

유기산 생산 세균을 고정화한 2상 메탄발효조에 의한 주정 폐수의 고효율 소화

배재근¹ · 고종호² · 김병홍*

¹서울산업대학교 환경공학과, ²두산기술원, 한국과학기술연구원 환경연구센터

A Study on the Use of an Immobilized-Cell Acidogenic Reactor for the High Rate Digestion of a Distillery Wastewater

Phae, Chae-Gun¹, Jong-Ho Koh² and Byung-Hong Kim*

¹Department of Environmental Engineering, Seoul National Polytechnic University, Seoul, Korea

²Environmental ENG. GP, Doosan Technical Center, Kyonggi-do, Korea

Environment Research Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 39-1, Korea

Abstract — Anaerobic fermentative bacteria were isolated from the acidogenic reactor of a laboratory scale 2-stage anaerobic digester. The isolate 1-6 was selected for its ability to produce more fatty acids from distillery wastewater than others, and was identified as a strain of *Clostridium*. The isolate *Clostridium* sp. 1-6 is a thermophilic bacterium growing at 55°C, and grew best at pH 5.5. An acidogenic reactor using immobilized cells of the isolate *Clostridium* sp. 1-6 removed about 15% of COD from distillery wastewater as hydrogen, producing about 50 mM butyrate and about 10 mM acetate, when the reactor was operated at the hydraulic retention time(HRT) of 0.8 hr. It is proposed that this system can be used to convert the distillery wastewater to hydrogen and butyrate. More than 90% of COD was removed from the wastewater by anaerobic digestion using a 2-stage digester consisting of a UASB methanogenic reactor and an acidogenic reactor of the immobilized cells of isolate *Clostridium* sp. 1-6.

고농도 유기성 폐수의 처리에 사용되는 메탄 발효의 효율은 궁극적으로는 미생물에 의해 좌우된다. 다당류를 비롯한 당류, 단백질, 지방 등 모든 유기물이 포함된 폐수가 메탄 발효의 기질로서 이용된다. 메탄 생산균은 acetate, methanol, formate, methylamines, 일산화탄소, 그리고 수소와 이산화탄소만을 기질로 이용할 수 있기 때문에 상기한 유기물이 메탄으로 발효될 때까지는 최소한 3종 이상의 미생물군이 작용한다. 이들은 1) 복잡한 고분자 유기물을 가수 분해하여 유기산과 알코올로 발효하는 가수 분해~발효 세균(hydrolytic fermentative bacteria), 2) 수소의 분압이 낮은 환경에서 lactate, ethanol, propionate, butyrate 등 발효 산물을 메탄 생산균이 이용할 수 있는 acetate와 수소로 분해하는 syntrophic acetogenic bacteria(obligate proton reducers), 3) acetate, formate,

수소와 이산화탄소 등을 메탄으로 발효하는 메탄 생산 세균이다(5).

메탄 생산에 직접 관여하는 이들 세균 이외에도 혐기성 상태에서 질산염이나 황산염을 전자 수용체로 이용하여 성장하는 탈질 세균과 황산염 환원 세균은 메탄 생산 세균이 비해 성장 속도가 빠르고, 기질에 대한 친화성이 높기 때문에 특히 이들이 이용할 수 있는 전자 수용체의 농도가 높은 조건에서는 메탄 생산에 큰 영향을 미친다(11).

메탄 생산에 작용하는 3종류의 미생물 중에서 메탄 생산 세균(methanogens)의 성장 속도가 낮기 때문에 메탄 발효 공정의 수리학적 체류시간(HRT)이 10일 이상으로 길다. 정상적으로 유지되는 메탄 발효 공정에서 유기물 공급량이 과다해지면, 소화조내의 수소 분압과 유기산의 농도가 증가하고 pH가 내려가면서 메탄 생산이 급격히 떨어져 유기물의 제거율이 떨어진다(1). 이러한 현상은 발효 세균이 생산하는 수소와 유기물의 생산 속도가 상대적으로 성장 속도가 낮은 메탄 생산 세균이 소비하는 속도보다 높기 때문에

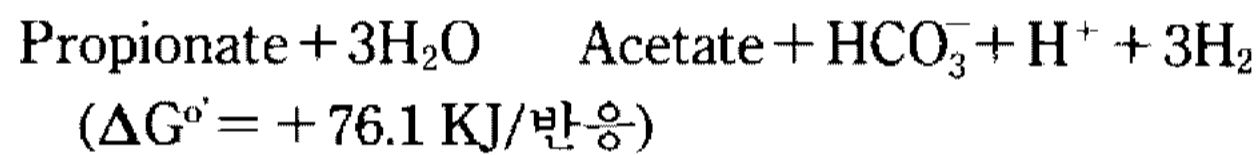
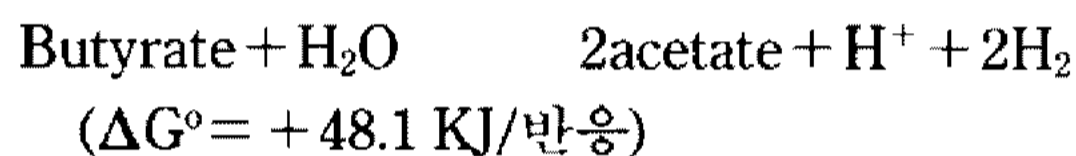
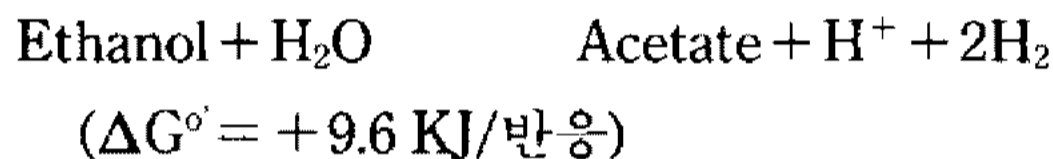
Key words: Immobilized-cell acidogenic reactor, UASB system, distillery wastewater thermophilic *Clostridium*

*Corresponding author

발생한다. 특히 수소의 분압이 높아지면 syntrophic bacteria가 성장할 수 없기 때문에 propionate의 농도가 증가한다(2, 3, 16).

메탄 발효 과정에서 수소 대사는 앞에서 밝힌 바와 같이 발효 세균과 syntrophic bacteria에 의해 생산되고 메탄 생산 세균에 의해 소비된다. 잘 알려진 바와 같이 syntrophic bacteria를 대량으로 순수 배양하는 기술이 개발되지 않아(4) 수소 생산의 효소학적 특성과 이들의 생화학 특성이 잘 알려지지 않았으나 발효 세균에 의한 수소 생산은 환원된 ferredoxin을 기질로 하는 수소화효소(hydrogenase)의 작용으로 알려져 있다(12).

메탄 생산 세균이 직접 이용하지 못하는 발효 산물이 수소 분압이 1기압인 정상 상태에서 syntrophic bacteria에 의해 acetate로 산화되는 반응의 자유 에너지 변화가 다음과 같이 크기 때문에 수소 분압이 극히 낮아야 이들 반응이 가능하다. 특히 propionate의 산화는 수소 분압이 극히 낮아야 한다(17).



Butyrate를 acetate와 수소로 산화하는 *Syntrophomonas wolfei*와 propionate를 산화하는 *Syntrophobacter wolinii*는 수소를 소비하는 메탄 생산 세균이나 황산염 환원세균이 있을 때에만 생장이 가능한 syntrophic bacteria로 이들의 존재는 증명되었으나(2-4, 9, 14) 순수배양을 통한 특성 조사가 이루어지지 않았기 때문에 Bergey's Manual에는 아직 등록되지 않고 있다(8).

복잡한 혐기적 메탄 발효 공정은 기본적으로 수소를 생산하는 산 생산 단계와 소비하는 메탄 생산 단계로 나눌 수 있는데, 각 단계에서 작용하는 미생물은 생리적인 특징 및 영양적 요구성이 매우 다르므로 외부의 조건이 바뀌면 두 세균군 사이의 균형이 깨어져 저해를 받게 된다. 그러므로 산 생산 단계와 메탄 생산 단계를 2개의 반응조로 구분하는 2단계 발효공정이 제안되었다(6). 전통적인 1단계 반응조에서는 하나의 반응조에서 산 생산과 메탄 생산이 동시에 일어나기 때문에 각 단계를 최적 상태로 조절하기가 불가능하고 외부에서 유입되는 폐액의 변화에 민감하게 반응하여 안정성이 깨지는 경우가 발생한다. 그러나 2단계 발효에서는 각 단계에서 적합한 환경 조건을 유지시켜

줄 수 있으며, 산 생산 과정에서 발생하는 수소가 메탄 생산 과정에 작용하는 syntrophic bacteria에 영향을 미치지 않기 때문에 유기물의 과다공급에 의한 저해를 줄일 수 있다.

