

# 음식물류 폐기물의 혐기성 소화 시 식종 방법에 따른 start-up 특성 평가

이채영<sup>1</sup> · 한선기<sup>2†</sup>

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

## Evaluation of Characterization During Start-up of Anaerobic Digestion Via Various Seeding Methods

CHAE-YOUNG LEE<sup>1</sup>, SUN-KEE HAN<sup>2†</sup>

<sup>1</sup>Dept. 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>Dept. of Environ. Health, Korea National Open University, 86, Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul, Korea

**Abstract** >> This study was performed to evaluate the characteristics of start-up of anaerobic digestion from food waste with different inoculum ratios. The hydrogen yield was similar with different inoculum ratios. The hydrogen production rate increased with increasing inoculum ratio. But the specific hydrogen production rate decreased with increasing inoculum ratio. Total volatile fatty acids composition analysis showed that butyrate and acetate were the prevalent products in all reactors, followed by lactate and propionate. The acetate was most prevalent product in reactors at  $X_0/S_0=0.080$  and  $0.159$ . But in reactors at  $X_0/S_0=0.239$  and  $0.318$ , butyrate accounted for greater than 50% of the total volatile fatty acids.

**Key words** : Anaerobic  $H_2$  fermentation(혐기성 수소 발효), Inoculum(식종균),  $X_0/S_0$  ratio(단위 기질 당 식종균 비), Food waste(음식물류 폐기물)

### 1. 서 론

국내 생활폐기물 중 음식물류 폐기물이 차지하는 비중은 2003년을 기준으로 점차 증가하는 추세이다. 음식물류 폐기물은 다량의 유기성 물질을 포함하고 있어 에너지원으로써 활용이 가능하다. 이러한 음식물류 폐기물을 적절한 기술 적용 시 기존의 화석 연료의 소비를 감소시킬 수 있으며 환경 보전에도 크게

기여할 수 있다<sup>1-2)</sup>.

혐기성 소화 기술은 음식물류 폐기물의 감량화 뿐만 아니라 바이오가스 형태로 에너지를 회수할 수 있는 장점을 가지고 있다. 혐기성 소화 기술로 회수할 수 있는 바이오가스에는 메탄과 수소 또는 두 가지 모두 가능하다. 이 중 수소는 122 kJ/g으로 열량이 높은 장점을 가지고 있으며 연소에 따른 부산물이 물만 존재하는 친환경적인 에너지 매체로 알려져 있다<sup>3)</sup>.

수소를 생산할 수 있는 생물학적 공정에는 광발효(photo fermentation) 그리고 혐기성 발효(anaerobic or dark fermentation) 등이 있다<sup>4-5)</sup>. 혐기성 수소 발효의 경

<sup>†</sup>Corresponding author : skhan003@knu.ac.kr

Received: 2016.8.1 in revised form: 2016.8.17 Accepted: 2016.10.30

Copyright © 2016 KHNES

우 빛이 없는 조건에서 생산이 가능하며 발생속도가 빠르고 음식물류 폐기물, 도시 고형 폐기물 등과 같이 적용 가능한 기질의 폭이 넓다는 장점을 가지고 있다<sup>6,7)</sup>.

혐기성 수소 발효의 식종균으로는 순수 배양 미생물과 소화조의 유출수 등과 같은 혼합 미생물을 이용한다. Hawkes 등(2002)은 *Clostridium spp.*를 식종균으로하고 탄수화물을 기질로 이용하여 1.61~2.36 mol H<sub>2</sub>/mol hexose의 수소 전환율을 제시하였다. *Clostridium spp.*은 절대 혐기성 미생물로서 부적합한 환경 조건일 경우 스포어(spore)를 형성하는 특징을 가지고 있다<sup>8)</sup>. 이러한 특징을 이용하여 혐기성 소화 슬러지와 같은 혼합 미생물을 이용하는 경우 전처리를 통해 수소 생성 미생물을 우점화한다<sup>3)</sup>.

