

# 반응표면분석법을 활용한 생물전기화학적 혐기성 소화 공정의 최적화

이채영<sup>1</sup> · 최재민<sup>1</sup> · 한선기<sup>2†</sup>

<sup>1</sup>수원대학교 토목공학과·하천환경기술연구소, <sup>2</sup>한국방송통신대학교 환경보건학과

## Optimization of Bioelectrochemical Anaerobic Digestion Process Using Response Surface Methodology

CHAE-YOUNG LEE<sup>1</sup>, JAE-MIN CHOI<sup>1</sup>, SUN-KI HAN<sup>2†</sup>

<sup>1</sup>Department of Civil Eng., The University of Suwon, 17, Wauan-gil, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, Korea  
Institute River Environmental Technology, 17, Wauan-gil, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, Korea

<sup>2</sup>Department of Environ. Health, Korea National Open University, 86, Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul, Korea

**Abstract** >> This study was performed to optimize the integrated anaerobic digestion (AD) and microbial electrolysis cells (MECs) for the enhanced hydrogen production. The optimum operational conditions of integrated AD and MECs were obtained using response surface methodology. The optimum substrate concentration and operational pH were 10 g/L and 6.8, respectively. In the confirm test, 1.43 mol H<sub>2</sub>/mol hexose was achieved, which was 2.5 times higher than only AD. After 40 to 60 hour at seeding, the volatile fatty acids (VFAs) in reactor of AD were not changed. However the VFAs of reactor of AD-MECs were reduced by 61.3% (acetate: 76.4%, butyrate: 50.0%, lactate: 55.0%).

**Key words** : Scum(스컴), Thermo-alkaline pre-treatment(열-알칼리 전처리), Anaerobic H<sub>2</sub> fermentation(혐기성 수소 발효), Response surface methodology(반응표면분석법)

### 1. 서 론

화석 연료를 대체하고 이산화탄소의 배출을 절감시키기 위한 에너지 생산 기술이 최근 주목 받고 있다. 수소는 화학 공업 분야의 공급 원료이자 부가가치 높은 에너지 매체로 활용 가능하다. 또한 수소는 높은 에너지 수율과 산화 시 부산물로 물이 발생하는 청정에너지이다<sup>1-2)</sup>. 수소를 생산할 수 있는 생물

학적 공정에는 직·간접 생광분해(biophotolysis and indirect-biophotolysis), 미생물 전해 전지(microbial electrolysis cells, MECs), 광발효(photo fermentation) 그리고 혐기성 발효(anaerobic or dark fermentation) 등이 있다<sup>3-4)</sup>. 혐기성 수소 발효의 경우 빛이 없는 조건에서 생산이 가능하며 발생속도가 빠르고 음식물류 폐기물, 도시 고형 폐기물 등과 같이 적용 가능한 기질의 폭이 넓다는 장점을 가지고 있다<sup>5-6)</sup>. 그러나 혐기성 수소 발효는 다른 공정에 비해 수소 발생량이 가장 낮다. 1 mol의 포도당으로부터 얻을 수 있는 이론적 수소 발생량은 12 mol이나 혐기성 수소 발효

