

## 생물학적 수소생산에 구리와 카드뮴이 미치는 영향에 관한 연구

윤우현 · 이태진<sup>†</sup>

서울산업대학교 환경공학과

(2005년 3월 3일 접수, 2005년 9월 28일 채택)

## The Effects of Cadmium or Copper on Biological Hydrogen Production

Woo-Hyun Yoon · Tae-Jin Lee<sup>†</sup>

Department of Environmental Engineering, Seoul National University of Technology

**ABSTRACT** : Experiment was conducted to investigate the amount of hydrogen gas and the characteristics of organic acids production from various carbohydrates by anaerobic bacteria. The variation characteristics of organic acids and hydrogen gas production at the fermentative culture were also studied in the presence of heavy metals such as cadmium or copper. 3.43 mole hydrogen per mole of hexose was produced when sucrose was used as a carbon source. Acetic acid and butyric acid were main products by the anaerobic fermentation. Hydrogen production rate was decreased and formation of acetic acid was increased as the concentration of heavy metals was increased in the medium. The inhibition of hydrogen production by the copper was more serious than the cadmium.

**Key Words** : Hydrogen Production, Organic Acid, Cadmium, Copper

**요약** : 혐기성균에 의해 각종 탄수화물로부터 생성되는 수소가스의 량을 측정하였으며, 이 때 생성되는 유기산의 생성 특성을 파악하고자 하였다. 또한 이를 기초로 카드뮴과 구리와 같은 중금속이 배양액에 존재할 경우 혐기성균에 의한 수소생산량과 발효산물의 변화양상을 파악하고자 하였다. sucrose가 탄소원으로 사용되었을 때 3.43 mol H<sub>2</sub>/mol hexose의 최적 수소 생산량을 보였으며, 발효산물인 유기산은 acetic acid와 butyric acid가 주로 생성되었다. 카드뮴과 구리가 배양액에 존재함에 따라 수소생산량이 낮아지는 경향을 보인 반면, 유기산 중에서 acetic acid의 생성이 높아지는 경향을 나타내었으며 수소생산에 미치는 영향은 구리가 더 큰 것으로 나타났다.

**주제어** : 수소생산, 유기산, 카드뮴, 구리

### 1. 서론

수소생산에 관한 연구의 시작은 1800년대 후반 조류와 세균에 의해 기초연구가 이루어졌으며, 1970년대 석유파동으로 인하여 수소는 “미래의 연료”로 인식되었다. 그러나 석유가격이 하락하면서 수소는 더 이상 여러 나라에서 거론되지 않게 되었다.<sup>1)</sup> 현재 세계 에너지 수요의 약 80%까지 차지하게 된 화석연료는 온실효과, 산성비와 같은 기후변화와 환경오염을 유발시켰으며, 앞으로 약 40년 전후반으로 화석연료의 고갈현상이 나타난다고 예언하는 학자들이 있는 등 제 2의 석유파동이 일어날 수도 있다고 전망되어지고 있다.<sup>2~5)</sup>

수소는 천연가스의 개질, 천연가스의 열분해등과 같은 화석연료로부터 수소를 생산하는 방법, 바이오매스로부터 수소를 생산하는 방법, 그리고 전기분해, 광분해, 생물학적 방법과 같은 물로부터 수소를 생산하는 방법 등이 있지만 현재 90%정도 화석연료로부터 생산되고 있다. 수소를 생산하는

데 화석연료를 사용하는 다른 방법과 달리 생물학적 방법은 에너지가 적게 소요되며 폐수나 유기성폐기물을 활용할 수 있기 때문에 환경친화적이어서 이에 대한 연구가 요즘 각광받고 있다.<sup>2,3)</sup>

생물학적으로 수소를 생산하는 방법은 크게 두 가지로 분류된다. 한 가지는 혐기광합성세균으로부터 수소를 생산하는 것이고, 다른 한 가지는 혐기성 세균에 의해 수소를 생산하는 것이다. 후자의 경우는 빛에너지가 필요 없이 수소를 계속 생산할 수 있다는 장점이 있으며, 혐기발효 조건에서 탄수화물을 사용하여 배양액 중에 각종 유기산과 유기용매를 축적하고 동시에 수소와 이산화탄소를 발생시킨다.<sup>6,7)</sup> 최근에 탄수화물의 함량이 높은 유기성 폐자원으로부터 수소를 생산하는 연구가 진행되고 있으나, 식품의 수확, 저장, 제조, 가공 중에 중금속이 오염되고 있어 유기성 폐자원으로부터 수소생산에 저해를 미친다.<sup>4,7~9)</sup>

따라서 본 연구에서는 glucose, sucrose 그리고 cellulose와 같은 다양한 탄수화물을 탄소원으로 사용하였을 때 혐기성 세균에 의한 수소생산량을 비교하여 보았으며, 이 때 생성되는 각종 유기산의 변화를 살펴보았다. 또한 카드뮴과 구리와 같은 중금속이 존재 하였을 때 수소 생산율을 확인함으

