

## 소수성 및 친수성 담체를 이용한 Trickling Bed Biofilter의 생물학적 수소생산

전병승\*, 이선미\*, 김용환\*\*, 구만복\*\*\*, 채희정\*\*\*\*, 상병인\*<sup>†</sup>

\*한국과학기술연구원, \*\*광운대학교, \*\*\*고려대학교, \*\*\*\*호서대학교

## The Fermentative Hydrogen Production in Trickling Bed Biofilter Filled with Hydrophilic-and Hydrophobic-Media

Byung-Seung Jeon\*, Sun-Mi Lee\*, Yong-Hwan Kim\*\*, Man-Bock Gu\*\*\*,  
Hee-Jeong Chae\*\*\*\*, Byoung-In Sang\*<sup>†</sup>

\*Korea Institute of Science and Technology, 39-1, Hawolgok-dong, Seongbuk-gu, Seoul, 136-791, Korea

\*\*Kwang Woon University, 447-1, Wolgye-dong, Nowon-gu, Seoul, 139-701, Korea

\*\*\*Korea University Anam-dong, Seongbuk-gu, Seoul, 136-701, Korea

\*\*\*\*Dept. Chemical Engineering, Hoseo University San 29-1, Sechul-li, Baebang-myun,  
Chunan-city, Choongchungnamdo, 336-795, Korea

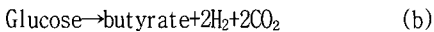
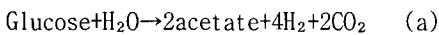
### ABSTRACT

Two mesophilic trickling bed bioreactors filled with two different types of media, hydrophilic- and hydrophobic-cubes, were designed and conducted for hydrogen production under the anaerobic fermentation of sucrose. Each bioreactor consisted of the column packed with polymeric cubes and inoculated with heat-treated sludge obtained from anaerobic digestion tank. A defined medium containing sucrose was fed by the different hydraulic retention time(HRT), and recycle rate. Hydrogen concentrations in gas-phase were constant, averaging 40% of biogas throughout the operation. Hydrogen production rate was increased till  $10.5 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$  of bioreactor when influent sucrose concentrations and recycle rates were varied. At the same time, the hydrogen production rate with hydrophobic media application was higher than its hydrophilic media application. No methane was detected when the reactor was under a normal operation. The major fermentation by-products in the liquid effluent of the both trickling biofilters were acetate, butyrate and lactate. In order to run in the long term operation of both reactor filled with hydrophilic and hydrophobic media, biofilm accumulation on hydrophilic media and biogas produced should be controlled through some process such as periodical backwashing or gas-purging. Four sample were collected from each reactor on the opposite hydrogen production rate, and their bacterial communities were compared by terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis of PCR products generated using bacterial 16s rRNA gene primers (8f and 926r). It was expressed a marked difference in bacterial communities of both reactors. The trickling bed bioreactor with hydrophobic media demonstrates the feasibility of the process to produce hydrogen gas. A likely application of this reactor technology can be hydrogen gas recovery from pre-treatment of high carbohydrate-containing wastewaters.

**KEY WORDS** : hydrophilic(친수성), hydrophobic(소수성), T-RFLP(제한효소 다형법), HRT(수리학적 체류시간), substrate concentration(기질 농도)

<sup>†</sup>Corresponding author : biosang@kist.re.kr

화석연료의 사용으로 인한 환경오염의 심화와 화석연료의 고갈은 전 세계적인 문제로 인식되고 있으며 화석연료를 대체할 수 있는 에너지의 개발이 시급한 실정이다. 대체 에너지원으로 고려되고 있는 다양한 에너지원 중에서 수소에너지는 화석연료를 소모함으로써 발생하는 지구 온난화를 발생시키지 않는다는 장점을 가지고 있어 차세대 에너지로서 많은 연구가 진행되고 있다. 음식물쓰레기, 식품가공공정에서의 배출수, 하수 처리장에서의 슬러지 등과 같은 혼합 기질과 자당, 포도당, 유당 등과 같은 순수기질을 이용한 순수기질을 이용한 혐기성 수소생산 공정은 광 발효 보다 많은 이점을 가지고 있는데 태양광의 유무에 관계없이 지속적인 수소 생산을 할 수 있으며 혐기적 조건에서 발효 장치의 대형화를 용이하게 할 수 있다는 장점을 가지고 있어서 생물학적 수소생산에서 생산량을 증가시키는 데에 큰 이점을 가지고 있다. 수소를 생산하는 대표적인 균은 *Clostridium. sp.*, *Enterobacter. sp.* 등과 같은 산 생성 균으로 glucose와 같은 탄소원을 이용하여 acetate(a)와 butyrate(b) 같은 산을 생성하며 acetate를 생성하는 경우에는 4 mol의 수소를, butyrate를 생성하는 경우에는 2 mol의 수소를 생산한다.



