

음식물쓰레기와 폐활성슬러지의 혼합물로부터 혐기성 바이오 수소 생산 Biological Hydrogen Production from Mixed Waste of Food and Activated Sludge

정종민¹ · 홍석원¹ · 박철희² · 김영오³ · 이상협^{1*}

Chung, Chong Min¹ · Hong, Seok Won¹ · Park, Chul Hee² · Kim, Young O³ · Lee, Sang Hyup^{1*}

1 한국과학기술연구원 환경기술연구단, 2 (주)SK 기술원, 3 현대건설기술연구소 환경기술연구부

(2008년 8월 18일 접수 ; 2008년 10월 7일 수정 ; 2008년 10월 13일 채택)

Abstract

The influence of bacterial stress on anaerobic hydrogen-producing microorganisms was investigated in batch tests using serum bottles. Several physical and chemical stresses (i.e., heating, adding methane producing inhibitor and chemical acidification) were adapted as a pretreatment of the seed sludge. In this experiment, the cultivation temperature were set at mesophilic (35°C) and thermophilic conditions (55°C) with adjusting pH at 5, 6, and 7 when using the mixture of food waste and activated sludge as a substrate. In conjunction with the pretreatment, hydrogen production was significantly enhanced as compared with that from untreated sludge. However, less biogas (hydrogen and methane) was produced without the pH control, resulted from the decrease of pH to below 4, mainly due to the formation of VFAs. Hydrogen and carbon dioxide gas were analyzed as main components of the biogas while methane not detected. With an application of chemical acidification, the highest hydrogen production value of 248 ml/day achieved at pH 7 and 35°C. In addition, more hydrogen gas produced when the ratio of butyric/acetic acid ratio increased. The optimum pH and temperature for hydrogen production were found to be 7 and 35°C, respectively.

Key words : bacterial stress, heat, BESA, chemical acidification, hydrogen production, pH, temperature

주 제 어 : 혼합식중균의 전처리, 열처리, BESA, 산처리, 수소생산, pH, 온도

1. 서론

세계의 에너지수요는 약 80% 이상이 화석연료에 의존하고 있으며 이로 인해 환경오염 문제와 한정된 매장량으로 인한 에너지 부족문제 등을 야기하고 있어 화석에너지를 대체할 에너지개발이 시급한 실정이다. 특히 최근 고유가현상으로 인해 신재생에너지의 개발과 보급이 더욱 활성화될 전망

이고, 그 중 차세대 에너지원으로 수소에너지가 가장 널리 활용될 것으로 예측되고 있다. 수소는 물과 유기물질의 구성 성분으로부터 생산할 수 있어 고갈의 염려가 없고, 연소 시 미량의 NO_x와 물만이 발생하여 오염물질이 생성되지 않으며, 높은 에너지 효율을 가지고 있어 가장 유력한 화석연료를 대체 할 수 있는 에너지원으로 주목받고 있다 (Momirland and Veziroglu, 1999). 또한 금속수산화물 등

을 이용하여 수소를 금속에 저장하는 방법에 대하여 많은 투자와 연구가 진행 중에 있다 (Lay, 2001).

현재 수소는 96% 이상이 화석연료로부터 제조되고 있으나 (Das and Veziroglu, 2001), 이 또한 매장량의 한계, 고가의 제조비와 환경오염물질 배출로 인해 근본적인 한계가 있다. 최근 혐기성 미생물을 이용하여 유기성폐기물로부터 수소를 생산하는 생물학적 수소 생산 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 (Levin et al., 2004), 이는 다양한 유기성폐기물로부터 수소를 생산할 수 있다는 잠재성으로 인해 최근 일본을 비롯한 유기성폐기물이 풍부한 국가에서 집중적으로 연구되고 있는 기술이다.

우리나라의 경우 발생하는 유기성폐기물 중 음식물쓰레기 발생량은 2005년 기준 12,977 톤/일이 발생되고 있으며 음식물쓰레기 직매립 금지 (2005.1.1) 이후 분리 배출되는 음식물쓰레기가 증가하고, 국민의 생활수준 향상 및 웰빙문화의 확산으로 인한 과일·채소류의 소비증가 등으로 향후 더욱 증가할 것으로 보인다. 또한 잉여슬러지 발생량은 2007년 기준 347개소에서 7,631 톤/일이 발생되고 있으며, 하수도 보급률의 증가 경향에 따라 향후 증가할 것으로 보인다 (환경부, 2007). 특히 국내의 잉여슬러지 처리는 처리비가 저렴한 해양투기에 의해 대부분 처리되고 있으나 런던협약에 의거하여 해양투기가 금지될 전망이므로 발생하는 잉여슬러지의 감량화가 시급한 실정이다. 또한 음식물쓰레기 및 잉여슬러지는 유기물질을 다량 함유하고 있어 부적절하게 처리하게 되면 2차 오염으로 인한 환경피해가 우려되기 때문에 유기물의 효율적인 재이용을 위한 노력이 요구되고 있는 실정이다.

따라서 혐기성 수소생산 기술은 음식물쓰레기 및 잉여슬러지 처리와 관련된 문제점들을 효과적으로 활용할 수 있으며, 유기성폐기물의 처리 및 대체에너지의 회수라는 장점을 가지고 있다. 또한 혐기성 수소생산을 위한 기질로서 서로 다른 성상을 가진 유기성폐기물, 즉 음식물쓰레기와 잉여슬러지를 적절한 비율로 혼합하여 사용하면 수소생산효율의 상승작용 및 보완작용을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

일반적으로 혐기성소화를 통해 수소를 생성하는 미생물은 조류, 광합성 미생물 그리고 비광합성 미생물 등이 있으며, 특히, 비광합성 미생물을 이용한 수소생산은 별도의 에너지공급이 필요하지 않으므로 경제적이고, 광합성 미생물을 이용한 수소생산에 비해 반응속도가 빠르며 (Das and Veziroglu, 2001), 수소의 연속생성이 가능하다는 장점을 가지고 있어 현재 적용 가능성이 가장 높은 수소 생산기술로 평가 받고 있다 (Kapdan and Kargi, 2006). 비광합성 미생물을 이용한 수소생산에 관한 다양한 연구가 진행되어 왔으며, Clostridium속과 Enterobacter속의 세균이 수소 회수가 유력한 세균으로서 알려져 있다.