<sup>†</sup> Corresponding author  
E-mail: leetj@snut.ac.kr  
Tel: 02-970-6614

Fax: 02-971-5776

로서 중금속이 생물학적 수소생산에 미치는 영향을 살펴보고자 하였으며, 이 때 생성된 유기산의 변화양상을 해석하고자 하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 사용균주 및 배양방법

본 연구에 사용된 균주는 U하수처리장 활성슬러지조의 반송슬러지를 이용하였으며, 채취한 슬러지는 침전시켜 상등액을 채취하고 접종 시 질소가스로 purging하여 혐기성 상태로 유지한 후 반응기 유효용적의 1%(v/v)에 해당하는 15 mL를 주입하였다. 배양액의 조성은 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 2 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g/L, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1 g/L, NaCl 0.01 g/L, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.01 g/L, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.01 g/L, MnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.015 g/L, FeCl<sub>2</sub> 0.00278 g/L를 사용하였으며, 탄소원으로는 glucose, sucrose 그리고 cellulose를 각각 반응기 유효용적의 1%(w/v)에 해당하는 양을 따로 멸균 후 배양액에 첨가하고 혐기성 상태로 유지하기 위하여 질소가스로 15분간 purging시켰다. 배양기간 동안 pH는 조절하지 않았으며 교반속도 및 온도는 각각 200 rpm, 25±4°C였다.

### 2.2. 가스 분석

배양 중 발생하는 전체 가스는 수중에 용해되지 않도록 황산산성의 포화식염수(2% vol. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)가 담겨진 메스실린더에 수집하였으며, 수소함량은 head space를 gas-tight syringe로 100 µL 채취하여 gas chromatography(GOW-MAC series 350)로 분석하였다. 사용된 column은 6'×1/8" stainless steel SS 350A로 Molesieve 13X(80/100 mesh)를 충전물질로 사용했으며, thermal conductivity detector(TCD)를 이용하였다. 발생가스 중 수소가스 정량을 위한 GC의 조건은 injector 온도 100°C, detector 온도 100°C, 그리고 column 온도는 80°C 이었으며, carrier 가스는 질소이고, flow rate은 30 mL/min 이었다.

### 2.3. 유기산 분석

유기산은 일정량의 배양액을 원심분리(11,000 rpm, 5 min)하여 균체와 상등액을 분리하고, 상등액 20 µL를 Waters µbondapak C18 column을 dual로 장착한 HPLC(KNAUER)로 분석하였다. 검출기는 파장 210 nm의 UV detector를 이용하여 측정하였으며, 0.01 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이동상으로 이용하였고 flow rate은 0.7 mL/min이었다.<sup>7)</sup>

### 2.4. DATA 분석

누적수소생산량은 다음 식 (1)을 이용하여 일정시간마다 측정된 head space의 수소함량과 발생한 총 가스량으로부터 산출되었다.<sup>10)</sup>

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i}(V_{G,i} - V_{G,i-1}) + (V_H + V_S)(C_{H,i} - C_{H,i-1}) \quad (1)$$

여기서, V<sub>H,i</sub>와 V<sub>H,i-1</sub>은 시간간격에 따른 누적수소생산량의 현재 생산량(i)과 이전 생산량(i-1)이며, V<sub>G,i</sub>와 V<sub>G,i-1</sub>은 현재 총가스량과 이전 총가스량을 나타낸다. C<sub>H,i</sub>와 C<sub>H,i-1</sub>은 반응기의 head space에서 측정된 현재의 수소함량(%)과 이전의 수소함량(%)이며, V<sub>H</sub>와 V<sub>S</sub>은 반응기의 head space부피(500 mL)와 이전의 누적된 배양액 sampling양을 나타낸다.

### 2.5. 중금속

중금속으로는 카드뮴(CdCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, Kanto co.)과 구리(CuCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, Junsei co.)를 사용하였다. 배양액내에서의 카드뮴과 구리의 농도는 Cd<sup>2+</sup>의 경우 20, 40, 60 ppm으로 하였으며, Cu<sup>2+</sup>는 1 ppm과 5 ppm으로 하여 실험하였다.

### 2.6. 기타 분석

배양액내에 잔존하는 탄수화물은 페놀-황산법<sup>12)</sup>으로 발색시킨 후 흡광도 파장 490 nm에서 측정하였다. 균체량은 배양액을 일정시간 간격으로 일정량 채취하여 UV-Visible spectrophotometer(UV-1601, SHIMADZU)로 파장 600 nm에서 흡광도를 측정하였고, 건조균체량은 미리 작성한 표준곡선과 비교하여 환산하였다.