주정 폐수를 혐기성 소화법으로 처리하기 위해 실험실 규모의 2단 소화조를 운전하는 과정에서 유기산 생산조의 미생물상을 검토하고, 그 미생물을 분리하여 각각의 산 발효 특성을 조사하였다. 우수균을 선정하여 그들의 산 발효 특성을 pH의 변화와 시간의 변화에 따라 조사하고, 산 생산조에 생성된 각종 유기산이 메탄 생산조에서 분해되는 상태를 조사하였다. 또한 유기산 생산조로부터 분리된 산 생산 세균의 응용의 가능성을 검토하기 위하여 기본적인 배양 특성을 조사하였으며, 고정화한 분리균을 반응 장치에 도입하여 분해가 어려운 propionate의 생산을 최소화할 수 있는 산 발효 장치를 갖는 2단계 혐기성 소화조의 운전 가능성과 메탄 생산조에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

또한 upflow anaerobic sludge blanket(UASB) 등 효율이 높은 혐기성 소화조의 개발로 HRT를 8시간 까지 줄일 수 있으나, 2상 소화조의 산 생산조는 continuously stirred tank reactor(CSTR) 법으로 운영되므로 메탄 생산조보다 HRT가 길 필요가 있다. 산 생산조에 고정화 세균을 이용하면 반응조의 유효균체량을 높여 HRT를 줄일 수 있는 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

이용한 폐수

군산의 (주)백화에서 채취한 주정 폐수를 사용하였으며, 주정 생산 공정에서 사용한 원료의 비율은 나맥 : 타피오카 = 50 : 50, 나맥 : 타피오카 = 67 : 33 일 때 채취하였다. 채취한 폐수를 자연 침강으로 침전물을 제거한 상등액을 이용하였다. 폐수의 성상은 pH 3.8~4.2, 화학적산소요구량(COD) 28,000~40,000 ppm, 생화학적산소요구량(BOD) 12,000~22,000 ppm, suspended solid(SS) 1600~1900 ppm, volatile fatty acid(VFA : acetate 14~20.3 mM, propionate 2~4 mM, butyrate 0.1~0.2 mM)와 같다.

메탄 발효조

산 생산과 메탄 생산을 분리한 2단계로 구성된 메탄 발효 장치를 사용하였다(Fig. 1). 산 생산조는 2.5 l 발효조(한국발효기주식회사, 인천, working volume 1 l)를 이용하여 55°C에서 CSTR로 운전하였다. 산

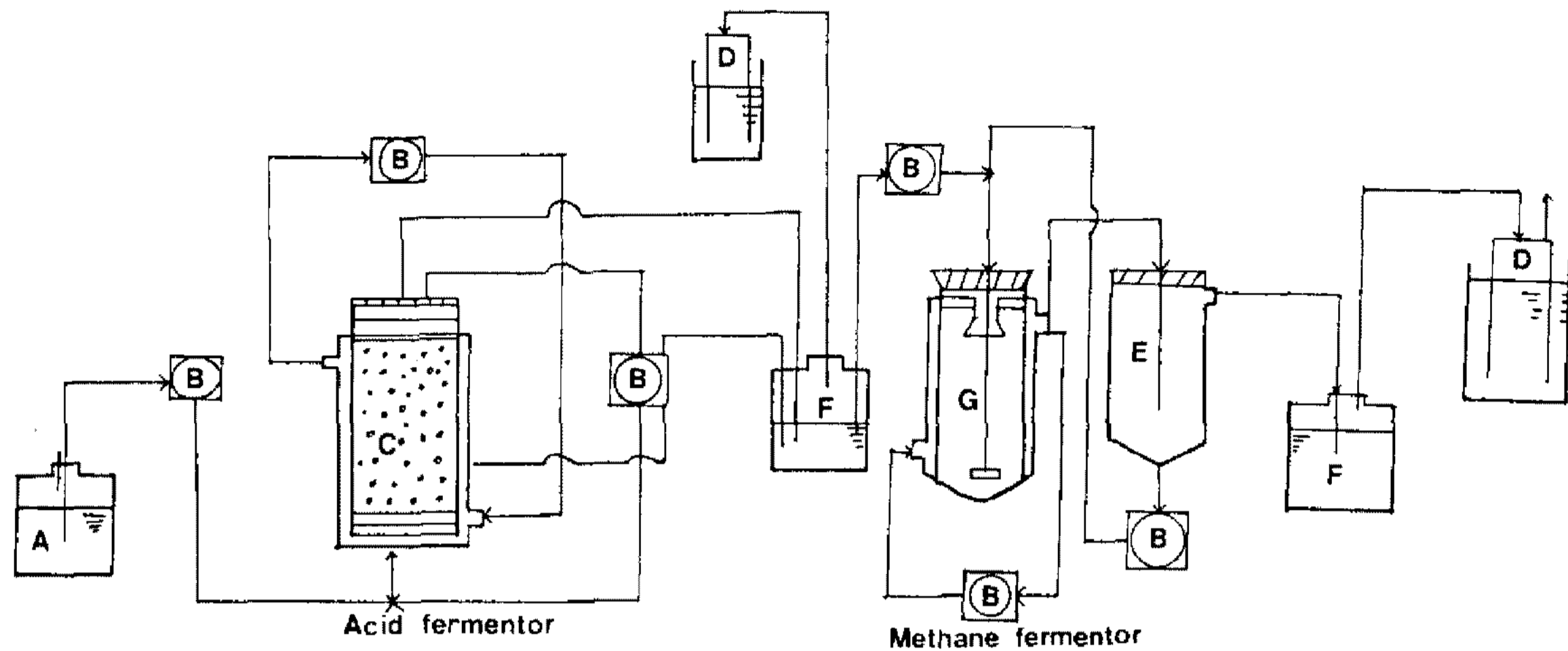


Fig. 1. Schematic diagram of the laboratory scale 2-stage anaerobic digester consisting of a CSTR acidogenic reactor and two UASB reactors operated at 35°C and 55°C.

A: Inlet wastewater B: Peristaltic pump C: Immobilized beds D: Gas holder E: Sediment tube F: Outlet wastewater G: Methane reactor

발효조 유출수는 침전조를 거쳐 2조의 메탄 생산조로 주입할 수 있게 설치하였다. 메탄 생산조는 UASB에 기본을 두고 제작하였다. 유리로 제작된 메탄 발효조는 직경 6.0 cm, 높이 35 cm로 용적은 690 ml이었다. 반응조의 주위에 water jacket를 설치하고, circulating water bath(Lauda K-2/R, Brinkmann Instruments)로 온도를 35°C와 55°C로 일정하게 유지하였다. 가스 분리장치(gas solid separator)를 설치하지 않았다. 폐수의 유입은 중앙의 유리관을 통하여 밑에서 위쪽으로 상방 향류를 유지시켰다. 반응조로부터 유출되는 폐액은 침전조로 유입되어, 침전조의 하부로부터 농축된 sludge는 반송되도록 하였다. 이 때의 반송량은 1시간당 255 ml가 되도록 조정하였다.

발생된 가스는 일단 폐수와 함께 15l의 폐수 포집병으로 유입되도록 하여서 폐수와 가스를 분리하였다. 기체는 용적 눈금이 들어 있는 실린더 형태의 가스 포집기에 포집하여 생산량을 산출하였다. 메탄 생산조의 pH는 특별한 경우를 제외하고는 제어되지 않았다.

미생물의 균수의 측정(Counting)

미생물의 계수와 분리에는 BL-agar(일본 Eiken chemical Co., LTD.)를 사용하였으며, 액체 배양에는 TPY(Eiken) 배지를 사용하였다. 배지의 준비와 배양 조건을 절대 혐기적 조건으로 유지하였다(12).

세균의 계수와 분리는 roll-tube 법에 따라 실시하였다(7, 13). 배지 중의 산소를 제거하기 위해 끓인 다음 질소로 gassing하면서 50 ml의 vial에 5 ml씩 분주하고, 질소 가스의 주입과 함께 butyl rubber

마개와 aluminium cap으로 밀봉하였다. Vial은 121°C, 15기압에서 20분간 가압 멸균하였다. 멸균이 끝난 후 vial을 60°C의 water bath에 보존하여 한천이 굳지 않도록 하였다. 산 생산조와 메탄 생산조로부터 시료를 채취하여 혐기적으로 만든 0.85%의 NaCl 용액을 사용하여 10~6까지 희석하였다. 각 희석 용액 0.1 ml를 1 ml 주사기로 취하여 미리 준비한 roll tube에 넣고 잘 혼합하였다. 냉수중에서 vial을 서서히 돌려서 vial의 벽면에 일정하게 배지가 균도록 하였다.

