

혐기성 조건에서 에탄올의 주입에 따른 프로피온산의 저감에 관한 연구

현승훈 · 김도희 · 박수진 · 황문현 · 김인수

광주과학기술원 환경공학과 생물환경공학연구소(BEEL)

(2000년 5월 3일 접수, 2000년 8월 11일 채택)

Effect of Ethanol on the Reduction of Propionate under Anaerobic Condition

Seung-Hoon Hyun · Do-Hee Kim · Soo-Jin Park · Moon-Hyun Hwang · In S. Kim

*Bio-Environmental Engineering Laboratory(BEEL), Department of Environmental Science
and Engineering, Kwangju Institute of Science and Technology*

ABSTRACT

A series of experiments were conducted for modeling the fate and effect of the coupled oxidation · reduction reaction of ethanol and propionate recognized as important intermediates in anaerobic degradation metabolism. Anaerobic kinetics for conversion of propionate and the interaction with ethanol were investigated using the model of specific substrate priority utilization effect. Seed cultures for the experiment were obtained from an anaerobically enriched steady-state propionate master culture reactor (HPr-MCR), ethanol-propionate master culture reactor (EtPr-MCR) and glucose master culture reactor (Glu-MCR). Experiments were consisted of four phases. Phase I, II and III were conducted by fixing the propionate organic loading as 1.0 g COD/L with increasing ethanol loading of 0, 100, 200, 400 and 1,000 mg/L, to find metabolic interaction of ethanol and propionate degradation by each enriched anaerobic culture. In phase IV, different mixing ratios of Glu-MCR and HPr-MCR cultures with fixed propionate organic loading, 1.0 g COD/L, were applied to observe the propionate degradation metabolic behavior. In the results of this study, different pathways of propionate and ethanol conversion were found using a modified competitive inhibition kinetic model. Increase of K_{s2} value reflected the formation of acetate followed by ethanol degradation. In addition, k_3 value was increased slightly as the reactions of acetate formation and degradation were occurred in acetoclastic methanogenesis.

Key Words : Acetogenesis, Competitive Kinetics, Ethanol Degradation,
Methanogenesis, Propionate Degradation

요약문

혐기성 소화공정 중 생성되는 주요 중간대사산물인 프로피온산의 분해대사에 대한 연구중 에탄올과의 산화·환원 반응인 coupling 반응으로써 혐기성 소화공정에서 프로피온산 축적을 저감시킬 수 있는 연구를 수행하였다. 따라서, 본 연구는 혐기성 공정에서 프로피온산의 전환에 따른 동력학적 반응과 에탄올과의 상호 반응에 따른 특정기질 선호영향을 모델에 적용하여 살펴보았다. 본 연구는 4단계의 실험으로 수행되었다. 1, 2, 3단계는 각기 다른 기질에 순화된 미생물들을 이용하여 프로피온산 1 g COD/L과 에탄올의 농도를 각각 0, 100, 200, 400과 1,000 mg/L로 주입하여 프로피온산과 에탄올의 혐기성 분해과정을 비교·연구하였으며, 4단계에서는 Glu-MCR과 HPr-MCR의 순화미생물의 혼합비를 조절하여 프로피온산 1 g COD/L를 주입하였을 때의 혐기성 분해를 연구하였다. 본 연구에서는 수정된 경쟁적 모델을 이용하여 특정기질 선호현상을 규명하였고, 에탄올 농도의 증가에 따라 아세트산 형성반응의 K_{S2} 값의 증가와 메탄화 과정에서의 아세트산 생성 및 분해과정에 해당되는 k_3 값이 일부 증가하는 결과를 얻을 수 있었다. 또한 순화미생물들에 따라 프로피온산과 에탄올의 분해에 미치는 영향이 다른 결과를 얻을 수 있었다.

주제어 : 아세트산형성단계, 경쟁적 동력학연구, 에탄올 분해, 메탄형성단계, 프로피온산 분해

1. 서론

혐기성 폐수처리는 호기성 처리에 비하여 메탄 가스 생산에 의한 에너지 회수가 가능하고, 공정이 간단하며, 미생물의 성장 속도가 낮기 때문에 적은 양의 잉여슬러지가 발생하고, 슬러지 처리가 비교적 용이하며 병원성 미생물의 사멸 효과가 크다는 잇점을 가지고 있다. 따라서, 고농도의 유기성 폐수나 슬러지의 처리에 주로 사용되고 있다.

혐기성 분해산물 중 프로피온산은 아세트산을 제외한 다른 지방산보다 훨씬 더 중요한 의미를 지닌 메탄형성 중간산물이라고 발표되고 있다.^{1,2,6,7,10)} Kaspar와 Wuhrmann은 도시하수 슬러지를 이용한 경우 정상상태에서 발생하는 가스량의 15%가 프로피온산에서 유래된다고 산정하였고,⁴⁾ Mackie와 Byrant의 경우 증온성 및 친열성 소화조에서 각각 13%와 17%가 프로피온산에서 유래된다고 하였다.⁵⁾ 또한 Mah 등은 축산폐수의 경우 발생하는 총 메탄의 35%가 프로피온산으로부터 유래된 것이며, 이 중 프로피온산에서 아세트산과 수소로의 전환이 각각 20%와 15%라고 발표하였다.⁶⁾ 그러나, 혐기성 폐수처리 공정은 여러 가지 원인에 의해 반응조의 운전이 곤란하게 될 때 주로 프로피온산의 축적

을 가져온다. 프로피온산은 열역학적으로 분해가 어려워므로 일단 반응조에 축적되기 시작하면 아세트산 및 메탄으로의 전환이 상당히 어렵게 되어 가스 발생량의 감소 및 혐기성 반응의 실패를 가져오는 원인이 되기도 한다.

