을 나타낸다. 그러나 바이오매스는 전극표면보다 벌크용액에서 더 많이 유지되었기 때문에 유기물질과 질소의 제거는 벌크 용액의 바이오매스 양에 의존하였다(Fig 3.3). 벌크 용액에서의 전기활성 미생물 활성화는 전극 표면의 전기활성 미생물의 활성화보다 유기 물질과 질소의 제거에 더 중요한 역할을 할 가능성이 크다.

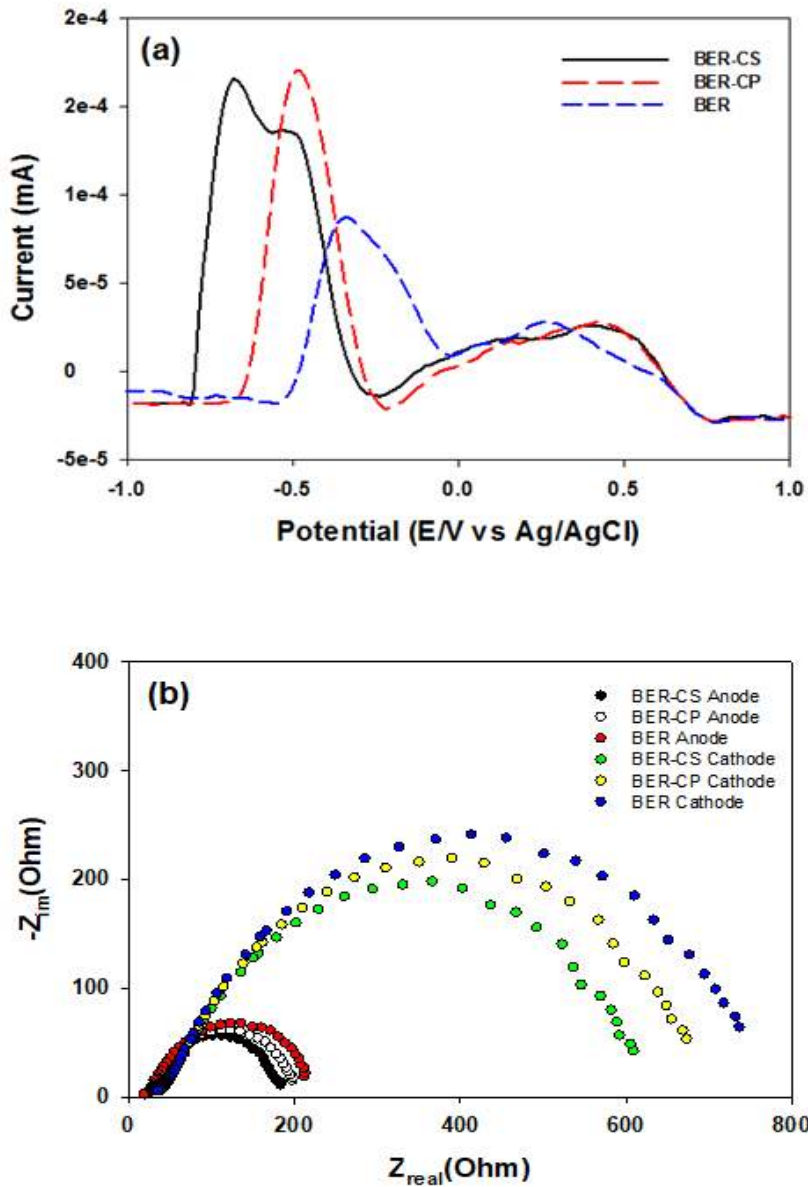


Fig 3.8 (a) Differential pulse voltammogram for the bulk solution, (b) Nyquist plot for the electrodes in the bioelectrochemical reactor

3.3.4 미생물 군집 분석

미생물 군집을 확인해 보면 모든 생물전기화학 반응조에서 벌크 용액의 우점 군은 유사하였지만 각 군의 풍부도(abundance)는 전도성 물질에 따라서 다양했다(Fig 3.9). Class 수준에서 우점 미생물은 *Betaproteobacteria*, *Bacteroidia*, *Deltaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Anaerolineae*, *Flavobacteria* 및 *Clostridia* 순이었다. 그러나 전도성 시트를 사용한 반응조의 *Betaproteobacteria* 풍부도는 31.7%로 전도성 입자(25.7%)를 사용하거나 전도성 물질을 사용하지 않은 반응조(25.5%)보다 높았다. *Bacteroidia* (18.2 %)와 *Deltaproteobacteria* (13.0 %)는 전도성 물질을 사용하지 않은 반응조가 전도성 물질을 사용한 반응조보다 더 높았다. *Alphaproteobacteria*, *Anaerolineae*, *Flavobacteria* 및 *Clostridia*는 전도성 물질을 사용한 반응조에서 상대적으로 높았다. Genus 수준에서 전도성 시트를 사용한 반응조의 우점 미생물은 *Dechloromonas*(15.0%), *Desulfomicrobium*(7.0%), *Flavobacterium*(5.4%), *Zoogloea*(4.0%), *Comamonas*(2.7%), *Methanosaeta*(2.3%) 및 *Thauera*(2.2%)였다. 전도성 입자를 사용한 반응조에서는 *Dechloromonas* (9.7%), *Desulfomicrobium*(4.4%), *Flavobacterium*(2.3%), *Zoogloea*(2.5%), *Comamonas*(1.6%)가 우점이었으며, 전도성 물질이 없는 반응조 경우는 *Dechloromonas*(9.7%), *Desulfomicrobium*(4.4%), *Flavobacterium*(2.3%), *Zoogloea*(2.5%), *Comamonas*(1.6%)가 우점이었다. 이 우점 Genera의 풍부도는 전도성 물질의 형태와 유무의 따라서 차이를 보였으며, 특히 전도성 시트를 사용한 반응조 Genera의 풍부도가 높았다. 미생물의 풍부도는 생물전기화학 반응조에서 유기물 및 질소 제거 경로를 찾는 중요한 역할을 한다. 우점 Genera중에서 *Dechloromonas*, *Thauera*, *Comamonas* 및 *Simplicispira*는 종속 영양 탈질균으로 알려져 있다(Gumaelius et al., 2001; Horn et al., 2005; Scholten et al., 1999; Zhu et al., 2017). 이 Genera는 전도성 시트를 사용한 반응조에서 다른 반응조보다 22% 더 풍부하였다. 따라서 종속 영양 탈질균은 생물전기화학 반응조에서 산소, 아질산성 질소 및 질

산성질소를 전자수용체로 사용하여 유기물 및 질소를 제거하는 것으로 판단된다. Genera 중 하나인 *Flavobacterium*은 환원전극을 이용하는 독립 영양 탈질균이며, *Xanthobacter*는 수소를 이용하여 질소를 고정하는 독립 영양 미생물이다(Wiegel et al., 1978; Tang et al., 2017). 그러나 *Flavobacterium*은 티오황산염과 다이메틸 설파이드를 산화한다(Wiegel et al., 1978). *Flavobacterium*은 전도성 시트를 사용한 반응조 벌크용액에서 5.4%로 높았으나 전도성 입자를 사용한 반응조 및 전도성 물질을 사용하지 않은 반응조 벌크용액에서는 각각 2.3% 및 4.9%이었다. 전도성 시트를 사용한 반응조 벌크용액에서 황산염 환원 미생물인 *Desulfomicrobium*의 풍부도가 7.0%로 다른 반응조보다 높았다(Genthner et al., 1997). 따라서 황산염 환원 미생물과 독립 영양 탈질균과의 공존에 의한 황 생성은 생물전기화학 반응조의 질소제거에 관여한 것으로 판단된다. 암모니아 산화 미생물인 *Nitrosomonas*, 암모니아 동화 미생물인 *Stenotrophomonas* 및 황을 이용하는 탈질균인 *Thiobacillus denitrificans*와 같은 미생물이 적은 풍부도지만 모든 생물전기화학 반응조에서 관찰이 되었다. 그러나 *Candidatus*와 와 같은 아나목스에 관여하는 미생물은 관찰되지 않았다(Ma et al., 2016; Shao et al., 2010). 생물전기화학 반응조에서 가능한 질소 제거 경로는 혐기성 암모니아 산화와 벌크용액과 분극 전극 표면의 전기활성미생물에 의한 아나목스와 유사한 경로이다. 전도성 시트, 전도성 입자 및 전도성 물질을 사용하지 않은 반응조 벌크용액에서의 *Zoogloea*의 풍부도는 바이오매스 함량과 같은 순서인 4.1%, 2.5% 및 2.0%이었다. *Zoogloea*는 세포 밖으로 다당류를 분비하여 플록(floc)을 형성하는 미생물이기 때문에 *Zoogloea*가 전도성 물질을 사용한 반응조의 바이오매스 보유량을 높이는데 기여한 것으로 사료된다.

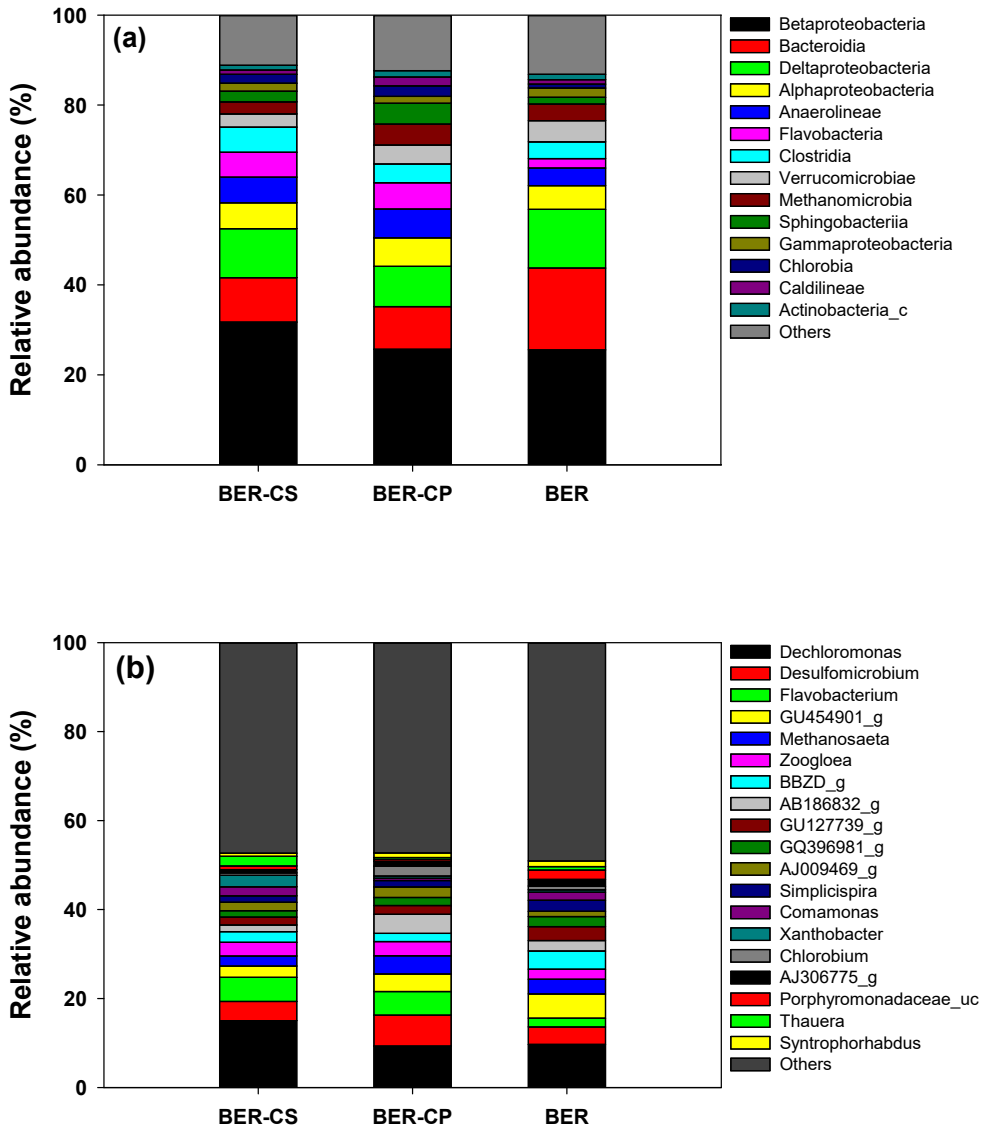


Fig 3.9 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) class and (b) genus in the bulk solution of the bioelectrochemical reactor

3.4 결론

상향류 생물전기화학 반응조는 미생물 친화도를 개선함으로써 저강도 폐수의 유기물 및 질소를 더 처리할 수 있다. 생물전기화학 반응조에서 전도성 시트 또는 전도성 입자와 같은 전도성 물질은 미생물 군집에서 우점종의 풍부도를 변화시킴으로써 바이오매스의 보존을 증가시키고 직접종간전자전달을 활성화시킨다. 생물전기화학 반응조에 전도성 물질을 사용하면 전도성 물질을 사용하지 않은 경우보다 유기물제거 효율은 39.63%, 질소는 제거 효율은 44.39%가 증가하였다. 생물전기화학반응조에서의 가능한 질소 제거의 경로는 혐기성 암모니아 산화와 벌크용액과 분극 전극 표면의 전기활성미생물에 의한 아나모ك스와 유사한 경로이다.

제 4 장 생물전기화학 고도처리에서 전도성 입자의 물리적 특성에 따른 영향

4.1 연구 목적

본 연구에서는 상향류 생물전기화학 반응조에 첨가된 전도성 입자의 물리적 특성에 따라서 저항도 하수의 3차 처리에 미치는 영향을 평가하였으며, 데이터마이닝 기법으로 주요 영향 인자를 조사하였다. 또한, 전도성 입자의 물리적 특성에 따라서 반응조내의 우점 미생물군의 성장 및 바이오매스 보유량에 미치는 영향에 대하여 평가하였다.

4.2 실험 및 방법

4.2.1 전극과 전도성 입자

전극은 흑연섬유직물(GFF, Samjung C&C Co., Korea, Kyeong, South Korea, 5cm × 20cm) 표면에 다중벽탄소나노튜브(MWCNT, Carbon Nano-material Technology Co., Ltd., Pohang, South Korea)와 니켈화합물을 전기영동법으로 고정하여 제작하였다(Feng et al., 2016). 이때 전기영동에 사용된 전해질 용액은 초순수 1L에 1g의 MWCNT와 0.5g의 polyethyleneimine(Thermo Fisher Scientific Inc., NJ, USA) 및 0.25g의 nikel chloride(NiCl₂, Sigma-AldrichCo.,MO,USA)를 혼합하고 초음파로 30분간 분산시켜 준비하였다. 작업전극으로 GFF를 사용하였으며, 대전극은 스테인레스 망을 사용하였다. 작업전극과 대전극을 평행하게 설치한 후

두 전극 사이에 30V의 전압을 인가하여 GFF 표면에 MWCNT와 니켈을 30분 동안 부착시켰으며, 150°C에서 열처리를 하여 완성하였다.

미생물 고정화와 전도성 입자로 사용된 활성탄은 직경이 약 5~8mm이 었으며, 펜톤산화법(Fenton oxidation) 또는 극초단파법(Microwave)으로 전처리하였다. 펜톤산화법은 H₂O₂ 용액 7,500mg/L를 준비한 뒤 제 1철 이온을 주입하여 H₂O₂/Fe²⁺의 비가 75가 되도록 조정하여 펜톤산화용액 을 준비하였다. 준비된 펜톤산화용액에 활성탄 5g을 투입하여 250rpm으 로 1시간 동안 산화시켜 완성하였다. 극초단파법의 경우 초순수 1L에 활 성탄 5g과 nikel pyrite 0.5g을 주입한 후 전자레인지에서 1시간 동안 반 응시켜 완성하였다.

4.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건

본 실험을 위한 상향류 생물 반응조는 아크릴 수지로 제작하였다(Fig 4.1). 유입수는 상향류 반응조 하부 측벽에 위치하도록 하였고, 유출수의 배출구는 상부 측벽에 위치하도록 하였다. 상향류 반응조 바닥면에 다공판을 설치하여 유입수가 고르게 분배하도록 하였으며, 유출수의 월류를 막기 위하여 상단벽에 월류구가 위치하도록 하였다. 산화전극과 환원전극 사이에 부직포를 삽입하여 SEAs(Separator and electrode assemblies)를 제조한 후 3개의 SEAs를 반응조에 3cm의 간격을 갖도록 수직으로 배치하여 상향류 생물전기화학 반응조를 완성하였다. 펜톤산화법 및 극초단파법으로 전처리된 활성탄 입자는 SEAs간의 간격에 설치하였으며, 펜톤산화법으로 전처리된 활성탄 입자를 충전한 반응조(BER-FO), 극초단파법으로 전처리된 활성탄 입자를 충전한 반응조(BER-MW)를 준비하였다. 또 다른 반응조(BER-AC)에는 일반 활성탄을 충전하여 준비하였다. 활성탄을 충전하지 않은 생물전기화학 반응조는 대조구(Control)로 사용하였다. 상향류 생물전기화학 반응조에 설치한 SEAs의 전극은 티타늄 도선으로 외부 직류 전원공급 장치(DP 30-03TP Toyotech, Japan)에 연결하였다.

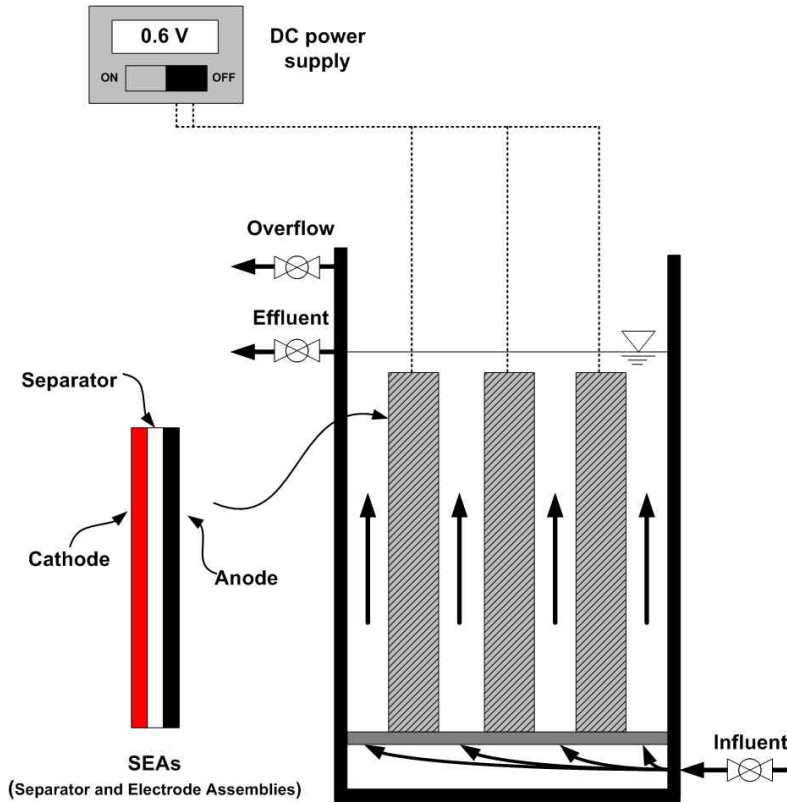


Fig 4.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor

식중 슬러지는 하수 슬러지 혐기성 소화조(S WWTP, B-metrocity, Korea)에서 혐기성 소화 슬러지를 채취하여 1mm 체로 체거름 하였다. 식중 슬러지는 저장도 인공폐수와 5:5의 비율로 혼합하여 반응조를 채웠다. 저장도 인공폐수는 수돗물 1L에 CH_3COONa 0.051g, KCl 0.005g, NH_3Cl 0.061g, NaNO_2 0.002g, KNO_3 0.023g을 용해시켜 합성하였다. 인공폐수의 초기 성상은 COD 40mg/L, T-N 20mg/L 였으며, 암모니아성 질소, 아질산성질소, 질산성 질소의 비율은 각각 80%, 2%, 18%였다. 용존 산소 및 황산염의 초기 농도는 약 4.0mg/L 및 33.5mg/L이었으며, 저장도 합성폐수는 방류수 수질기준과 국내 하폐수처리장에서 배출되는 방류수의 성상

에 기반으로 합성되었다(유순주 등, 2013). 생물전기화학 반응조는 전극 사이에 0.6V의 전압을 인가하였으며, 수리학적체류시간은(HRT, Hydraulic Retention Time) 60분이 되도록 유입수를 공급하여 운전하였다.