일정하게 한천이 굳은 것을 확인한 다음, 산 생산조 시료와 55°C의 시료는 55°C의 배양기에 35°C의 시료는 35°C의 배양기에 넣어 배양하였다. 균수의 측정은 배양 1주일 뒤에 하였다.

미생물의 분리

미생물의 측정이 끝난 다음 적당한 수의 독립된 colony를 갖는 희석 배율이 높은 roll tube를 anaerobic grove box(Coy Lab., Michigan, 미국)에 넣고, 백금이 독립된 colony를 취하여 새로운 roll tube에 옮겨 혐기 상태에서 배양하였다. 한천 배지를 9 ml씩 넣고 미리 굳힌 50 ml의 vial을 roll tube로 사용하였다.

Vial을 이용한 배양과 분리균의 보존

분리균의 배양이나 반응조에서 채취한 sludge의 특성을 조사하기 위해 125 ml의 vial을 사용하였다. Roll tube 법과 같은 방법으로 vial당 배지 30 ml를 준비하였다. BL 액체배지, TPY 액체배지, 주정 폐수 원액, 산 발효조 유출수 등을 멸균(가압 멸균 121°C, 1 atm, 20분)한 다음 사용하였다.

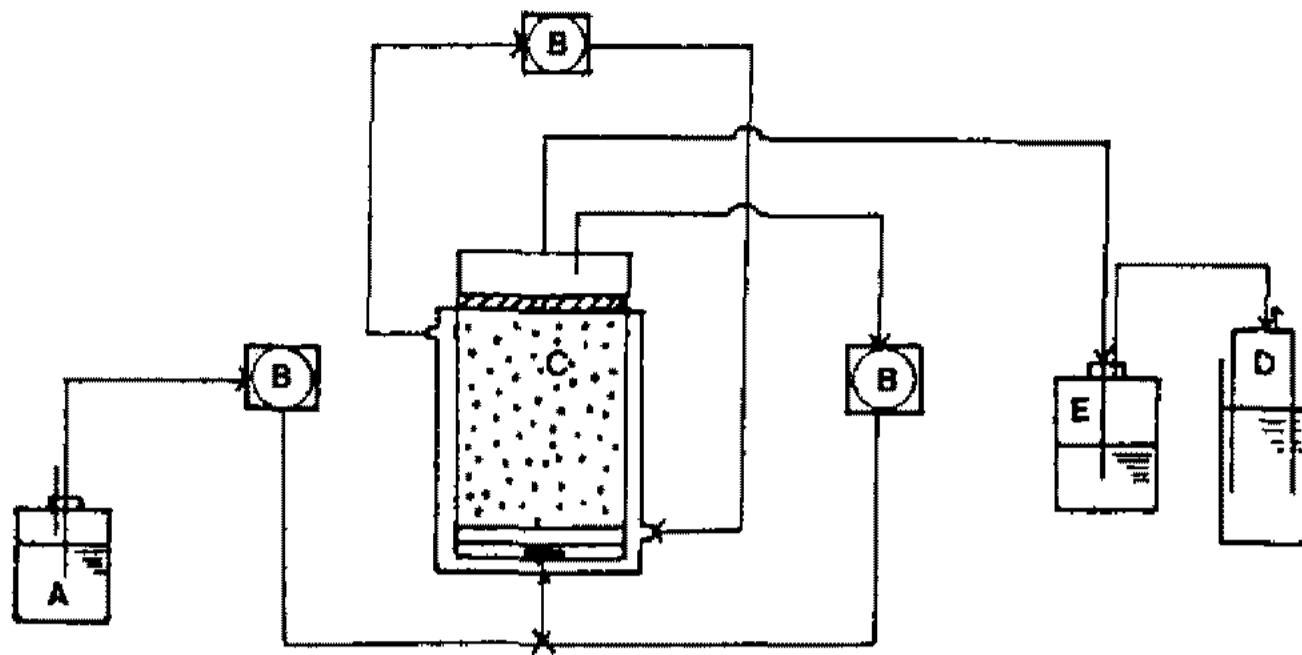


Fig. 2. Acidogenic reactor using immobilized isolate *Clostridium* sp. 1-6.

A: Inlet wastewater B: Peristaltic pump C: Immobilized beds D: Gas holder E: Outlet wastewater.

분리균은 TPY 배지 혹은 BL 배지로 만든 roll tube 또는 액체 배양으로 보존하면서 실험에 사용하였으며, 장기 보존을 위해서는 25% glycerol 용액에 균체를 현탁하여 -40°C 에서 보관하였다.

고정화 담체의 제조

균체의 고정화를 위해 sodium alginate를 이용하였다. TPY 배지에서 배양한 균체를 2% sodium alginate에 잘 현탁한 다음 pipette으로 5% CaCl_2 용액에 주입하여 구형의 calcium alginate bead로 만들었다.

고정화 균체를 이용한 산 생산조

용량이 500 ml인 반응조에 균체를 고정화한 bead를 완전히 채우고 HRT 0.8시간이 되도록 주정 폐수를 공급하여, 55°C 의 온도에서 운전하였다(Fig. 2). 이 때에 초기에는 원수의 pH를 조정하지 않고 운전하고, 일정시간이 경과한 다음에 pH를 5.5로 조정하여 운전하였다. 발생하는 가스는 가스 포집기로 포집하여 필요하면 그 조성을 분석하였다. 발생하는 가스의 누적을 방지하고 액의 흐름을 원활하게 하기 위해 pulse pump를 사용하여 주기적으로 액을 강제 순환시켰다.

분석

COD: CODCr 값을 적정법(standard method)으로 측정하거나, cuvette법(Dr Lange Co.)를 이용하여 측정하였다(17).

휘발성 지방산의 농도 및 메탄가스 농도의 측정:

휘발성 지방산은 gas chromatography 법을 이용하여 정량 분석하였다(12). 메탄 가스는 같은 방법으로 column 온도를 60°C 의 조건에서 분석하였다.

결과 및 고찰

Table 1. The change in the number of anaerobic bacteria in anaerobic digesters operated at different conditions(55°C)

RUN	Acidogenic reactor (c.f.u/ml)	Methanogenic reactor (c.f.u/ml)
1	4.9×10^7	2.7×10^7
2	4.0×10^8	3.4×10^7
3	2.7×10^8	3.0×10^7
4	7.0×10^8	1.8×10^8

Each run was operated at different agitation speed of the acidogenic reactor.

산 생산조와 메탄 생산조내의 미생물의 분리

산 생산조와 메탄 생산조로 분리한 2단 혐기성 소화조에서 채취한 시료로부터 BL 배지를 이용하여 roll-tube 법으로 혐기성 세균을 분리한 결과 산 발효조에서는 $0.5 - 7.0 \times 10^8$ 정도의 세균이 분리되었으며, 메탄 발효조에서는 $2.7 - 18 \times 10^7$ 정도이었다(Table 1).

BL 배지는 methanogen이 성장할 수 없다. 따라서 여기에서 분리된 세균은 모두 산과 알코올을 생산하는 발효 세균으로 판단된다. 메탄 생산조에서도 발효 세균이 산 생산조의 약 1/10 정도 분리되는 것은 메탄 생산조로 유입되는 산 생산조 발효액에서 사멸되지 않았거나 산 생산조에서 발효가 완전히 이루어지지 않았기 때문에 메탄 생산조에서도 발효가 계속되기 때문으로 생각된다. 35°C 의 메탄 생산조에서도 비슷한 수의 세균이 분리되는 것으로 보아 메탄 생산조의 발효 세균은 산 생산조에서 유입되는 것이 아니라 자체에서 성장하는 것으로 판단된다.

산 생산조에서 채취한 시료의 roll-tube에서 colony의 모양이 서로 다른 6주의 혐기성 세균을 분리하여 이들을 각각 1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6으로 명명하였다. 분리한 세균은 모두 주정 폐수를 배지로 사용한 실험에서 잘 성장하였다. 발효 산물을 분석한 결과 모든 분리균이 성장 초기에 acetate 생산하였으며, 발효 시간이 경과할 수록 acetate를 소비하면서 butyrate를 생산하였다. Fig. 3은 주정 폐수에서 가장 왕성하게 성장하는 분리균 1-6의 시간별 유기산 생산을 나타낸다.