혐기성 소화공정에서 프로피온산의 축적시 에탄올을 주입하여 프로피온산과의 산화·환원반응에 의한 일시적인 소화공정의 원활한 운전에 대한 연구 결과가 있다. 이 연구는 에탄올이 아세트산으로 산화되는 과정에서 생성된 proton을 이용하여 프로피온산을 프로판올로 환원시켜 혐기성 소화공정 중의 일시적인 프로피온산 저감을 유도한 것이다.⁸⁾

본 연구에서는 기존 프로피온산의 동력학 연구를 수행하였던 결과와^{1,2)} 프로피온산, 에탄올과 프로피온산, 그리고 글루코오스를 기질로 하여 오랜시간 정상상태로 배양한 혐기성 미생물에 복합기질 주입시 특정미생물의 기질선호 현상을 이용하여 기질경쟁 관계에 대한 동력학 연구를 수행하였다. 또한 그 과정에서 나타나는 에탄올과 프로피온산과의 관계를 나타내었으며, 최종적으로 글루코오스 순화미생물에 중간대사산물인 프로피온산을 주입함으로써 임의적인 기질 perturbation을 일으키고, 기질분해에 대한 저해현상을 프로피온산 순화미생물 비 조절

로서 극복할 수 있는 타당성 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 기질순화 미생물 반응조

프로피온산, 에탄올과 프로피온산, 글루코오스 순화미생물 반응조(Propionate-, Ethanol and Propionate-, Glucose-Enriched Master Culture Reactors : HPr-MCR, EtPr-MCR, Glu-MCR)들은 미생물학적·생화학적으로 동일한 순화미생물들을 제공하기 위하여 설치하였다.¹¹⁾ 각 MCR은 20 L 용량의 유리 반응조로써 혐기성 분해산물 중 각각 프로피온산, 에탄올(90%)과 프로피온산(10%), 글루코오스를 탄소원으로 주입하였다. 탄소원은 각 유기물 부하가 1.0 g COD/L-day가 되도록 하루에 한번씩 semi-continuous 방법으로 주입하였으며, 고형물 체류시간(Solids Retention Time : SRT)을 20일로 고정하였다. 또한, 모든 MCR 반응조의 운전과 회분식 동력학 실험은 35±1℃의 항온항습실에서 수행하였으며 반응조의 교반은 magnetic stirrer를 이용하였다. Fig. 1은 대략적인 MCR 반응조와 회분식 실험 반응조의 개요도를 나타낸 것이다. 또한, 혐기성 박테리아의 성장에 저해가 되지 않는 pH를 유지하기 위한 완충용액과 영양염류 및 필수 미량 중금속(Nutrient/Mineral/Buffer: NMB)의 농도를 Table 1에 나타내었다.

각 MCR의 운전상황을 혐기성 바이오 가스발생량을 통하여 시간별, 일별로 모니터링하면서 운전하였다. 혐기성 바이오 가스의 발생량은 미생물 호흡 측정기(AER-200, Challenge Environment Systems, Inc., Arkansas, USA)를 사용하여 측정하였으며, 총가스 발생량이 이론적인 가스량에 미치지 않을 때는 feeding을 중단하여 완전히 분해한 후 다시 feeding 하였다. 일주일에 한번씩 MCR 반응조로부터 시료를 취하여 남아있는 휘발성 지방산(VFAs: Volatile Fatty Acids)농도와 미생물 농도(MLVSS)를 측정하였다.

Fig. 1. Schematic diagram of MCR and batch serum bottle reactors.

Table 1. Composition of nutrient/mineral/buffer solution³⁾

	Compound	Concentration (mg/L)
Mineral I	CoCl ₂ · 6H ₂ O	2.5
	NaMoO ₄ · 2H ₂ O	0.05
	FeCl ₂ · 4H ₂ O	20
	NiCl ₂ · 6H ₂ O	0.25
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.5
	Na ₂ SeO ₄	0.25
	H ₃ BO ₄	0.25
	NaVO ₃ · 4H ₂ O	0.05
	ZnCl ₂	0.25
	CuCl ₂	0.15
Mineral II	CaCl ₂	150
	MgCl ₂ · 6H ₂ O	200
Nutrient	KH ₂ PO ₄	500
	NH ₄ Cl	530
	Na ₂ SO ₄	150
Buffer	NaHCO ₃	6000

2.2. 회분식 실험 반응조

회분식 실험에 사용한 미생물들은 각 MCR에서 정상상태로 배양된 미생물들로서 혐기성 조건하에서 250 mL 회분식 실험 반응조에 N₂가스로 충분히 플러싱한 후 200 mL를 취하였다. 그리고 지속적인

플러싱을 실시하면서 마그네틱 바를 넣고, 실험 병에 뷰틸 고무가 끼워진 마개로 즉시 밀봉한 후 Fig. 1에 나타난 것처럼 미생물 호흡 측정기에 연결하였다. 각 MCR의 SRT를 20일로 조절하기 위하여 주사기를 이용, 회분식 실험 반응조내의 culture 10 mL를 빼내고, 목적하는 양의 기질이 포함된 10 mL의 N/M/B용액을 주입하였다. 2~3일 정도 wasting and feeding의 방법으로 안정화시키면서 미생물 호흡기의 컴퓨터에 저장된 데이터를 비교하여 이론적 가스발생량과의 편차가 ±10% 이상인 것은 버리고, 그 편차 안에 있는 실험 병들을 선택하여 실험을 진행하였다. 혐기성 분해의 동력학 실험을 위한 회분식 실험은 Young과 Tabak¹¹⁾이 개발한 표준 protocol 방법을 따랐다.