혐기성 소화 식종 시 고려되는 사항으로써는 초기 식종균 및 기질의 종류 그리고 두 인자의 비율 등이 있다<sup>9)</sup>. Liu Y. U.(1996)는 단위 식종균 당 기질의 양(S<sub>0</sub>/X<sub>0</sub>)에 따라 미생물의 물질 대사 경로에 영향을 준다고 보고하였다. Argun과 Dao(2016)는 peach pulp를 기질로 이용하였으며 식종균의 투입량에 따른 수소 전환율 및 속도를 평가하였다. Kim 등(2008)은 sucrose를 기질로 이용하여 초기 회분식으로 식종 후 연속 반응조로 전환되는 시점에 관하여 연구를 수행하였다. 혐기성 소화 시 식종에 관한 연구는 많은 연구자들에 의해 수행되었다. 그러나 혐기성 소화 식종 시 식종균과 기질의 종류에 따라 식종 후 start-up의 특성이 달라질 수 있어 실제 폐기물 또는 폐수를 이용한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 발생되는 음식물류 폐기물을 기질로 이용하고 혐기성 수소 발효 시 식종 방법에 따른 start-up 특성을 평가하였다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2.1 기질 및 식종 미생물

#### 2.1.1 기질

균일한 기질 조건을 만족하기 위해 합성 음식물류

폐기물을 제조하였다. 합성 음식물류 폐기물의 함량은 무게 기준으로 곡식류(쌀밥) 35%, 야채류(배추) 35%, 과일류 (수박 껍질) 25%, 그리고 육류(닭가슴살) 5%의 비율로 구성하였다. 제조된 음식물류 폐기물은 가정용 분쇄기를 이용하여 5 mm 이하로 분쇄 및 혼합하였으며 실험 전까지 4°C에서 보관하였다.

#### 2.1.2 식종미생물

본 연구에서 사용된 식종균은 S시에 위치한 혐기성 소화조 슬러지를 이용하였으며 4 mm체를 이용하여 불순물을 제거하였다. 불순물을 제거한 소화 슬러지는 90°C에서 15분간 열처리를 통해 수소 생산과 무관한 미생물의 성장을 억제하였다.

### 2.2 혐기성 수소 생성 실험

혐기성 수소 발효 시 초기 start-up 기간을 묘사하기 위해 회분식 형태로 운영하였다. 반응조는 유효체적 300 mL인 아크릴 재질을 이용하였다. 반응조에는 가스 배출구, pH 전극이 장착 가능하도록 제작하였다. 기질의 농도는 탄수화물 농도 기준으로 30 g COD/L로 고정하였으며 식종균은 Table 1에 제시된 조건에 따라 투입하였다. 식종균과 기질로 채워진 반응조는 질소가스를 이용하여 혐기성 조건으로 전환하였다. 반응조는 열순환펌프가 장착된 온탕기에서 운전온도 35±1°C를 유지하며 배양하였다. 교반 속도는 150 rpm으로 고정하였으며 초기 pH는 8.0, 운전 pH는 5.5±0.1로 고정하였다. 바이오가스의 측정은 체적 측정이 가능한 유리 주사기를 이용하여 측정하였다.

### 2.3 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 운

**Table 1** Hydrogen yield and production rate for different inoculum ratios

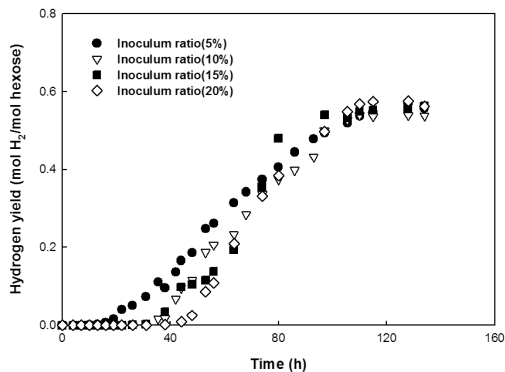
Inoculum (v/v%)	Hydrogen yield (mol H <sub>2</sub> /mol hexose)	Hydrogen production rate (mol H <sub>2</sub> /mol hexose.h)
5	0.597	0.008
10	0.576	0.009
15	0.585	0.012
20	0.589	0.013

반체로는 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(volatile fatty acids, VFAs) 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 M 황산을 이용하였다. TS, VS 및 COD는 Standard Methods에 준하여 수행하였다<sup>13)</sup>.

### 3. 결과 및 고찰

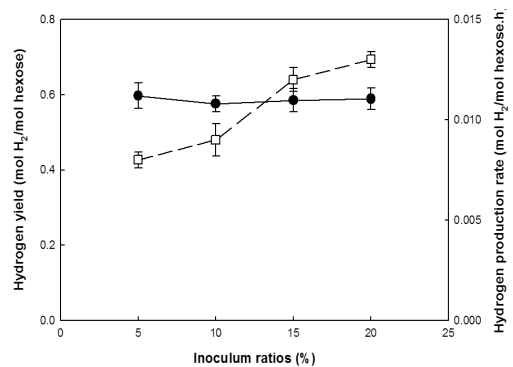
#### 3.1 식종균 투입량에 따른 수소 발생 특성

Table 1에 제시된 조건에 따라 식종하였으며 Fig. 1

**Fig. 1** Variation of hydrogen production with time for different inoculum ratios

에 수소 발생 특성을 나타내었다. 수소 전환율, 전환 속도를 제시하였다. 수소 전환율은 유효체적 대비 식종균 투입량에 따라 5, 10, 15 및 20% 일 때 각각 0.597±0.034, 0.576±0.021, 0.585±0.031 및 0.589±0.028 mol H<sub>2</sub>/mol hexose로 나타났다. 이는 식종균 투입량에 따라 기질로부터 전환되는 수소의 양이 큰 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 2 참조).

