

다양한 유기성 폐자원에서 바이오 수소 생성 연구

*황 재훈¹⁾, 최 정아¹⁾, R.A.I. Abou-Shanab^{1,2)}, **전 병훈¹⁾

Feasibility of fermentative bio-hydrogen production from different organic wastes

*Jae-Hoon Hwang, Jeong-A Choi, R.A.I. Abou-Shanab, **Byong-Hun Jeon

Abstract : 다양한 유기성 폐자원이 혐기성 소화 공정 수소 생성에 미치는 영향을 고찰하기 위해 혼합 균주를 사용하여 혐기 발효 회분식 형태 연구하였다. 폐자원은 부패 과일 폐수로 각각 사과, 배, 옥수수가루 및 황산염이 함유된 유기폐수 (황산염 농도 ≤ 1000 mg/L)를 이용하였다. 최대 수소 생성(547.1 mL)은 부패된 사과 폐수에서 나타났으며, 유입 농도는 132.2 g COD/L이다. 황산염 함유 폐수 적용결과, 황산염 농도에 관계없이 수소가 발생하였고, 잔존황산염은 pH 5.3-5.5에서 96-98 %로 나타나 황산염 환원은 발생되지 않았다. 모든 실험 조건에서 유기산은 HBu > HAc > HPr로 발생하였다. 본 연구결과 다양한 유기 폐자원에서 발효공정을 통해 수소 발생이 가능한 것으로 사료된다.

The effects of various organic wastes on anaerobic fermentative hydrogen production were studied using enriched mixed microflora in batch tests. Rotten fruit, corn powder and organic wastewater enriched with sulfate (up to 1,000 mg/L) were used for experiments. Maximum hydrogen production (547.1 mL) was observed from rotten apple with initial substrate concentration of 132.2 g COD/L. The experimental result on sulfate enriched organic wastewater indicated that hydrogen production is not adversely influenced by relatively high sulfate concentration. Residual sulfate content remained at 96-98 % after 75 hours of reaction, which showed that no major sulfate reduction was occurred at pH 5.3-5.5 in the reactor. The volatile fatty acid (VFA) fractions produced during the reaction was in the order of butyrate > acetate > propionate in all experiments. The results of this study would be useful for controlling the conditions on fermentative hydrogen production using different feedstocks.

Key words : Bio-hydrogen (바이오수소), Rotten fruit (부패 과일), Organic wastewater (유기성 폐수), VFA (휘발성 지방산), Anaerobic fermentation (혐기발효)

Nomenclature

$V_{H,i}$, $V_{H,i-1}$: cumulative hydrogen gas volume, mL
 i , $i-1$: current time and previous time, hour
 $V_{G,i}$, $V_{G,i+1}$: total biogas volume, mL
 $C_{H,i}$, $C_{H,i+1}$: hydrogen gas fraction, %
 H : cumulative hydrogen production, mL
 P : ultimate hydrogen production, mL
 R_m : hydrogen production rate, mL/hr
 λ : lag phase time, hr
 e : exponential, 2.71828

Subscript

COD: chemical oxygen demand
VFA: volatile fatty acid
HPB: hydrogen producing bacteria
TCD: thermal conductivity detector
FID: flame ionization detector
GC: gas chromatography

IC: ion chromatography
RPM: revolution per minute
ORL: organic loading rate

1. 서론

최근 수소 에너지는 여러 가지 산업의 에너지 원으로 활용되고 있으며 신재생에너지의 개발과 보급의 활성화로 수소생산 기술의 중요성이 부각되고 있다. 수소는 연소 시 공해물질이 생성되지 않아 청정하며, 재생가능하고, 높은 에너지 효율(122 kJ/g)을 가지며 연료전지를 통해 쉽게 전기로 전환할 수 있다¹⁾. 그러나 현재 사용단계인 수

1) 연세대학교 환경공학부

E-mail: bhjeon@yonsei.ac.kr

Tel: (033)760-2446 Fax: (033)760-2571

2) Department of Environmental Biotechnology
Mubarak City for Scientific Research,
Alexandria, Egypt

소연료는 화석연료의 열분해와 물의 전기분해를 기초로 생산되는 것이 대부분이며, 수소에너지 발생을 위한 화석에너지를 투입해야하는 한계가 있다²⁾. 따라서 1차적인 에너지의 사용 없이 대체 에너지의 확보에 대한 연구가 진행 중이다.