생물학적인 수소생산 공정을 통하여 생산된 수소가 연료전지와 같은 에너지 생산공정과 유기적으로 연결되어 의미있는 에너지 생산이 가능할지는 연료전지의 운전에 필요한 수소를 안정적으로 공급할 수 있는가의 여부에 따라 달라진다. 따라서 단위 반응기 부피당 수소생산속도를 증가시키는 일은 생물학적 수소생산 공정이 실제 에너지 생산공정과 유기적으로 운전하기 위해 해결하여야 할 중요한 과제이다. 단위 반응기 부피당 수소생산 속도를 증가시키기 위해서는 여러 반응조건을 최적

화 하거나 반응기 내 수소생산 미생물의 농도를 높이는 방법이 일반적이다. 본 연구에서는 수소생산 미생물을 담체에 고정화하고 담체를 trickling bed형태의 반응기에 넣어 단위 반응기 부피 내 수소생산 미생물의 농도를 증가시켜 수소생산량을 증가시키려 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 실험장치

다공성 형태의 두 가지 다른 성질(hydrophilic, hydrophobic)을 가진 가로, 세로, 높이 5 mm인 담체를 직경 4 cm 높이 40 cm의 column형태의 원통형 반응기에 각각 채웠다. Wet gas meter (WN-K 0.5B, shinagawa)를 이용하여 배출되는 가스량을 측정하였으며 peristaltic pump를 이용하여 배지를 주입하였고 일정량을 재순환 할 수 있도록 peristaltic pump를 장착하였다.

### 2.2 분석 방법

반응기 운전 중 발생한 수소 H<sub>2</sub> 및 이산화 탄소 CO<sub>2</sub>는 sampling port에서 gas tight syringe로 0.1 ml 채취하여 열전도도 검출기(TCD)를 장착한 gas chromatography(agilent 6890N)를 사용하여 분석

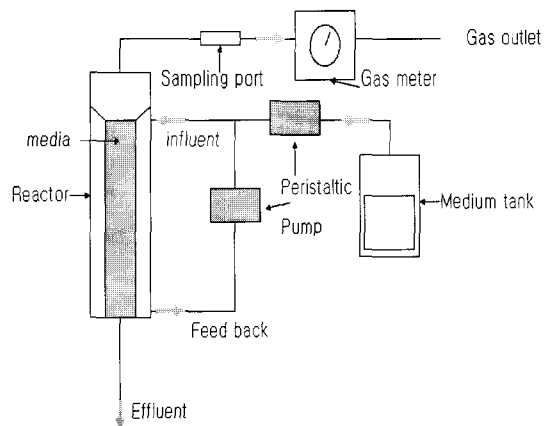


Fig. 1 Schematic diagram of trickling bed bioreactor

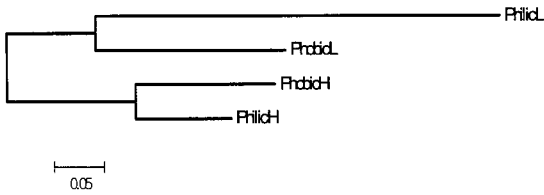


Fig. 2 Dendrogram tree of H<sub>2</sub> production microorganisms

하였다. 또한 불꽃 이온화 검출기(FID)를 장착한 gas chromatography(agilent 6890N)를 이용하여 반응기에서 생산되는 액체의 VFA(volatil fatty acid) 및 ethanol 량을 측정하였다. Sucrose와 lactic acid의 농도는 일일 2회 2 ml씩 시료를 채취하여 reflect quant strip(Merck co., Ltd, sucrose test and lactic acid test strip)을 이용하여 측정하였다. pH 는 pH meter(orion Model 290 A)을 이용하여 측정하였으며 일일 2회 측정하였다.

수소 생산균의 수소생산량 변화에 따른 미생물 군집 구조를 상대적으로 파악하고 평가하기 위하여 제한효소 다형법(T-RFLP; Terminal- Restriction Fregment Length Polymorphism)을 이용하여 분석하였다. 16S r-RNA를 증폭하기 위하여 universal primer로서 8f(5'-(FAM)-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 926r(5'-CCGTCAATTCCTTTRAGTTT-3')를 사용하였으며, 제한효소 HhaI, HaeIII, AluI를 이용하여 digestion 하였다. ABI PRISM 3100 automated sequencer(Applied Biosystems)를 이용하여 T-RFLP 패턴을 확인하였다<sup>14)</sup>.