한편, 혐기성 소화에서 수소발생을 위한 기본적인 개념은 메탄생성 미생물의 활성억제이다. 혐기성 소화에서 발생된 수소는 메탄생성 미생물에 의해 메탄으로 전환되기 때문이다. 따라서 최적의 수소생산을 기대하기 위해서는 발효과정 중 수소생산에 영향을 미치는 운전인자를 살펴보아야한다. 그 요인으로는 환경적요인 (Fang et al., 2002), pH (Tanisho et al., 1989; Fang et al., 2002) 그리고 HRT (Hydraulic Retention Time) (Fang et al., 2000) 등이 있는 것으로 알려져 있으며, pH 제어 그리고 HRT의 조정으로 순양종의 배양 없이도 수소를 생산할 수 있다는 연구결과가 보고되고 있다. 또한 혼합식종균에 다양한 전처리 (Stress)를 적용하여 spore를 형성하는 수소생성 미생물을 제외한 다른 모든 미생물의 활성을 억제하여 수소생성 미생물을 자연계로부터 쉽게 얻을 수 있는 것으로 알려져 있다 (Cohen et. al., 1985).

본 연구에서는 혼합식종균에 열처리, BESA 주입 그리고 산처리를 이용한 전처리 방법을 적용하여 혼합식종균으로부터 수소생성 미생물을 선별하는 최적의 방법을 조사하고, 이를 바탕으로 기질로서 음식물쓰레기와 잉여슬러지를 이용하여 최적의 수소생산 조건을 도출하고자한다. 혐기성 수소생산에 있어 pH 및 온도의 영향을 주요 실험 인자로 선정하였으며, 이들 인자들이 수소생산효율에 미치는 영향 및 최적의 수소 생산을 위한 운전조건을 도출하고자 한다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 실험재료

2.1.1. 혼합식종균 및 기질

본 연구에 사용된 혼합식종균은 서울시에 위치한 J 물재생센터의 혐기성 소화조에서 채취하여 1.41 mm sieve로 거른 후 3일 동안 starvation 시킨 후 사용하였다. 기질로서 사용된 음식물쓰레기는 서울시에 위치한 H사 내 구내식당에서

Table 1. Characteristics of seed sludge, food waste and activated sludge

Items	Average		
	Seed sludge	Food waste	Activated sludge
TSS (mg/l)	5,200	11,400	2,500
VSS (mg/l)	4,400	11,000	2,000
TS (%)	2.24	12.73	0.5
VS (%)	1.06	12.26	0.39
TCOD _{Cr} (g/l)	25	171	15
SCOD _{Cr} (g/l)	3.25	84.25	4.25
T-N (mg/l)	360	170	100
T-P (mg/l)	587	282	421
pH	6.8	3.5	6.4
Alkalinity (mg/l as CaCO ₃)	4,400	1.5	1,050

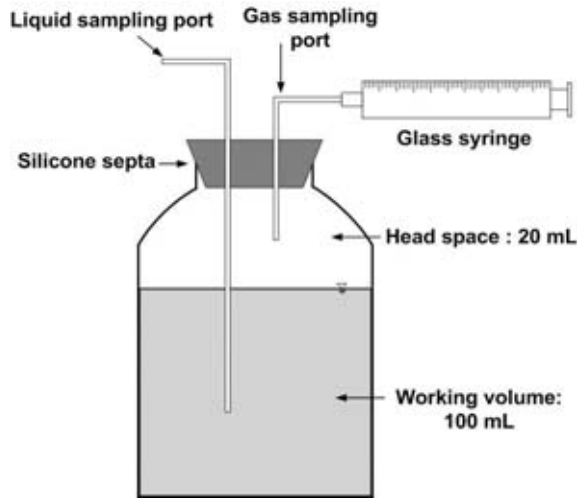


Fig. 1. Schematic diagram of batch reactor.

5일 동안 채취하여 공업용 믹서기로 파쇄한 후 2 mm sieve로 걸러 사용하였으며, 잉여슬러지는 서울시에 위치한 J 물재생센터의 2차 침전지에서 혐기성 소화조로 유입되는 슬러지를 채취하여 2 mm sieve로 거른 후 사용하였으며, 대상 기질의 가용화를 위한 전처리방법으로 동결 (-20℃) 및 해동 (상온) 방법을 사용하였다. 실험에 사용된 혼합식종균의 성상 및 시료의 성상은 Table 1과 같으며, 음식물쓰레기와 잉여슬러지를 1:1 비율로 혼합하여 사용하였다.

2.1.2. 실험장치

본 실험에 사용된 회분식 반응기는 유효부피가 100 ml (총 부피 120 ml)인 serum bottle를 총 24개 사용하였으며, 가스의 발생량과 성상을 Owen (1979) 등이 제시한 방법에 따라 gas syringe를 이용하여 측정하기 위해 반응기 상부에 gas sampling port를 설치하였다. 또한 반응기 내부의 고형물을 채취하기 위해 liquid sampling port를 설치하였다. 실험에 사용된 회분식 반응기의 개략도는 Fig. 1과 같다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 혼합식종균의 전처리

본 연구에서는 혼합식종균으로부터 수소생성 미생물의 선별을 위한 최적의 전처리 방법을 도출하고자 열처리, 산처리, BESA (메탄생성억제제)를 이용한 전처리 방법을 적용하였다. 열처리의 경우 혼합식종균을 90℃에서 20분간 가열하였으며, 산처리의 경우 과염소산 (HClO₄)을 이용하여 혼합식종균을 pH 2로 조정 후 4℃에서 30분간 보관한 후 사용하였으며 (Jean et al., 2000) 그리고 메탄생성억제제의 경우 0.5 M BESA (BrCH₂SO₃Na, sodium 2-bromoethanesulfonate; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)를 혼합식종균과 10 분간 혼합한 후 사용하였다 (Wang

et al. 2003b; Zehnder, 1988; Zinder et al., 1984). 이와 같은 혼합식종균으로부터 전처리는 메탄생성 미생물과 같이 수소를 소모하거나 수소생성을 저해하는 미생물의 활성을 억제하고 spore를 형성하는 수소생성 미생물을 자연계로부터 쉽게 얻을 수 있는 것으로 알려져 있다 (Cohen et al., 1985).