그 중 미생물을 이용한 바이오 에너지의 개발이 주목되며, 여러 가지 에너지원을 이용한 기술 개발이 진행 중이다. 최근 들어 유기성 폐기물을 이용하여 바이오 에너지를 얻기 위해 많은 연구가 진행되고 있다³⁻⁴⁾. 유기성 폐기물 중에서 음식물쓰레기는 고농도 유기물을 함유하고 있으며, 탄수화물의 농도 비율이 풍부하게 차지하고 있어⁵⁾, 쉽게 가수분해단계를 거쳐 휘발성 지방산으로 전환될 수 있는 장점을 가지고 있다³⁾. 그러나 직접적으로 혐기소화 하기가 매우 어렵기 때문에 파쇄의 전처리 공정이 요구된다⁶⁾. 음식물쓰레기를 직접적으로 혐기 소화할 경우, 이 공정에서 발생하는 극부적인 산발효로 인하여 급격한 pH 저하, 산발효 속도 차이로 인하여 셀룰로오스 성분의 전환, 음식물쓰레기의 높은 염분함량으로 인한 영향 등의 저해요인을 사전에 제거해야 한다고 보고되었다⁷⁻⁹⁾. 또한, 음식물 쓰레기 이외에 유기성 폐수는 대부분 펄프/종이, 해산식품 공정 그리고 알콜 발효 산업으로부터 발생하는 폐수를 포함하며 이 폐수에는 황산염을 고농도로 포함하고 있다. 황산염은 혐기소화과정에 억제요인으로 작용하나 pH 5.5-6.0 범위에서는 수소생성에 제한요소로 작용되지 않음이 보고되었다¹⁰⁾. 따라서 본 연구에서는 혼합균주로 배양한 혐기성 반응조에서 음식물 폐기물 중 부패 과일과 황산염 농도가 함유된 유기성 폐수에서 HRT변화에 따른 수소생성에 대한 특성을 조사하고, 이를 통하여 바이오 수소 생산 시스템에 활용하고자 한다.

2. 연구방법 및 실험

2.1 식종 슬러지 및 유입수 특성

식종 슬러지는 W시 하수처리장 소화조 (35°C, HRT 28일) 내부 반송관에서 채취한 슬러지를 90°C, 20분간 끓여 사용하였다. 수소 생성을 위한 기질은 glucose (10 g/L)를 사용하였다. 유입수 기질 이외 NH₄HCO₃, 4700 mg/L; K₂HPO₄, 125 mg/L; MgCl₂ · 6H₂O, 100 mg/L; MnSO₄ · 6H₂O, 15 mg/L; FeSO₄ · 7H₂O, 25 mg/L; CuSO₄ · 5H₂O, 5 mg/L; CoCl₂ · 5H₂O, 0.1 mg/L 및 NaHCO₃, 2000 mg/L을 함께 주입하였다.

본 실험에 사용된 폐수는 W시의 과일가게에서 발생한 부패 과일과 고농도황산염이 함유된 인공 하수를 이용하여 각각 적용하였다. 각각의 유입수는 부패 과일은 3% (W/V)으로 사과, 배를 이용하였으며, 당 함유가 높은 옥수수 가루 3% (W/V), 황산염 0-1,000 mg/L 함유된 인공 폐수로 Table 1에 나타내었다.

2.2 반응조 구성 및 운전 조건

Table 1. Characteristics of each organic wastewater

Parameter (g/L)	Apple	Pear	Corn powder	Artificial wastewater	Seed sludge
COD	132.2	189.1	39.5	14.1	9.7
Carbohydrate rate	45.9	64.5	15.4	11.7	1.4
Total solids	6.8	7.1	8.2	0.1	5.2
pH	5.8	5.6	6.2	7.8	6.7
VFA	3.3	3.5	2.6	0.2	0.4

회분식 반응조는 125 mL의 serum bottle을 사용하였으며, 유입수 40 mL, 식종된 슬러지 40 mL를 사용하여 운전하였다. 실험기간 중 pH는 조절하지 않았으며, water bath를 이용하여 35 °C를 유지 및 80 RPM으로 교반하였다 (그림1 참고).