4.2.3 분석 및 계산

활성탄의 표면 형태는 15kV에서 작동하는 주사 전자 현미경(SEM, Hitachi S-4200, Japan)을 이용하여 측정되었다. 활성탄 표면의 원소 분석을 위해 에너지분산형 X선 분광계(EDX assembled S-4200 Hitachi)를 이용하였다. 활성탄의 음 저항은 Hall 측정 시스템(Ecopia HMS-3000, USA)을 사용하여 측정하였다. 상향류 생물전기화학 반응조를 운전 중에 COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 및 휘발성 고형물(VS)을 포함한 유입수 및 유출수의 성상을 모니터링 하였다. COD는 Standard Methods(2005)의 closed reflux 방법으로 측정 하였으며, $\text{NH}_4\text{-N}$ 은 Phenate 방법으로 분석하였고 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 과 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 은 각각 자외선 분광 광도법과 비색법으로 얻었다. VS는 Standards Methods(2005)에 따라 측정되었고, 반응조의 바이오매스 함량을 추정하는데 사용되었다.

정상 상태에서의 생물전기화학 반응조내의 전극 및 벌크 용액의 미생물에 대한 전기화학적 특성을 살펴보기 위하여 4일에 한번 전기화학 장비(Zive SP1 WonATech)를 사용하여 EIS(electrochemical impedance spectroscopy)실험을 수행 하였다. EIS 실험에 Ag/AgCl 전극(BAS, RE-1B, Japan)을 기준 전극으로 사용하였으며, 대전극으로 티타늄선(직경 30cm, 직경1mm)을 사용하였다. 전위파 신호는 25mV, 주파수 범위는 100 kHz에서 10 MHz으로 설정하였다. 벌크 용액에서의 임피던스 응답은 용액 저항, 미생물 세포의 임피던스 및 전극 표면의 임피던스를 가진 여러 등가 회로에 적용하여 최상의 모델을 찾았다. SMART Manger 소프트웨어 (Zive Lap WonA Tech, co., Seoul, Korea)는 EIS 결과를 적합하기 위해 사용되었다. 유출수의 수질에 영향을 미치는 생물전기화학적 요소는

결정 트리 (Weka program, version 3.8)에 의해 추정되었다.

4.2.4 미생물 분석

상향류 생물전기화학 반응조의 16S rRNA 미생물 군집을 조사하기 위하여 실험 종료 후 벌크용액에서 부유된 슬러지를 대상으로 MO BIO Power Soil DNA Kit를 이용하여 Microbiome Taxonomic Profiling을 수행하였다. DNA를 추출 후 Kit의 절차에 따라 수행하였다. Fusion primer를 사용하여 genomic DNA에서 미생물 16S rRNA 유전자의 가변영역 (V3,V4)을 증폭시켰다. 16S rRNA는 Metagenomic DNA로부터 증폭되어 MiSeq Personal Sequencer(Illumina, San Diego, CA, USA)에서 sequencing을 위해 추출되었다. 증폭, sequencing library의 구축 및 생물정보학 분석은 이전의 연구에서 설명대로 수행되었다(Chun et al., 2010). 키메라(chimera)를 확인하고 확장된 EzTaxon database를 사용하여 판독 값의 taxonomical assignments를 완료하였다(<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>). 미생물 군집과 통계적인 taxonomical assignments는 OTUs(operational taxonomic units)를 통해 얻어졌다. 미생물의 종(species) 수준 분류와 같은 포괄적인 생물정보학 분석, 클러스터 분석, 미생물의 기원 추적, 샘플 간의 다양성에 대한 빠른 단일 분석, 계층적 클러스터링 및 종 다양성에 대한 각종 지표는 CLcommunity software(Chunlab, Inc., Seoul, Republic of Korea)에 의해 수행되었다.

4.3 결과 및 고찰

4.3.1 활성탄의 표면 특성

활성탄 표면의 형태는 SEM image(Fig 4.1)에서와 같이 펜톤산화 및 극초단파 처리에 따라서 변경되었다. 펜톤산화 처리한 활성탄은 벌집과 같은 모양의 다공성 형태로 변했으나, 극초단파로 처리한 활성탄의 표면은 일반 활성탄보다 약간 더 깨끗했다. 이는 활성탄을 펜톤산화 처리하면 다공성을 상당히 증가시킬 수 있음을 나타낸다. 활성탄의 높은 다공성은 일반적으로 생물 반응조에서 더 높은 비표면적을 제공하여 바이오매스를 더 보유하도록 기여한다(Ng et al., 2004). 생물 반응조에서 다공성이 높은 활성탄은 고농축 기질을 흡착하고 기질이 고갈되었을 때 천천히 방출함으로써 기질이나 영양소 변동을 완충하는 높은 용량을 갖게 된다.

Table 4.1은 활성탄 표면의 원소 조성 및 전도도를 나타낸다. 일반 활성탄의 표면은 주로 탄소와 산소로 이루어졌으며, 전도도는 1.64~2.22S/cm에 불과했다. 그러나 펜톤산화처리는 활성탄 표면의 Fe 함량을 4.7%로 증가시켰으며, 전도도를 8.33~10.0S/cm로 향상시켰다. 극초단파 처리된 활성탄 표면에서의 Ni 함량은 15.92%로 증가하였으며 전도도는 9.09~12.5S/cm로 펜톤 산화보다 약간 높았다. 전도성 물질은 전기활성 미생물을 표면에 풍부하게 하고, 생물전기화학 대사를 위해 DIET를 활성화시킨다(Kato et al., 2012; Shrestha and Rotaru, 2014; Yang et al., 2017). 전도성 물질의 전도성은 DIET에 영향을 미치는 요인 중 하나일 가능성이 높다. 펜톤산화 또는 극초단파 처리로 인하여 개선된 활성탄의 전도도는 DIET를 향상시키고 3차 처리된 유출수의 안정적이고 높은 수질에 기여할 것으로 판단되었다(Choi et al., 2018).

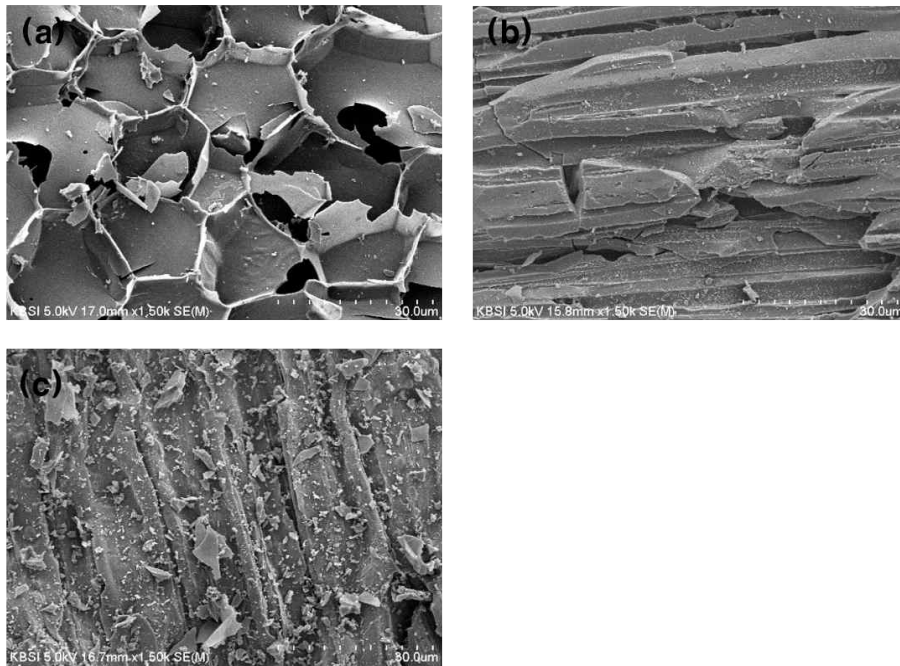


Fig 4.2 SEM images of the activated carbons surfaces prepared by the fenton oxidation (a), microwave (b), ordinary

Table 4.1 EDX data and conductivity for Activated carbons

Types	Weight(%)							Conductivity (S/cm)
	C	O	S	K	Fe	Ni	Total	
Activated carbon	85.26	14.74	-	-	-	-	100	1.64~2.22
Fenton oxidation (Fe)	74.32	18.00	1.70	1.25	4.73	-	100	8.33~10.0
Microwave (Ni)	67.14	17.76	-	1.18	-	13.92	100	9.09~12.5

4.3.2 유기물의 생물전기화학적 제거

상향류 생물전기화학 반응조의 유출수의 유기물은 운전 시간이 경과함에 따라서 급격히 감소하였다. 상향류 생물전기화학 반응조의 유입 COD는 약 40mg/L로 정상 운전상태에서의 유출수 COD는 활성탄의 물리적 성질에 따라 1.61~3.77mg/L 범위로 낮게 측정되었다(Fig 4.2). 그러나 상향류 생물전기화학 반응조에서의 유기물 제거는 활성탄에 의한 영향이 크지 않았다. 이는 2차 처리수에 포함된 유기물이 상향류 생물전기화학 반응조만으로도 효과적으로 3차 처리를 할 수 있음을 의미하며, 이전의 연구와도 일치한다(Song et al., 2015, Choi et al., 2018). 일반적으로 유기물은 활성 슬러지 공정에서 쉽게 제거될 수 있으나 잔류 유기물의 농도는 호기성 종속 영양균의 기질 친화도에 의해 제한된다. 활성 슬러지 공정에서의 호기성 종속 영양균의 반 포화 상수는 20~60mgBOD/L 범위이다(Tchobanoglous et al., 2014). 이는 호기성 종속 영양균의 기질 친화도가 너무 낮아 2차 처리수에 포함된 유기물을 더 처리할 수 없음을 나타낸다(Arnaldos et al., 2015). 화학 반응의 평형은 일반적으로 다음 식(식 4.1)과 같이 자유 에너지 변화(ΔG)에 의해 추정된다(Liu., 2006).

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (\text{식 4.1})$$

여기서 K는 평형 상수이고 ΔG 는 반응물의 극성과 쌍극자 모멘트에 따른 엔탈피와 엔트로피의 함수이다(Wisseroth and Braune, 1977). 분극된 전극의 전위 또는 전극 사이의 전기장은 영구 쌍극자를 지향함으로써 시스템의 엔탈피와 엔트로피를 변화시킨다(Wisseroth and Braune, 1977). 따라서 반응의 활성화 에너지는 열역학적으로 유리하게 감소된다(Wisseroth and Braune, 1977; Vincent et al., 1996; Pivrikas et al., 2011). 이는 분극

된 전극이나 전기장이 미생물의 기질 친화도를 향상시킴으로써 2차 처리수의 잔류 유기물을 상향류 생물전기화학 반응조에서 더 연마 할 수 있음을 의미한다(Metcalf and Eddy, 2014).

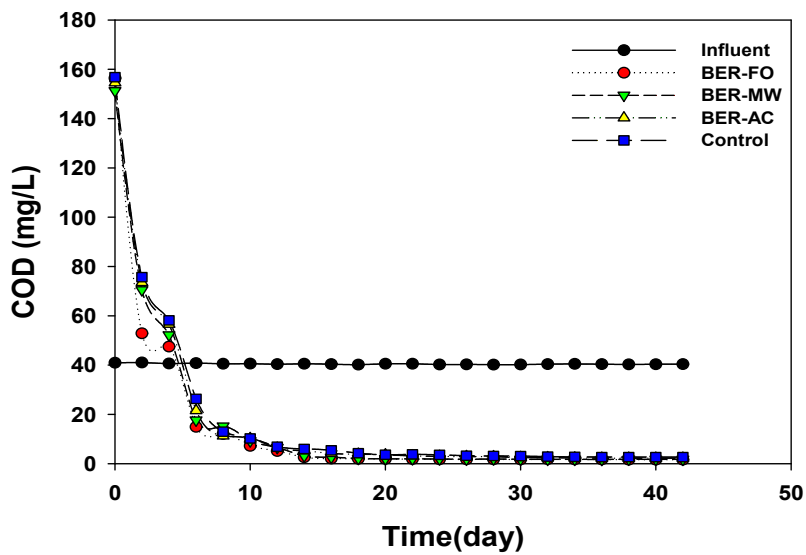


Fig 4.3 Profiles of the effluent COD in the upflow bioelectrochemical reactor

4.3.2 생물전기화학적 질소 제거

상향류 생물전기화학 반응조의 유출수 T-N의 농도는 운전 후 지속적으로 감소하여, 정상 운전상태에서 유출수의 T-N 농도는 활성탄의 물리적 성질에 따라 4.45~11.77mg/L의 범위로 감소하였다(Fig 4.3). 이는 2차 처리수의 질소를 상향류 생물전기화학 반응조에서 더 처리될 수 있음을 나타낸다. 그러나 T-N의 제거는 활성탄의 물리적 성질에 따라서 효율이 달라졌으며, 정상 상태가 되기까지 걸리는 시간이 유기물 제거보다 더 필요했다. 이결과는 질소제거와 관련된 미생물이 유기물을 대사하는 종속 영양균보다 서서히 성장하는 독립 영양균임을 반영한다. 정상 운전상태에서 BER-FO 유출수의 T-N 농도는 $4.49 \pm 0.06 \text{mg/L}$ 로 다른 반응조보다 낮았다. 생물전기화학 반응조에서 가능한 질소제거 경로는 i) 미생물세포의 동화작용, ii) 독립 영양 질산화균 및 종속 영양 탈질균, 그리고 iii) DIET를 통한 생물전기화학적 질소제거이다(Ma et al., 2016; Song et al., 2018; Yang et al., 2009). 일반적으로 질소가 동화작용을 통해 바이오매스로 되는 과정은 생물학적 과정에서 작은 부분을 차지하며, 다른 부분은 독립 영양 질산화균 및 종속 영양 탈질균에 의해 제거될 것이다. 그러나 유입수의 COD 및 DO는 각각 약 40mg/L 및 4mg/L이었으며, 유입수는 상향류 생물전기화학 반응조의 하부로부터 공급된다. 따라서 독립 영양 질산화균과 종속 영양균 사이에 DO로 인한 경쟁이 있을 수 있다. 일반적으로 종속 영양균의 대사활동은 독립 영양균 보다 높기 때문에 생물전기화학 반응조 하부에서 유입된 DO는 종속 영양균의 유기물 대사를 위해 우선적으로 소비되었을 것이다. 또한, 유입된 유기물이 종속 영양균에 의해 반응조 하단에서 소비되고 탈질반응을 위한 탄소원은 상향류 생물전기화학 반응조의 중단 및 상단에서 고갈된다. 따라서 질산화 및 탈질반응이 상향류 생물전기화학 반응조에서 질소제거를 위한 주요 기작으로 보기 어렵다.

최근 혐기성 조건에서 질소를 제거하는 아나목스와 같은 흥미로운 기작

이 생물전기화학 반응조에서도 관찰되었다(Joicy et al., 2019; Song et al., 2018). 암모니아 산화 전자방출균(AOE, Ammonium oxidizing exoelectrogens)과 탈질 전자흡수균(DNE, Denitrifying electrotrophs)을 포함한 질소 제거를 위한 전기활성미생물은 분극된 전극에 의해 암모니아성 질소 및 아질산성질소를 함유하는 배지에서 풍부해졌다(Joicy et al., 2018; Song et al., 2018). 혐기성 생물전기화학적 반응조의 암모니아성 질소와 질산성질소는 AOE와 DNE 사이의 DIET에 의해 동시에 제거될 수 있다(Joicy et al., 2018; Song et al., 2018). 따라서 전자수용체와 전자공여체에 대한 전자 균형을 고려하면 AOE와 DNE 사이의 DIET에 의한 질소 제거가 상향류 생물전기화학 반응조의 주요 기작 중 하나인 것으로 판단된다.

BER-FO는 42일 동안 연속 운전하였으나, 유출수 T-N의 농도는 더 이상 개선되지 않았다. 유출수 T-N에서 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 과 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 의 비율은 각각 34% 및 46%로 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 보다 높았다(Fig 4.3). BER-FO의 T-N 제거는 AOE 및 DNE의 바이오매스 양에 따라서 활동이 제한된 것으로 판단된다(Choi et al., 2018). 정상상태에서 BER-FO의 바이오매스량은 3.86gVS/L 로 BER-MW보다 높았다(Fig 4.4). 이는 SEM image에서 벌집모양과 같은 형상을 갖는 다공성 활성탄이 BER-FO의 바이오매스 보유량을 증가시켜 T-N제거를 개선한 것으로 판단된다.

정상상태의 BER-MW 유출수의 T-N 농도는 $6.09\pm 0.11\text{mg/L}$ 이었으며, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 및 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 는 $2.52\pm 0.14\text{mg/L}$ 및 $2.47\pm 0.28\text{mg/L}$ 이었다(Fig 4.3). 이 결과는 BER-MW에서의 T-N 제거가 BER-FO와 같이 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 및 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 에 의해 제한된다는 것을 나타낸다. BER-MW의 바이오매스는 3.24gVS/L 으로 BER-FO보다 적었으며, SEM image(Fig 4.1)에서와 같이 BER-MW에 설치한 활성탄의 다공성은 극초단파 처리에 의해 증가하지 않았다. 이와 같은 결과는 활성탄의 다공성이 전기활성 미생물의 바이오매스 보유량을 증가시키고, 바이오매스 보유량이 생물전기화학 반응조의 T-N 제거에 관여함을 시사한다. 흥미롭게도 BER-MW의 바이오매스 보유량은 BER-AC와 비슷하였으나 T-N의 제거는 BER-MW가 더 높았다(Fig 4.3). 이 결과는 극초단파 처리에 의한 니켈 함량과 활성탄의 전도도를 증가로 인한 영향으로 판단된다(Table 4.1). 전도성 물질은 생물전기화학 반응기에서 전기

활성 미생물들 사이의 DIET를 위한 도선 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다(18; Sydow et al., 2014). 전도성 물질을 통한 DIET는 i)미생물 세포 외막의 전도성 공동 인자를 통한 전자 전달에 필요한 활성화 과전압, ii) 전도성 물질의 오믹 저항, 및 iii)분극 과전압에 의해 제한된다(Baek 외., 2018, Zhang 외., 2018, Lee 2018). 전자 전달은 니켈에 의해 촉매되거나 전도성의 증가가 전기활성 미생물들 사이의 질소 제거를 위한 DIET에 기여한 것으로 보인다. 예상한 바와 같이, 대조군에서의 T-N 제거는 활성탄을 이용한 상향류 생물전기화학 반응조보다 현저히 낮았다(Fig 4.3). 분극된 전극은 DIET를 통해 질소 제거에 관여하는 AOE 및 DNE의 성장을 증가시키고, 활성탄의 다공성은 바이오매스 보유량을 증가시켰을 가능성이 크다. 이는 질소제거를 위한 DIET가 전기활성 미생물의 바이오매스와 활성탄의 전도성에 의존한다는 것을 의미한다.