2.2.2. 운전 조건

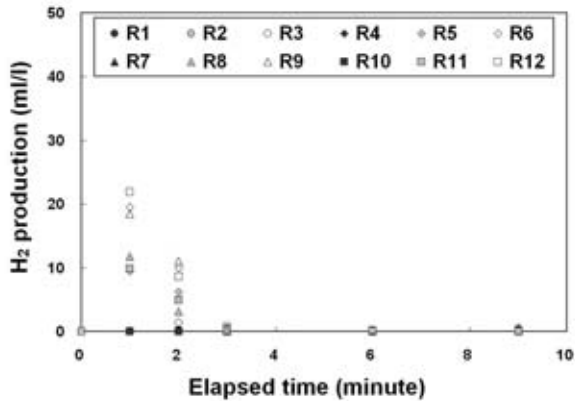
혼합식종균의 전처리가 수소생성효율에 미치는 영향 및 수소생산을 위한 최적의 운전조건을 조사하기 위하여 pH 및 온도를 실험인자로 선정하여 실험실 규모의 혐기성 소화조를 9일간 운전하였다. 회분식 반응기에는 전처리한 혼합식종균 10 ml를 초기 VSS 농도를 20,000 mg VSS/l로 조절하여 주입하였다. 기질로서 음식물쓰레기 45 ml, 잉여슬러지 45 ml를 주입하여 실험하였으며, 혐기성 조건을 유지하기 위하여 Ar gas로 5분간 탈기시키고 밀봉한 후 실험을 실시하였다. 수소생산 효율에 pH가 미치는 영향을 알아보고자 반응조 내 pH를 5N-H₂SO₄와 5N-NaOH 용액으로 pH 5, 6, 7로 조절하였으며, 온도의 영향을 조사하고자 incubator를 이용하여 각각 35℃와 55℃로 조절 후 실험을 진행하였다. 실험은 두 부분으로 나누어 진행하였으며 적용된 실험 조건은 Table 2와 같다. 먼저 열처리, BESA 주입 그리고 산처리한 혼합식종균에 대해 배양 전 pH를 각각 5, 6, 7로 조정 후 운전기간동안 pH의 조정 없이 운전을 진행하였으며, 그리고 그 결과를 바탕으로 배양기간 중 발효산물에 의해서 낮아지는 pH를 배양 전 pH로 유지하기 위해 운전기간동안 1일 1회씩 5N-NaOH 용액으로 조절하며 실험을 진행하였다.

2.2.3. 분석방법

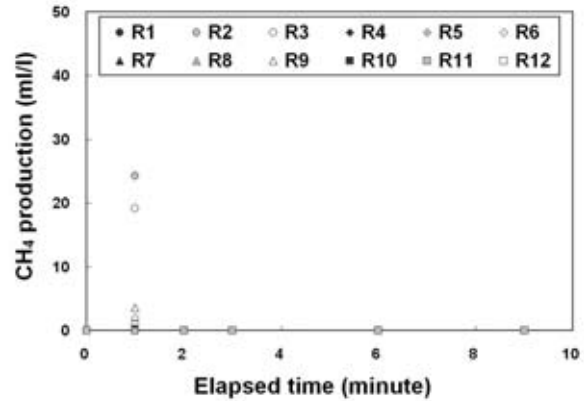
실험이 진행되는 동안 공정의 운전 상태를 평가하고자 혐기성 소화조 내용물을 1일 1회 1.5mL를 채취하여 TS, VS, TCOD_{Cr}, SCOD_{Cr}을 Standard Method (APHA et al., 1998)에 따라 측정하였으며, pH는 pH meter (Orion Model 250A)를 이용하여 측정하였다. 반응기로부터 생성된 가스발생량은 Glass syringe를 이용하여 측정하였으며, 가스성분은 GC-TCD (Agilent 6890N) 그리고 VFAs의 분

Table 2. Experimental conditions of batch reactor operation

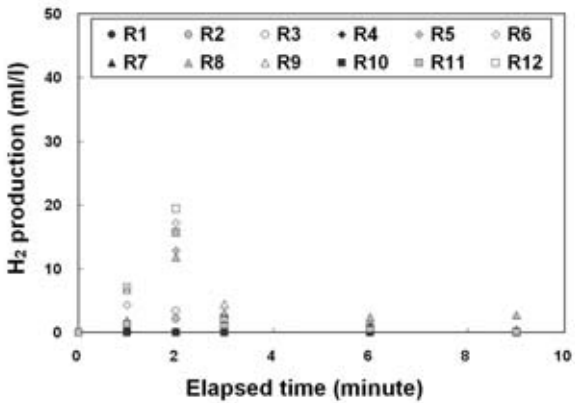
Reactor	Treatment	pH	Reactor	Pretreatment	pH
R1	Uncontrol	5	R7	BESA	5
R2	Uncontrol	6	R8	BESA	6
R3	Uncontrol	7	R9	BESA	7
R4	Heat	5	R10	HClO ₄	5
R5	Heat	6	R11	HClO ₄	6
R6	Heat	7	R12	HClO ₄	7



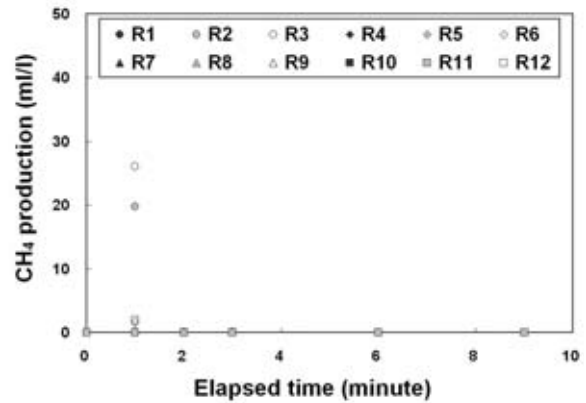
(a) No pH control at 35°C



(a) No pH control at 35°C



(b) No pH control at 55°C



(b) No pH control at 55°C

Fig. 2. Daily hydrogen production changes (No pH control).

Fig. 3. Daily methane production changes (No pH control).

석은 GC-FID (Agilent 6890N)를 이용하여 측정하였다. 분석조건은 Table 3과 같다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 전처리한 혼합식종균에 대한 초기 pH 및 온도의 영향

초기 pH 5, 6, 7 조건에서 혼합식종균의 다양한 전처리에 따른 수소생산효율을 조사하기 위해 중온 (35°C) 및 고온 (55°C)에서 대상 전처리별 수소생산효율을 평가하였다. 대상 전처리별 초기 pH 및 온도에 따른 수소생산량과 메탄생산량은 Fig. 2, 3과 같다. 배양온도와 무관하게 대상 반응조 모두 식종 후 2~3일이 경과한 시점부터 수소생산이 종료되