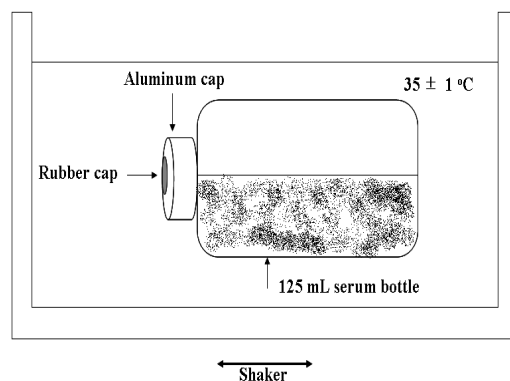


Fig. 1. Batch experimental apparatus.

2.3 분석방법

생성된 바이오가스 발생량은 가스 측정용 유리주사기를 이용하여 측정하였으며, 표준상태조건(0 °C, 1기압)으로 보정하였다. 시간 당 발생된 수소량은 headspace 내의 수소 분압차를 고려하여 식 (1)을 이용하여 구하였으며 누적 수소생산량은 Gompertz equation을 이용하여 모사하였다¹¹⁾.

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

$$H(t) = H_{max} \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R \cdot e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

수소 용량분석은 80/100 6ft × 1/8ft steel column with molecular sieve 5A의 TCD column과 Ar기체(carrier gas)를 이용하는 GC-14A를 이용하여 분석하였다. 당성분 및 유기산 측정은 시료를 0.45 μm 여과지로 filtering한 후 anthrone-H₂SO₄ carbohydrate 분석법¹²⁾과 glass column packed with 10 % REOPLEX 400의 FID

column Shimadzu GC-8A로 각각 분석하였다. 잔존 황산염은 IC (DX-120)으로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 폐수에서의 바이오 수소 생산

본 연구에서는 다양한 유기성 폐수 (부패 과일 폐수, 황산염 함유 폐수)를 효과적으로 처리하는 동시에 혐기성 소화공정에 의한 수소 생성 가능성에 대해 고찰하고자 하였으며, HRT 18-24 h 사이에서 운전된 슬러지를 각 기질에 적용 후 관찰한 결과를 그림 2에 나타내었다. 수소 생성 효율, 최대 수소 생성 및 Gompertz equation (식 2)을 적용하여 수소생산가능량 (P), 최대 수소생산속도 (R_m) 및 머무름시간 (λ)을 산출하였고 Table 2에 나타내었다.

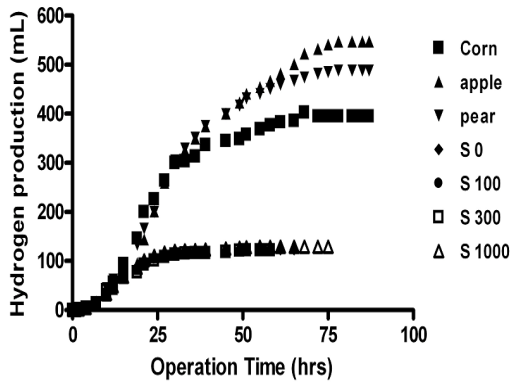


Fig. 2. Cumulative hydrogen production from each organic wastewater.

본 연구에서 최대 수소 발생은 부패한 사과, 배, 옥수수 그리고 황산염 함유 폐수에서 각각 547.1, 488.1, 394.5 mL 그리고 129.1 mL로 나타났다. 수소 발생은 부패한 사과, 배에서 높게 나타났으며, 폐수의 성상 분석결과 부패된 배와 사과에서 가장 높은 당을 함유하였다 (Table 1 참고). 혐기 발효에 의한 수소생성은 폐수에 함유된 당성분 물질을 산발효로 휘발성 지방산으로 분해하여 발생한다고 보고되며¹³⁾, 본 연구결과

당성분이 높은 폐수에서 수소 생성이 높게 발생되었다.