## 3. 결과 및 고찰

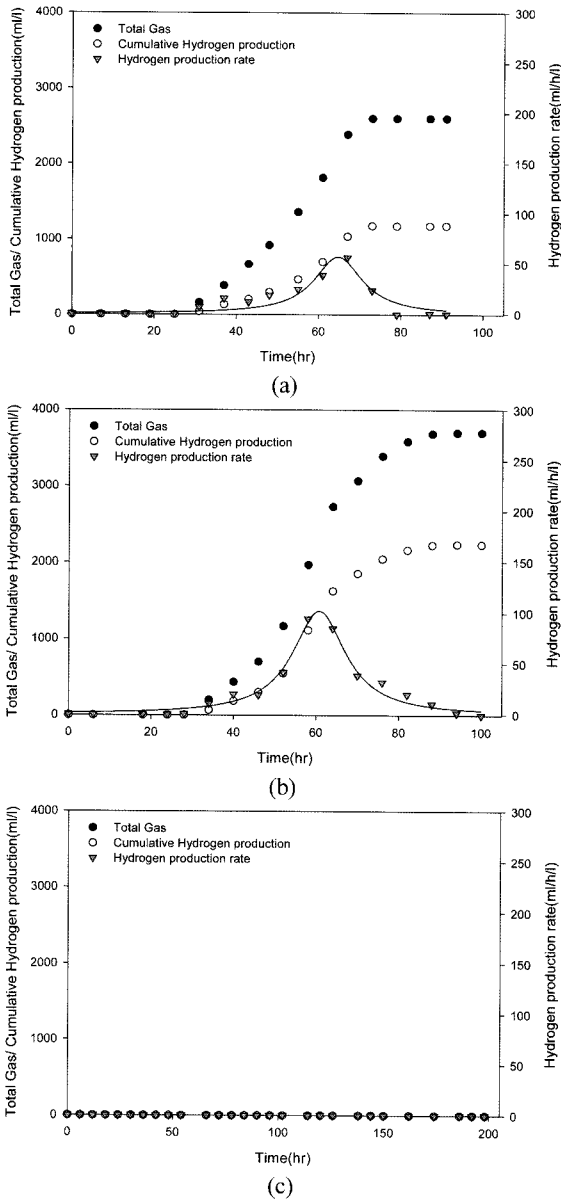
### 3.1. 탄수화물의 분해에 의한 수소생산량 비교

각종 탄수화물로부터 수소생산량을 알아보기 위하여 단당류인 glucose, 소당류인 sucrose, 그리고 다당류인 cellulose를 사용하여 실험하였으며, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

glucose를 탄소원으로 사용하였을 경우, 가스가 발생하기 까지 25시간이 소요되었으며, sucrose의 경우는 28시간이 소요되어 지체시간에는 별 차이가 없었다. 누적된 수소생산량은 glucose와 sucrose의 경우 각각 1,177 mL/L-배양액과 2,235 mL/L-배양액을 생산하였으며, 최대수소생산율은 sucrose가 101.87 mL/hr · L-배양액으로 56.91 mL/hr · L-배양액인 glucose보다 높았다. 배양기간 동안 glucose와 sucrose가 98, 99.5% 분해되었으며, 이론적 수소생산량에 대한 전환율은 24.25, 42.88%로 나타났다. 탄소원에 따른 이론적 수소생산량은 초산이 생성되었을 때 최대 수소생성량을 나타내게 되므로 이론적인 수소 생성량은 사용된 탄소원 대비 초산의 생성량으로 환산하였습니다.<sup>10)</sup>

탄소원으로 cellulose를 사용하였을 때는 glucose와 sucrose를 사용하였을 때와는 달리 배양 200시간동안 수소가스가 발생되지 않았다. 이러한 결과는 Logan et al.,(2002)<sup>10)</sup>과 Yokoi et al.,(1995)<sup>20)</sup>등 cellulose로부터 수소를 생산한 실험에서도 0.6 mL/L과 6 mL/L으로 미량의 수소가 생산될 뿐 다른 탄소원에 비해 수소생산량이 적은 것으로 보아 생물학적으로 수소를 생산하는 것이 어렵다고 판단되며 각종 탄소원에 따른 수소생산량을 Table 1에 나타내었다.

배양기간 중 최대건조균체량은 glucose 경우 274.7 mg COD/L, sucrose는 466.1 mg COD/L이었다.



**Fig. 1.** Hydrogen production in the presence of various carbohydrate as a carbon source. (a) 1% Glucose (b) 1% Sucrose and (c) 1% Cellulose.

### 3.2. 발효에 의한 유기산의 생성

주입된 미생물에 의해 탄소원이 분해됨에 따라 생성된 유기산은 배양액의 pH 강하에 영향을 줄 뿐만 아니라, 직접적으로 세포막의 pH 구배에 영향을 주어서 미생물의 성장에 저해를 준다. 또한 수소생산에 중요한 역할을 하는 hydrogenase의 활성에 저해를 주게 되어 수소생산에 영향을 미치게 된다.<sup>7)</sup> 일반적으로 *Clostridium butyricum*은 발효산물로 butyric acid를 주로 생산하는 균주로서, 1 mol의 glucose로부터 2 mol의 acetic acid와 4 mol의 수소가 생성되거나 1 mol의 butyric acid와 2 mol의 수소가 생성되지만, propionic acid는 생성하지 못한다고 알려져 있다.<sup>14)</sup> 그러나 혼합균을 사용하였을 경우 여러 미생물들이 공생하기 때문에 유기산중에 propionic acid가 검출되는 경우도 있다고 보고되고 있다.