Argun과 Dao(2016)은 반응조 체적 대비 식종균의 투입량을 0~10.0%로 하였으며 이때의 수소 발생량은 296.4~338.6 mL H<sub>2</sub>의 범위로 나타났다. 이는 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 반면에 수소 발생 속도는 식종균 투입량에 따라 증가하는 경향으로 나타났다(Fig. 2 참조). 반응조 유효체적 대비 투입량이 5, 10, 15, 20%일 때 수소 발생 속도는 각각 0.008±0.0004, 0.009±0.0008, 0.012±0.0006 및 0.013±0.0004 mol H<sub>2</sub>/mol hexose.h로 나타났다. Das와 Veziroglu (2001)은 식종균 투입량에 따른 수소 발생 속도를 평

**Fig. 2** Variation of hydrogen production and production rate with different inoculum ratios

가하기 위해 투입된 단위 식중균 당 수소 발생 속도를 이용하여 비 수소 발생 속도(specific hydrogen production rate, SHPR)를 평가하였다. Argun과 Dao (2016)의 연구결과에 따르면 peach pulp를 기질로 이용하였을 때 식중균의 투입량이 1.5~10.0%까지 증가할수록 SHPR은 지속적으로 감소하는 것으로 보고되었다. 본 연구의 SHPR은 식중균 투입량 5, 10, 15, 20% 일 때 129.3, 75.2, 64.6 및 52.9 mL H<sub>2</sub>/g.h로 나타났으며 선행 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다. 이는 수소 발생 속도는 식중균 투입량이 높은 반응조에서 높게 나타났으나 단위 식중균 당 수소 발생 속도인 SHPR는 식중균 투입량이 낮은 반응조에서 높게 나타났다.

### 3.2 단위 기질 당 식중균 투입에 따른 수소 발생 특성 평가

Table 2에는 단위 기질 당 식중균 투입( $X_0/S_0$ )에

따른 수소 전환율 및 속도에 관한 선행연구 및 본 연구의 결과를 제시하였다. 수소 전환율의 경우 기질의 특성에 따라 상이한 결과를 나타내었으며  $X_0/S_0$ 와 연관성이 낮은 것으로 나타났다. 수소 발생 속도는 기질에 따라 7.8~99.0 mL H<sub>2</sub>/h의 범위로 나타났다. Argun 등(2008)은 waste wheat powder를 기질로 이용하였으며 식중균은 혐기성 슬러지를 사용하였다. 이 때  $X_0/S_0$ 는 0.125이며 수소 발생 속도는 가장 낮은 7.8 mL H<sub>2</sub>/h로 나타났다. Wicher 등(2013)은 dairy waste water를 기질로, 혐기성 슬러지를 식중균으로 하여  $X_0/S_0$ 가 0.357로 나타났으며 이 때 수소 발생속도는 99.0 mL H<sub>2</sub>/h로 제시하였다. 선행 연구 결과들을 살펴보면  $X_0/S_0$ 가 증가할수록 수소 발생 속도가 전체적으로 증가하는 경향으로 나타났다. 본 연구 결과에 따르면  $X_0/S_0$ 가 0.080에서 0.318로 증가할수록 수소 발생 속도는 22.9에서 48.9 mL H<sub>2</sub>/h로 증가하여 선행 연구 결과들과 유사한 경향으로 나타났다.