2.3. 혐기성 분해의 동력학 및 저해모델

기질의 분해 및 미생물의 성장이론은 제한기질의 농도와 기질의 소비속도, 그리고 순 미생물 성장속도와의 상관관계에서 이루어진다.

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{kSX}{(K_s + S)} \quad (1)$$

$$\frac{dX}{dt} = Y \left(- \frac{dS}{dt} \right) - k_d X = \left(\frac{YkS}{K_s + S} - k_d \right) X \quad (2)$$

여기서, $\frac{dS}{dt}$: 기질 이용 속도, mg/L-hr

$\frac{dX}{dt}$: 미생물 성장 속도, mg/L-hr

X : 활성 미생물 농도, mg/L

S : 용액내의 성장 제한기질의 농도, mg/L

k : 최대 비기질 이용속도, hr⁻¹

K_s : 반포화 상수, mg/L

Y : 증식 계수, mg/mg

k_d : 내호흡 계수, hr⁻¹

프로피온산 순화미생물을 이용한 본 연구에서는 에탄올과 프로피온산에 대한 기질선호현상을 설명하기 위하여 저해모델 중 경쟁적 저해모델을 이용하였다.

$$\frac{dS_1}{dt} = - \frac{kXS_1}{K_s(1 + \frac{S_2}{K_c}) + S_1} \quad (3)$$

여기서, S₁, S₂ : 기질 1과 2의 각 농도, mg/L
K_c : 경쟁적 저해 상수, mg/L

혐기성 조건에서 각 기질들의 전환 및 분해에 따른 반응식을 Table 2에 나타내었다.

본 연구에서는 식 (1), (2)와 (3)에 나타난 모델의 동력학적 인자를 구하기 위하여 유한차분 방법을 사용하였다. 유한차분 방법은 미소 시간, Δt에서 기질 이용과 미생물 성장 곡선은 선형이며, 미소 시간에서 식 (1), (2)와 (3)의 기질과 미생물 농도는 미소 시간의 초기와 말기의 산술 평균 농도라고 가정하였고, 단일 기질 이용곡선에서 여러 개의 인자를 도출함으로써 발생하는 오차를 최소화하기 위하여 k와 K_s값만을 미지수로 두었다. 회분식 실험에서 투입된 미생물량에 비해 유기물 제거에 의해 실험기간 동안 증식된 미생물량이 미비하여 유기물 제거속도에 별 영향이 없으므로 본 연구에서의 Y값은 HPr-MCR에서 측정된 실측치를 사용하였고, k_d값은 문헌자료를 이용하였다.^{3,9)} 또한, 본 모델은 초기 조건의 k와 K_s값을 입력하여 이차원 격자 탐색(two-dimensional grid search)을 통하여 실험치와 예측치간의 편차 자승의 합(residual sum of squares, RSS)이 가장 작은 k값 및 K_s값을 도출하였다.

2.4. 실험 및 분석 방법

정상상태(steady-state)에 도달한 혐기성 미생물과 회분식 serum bottle 반응조를 이용하여 Phase I, II, III와 IV의 실험을 진행하였다. Phase I, II와 III는 각각 HPr-MCR, EtPr-MCR과 Glu-MCR에서 culture를 회분식 반응조로 옮긴 후 1 g COD/L의 프로피온산과 0, 100, 200, 400과 1,000 mg/L의 에탄올을 각 반응조마다 투입하고 발생하는 바이오 가스량을 측정하였으며, 또한 시간별로 액체 시료를 취하여 VFAs 및 에탄올을 분석하였다. 상기 실험을 수행함으로써, 초기 기질조건은 같지만 각 순화미생물들의 특징기질 선호현상에 의하여 기질대사과정이 상이한 결과를 찾을 수 있다고 사료되었다.

Table 2. Conversion of propionate and ethanol to methane under anaerobic condition

No	Reaction	Modified Monod equation of competitive substrate			
R ₁	Propionate(I) convert to acetate(III) and hydrogen(IV) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-(\text{I}) + 3\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^-(\text{III}) + 3\text{H}_2(\text{IV}) + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	$R_1 = k_1 X_1 \frac{S_I}{K_{SI}(1 + \frac{S_{II}}{K_{CI E}} + \frac{S_{III}}{K_{CIA}} + \frac{S_{IV}}{K_{CIH}})} + S_I$			
R ₂	Ethanol(II) convert to acetate(III) and hydrogen(IV) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}(\text{II}) + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COO}^-(\text{III}) + 2\text{H}_2(\text{IV}) + \text{H}^+$	$R_2 = k_2 X_2 \frac{S_{II}}{K_{SI}(1 + \frac{S_I}{K_{CI P}} + \frac{S_{III}}{K_{CIA}} + \frac{S_{IV}}{K_{CIH}})} + S_{II}$			
R ₃	Acetate(III) convert to methane(V) $\text{CH}_3\text{COO}^-(\text{III}) + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_4(\text{V}) + \text{HCO}_3^-$	$R_3 = k_3 X_3 \frac{S_{III}}{K_{SI}(1 + \frac{S_I}{K_{CI P}} + \frac{S_{II}}{K_{CIA}} + \frac{S_{IV}}{K_{CIH}})} + S_{III}$			
R ₄	Hydrogen(IV) convert to methane(V) $4\text{H}_2(\text{IV}) + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_4(\text{V}) + 3\text{H}_2\text{O}$	$R_4 = k_4 X_4 \frac{S_{IV}}{K_{SI}(1 + \frac{S_I}{K_{CI P}} + \frac{S_{II}}{K_{CIA}} + \frac{S_{III}}{K_{CIA}})} + S_{IV}$			
Propionate reaction rate		$\frac{dS_I}{dt} = -R_1$	Ethanol reaction rate	$\frac{dS_{II}}{dt} = -R_2$	
Acetate reaction rate		$\frac{dS_{III}}{dt} = -R_3 + R_1 + R_2$	Hydrogen reaction rate		$\frac{dS_{IV}}{dt} = -R_4 + 3R_1 + 2R_2$
Methane reaction rate		$\frac{dS_V}{dt} = 2R_3 + 1.25R_4$			