었으며 pH는 배양 시작과 동시에 급격히 저하되어 1일이 경과한 후 부터 대상 반응조 모두 4.0~4.3 내외의 값을 일정하게 유지하였다. 각각의 배양조건에 따른 수소생산 특성을 살펴보면 혼합식종균의 전처리 및 배양온도와 무관하게 초기 pH 5의 조건에서 배양된 R1, R4, R7, R10의 경우 배양 기간 동안 수소 및 메탄이 생산되지 않는 현상을 보였으며, 이는 낮은 초기 pH 및 배양시작 후 반응조 내 유기산 축적으로 인한 pH 저하로 인해 수소생성미생물 및 메탄생성미생물의 성장하기에 알맞은 조건이 제공되지 못했기 때문으로 판단된다 (Tanisho et al., 1989). 일반적으로 pH 5 보다 낮은 pH에서는 수소생성미생물의 활성이 저하되며 alcohol을 생성하는 방향으로 대사 경로가 바뀐다고 알려져 있다 (Fang et al., 2002; Hawkes et al., 2002)

Table 3. Gas chromatographic conditions for gas analysis

Detector	TCD (Thermal Conductivity Detector)	FID (Flame Ionization Detector)
Column	Carboxen-1000 (8 in × 2.1 mm)	HP-FFAP (30 m × 0.32 mm, ID, 0.25 μm)
Detector temperature	200°C	250°C
Injector temperature	80°C	250°C
Injection volumn	100 μm	1 μm
Carrier gas	Ar (15 ml/min)	He (1.9 ml/min)

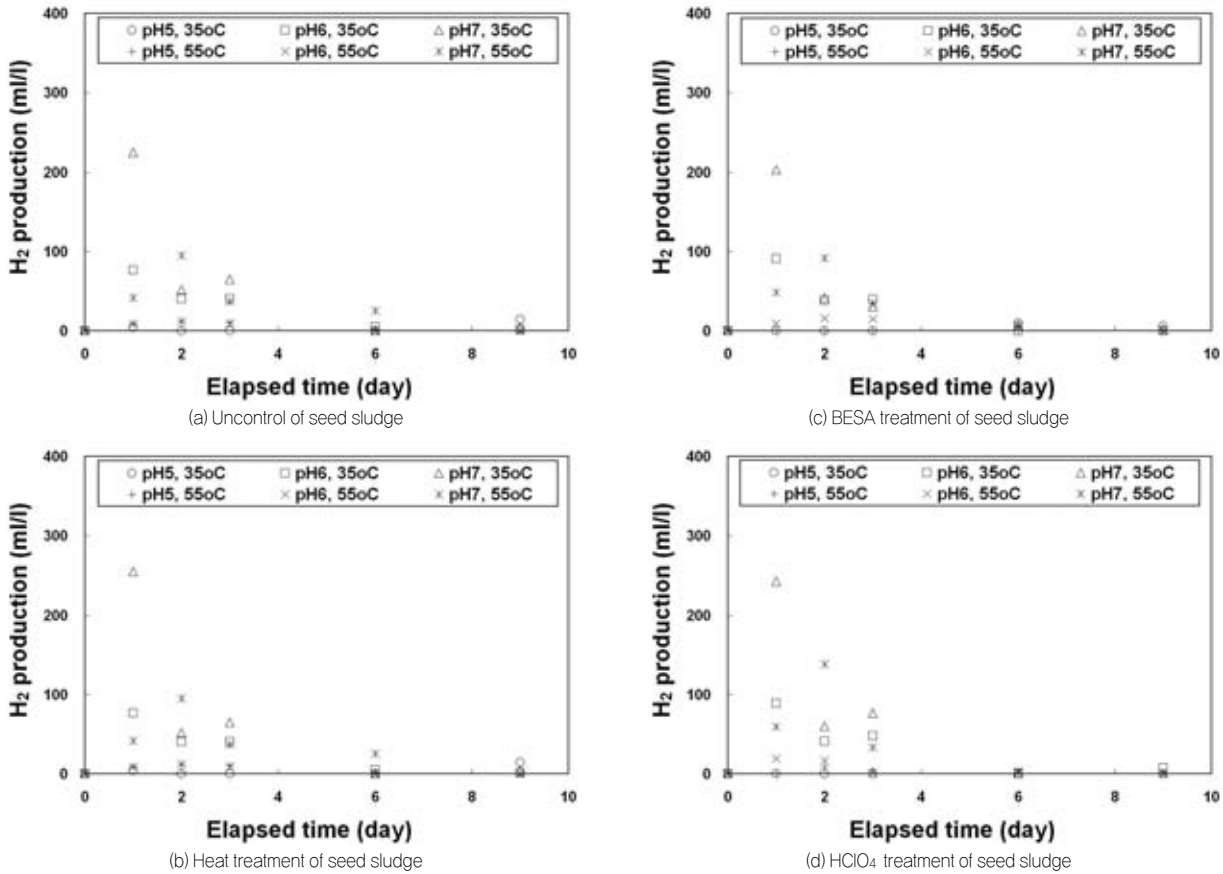


Fig. 4. Daily hydrogen production changes (pH control).

혼합식종균의 전처리 없이 pH 6, 7조건에서 중온으로 배양된 R2, R3 그리고 고온에서 배양된 R2, R3의 경우 배양 시작 후 1일 동안 평균 20~25 ml/l 내외의 메탄생산을 보이다 반응조 내 pH 저하로 인해 운전 2일부터는 메탄생산이 종료되었다. 한편, 혼합식종균을 전처리한 대상 반응조 모두 배양기간 동안 메탄은 생성되지 않았으며, pH 6, 7의 조건에서 배양된 혼합식종균을 전처리한 반응조 (R5, R6, R8, R9, R11, R12)의 경우 배양기간 동안 생성된 바이오 가스는 수소와 이산화탄소만으로 구성되었으며, 수소생산량은 중온의 경우 배양시작 후 1일 시점에서 높게 나타났으며, 고온의 경우는 2일 시점에서 높게 나타났다. 하지만 이후 시점부터는 수소생성이 종료되어 수소발생 지속시간이 매우 짧게 나타났다. 이상의 결과 혼합식종균에 대한 다양한 전처리로 인한 메탄생성미생물의 소멸 가능성을 확인하였지만, 배양시작 후 반응조 내 pH 저하로 인해 혼합식종균에 대한 최적의 전처리 방법 및 온도가 수소생성효율에 미치는 영향은 명확하게 나타나지 않았다. 이와 같이 수소생성이 어느 시점에서 더 이상 이루어지지 않은 이유로는 회분식 반응기에서 실험을 진행하였기 때문에 head space에 높은 수소분압이 형성되고, 반응조 내 낮은 pH로 인한 미생물 군집분포

의 변화 등에 기인한 것으로 사료된다.