본 실험에서 glucose와 sucrose를 사용하였을 경우, 배양 19시간과 24시간 이후부터 acetic acid가 발생하기 시작하여 배양기간 동안 총 6.63 mM과 21.45 mM이 측정되었으며, pH는 초기 pH 8.7부근에서 시작하여 배양기간 동안 급속히 감소하여 glucose 경우 pH 4.3으로 낮아졌으며, sucrose 경우 pH 4.4까지 감소하였다. cellulose 경우는 미생물이 탄소원으로부터 유기산을 생성하지 못하여 배양기간 동안 pH 8.73~8.57로 차이가 없었다.

반응기내 수소분압이 높아지게 되면 수소생산균이 저해를 받게 되어 덜 산화된 butyric acid나 propionic acid를 생성하게 된다. glucose 경우 Fig. 1(a)와 2(a)에서 수소분압이 가장 높을 때, 즉 수소생산율이 가장 높을 때가 배양 60~65시간으로 이때 acetic acid의 생성속도가 느려지게 되고 대신에 butyric acid가 급격히 생성되기 시작하여 총 8.64 mM이 측정되었으며, propionic acid는 배양기간 중 0.5 mM 정도로 소량 생성되었다. sucrose의 경우는 glucose와 마찬가지로 수소분압이 높아짐에 따라 butyric acid가 생성되기 시작하여 총 25.16 mM이 측정되었으며, 다시 수소분압이 낮아짐에 따라 acetic acid가 증가하기 시작하여 배양 100시간 동안 총 21.45 mM이 측정되었으며 propionic acid는 배양기간 동안 검출되지 않았다. Fig. 2(b)

위의 결과들을 정리하면 Table 2와 같다.

**Table 1.** Comparison of hydrogen yield with the previous studies

Substrate	Yields of H <sub>2</sub> (mol H <sub>2</sub> /mol hexose)	Evolution rates (mL H <sub>2</sub> /h · L-medium)	Organisms used	Reference
glucose	0.97	56.91	mixed microorganism	This study
	1.50	365	<i>Clostridium beijerinckii</i>	[18]
	0.92	-	mixed microorganism	[10]
	2.20	447	<i>Enterobacter cloacae</i>	[19]
sucrose	3.43	101.87	mixed microorganism	This study
	1.80	-	mixed microorganism	[10]
	6.00	660	<i>Enterobacter cloacae</i>	[19]
	1.89	-	<i>Enterobacter aerogenes</i>	[20]
cellulose	0.00	0	mixed microorganism	This study
	0.003	-	mixed microorganism	[10]

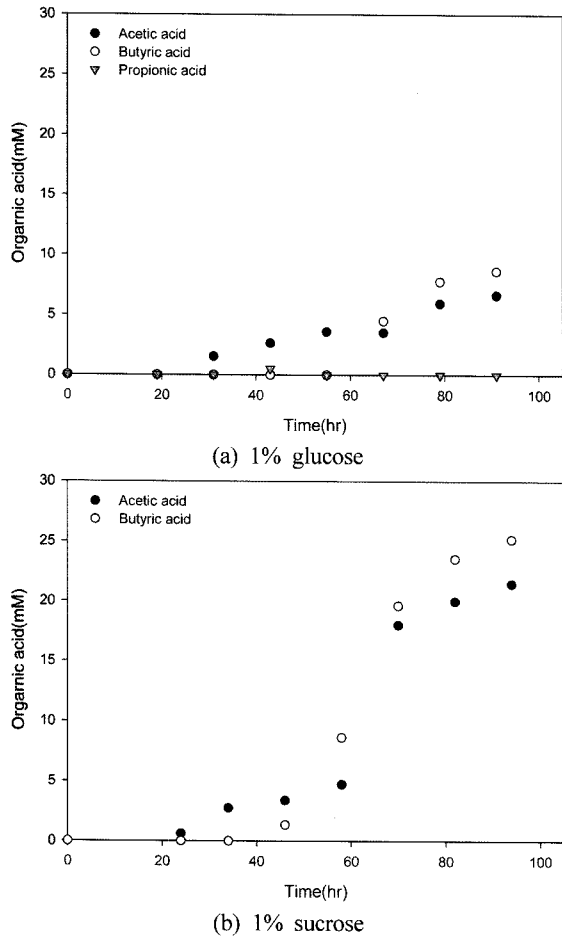


Fig. 2. Organic acid production with decomposition of carbohydrate.