<sup>†</sup>Corresponding author : chaeyoung@suwon.ac.kr

Received: 2015.8.12 in revised form: 2015.10.22 Accepted: 2015.10.30

Copyright © 2015 KHNES

의 경우 4 mol에 불과하다. 4 mol  $H_2$ /glucose mol의 발생량은 부산물이 초산과 수소로만 이루어질 때만 가능하며, 실제로는 뷰틸산, 젖산, 프로피온산 등 초산외의 유기산 생성으로 더 낮은 결과들을 보인다<sup>6-7)</sup>. 또한 단독 혐기성 수소 발효 시 부산물로 유기산이 생성되어 유출수 내 유기물의 함량이 높으며, 이를 제거하기 위한 후처리 공정이 필요하다<sup>6)</sup>. 이러한 혐기성 수소 발효의 단점을 극복하기 하고자 메탄 발효, 미생물 연료 전지(microbial fuel cells, MFCs), 미생물 전해 전지 또는 비산소성 광합성(anoxygenic phototrophy) 등이 후처리 공정으로 고려되고 있다<sup>6)</sup>. 이 중 미생물 전해 전지는 미생물 신진대사와 전기화학이 결합된 기술로써, 이론적 수소 발생량 대비 67~91%의 수소 전환율을 보인다. 또한 미생물 전해 전지는 혐기성 구연산 순환 과정(anaerobic citric acid cycle)을 통해 발생하는 유기산을 이산화탄소로 완전 산화시킬 수 있다<sup>8)</sup>. 그러나 미생물 전해 전지는 수소 발생 속도가 낮은 단점을 가지고 있다. 0.8 V의 인가전압에서 미생물 전해 전지의 최대 수소 발생 속도는 0.13 L  $H_2$ /L·h으로 나타났다. 그에 반해 혐기성 수소 발효의 경우 7.92 L  $H_2$ /L·h으로 50배 이상 높게 나타났다<sup>9-10)</sup>.

Yang 등(2015)은 혐기성 수소 발효의 부산물인 휘발성 지방산(volatile fatty acids, VFAs)을 이용하여 미생물 전해 전지의 성능을 평가하였다. 뷰틸산을 기질로 이용할 경우 5.94 mol  $H_2$ /mol acetate로 초산과 프로피온산에 비해 높게 나타났으며, 이 때 SCOD(soluble chemical oxygen demand, 용존성 화학적 산소 요구량)의 제거율은 95% 이상으로 나타났다.

Li 등(2014)은 옥수수대(corn stalk)를 이용하여 혐기성 수소 발효를 수행하였으며, 후속 공정으로 미생물 전해 전지를 배치하였다. 혐기성 수소 발효의 수소 생산량은 129.8 mL  $H_2$ /g corn stalk, 미생물 전해 전지의 경우 257.3  $H_2$ /g corn stalk으로 나타났다.

2개의 수소 생산 공정 결합은 주로 혐기성 수소 발효를 통해 수소를 생산하고 그 때 발생한 유기산

을 이용하여 미생물 전해 전지를 통해 유기물 제거와 추가적인 에너지 회수로 구성되었다. 본 연구에서는 상기된 2개의 반응을 하나의 반응조에서 발생하도록 구성하였다. 또한 반응표면분석법을 이용하여 적정 운전 조건을 도출하였다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2.1 기질 및 식종 미생물

#### 2.1.1 기질

기질은 합성 음식물류 폐기물을 이용하였다. 합성 음식물류 폐기물의 함량은 무게 기준으로 곡식류(쌀밥) 35%, 야채류(배추) 35%, 과일류(수박 껍질) 25%, 그리고 육류(닭가슴살) 5%의 비율로 구성하였다. 배합된 음식물류 폐기물은 가정용 분쇄기를 이용하여 5 mm이하로 분쇄하였다. 기질은 실험 전까지 4°C에서 보관하였다.

#### 2.1.2 식종미생물

식종미생물은 S시에 위치한 환경사업소의 혐기성 소화조 유출수를 이용하였다. 소화조 유출수는 식종 미생물로 활용하기 전에 4 mm체를 이용하여 불순물을 제거하였으며 수소 소모 미생물의 성장을 억제하기 위해 90°C에서 15분간 열처리를 수행하였다. 식종 미생물의 TS (total solids, 총 고형물), VS (volatile solids, 휘발성 고형물)와 pH는 각각 15.4 g/L, 12.8 g/L 및 6.8로 나타났다.