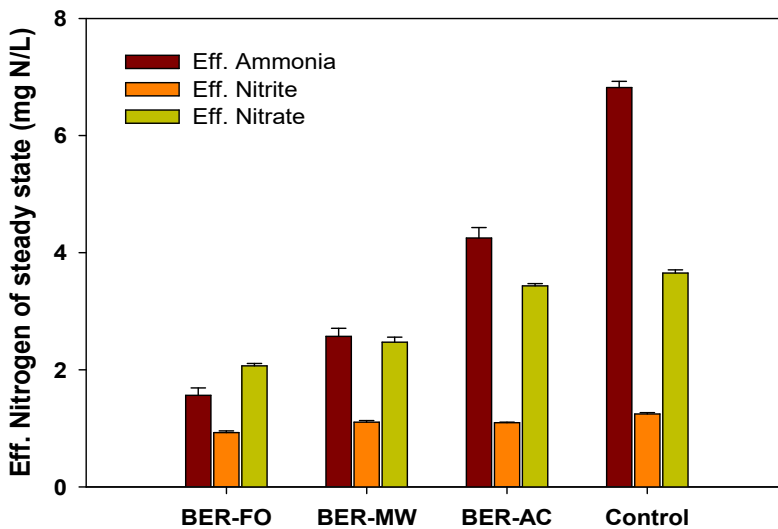


Fig 4.4 Effluent nitrogen of steady state in the bioelectrochemical reactor

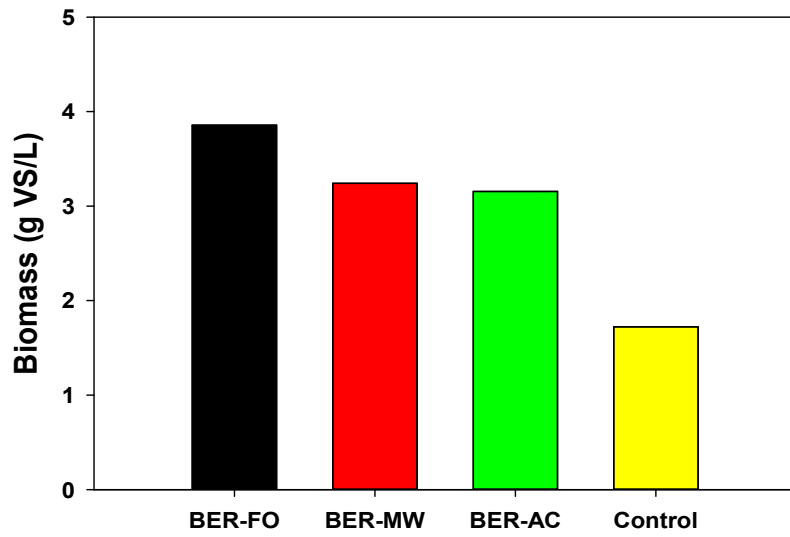


Fig 4.5 Profiles of the biomass concentrations in the upflow bioelectrochemical reactor

4.3.3 3차 처리를 위한 생물전기화학적 영향 인자 마이닝

분극된 전극사이의 벌크용액에서 측정된 EIS 결과를 피팅(Fitting)하여 Randle 등가회로 모델과 유사한 등가회로를 도출하였다. 이 회로는 i)용액저항(R_s), ii)직렬로 연결된 미생물 세포 표면에서의 전자전달저항(R_{ct})과 Warburg 임피던스 회로와 병렬로 연결된 constant phase element(CPE)로 구성 되어있다(Fig 4.5).

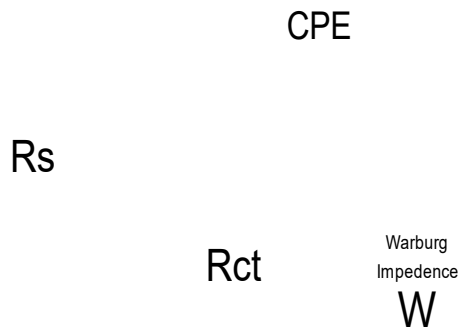


Fig 4.6 Equivalent circuit for the upflow bioelectrochemical reactor

미생물의 전자전달저항을 뜻하는 Nyquist plot의 half cycle 직경은 생물전기화학 반응조에서의 운전 시간에 따라서 감소하였다(Fig 4.6). 이는 운전시간이 경과함에 따라서 분극 전극 사이의 공간에 전기활성미생물이 더 풍부해졌을 가능성을 나타낸다. 용액저항과 전자전달저항은 BER-FO에서 가장 낮았으며, BER-MW, BER-AC, 대조구 순이었다. 이는 BER-FO에서 활성탄의 높은 다공성이 전기활성 바이오매스를 증가시킨다는 것을 입증한다. 또한, BER-FO에서 증가된 전기활성 바이오매스는 용액의 전기전도도를 증가시켜 용액저항이 감소하였을 가능성이 높다.

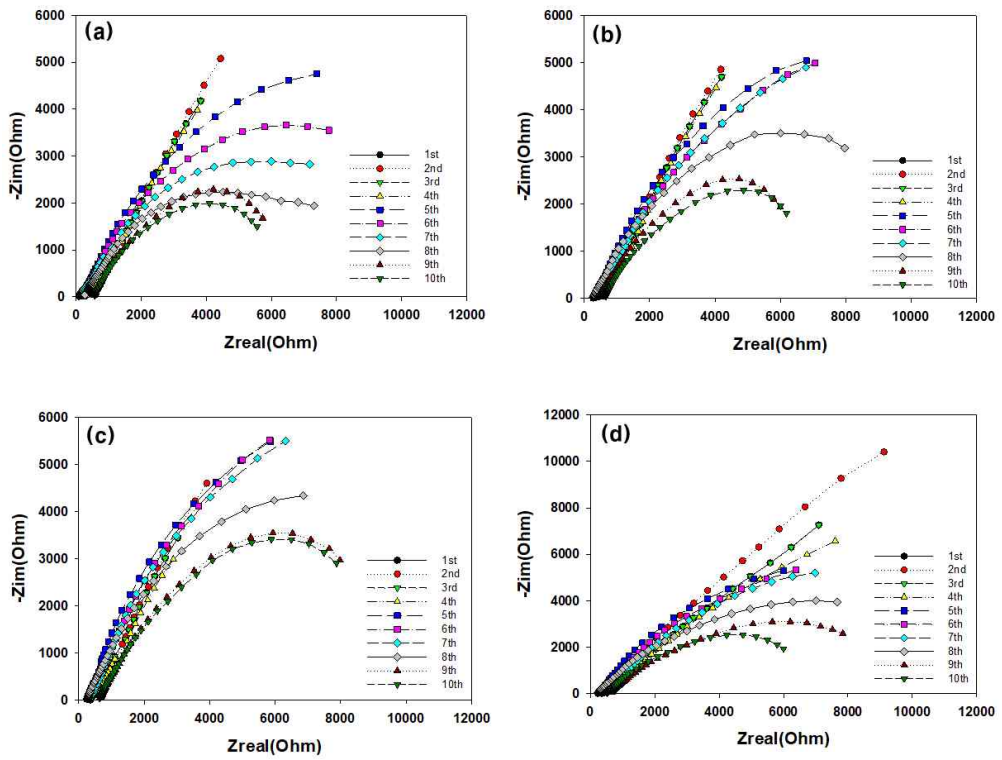


Fig. 4.7 Nyquist plot for the bulk solution in (a) BER-F, (b) BER-M, (c) BER-A, and (d) Control in the bioelectrochemical reactor

EIS Data에서 얻은 저항들이 각 반응조 수질에 어떠한 영향을 미치는지 살펴보기 위하여 의사결정나무를 수행하였다(Fig 4.7). COD의 경우 Rct가 16553보다 적을 때 또는 Rct가 16553보다 높으나 Rs가 353보다 적을 때 1.76~3.61 mg/L로 낮은 농도를 보였다. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 과 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 은 Rs가 276보다 낮거나 Rs가 276보다 크거나 같으며 Rct가 8269보다 낮을 때 2.81~4.85mg/L 및 2.05~2.88mg/L의 낮은 농도를 보였다. 이는 상향류 생물전기화학 반응조에서 전자전달저항과 용액저항이 유기물 및 질소제거에 크게 관여함을 의미한다. 따라서 높은 전도성 물질을 사용하여 전기활성 바이오매스를 증가시키면 전기활성 미생물간의 DIET가 더 활성화되어 전자전달 저항과 용액저항을 낮춰 유기물 및 질소제거 효율이 증가시킬 수 있음을 나타낸다.

CPE는 전극의 거칠고 복잡한 모양으로 인하여 형성되는 이중층 커패시턴스를 나타내기 위해 사용되며 Warburg impedance는 이중층으로 인한 확산저항으로 전극표면 위에 반응생성물이 덮여 있거나, 전해질 이온이 흡착 및 코팅이 되어 있는 경우에 주로 발생되며 전극표면에 미생물에 의해 형성된 막도 같은 효과를 나타낸다(Yang and Li., 2005, Kim et al., 2011, Kim et al., 2009). 그러나 EIS 결과에서 CPE와 Warburg impedance는 Rct 및 Rs보다 상당히 낮은 값으로 측정되어 상향류 생물전기화학 반응조의 유기물 및 질소제거 효율에 미치는 영향은 상당히 적을 가능성이 높다.

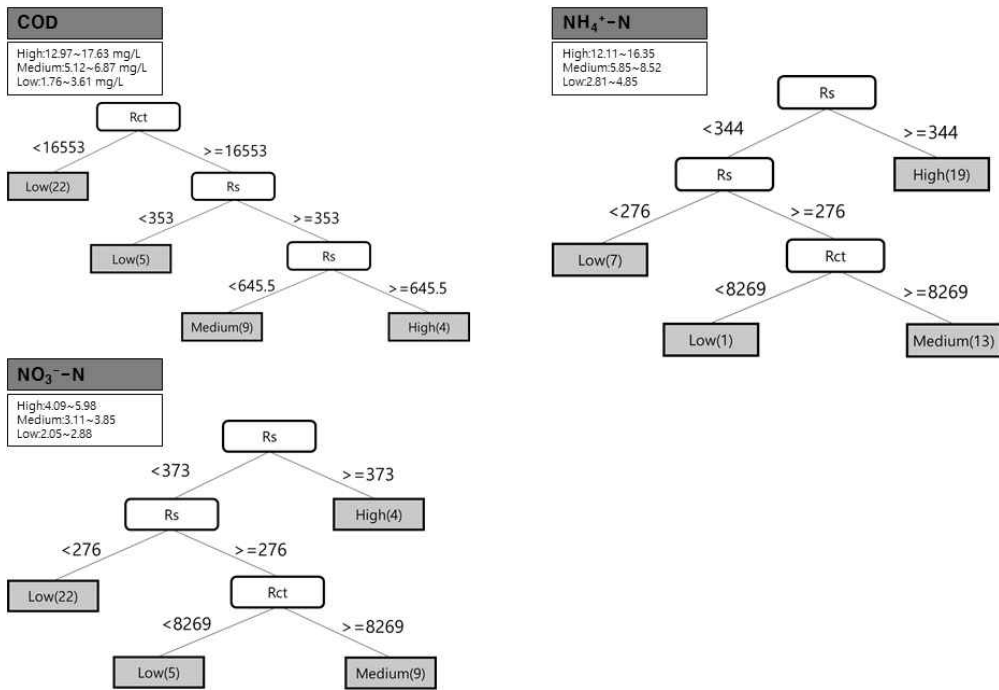


Fig 4.8 Decision tree for water quality in the bioelectrochemical reactor

4.3.4 미생물 군집 분석

미생물 군집을 확인해 보면 모든 생물전기화학 반응조에서 벌크 용액의 우점 군은 유사하였지만 각 군의 풍부도는 활성탄의 물리적 특성에 따라서 다양했다(Fig 4.8). 모든 생물전기화학 반응에서 Phylum 수준의 우점 군은 *Proteobacteria*였으며, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Chlorobi*순으로 우점이었다. BER-FO(61.01%), BER-MW(54.23%) 및 BER-AC(50.50%)의 *Proteobacteria*의 풍부도가 대조군(25.15%)보다 높았다. 이는 생물전기화학 반응조의 활성탄을 통해 DIET에 관여하는 미생물 군이 *Proteobacteria*에 속한다는 것을 나타낸다. Phylum에 속하는 *Chlorobi*의 경우 BER-AC(12.57%)와 Control(18.99%)의 풍부도가 BER-FO(2.96%)와 BER-MW (0.75%)보다 상당히 높았다. *Chloribi*에 속하는 미생물 군의 성장이 DIET에 관여하는 활성탄의 전도도에 영향을 받았을 가능성이 있다.

Genus 수준에서 BER-FO의 우점 군은 *Thauera*(18.31%), *Dechloromonas* (10.34%) 및 *Zoogloea*(6.46%)였으나, BER-MW에서는 *Dechloromonas*(28.46%)가 *Thauera*(1.73%)보다 풍부했다. 이 결과는 *Thauera*가 높은 다공성과 전도성을 가진 활성탄을 이용한 생물전기화학 반응조에서 쉽게 농축된다는 것을 나타낸다. BER-FO와 BER-MW에 풍부한 *Thauera*와 *Dechloromonas*는 DNE로 알려져 있다(Scholten et al., 1999; Zhu et al., 2017). 이는 *Thauera*와 *Dechloromonas*를 포함한 DNE가 BER-FO와 BER-MW에서 유기물과 질소 제거에 관여한다는 것을 알려준다. BER-AC에서는 *AB186832_g*(13.54%), *Thauera*(6.79%) 및 *Chlorobaculum*(6.47%)이 풍부했으며, *Dechloromonas*(6.13%)의 풍부도는 BER-FO 및 BER-MW보다 적었다. 그러나 대조구의 우점군은 *Chlorobaculum*(16.75%), *AB186832_g*(4.07%), *BBZD_g* (3.76%)로 활성탄을 사용한 생물전기화학 반응조와는 다르게 측정되었다. *Chlorobaculum*은 methyl-group 작용기를 가진 표면에 성장하는 exoelectrogens로 알려져 있다(Guo et al., 2013). 따라서, *Thauera* 및 *Dechloromonas*의 낮은 풍부도가

BER-AC 및 대조구의 낮은 T-N 및 유기물 제거에 관여했을 가능성이 높다.

Species 수준에서 BER-FO의 우점 군은 *Thauera slenatis group*(10.04%), *Dechloromonas JF497822_s*(7.09%) 및 *Zoogloea oryzae*(4.26%)이었다. BER-MW에서는 *Dechloromonas JF497822_s*(24.47%)가 가장 많았으며, 그 다음으로 *Zoogloea oryzae*(2.77%), *GU454901_g AB603812_s*(2.15%) 순이었다. 종속 영양균으로 알려진 *Thauera slenatis group*과 *Dechloromonas JF497822_s*는 질소 제거와 관련된 DNE와 AOE라고 판단할 수 있다. *Zoogloea oryzae*는 세포 밖으로 다당류를 분비하여 플록(floc)을 형성하는 미생물로 알려져 있다(Macy et al., 1993; Xie and Yokota, 2006). 이는 질소 제거가 *Thauera slenatis group*과 *Dechloromonas JF497822_s*의 성장에 크게 영향을 받고, *Zoogloea oryzae*는 BER-FO와 BER-MW의 바이오매스 보유에 기여한다는 것을 나타낸다. *Chlorobaculum limnaeum*의 경우 BER-AC(5.03%)와 대조구(15.89%)에서 가장 많았으나, *Thauera slenatis group*, *Dechloromonas JF497822_s* 및 *Zoogloea oryzae*는 BER-FO 또는 BER-MW보다 적었다. *Zoogloea oryzae*의 성장은 활성탄의 전도도와 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다.

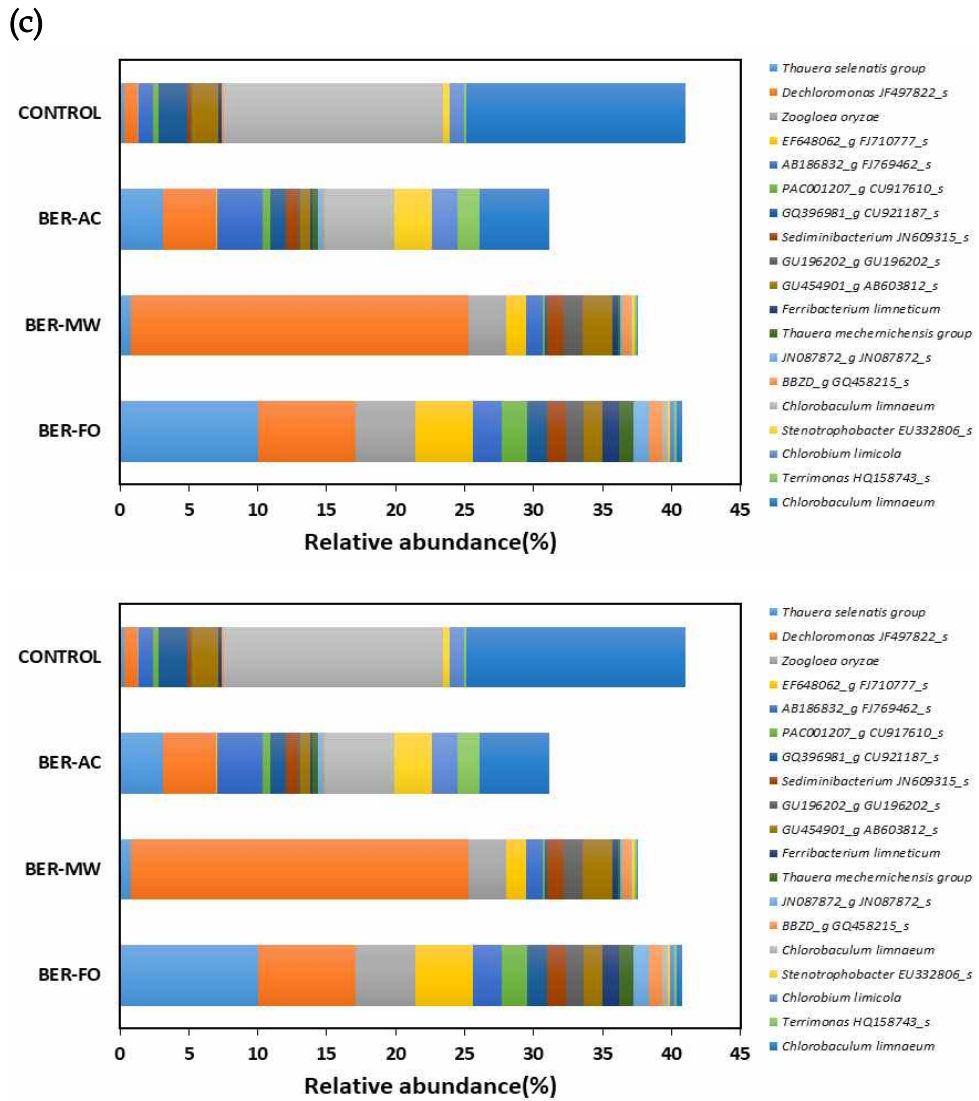


Fig 4.10 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) phylum, (b) genus and (c) species in the bulk solution of the bioelectrochemical reactor.