Fang and Liu (2001)는 혐기성 조건에서 수소생성효율을 저하요인을 메탄생성미생물과 관련 있는 것으로 보고한 바 있다. 그러나 본 연구에서는 수소생성효율의 저하는 메탄생성미생물 및 수소를 소비하는 미생물에 의한 것이 아니라 낮은 pH로 인해 수소생성미생물 및 메탄생성미생물이 성장하기에 알맞은 조건이 제공되지 못했기 때문으로 나타났다. 따라서 혐기성 수소생산에 있어 반응조 내 pH의 변화는 반응상태를 나타내는 매우 중요한 인자로 확인되었으며, 반응조 내 pH의 조정이 필요한 것으로 나타났다.

3.2. 전처리한 혼합식종균에 대한 pH 조정 및 온도의 영향

3.2.1. 수소생성효율

중온과 고온에서 혼합식종균의 전처리가 수소생성효율에 미치는 영향을 알아보기로 5N-NaOH 용액으로 매일 1회씩 초기 pH 조건을 일정하게 유지하며 수소생산효율을 평가해 보았다. 각각의 전처리에 따른 pH 및 온도별 수소생산량은 Fig. 4와 같다. 초기 수소생산은 모든 반응조에서 배양시작 후 1일째부터 나타났으며 전반적인 수소발생량은 고온에 비

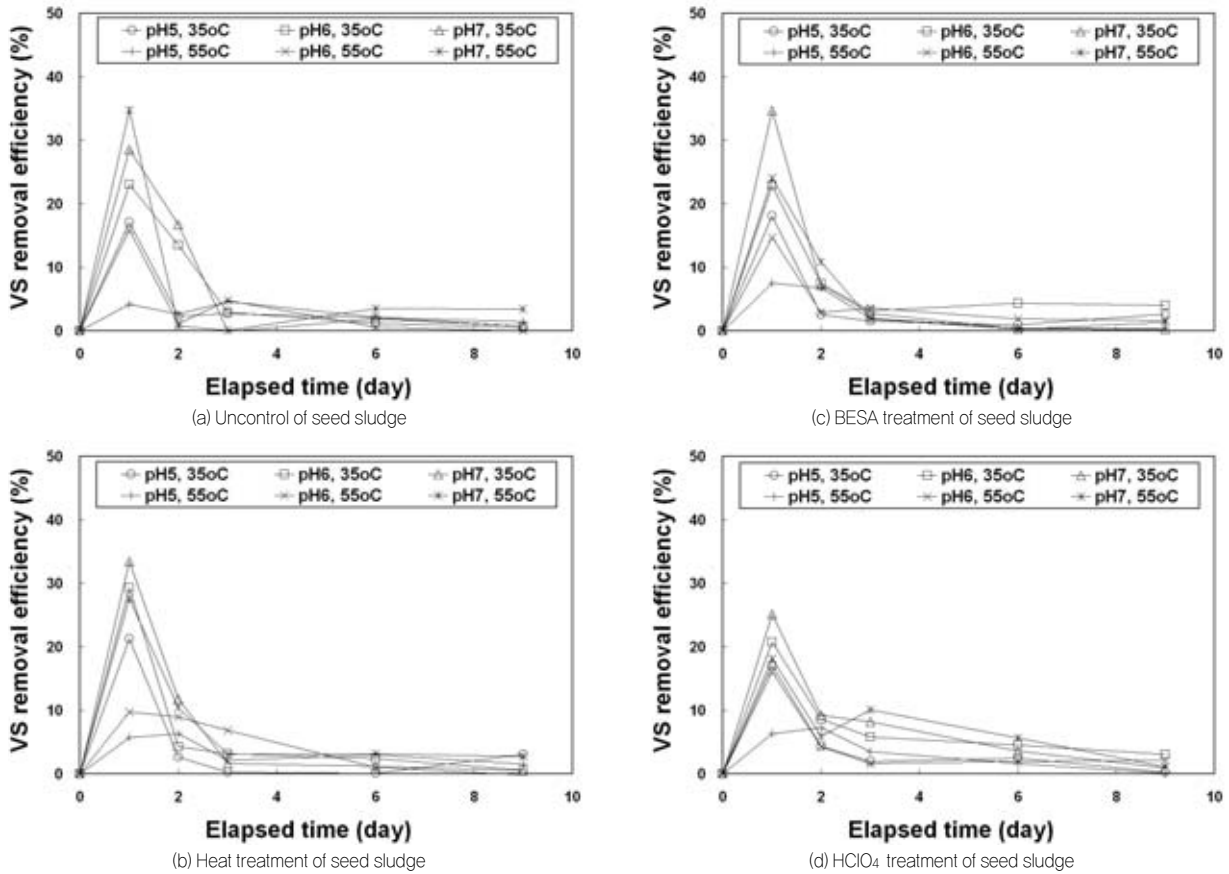


Fig. 5. Daily hydrogen production changes (pH control).

해 증온에서 높은 효율을 보였으며, 전처리 없이 pH 6, 7에서 배양된 반응조의 경우 증온 및 고온에서 운전기간동안 20~25 ml/day 내외의 메탄이 생성되었으며, 전처리한 반응조의 경우 배양기간 동안 메탄은 생성되지 않았다. pH 5의 조건에서 배양된 반응조의 경우 수소 및 메탄이 생산되지 않는 현상을 보였는데 이는 앞서 언급한바와 같이 낮은 pH이 인해 수소생성미생물 및 메탄생성미생물의 활성이 저하되어 alcohol을 생성하는 방향으로 대사 경로가 바뀐 것으로 판단된다. pH 5내외의 낮은 pH는 메탄생성미생물의 활성을 저하시키지만 오히려 수소생성에는 역효과를 미치는 것으로 나타났다. 한편, pH가 수소생성효율에 미치는 영향에 대해 셀룰로오스를 기질로 사용한 Fnag and Liu (2002)의 연구결과 pH 5.5 내외에서 높은 수소생성효율을 보였으며, 반대로 sucrose를 기질로서 사용한 Lee 등 (2002)의 연구결과 pH 9 내외의 조건에서 최적의 수소생성효율을 보인다는 상반된 연구결과가 보고되고 있는데, 이는 대상기질의 차이로 사료된다.