분리균 1-6의 특성

분리균 중에서 butyrate의 생산성이 가장 높은 분리균 1-6의 특성을 조사하였다. 먼저 산소에 대한 반응을 조사하기 위하여 150 ml vial에 TPY 배지를 60 ml씩 넣고 공기를 1 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml, 30 ml,

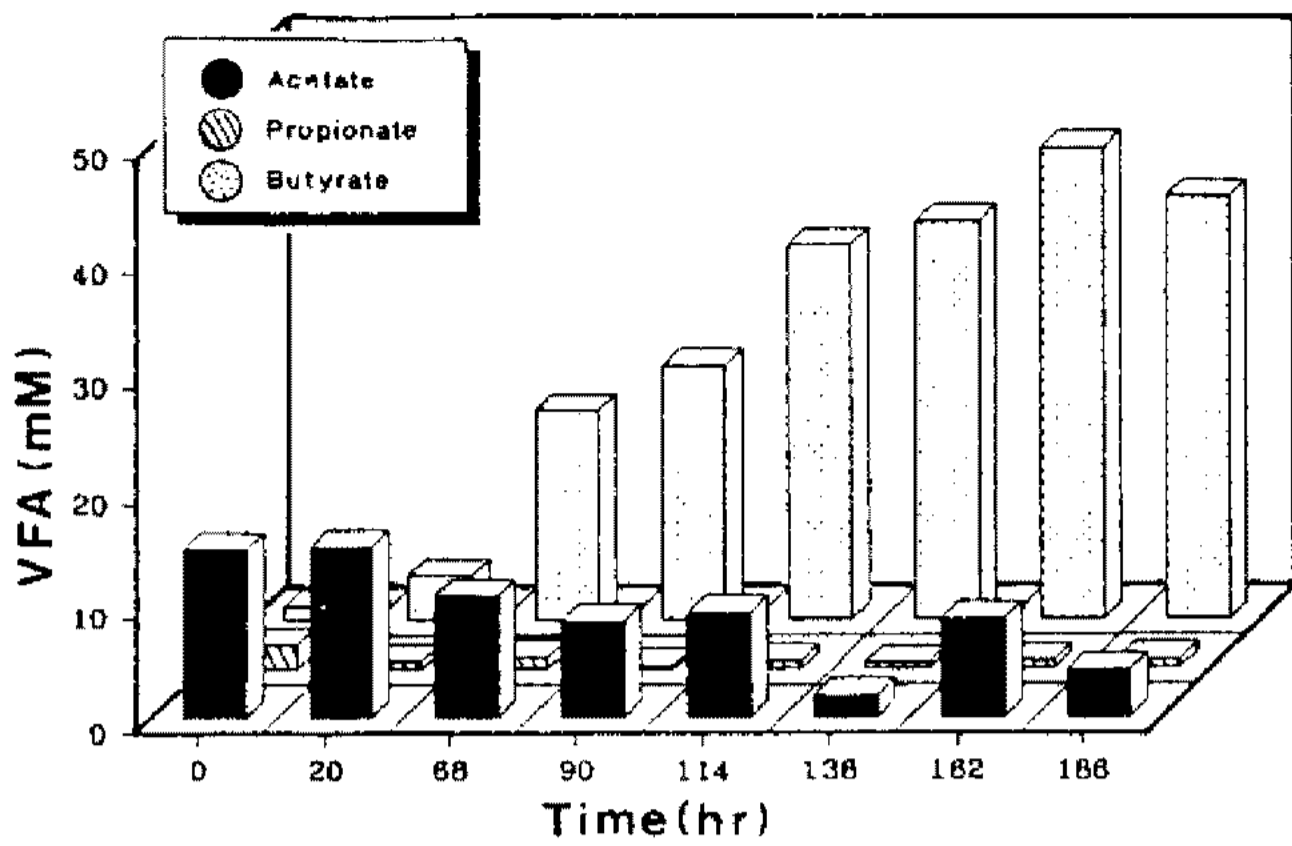


Fig. 3. Fatty acid productions by isolate 1-6 from distillery wastewater.

50 ml/씩 넣어 생육과 유기산 생산을 분석한 결과, 공기를 15 ml/vial 이상 첨가한 vial에서는 분리균이 생육하지 못하였으며, 생산되는 유기산도 공기량의 증가에 따라 감소하는 경향을 보였다. 적은 양의 공기를 공급한 vial에서 생육하였으나 15 ml 이상 공급한 vial에서 생육하지 못한 이유는 가압 멸균 중에 첨가한 공기 중의 산소가 배지 성분과 작용하여 소비되었거나, 분리균이 소량의 산소에 내성을 갖는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 분리균 1-6은 절대 혐기성균으로 판단된다.

분리균 1-6을 55°C 와 35°C 에서 각각 배양한 결과 55°C 에서는 배양 24시간에 O.D₆₆₀이 4부근이 되었으나 35°C 에서는 균이 전혀 성장하지 않았다. Gram 염색 성이 양성이고 현미경 관찰에서 포자가 보였으며, 황산염을 환원하지 않았다. 이상의 실험 결과 분리균 1-6은 *Clostridium*속 에 속하는 세균으로 동정되었다(10).

분리균 *Clostridium* sp. 1-6의 생장의 최적 pH를 측정하기 위해 멸균이 끝난 후의 pH가 4.14, 5.10, 5.75, 6.44, 6.77, 7.31로 조절된 주정 폐수에 집중하여 시간의 변화에 따라 유기산의 생산량을 분석하였다. 배양 초기(24, 48시간)에는 pH 5.75에서 가장 많은 유기산이 생산되었다. 그러나 시간이 경과함에 따라 낮은 pH에서는 유기산의 생산이 중단되었으며, pH 6.44의 배양은 유기산을 계속 생산하여 pH 5.75의 생산량보다 높았다. 배양 72시간 후의 유기산 생산량은 Fig. 4와 같다. 초기 pH가 6.44인 배양의 72시간 후의 pH가 약 5.5로 측정되었다. 이러한 결과는 분리균 *Clostridium* sp. 1-6은 pH 5.5 부근에서 가장 높은 발효능을 갖는 것을 나타낸다.

메탄 생산조의 butyrate 분해

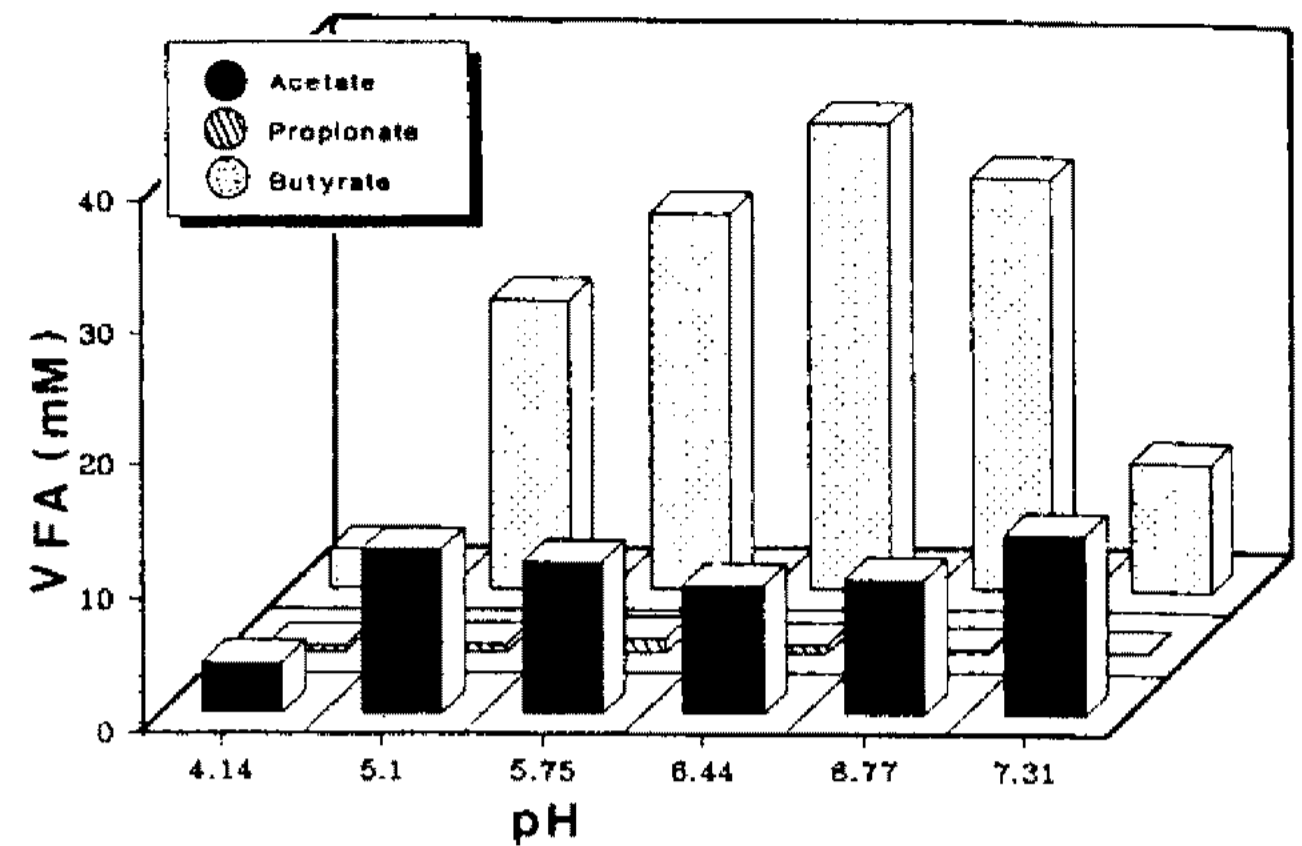


Fig. 4. Fatty acid productions by isolate 1-6 from distillery wastewater at different pH.