4.4 결론

상향류 생물전기화학 반응조에서 높은 다공성의 활성탄을 사용하면 전기활성 바이오매스 보유량을 증가시켜 활성탄을 사용하지 않은 반응조 보다 저장도의 유기물 제거(38.97%) 및 질소 제거(61.70%)가 더욱 향상된다. 전기활성 바이오매스 보유량의 증가는 DIET를 활성시켜 전자전달 저항 및 용액 저항을 감소시킨다. 상향류 생물전기화학 반응조에서 질소 제거는 *Thauera slenatis group*과 *Dechloromonas JF497822_s*의 성장에 크게 영향을 받았으며, *Zoogloea oryzae*는 BER-FO와 BER-MW의 바이오매스 보유에 기여하였다.

제 5 장 생물전기화학 고도처리에서 인가된 전계의 강도에 따른 영향

5.1 연구 목적

본 연구에서는 생물전기화학적 3차 처리 공정의 성능을 향상시키기 위하여 상향류 생물전기화학 반응조에 형성된 전계의 크기에 따른 유기물 및 질소제거 효율을 평가하였으며, 데이터마이닝 기법으로 주요 영향인자를 조사하였다. 또한, 반응조에 형성된 전계의 크기에 따라서 반응조내의 우점 미생물군의 성장 및 활성에 미치는 영향에 대하여 평가하였다.

5.2 실험 및 방법

5.2.1 전극

전극은 5cm × 20cm의 면적의 구리 호일(0.3T, copper 99.9%, KDI Co., Seoul, Korea) 표면에 유전체 고분자 물질(alkydenamel, VOC 470g/L, Noroo paint Co., Busan, Korea)로 코팅하여 제작하였다.

5.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건

본 실험을 위한 상향류 생물 반응조는 아크릴 수지로 제작하였다(Fig 5.1). 유입수는 상향류 반응조 하부 측벽에 위치하도록 하였고, 유출수의

배출구는 상부 측벽에 위치하도록 하였다. 상향류 반응조 바닥면에 다공 판을 설치하여 유입수가 고르게 분배하도록 하였으며, 유출수의 월류를 막기 위하여 상단벽에 월류구가 위치하도록 하였다. 제작된 2개의 전극은 반응조 측벽에 각각 수직으로 배치하였으며, 1개의 전극은 중앙에 수직으로 배치하여 각 전극이 3cm의 간격이 되도록 하였다. 상향류 생물전기화학 반응조에 설치한 전극은 티타늄 도선으로 외부 직류 전원공급 장치 (DP 30-03TP Toyotech, Japan)에 연결하였다.

식중 슬러지는 하수 슬러지 혐기성 소화조(S WWTP, B-metrocity, Korea)에서 혐기성 소화 슬러지를 채취하여 1mm 체로 체거름 하였다. 식중 슬러지는 저장도 인공폐수와 5:5의 비율로 혼합하여 반응조를 채웠다. 저장도 인공폐수는 수돗물 1L에 CH_3COONa 0.051g, KCl 0.005g, NH_3Cl 0.061g, NaNO_2 0.002g, KNO_3 0.023g을 용해시켜 합성하였다. 인공폐수의 초기 성상은 COD 40mg/L, T-N 20mg/L 였으며, 암모니아성 질소, 아질 산성질소, 질산성 질소의 비율은 각각 80%, 2%, 18%였다. 용존 산소 및 황산염의 초기 농도는 약 4.0mg/L 및 33.5mg/L이었으며, 저장도 합성폐수는 방류수 수질기준과 국내 하폐수처리장에서 배출되는 방류수의 성상에 기반으로 합성되었다(유순주 등, 2013). 4개의 생물전기화학 반응조를 준비하여 전극 사이에 0.6V, 1.2V, 2.5V, 5V를 전압을 각각 인가하여 전계 (0.2V/cm, 0.4V/cm, 0.83V/cm, 1.7V/cm)를 형성하였으며, 수리학적체류 시간은(HRT, Hydraulic Retention Time) 60분이 되도록 유입수를 공급하여 운전하였다.

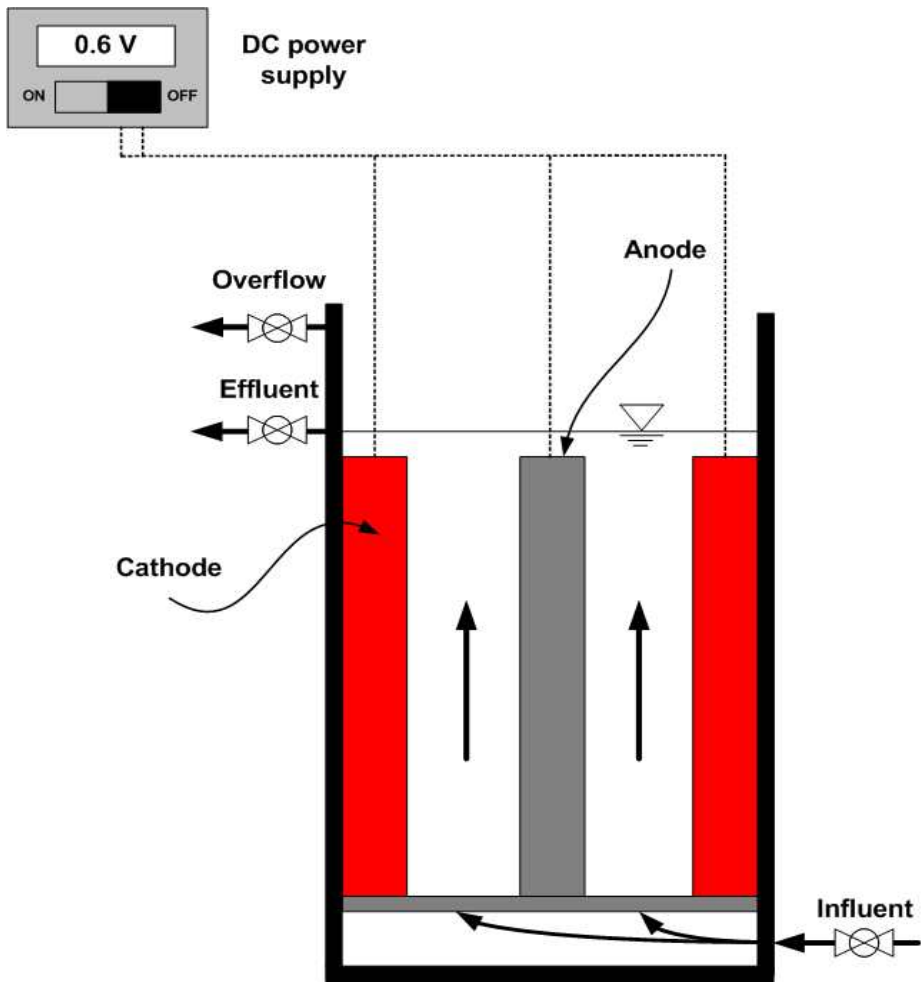


Fig 5.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor

5.2.3 분석 및 계산

상향류 생물전기화학 반응조를 운전 중에 COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 및 휘발성 고형물(VS)을 포함한 유입수 및 유출수의 성상을 모니터링 하였다. COD는 Standard Methods (2005)의 closed reflux 방법으로 측정 하였으며, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 은 Phenate 방법으로 분석하였고 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 과 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 은 각각 자외선 분광 광도법과 비색법으로 얻었다. VS는 Standards Methods (2005)에 따라 측정되었고, 반응조의 바이오매스 함량을 추정하는데 사용되었다.

정상 상태에서의 생물전기화학 반응조내의 전극 및 벌크 용액의 미생물에 대한 전기화학적 특성을 살펴보기 위하여 4일에 한번 전기화학 장비(Zive SP1 WonATech)를 사용하여 EIS(electrochemical impedance spectroscopy)실험을 수행 하였다. EIS 실험에 Ag/AgCl 전극(BAS, RE-1B, Japan)을 기준 전극으로 사용하였으며, 대전극으로 티타늄선(직경 30cm, 직경1mm)을 사용하였다. 전위파 신호는 25mV, 주파수 범위는 100 kHz에서 10 MHz으로 설정하였다. 벌크 용액에서의 임피던스 응답은 용액 저항, 미생물 세포의 임피던스 및 전극 표면의 임피던스를 가진 여러 등가 회로에 적용하여 최상의 모델을 찾았다. SMART Manger 소프트웨어 (Zive Lap WonA Tech, co., Seoul, Korea)는 EIS 결과를 적합하기 위해 사용되었다. 유출수의 수질에 영향을 미치는 생물전기화학적 요소는 의사결정나무(Weka program, version 3.8)에 의해 추정되었다.

5.2.4 미생물 분석

상향류 생물전기화학 반응조의 16S rRNA 미생물 군집을 조사하기위하

여 실험 종료 후 벌크용액에서 부유된 슬러지를 대상으로 MO BIO Power Soil DNA Kit를 이용하여 Microbiome Taxonomic Profiling을 수행하였다. DNA를 추출 후 Kit의 절차에 따라 수행하였다. Fusion primer를 사용하여 genomic DNA에서 미생물 16S rRNA 유전자의 가변영역(V3,V4)을 증폭시켰다. 16S rRNA는 Metagenomic DNA로부터 증폭되어 MiSeq Personal Sequencer(Illumina, San Diego, CA, USA)에서 sequencing을 위해 추출되었다. 증폭, sequencing library의 구축 및 생물정보학 분석은 이전의 연구에서 설명대로 수행되었다(Chun et al., 2010). 키메라(chimera)를 확인하고 확장된 EzTaxon database를 사용하여 판독 값의 taxonomical assignments를 완료하였다(<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>). 미생물 군집과 통계적인 taxonomical assignments는 OTUs(operational taxonomic units)를 통해 얻어졌다. 미생물의 종(species) 수준 분류와 같은 포괄적인 생물정보학 분석, 클러스터 분석, 미생물의 기원 추적, 샘플 간의 다양성에 대한 빠른 단일 분석, 계층적 클러스터링 및 종 다양성에 대한 각종 지표는 CLcommunity software(Chunlab, Inc., Seoul, Republic of Korea)에 의해 수행되었다.

5.3 결과 및 고찰

5.3.2 유기물의 생물전기화학적 제거

상향류 생물전기화학 반응조의 유출수 COD는 인가된 전계에 따라서 1.71~2.06mg/L 범위로 낮게 측정되었다(Fig 5.2). 상향류 생물전기화학 반응조에서의 유기물 제거는 전계에 의한 영향이 크지 않았다. 그러나 안정화까지의 시간은 인가된 전계의 크기에 따라 적게 걸렸다. 이는 2차 처리수에 포함된 유기물이 0.2V/cm의 크기로 전계를 인가한 상향류 생물전기화학 반응조만으로도 효과적으로 3차 처리를 할 수 있음을 의미하지만 전기활성 미생물의 활성이 전계에 크기에 따라 다르다는 것을 의미한다. 화학 반응의 평형은 일반적으로 자유 에너지 변화(ΔG)에 의해 추정되며, ΔG 는 반응물의 극성과 쌍극자 모멘트에 따른 엔탈피와 엔트로피의 함수이다(Liu., 2006, Wisseroth and Braune, 1977). 분극된 전극의 전위 또는 전극 사이의 전기장은 영구 쌍극자를 지향함으로써 시스템의 엔탈피와 엔트로피를 변화시킨다(Wisseroth and Braune, 1977). 따라서 반응의 활성화 에너지는 열역학적으로 유리하게 감소된다(Wisseroth and Braune, 1977; Vincent et al., 1996; Pivrikas et al., 2011). 이는 전계의 강도에 의해서 활성화 에너지를 열역학적으로 더욱 유리하게 감소시킬 수 있음을 의미한다(Metcalf and Eddy, 2014).

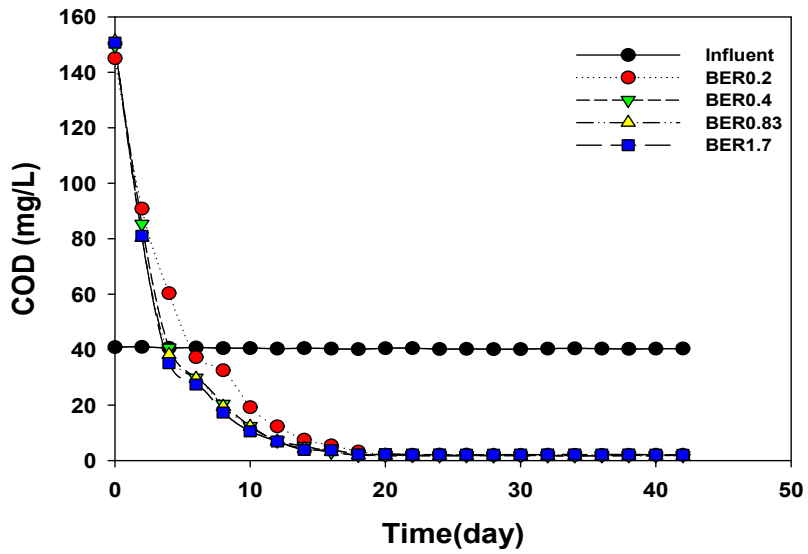


Fig 5.2 Profiles of the effluent COD in the upflow bioelectrochemical reactor

5.3.2 생물전기화학적 질소 제거

상향류 생물전기화학 반응조의 유출수 T-N의 농도는 운전 후 지속적으로 감소하여 약 30여일 후에 정상상태로 운전되었다. 정상운전 상태에서 유출수의 T-N농도는 유입수 약 20mg/L에서 5.28~9.07mg/L의 범위로 감소하였다(Fig 5.3). 이는 상향류 생물전기화학 반응조에서 절연성 폴리머로 절연된 전극으로 인가한 전계만으로도 2차 처리수의 질소를 더 처리될 수 있음을 나타낸다. 그러나 벌크용액에 노출된 전계의 강도를 0.2V/cm에서 0.83V/cm까지의 증가할수록 질소제거 효율이 증가하였으나, 1.7V/cm의 크기의 전계를 벌크용액에 노출시킨 반응조의 질소제거 효율은 오히려 0.83V/cm보다 약간 낮았다. 또한, 정상상태까지의 도달시간이 유기물 제거보다 약 10일 정도의 시간이 더 필요하였다. 이는 이전 연구에서와 같이 질소제거와 관련된 미생물이 유기물을 대사하는 중속 영양군보다 서서히 성장하는 독립 영양군임을 반영한다. 또한, 반응조 하부로부터 유입되는 DO(4mg/L) 및 COD(40mg/L)는 중속 영양군의 유기물 대사를 위해 우선적으로 소비되어 반응조 중단부터는 무산소 또는 혐기성일 가능성이 높다. 혐기성 생물전기화학적 반응조에서 암모니아 산화 전자방출균(AOE, Ammonium oxidizing exoelectrogens)과 탈질 전자흡수균(DNE, Denitrating electrotrophs)을 포함한 전기활성미생물 사이의 DIET에 의해 암모니아성 질소와 질산성 질소가 동시에 제거 될 수 있다(Joicy et al., 2018; Song et al., 2018). 따라서 전자수용체와 전자공여체에 대한 전자 균형을 고려하면 AOE와 DNE 사이의 DIET에 의한 질소 제거가 상향류 생물전기화학 반응조의 주요 기작 중 하나인 것으로 판단된다. 상향류 생물전기화학 반응조 벌크용액의 바이오매스량은 BER0.83이 2.31gVS/L로 가장 높게 측정되었으며, BER1.7, BER0.4, BER0.2 순으로 높게 측정되어 질소제거 효율의 결과와 같았다(Fig 5.4). 이는 상향류 생물전기화학 반응조의 질소 제거를 위한 AOE와 DNE의 활성 및 성장이 전계의 강도에 따라 결정되며, 최적의 전계 강도가 필요하다는

것을 의미한다.

정상상태에서 전계의 강도에 따른 상향류 생물전기화학 반응조 유출수의 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 및 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 의 농도를 살펴보면 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 및 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 가 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 보다 농도 변화량에 큰 차이를 보였다(Fig 5.3). $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 경우 전계의 강도에 의하여 약 2.09mg/L 더 제거하였으며, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 는 약 1.73mg/L 더 제거하였다. 그러나 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 는 0.32mg/L 정도만 더 제거하였다. 이는 상향류 생물전기화학 반응조에 인가된 전계의 상승은 AOE와 DNE 사이의 DIET활성과 성장을 증가시켜 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 및 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 의 제거를 개선한 것으로 판단된다.

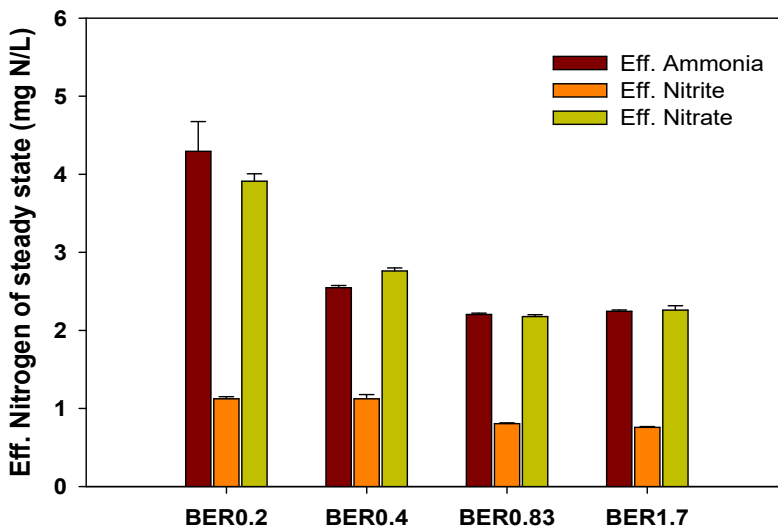


Fig 5.3 Effluent nitrogen of steady state in the bioelectrochemical reactor

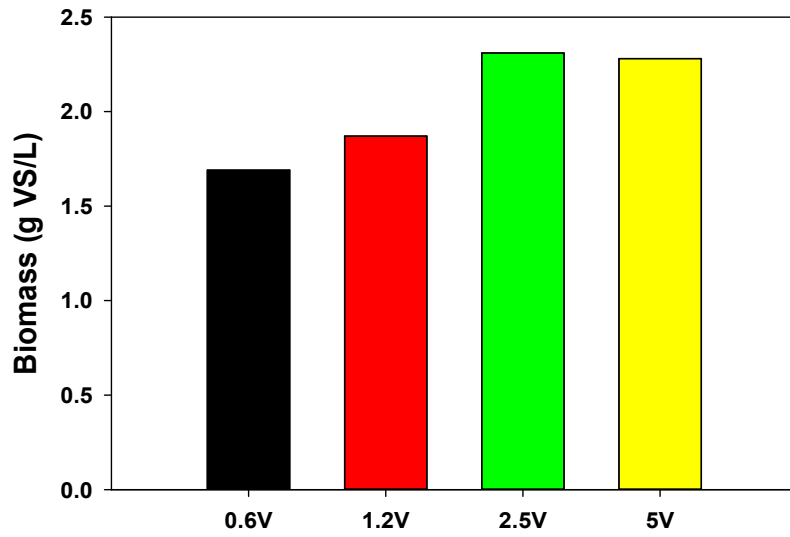


Fig 5.4 Profiles of the biomass concentrations in the upflow bioelectrochemical reactor

5.3.3 전계 강도의 생물전기화학적 영향 인자 마이닝

전계에 노출된 별크용액에서 측정된 EIS 결과를 피팅(Fitting)하여 Randle 등가회로 모델과 유사한 등가회로를 도출하였다. 이 회로는 i) 용액저항(R_s), ii) 직렬로 연결된 미생물 세포 표면에서의 전자전달저항(R_{ct})과 Warburg 임피던스 회로와 병렬로 연결된 constant phase element(CPE)로 구성되어있다(Fig 5.5).