배양조건에 따른 수소생산 특성을 살펴보면 전처리별 최대 수소생산량은 배양시작 1일째에 증온 및 pH 7 조건으로 배양된 반응조로 나타났으며, 이후 서서히 감소하는 경향을

보이다 3일 후 급격히 감소하여 6일째에서 수소발생이 종료되었다. 혼합식중균의 전처리별 최대 수소생산량의 차이는 뚜렷하게 나타났다. 혼합식중균의 전처리 없이 배양된 반응조 (R3)의 경우 배양 1일째에 증온의 조건에서 최대수소생산량은 140 ml/l, 열처리한 반응조 (R6) 경우 225 ml/l, BESA를 주입한 경우 203 ml/l 그리고 산처리한 경우 248 ml/l로 나타났다. 이와 같이 배양 1일째에 혼합식중균을 전처리한 반응조가 높은 수소생산량을 보이는 것은 전처리 후 포자상태에서 발아된 수소생성균은 경쟁자가 대부분 소멸된 상태에서 충분한 기질을 섭취하면서 지수성장하고 동시에 수소를 빠르게 생성하기 때문이다. 하지만 배양이 진행됨에 따라 수율의 제약과 다시 자라기 시작하는 다른 미생물과의 경쟁에서 도퇴되어 수소소생산량이 감소하는 것으로 사료된다. 한편, 배양기간동안 반응조 내 SCODcr 농도는 50 g/L 이상을 유지하였다. 열처리는 현재 알려진 수소생성 미생물의 선별 방법 중 효과가 가장 확실하고 비교적 간단한 방법으로 알려져 있으나 BESA 주입 및 산처리의 경우도 높은 수소생성효율을 보이는 것으로 나타났다. 이상의 실험결과 혼합식중균에 대한 수소생성미생물의 우점화를 위한 다양한 전처리 방법의 가능성을 확인하였으며, 전체 반응조에 대해

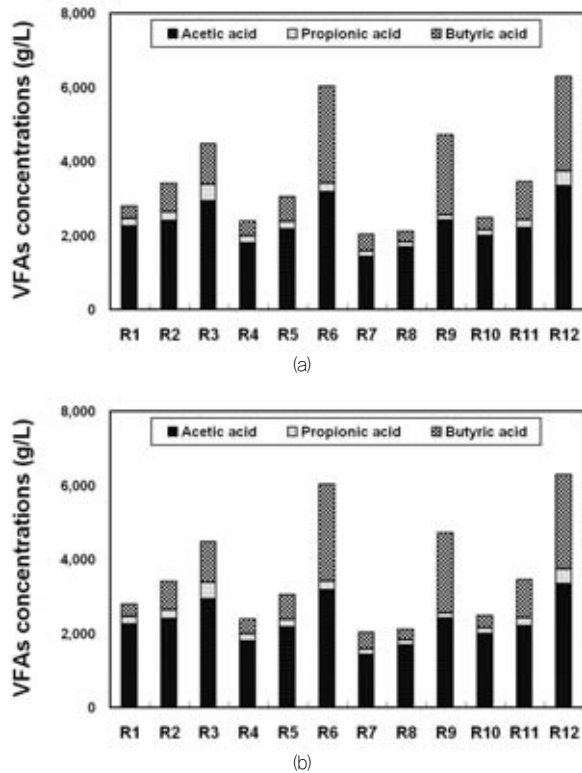


Fig. 6. Organic acid from reactors at 35°C (a) and 55°C (b).

반복적인 전처리를 통해 연속적으로 수소를 생산할 수 있을 것으로 판단된다.

3.2.2 고형물 제거효율

수소생산 시 배양기간에 따른 고형물 제거 특성이 어떻게 변화하는지를 평가하기 위해 시간에 따른 휘발성 고형물 제거율을 평가하였으며, 혼합식중균의 전처리에 따른 pH 및 온도별 휘발성 고형물 제거율은 Fig. 5과 같다. 배양기간 동안 휘발성 고형물의 제거율은 수소생산효율과 유사한 경향을 보였다. 바이오가스가 거의 생성되지 않은 pH 5 조건에서 배양된 반응조들의 경우 중온에서 총 휘발성 고형물 제거율이 $26.1 \pm 1.0\%$, 고온에서 $17.4 \pm 1.8\%$, pH 6 조건에서 배양된 반응조의 경우 중온에서 $41.4 \pm 1.3\%$, 고온에서 $24.9 \pm 1.8\%$ 그리고 pH7 조건에서 배양된 반응조의 경우 중온에서 $47.2 \pm 1.4\%$, 고온에서 $42.2 \pm 3.7\%$ 로 나타났다. 총 휘발성 고형물의 제거율은 최대의 수소발생량을 보였던 중온 및 pH 7 조건에서 47%내외로 가장 높게 나타났다. 또한 Fig. 5(a)과 같이 혼합식중균의 전처리 없이 배양된 반응조의 경우 휘발성 고형물의 제거율은 최대 수소생산량을 보였던 배양시작 1일째에 중온에서 28.6%, Fig. 5(b)과 같이 혼합식중균의 열처리로 배양된 반응조의 경우 중온에서 33.4%, Fig. 5(c)과 같이 혼합식중균에 BESA를 주입한 후

배양된 반응조의 경우 중온에서 34.7% 그리고 Fig. 5(d)과 같이 혼합식중균에 산처리로 배양된 반응조의 경우 중온에서 27.2%로 실험기간 동안 가장 높은 제거율을 나타냄으로써 중온 및 pH 7조건에서 미생물의 활성도가 극대화되어 최대의 수소생산량 뿐만 아니라 휘발성 고형물의 분해율도 최대임을 알 수 있었다. 이상의 결과 반응조 내 휘발성 고형물이 수소생성미생물에 의해 분해되어 기질로서 이용되었음을 유추할 수 있었다. 한편 pH 6이하 및 고온에서에서 배양된 반응조들의 경우 총 휘발성 고형물 제거율이 40% 이하로 pH 7 및 중온에 비해 낮게 나타났다. 이는 반응조 내 낮은 pH로 인해 유기물을 분해하는 미생물의 활성이 저하되거나 사멸하여 매우 낮은 처리효율을 보이는 것으로 사료된다.