혐기성 소화조에서 성장하는 발효 세균은 유기 폐수를 acetate, propionate, butyrate 등 유기산으로 전화시킨다. 이 중에서 propionate는 syntrophic bacteria에 의해 산화될 때 수소 분압이 극히 낮아야 한다. 따라서 유기물의 과다 공급등 이상이 발생하면 propionate가 축적되면서 소화력을 상실한다. 2단 소화조의 산 생산조에서 분리균 *Clostridium* sp 1-6을 이용하여 propionate의 생산을 억제하고 acetate와 butyrate만을 생산하는 산 생산조를 운영할 수 있는 가능성을 보기 위해 메탄 생산조에서 채취한 sludge의 butyrate 분해 속도를 측정하였다.

메탄 생산조의 sludge 30 ml을 혐기적으로 125 ml vial에 담고 butyrate를 최종 농도가 60 mM로 첨가한 다음 시간 별로 유기산의 변화를 분석하여 Fig. 5의 결과를 얻었다. 배양 5시간 이내에 첨가한 butyrate가 거의 다 분해되었다. 실제 유기산 생산조의 유출수가 연속적으로 메탄 생산조에 도입될 때에는 더욱 더 낮은 농도임을 감안하여, butyrate는 메탄 생산조에 축적되지 않고 분해된다는 것을 알 수가 있다. Butyrate의 분해로 생산될 수 있는 acetate의 양이 증가하지 않는 것으로 볼 때 butyrate로부터 생산되는 acetate는 즉시 메탄으로 전환됨을 알 수 있다.

중온과 고온 메탄 생산조의 butyrate 분해 활성을 비교한 결과 55°C 의 반응조에서 채취한 오니가 35°C 의 그것보다 높은 활성을 보였다.

Butyrate의 분해로 2acetate와 2H₂가 생산된다. Fig. 5에서 butyrate 분해로 acetate의 축적이 관찰되었으나 이론적인 최고치인 120 mM에는 크게 못 미치는 농도이다. Butyrate의 분해는 수소 분압이 낮아야 하기 때문에 butyrate가 계속 분해되는 것으로부터 수소 또한 축적되지 않는다는 것을 알 수 있다. 비슷한 조건에서 3회에 걸쳐 butyrate를 첨가는 실험에서도

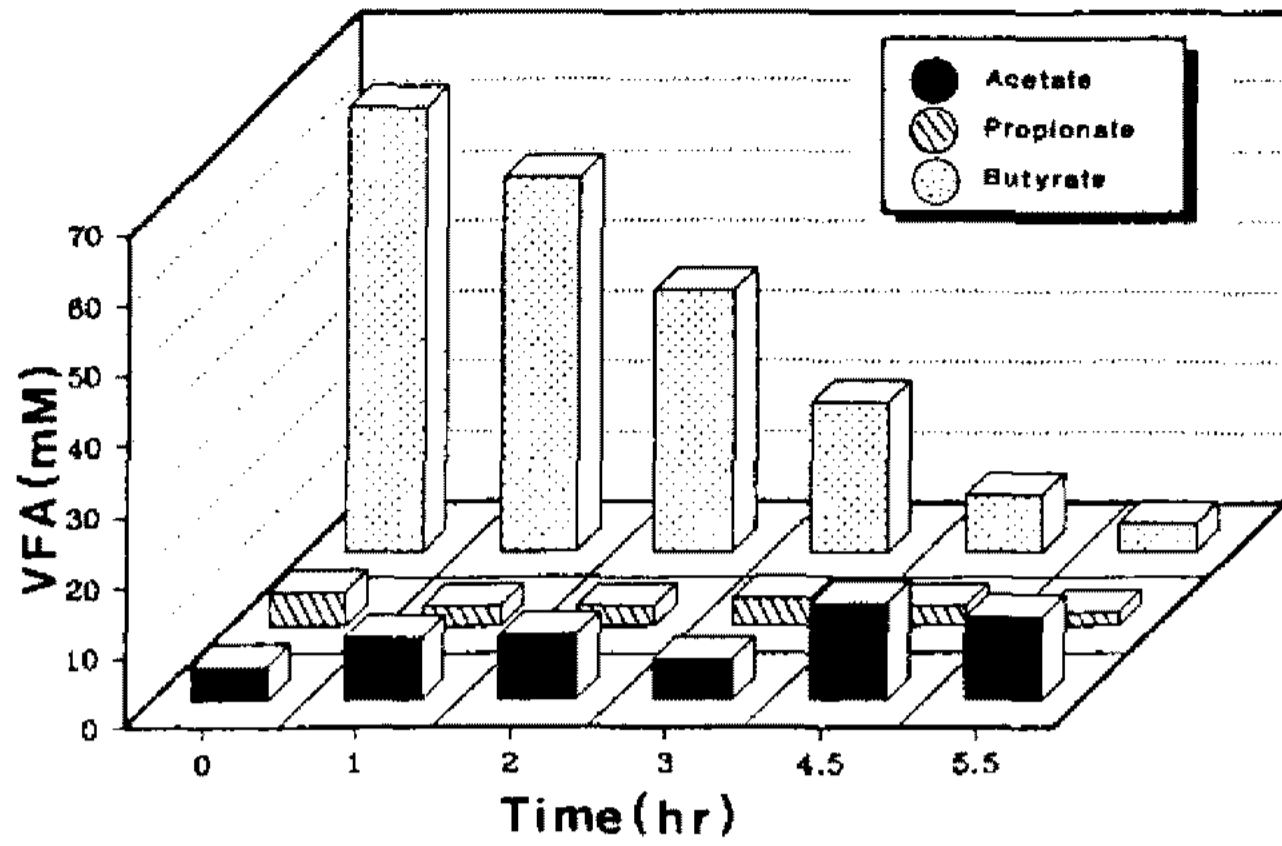


Fig. 5. Butyrate degradation by methanogenic sudge.