Fig. 3에는  $X_0/S_0$ 비에 따른 총 휘발성 지방산(total

**Table 2** Comparison of studies on dark fermentative hydrogen production with different  $X_0/S_0$  ratios

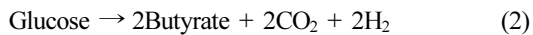
Substrate	Inoculum	$X_0/S_0$ (based on TS)	Yield	Rate	Ref.
Waste wheat powder (20 g/L sugar)	Anaerobic sludge (2.5 g/L)	0.125	57.1 mL H <sub>2</sub> /g starch	7.8 mL H <sub>2</sub> /h	Argun et al., 2008
Cheese whey (26 g/L sugar)	Anaerobic sludge (1.9 g/L)	0.082	1.5 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	3.5 mL H <sub>2</sub> /h	Kargi et al., 2012
Sugar beet (37.2 g COD/L)	Anaerobic sludge (8.1 g VSS/L)	0.250	3.2 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	84.0 mL H <sub>2</sub> /h	Dhar et al., 2015
Glucose (10 g/L)	<i>Clostridium saccharoperbutylacetonicum</i> (10%, v/v)	-	3.1 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	10.7 mL H <sub>2</sub> /h	Alalayah et al., 2009
Dairy waste water (7.9 g COD/L)	Anaerobic sludge (2.5 g VSS/L)	0.357	306 mL/g VSS	99.0 mL H <sub>2</sub> /h	Wicher et al., 2013
Food waste (30 g COD/L)	Anaerobic sludge (15.4 g/L)	0.080	0.597 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	29.9 mL H <sub>2</sub> /h	This study
		0.159	0.576 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	34.7 mL H <sub>2</sub> /h	This study
		0.239	0.585 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	44.8 mL H <sub>2</sub> /h	This study
		0.318	0.589 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	48.9 mL H <sub>2</sub> /h	This study

**Table 3** Compositions of TVFAs with different X<sub>0</sub>/S<sub>0</sub> ratios

X <sub>0</sub> /S <sub>0</sub> (based on TS)	TVFAs (g/L)			
	Lactate	Acetate	Butyrate	Propionate
0.080	0.3	2.3	1.4	0.7
0.159	0.4	2.4	1.6	0.4
0.239	0.5	1.2	3.0	0.7
0.318	0.5	1.4	2.8	0.8

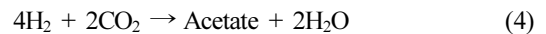
volatile fatty acids, TVFAs)의 거동을 제시하였으며 Table 3에는 반응 종료 후 TVFAs의 구성 성분을 나타내었다.

초기 반응조의 TVFAs의 농도는 0.3 g/L로 유사하였으나 반응 종료 후 단위 기질 당 식종균 투입량이 많을수록 TVFAs의 농도가 높은 것으로 나타났다 (Fig. 1 참조). X<sub>0</sub>/S<sub>0</sub> 비가 0.080 및 0.159인 경우에는 초산염(acetate)이 높은 비율을 차지하였으며 0.239와 0.318인 경우에는 부틸산염(butyrate)이 높게 나타났다. 초산염이 부산물로 발생하는 경우 부틸산염에 비해 수소 전환율은 높다(식 1, 2 참조)<sup>20)</sup>.



또한, 초산염은 *Clostridium acetobutylicum*에 의해 젖산과 함께 산화되며 그 과정에서 수소가 생성되기

도 하며(식 3 참조) 수소를 소모하는 반응에 의해 생성되기도 한다(식 3, 4 참조)<sup>21)</sup>.

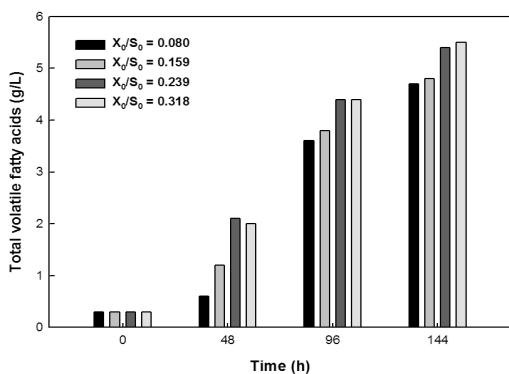


그에 반해 부틸산염은 초산염에 비해 수소 전환율은 낮으나 안정적인 수소 발효 시 나타나는 부산물이다. 따라서 단위 기질 당 식종균 투입량이 증가할수록 TVFAs 중 부틸산염의 비율이 증가하는 경향으로 나타났으며 이는 안정적인 수소 발효가 진행된 것으로 판단된다. 즉, 혐기성 수소 발효 시 단위 기질 당 식종균의 투입량이 증가할수록 초기 start-up 기간 중 수소 발생 속도는 빠르며 부틸산염의 농도가 높아 안정적인 것으로 판단된다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 음식물류 폐기물을 이용한 혐기성 수소 발효 시 식종 방법에 따른 초기 start-up 특성을 평가하였다.