T-RFLP 결과로부터 얻은 DNA 단편의 길이를 이용하여 유사도를 나타내는 Sorenson index:  $C_s = 2N_{ab} / (N_a + N_b)$ 를 구하였다. Dendrogram을 이용하여 각 미생물 군집에 대한 유사도를 측정하였다<sup>15)</sup>.

### 2.3 운전 조건

수소생산을 위한 미생물은 서울시 J하수 처리장의 혐기성 슬러지를 100℃에서 15분 간 가열하여 사용하였다. 수소생산에 이용된 기질은 탄소원으로 사용된 sucrose를 이용하였으며 유입수에는 기

Table 1 Components of inorganic compounds

성분	농도(g/L)	성분	농도(g/L)
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	5.24	MnSO <sub>4</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.015
NaHCO <sub>3</sub>	6.72	FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.025
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.125	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.005
MgCl <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	0.100	CoCl <sub>2</sub> · 5H <sub>2</sub> O	1.25×10 <sup>-4</sup>

질 외에 충분한 양의 무기물을 포함시켰다. Sucrose의 양은 5, 25, 40 sucrose g/L로 기질농도가 수소생산에 미치는 영향을 알아보기 위하여 변화시켰으며 무기물의 함량은<sup>12)</sup> Table 1과 같이 주입하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 친수성 담체 이용 반응기 운전 특성

Fig. 3(a)에서 보는 바와 같이 친수성 담체를 이용한 반응기에서 안정적인 수소생산을 하기까지 14일이 소요되었다. Fig. 3(b)에서 biogas 중 수소의 함량은 40% 정도로 유지되었으며 초기 HRT는 29 hr로 미생물이 담체에 잘 붙을 수 있도록 장시간의 HRT를 유지하였다. Recirculation rate를 6 ml/min에서 45 ml/min까지 점차 증가하면서 HRT를 점차 29 hr에서 0.5 hr으로 감소시켜 친수성 담체를 이용한 반응기에서 수소 생산량의 증가 여부를 관찰 하였다. 친수성 담체를 이용한 반응기에서는 90일 정도에 4.2 L/L/hr의 생산속도를 보였으며 수소의 함량은 30% 정도를 유지하였다. 그러나 100일 이후로 계속해서 수소 생산량이 점차 감소하여 3 L/L/hr을 유지하는 것을 볼 수 있으며 Fig. 3(e)와 3(f)에서 butyric acid 및 acetic acid의 양도 점차 감소하는 것을 관찰하였다. 이와는 반대로 lactic acid가 약 10,000 mg/L까지 증가하는 것을 볼 수 있는데 식(c)와 같이 lactic acid의 생성이 수소를 소모하는 반응으로 진행되는 것으로 수소의 생산이 저감될 수 있음을 간접적으로 알 수 있었다.