S_{I, II, III, IV, V} : Substrate concentration, mg/L (I : propionate, II : ethanol, III : acetate, IV : hydrogen, V : methane)
 k_{1, 2, 3, 4} : Maximum substrate utilization rate along with each reaction such as R₁, R₂, R₃ and R₄, hr⁻¹
 X_{1, 2, 3, 4} : Specific biomass concentration along with each reaction such as R₁, R₂, R₃ and R₄, mg/L
 K_{SI, 2, 3, 4} : Substrate concentration at one half the maximum rate each reaction such as R₁, R₂, R₃ and R₄, mg/L
 K_{CI X} : Competitive inhibition coefficient along with each reaction(X) and substrate(Y), mg/L

Table 3. Set-up for batch degradation tests

Phase	Materials added	Function	Remark
I	HPr-Culture	Blank	HPr Culture
	HPr-Culture+HgCl ₂ +1.0 g COD/L of HPr	Abiotic cont.	
	HPr-Culture+1.0g COD/L of HPr+4 levels of EtOH (100, 200, 400, 1,000 mg/L)	Test units	
	HPr-Culture+1.0 gCOD/L of HPr	Control	
II	EtOH · HPr-Culture	Blank	EtOH+HPr Culture
	EtOH · HPr-Culture+HgCl ₂ +1.0 g COD/L of HPr	Abiotic cont.	
	EtOH · HPr-Culture+1.0g COD/L of HPr+4 levels of EtOH (100, 200, 400, 1,000 mg/L)	Test units	
	EtOH · HPr-Culture+1.0 gCOD/L of HPr	Control	
III	Glu-Culture	Blank	Glucose Culture
	Glu-Culture+HgCl ₂ +1.0 g COD/L of HPr	Abiotic cont.	
	Glu-Culture+1.0g COD/L of HPr+4 levels of EtOH (100, 200, 400, 1,000 mg/L)	Test units	
	Glu-Culture+1.0 gCOD/L of HPr	Control	
IV	Glu(100%) · HPr(0%)-Culture+1.0 g COD/L of HPr	Test units	Mixture
	Glu(75%) · HPr(25%)-Culture+1.0 g COD/L of HPr	"	
	Glu(50%) · HPr(50%)-Culture+1.0 g COD/L of HPr	"	
	Glu(25%) · HPr(75%)-Culture+1.0 g COD/L of HPr	"	

혐기성 소화공정의 실패요인중 중간대사산물인 프로피온산의 축적에 의한 수소이용 메탄형성 미생물과 프로피온산분해 아세트산형성 미생물간의 공

생관계에 미치는 영향에 대한 기초 실험으로 Phase IV를 수행하였다. Glu-MCR을 HPr-MCR의 미생물과 Table 3에 나타난 비율로 혼합하여 희분식 반

용조를 준비하였으며, 기질로 프로피온산 1 g COD/L을 주입하였을 때의 영향을 연구하였다. 또한 이 연구결과를 토대로 프로피온산이 축적된 혐기성 소화공정을 정상적으로 운전할 수 있는 가능성을 검토하였다. Phase I, II, III, 그리고 IV의 자세한 실험 조건은 Table 3에 도시하였다.

샘플링은 2 mL씩 하였으며, 즉시 5000 rpm으로 원심분리를 수행하였다. 액체 시료에 포함된 휘발성 유기산(VFA)의 농도는 가스크로마토그래피(GC)를 이용하여 측정하였다.^{1,2)}

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 프로피온산 순화미생물을 이용한 프로피온산과 에탄올의 분해 실험(Phase I)

HPr-MCR 운전 기간동안 평균 pH는 7.26, MLVSS는 782 mg/L인 정상상태의 프로피온산 순화미생물들을 이용하여 Table 3의 Phase I 연구를 수행하였다. Phase I은 프로피온산과 에탄올 분해에 미치는 영향에 대한 연구이며, 또한 기수행된 연구 중 프로피온산 기질에 대한 프로피온산 순화미생물의 생물학적 동력학 상수와 비교하였다.^{1,2)} GC 분석을 통하여 얻은 각 프로피온산, 에탄올, 아세트산과 메탄의 자료를 식 (1), (2), (3)과 Table 2를 토대로 모델링한 결과를 Fig. 2에 도시하였다. 각 그림에서 symbol은 측정된 실험자료이며, 실선은 모델링 결과치로서 각 측정자료와 curve fitting을 수행하였다. 프로피온산의 k_1 과 K_{S1} 는 각각 0.257 hr^{-1} 과 200 mg/L 로 나타났으며, 아세트산의 분해 동력학적 상수인 k_3 과 K_{S3} 는 각각 0.216 hr^{-1} 과 58 mg/L 을 나타내었다. 또한, 에탄올의 경우 k_2 , K_{S2} 와 K_{C2P} 는 각각 0.643 hr^{-1} , 30 및 20 mg/L 을 나타내었으며, 수소이용 메탄형성균에 해당되는 동력학 상수로서 k_4 , K_{S4} 와 K_{C4A} 는 각각 0.137 hr^{-1} , 25 및 100 mg/L 을 나타내었다. Table 2에서 경쟁적 저해상수들의 경우는 모델링 결과 무시할 수 있는 수치로 나타났다. 에탄올의 농도를 점차 증가시킴에 따라 에탄올분해 아세트산 형성에 관여하는 반응에서 K_{S2} 증가와 아세트산 분해 메탄화 과정에서의 아