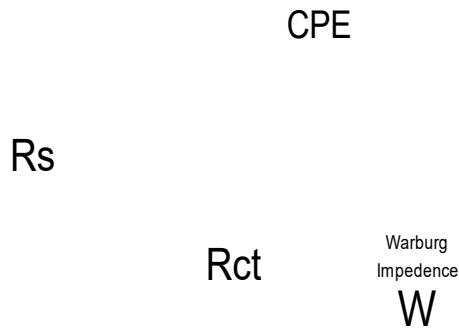


Fig 5.5 Equivalent circuit for the upflow bioelectrochemical reactor

Nyquist plot의 반원 시작점은 용액저항을 뜻하며, 시작점과 끝점 사이의 값은 미생물의 전자전달저항을 뜻한다. 전계의 강도에 따른 모든 상향류 생물전기화학 반응조의 Nyquist plot은 운전 시간에 따라서 전자전달저항이 감소하였다(Fig 5.6). 이 결과는 운전시간이 경과함에 따라서 절연된 전극 사이의 전계가 별크용액의 전기활성미생물 성장에 기여했음을 나타낸다. 그러나 BER0.83의 전자전달저항이 가장 낮았으며, BER0.4, BER1.7, BER0.2 순으로 낮았다. 이는 유기물 질소제거 결과와 같이 전기활성미생물의 활성은 최적의 전계 강도가 필요함을 의미한다.

Fig. 5.6 Nyquist plot for the bulk solution in (a) BER0.2m, (b) BER0.4, (c) BER0.83, and (d) BER1.7 in the bioelectrochemical reactor

EIS Data에서 얻은 저항들이 각 반응조 수질에 어떠한 영향을 미치는지 살펴보기 위하여 의사결정나무를 수행하였다(Fig 5.7). 각 상향류 생물전기화학 반응조 유출수의 COD는 Rct가 8123보다 적을 경우 1.71~2.59mg/L의 낮은 농도를 보였다. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 의 경우 Rct가 14321보다 낮을 때 였으며, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 는 Rct가 15824보다 낮을 때 1.75~3.55mg/L 및 2.02~2.28mg/L의 낮은 농도를 보였다. 이는 상향류 생물전기화학 반응조에 인가된 전계에 의해서 활성화되어 전자전달저항을 효과적으로 낮출 수 있으며, 질소 제거를 위한 AOE와 DNE의 활성화 및 성장에 영향을 주었음을 의미한다. 또한, 절연된 전극으로 형성된 전계만으로도 저강도의 폐수를 효과적으로 제거할 수 있음을 나타낸다.

CPE는 전극의 거칠고 복잡한 모양으로 인하여 형성되는 이중층 커패시턴스를 나타내기 위해 사용되며. Warburg impedance는 이중층으로 인한 확산저항으로 전극표면 위에 반응생성물이 덮여 있거나, 전해질 이온이 흡착 및 코팅이 되어 있는 경우에 주로 발생되며 전극표면에 미생물에 의해 형성된 막도 같은 효과를 나타낸다(Yang and Li., 2005, Kim et al., 2011, Kim et al., 2009). 그러나 EIS 결과에서 CPE와 Warburg impedance는 1 이하의 값으로 Rct 및 Rs보다 상당히 낮기 때문에 상향류 생물전기화학 반응조의 유기물 및 질소제거 효율에 미치는 영향은 상당히 적은 것으로 판단된다.

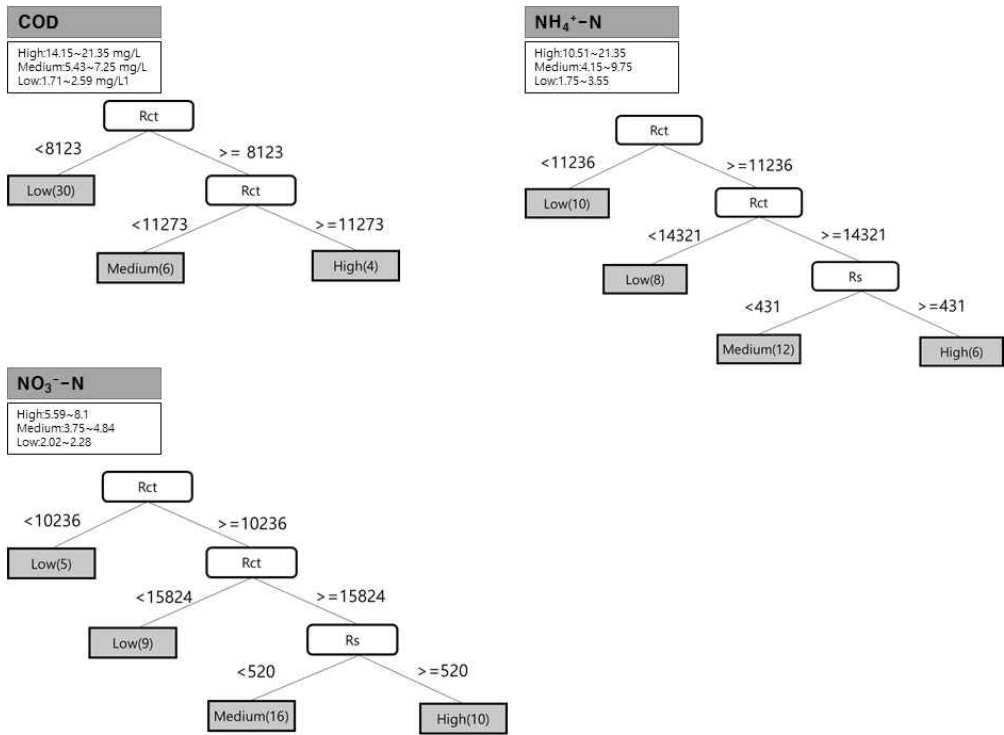


Fig 5.7 Decision tree for water quality in the bioelectrochemical reactor

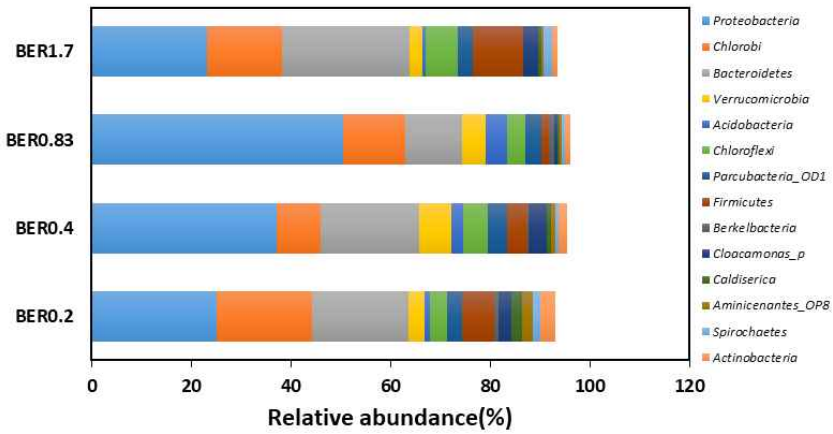
5.3.4 미생물 군집 분석

인가된 전압에 의해 형성된 전계의 강도와 상관없이 모든 생물전기화학 반응조에서 벌크 용액의 우점 군은 유사하였지만 각 군의 풍부도는 전계의 강도에 따라서 다양했다(Fig 5.8). 모든 생물전기화학 반응에서 Phylum 수준의 우점 군은 *Proteobacteria*였으며, *Chlorobi*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*순으로 우점이었다. BER0.83의 *Proteobacteria*는 50.50%로 풍부도가 가장 높았으며, BER0.4(37.07%), BER0.2(25.15%) 및 BER1.7(23.21%) 순으로 높았다. 이는 반응조의 질소제거 및 생물전기화학적 영향 인자결과와 같았다. 따라서 DIET에 관여하는 미생물 군이 *Proteobacteria*에 속한다는 것을 알 수 있다. 그러나 *Chlorobi*의 경우 BER0.2(18.99%)의 풍부도가 가장 높았으며, *Bacteroidetes*는 BER1.7(25.66%)의 풍부도가 가장 높았다. 이는 인가된 전압에 의해 형성된 전계의 강도에 따라서 각기 다른 Phylum군의 성장에 영향을 미치는 것으로 판단된다.

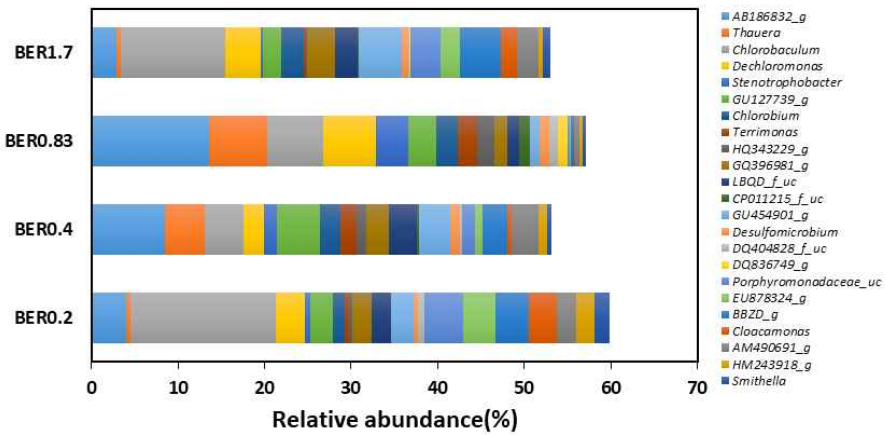
Genus 수준에서 BER0.83의 우점 군은 *AB186832_g*(13.54%), *Thauera* (6.79%), *Chlorobaculum*(6.47%) 및 *Dechloromonas*(6.13%)였으며, BER0.4의 우점 군은 *AB186832_g* (8.55%), *Thauera*(4.50%), *Chlorobaculum* (4.52%) 및 *Dechloromonas*(2.37%)으로 BER0.83와 우점 군은 같으나 풍부도는 낮았다. BER0.2 및 BER1.7에서는 *Chlorobaculum*(16.75%, 12.03%)가 가장 풍부하였으나, *AB186832_g*(4.07%, 2.90%), *Thauera*(0.47%, 0.48%), *Dechloromonas*(3.37% 4.16%)는 풍부도가 낮았다. 이 결과는 BER0.4 및 BER0.83와는 반대의 결과를 보였다. *Thauera*와 *Dechloromonas*는 DNE로 알려져 있으며, *Chlorobaculum*은 methyl-group 작용기를 가진 표면에 성장하는 전자방출균(exoelectrogens)으로 알려져있다(Guo et al., 2013, 25, 26]. 따라서 *Thauera*와 *Dechloromonas*를 포함한 DNE의 풍부도가 다양한 강도의 전계를 형성한 반응조의 유기물과 질소 제거에 관여하였을 가능성이 높다.

Species 수준에서 BER0.83의 우점 군은 *Dechloromonas_us*(9.89%) *Thauera slenatis group*(4.15%), 및 *Thauera_us*(3.92%)로 BER0.4과 우점 군은 같으나, BER0.4의 우점 군의 풍부도는 *Dechloromonas_us*(8.73%) *Thauera slenatis group* (3.21%), 및 *Thauera_us*(3.24%)로 BER0.83보다 약간 적었다. 종속 영양군으로 알려진 *Thauera slenatis group*, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*는 질소 제거와 관련된 DNE와 AOE라고 판단할 수 있다[27, 28]. 이는 질소 제거가 *Thauera slenatis group*, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*의 성장에 크게 기여함을 나타낸다. BER0.2와 BER1.7의 *Thauera slenatis group*, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*의 풍부도는 BER0.83 및 BER0.4보다 낮았다. 이결과는 *Thauera slenatis group*, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*가 0.4~0.83V/cm 범위의 전계 강도에서 성장이 촉진됨을 나타낸다.

(a)



(b)



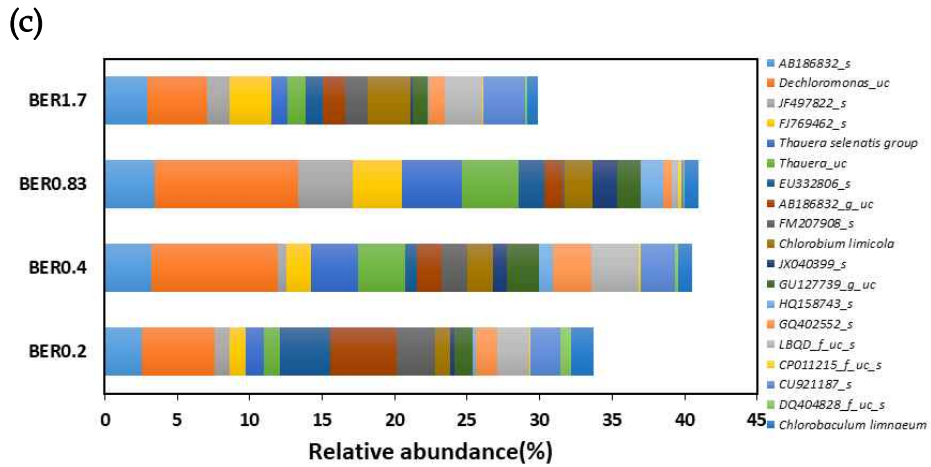


Fig 5.8 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) phylum, (b) genus and (c) species in the bulk solution of the bioelectrochemical reactor

5.4 결론

0.83V/cm의 전기 강도가 형성된 상향류 생물전기화학 반응조는 벌크용액의 전기활성미생물 DIET를 더욱 활성화시켜 0.2V/cm의 전기 강도가 형성된 반응조보다 저강도의 질소제거가 44% 향상되었다. 상향류 생물전기화학 반응조의 벌크용액에 전계를 노출시키면 전기활성미생물의 전자전달이 활성화되어 전자전달저항을 감소시킨다. 상향류 생물전기화학 반응조에서 질소 제거는 *Thauera slenatis group*, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*의 풍부도에 크게 영향을 받았다.

제 6 장 하수처리시설 2차 처리수의 생물전기화학 3차 처리

6.1 연구 목적

본 연구에서는 하수처리시설 2차 처리수를 대상으로 상향류 생물전기화학 반응조의 3차 처리 성능을 평가하였다. 이전 연구에서 도출된 결과를 바탕으로 높은 다공성의 전도성물질을 반응조내에 설치하였으며, 0.83V/cm의 전계를 형성시켜 유기물 및 질소제거 효율, 전기화학적 주요 영향인자들을 조사하였다.

6.2 실험 및 방법

6.2.1 전극 및 전도성 물질

전극은 5cm × 20cm의 면적의 구리 호일(0.3T, copper 99.9%, KDI Co., Seoul, Korea) 표면에 유전체 고분자 물질(alkydenamel, VOC 470g/L, Noroo paint Co., Busan, Korea)로 코팅하여 제작하였다.

미생물 고정화 및 전도성 입자로 사용된 활성탄은 직경이 약 5~8mm이었으며, 펜톤산화법(Fenton oxidation) 또는 극초단파법(Microwave)으로 전처리하였다. 펜톤산화법은 H₂O₂ 용액 7,500mg/L를 준비한 뒤 제 1철 이온을 주입하여 H₂O₂/Fe²⁺의 비가 75가 되도록 조정하여 펜톤산화용액을 준비하였다. 준비된 펜톤산화용액에 활성탄 5g을 투입하여 250rpm으로 1시간 동안 산화시켜 완성하였다. 극초단파법의 경우 초순수 1L에 활

성탄 5g과 nikel pyrite 0.5g을 주입한 후 전자레인지에서 1시간 동안 반응시켜 완성하였다.

6.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건

본 실험을 위한 상향류 생물 반응조는 아크릴 수지로 제작하였다(Fig 6.1). 유입수는 상향류 반응조 하부 측벽에 위치하도록 하였고, 유출수의 배출구는 상부 측벽에 위치하도록 하였다. 상향류 반응조 바닥면에 다공판을 설치하여 유입수가 고르게 분배하도록 하였으며, 유출수의 월류를 막기 위하여 상단벽에 월류구가 위치하도록 하였다. 제작된 2개의 전극은 반응조 측벽에 각각 수직으로 배치하였으며, 1개의 전극은 중앙에 수직으로 배치하여 각 전극이 3cm의 간격이 되도록 하였다. 상향류 생물전기화학 반응조에 설치한 전극은 티타늄 도선으로 외부 직류 전원공급 장치(DP 30-03TP Toyotech, Japan)에 연결하였다.

식중 슬러지는 하수 슬러지 혐기성 소화조(S WWTP, B-metrocity, Korea)에서 혐기성 소화 슬러지를 채취하여 1mm 체로 체거름 하였다. 식중 슬러지는 하수처리장 2차 처리수(Y WWTP, B-metrocity, Korea)와 5:5의 비율로 혼합하여 반응조를 채웠다. 하수처리장 2차 처리수의 조성은 COD 4.25~6.11mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 1.52~2.11mg/L, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 3.22~4.51mg/L, T-N 4.74~6.39의 범위였으며, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 은 검출되지 않았다. 생물전기화학 반응조를 준비하여 전극 사이에 2.5V를 전압을 각각 인가하여 0.83V/cm의 전계를 형성하였으며, 전압을 인가하지 않은 반응조는 대조구로 사용하였다. 수리학적체류시간은(HRT, Hydraulic Retention Time) 60분이 되도록 유입수를 공급하여 운전하였다.