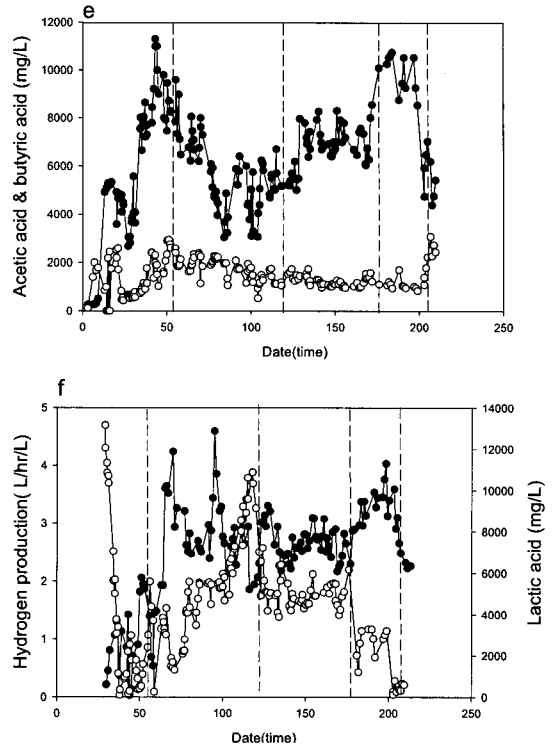
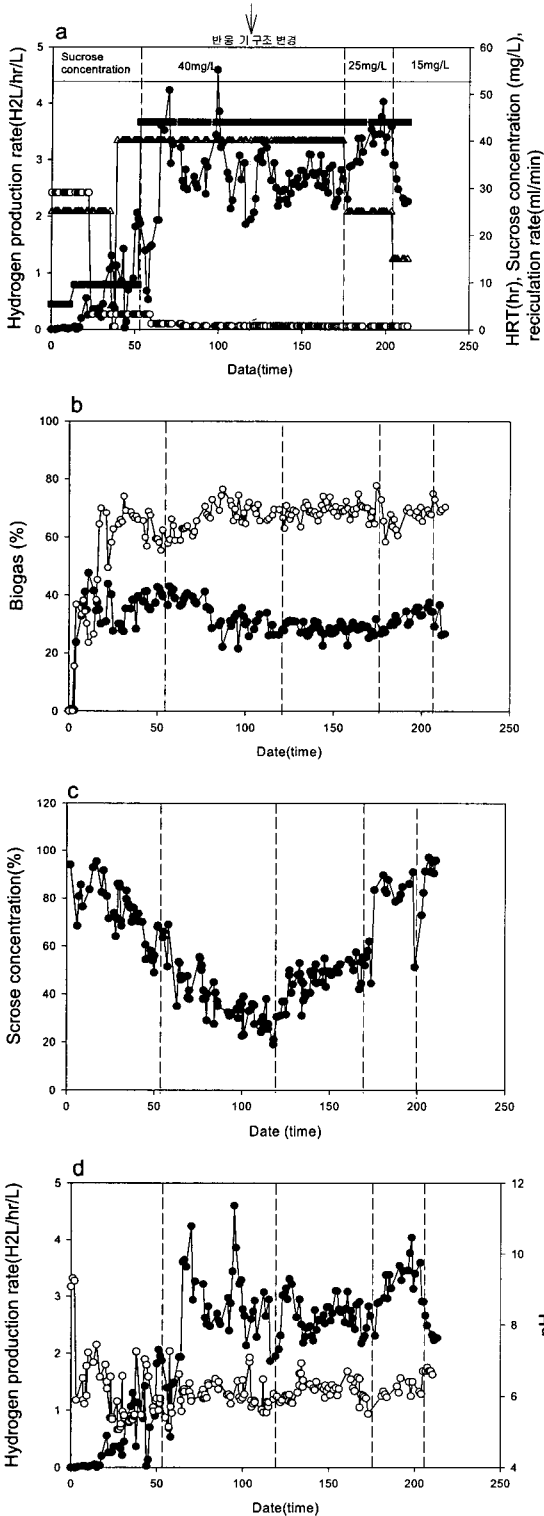


Fig. 3 H<sub>2</sub> production in the bioreactor filled with hydrophilic media

(a) Relationship between hydrogen production rate(●) and required condition.( sucrose concentration (□), HRT(△), Recirculation rate(■)), (b) Relationship between H<sub>2</sub> content (●) and CO<sub>2</sub> content in biogas(○), (c) Time courses of sucrose conversion(%), (d) Relationship between acetic acid(●) and butyric acid(○), (e) Relationship between pH(●) and H<sub>2</sub> production rate(○), (f) Relationship between lactic acid(○) and H<sub>2</sub> Production rate(●)



Fig. 3(a)에서와 같이 170일에 25 g/L로 sucrose 농도를 바꾸었으며 pH는 6으로 유지하였고 sucrose의 전환율은 90%이상이었다. Butyric acid의 양은 약 10,000 mg/L까지 증가하였으며 lactic acid의 양은 약 5,000 mg/L에서 3,000 mg/L로 감소하였다. 210일에 15 g/L 감소시켰으며 pH는 6.7-6.8로 유지하였다. Sucrose의 전환율은 Fig. 3(c)에서 보는 바와 같이 95%로 유지 되었으며 acetic acid의 양은 약 3,000 mg/L 증가하였고