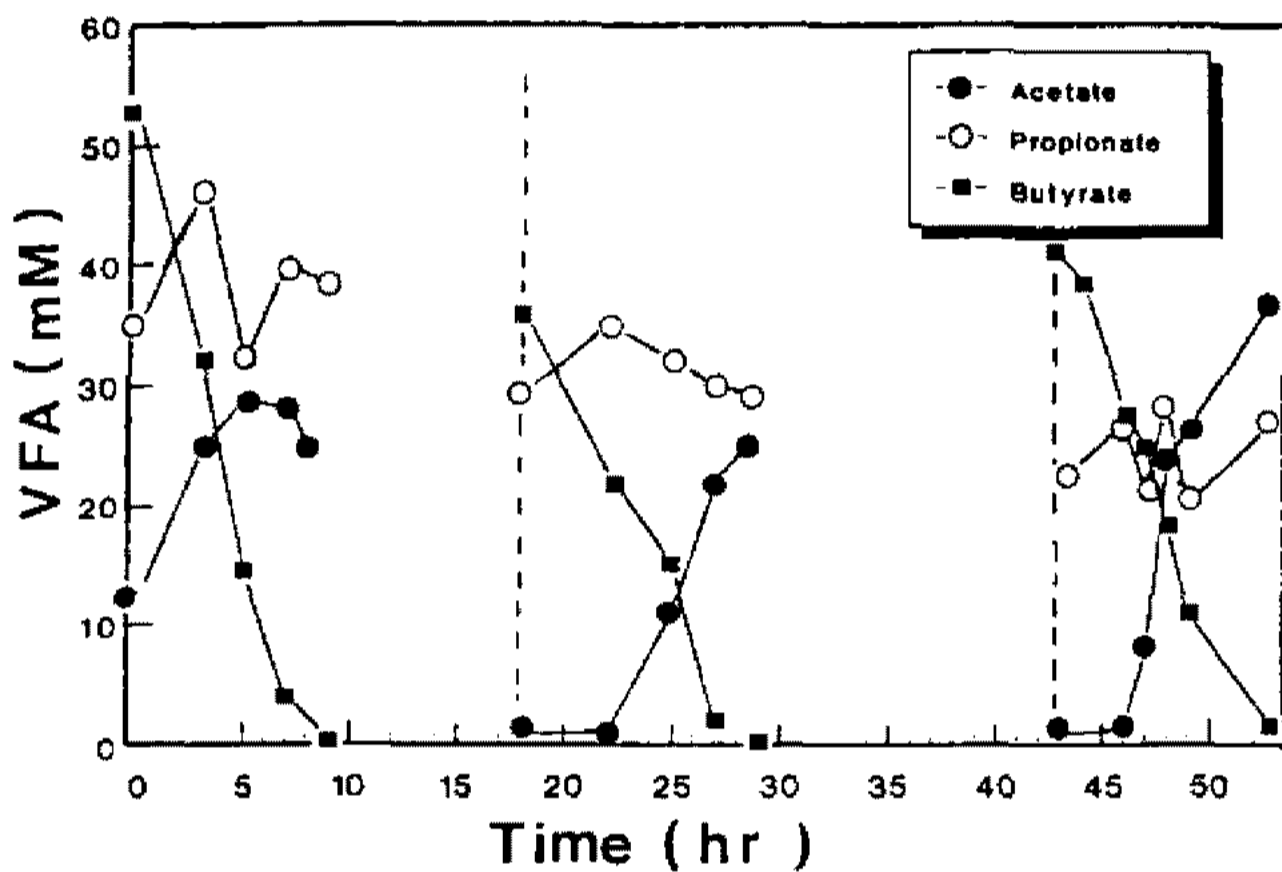


Fig. 6. Butyrate degradation by methanogenic sudge with repeated addition of butyrate.

acetate의 양이 증가하다 다시 소비되었으며, butyrate의 분해는 계속되었다(Fig. 6).

이상의 결과에서 propionate의 생산을 억제하고 acetate와 butyrate만을 생산하는 산 생산조를 혐기성 소화에 이용하면 propionate가 생산될 때보다 유리할 수 있다는 것을 알 수 있다.

고정화한 분리균 Clostridium sp. 1-6을 이용하는 산 생산조의 운영

지금까지의 실험 결과 분리균 Clostridium sp. 1-6은 주정 폐수를 발효하여 acetate와 butyrate를 생산하며, butyrate는 메탄 생산조에서 쉽게 분해되는 것을 알았다. Propionate의 생산을 억제할 수 있는 산 생산조를 이용하는 새로운 2단 혐기성 소화조를 운전하기 위해 분리균 Clostridium sp. 1-6을 calcium alginate에 고정화 한 bead를 채운 반응조에서 주정 폐수의 발효 정도를 조사하였다. 초기에 3일간은 pH를 조절하지 않고 운전을 하였으며, 4일째부터는 pH를 5.5로 일정하게 조정하였다.

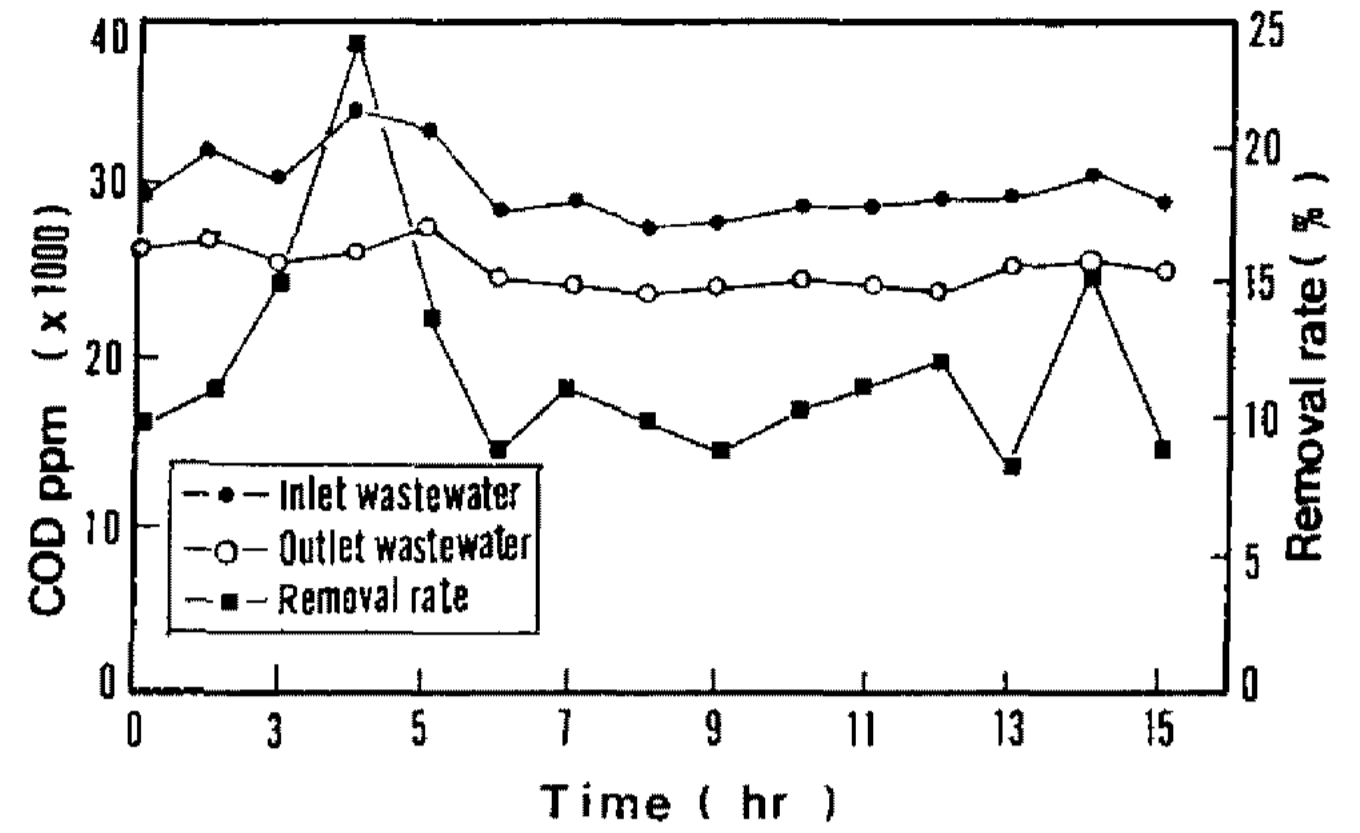


Fig. 7. Changes in chemical oxygen demand of distillery wastewater through the treatment by the acidogenic reactor containig immobilized cells of isolate 1-6.