3.3. 중금속이 수소생산에 미치는 영향

중금속이 수소생산에 미치는 영향을 알아보기 위해 수소생산량이 가장 많았던 sucrose를 탄소원으로 사용하였으며,

중금속을 제외한 다른 환경요인은 이전 실험과 동일한 조건에서 실험하였다.

카드뮴 20, 40, 60 ppm이 각각 배양액내에 존재하였을 경우 수소생산량을 알아보았다. 수소가 생산되기까지의 지체시간은 96시간, 120시간, 그리고 192시간으로 카드뮴 60 ppm인 경우 20 ppm보다 2배정도 지체기가 길어졌으며, 그 이후 수소가 생산되기 시작하여 총 누적된 수소의 양은 840 mL/L-배양액, 444 mL/L-배양액, 그리고 484 mL/L-배양액으로 나타났다. 최대수소생산율은 24.62 mL/hr · L-배양액, 13.88 mL/hr · L-배양액, 그리고 13.59 mL/hr · L-배양액으로 카드뮴 농도가 높아짐에 따라 최대수소생산율이 낮아지는 경향을 나타내었다.(Fig. 3 참조) 카드뮴이 존재하지 않았을 경우 2,235 mL/L-배양액이 생성된 것과 비교해보면, 카드뮴이 존재함에 따라 수소생산량이 크게 감소하고 있음을 확인할 수 있었으며, 카드뮴이 수소생산균의 대사작용에 저해를 일으켜 수소생산량이 감소한 것으로 사료된다.

이론적 수소생산량에 대한 전환율은 20, 40, 60 ppm일 때 각각 22, 8.6, 11.5%로 카드뮴이 존재하지 않았을 때와 비교했을 때 48.7~80%가량 감소하였다.

혐기성 발효에 의해 생성된 유기산은 카드뮴이 존재하지 않았을 때와 마찬가지로 acetic acid, butyric acid 그리고 propionic acid가 생성되었지만, 차이점으로는 카드뮴의 농도가 높아짐에 따라 배양기간 중 acetic acid가 다른 유기산보다 더 많이 생성되었으며, 반대로 butyric acid의 농도는 낮아지는 경향을 보였다.

카드뮴 농도별로 최대 acetic acid의 생성량을 보면 20 ppm일 때, 34.5 mM이 생성되었으며, 40 ppm과 60 ppm일 때 각각 45.4 mM과 43.5 mM을 생성하였다.(Fig. 4 참조) 카드뮴의 농도가 20 ppm과 60 ppm일 때 butyric acid가 23.9 mM과 13.77 mM을 생성하였고, 40 ppm이 존재하였을 경우는 butyric acid가 생성되지 않았으며 propionic acid가 6.24 mM로 소량 생성되었다.

Table 2. Hydrogen and organic acid formation in the presence of various carbohydrate

	glucose		sucrose		cellulose	
		%		%		%
Input carbon source	10.67 gCOD/L	100.0	11.23 gCOD/L	100.0	11.85 g COD/L	100.0
Incubation period	91 hrs	-	100 hrs	-	200 hrs	-
Cumulative hydrogen production	0.97 mol H <sub>2</sub> /mol substrate	8.6	3.43 mol H <sub>2</sub> /mol substrate	14.2	0	-
dry cell mass	1,249.5 mgCOD/L	11.7	2,120.1 mgCOD/L	18.9	-	-
Decomposition rate of carbohydrate	98 %	2	99.5%	0.5	0	-
Theoretical amount of hydrogen production	24.25 %	-	42.88%	-	0	-
pH	8.7~4.4	-	8.75~4.3	-	8.73~8.57	-
acetic acid	6.63 mM	3.9	21.45 mM	12.2	N · D	-
butyric acid	8.64 mM	12.9	25.16 mM	35.8	N · D	-
propionic acid	0.50 mM	0.4	N · D	-	N · D	-
Others		56.7		22.7		-
Recovery		96.1		104.3		-