3.2.3. 발효산물의 분포 특성

혼합식중균의 전처리, pH 그리고 온도에 따른 발효산물의 분포 특성을 살펴보기 위해 수소생산과 밀접하게 관계된 주요 유기산의 생산량을 살펴보았다. 생물학적 수소 생산에서는 butyric acid와 acetic acid의 비율인 B/A ratio와 propionic acid의 농도를 수소생산효율과 관련지을 수 있다 (Chen and Lin, 2003). 즉 B/A ratio는 높을수록 그리고 propionic acid의 농도는 낮을수록 생물학적 수소 생산 효율이 증가하는 것으로 알려져 있다. 그 이유는 혼합식중균의 전처리는 메탄생성미생물과 같이 수소를 소모하거나 수소생성을 저해하는 미생물의 활성을 억제하고 spore를 형성하는 수소생성미생물만이 활성을 보이는데 그 중 대부분이 Clostridia 종으로 구성되어 있으며, Clostridia 종은 acetate를 이용하여 수소를 생산하는 과정에서 butyric acid를 생산하기 때문이다. 또한 메탄생성미생물과 propionic acid를 생성하는 미생물의 경우 수소를 이용하여 메탄이나 propionic acid를 생성하기 때문에 propionic acid의 농도는 수소생산과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있다 (Sparling et al., 1997).

Fig. 6은 각 반응조별 VFAs 중에서 acetic acid와 butyric acid 그리고 propionic acid의 농도를 보여주며, 기타 유기산은 극히 미량으로 분석되었으므로 실험 data로 나타내지 않았다. Fig. 6(a)과 같이 높은 수소생산효율을 보인 중온의 경우 고온에 비해 VFAs 중 butyric acid가 차지하는 비율이 상당히 높게 나타났으며, 또한 pH가 높아짐에 따라 배양 온도와 무관하게 VFAs 농도는 증가하는 경향이 뚜렷하게 나타났다. 수소생산효율이 가장 높았던 중온 및 pH 7 조건에서 배양된 반응조의 경우 R3, R6, R9, R12에 대한 B/A ratio는 2.9, 3.2, 3.7, 6.5로 ratio값이 상대적으로 높게 나타났으며, 이는 butyric acid를 생성하는 수소생산미생물들의 우점화가 높았으리라 판단된다. 반면, 온도와 무관하게 pH 5, 6조건에서 배양된 R1, R2, R4, R5, R7, R8, R10,

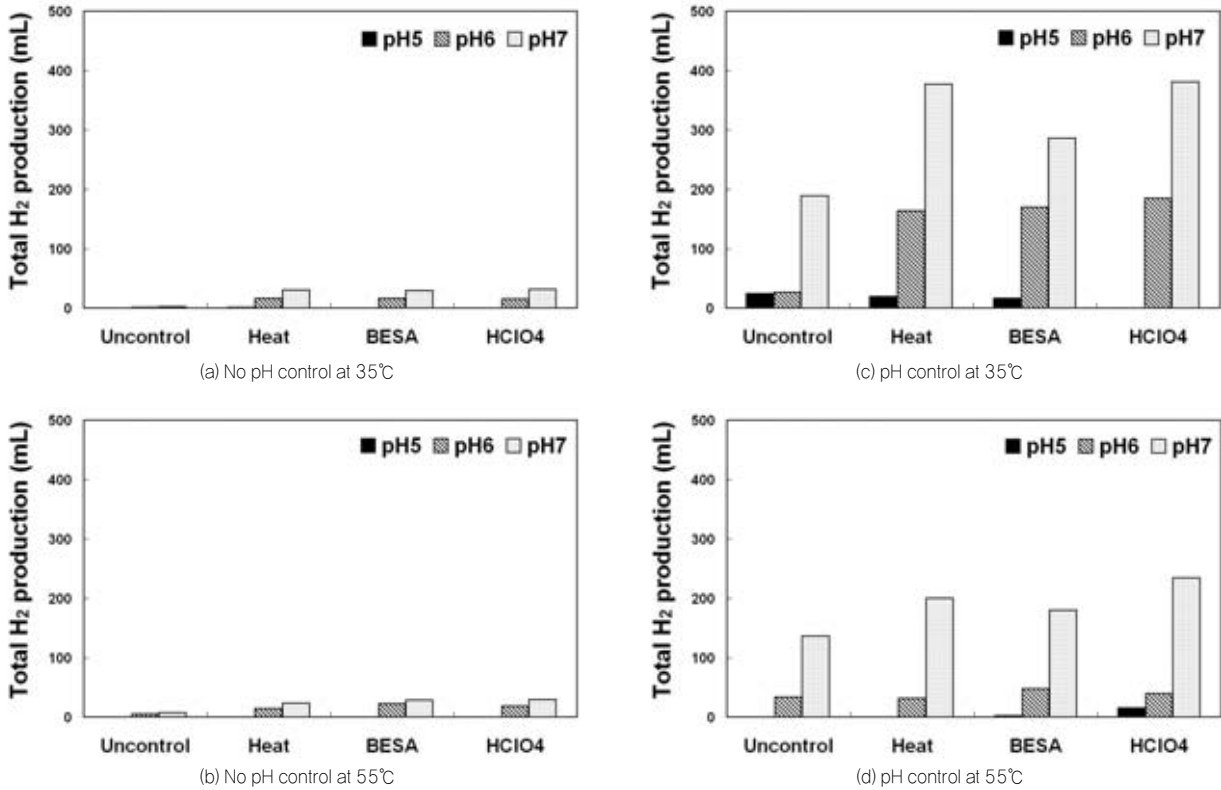


Fig. 7. Total hydrogen production.

R11의 경우 B/A 비가 1이하로 나타났으며, 이는 acetic acid를 생성하는 수소생성미생물들의 우점도가 높았으리라 판단되며, 또한 수소생성미생물이 수소를 생성하지 않는 산생성미생물 또는 아세트산 생성미생물로 전환되어 이에 따라 분해된 기질에 비해 낮은 수소생산효율을 보이는 것으로 판단된다. 이는 Leclerc 등 (1997)이 보고한 기존의 연구결과와 같은 경향을 보였다. 한편, propionic acid의 경우 온도 및 pH에 상관없이 큰 차이를 보이지 않고 있으며, 수소생성에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

3.3. 총 수소발생량

본 연구에는 회분실험을 두 부분으로 나누어서 진행하였다. 먼저 회분식반응기에 전처리한 혼합식중균을 주입하고 초기 pH를 조정 후 중온 및 고온에서 회분실험을 진행하였으며, 다음으로 배양기간 동안 유기산에 의해 저하되는 pH를 1일 1회씩 조절을 통해 배양기간 동안 초기 pH를 일정하게 유지하며 중온 및 고온에서 실험을 진행하였다. 중온과 고온에서 pH 조정 없이 배양된 반응조와 pH 조정을 통해 배양된 반응조에 대한 실험기간 동안 총 발생된 수소 생산량은 Fig. 7에 나타나진 것과 같다. pH 조정 후 수소발생량은 현격히 증가하였으며, 고온에 비해 중온에서 더욱 높은 수소생산효율을 보였다. 배양기간 동안 pH 5, 6에서는 수소생산효

율이 높지 않았으며, 이는 수소생산 시 최적운전 조건으로 보고된 pH 5.0~6.0 범위를 벗어난 결과이며 (Lin et al., 1999), 대상기질의 차이로 인한 것으로 사료된다. 한편 본 연구에서는 최적의 수소생산 조건은 중온 및 pH 7로 나타났으며, 혼합식중균 대해 전처리 방법으로 열처리, BESA, 산처리를 적용하였는데 모두 높은 수소생성미생물의 우점화를 보였으며, 배양기간 동안 메탄은 생성되지 않았다.