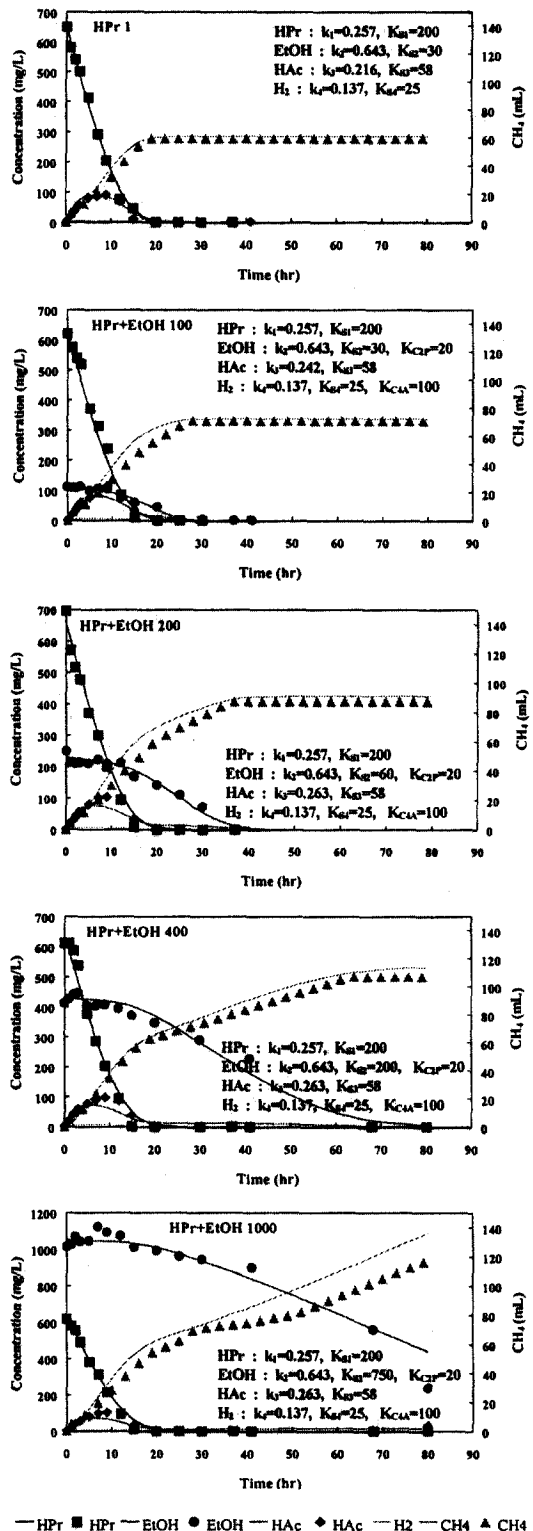


Fig. 2. Results for propionate and ethanol conversion by HPr-MCR culture.

세트산 생성 및 분해과정에 해당되는 k_3 값이 에탄올 추가 주입농도 200 mg/L까지 증가하는 결과를 얻을 수 있었다. 따라서, 본 연구에서는 프로피온산 순화 미생물들이 기질경쟁관계에서 열역학적 분해가 어려운 프로피온산을 우선적으로 분해한 후 에탄올 기질을 이용함을 알 수 있었고, 순수 기질로 프로피온산만을 주입하였을 때의 동력학적 상수와 동일함을 나타내었다.^{1,2)}

3.2. 에탄올 및 프로피온산 순화미생물을 이용한 프로피온산과 에탄올의 분해 실험 (Phase II)

EtPr-MCR의 에탄올과 프로피온산의 기질 부하율은 1 g COD/L로 조절하였다. 에탄올과 프로피온산의 농도는 각각 432 mgEtOH/L와 66 mgHPr/L로 기질 부하율의 90%와 10%에 해당되며, 운전기간동안 HPr-MCR보다 빠른 정상상태를 보였다. 정상상태에서의 pH는 7.15이며, MLVSS는 평균 1,120 mg/L인 에탄올 및 프로피온산 순화미생물을 이용하여 Phase II의 연구를 수행하였다. Phase II의 실험조건은 Phase I과 유사하지만 기질 순화미생물이 다르므로 Phase I의 결과와 비교하였다. Fig. 3은 Phase II의 결과로서 기질 부하율은 Table 3에 기술한 바와 같으며, 각 기질 부하시 프로피온산 1 g COD/L에 각기 다른 에탄올의 농도를 추가 주입하였다. Fig. 3의 에탄올 분해에 따른 slope를 살펴보면, 에탄올의 주입농도인 100과 200 mg/L가 400과 1,000 mg/L를 주입한 경우보다 에탄올 분해속도가 느린 결과를 얻을 수 있었다. 이는 순화미생물들이 저농도의 프로피온산과 고농도의 에탄올에 순화되었던 결과로서, 순화미생물들에게 고농도의 프로피온산이 주입되었을 때 나타나는 일시적인 저해현상이라고 사료된다. 프로판올은 에탄올 주입농도가 100과 200 mg/L에서 생성정도가 미비하였으나, 400과 1,000 mg/L를 주입시 각각 109와 321 mg/L가 생성되었다. 이는 에탄올과 프로피온산의 산화·환원 반응에 의한 것으로 프로판올 농도의 최대치는 반응 후 2시간에 나타났으며, 이 시간까지 프로피온산의 농도가 감소함으로 검증될 수 있었다. 2시간 후 프로판올이 감소되면서 다시 프로피