### 2.2 회분식 생물전기화학적 혐기성 수소 생산 실험

아크릴 재질의 유효체적 300 mL인 반응조를 이용하여 회분식 생물전기화학적 혐기성 수소 생산 실험을 수행하였다. 반응조 상단에는 가스 배출구, pH전극, 환원전극 및 산화전극 장치가 가능하도록 구성하

였다. 전극은 전기전도도가 높은 Han과 Lee (2013)가 제시한 방법에 따라 제작하였다. 환원전극은 질산 처리된 탄소 나노 튜브(carbon nano-tube, CNT)와 팽창 흑연을 혼합하여 제작하였다. 산화전극은 질산 처리된 CNT를 이용하여 제작하였으며 금속촉매는 CNT 4.0 g/L, FePc 0.6 g/L, CuPc 0.6 g/L, 도데실 황산 나트륨(sodium dodecyl sulfate, SDS) 12.5 g/L, MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 30.1 g/L, KMnO<sub>4</sub> 19.8 g/L를 혼합하여 이용하였다<sup>13)</sup>. 반응조 내 전극을 장착하고 식중미생물을 유효 체적의 30%를 채웠으며 나머지는 기질과 초순수로 채웠다. 인가전압은 전력 공급기(PWS-3003D, Protek, Japan)를 이용하여 0.8V로 고정하여 공급하였다<sup>14)</sup>. 기질의 농도는 탄수화물 기준으로 10~45 g COD/L로 선정하였다. 식중미생물과 기질로 채워진 반응조는 질소 가스를 이용하여 혐기성 조건으로 전환하였다. 반응조는 열순환펌프가 장착된 온탕기에서 운전온도 35±1°C를 유지하며 배양하였다. 교반 속도는 150 rpm으로 고정하였으며 운전 pH는 4.7~8.3 범위로 선정하였다. 바이오가스의 측정은 4시간 간격으로 체적 측정이 가능한 유리 주사기를 이용하여 측정하였다.

### 2.3 반응표면분석법 적용을 위한 실험계획법

반응표면분석법을 통해 적정 운영 조건을 도출하

기 위해 실험계획법 중 하나인 중심합성계획법을 이용하였다. 실험 인자로는 기질의 농도와 운전 pH로 선정하였다. Table 1에는 중심합성계획법에 따른 기질 농도와 운전 pH의 조건을 제시하였다. 실험값은 식 1을 이용하여 코드값으로 전환하였다.

$$x_i = (X_i - X_i^*) / \Delta X_i \quad (1)$$

### 2.4 분석 방법

바이오가스 내 수소의 함량은 열전도검출기(thermal conductivity detector, TCD)가 장착된 가스 크로마토그래피(gas chromatography, Gow Mac series 580, USA)를 이용하여 측정하였다. 가스 크로마토그래피의 운반체로는 초고순도 질소(99.999%)를 사용하였으며 유속은 30 mL/min으로 고정하였다. Column은 molecular sieve 5A (80/100 mesh)를 충전제로 사용한 1.8 m × 3.2 mm stainless steel column을 이용하였다. Column, injector와 detector의 온도는 50, 80 및 90°C로 유지하였다. 휘발성 지방산 분석은 자외선 검출기(210 nm)와 fast acid column (BIO-RAD, 100×7.8 mm, USA)이 장착된 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, YL 9100, Korea)를 이용하여 분석하였다. 이동상 물질은 0.005

**Table 1** The central Composite design with two independent variables

Trial No.	Concentration of substrate		Operational pH		H <sub>2</sub> yield (mol H <sub>2</sub> /mol hexose)
	X <sub>1</sub>	x <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	x <sub>2</sub>	
1	10.0	-1.0	5.0	-1.0	1.24
2	27.5	0.0	4.7	-1.2	1.13
3	48.5	1.2	6.5	0.0	0.68
4	6.5	-1.2	6.5	0.0	1.33
5	45.0	1.0	8.0	1.0	0.53
6	45.0	1.0	5.0	-1.0	0.92
7	27.5	0.0	8.3	1.2	0.76
8	10.0	-1.0	8.0	1.0	1.42
9	27.5	0.0	6.5	0.0	1.22