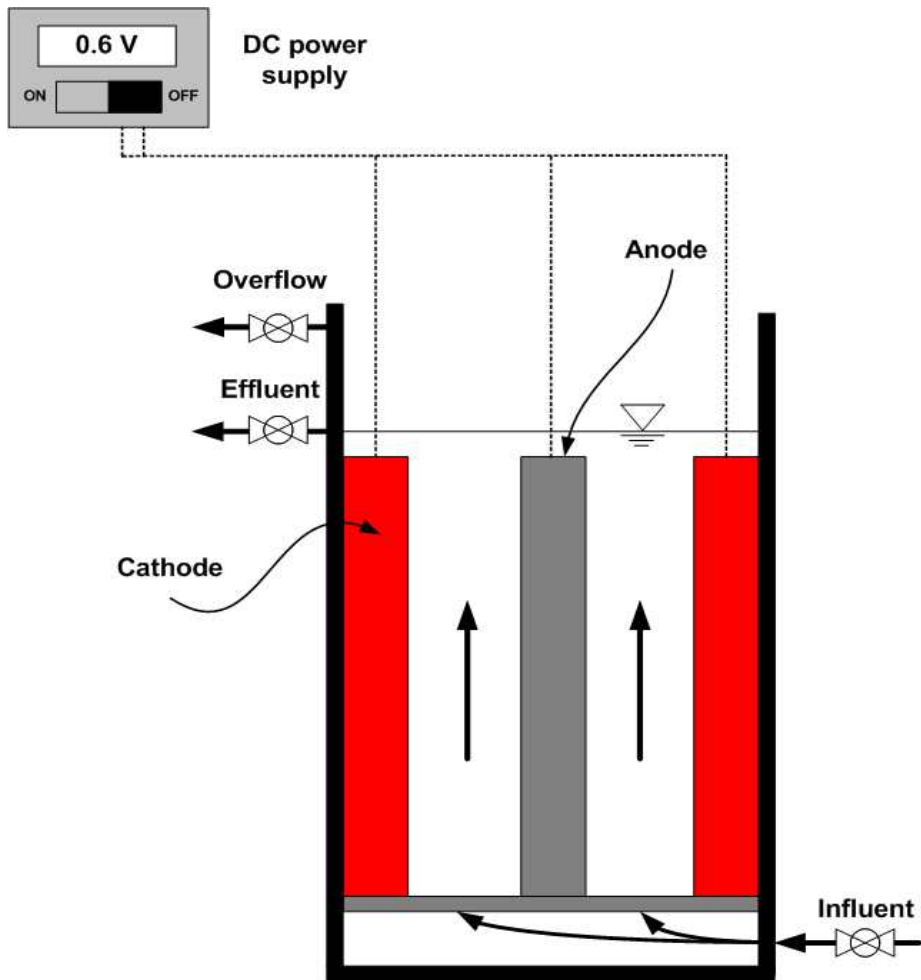


Fig 6.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor

6.2.3 분석 및 계산

상향류 생물전기화학 반응조를 운전 중에 COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 및 휘발성 고형물(VS)을 포함한 유입수 및 유출수의 성상을 모니터링 하였다. COD는 Standard Methods (2005)의 closed reflux 방법으로 측정 하였으며, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 은 Phenate 방법으로 분석하였고 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 과 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 은 각각 자외선 분광 광도법과 비색법으로 얻었다. VS는 Standards Methods (2005)에 따라 측정되었고, 반응조의 바이오매스 함량을 추정하는데 사용되었다.

정상 상태에서의 생물전기화학 반응조내의 전극 및 벌크 용액의 미생물에 대한 전기화학적 특성을 살펴보기 위하여 4일에 한번 전기화학 장비(Zive SP1 WonATech)를 사용하여 EIS(electrochemical impedance spectroscopy)실험을 수행 하였다. EIS 실험에 Ag/AgCl 전극(BAS, RE-1B, Japan)을 기준 전극으로 사용하였으며, 대전극으로 티타늄선(직경 30cm, 직경1mm)을 사용하였다. 전위파 신호는 25mV, 주파수 범위는 100 kHz에서 10 MHz으로 설정하였다. 벌크 용액에서의 임피던스 응답은 용액 저항, 미생물 세포의 임피던스 및 전극 표면의 임피던스를 가진 여러 등가 회로에 적용하여 최상의 모델을 찾았다. SMART Manger 소프트웨어 (Zive Lap WonA Tech, co., Seoul, Korea)는 EIS 결과를 적합하기 위해 사용되었다.

6.2.4 미생물 분석

상향류 생물전기화학 반응조의 16S rRNA 미생물 군집을 조사하기 위하여 실험 종료 후 벌크용액에서 부유된 슬러지를 대상으로 MO BIO

Power Soil DNA Kit를 이용하여 Microbiome Taxonomic Profiling을 수행하였다. DNA를 추출 후 Kit의 절차에 따라 수행하였다. Fusion primer를 사용하여 genomic DNA에서 미생물 16S rRNA 유전자의 가변영역(V3,V4)을 증폭시켰다. 16S rRNA는 Metagenomic DNA로부터 증폭되어 MiSeq Personal Sequencer(Illumina, San Diego, CA, USA)에서 sequencing을 위해 추출되었다. 증폭, sequencing library의 구축 및 생물정보학 분석은 이전의 연구에서 설명대로 수행되었다(Chun et al., 2010). 키메라(chimera)를 확인하고 확장된 EzTaxon database를 사용하여 판독 값의 taxonomical assignments를 완료하였다(<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>). 미생물 군집과 통계적인 taxonomical assignments는 OTUs(operational taxonomic units)를 통해 얻어졌다. 미생물의 종(species) 수준 분류와 같은 포괄적인 생물정보학 분석, 클러스터 분석, 미생물의 기원 추적, 샘플 간의 다양성에 대한 빠른 단일 분석, 계층적 클러스터링 및 종 다양성에 대한 각종 지표는 CLcommunity software(Chunlab, Inc., Seoul, Republic of Korea)에 의해 수행되었다.

6.3 결과 및 고찰

6.3.1 하수처리장 2차 처리수 유기물의 생물전기화학적 제거

0.83V/cm의 강도로 전계를 형성시킨 상향류 생물전기화학 반응조의 유출수 COD는 운전 후 급격히 감소하여 1.60 ± 0.04 mg/L의 범위로 안정화되었다 (Fig 6.2). 그러나 전계를 인가하지 않은 생물반응조의 경우 4.82 ± 0.43 mg/L의 범위로 안정화되어 상향류 생물전기화학 반응조보다 높았다. 각 반응조에 유입되는 2차 처리수의 COD가 4.94 ± 0.46 mg/L인 것을 고려하면 전계를 인가하지 않은 생물반응조는 유기물 처리가 거의 이뤄지지 않았다. 그러나 전계를 형성시킨 상향류 생물전기화학 반응조는 2차 처리수의 유기물을 더 처리할 수 있었다. 이는 운영되고 있는 하수처리장 2차 처리수에 포함된 유기물을 0.83V/cm의 크기로 전계를 인가한 상향류 생물전기화학 반응조를 이용하여 효과적으로 3차 처리를 할 수 있음을 의미한다. 화학 반응의 평형은 일반적으로 자유 에너지 변화(ΔG)에 의해 추정되며, ΔG 는 반응물의 극성과 쌍극자 모멘트에 따른 엔탈피와 엔트로피의 함수이다(Liu., 2006, Wisseroth and Braune, 1977). 전극 사이의 전기장은 영구 쌍극자를 지향함으로써 시스템의 엔탈피와 엔트로피를 변화시킨다(Wisseroth and Braune, 1977). 따라서 반응의 활성화 에너지는 열역학적으로 유리하게 감소된다(Wisseroth and Braune, 1977; Vincent et al., 1996; Pivrikas et al., 2011). 이는 생물전기화학 반응조에 형성시킨 전계로 인하여 활성화 에너지를 열역학적으로 더욱 유리하게 감소시켜 기질친화도를 향상시켰음을 의미한다.

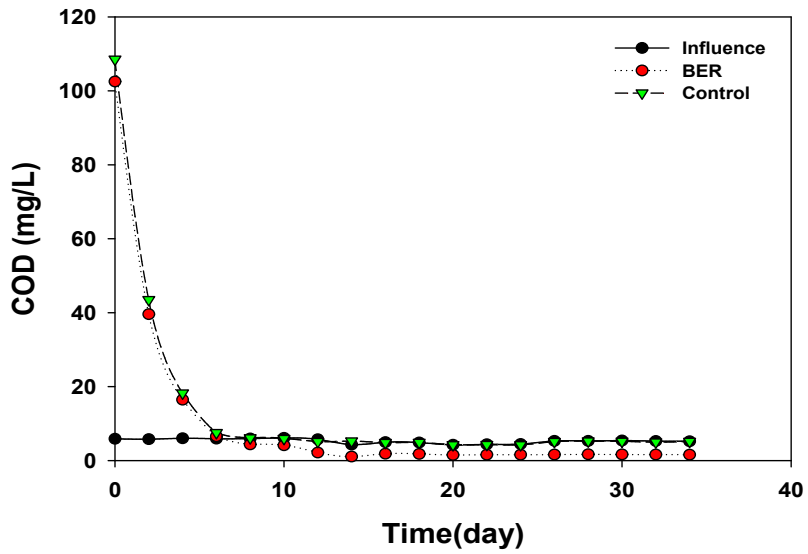


Fig 6.2 Profiles of the effluent COD in the upflow reactor

6.3.2 생물전기화학적 질소 제거

상향류 생물전기화학 반응조의 유출수 T-N의 농도는 운전 후 지속적으로 감소하여 약 20여일 후 $2.74 \pm 0.12 \text{ mg/L}$ 로 안정화되어 높은 효율을 보였으나, 전계를 형성하지 않은 대조구의 경우 $5.67 \pm 0.18 \text{ mg/L}$ 로 효율이 낮았다(Fig 6.3). 이는 높은 다공성의 전도성물질을 사용하고 0.83 V/cm 의 전계를 형성시킨 생물전기화학 반응조를 사용하면 실제 하수처리장 2차 처리수의 질소를 더 처리될 수 있음을 나타낸다. 또한, 이전 연구에서와 같이 전계를 형성한 생물전기화학적 반응조에서 암모니아 산화 전자방출균(AOE, Ammonium oxidizing exoelectrogens)과 탈질 전자흡수균(DNE, Denitrating electrotrophs)을 포함한 전기활성미생물 사이의 DIET에 의해 암모니아성 질소와 질산성 질소가 동시에 제거 될 수 있음을 의미한다(Joicy et al., 2018; Song et al., 2018). 정상상태의 상향류 생물전기화학 반응조에 유출수의 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 농도는 $0.40 \pm 0.06 \text{ mg/L}$ 이었으며, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 농도는 $2.15 \pm 0.03 \text{ mg/L}$ 이었다. 상향류 생물전기화학 반응조에 유입되는 2차 처리수의 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 는 거의 제거되었으나, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 는 $2.15 \pm 0.03 \text{ mg/L}$ 이하로 제거되지 않았다. 생물전기화학 반응조의 주요 질소제거 경로는 AOE와 DNE 사이의 DIET에 의한 질소 제거이다. 따라서 전자수용체와 전자공여체에 대한 전자 균형을 고려하면 유기물 및 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 와 같은 전자수용체가 부족하여 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 제거가 더 이상 이뤄지지 않은 것으로 판단된다.

상향류 생물전기화학 반응조 벌크용액의 바이오매스량은 3.81 gVS/L 였으며, 대조구는 3.89 gVS/L 로 비슷하였다(Fig 6.4). 이는 높은 다공성 전도성 물질로 인하여 반응조내부의 미생물 보유량을 상승시켰음을 의미한다. 그러나 상향류 생물전기화학 반응조의 질소 제거는 대조구보다 높았다. 이는 상향류 생물전기화학 반응조 벌크용액의 AOE 및 DNE가 전계에 의해 DIET가 활성화 되었음을 의미한다.

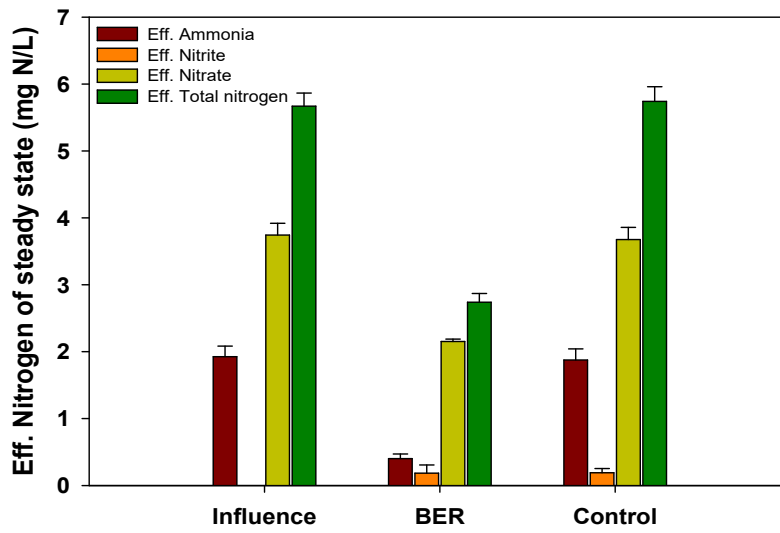


Fig 6.3 Effluent nitrogen of steady state in the reactor

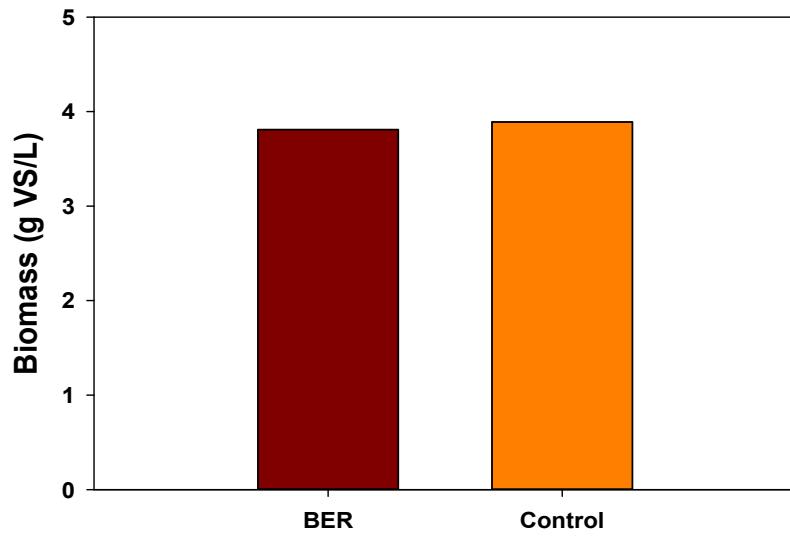


Fig 6.4 Profiles of the biomass concentrations in the upflow reactor

6.3.3 전기화학분석

상향류 생물전기화학 반응조의 벌크용액에서 측정된 EIS 결과를 피팅(Fitting)하여 Randle 등가회로 모델과 유사한 등가회로를 도출하였다. 이 회로는 i) 용액저항(R_s), ii) 직렬로 연결된 미생물 세포 표면에서의 전자전달저항(R_{ct})과 Warburg 임피던스 회로와 병렬로 연결된 constant phase element(CPE)로 구성되어있다(Fig 6.5).

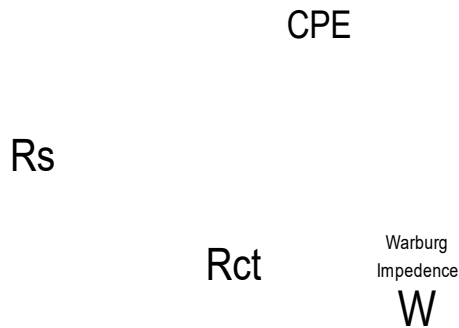


Fig 6.5 Equivalent circuit for the upflow bioelectrochemical reactor

Nyquist plot의 반원 시작점은 용액저항을 뜻하며, 시작점과 끝점 사이의 값은 미생물의 전자전달저항을 뜻한다. 상향류 생물전기화학 반응조의 Nyquist plot은 운전 시간에 따라서 전자전달저항이 감소하였다(Fig 6.6). 이 결과는 운전시간이 경과함에 따라서 절연된 전극 사이의 전계가 벌크용액의 전기활성미생물 성장에 기여했음을 나타낸다. 그러나 전자전달저항의 감소가 크지 않았다. 이는 하수처리장의 2차 처리수의 강도가 낮아 큰 차이를 보이지 않은 것으로 판단된다.

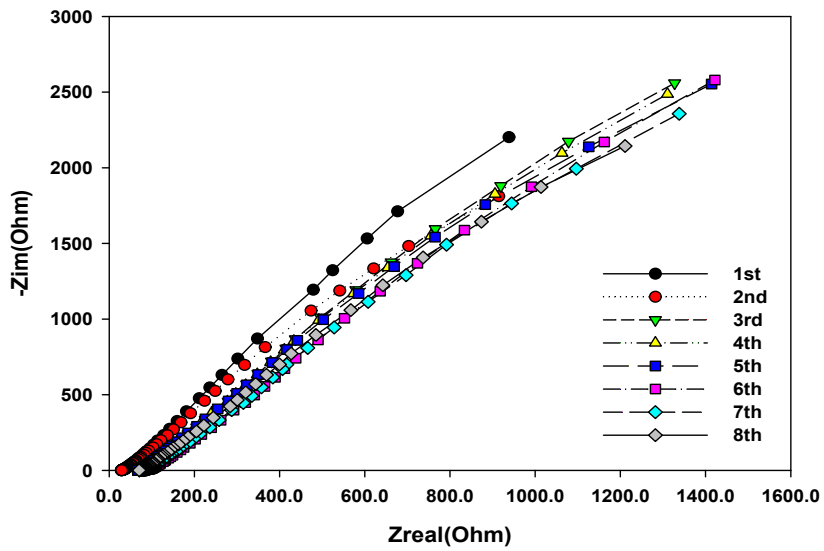


Fig. 6.6 Nyquist plot for the bulk solution in the bioelectrochemical reactor

EIS 결과를 피팅하여 다양한 저항의 값은 다음 Table 6.1과 같다. CPE는 전극의 거칠고 복잡한 모양으로 인하여 형성되는 이중층 커패시턴스를 나타내기 위해 사용되며, Warburg impedance는 이중층으로 인한 확산저항으로 전극표면 위에 반응생성물이 덮여 있거나, 전해질 이온이 흡착 및 코팅이 되어 있는 경우에 주로 발생되며 전극표면에 미생물에 의해 형성된 막도 같은 효과를 나타낸다(Yang and Li., 2005, Kim et al., 2011, Kim et al., 2009). CPE의 구성요소인 Q_a 및 Q_y 와 Warburg impedance의 값은 운전시간과의 연관성이 없었으며, 그 값이 매우 적었다. 이는 CPE 및 Warburg impedance가 상향류 생물전기화학 반응조의 유기물 및 질소제거 효율에 미치는 영향은 상당히 적다는 것을 의미한다.

Table 6.1 Various resistance values according to the operation time of the bioelectrochemical reactor.

Order	R_s	Q_a	Q_y	R_{ct}	W
1st	478	0.536	0.00001	377000	0.766
2nd	472	0.466	0.00012	215311	0.894
3rd	412	0.792	0.00079	185211	0.698
4th	413	0.689	0.00031	185092	0.812
5th	411	0.321	0.00008	178521	0.922
6th	402	0.452	0.00047	168328	0.918
7th	398	0.621	0.00028	162537	0.752
8th	399	0.718	0.00015	161085	1.012

6.3.4 미생물 군집 분석

전계를 노출시킨 상향류 생물전기화학 반응조와 대조구로 사용한 생물반응조에서 벌크 용액의 우점 군은 유사하였지만 각 군의 풍부도는 다양했다 (Fig 6.8). 생물전기화학 반응조와 대조구에서 Phylum 수준의 우점 군은 *Proteobacteria*(44.64%, 44.23%)였으며, *Bacteroidetes*(20.48%, 19.43%), *Verrucomicrobia*(4.82%, 5.69%), *Chlorobi*(4.69%, 4.90%), *Firmicute*(3.00%, 2.37%)순으로 우점이었다. 생물전기화학 반응조와 대조구의 Phylum 수준의 우점 군 풍부도는 큰 차이를 보이지 않았다.