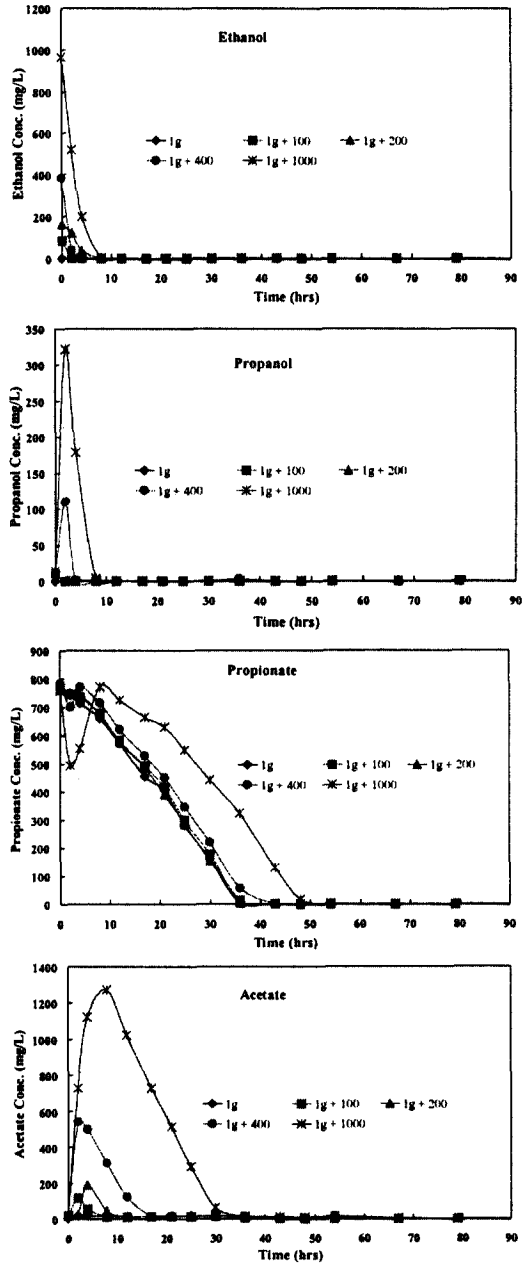


Fig. 3. Results for propionate and ethanol conversion by EtPr-MCR culture.

온산이 증가하는 것에 비추어 볼 때 에탄올이 산화되어 아세테이트로 전환이 끝난 후, 프로판올이 프로피온산으로 전환된 것을 알 수 있었다. 이런 연구 결과는 Phase I과는 다른 결과로서 EtPr-MCR과 HPr-MCR의 미생물들의 기질이용에 따른 상이한 결과로서 유추할 수 있으며, 에탄올에 비하여 갑작

스런 프로피온산의 증가에 대한 영향으로서 저농도의 에탄올을 주입한 결과에서는 에탄올 분해속도가 오히려 낮은 결과를 얻을 수 있었다.

3.3. 글루코오스 순화미생물을 이용한 프로피온산과 에탄올의 분해 실험(Phase III)

Glu-MCR의 글루코오스의 기질 부하율은 1 gCOD/L이며, 글루코오스의 농도로는 938 mgGlu/L로 운전하였다. 정상상태에서의 평균 pH는 7.23, MLVSS는 3,410 mg/L인 글루코오스 순화미생물을 이용하여 Phase III의 연구를 수행하였다. Phase III의 실험조건 역시 Phase I과 유사하지만 기질 순화미생물이 다르므로 Phase I과 Phase II의 결과와 비교하였다. Fig. 4는 Phase III의 결과로서 기질 부하율은 Table 3에 기술한 바와 같다. 에탄올 분해속도는 에탄올을 추가 주입농도에 따라 비교적 일정한 분해속도를 보이고 있으나, 1 g CODHPr/L + 400 mgEtOH/L 이상의 기질부하에서는 Phase II의 연구결과와 유사한, 에탄올과 프로피온산의 coupling 반응에 의한 프로판올 생성에 따른 프로피온산의 감소반응을 보였고, 에탄올이 아세테이트로 완전히 전환된 시점에서 부터는 프로판올이 다시 프로피온산으로 전환되는 연구결과를 얻을 수 있었다. 그러나, 에탄올 및 프로피온산의 분해되는 경향을 비교해 볼 때, Phase II 연구에서는 1 g CODHPr/L + 400 mgEtOH/L 이하에서 에탄올 및 프로피온산 순화미생물의 프로피온산 분해속도가 거의 유사하였으며, 38시간 이내에 프로피온산의 분해가 완결되는 결과를 얻은 반면, Phase III에서는 에탄올의 추가주입 농도가 증가함에 따라 프로피온산 및 아세트산의 생성 및 분해속도가 낮아지는 것으로 나타났다. 따라서 프로피온산과 에탄올 분해에 순화되지 않은 일반적인 혐기성 반응조에서 인위적인 에탄올의 주입시 에탄올 농도의 영향을 무시할 수 없다. 프로피온산이 축적된 혐기성 공정의 원활한 운전을 유도하기 위한 연구중 에탄올의 인위적인 주입만으로는 만족할만한 결과를 얻을 수 없으며, 또한 에탄올 주입에 따른 프로피온산의 일시적인 감소는 에탄올이 아세트산으로 전환이 완료된 시점 후에는 다시 프로피온