Others: SCOD - ( VFA + soluble carbohydrate), <N · D : Not detected>

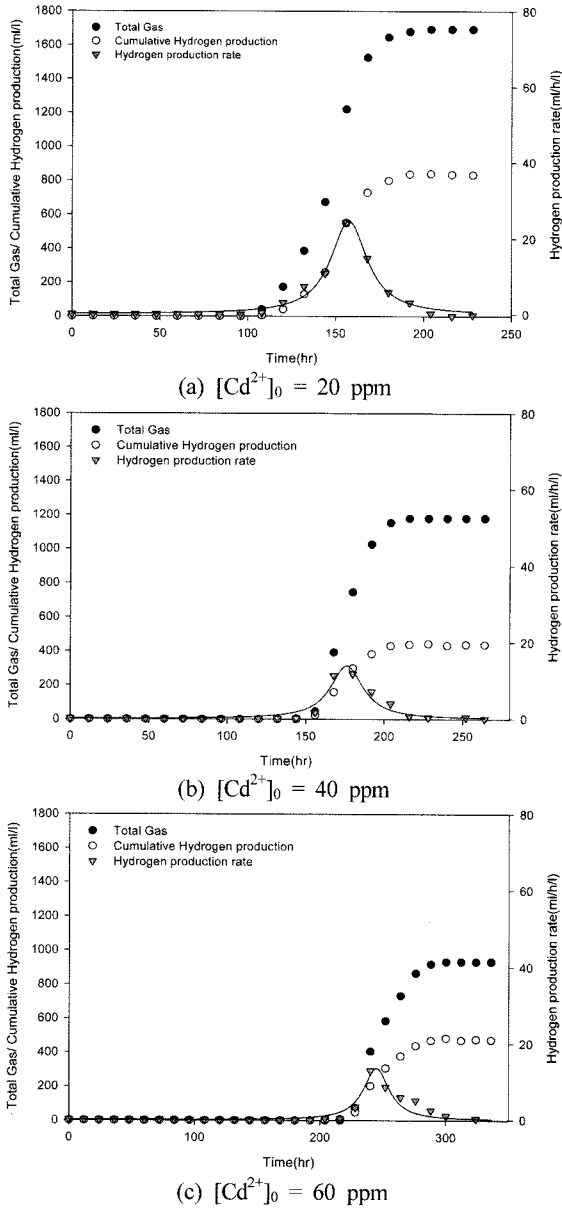


Fig. 3. Hydrogen production with various concentration of cadmium in the presence of 1% sucrose.

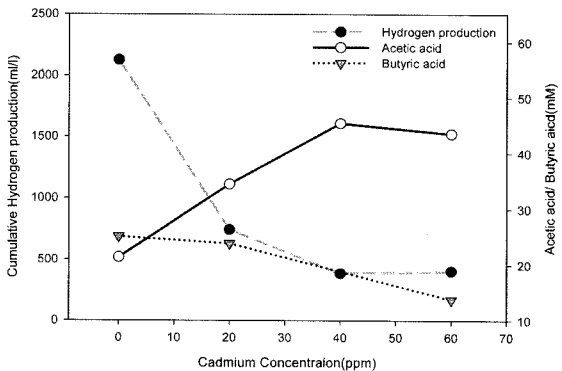


Fig. 4. Production patterns comparison of hydrogen and acetic acid in the presence of various cadmium concentrations.

김상현 외(2004) 와 Fang et al.(2002)의 연구보고서에서 pH나 주입된 탄소원의 농도 등의 변화로 환경조건이 적절하지 못하게 되어 *Clostridium sp.*가 포자를 형성하여 수소생산이 낮아지고, 발효 산물 중 butyric acid보다 acetic acid의 농도가 크게 늘어나 B/A(butyrate/acetate)의 비율이 낮아졌다고 보고된 바 있으며, 이는 환경변화에 의해 반응기내 미생물군의 우점종이 *Clostridium sp.*에서 수소를 생산하지 않는 산생성균으로 전환되었기 때문이라고 유추하고 있다.<sup>14,15)</sup>

카드뮴에 의한 수소생산균의 영향을 살펴본 본 실험에서도 이와 유사하게 카드뮴의 초기 농도가 높아짐에 따라 acetic acid의 생성량이 증가하여 카드뮴 20 ppm일 때 B/A비가 0.692에서 카드뮴 60 ppm일 때 0.32로 낮아졌으며 수소생산량도 감소하였지만, 최대건조균체량을 보면 카드뮴 20 ppm일 경우 350.3 mg COD/L, 40 ppm일 경우 457.8 mg COD/L 그리고 60 ppm일 경우 400 mg COD/L으로 카드뮴농도에 따른 균체량의 차이는 없었다. 이는 중금속이 존재함으로써 수소생산균의 성장에 저해를 일으켰으며, pH나 탄소원의 초기농도의 변화와 마찬가지로 카드뮴과 같은 중금속의 영향으로 인해 수소생산균보다 중금속에 덜 민감한 산생성균이 우점화될 수 있으며 이는 직접 수소 생산물에 영향을 미치는 것으로 판단되었다.

수소생산에 미치는 초기 구리이온의 영향을 살펴보기 위해 초기농도를 1 ppm과 5 ppm으로 설정 하였으며, 이에 따른 수소생산량은 Fig. 5에 나타내었다. 구리 1 ppm이 존재