Genus 수준에서 상향류 생물전기화학 반응조의 우점 군은 *AB186832_g* (11.03%), *Dechloromonas*(5.74%), *GU454901_g*(5.01%), 및 *Thauera*(4.73%)였으나, 전계를 형성하지 않은 대조구의 우점 군은 *AB186832_g*(9.19%), *Dechloromonas*(5.65%), *GU454901_g*(4.66%), 및 *Thauera* (3.72%)이었다. *Thauera*와 *Dechloromonas*는 DNE로 알려져 있다[25, 26]. 따라서 상향류 생물전기화학 반응조의 *Thauera* 및 *Dechloromonas*가 대조구 보다 풍부한 것은 반응조내에 형성된 전계에 의해서 DNE의 DIET를 활성화 시켜 유기물과 질소 제거에 관여하였을 가능성이 높다

Species 수준에서 상향류 생물전기화학 반응조의 우점 군은 *AB186832_g* *AB186832_s*(9.89%) *Thauera slenatis group*(4.15%), *GU127739_g_uc*(3.92%), *Dechloromonas_uc*(2.85%) 및 *Thauera_uc*(2.75%)였다. 종속 영양군으로 알려진 *Thauera slenatis group*, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*는 질소 제거와 관련된 DNE와 AOE라고 판단할 수 있다[27, 28]. 이는 질소 제거가 *Thauera slenatis group*, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*의 성장에 크게 기여함을 나타낸다. 특히, 전계를 형성하지 않은 대조구의 우점 군은 생물전기화학 반응조와 같았으며, 풍부도가 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 DIET를 이용하는 대표적인 전기활성미생물인 *Geobacter* Species는 생물전기화학 반응조(0.60%) 서 대조구

(0.09%)다 높았다. 이는 상향류 생물전기화학 반응조에 형성시킨 전계로 인하여 전기활성미생물의 활성이 높아졌음을 의미하며, DNE와 AOE의 DIET를 활성화시켜 질소제거 효율이 향상된 것으로 판단된다.

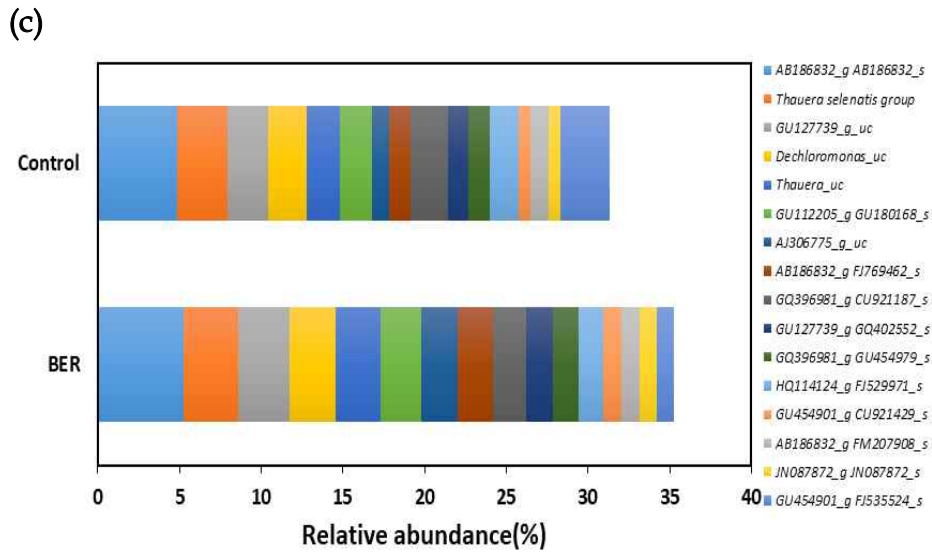


Fig 6.7 Relative abundance of bacterial groups at the level of (a) phylum, (b) genus and (c) species in the bulk solution of the reactor

6.4 결론

높은 다공성 전도성 입자를 사용하고 0.83V/cm의 전계 강도가 형성된 상향류 생물전기화학 반응조는 일반 생물반응조보다 하수처리장 2차 처리수의 유기물 제거(67.14%) 및 질소 제거(50.82%) 효율이 크게 높았다. 상향류 생물전기화학 반응조의 벌크용액에 전계를 노출시키면 전기활성미생물의 전자전달이 활성화되어 전자전달저항을 감소시킨다. 상향류 생물전기화학 반응조에서 질소 제거는 *Thauera slenatis* group, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*의 풍부도에 크게 영향을 받았으며, *Geobacter*의 풍부도를 증가시켰다. 상향류 생물전기화학 반응조는 하수처리장 2차 처리수의 3차 처리가 가능한 공정으로 평가되었다.

제 7 장 실하수의 생물전기화학 고도처리

7.1 연구 목적

본 연구에서는 실하수를 대상으로 상향류 생물전기화학 고도처리 공정의 성능을 평가하였다. 이전 연구의 결과를 바탕으로 높은 다공성의 전도성물질을 첨가하였으며, 0.83V/cm의 전계를 형성시켜 유기물 및 질소제거 효율을 평가하였다. 또한, HRT 및 내부반송에 대한 영향을 조사하였다.

7.2 실험 및 방법

7.2.1 전극 및 전도성 물질

전극은 5cm × 20cm의 면적의 구리 호일(0.3T, copper 99.9%, KDI Co., Seoul, Korea) 표면에 유전체 고분자 물질(alkydenamel, VOC 470g/L, Noroo paint Co., Busan, Korea)로 코팅하여 제작하였다.

미생물 고정화 및 전도성 입자로 사용된 활성탄은 직경이 약 5~8mm이었으며, 펜톤산화법(Fenton oxidation) 또는 극초단파법(Microwave)으로 전처리하였다. 펜톤산화법은 H₂O₂ 용액 7,500mg/L를 준비한 뒤 제 1철 이온을 주입하여 H₂O₂/Fe²⁺의 비가 75가 되도록 조정하여 펜톤산화용액을 준비하였다. 준비된 펜톤산화용액에 활성탄 5g을 투입하여 250rpm으로 1시간 동안 산화시켜 완성하였다. 극초단파법의 경우 초순수 1L에 활성탄 5g과 nikel pyrite 0.5g을 주입한 후 전자레인지에서 1시간 동안 반응시켜 완성하였다.

7.2.2 생물전기화학 반응조 제작 및 운전 조건

본 실험을 위한 상향류 생물 반응조는 아크릴 수지로 제작하였다(Fig 7.1). 유입수는 상향류 반응조 하부 측벽에 위치하도록 하였고, 유출수의 배출구는 상부 측벽에 위치하도록 하였다. 상향류 반응조 바닥면에 다공판을 설치하여 유입수가 고르게 분배하도록 하였으며, 유출수의 월류를 막기 위하여 상단벽에 월류구가 위치하도록 하였다. 제작된 2개의 전극은 반응조 측벽에 각각 수직으로 배치하였으며, 1개의 전극은 중앙에 수직으로 배치하여 각 전극이 3cm의 간격이 되도록 하였다. 상향류 생물전기화학 반응조에 설치한 전극은 티타늄 도선으로 외부 직류 전원공급 장치(DP 30-03TP Toyotech, Japan)에 연결하였다.

식중 슬러지는 하수 슬러지 혐기성 소화조(S WWTP, B-metrocity, Korea)에서 혐기성 소화 슬러지를 채취하여 1mm 체로 체거름 하였다. 식중 슬러지는 실하수(Y WWTP, B-metrocity, Korea)와 5:5의 비율로 혼합하여 반응조를 채웠다. 실하수의 조성은 COD 62.51~68.21mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 13.12~15.44mg/L, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 1.05~1.35mg/L, 유기질소 10.89~14.65mg/L, T-N 10.89~14.65mg/L의 범위였으며, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 은 검출되지 않았다. 생물전기화학 반응조를 준비하여 전극 사이에 2.5V를 전압을 각각 인가하여 0.83V/cm의 전계를 형성하였으며, 전압을 인가하지 않은 반응조는 대조구로 사용하였다. 수리학적체류시간은(HRT, Hydraulic Retention Time) 초기에 1시간이 되도록 유입수를 공급하여 운전하였으며, 정상상태 후에 3시간, 5시간으로 각각 정상상태가 될 때까지 운전하였다. HRT를 5시간으로 운전하여 정상상태가 되었을 때 0.5Q로 내부반송을 하여 운전하였다.

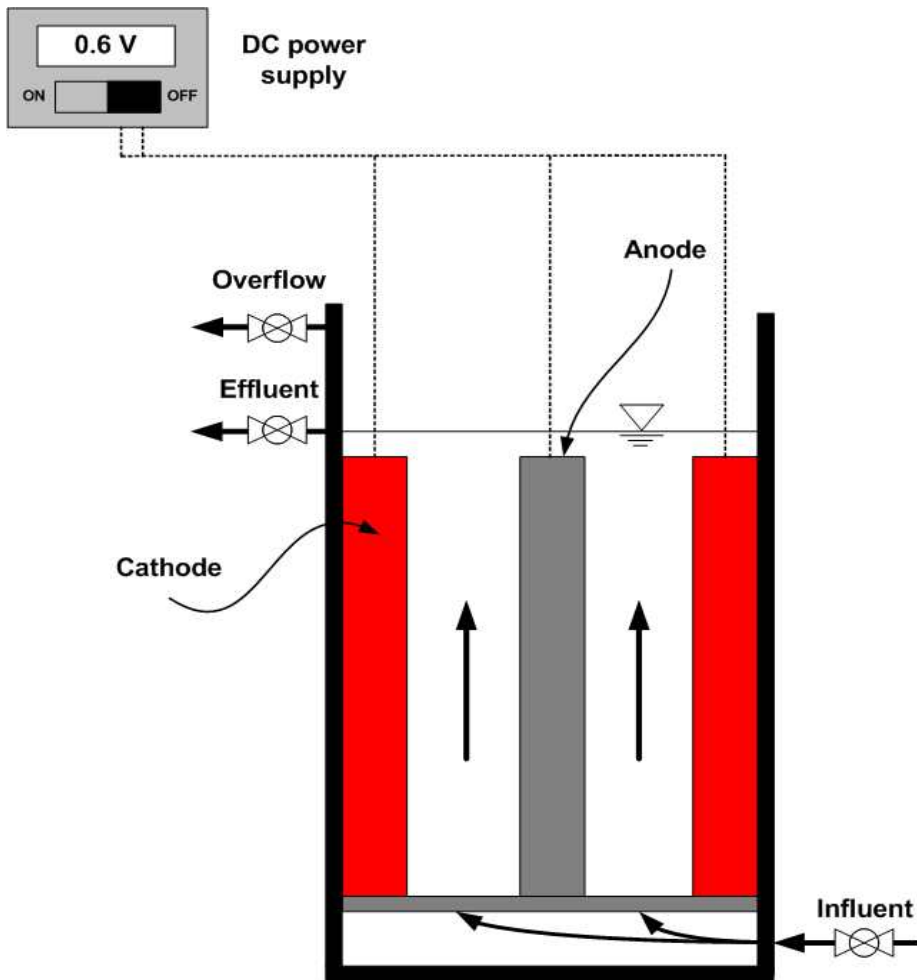


Fig 7.1 Schematic diagram of the upflow bioelectrochemical reactor

7.2.3 분석 및 계산

상향류 생물전기화학 반응조를 운전 중에 COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, T-N 및 휘발성 고형물(VS)을 포함한 유입수 및 유출수의 성상을 모니터링 하였다. COD는 Standard Methods (2005)의 closed reflux 방법으로 측정 하였으며, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 은 Phenate 방법으로 분석하였고 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 과 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 은 각각 자외선 분광 광도법과 비색법으로 얻었다. VS는 Standards Methods (2005)에 따라 측정되었다.

7.3 결과 및 고찰

7.3.2 실하수 유기물의 생물전기화학적 제거

0.83V/cm의 강도로 전계를 형성시킨 상향류 생물전기화학 반응조의 유출수 COD는 HRT 1시간으로 운전 후 급격히 감소하여 $6.00 \pm 1.14 \text{mg/L}$ 의 범위로 안정화되었으며, HRT 3시간에서는 $1.89 \pm 1.01 \text{mg/L}$, HRT 5시간에서는 $1.89 \pm 0.04 \text{mg/L}$ 로 안정화되었다(Fig 7.2). 그러나 전계를 인가하지 않은 생물반응조의 경우 HRT 1시간에서는 $14.98 \pm 0.39 \text{mg/L}$ 의 범위로 안정화되었으며, HRT 3시간에서는 $14.055 \pm 2.98 \text{mg/L}$, HRT 5시간에서는 $11.91 \pm 0.44 \text{mg/L}$ 에서 안정화되어 상향류 생물전기화학 반응조보다 낮은 제거효율을 보였다. 특히 전계를 형성시킨 상향류 생물전기화학 반응조와 전계를 인가하지 않은 생물반응조의 유기물 제거 효율은 59.95~86.55%의 큰 효율차이를 보였다. 이는 전계를 형성시킨 상향류 생물전기화학 반응조 내부에 형성된 전계에 의한 전기활성미생물의 활성화로 인하여 생물반응조의 미생물보다 기질친화도가 상승하여 실하수의 유기물을 효과적으로 처리할 수 있음을 의미한다(Choi et al, 2018). 또한, 상향류 생물전기화학 반응조는 HRT 3시간이상으로 운전하여도 유기물 제거 효율의 증가를 보이지 않았기 때문에 이는 HRT 3시간으로 운전하여도 실하수의 유기물을 3차 처리수 수준으로 처리가 가능함을 나타낸다.

1 HRT 3 HRT 5 HRT 0.5 Q

Fig 7.2 Profiles of the effluent COD in the upflow reactor

7.3.2 생물전기화학적 질소 제거

상향류 생물전기화학 반응조의 유출수 T-N의 농도는 HRT 1시간으로 운전하였을 때 $12.83 \pm 2.08 \text{ mg/L}$, HRT 3시간에는 $6.67 \pm 2.17 \text{ mg/L}$, HRT 5시간에는 $4.31 \pm 0.14 \text{ mg/L}$ 로 안정화 되어 HRT가 길어짐에 따라서 질소 제거효율이 상승하였다(Fig 7.3). 그러나 전계를 형성하지 않은 생물반응조는 HRT 1시간에서 $21.20 \pm 0.23 \text{ mg/L}$ 으로 안정화되었으며, HRT를 길게 운전하여도 질소제거 효율은 크게 상승하지 않았다. 이는 높은 다공성의 전도성물질을 사용하고 0.83 V/cm 의 전계를 형성시킨 생물전기화학 반응조를 사용하면 실하수의 질소를 더 처리될 수 있음을 나타낸다. 또한, 이전 연구에서와 같이 전계를 형성한 생물전기화학적 반응조에서 암모니아 산화 전자방출균(AOE, Ammonium oxidizing exoelectrogens)과 탈질 전자흡수균(DNE, Denitrating electrotrophs)을 포함한 전기활성미생물 사이의 DIET에 의해 암모니아성 질소와 질산성 질소가 동시에 제거 될 수 있으며 반응시간에 따라서 효율을 향상시킬 수 있음을 의미한다(Joicy et al., 2018; Song et al., 2018). 특히 HRT 길어질수록 생물전기화학 반응조 유출수의 질소제거 효율이 크게 증가하였는데 이는 유기질소 및 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 가 충분히 제거될 수 있는 반응시간의 확보로 인하여 질산성 질소의 탈질로 반응할 수 있는 환경을 제공하여 효율이 상승한 것으로 판단된다. 또한, HRT 5시간에서 0.5Q로 내부반송을 하였을 때의 유출수의 T-N농도는 $3.26 \pm 0.45 \text{ mg/L}$ 로 반송을 하지 않았을 때 보다 제거 효율이 상승하였다. 이 결과는 내부반송으로 인한 전자수용체의 공급으로 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 를 더 제거할 수 있으며, 상향류 생물전기화학 반응조는 실하수를 3차 처리수 수준으로 고도처리가 가능함을 의미한다.

(a)

(b)

(c)

(d)

Fig 7.3 Effluent nitrogen of steady state with (a) HRT 1, (b) HRT 3, (c) HRT 5, (d) 0.5Q in the reactors

7.4 결론

높은 다공성 전도성 입자를 사용하고 0.83V/cm의 전계 강도가 형성된 상향류 생물전기화학 반응조는 일반 생물반응조보다 실하수의 유기물 제거(84.72%) 및 질소 제거(84.69%) 효율이 크게 높았다. 상향류 생물전기화학 반응조의 적정 HRT는 5시간, 반송(0.5Q)이었다. 상향류 생물전기화학 공정은 실하수를 3차 처리수 수준으로의 고도처리가 가능한 공정으로 평가할 수 있다.

제 8 장 종합 결론

본 연구에서는 하수처리장 3차 처리뿐만 아니라 고도처리도 가능한 공정개발을 목적으로 상향류 생물전기화학 반응조를 고안하였다. 고안된 상향류 생물전기화학 반응조는 내부에 설치된 전도성 물질 영향평가, 전도성 물질의 물리적 처리에 의한 영향평가, 절연전극으로 형성된 전계의 강도에 의한 영향평가, 하수처리장 2차 처리수 처리 효율 평가를 통하여 상향류 생물전기화학 반응조의 효율 및 실용화 가능성을 검증하였다.

1. 상향류 생물전기화학 반응조는 미생물 친화도를 개선함으로써 저장도 폐수의 유기물 및 질소를 더 처리할 수 있다. 생물전기화학 반응조에서 전도성 시트 또는 전도성 입자와 같은 전도성 물질은 미생물 군집에서 우점종의 풍부도를 변화시킴으로써 바이오매스의 보존을 증가시키고 직접중간전자전달을 활성화시킨다. 생물전기화학 반응조에 전도성 물질을 사용하면 전도성 물질을 사용하지 않은 경우보다 유기물 제거 효율은 39.63%, 질소는 제거 효율은 44.39%가 증가하였다. 생물전기화학반응조에서의 가능한 질소 제거의 경로는 혐기성 암모니아 산화와 별크용액과 분극 전극 표면의 전기활성미생물에 의한 아나모스와 유사한 경로이다.
2. 상향류 생물전기화학 반응조에서 높은 다공성의 활성탄을 사용하면 전기활성 바이오매스 보유량을 증가시켜 활성탄을 사용하지 않은 반응조보다 저장도의 유기물 제거(38.97%) 및 질소 제거(61.70%)가 더욱 향상된다. 전기활성 바이오매스 보유량의 증가는 DIET를 활성화시켜 전자전달 저항 및 용액 저항을 감소시킨다. 상향류 생물전기화학 반응조에서 질소 제거는 *Thauera slenatis* group과 *Dechloromonas JF497822_s*의 성장에 크게 영향을 받고, *Zoogloea oryzae*는 BER-FO와

BER-MW의 바이오매스 보유에 기여하였다.