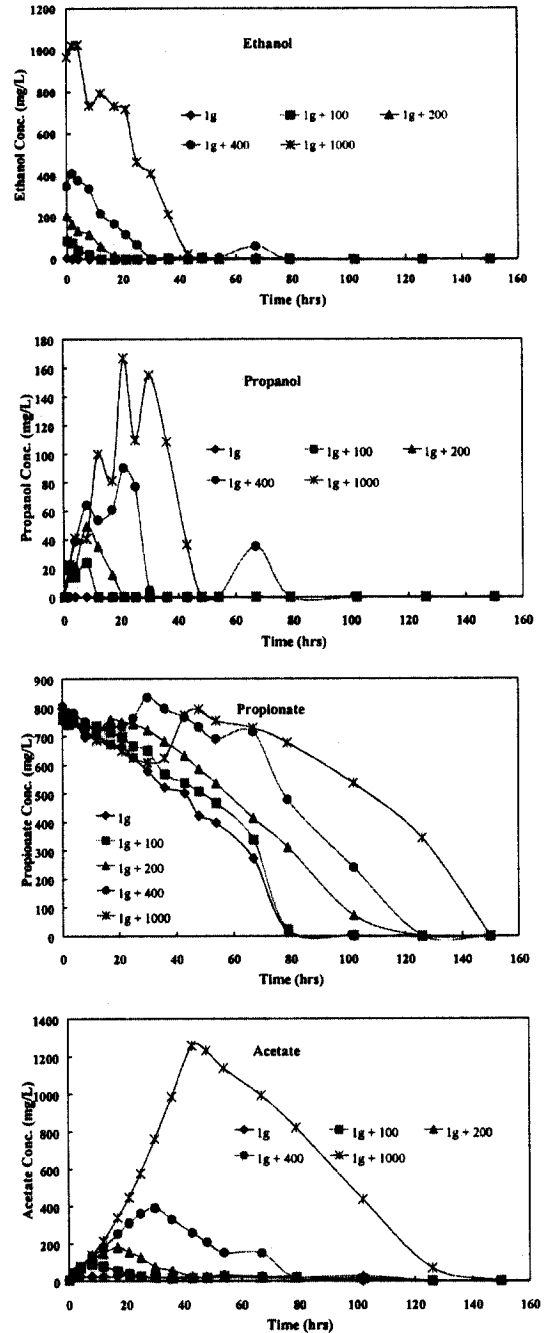


Fig. 4. Results for propionate and ethanol conversion by Glu-MCR culture.

산 증가를 초래하기 때문에 좀 더 근본적인 프로피온산의 분해에 활성을 줄 수 있는 방안을 연구해야 필요가 있다고 사료된다. 이에 Phase IV의 연구를 수행하였다.

3.4. 글루코오스 순화미생물과 프로피온산 순화미생물의 혼합비에 따른 프로피온산 분해영향 실험(Phase IV)

본 Phase IV의 연구는 기 선행된 연구내용중 혐기성 소화공정중 열역학적 분해가 어려운 프로피온산의 분해에 활성을 지니고 있는 HPr-MCR의 culture를 Glu-MCR의 culture와 혼합비를 달리 하면서 Table 3의 방법으로 연구를 수행하였다. 글루코오스가 혐기성 분해시 각기 다른 혐기성분해 대사작용에 의하여 중간대사산물들을 생성 및 분해하면서 아세트산을 생성하고, 궁극적으로 메탄과 이산화탄소로 분해되어 혐기성반응이 완결된다. 따라서, 본 Glu-MCR도 각기 다른 중간대사산물들을 분해할 수 있는 활성미생물들이 존재한다고 볼 수 있다. 이런 기질들에 대한 활성을 지닌 미생물에 혐기성 중간대사산물 중 열역학적 분해가 어려운 프로피온산을 순화미생물들의 혼합비가 다른 조건에서 1 g CODHPr/L의 기질 부하를 가하였을 때 기질의 분해동정을 살펴보았다. Fig. 5는 Phase IV의 연구를 수행한 결과를 나타낸다. 프로피온산과 아세트산만의 결과를 나타내었지만 일부는 기질인 프로피온산을 이용하여 저농도의 n-부틸산과 iso-부틸산의 생성을 살펴볼 수 있었으며, 프로판올 생성의 경우도 Phase I, II와 III의 연구결과처럼 급격한 생성을 살펴볼 수 없었다. 이는 인위적으로 에탄올을 주입하지 않고 단일기질로서 프로피온산을 주입한 결과라고 사료된다. HPr-MCR의 culture의 양에 비례하여 프로피온산의 분해속도가 증가하는 결과를 얻을 수 있었으며, 전혀 주입하지 않은 경우와 비교하여 분해속도가 2.4배에서 4배 정도의 증가하는 결과를 얻을 수 있었다. 아세트산의 경우 프로피온산 분해정도에 따라 생성된 후 완전히 분해되었다. 아세트산의 생성과 분해의 양상을 살펴보다도 HPr-MCR의 culture의 혼합비가 클수록 생성과 분해가 빠른 결과를 살펴볼 수 있었다.

4. 결 론

혐기성 소화 공정내 주요 중간생성물인 프로피온

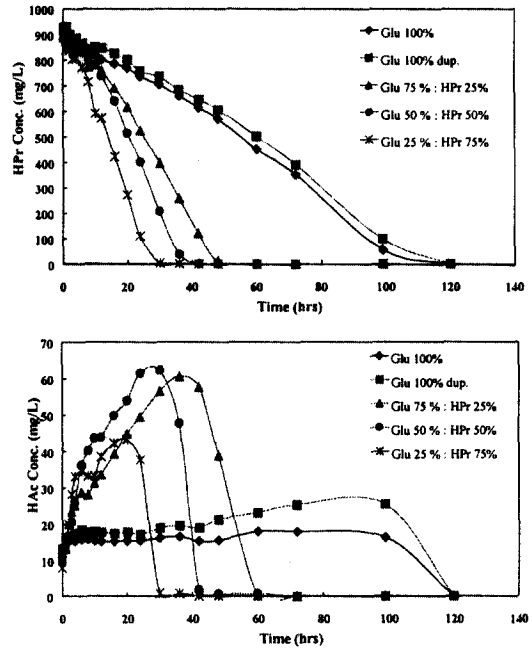


Fig. 5. Results for propionate conversion by mixed cultures from HPr-MCR and Glu-MCR.