M 황산을 이용하였다. TS, VS 및 COD는 Standard Methods에 준하여 수행하였다<sup>15)</sup>. 식중 미생물의 pH는 Orion 8102BNUWP ROSS Ultra® pH 전극(Thermo scientific, USA)를 이용하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 반응표면분석법을 이용한 적정 운전 조건 도출

Table 1에 제시된 조건에 따라 실험을 수행하여 누적 수소 발생량을 산정하였다(Fig. 1 참조). 그 결과에 따르면 Trial No. 5 조건에서 누적 수소 발생량은 0.53 mol H<sub>2</sub>/mol hexose로 가장 낮게 나타났으며 Trial No. 8에서 1.42 mol H<sub>2</sub>/mol hexose로 가장 높게 나타났다. 또한, Trial No. 4, 6, 8 및 9의 경우 수소 발생이 단계적으로 발생하는 경향이 나타났다. 이는

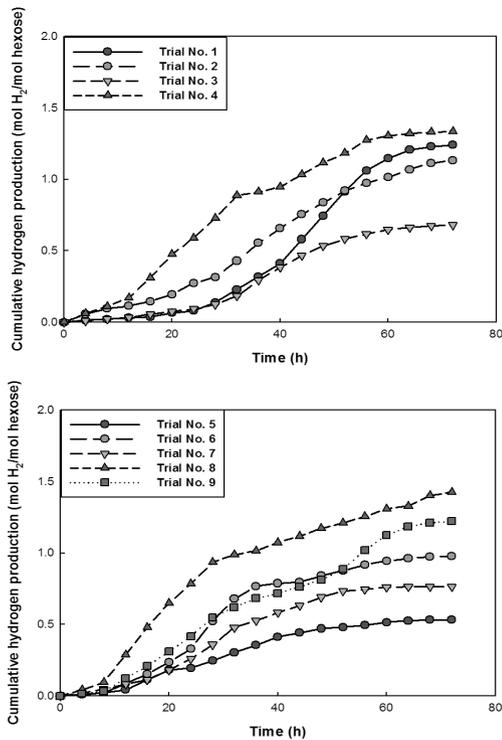


Fig. 1 Cumulative hydrogen production in different experimental conditions

혐기성 수소 발효 후 발생하는 휘발성 지방산으로부터 미생물 전해 전지에 의해 수소가 발생하는 단계로 판단된다.

생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 적정 운전 조건을 도출하기 위한 중심합성계획법의 반응 값으로는 누적 수소 발생량을 이용하였다(Table 1). Fig 2에는 반응표면분석 결과를 제시하였다.

식 2에는 반응표면분석 결과의 모델식을 제시하였다.

$$H_2 \text{ yield} = 1.20 - 0.29X_1 - 0.095X_2 - 0.14X_1X_2 - 0.092X_1^2 - 0.13X_2^2 \quad (2)$$

도출된 모델식과 실험값의 상관관계를 평가하기 위해 분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)을 수행하였다. Table 2에는 ANOVA 결과를 제시하였다. 분산분석 결과에 따르면 모델식의 “Prov>F”의 값이 0.05 이하로 나타났으며 “F-value”의 값이 24.89로 나타났다. 이는 모델식이 실험값을 반영하고 있으며 통계적 오류 발생 확률이 0.05% 이하인 것으로 나타났다<sup>16)</sup>.