3. 0.83V/cm의 전계 강도가 형성된 상향류 생물전기화학 반응조는 벌크 용액의 전기활성미생물 DIET를 더욱 활성화시켜 0.2V/cm의 전계 강도가 형성된 반응조보다 저강도의 질소제거가 44% 향상되었다. 상향류 생물 전기화학 반응조의 벌크용액에 전계를 노출시키면 전기활성미생물의 전자전달이 활성화되어 전자전달저항을 감소시킨다. 상향류 생물전기 화학 반응조에서 질소 제거는 *Thauera slenatis* group, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*의 풍부도에 크게 영향을 받았다.
4. 높은 다공성 전도성 입자를 사용하고 0.83V/cm의 전계 강도가 형성 된 상향류 생물전기화학 반응조는 일반 생물반응조보다 하수처리장 2 차 처리수의 유기물 제거(67.14%) 및 질소 제거(50.82%) 효율이 크게 높았다. 상향류 생물전기화학 반응조의 벌크용액에 전계를 노출시키면 전기활성미생물의 전자전달이 활성화되어 전자전달저항을 감소시킨다. 상향류 생물전기화학 반응조에서 질소 제거는 *Thauera slenatis* group, *Thauera_us* 및 *Dechloromonas_us*의 풍부도에 크게 영향을 받았으며, *Geobacter*의 풍부도를 증가시켰다. 상향류 생물전기화학 반응조는 하수 처리장 2차 처리수의 3차 처리가 가능한 공정으로 평가되었다.
5. 높은 다공성 전도성 입자를 사용하고 0.83V/cm의 전계 강도가 형성 된 상향류 생물전기화학 반응조는 일반 생물반응조보다 실하수의 유기 물 제거(84.72%) 및 질소 제거(84.69%) 효율이 크게 높았다. 상향류 생 물전기화학 반응조의 적정 HRT는 5시간, 반응(0.5Q)이었다. 상향류 생 물전기화학 공정은 실하수를 3차 처리수 수준으로의 고도처리가 가능 한 공정으로 평가되었다.

참고문헌

1. 유순주, 박상민, 권오상, 박수정, 염익태. 2013. 공공하수처리시설 수질 기준 선진화 방안. 한국물환경학회지, 29(2), 276-287.
2. 환경부. 2019. 하수도통계.
3. Arnaldos, M., Amerlinck, Y., Rehman, U., Maere, T., Van Hoey, S., Naessens, W., Nopens, I. 2015. From the affinity constant to the half-saturation index: understanding conventional modeling concepts in novel wastewater treatment processes. *Water research*, 70, 458-470.
4. Bagotsky, V.S. 2005. *Fundamentals of electrochemistry*. John Wiley & Sons.
5. Blasco-Gómez, R., Batlle-Vilanova, P., Villano, M., Balaguer, M., Colprim, J., Puig, S. 2017. On the edge of research and technological application: a critical review of electromethanogenesis. *International journal of molecular sciences*, 18(4), 874.
6. Busalmen, J.P., Esteve Núñez, A., Berná, A., Feliu, J.M. 2008. C type cytochromes wire electricity producing bacteria to electrodes. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(26), 4874-4877.
7. Butterworth, E., Richards, A., Jones, M., Brix, H., Dotro, G., Jefferson, B. 2016. Impact of aeration on macrophyte establishment in sub-surface constructed wetlands used for tertiary treatment of sewage. *Ecological engineering*, 91, 65-73.
8. Button, D. 1986. Affinity of organisms for substrate. *Limnology and Oceanography*, 31(2), 453-456.
9. Chabert, N., Ali, O.A., Achouak, W. 2015. All ecosystems potentially

- host electrogenic bacteria. *Bioelectrochemistry*, 106, 88-96.
10. Chang, D., Choi, H., Sunwoo, Y., Hong, K. 2014. Performance response and recovery of temporal and spatial phase separated process for nutrients removal in short-term shock loadings. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(5), 3009-3013.
 11. Chang, I.-S., Le Clech, P., Jefferson, B., Judd, S. 2002. Membrane fouling in membrane bioreactors for wastewater treatment. *Journal of environmental engineering*, 128(11), 1018-1029.
 12. Chen, S., Rotaru, A.-E., Shrestha, P.M., Malvankar, N.S., Liu, F., Fan, W., Nevin, K.P., Lovley, D.R. 2014. Promoting interspecies electron transfer with biochar. *Scientific reports*, 4, 5019.
 13. Choi, J.W., Lee, H.S. 2017. A Comparison between the Decomposition of Bisphenol A and the Concentration of Hydrogen Peroxide Formed during Ozone/Catalyst Oxidation Process. *Applied Chemistry for Engineering*, 28(6), 619-625.
 14. Choi, T.-S., Song, Y.-C., Joicy, A. 2018. Influence of conductive material on the bioelectrochemical removal of organic matter and nitrogen from low strength wastewater. *Bioresource technology*, 259, 407-413.
 15. Chun, J., Kim, K.Y., Lee, J.-H., Choi, Y. 2010. The analysis of oral microbial communities of wild-type and toll-like receptor 2-deficient mice using a 454 GS FLX Titanium pyrosequencer. *BMC microbiology*, 10(1), 101.
 16. Dang, Y., Holmes, D.E., Zhao, Z., Woodard, T.L., Zhang, Y., Sun, D., Wang, L.-Y., Nevin, K.P., Lovley, D.R. 2016. Enhancing anaerobic digestion of complex organic waste with carbon-based

- conductive materials. *Bioresource technology*, 220, 516-522.
17. Doyle, L.E., Marsili, E. 2015. Methods for enrichment of novel electrochemically-active microorganisms. *Bioresource technology*, 195, 273-282.
 18. Dubé, C.-D., Guiot, S.R. 2015. Direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion: a review. in: *Biogas Science and Technology*, Springer, pp. 101-115.
 19. Feng, Q., Song, Y.-C., Ahn, Y. 2018. Electroactive microorganisms in bulk solution contribute significantly to methane production in bioelectrochemical anaerobic reactor. *Bioresource technology*, 259, 119-127.
 20. Feng, Q., Song, Y.-C., Bae, B.-U. 2016. Influence of applied voltage on the performance of bioelectrochemical anaerobic digestion of sewage sludge and planktonic microbial communities at ambient temperature. *Bioresource technology*, 220, 500-508.
 21. Feng, Q., Song, Y.-C., Yoo, K., Kuppanan, N., Subudhi, S., Lal, B. 2017. Bioelectrochemical enhancement of direct interspecies electron transfer in upflow anaerobic reactor with effluent recirculation for acidic distillery wastewater. *Bioresource technology*, 241, 171-180.
 22. Genthner, B.R.S., Friedman, S.D., Devereux, R. 1997. Reclassification of *Desulfovibrio desulfuricans* Norway 4 as *Desulfomicrobium norvegicum* comb. nov. and confirmation of *Desulfomicrobium escambiense* (corrig., formerly "escambium") as a new species in the genus *Desulfomicrobium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(3), 889-892.
 23. Gharbia, S.S., Aish, A., Abushbak, T., Qishawi, G., Al-Shawa, I.,

- Gharbia, A., Zelenakova, M., Gill, L., Pilla, F. 2016. Evaluation of wastewater post-treatment options for reuse purposes in the agricultural sector under rural development conditions. *Journal of Water Process Engineering*, 9, 111-122.
24. Gumaelius, L., Magnusson, G., Pettersson, B., Dalhammar, G. 2001. *Comamonas denitrificans* sp. nov., an efficient denitrifying bacterium isolated from activated sludge. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(3), 999-1006.
25. Guo, K., Freguia, S., Dennis, P.G., Chen, X., Donose, B.C., Keller, J., Gooding, J.J., Rabaey, K. 2013. Effects of surface charge and hydrophobicity on anodic biofilm formation, community composition, and current generation in bioelectrochemical systems. *Environmental science & technology*, 47(13), 7563-7570.
26. Harnisch, F., Freguia, S. 2012. A basic tutorial on cyclic voltammetry for the investigation of electroactive microbial biofilms. *Chemistry - An Asian Journal*, 7(3), 466-475.
27. Horn, M.A., Ihssen, J., Matthies, C., Schramm, A., Acker, G., Drake, H.L. 2005. *Dechloromonas denitrificans* sp. nov., *Flavobacterium denitrificans* sp. nov., *Paenibacillus anaericanus* sp. nov. and *Paenibacillus terrae* strain MH72, N₂O-producing bacteria isolated from the gut of the earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(3), 1255-1265.
28. Hou, B., Han, H., Zhuang, H., Xu, P., Jia, S., Li, K. 2015. A novel integration of three-dimensional electro-Fenton and biological activated carbon and its application in the advanced treatment of biologically pretreated Lurgi coal gasification wastewater.

- Bioresource technology, 196, 721-725.
29. Joicy, A., Song, Y.-C., Lee, C.-Y. 2019. Electroactive microorganisms enriched from activated sludge remove nitrogen in bioelectrochemical reactor. *Journal of environmental management*, 233, 249-257.
 30. Kato, S., Hashimoto, K., Watanabe, K. 2012. Microbial interspecies electron transfer via electric currents through conductive minerals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(25), 10042-10046.
 31. Kaya, V.M., Picard, G. 1996. Stability of chitosan gel as entrapment matrix of viable *Scenedesmus bicellularis* cells immobilized on screens for tertiary treatment of wastewater. *Bioresource Technology*, 56(2-3), 147-155.
 32. Kelly, P.T., He, Z. 2014. Nutrients removal and recovery in bioelectrochemical systems: a review. *Bioresource technology*, 153, 351-360.
 33. Khan, A.A., Gaur, R.Z., Tyagi, V., Khursheed, A., Lew, B., Mehrotra, I., Kazmi, A. 2011. Sustainable options of post treatment of UASB effluent treating sewage: a review. *Resources, Conservation and Recycling*, 55(12), 1232-1251.
 34. Kim, J., Lee, T., Seo, D. 2017. Algal bloom prediction of the lower Han River, Korea using the EFDC hydrodynamic and water quality model. *Ecological Modelling*, 366, 27-36.
 35. Kim, J.R., Premier, G.C., Hawkes, F.R., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J. 2009. Development of a tubular microbial fuel cell (MFC) employing a membrane electrode assembly cathode. *Journal of*

- Power Sources, 187(2), 393-399.
36. Kim, T., Kang, J., Lee, J.-H., Yoon, J. 2011. Influence of attached bacteria and biofilm on double-layer capacitance during biofilm monitoring by electrochemical impedance spectroscopy. *Water research*, 45(15), 4615-4622.
 37. Kimura, K., Watanabe, Y., Ohkuma, N. 2000. Filtration resistance and efficient cleaning methods of the membrane with fixed nitrifiers. *Water Research*, 34(11), 2895-2904.
 38. Koch, C., Harnisch, F. 2016. Is there a specific ecological niche for electroactive microorganisms? *ChemElectroChem*, 3(9), 1282-1295.
 39. Liu, Y. 2006. A simple thermodynamic approach for derivation of a general Monod equation for microbial growth. *Biochemical Engineering Journal*, 31(1), 102-105.
 40. Ma, B., Wang, S., Cao, S., Miao, Y., Jia, F., Du, R., Peng, Y. 2016. Biological nitrogen removal from sewage via anammox: recent advances. *Bioresource technology*, 200, 981-990.
 41. Macy, J., Rech, S., Auling, G., Dorsch, M., Stackebrandt, E., Sly, L. 1993. *Thauera selenatis* gen. nov., sp. nov., a member of the beta subclass of Proteobacteria with a novel type of anaerobic respiration. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 43(1), 135-142.
 42. Metcalf, E., Eddy, M. 2014. *Wastewater engineering: treatment and Resource recovery*. Mic Graw-Hill, USA, 1530-1533.
 43. Mosqueda-Jimenez, D.B., Huck, P.M. 2009. Effect of biofiltration as pretreatment on the fouling of nanofiltration membranes. *Desalination*, 245(1-3), 60-72.

44. Neethirajan, S., Ragavan, V., Weng, X., Chand, R. 2018. Biosensors for sustainable food engineering: challenges and perspectives. *Biosensors*, 8(1), 23.
45. Ng, Y., Yan, R., Chen, X., Geng, A., Gould, W., Liang, D., Koe, L. 2004. Use of activated carbon as a support medium for H₂S biofiltration and effect of bacterial immobilization on available pore surface. *Applied microbiology and biotechnology*, 66(3), 259-265.
46. Pivrikas, A., Ullah, M., Sitter, H., Sariciftci, N. 2011. Electric field dependent activation energy of electron transport in fullerene diodes and field effect transistors: Gill's law. *Applied Physics Letters*, 98(9), 092114.
47. Rodriguez-Garcia, G., Molinos-Senante, M., Hospido, A., Hernández-Sancho, F., Moreira, M., Feijoo, G. 2011. Environmental and economic profile of six typologies of wastewater treatment plants. *Water research*, 45(18), 5997-6010.
48. Rotaru, A.-E., Shrestha, P.M., Liu, F., Shrestha, M., Shrestha, D., Embree, M., Zengler, K., Wardman, C., Nevin, K.P., Lovley, D.R. 2014. A new model for electron flow during anaerobic digestion: direct interspecies electron transfer to *Methanosaeta* for the reduction of carbon dioxide to methane. *Energy & Environmental Science*, 7(1), 408-415.
49. Sabumon, P. 2008. Development of a novel process for anoxic ammonia removal with sulphidogenesis. *Process Biochemistry*, 43(9), 984-991.
50. Saratale, R.G., Saratale, G.D., Pugazhendhi, A., Zhen, G., Kumar, G., Kadier, A., Sivagurunathan, P. 2017. Microbiome involved in

- microbial electrochemical systems (MESs): a review. *Chemosphere*, 177, 176-188.
51. Scholten, E., Lukow, T., Auling, G., Kroppenstedt, R.M., Rainey, F.A., Diekmann, H. 1999. *Thauera mechernichensis* sp. nov., an aerobic denitrifier from a leachate treatment plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(3), 1045-1051.
 52. Shao, M.-F., Zhang, T., Fang, H.H.-P. 2010. Sulfur-driven autotrophic denitrification: diversity, biochemistry, and engineering applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 88(5), 1027-1042.
 53. Shrestha, P.M., Rotaru, A.-E. 2014. Plugging in or going wireless: strategies for interspecies electron transfer. *Frontiers in microbiology*, 5, 237.
 54. Snoeyink, V.L., Jenkins, D. 1980. *Water chemistry*. John Wiley.
 55. Song, Y.-C., Joicy, A., Jang, S.-H. 2018. Direct interspecies electron transfer in bulk solution significantly contributes to bioelectrochemical nitrogen removal. *International Journal of Hydrogen Energy*.
 56. Song, Y.-C., Lim, H.-J., Woo, J.-H. 2015a. Influence of applied voltage and COD on the bioelectrochemical degradation of organic matter. *Desalination and Water Treatment*, 53(10), 2732-2739.
 57. Song, Y.-C., Oh, G.-G. 2015. Potential of a Bioelectrochemical Technology for the Polishing of Domestic Wastewater Treatment Plant Effluent. *Journal of Korean Society on Water Environment*, 31(4), 351-359.

58. Song, Y.C., Kim, D.S., Woo, J.H., Subha, B., Jang, S.H., Sivakumar, S. 2015b. Effect of surface modification of anode with surfactant on the performance of microbial fuel cell. *International Journal of Energy Research*, 39(6), 860-868.
59. Sydow, A., Krieg, T., Mayer, F., Schrader, J., Holtmann, D. 2014. Electroactive bacteria – molecular mechanisms and genetic tools. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(20), 8481-8495.
60. Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H. 1991. *Wastewater engineering. Management*, 7, 1-4.
61. Tremblay, P.-L., Angenent, L.T., Zhang, T. 2017. Extracellular electron uptake: among autotrophs and mediated by surfaces. *Trends in biotechnology*, 35(4), 360-371.
62. Vincent, E., Revil, N., Papadas, C., Ghibaudo, G. 1996. Electric field dependence of TDDDB activation energy in ultrathin oxides. *Proceedings of the 7th European Symposium on Reliability of Electron Devices, Failure Physics and Analysis*. IEEE. pp. 1643-1646.
63. Wang, X.-H., Wang, X., Huppes, G., Heijungs, R., Ren, N.-Q. 2015. Environmental implications of increasingly stringent sewage discharge standards in municipal wastewater treatment plants: case study of a cool area of China. *Journal of Cleaner Production*, 94, 278-283.
64. WIEGEL, J., WILKE, D., BAUMGARTEN, J., OPITZ, R., SCHLEGEL, H.G. 1978. Transfer of the Nitrogen-Fixing Hydrogen Bacterium *Corynebacterium autotrophicum* Baumgarten et al. to *Xanthobacter* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 28(4), 573-581.

65. Wilson, E.L., Kim, Y. 2016. The yield and decay coefficients of exoelectrogenic bacteria in bioelectrochemical systems. *Water research*, 94, 233-239.
66. Wisseroth, K., Braune, H. 1977. Thermodynamic equilibrium in strong electric fields and field chemistry consequences. *Journal de Physique*, 38(10), 1249-1255.
67. Xie, C.-H., Yokota, A. 2006. *Zoogloea oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from rice paddy soil, and reclassification of the strain ATCC 19623 as *Crabtreeella saccharophila* gen. nov., sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(3), 619-624.
68. Xu, G., Wang, H., Gu, J., Shen, N., Qiu, Z., Zhou, Y., Liu, Y. 2017. A novel AB process for enhanced biological nutrient removal in municipal wastewater reclamation. *Chemosphere*, 189, 39-45.
69. Yang, L., Li, Y. 2005. AFM and impedance spectroscopy characterization of the immobilization of antibodies on indium - tin oxide electrode through self-assembled monolayer of epoxysilane and their capture of *Escherichia coli* O157: H7. *Biosensors and Bioelectronics*, 20(7), 1407-1416.
70. Yang, Y., Zhang, Y., Li, Z., Zhao, Z., Quan, X., Zhao, Z. 2017. Adding granular activated carbon into anaerobic sludge digestion to promote methane production and sludge decomposition. *Journal of Cleaner Production*, 149, 1101-1108.
71. Yang, Z., Zhou, S., Sun, Y. 2009. Start-up of simultaneous removal of ammonium and sulfate from an anaerobic ammonium oxidation (anammox) process in an anaerobic up-flow bioreactor. *Journal of*

- Hazardous Materials, 169(1-3), 113-118.
72. Ye, Y., Le Clech, P., Chen, V., Fane, A.G., Jefferson, B. 2005. Fouling mechanisms of alginate solutions as model extracellular polymeric substances. *Desalination*, 175(1), 7-20.
73. Zhan, G., Zhang, L., Li, D., Su, W., Tao, Y., Qian, J. 2012. Autotrophic nitrogen removal from ammonium at low applied voltage in a single-compartment microbial electrolysis cell. *Bioresource technology*, 116, 271-277.
74. Zhan, G., Zhang, L., Tao, Y., Wang, Y., Zhu, X., Li, D. 2014. Anodic ammonia oxidation to nitrogen gas catalyzed by mixed biofilms in bioelectrochemical systems. *Electrochimica Acta*, 135, 345-350.
75. Zhao, Z., Zhang, Y., Wang, L., Quan, X. 2015. Potential for direct interspecies electron transfer in an electric-anaerobic system to increase methane production from sludge digestion. *Scientific reports*, 5, 11094.
76. Zhu, C., Wang, H., Yan, Q., He, R., Zhang, G. 2017. Enhanced denitrification at biocathode facilitated with biohydrogen production in a three-chambered bioelectrochemical system (BES) reactor. *Chemical Engineering Journal*, 312, 360-366.