산과 에탄올의 거동과 영향에 관한 동력학 실험 결과에 의하여 얻은 결론은 다음과 같다.

- 1) HPr-MCR내 혐기성 미생물들의 프로피온산과 에탄올에 대한 분해 활성도가 EtPr-MCR/Glu-MCR 미생물과는 상이한 결과를 얻을 수 있었다. 이는 비교적 쉬운 분해양상을 보이는 에탄올을 프로피온산과 추가 주입했을 때, 미생물의 기질 경쟁관계 때문이며, 프로피온산의 분해후 에탄올이 분해되는 결과를 나타내었다. 또한 각각의 동력학 상수는 기수행되었던 프로피온산의 분해 동력학 연구에서 얻은 동력학 상수와 동일하였다.
- 2) 프로피온산 순화미생물을 이용한 프로피온산과 에탄올의 분해실험의 결과에서 프로피온산의 k_1 과 K_{S1} 는 각각 0.257 hr^{-1} 과 200 mg/L 을 나타내었으며, 아세트산의 분해 동력학적 상수인 k_3 과 K_{S3} 는 각각 0.216 hr^{-1} 과 58 mg/L 을 나타내었다. 또한, 에탄올의 경우 k_2 , K_{S2} 와 K_{C2P} 는 각각 0.643 hr^{-1} , 30 및 20 mg/L 을 나타내었으며, 수소이용 메탄형성균에 해당되는 동력학 상수로서 k_4 , K_{S4} 와 K_{C4A}

는 각각 0.137 hr^{-1} , 25 및 100 mg/L 을 나타 내었다. 점차 에탄올 농도가 증가함에 따라 에 탄올 분해 아세트산 형성에 관여하는 반응에서 K_{s2} 증가와 아세트산 분해 메탄화 과정에서의 아세트산 생성 및 분해과정에 해당되는 k_3 값 이 일부 증가하는 결과를 얻을 수 있었다.

- 3) 에탄올 및 프로피온산, 글루코오스 순화미생 물을 이용한 프로피온산과 에탄올의 분해실험 에서 기질부하 중 프로피온산에 순화되었던 EtPr-MCR의 경우는 원활한 에탄올의 분해와 프로피온산과의 coupling 반응을 보여주었다. 이는 순화미생물에 따라 혐기성 소화공정 중 문제가 될 수 있는 VFA의 축적을 감소시킬 수 있는 중요한 연구결과라고 사료된다.
- 4) 글루코오스 순화미생물과 프로피온산 순화미 생물의 혼합비에 따른 프로피온산 분해영향실험에서는 순화미생물들의 혼합비에 따른 프로 피온산의 분해능력을 평가한 결과 낮은 프로피 온산 순화미생물 혼합비에서도 큰 활성도를 보 이는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 학술진흥재단에서 수행한 '97 공모과제 중 자유공모과제('98년 계속과제)의 지원 및 일부 두뇌한국 21(BK 21)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Hyun, S. H., Lee, J. J. and Kim, In S., "Anaerobic Degradation of Propionate and the Effect of Acetate Inhibition on the Propionate Conversion," *J. of KSEE*, **19**(12), 1475~1488(1997).
2. Hyun, S. H., Young, J. C. and Kim, In S., "Inhibition Kinetics of Propionate Degradation Using Propionate-Enriched Mixed Cultures," *Wat. Sci. & Tech.*, **38**(8-9), 443~451(1998).
3. Kim, In S., Young, J. C. and Tabak, H. H., "Kinetics of Acetogenesis and Methanogenesis in Anaerobic Reactions under Toxic Conditions," *Water Environ. Research*, **66**(2), 119~132(1994).
4. Kaspar, H. F. and Wuhrmann, K., "Kinetic Parameters and Relative Turnovers of Some Important Catabolic Reactions in Digesting Sludge," *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 1(1978).
5. Mackie, R. I. and Byrant, M. P., "Metabolic Activity of Fatty Acid-Oxidizing Bacteria and the Contribution of Acetate, Propionate, Butyrate and CO_2 to Methanogenesis in Cattle Waste at 40 and 60°C ," *Applied and Environmental Microbiology*, **41**(6), 1363(1981).
6. Mah, R. A. Xun, L. Y. Boone, D. R. and Ahring, B., "Methanogenesis from Propionate in Sludge and Enrichment Systems," in *Proceedings of the FEMS Symposium No. 54*. Plenum Press, New York(1990).
7. Ozturk, M., "Conversion of Acetate, Propionate and Butyrate to Methane under Thermophilic Conditions in Batch Reactors," *Water Research*, **25**(12), 1509(1990).
8. Smith, D. P. and McCarty, P. L., "Reduced Product Formation Following Perturbation of Ethanol- and Propionate-Fed Methanogenic CSTRs," *Biotechnology and Bioengineering*, **34**, 885~895(1989).
9. Wang, Y. T., Gabbard, H. D. and Pinchieh, Pai, "Inhibition of Acetate Methanogenesis by Phenols," *Environ. Eng. ASCE.*, **117**(4), 487~500(1991).
10. Winther-Nielsen, M. and Ahring, B. K., "Thermophilic Degradation of Butyrate, Propionate and Acetate," in *Proceeding of FEMS Symposium No. 54*. Plenum Press, New York (1990).

11. Young, J. C. and Tabak, H. H., "Multi-Level Protocol for Assessing the Fate and Effect of Toxic Organic Chemicals in Anaerobic Reactions." *Water Environ. Research*, **65**, 34~45(1993).