모델식으로부터 도출된 생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 적정 운전 조건은 코드값(-1.00, 0.18)이 나타났으며 실험 조건으로 전환할 경우 기질 농도 10 g COD/L, 운전 pH 6.8로 나타났다. 또한 누적 수

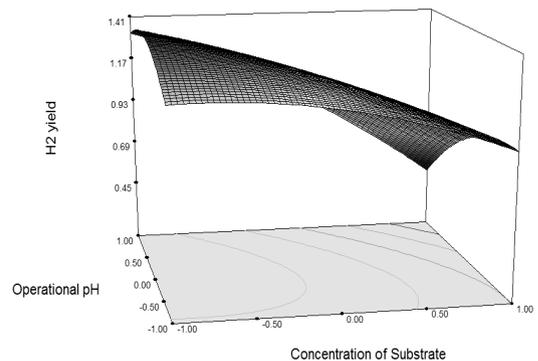


Fig. 2 3D plots of a fitted response surface to the H<sub>2</sub> yield

**Table 2** Analysis of Variance for a response surface model

Source model		Sum of squares	Degree of freedom	Mean squares	F-Value	Prov>F
Eq. (2)	model	0.85	5	0.17	24.89	0.0003
	$x_1$	0.58	1	0.58	84.60	<0.0001
	$x_2$	0.062	1	0.062	9.14	0.0193
	$x_1x_2$	0.081	1	0.081	11.94	0.0106
	$x_1^2$	0.038	1	0.038	5.58	0.0501
	$x_2^2$	0.080	1	0.80	11.78	0.0110

소 발생량은 1.42 mol H<sub>2</sub>/mol hexose로 예측되었다.

### 3.2 생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 특성

반응표면분석법으로부터 도출된 적정 운전 조건으로 검증 실험을 수행하였으며 전극이 장착되지 않은 혐기성 수소 발효와 비교 평가하였다. 전극이 장착되지 않은 혐기성 수소 발효 실험은 기질 농도를 탄수화물 기준으로 30 g COD/L, 운전 pH를 5.3으로 고정하여 수행하였다<sup>17)</sup>.

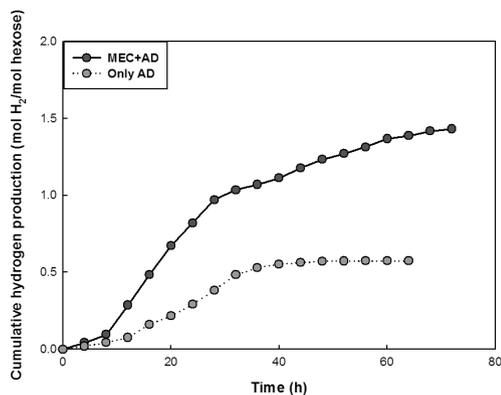
Fig. 3에는 생물전기화학적 혐기성 수소 발효와 전극이 장착되지 않은 혐기성 수소 발효의 누적 수소 발생량을 제시하였다.

생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 경우 수소 발생량이 1.43 mol H<sub>2</sub>/mol hexose로 반응표면분석법에 의해 예측된 값과 유사하게 나타났다. 전극이 장착되지 않은 혐기성 수소 발효의 경우 0.57 mol H<sub>2</sub>/mol

hexose의 누적 수소 발생량이 나타났다. 생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 경우 전극을 장착하지 않은 반응조에 비해 누적 수소 발생량이 2.5배 향상된 것으로 나타났다.

생물전기화학적 혐기성 수소 발효와 전극을 장착하지 않은 혐기성 수소 발효의 휘발성 지방산의 거동을 평가하였다(Fig. 4 및 5 참조).

두 반응조에서의 휘발성 지방산의 농도 차이는 기질의 농도에 기인된 것으로 판단된다. 전극이 장착하지 않은 혐기성 수소 반응조의 40 및 60시간 경과 시 휘발성 지방산의 변화는 미비한 수준으로 나타났다. 수소 발생 특성과 비교할 경우 40시간 이후 수소의 발생이 미비한 것에 기인된 것으로 판단된다. 반면 생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 경우 40에서 60시간 경과 시 휘발성 지방산 농도의 확연한 차이가 나타났다. 초산의 경우 76.4%, 뷰틸산은 50.0%, 그리고 젖산은 55.0% 감소된 것으로 나타났다. 전극을 장착하지 않은 혐기성 수소 발효에 비해 누적 발생량은 향상되었으며 반응조 내 휘발성 지방산, 즉 유기물의 농도가 감소된 것으로 나타났다. Li 등(2014)은 미생물 전해 전지를 이용하여 초산으로부터 수소 전환율은 90±2.0%로 나타났다. Yang 등(2015)의 연구 결과에 따르면 미생물 전해 전지를 이용하여 뷰틸산으로부터 5.94 mol H<sub>2</sub>/mol butyrate, 초산으로부터 3.6 mol H<sub>2</sub>/mol acetate의 수소 발생량이 보고되었다. 이 때 뷰틸산의 전환율은 59%, 초산은 90%로 나타났다. 미생물 전해 전지의 경우 기질의 농도가 0.2~2.0 g