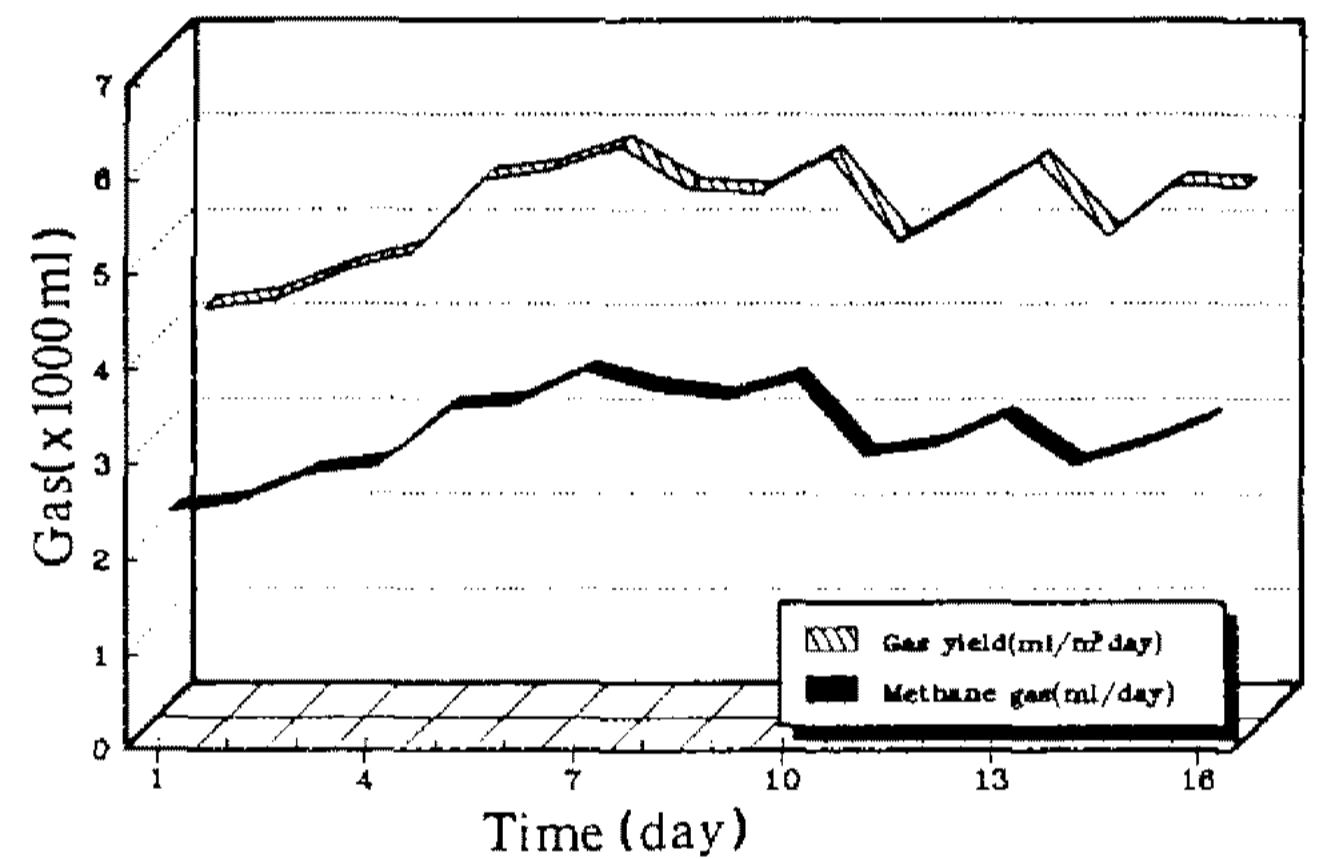


Fig. 8. Gas production from the distillery wastewater fed acidogenic reactor.

Fig. 7은 이 반응조로 주정 폐수를 처리하였을 때의 COD 변화와 COD 제거율을 나타낸다. 그림에서 보는 바와 같이 약 15%의 COD가 제거되었다. 그림에서 제거율이 급격히 증가한 것은 COD 값이 높은 폐수가 유입될 때 유출수의 시료 채취 시간이 다르기 때문이다. 운전 중 발생하는 가스의 양은 Fig. 8과 같다. 초기 5일간은 가스 발생 양이 점차 증가하여 그 이후 3.7 l/day·reactor로 거의 일정하였다. 발생한 가스의 GC 분석에서 메탄은 검출되지 않았으나 가연성인 것으로 판단할 때 이 발효는 전형적인 clostridial butyrate 발효 과정으로 다량의 수소와 이산화탄소가 생산되는 것으로 판단할 수 있다. 발효 산물 또한 전형적인 clostridial butyrate 발효에서처럼 butyrate와 acetate가 주된 유기산으로 분석되었다(Fig. 9).

주정 폐수는 주정 발효에서 이용되지 않은 당과 효모 균체를 함유하고 있다. 따라서 단일 세균이 주정 폐수에 함유되어 있는 여러 종류의 유기물을 발효하지는 못할 것으로 판단할 수 있으나 고정화한 Clostri-

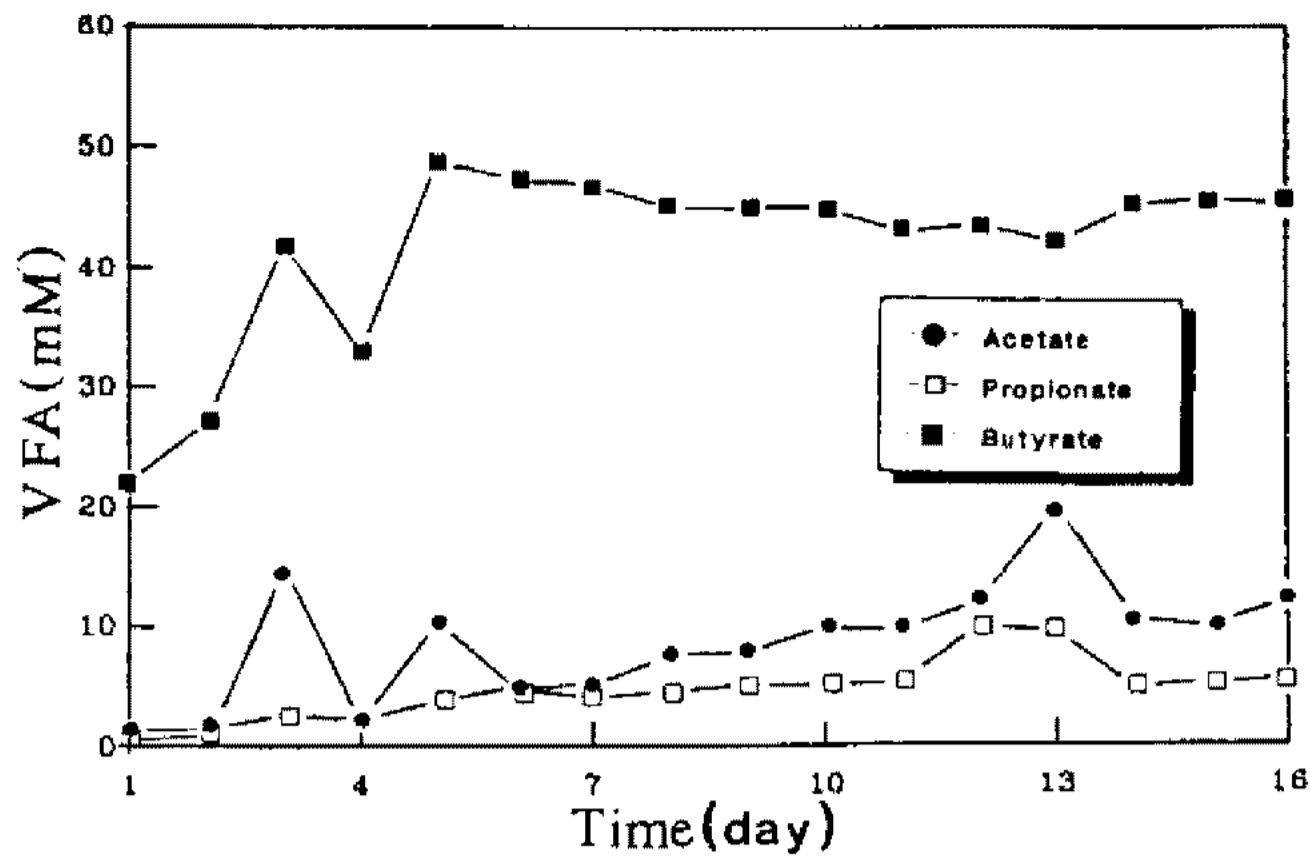


Fig. 9. Volatile fatty acid productions from the distillery wastewater fed acidogenic reactor.