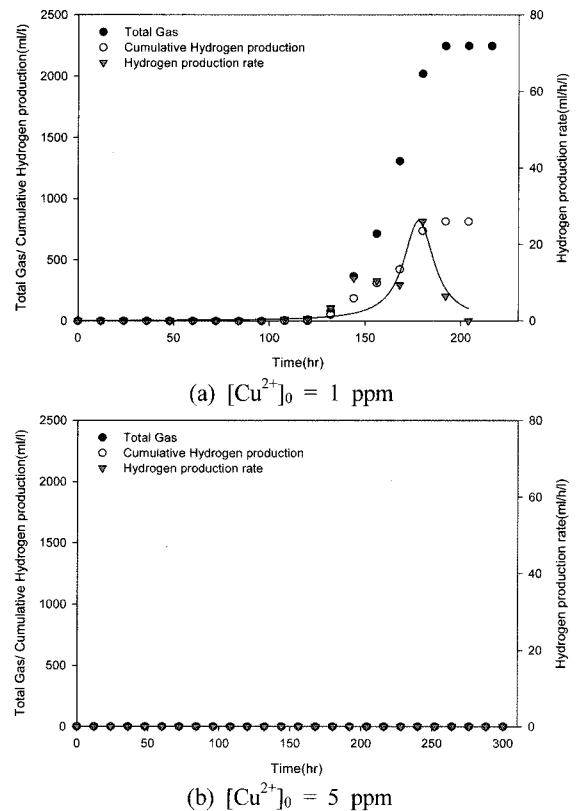


Fig. 5. Hydrogen production with various concentration of copper in the presence of 1% sucrose.

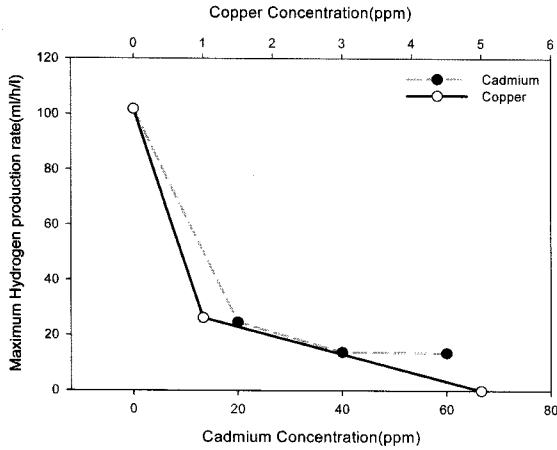


Fig. 6. Hydrogen production rate in the presence of various concentrations of cadmium or copper.

하였을 경우 216시간의 배양기간 동안 누적된 수소의 양은 813.3 mL/L-배양액이었으며, 최대수소생산율은 26.18 mL/hr · L-배양액 이었다. 이는 카드뮴 20 ppm일 때 수소생산량과 비슷하였으며, 구리 5 ppm일 때는 300시간의 배양기간 동안 수소가 생산되지 않은 것으로 보아 같은 농도에서 구리가 카드뮴보다 수소생산에 미치는 저해정도가 더 크다는 것을 나타낸다.(Fig. 6 참조) 이러한 결과는 메탄가스의 생산에 미치는 중금속의 영향을 알아본 실험들에서<sup>16,17)</sup> 중금속의 농도가 높아짐에 따라 메탄가스생산의 저해정도가 크게 나타났으며, 카드뮴보다는 구리가 메탄생산의 저해에 더 큰 영향을 미쳤다는 결과와 매우 유사하였다.

구리 1 ppm일 경우 유기산은 주로 acetic acid와 butyric acid가 생성되었으며, 생성량은 26.97 mM과 19.8 mM으로 카드뮴 20 ppm일 때와 비슷하였으며, 최대건조균체량은 508.2 mg COD/L로 나타났다. 초기 구리이온의 농도를 5 ppm으로 증가 시켰을 때, 생물학적 반응은 나타나지 않았으며 이에 따라 유기산의 생성은 검출되지 않았다.

#### 4. 결론

본 연구는 혐기성 미생물을 이용하여 탄소원으로 glucose, sucrose, 그리고 cellulose을 이용하였을 때 생성되는 수소가스량과 유기산의 변화를 살펴보았으며, 또한 중금속인 카드뮴과 구리가 존재하였을 때의 수소가스 및 유기산의 생성에 미치는 영향을 살펴보았다. 이는 중금속이 혐기성 수소생산균에 미치는 영향에 관한 연구보고서가 미미한 점을 고려하였을 때 차후 연구자들이나 현장적용에 활용할 수 있는 기초자료로 그 결과를 제공하고자 하였다. 본 연구에서 도출된 연구결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 1%의 glucose와 sucrose로부터 각각 0.97 및 3.43 mol H<sub>2</sub>/mol hexose을 생산하였으며, 시간당 최대수소생산율은 54.69, 98.18 mL/hr · L-배양액으로 이론적 수소생산량에 대한 전환율은 24.25, 42.88%로 나타났다. 배양기간 동안 생성된 유

기산은 glucose와 sucrose를 탄소원으로 사용하였을 경우 주로 acetic acid와 butyric acid이 생성되었다. 그러나 탄소원으로 cellulose를 사용하였을 경우 200시간의 배양기간 동안 수소가스와 유기산의 생성은 나타나지 않았다.