황산염이 함유된 폐수에서 수소 발생 연구 결과, 황산염 농도 0 mg/L 에서는 수소함량이 49-52% 로 나타났으며, 황산염 증가에 따라 2-3% 이상의 수소발생이 증가하였다. 이는 수소를 생성하기 위한 수소화효소의 활성화에 의한 것으로 사료되며, 과거 니켈, 철, 셀리늄의 함유가 풍부한 수소화효소의 생산에 황산염이 기여 작용이 보고된바 있다¹⁴⁾. 황산염이 함유된 폐수에서는 황산염환원균에 의한 황산염 환원 작용이 보고되며¹⁵⁾, 황산염환원균은 성장 시 전자수용체로 수소를 이용하며, 수소발효에서 황산염환원균의 분포는 결과적으로 수소생산을 억제한다¹⁶⁾. 본 연구에서는 황산염 함유에도 불구하고 수소 함량이 큰 차이가 나타나지 않았다. 잔존 황산염 분석결과 황산염의 농도 변화에 영향 없이 94-96 %를 유지하여 황산염의 환원이 발생하지 않았다 (그림 3). 황산염 환원이 진행되지 않는 것은 황산염환원균의 생장이 없음을 의미한다. 본 연구에서 최종 pH는 5.3-5.5로 나타나, 낮은 pH에서 황산염환원균의 생육이 저하되는 특성이 적용한 것으로 판단된다. 보고된 연구에 따르면, pH 6.7, 5.5 조건에서의 연구 결과 pH 5.5에서 황산염 농도가 수소 생성에 큰 영향을 주지 않는다고 보고되었다¹⁷⁾. 모든 유기 폐수에서 COD분해는 51-68% 로 진행되었으며, 분해탄수화물 분해 경우 사과와 배의 분해는 71.3, 74.1%로 분해가 많이 진행되지 않았다. 발효 반응시 탄수화물 농도가 3.5-7.5 g/L 이상일 경우 높은 생성물(수소, 유기산)의 생성을 저해한다고 보고된다¹⁸⁾. 본 연구에서 부패된 과일인 사과, 배의 경우 수소 발생은 높게 관찰되었으나, 탄수화물 분해 진행이 70%로 나타나 잔존 탄수화물을 이용한 2차 수소생성의 가능성이 사료된다. 모든 반응조의 최종 pH는 5.4-6.0 사이로 수소를 생성하는 산생성균의 우점화 진행이 되었다고 판단된다. 식 (2)의 회귀분석 r-square 값은 0.95 이상이었으며, 각 산출된 값들은 신뢰구간에서 통계학적으로 중요한 의미를 가진다.

3.2. 발효 산물 분포 특성

다양한 유기 폐자원에 따른 발효 산물의 구성 변

Table 2. Modified Gompertz equation parameters

Experimental conditions	OLR (g COD/L/d)	pH	Carbohydrate degradation (%)	Hmax (mL)	Rmax (mL/h)	λ (h)	VSS (g/L)	H ₂ yield (mL/g VSS)	r ²	H ₂ content (%)
Apple	90.3	5.6	71.3	547.1	14.0	8	2.4	227.9	0.953	57
Pear	133.2	5.8	74.1	488.3	12.9	7	2.3	212.3	0.991	51
Corn ^{a)}	24.3	6	94.9	394.5	13.1	9	2.3	171.5	0.993	48
S ^{b)} 0	10.2	5.4	92.3	123.1	7.1	8	2.1	58.6	0.983	49
S 100	10.2	5.3	93.1	119.2	6.7	10	2.3	51.8	0.989	48
S 300	10.2	5.4	92.4	121.9	6.6	10	2.2	55.4	0.967	51
S 1000	10.2	5.5	91.5	129.3	6.9	10	2.3	56.2	0.996	52

a): corn powder; b): sulfate

화를 그림 3에 나타내었다.

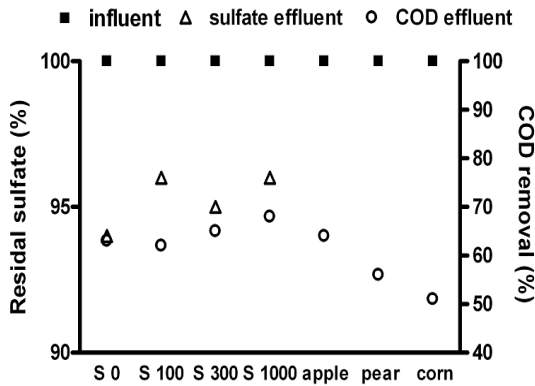


Fig. 3. Removal of COD and residual sulfate fraction from each organic wastewater.