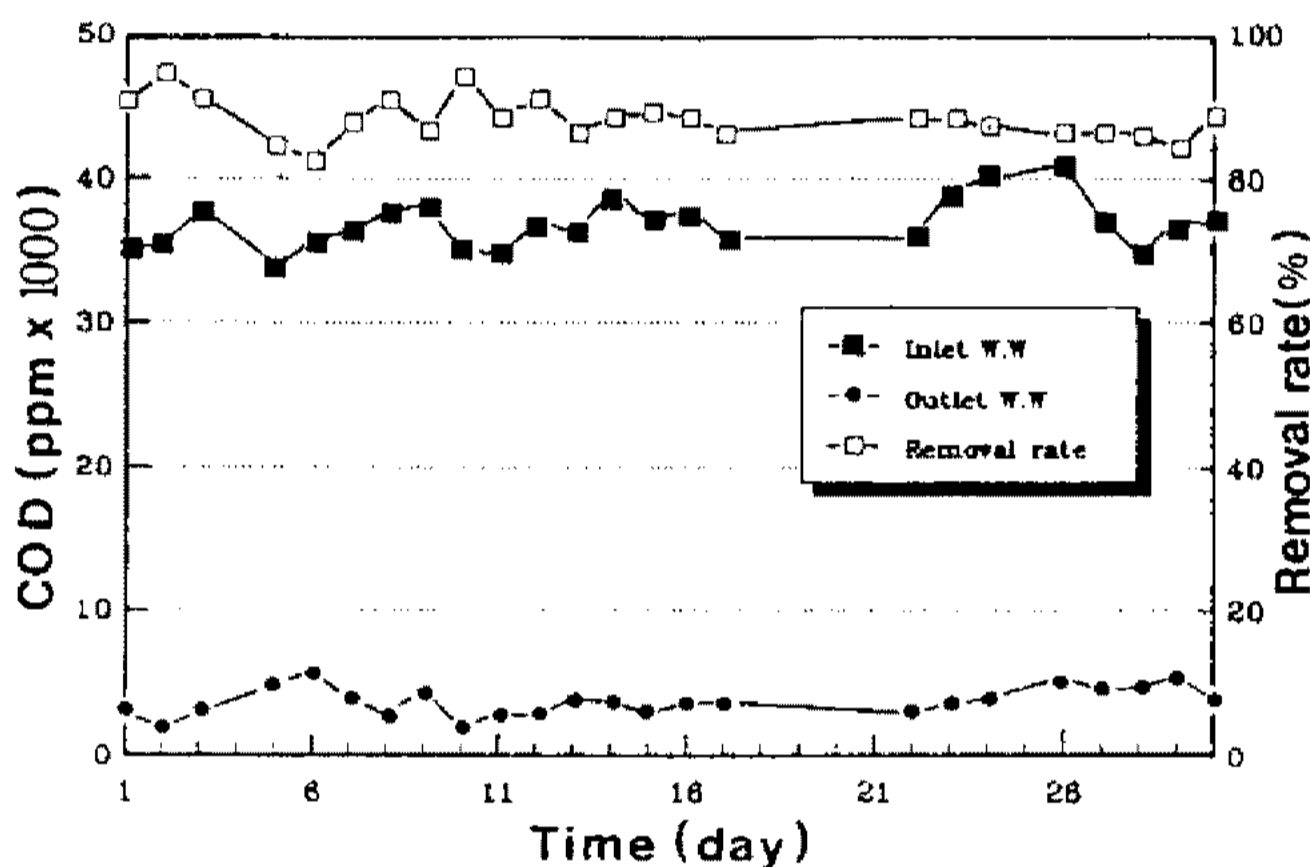


Fig. 10. The performance of a 2-stage anaerobic digester consisting of an immobilized cell acidogenic reactor and a UASB methanogenic reactor treating distillery wastewater.

dium sp. 1-6은 HRT 0.8시간에서 정상적인 CSTR 형 산 생산조와 거의 비슷하게 약 15%의 COD를 제거하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 고정화한 분리균 *Clostridium* sp. 1-6을 이용하면 propionate의 생산을 억제할 수 있는 소형의 산 생산조를 만들 수 있음을 알 수 있다.

Butyrate는 여러 가지 향료의 원료로 이용되고 있기 때문에 발효법으로 생산되는 butyrate의 시장성이 상당히 크며, 수요가 계속 증가할 것으로 예측되고 있다(15). 고정화한 *Clostridium* sp. 1-6을 이용하면 주정 폐수를 화학 공업의 원료인 butyrate, 또는 청정 연료인 수소 등으로 자원화할 수 있는 공정도 가능할 것으로 판단된다.

고정화한 *Clostridium* sp. 1-6을 이용하는 메탄 발효조

고정화한 분리균 *Clostridium* sp. 1-6이 주정 폐수를

빠른 속도로 발효하여 butyrate와 acetate를 생산하며, butyrate는 메탄 생산조에서 쉽게 메탄으로 대사된다는 사실을 바탕으로 앞 실험에서 사용한 산 생산조를 메탄 생산조에 연결하여 주정 폐수를 처리하여 Fig. 10의 결과를 얻었다. 메탄 생산조의 체류 시간은 1일이었다.

유입수의 COD가 약 36,000 mg/l일 때 제거효율이 90% 이상으로 CSTR 형 산생산조를 사용하였을 때 보다 제거 효율도 높았다. 이러한 효율은 30일간의 전 실험 기간 동안 대단히 안정하였다.

요 약

주정 폐수를 처리하는 실험실규모의 2단 혐기성 소화조로부터 분리한 대표적인 유기산 생산균의 특성을 조사하여 주정 폐수를 butyrate와 acetate로 분해하는 *Clostridium* sp. 1-6으로 동정하였다. 분리균 *Clostridium* sp. 1-6은 55°C에서 성장하는 고온균으로 pH 5.5에서 가장 발효가 왕성하였다. Calcium alginate로 고정화한 분리균 *Clostridium* sp. 1-6을 이용하는 산 생산조에서 HRT 0.8시간으로 주정 폐수를 연속 처리한 결과 약 15%의 COD가 수소 형태로 제거되면서 약 50 mM의 butyrate와 약 10 mM의 acetate가 생산되었다. 분리균 *Clostridium* sp. 1-6을 이용하여 주정 폐수를 처리하면 수소와 butyrate를 생산할 수 있으며, 2단 혐기성 소화조의 산 생산조로도 이용할 수 있다. 고정화한 분리균 *Clostridium* sp. 1-6을 산 생산조로 사용한 2단 혐기성 소화조의 COD 제거율이 90 이상으로 CSTR 형의 산 생산조보다 우수하였다.

참고문헌

1. Archer, D.B., M.G. Hilton, P. Adams, and H. Weiko. 1986. Hydrogen as a process control index in a pilot scale anaerobic digester. *Biotechnol. Lett.* 8: 197-202.
2. Arching, B.K. and P. Westermann. 1987. Thermophilic anaerobic degradation of butyrate by a butyrate-utilizing bacterium in coculture and triculture with methanogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 429-433.
3. Arching, B.K. and P. Westermann. 1987. Kinetics of butyrate, acetate and hydrogen metabolism in a thermophilic, anaerobic, butyrate-degrading triculture. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 434-439.
4. Beaty, P.S. and J. McInerney. 1987. Growth of *Syntrophomonas wolfei* in pure culture on crotonate. *Arch. Microbiol.* 147: 389-393.

5. Bryant, M.P., E.A. Wolin, M.J. Wolin, and R.S. Wolfe. 1967. *Methanobacterium omelianskii*, a symbiotic association of two species of bacteria. *Arch. Mikrobiol.* **59**: 20-32.
6. Cohen, A., R.J. Zoetemeyer, A. Van Deursen, and J.G. Van Andel. 1977. Anaerobic digester of glucose with separated acid production and methane formation. *Water Res.* **13**: 571-580.
7. Chynoweth, D.P. and R.A. Mah. 1977. Bacterial populations and end products during anaerobic sludge fermentation of glucose. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **49**: 405-412.
8. Gottschalk, G. and S. Peinemann. 1992. The anaerobic way of life, Pp. 300-311. In Balows, A., H.G. Trueper, M. Dworkin, W. Harder, and K.H. Schleifer (eds.), *The Prokaryotes*, Springer-Verlag, New York.
9. Henson, J.M. and P.H. Smith. 1985. Isolation of a butyrate-utilizing bacterium in coculture with *Methanobacterium thermoautotrophicum* from a thermophilic digester. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**: 1461-1466.
10. Hippe, H., J.R. Andreesen, and G. Gottschalk. 1992. The genus *Clostridium*-nonmedical, Pp. 11800-11866. In Balows, A., H.G. Trueper, M. Dworkin, W. Harder and K.H. Schleifer (eds.), *The Prokaryotes*, Springer-Verlag, New York.
11. Jeremy, W., Abram, and David, B., Nedwell. 1978. Inhibition of methanogenesis by sulphate reducing bacteria competing for transferred hydrogen. *Arch. Microbiol.* **117**: 89-92.
12. Kim, B.H. and J.G. Zeikus. 1992. Hydrogen metabolism in *Clostridium acetobutylicum* fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2**: 248-254.
13. Ljungdahl, L.G. and J. Wiegel. 1986. Working with anaerobic bacteria, Pp. 84-96. In Demain, A.L. and N.A. Solomon (eds.), *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. McInerney, M.J., M.P. Bryant, and N. Pfenning. 1979. Anaerobic bacterium that degrades fatty acids in syntrophic association with methanogens. *Arch. Mikrobiol.* **122**: 129-1358.
15. Playne, M.J. 1985. Propionic acid and butyric acid, Pp. 731-759. In Blanch, H.W., S. Drew, and D.I.C. Wang (eds.), *Comprehensive Biotechnology*, Vol. 3, Pergamon Press, Oxford.
16. Whitmore, T.N. and Lloyd, D. 1986. Mass spectrometric control of the thermophilic anaerobic digestion process based on levels of dissolved hydrogen. *Biotechnol. Lett.* **8**: 203-208.
17. APHA. 1980. *Standard Method for the Examination of Water and Wastewater*, 15th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

(Received February 2, 1994)