4. 결론

본 연구에서는 혼합식중균에 다양한 전처리 방법을 적용하여 혼합식중균으로부터 수소생성 미생물을 선별하는 최적의 방법을 조사하고, 이를 바탕으로 기질로서 음식물쓰레기와 잉여슬러지를 이용하여 최적의 수소생산 조건을 도출하기 위해 회분식 실험을 수행하였고, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 초기 pH를 5, 6, 7 조건에서 배양된 회분식 반응기의 경우 배양온도와 무관하게 pH는 배양 시작과 동시에 급격히 저하되어 1일이 경과한 후 부터 4.0~4.3 내외의 값을 일정하게 유지하였다. pH 조정 없이 배양된 반응조에서는 낮은 수소발생량을 보였으며 이는 배양 시작 후 반응조 내 유기산 축적으로 인한 pH 저하로

- 인해 수소생성미생물 및 메탄생성미생물의 성장하기에 알맞은 조건이 제공되지 못했기 때문에 사료된다. 따라서 배양기간 동안 pH 조정이 필요한 것으로 나타났다.
- 열처리, BESA 주입 그리고 산처리를 이용하여 혼합식종균에서 수소생성 미생물을 선별할 수 있음을 확인하였으며 또한 혼합식종균의 전처리 없이 배양된 반응조의 비해 월등히 높은 수소생산량을 보였다. 이는 전처리 후 포자상태에서 발아된 수소생성 미생물은 경쟁자가 대부분 소멸된 상태에서 충분한 기질을 섭취하면서 지수성장하고 동시에 수소를 빠르게 생성하기 때문에 사료된다. 이는 전체 반응조에 대해 반복적인 전처리를 통해 연속적으로 수소를 생산할 수 있을 것으로 판단된다.
 - 산처리한 혼합식종균을 증온 및 pH 7 조건에서 배양한 반응조가 배양시작 후 1일이 경과한 시점에서 가장 높은 수소생산량을 보였으며, 동시에 미생물의 활성도가 극대화되어 휘발성 고형물의 분해율도 최대임을 알 수 있었다. 또한 배양기간 동안 생성된 가스는 수소와 이산화탄소이며 메탄은 생성되지 않았다.
 - 높은 수소생산량을 보인 증온의 경우 고온에 비해 VFAs 중 butyric acid가 차지하는 비율이 상당히 높게 나타났으며, 수소생산효율이 가장 높았던 증온 및 pH 7 조건에서 배양된 반응조의 경우 butyric acid/acetic acid ratio는 상대적으로 높게 나타났다. 이는 butyric acid/acetic acid ratio 비가 높을수록 수소발생량이 증가한다는 기존의 연구와 일치하는 결과이다. 한편, propionic acid의 경우 온도 및 pH에 상관없이 큰 차이를 보이지 않고 있으며, 수소 생성에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

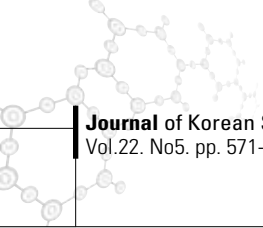


감사의 글

본 연구는 (주) SK 에너지의 연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사의 뜻을 표합니다.

참고문헌

- 환경부, (2007) *환경백서 2007*
- APHA, AWWA, WEF (1998) *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th ed., American Public Health Association, Washington, DC, USA.
- Momirlan, M, and T. Veziroglu. Recent directions of world hydrogen production. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 3:219-231.
- Cohen, A., B. Distel, A. Van Deursen, and J. G. Van Andel (1985) Role of anaerobic spore-forming bacteria in the acidogenesis of glucose—changes induced by discontinuous or low-rate feed supply, *J. microbiol.* 51, 179-192.
- Chen, C. C. and Lin, C. Y. (2003) Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor, *Advances in Environmental Research*, 7, 695-699.
- Das, D., Veziroglu, T. N. (2001) Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *Int. J. Hydrogen Energy*, 26:13-28.
- Fang, H. H. P and Liu, H. (2001) Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture, *Bioresource Technology*, 82, 87-93.
- Fang, H. H. P., Liu, H. and Zhang, T. (2002) Characterization of a hydrogen-producing granular sludge, *Biotechnology and Bioengineering*, 78(1), 44-52.
- Fang, H. H. P., Member, A. and Yu., H. (2000) Effect of HRT on mesophilic acidogenesis of dairy wastewater, *Journal of Environment Engineering*, 126, 1145-1148.
- Han, S. J. and Shin, H. S. (2004) Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste, *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 569-577.
- Kapdan, I. K. and Kargi, F. (2006) Bio-hydrogen production from waste materials, *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 569-582.
- Lay J.J. (2001) Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose. *Biotechnol and Bioengineering*, 74, 280-287.
- Leclerc, M. Bernalier, A., Donadille, G. and Lelait, M. (1997) H₂/CO₂ Metabolism in Acetogenic Bacteria Isolated From the Human Colon, *Anaerobe*, 3, 99, 307-315.
- Lee, Y. J., Miyahara, T. and Noike, T. (2002) Effect of pH on microbial hydrogen fermentation, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, 694-698.
- Levin D, Pitt L, Love M (2004) Biohydrogen production: prospectus and limitations to practical application. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29, 173-185.
- Lin, C. Y. and Chang, R. C. (1999) Hydrogen production



- during the anaerobic acidogenic conversion of glucose, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **74**, 498-500.
17. Owen, W. F. and Stuckey, D. C., Healy, J. B., Young, L. Y. and McCarty, P. L. (1979) Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Research*, **13**, 485.
18. Sparling, R., D. Risbey and H. M. Poggi-Varakdo (1997) Hydrogen production from inhibited anaerobic composters, *International Journal of Hydrogen Energy*, **22**, 563-566.
19. Tanisho, S., Kamiya, N. and Noriaki, K. (1898) Hydrogen evolution of *Enterobacter aerogenes* depending on culture pH, *Biochimica et Biophysica Acta*, **973**, 1-6.