**Fig. 3** Cumulative hydrogen production of MEC+AD and AD

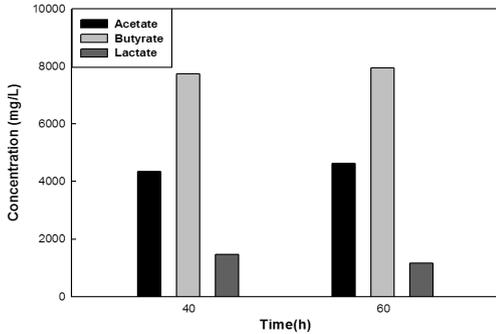


Fig. 4 Changes of VFAs in anaerobic hydrogen fermentation

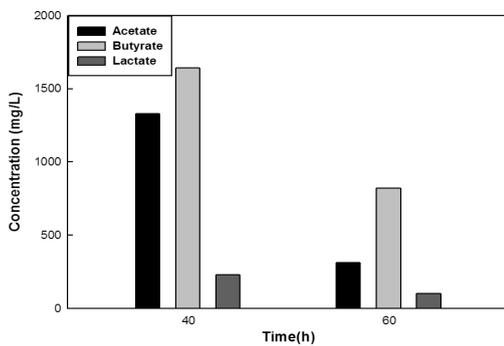


Fig. 5 Changes of VFAs in microbial electrolysis cell + anaerobic hydrogen fermentation

COD/L에서 운영되며 운전 pH는 6.8~7.4 범위이다<sup>18)</sup>. 본 연구에서 수소 발생량과 휘발성 지방산의 전환율이 미생물 전해 전지를 이용한 선행 연구 결과들에 비해 낮게 나타난 것은 기질의 농도가 상대적으로 높게 운전되어 발생된 것으로 판단된다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 생물전기화학적 혐기성 수소 발효를 이용하여 고형 음식물류 폐기물로부터 수소 발생 특성을 평가하였다.

- 1) 반응표면분석법을 이용하여 생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 적정 운전 조건을 도출하였다. 그 결과 기질의 농도는 10 g/L, 운전 pH는 6.8로

나타났다.

- 2) 생물전기화학적 혐기성 수소 발효의 누적 수소 발생량은 1.43 mol H<sub>2</sub>/mol hexose로 나타났으며 전극을 장착하지 않은 혐기성 수소 발효에 비해 2.5배 향상된 것으로 나타났다. 또한 반응조 내 휘발성 지방산이 최대 76.4% 감소된 것으로 나타났다.
- 3) 본 연구는 혐기성 수소 발효의 단점을 보완하기 위해 하나의 반응조에서 미생물 전해 전지와외 결합을 수행하였다. 이는 향후 수소 에너지 생산 향상에 관한 기초자료로 활용될 것으로 기대된다.

#### 후 기

이 논문은 2014년도 한국방송통신대학교 학술연구비 지원을 받아 작성된 것이며 이에 감사드립니다.