생성된 유기산은 대부분 butyric acid, acetic acid, propionic acid였으며 사과, 배 및 옥수수의 경우 valeric acid가 검출되었다. 높은 COD 함량 (90.3-133.2 g/L)인 부패 과일 폐수에서 낮은 COD 함량 (10.2 g/L)인 황산염함유 폐수로 변화함에 따라 가장 크게 변화한 것은 butyrate의 농도로 5,879 mg/L에서 2,062 mg/L로 감소하였다.

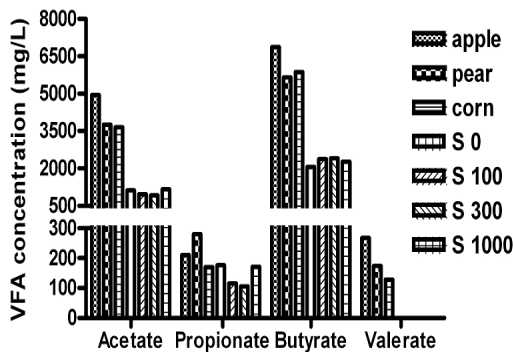
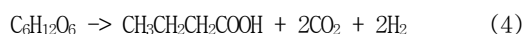


Fig. 4. Organic acid concentrations at various wastewater.

화학양론식에 의하면 1 mol의 hexose가 분해될 때 다음의 식 (3), (4)와 같이 4 mol의 수소와 2 mol의 acetate가 함께 생성되거나 2 mol의 수소와 1 mol의 butyrate가 함께 생성되어 acetate생성이 butyrate의 생성보다 수소 생성에 유리하다고 사료된다.



그러나 B/A (butyrate/acetate)비가 낮아졌을 때 분해된 탄수화물 대비 수소 수율은 저하되고 수소를 발생하지 않는 산생성균 혹은 아세트산 생성균의 양이 증가함이 보고되었다¹⁹⁾. 본 연구

결과 B/A비는 1.6-1.9 (부패 사과 폐수, 황산염 함유 폐수)로 모든 반응조에서 나타났으며, 수소 생성 시 식 (4)에 반응이 주로 발생되었음을 확인하였다. 따라서 발효산물 중 butyric acid의 양에 따라 수소 발생의 증감이 결정되며, 모든 반응조내에 산생성균은 수소 생성 우점 현상이 판단된다.

4. 결론

본 연구에서는 다양한 유기 폐자원 중 식품 폐수 및 황산염 함유 폐수의 처리와 동시에 바이오 수소 에너지 회수에 효과적으로 활용하고자 혐기 소화 회분형태 공정을 수행하였다. 부패된 사과와 배의 경우, 수소 생산량이 높게 나타났으며, Gompertz equation을 이용하여 계산된 수소 생산 가능량은 547.1 mL로 발생되었다. 모든 연구 결과, 최종 pH 범위는 5.5-6.0으로 수소 우점 조건을 유지하였으며 혐기 반응의 저해 요인으로 작용하는 황산염 함유 폐수 경우 황산염 농도와 상관없이 119.2-129.3 mL 수소 생산이 가능하여 유기 폐자원에서 수소 생산 가능성이 사료된다. 이상의 연구 결과, 여러 유기 폐수의 특성을 활용한다면 혐기소화에 의한 바이오 에너지 회수가 가능하며, 여러 변수의 최적 조건의 연구를 통해 고효율의 바이오 에너지를 생산할 수 있을 것으로 판단된다.

후기

본 연구는 과학기술국제화사업의 글로벌연구 실사업 (사업번호 NP2008-019), 21C 프론티어 사업 (사업번호 3-4-3), BK-21 (핵C6B1608) 연구사업 기술 개발비 지원으로 수행되었습니다.