2) 중금속이 수소생산에 미치는 영향을 알아본 결과 중금속농도가 높아짐에 따라 수소생산량이 감소하였으며, 카드뮴 20, 40 그리고 60 ppm일 경우 840, 444 그리고 484 mL/L가 생산되었으며, 구리 1 ppm과 5 ppm일 경우 813 mL/L과 0 mL/L를 생산하여 카드뮴보다 구리가 수소생산에 미치는 저해정도가 더 크게 나타났다.

3) 중금속이 존재 시 유기산의 변화를 살펴본 결과, 중금속의 농도가 증가할수록 acetic acid의 생성량이 증가하였다. 이는 중금속이 존재함으로 인해 수소를 생산하는 균의 성장에 저해를 일으켜 수소생산량이 감소한 반면, acetic acid의 생성량이 증가한 것으로 보아 중금속에 덜 민감한 산생성균이 성장하여 acetic acid의 생성량이 증가한 것으로 판단되나 이러한 결론을 유추하기 위한 보다 자세한 후속적 연구가 수행되는 것이 필요하다.

#### 참고문헌

1. Benemann, J., "Hydrogen biotechnology: Progress and prospects," *Nature Biotechnology*, **14**, pp. 1101~1103(1996).
2. Das, D., Veziroglu, T. N., "Hydrogen production by biological processes: a survey of literature," *International Journal of Hydrogen Energy*, **26**, pp. 13~28(2001).
3. Khanal, S. K., Chen, W. H., Li, L., Sung, S., "Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products," *International Journal of Hydrogen Energy*, **29**(11), pp. 1123~1131(2004).
4. Mizuno, O., Ohara, T., Shinya, M., and Noike, T., "Characteristics of hydrogen production from bean curd manufacturing waste by anaerobic microflora," *Water Science and Technology*, **42**(3), pp. 345~350(2000).
5. Rifkin, J., "수소혁명", 민음사(2003).
6. Lee, Y. J., Miyahara, T., Noike, T., "Effect of pH on microbial hydrogen fermentation," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **77**, pp. 694~698(2002).
7. 김미선, 문광용, 이인구, 이태진, 성창근, "Clostridium butyricum NCIB 9576에 의한 당으로부터 혐기적 수소생산," *한국미생물생명공학회지*, **27**(1), pp. 62~69(1999).
8. 김미혜, 김정수, 소유섭, 정소영, 이종욱, "여러 가지 식품 중 중금속 함량에 관한 연구", *한국식품과학회지*, **35**(4), pp. 561~567(2003).
9. 이종욱, 김미혜, 소유섭, 이윤동, 정소영, 박성국, 김은정, 이경석, "가공식품 중 중금속 규격과학화 사업(IV)-두부류 및 목류에 대하여-," *The Annual Report of KFDA*, **6**, pp. 89~95(2002).
10. Logan, B. E., Oh, S. E., Kim, I. S., Ginkel, S. V., "Bio-

- logical hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers," *Environmental Science and Technology*, **36**(11), pp. 2530~2535(2002).
11. Ueno, Y., Kawai, T., Sato, S., Otsuka, S., Morimoto, M., "Biological production of Hydrogen from Cellulose by Natural Anaerobic Microflora," *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **79**(4), pp. 395~397(1995).
  12. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F., "Colorimetric method for determination of sugars and related substances," *Analytical Chemistry*, **28**(3), pp. 350~356(1956).
  13. Chen, C. C., Lin, C. Y., Lin, M. C., "Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process," *Applied Microbiology and Biotechnology*, **58**, pp. 224~228(2002).
  14. 김상현, 한선기, 신항식, "기질 농도에 따른 완전 혼합형 혐기성 반응조의 수소 및 유기산생산 특성", *대한환경공학회지*, **26**(4), pp. 404~409(2004).
  15. Fang, H. H. P., Liu H., "Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture," *Bioresource Technology*, **82**, pp. 87~93(2002).
  16. 공인철, "혐기성 조건에서 유기산이 페탄으로 생분해시 중금속의 영향," *대한환경공학회지*, **17**(4), pp. 359~367(1995).
  17. Hickey, R. F., Vanderwielen, J., Switzenbaum, M. S., "The effect of heavy metals on methane production and hydrogen and carbon monoxide levels during batch anaerobic sludge digestion," *Water Research*, **23**(2), pp. 207~218(1989).
  18. Taguchi, F., Chang, J. D., Takiguchi, S., Morimoto, M., "Efficient Hydrogen Production from Starch by a Bacterium Isolated from Termites," *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **73**(3), pp. 244~245(1992).
  19. Kumar, N., Das, D., "Enhancement of hydrogen production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08," *Process Biochemistry*, **35**, pp. 589~593(2000).
  20. Yokoi, H., Ohkawara, T., Hirose, J. Hayashi, S., Takasaki, Y., "Characteristics of hydrogen production by aciduric *Enterobacter aerogenes* strain HO-39," *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **80**(6), pp. 571~574(1995).