- 1) 수소 발생량은 투입된 기질의 양이 동일하여 유사하게 나타났으나 수소 발생 속도는 투입된 식종균의 양이 증가할수록 높아지는 경향으로 나타났다.
- 2) 단위 기질 당 투입된 식종균의 양이 증가할수록 반응조 내 생성된 부산물 중 부틸산염이 차지하

**Fig. 3** Variation of TVFAs with time for different X<sub>0</sub>/S<sub>0</sub> ratios

는 비율이 증가하였다.

- 3) 본 연구는 혐기성 수소 발효 시 초기 식중균의 투입양에 따른 특성을 평가하였으며 향후 수소 에너지 생산 플랜트 운영 시 기초자료로 활용될 것으로 기대된다.

## 후 기

이 논문은 2015년도 한국방송통신대학교 학술연구비 지원을 받아 작성된 것이며 이에 감사드립니다.

## Reference

1. Ministry of Environment, "2013 Waste production and disposal in Korea", 2014, pp.174-324. (2014).
2. J. M. Choi and C. Y. Lee, "Anaerobic hydrogen fermentation of food waste from garbage disposer", *Trans. of the Korean Hydrogen and New Energy Society*, Vol. 25, No. 5, 2014, pp. 468-474.
3. J. M. Choi, "Optimization of hydrogen production from microalgae using anaerobic fermentation", Master dissertation, The Univ. of Suwon, 2012.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. F. R. Hawkes, R. Dinsdale, D. L. Hawkes, and I. Hussy "Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization", *Int. J. Hydrogen Energy* Vol. 27, 2002, pp. 1339-47.
9. A. Ghimire, F. Sposito, L. Frunzo, E. Trably, R. Escudie, and F. Pirozzi. "Effects of operational parameters on dark fermentative hydrogen production from biodegradable complex waste biomass", *Waste Manag.* Vol. 60, 2016, pp. 55-64.
10. Y. U. Liu, "Bioenergetic interpretation on the So/Xo ratio in substrate-sufficient batch culture", *Vol. 30*, 1996, pp. 2766-70.
11. H. Argun, and S. Dao, "Bio-hydrogen production from waste peach pulp by dark fermentation: Effect of inoculum addition", *International Journal of Hydrogen Energy*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.06.225>
12. D. H. Kim, S. H. Kim, I. B. Ko, C. Y. Lee, and H. S. Shin, "Start-up strategy for continuous fermentative hydrogen production: Early switchover from batch to continuous operation", *Vol. 33*, 2008, pp. 1532-1541.
13. APHA-AWWA-WEF, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 18th edition, American Public Health Assoc., Washington, D. C., USA, 2005.
14. H. Argun, F. Kargi, I. K. Kapdan, and R. Oztekin, "Batch dark fermentation of powdered wheat starch to hydrogen gas: Effects of the initial substrate and biomass concentrations". *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 33, 2008, pp. 6109-15.
15. F. Kargi, N. S. Eren, and S. Ozmihci, "Effect of initial bacteria concentration on hydrogen gas production from cheese whey powder solution by thermophilic dark fermentation", *Biotechnology Progress*, Vol. 28, No. 4, 2012, pp. 931-6.
16. B. R. Dhar, E. Elbeshbishy, H. Hafez, and H. S. Lee, "Hydrogen production from sugar beet juice using an integrated biohydrogen process of dark fermentation and microbial electrolysis cell. *Bioresour. Technol.*, Vol. 198, 2015, pp. 223-30.

17. W. M. Alalayah, M. S. Kalil, A. A. H. Kadhum, J. M. Jahim, S. Z. S. Jahim, and N. M. Alauj, "Bio-hydrogen production using a two-stage fermentation process. Pak. J. Biol. Sci. Vol. 12, No. 22, 2009, pp. 1462-7.
18. E. Wicher, K. Seifert, R. Zagrodnik, B. Pietrzyk, and M. Laniecki, "Hydrogen gas production from distillery wastewater by dark fermentation". Int. J. Hydrogen Energy, Vol. 38, 2013, pp. 7767-73.
19. D. Das, and T. N. Veziroglu, "Hydrogen production by biological processes: A survey of literature", Int. J. Hydrogen Energy, Vol. 26, pp. 13-28.
20. D. H. Kim, S. H. Kim and H. S. Shin, "Sodium inhibition of fermentative hydrogen production", Int. J. Hydrogen Energy, Vol. 34, 2009, pp. 3295-304.
21. S. K. Han, J. M. Choi, and C. Y. Lee, "Hydrogen production from microalgae in anaerobic mesophilic and thermophilic conditions", Trans. of the Korean Hydrogen and New Energy Society, Vol. 25, No. 4, 2014, pp. 337-43.