References

- [1] Kim, C.-G., Kang, S.-H., 2007, "Effect of Temperature on Production of Hydrogen in Anaerobic Fermentation", Journal of the Korean Society of Water and Wastewater, Vol. 21, No. 4, pp. 467-475.
- [2] Dincer, I., 2002, "Technical environmental and exergetic aspects of hydrogen energy systems", Int. J. Hydrogen Energy, Vol. 27 No. 3, pp. 265-285.
- [3] J. Mata-Alvarez, S. Mace, P. Llabres, 2000, "Anaerobic digestion of organic solid wastes: an overview of research achievements and perspectives", Bioresource Technology, Vol. 74, No. 3, pp. 3-16.
- [4] Parawira W., Murto M., Zvauya R., Mattiasson B., 2004, "Anaerobic batch digestion of solid potato waste alone and in combination with sugar beet leaves", Renewable Energy, Vol. 29 No.11 pp. 1811-1823.
- [5] Jewell, W. J., R. J. Cummings, B. K. Richards, 1993, "Methane fermentation of

- energy crops: maximum conversion kinetics and in situ biogas purification", *Biomass & Bioenergy*, Vol 5, pp. 261-278.
- [6] Bouallagui H., Y. Touhami, R. Ben Cheikh, M. Hamdi, 2005, "Bioreactors performance used in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes : Review", *Process Biochem.*, Vol. 40, pp. 989-995.
- [7] Chen, C. C., Lin, C. Y., Chang, J. S., 2001, "Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate", *Appl. Microbiol. Biotech.*, Vol. 57, pp. 56-64.
- [8] Jalal, S., Farideh, G., Parisa, M., 2005, "The effect of influent COD and upward flow velocity on the behaviour of sulphate-reducing bacteria", *Process Biochemistry*, Vol. 40, pp. 2305-2310.
- [9] Esposito, G., Weijma, J., Pirozzi, F., Lens, P. N. L., 2003, "Effect of the sludge retention time on H₂ utilization in a sulphate reducing gas lift reactor", *Process Biochem.*, Vol. 39, pp. 491-498.
- [10] Hwang, J.H., Cha, G.C., Jeong, T.Y., Kim, D.J., Bhatnagar, A., Min, B., Song, H., Choi, J., Lee, J.H., Jeong, D.W., Chung, H.K., Park, Y.T., Choi, J.Y., Abou-Shanab, R.A.I., Oh, S.E., Jeon, B.H., 2009, "Effect of COD/SO₄²⁻ ratio and Fe(II) under the variable hydraulic retention time (HRT) on fermentative hydrogen production", *Water Research*, Vol. 43, No. 14, pp. 3525-3533.
- [11] Lay, J.J., Lee, Y.J., Noike, T., 1999, "Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste", *Water Res.* Vol. 33, No. 11, 2579-2586.
- [12] Mah, R.A., Xun, L.Y., Boone, D.R., Ahring, B., Smith, P.H., Wilkie, A., 1990, "Methanogenesis from propionate in sludge and enrichment systems. Microbiology and biochemistry of strict anaerobes involved in interspecies transfer", *FEM Symposium* No. 54, 99-111.
- [13] Hawkes, F.R., Dinsdale, R., Hawkes, D.L., Hussy, I., 2002, "Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation", *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 27, pp. 1339-1347.
- [14] Aubert, C., Brugna, M., Dolla, A., Bruschi, M., Giudici-Ortoni, M.-T., 2000, "A sequential electron transfer from hydrogenases to cytochromes in sulfate-reducing bacteria", *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1476, pp. 85-92.
- [15] Mizuno, O., Li, Y., Noike, T., 1998, "The behavior of sulfate-reducing bacteria in acidogenic phase of anaerobic digestion", *Water Res.*, Vol. 32 No. 5, pp. 1626-1634.
- [16] Aubert, C., Brugna, M., Dolla, A., Bruschi, M., Giudici-Ortoni, M.-T., 2000, "A sequential electron transfer from hydrogenases to cytochromes in sulfate-reducing bacteria", *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1476, 85-92.
- [17] Lin, C. Y., Chen, H. P., 2006, "Sulfate effect on fermentative hydrogen production using anaerobic mixed microflora," *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 31, No. 7, pp. 953-960.
- [18] Van Ginkel, S., Sung, S., Lay, J. J., 2001, "Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration," *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 35, pp. 4726-4730.
- [19] Han, S.K., Shin, H.S., 2004, "Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste," *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 29, pp. 569-577.