#### Reference

1. Z. Ran, Z. Gefu, J. A. Kumar, L. Chaoxing, H. Zu, and L. Lin, "Hydrogen and methane production in a bioelectrochemical system assisted anaerobic baffled reactor", *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 39, 2014, pp. 13498-13504.
2. K. Sasaki, M. Morita, D. Sasaki, N. Matsumoto, N. Ohmura, and Y. Igarashi, "Single-chamber bioelectrochemical hydrogen fermentation from garbage slurry", *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 68, 2012, pp. 104-108.
3. D. Call, and B. E. Logan, "Hydrogen production in a single chamber microbial electrolysis cell lacking a membrane", *Environmental Science and Technology*, Vol. 42, 2008, pp. 3401-3406.
4. L. B. Brentner, J. Peccia, and J. B. Zimmerman, "Challenges in developing biohydrogen as a sustainable energy source: Implications for a research agenda", *Environmental Science and Technology*, Vol. 44, 2010, pp. 2243-2254.

5. X. Gómez, C. Fernández, J. Fierro, M. E. Sánchez, A. Escapa, and A. Morán, "Hydrogen production: Two stage processes for waste degradation", *Bioresource Technology*, Vol. 102, 2011, pp. 8621-8627.
6. H. S. Lee, W. F. Vermaas, and B. E. Rittmann, "Biological hydrogen production: Prospects and challenges", *Trends in Biotechnology*, Vol. 28, 2010, pp. 262-271.
7. C. Li, and H. H. P. Fang, "Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures", *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, Vol. 37, 2007, pp. 1-39
8. A. S. Glushko, and B. Schink, "Oxidation of acetate through reactions of the citric acid cycle by *Geobacter sulfurreducens* in pure culture and in syntrophic coculture", *Archives of Microbiology*, Vol 174, 2000, pp. 314-321.
9. D. F. Call, and B. E. Logan, "Hydrogen production in a single chamber microbial electrolysis cell lacking a membrane", *Environmental Science and Technology*, Vol. 43, 2008, pp. 3401-3406.
10. Y. C. Lo, K. S. Lee, P. J. Lin, and J. S. Chang, "Bioreactors configured with distributors and carriers enhance the performance of continuous dark hydrogen fermentation", *Bioresource Technology*, Vol. 100, 2009, pp. 4381-4387.
11. N. Yang, H. Hafez, and G. Nakhla, "Impact of volatile fatty acids on microbial electrolysis cell performance", *Bioresource Technology*, Vol. 193, 2015, pp. 449-455.
12. X. H. Li, D. W. Liang, Y. X. Bai, Y. T. Fan, and H. W. Hou, "Enhanced H<sub>2</sub> production from corn stalk by integrating dark fermentation and single chamber microbial electrolysis cells with double anode arrangement", *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 39, 2014, pp. 8977-8982.
13. S. K. Han, and C. Y. Lee, "Evaluation of power density in microbial fuel cells using expanded graphite/carbon nanotube (CNT) composite cathode and CNT anode", *Journal of Korean Society of Water and Wastewater*, Vol. 27, 2013, pp. 503-509.
14. L. Lu, N. Q. Ren, D. F. Xing, and B. E. Logan, "Hydrogen production with effluent from an ethanol-H<sub>2</sub>-coproducing fermentation reactor using a single-chamber microbial electrolysis cell", *Biosensors and Bioelectronics*, Vol. 24, 2009, pp. 3055-3060.
15. APHA-AWWA-WEF, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 18th edition, American Public Health Assoc., Washington, D. C., USA, 2005.
16. D. H. Kim, E. Jung, S. E. Oh, and H. S. Shin, "Combined (alkaline+ultrasonic) pretreatment effect on sewage sludge disintegration", Vol. 44, No. 10, 2010, pp. 3093-3100.
17. S. W. Lee, "Effect of operational pH on anaerobic hydrogen fermentation of food waste", Master thesis, The University of Suwon, 2011, Korea.
18. A. Kadier, Y. Simayi, M. S. Kalil, P. Abdeshahian, and A. A. Hamid, "A reievw of the substrates used in microbial electrolysis cells (MECs) for producing sustainable and clean hydrogen gas", *Renewable Energy*, Vol. 71, 2014, pp. 466-472.