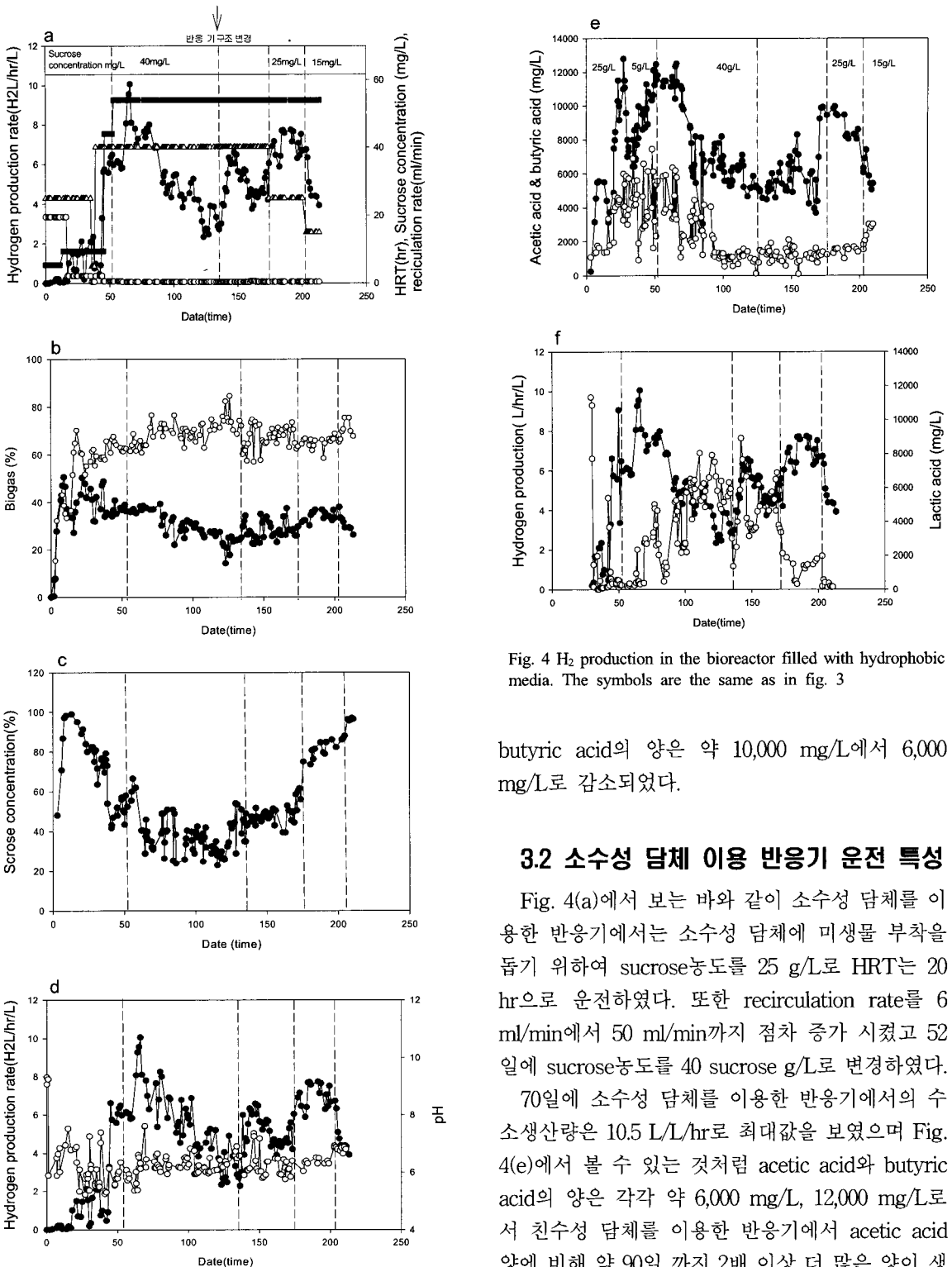


Fig. 4 H<sub>2</sub> production in the bioreactor filled with hydrophobic media. The symbols are the same as in fig. 3

butyric acid의 양은 약 10,000 mg/L에서 6,000 mg/L로 감소되었다.

### 3.2 소수성 담체 이용 반응기 운전 특성

Fig. 4(a)에서 보는 바와 같이 소수성 담체를 이용한 반응기에서는 소수성 담체에 미생물 부착을 돕기 위하여 sucrose농도를 25 g/L로 HRT는 20 hr으로 운전하였다. 또한 recirculation rate를 6 ml/min에서 50 ml/min까지 점차 증가 시켰고 52 일에 sucrose농도를 40 sucrose g/L로 변경하였다.

70일에 소수성 담체를 이용한 반응기에서의 수소생산량은 10.5 L/L/hr로 최대값을 보였으며 Fig. 4(e)에서 볼 수 있는 것처럼 acetic acid와 butyric acid의 양은 각각 약 6,000 mg/L, 12,000 mg/L로서 친수성 담체를 이용한 반응기에서 acetic acid 양에 비해 약 90일 까지 2배 이상 더 많은 양이 생

성이 되었으며 lactic acid의 양은 수소생산량이 10.5 L/L/hr 일 때 약 300 mg/L로 매우 낮게 유지 되었으나 75일 이후부터 lactic acid의 생산량이 급격하게 증가하면서 수소생산량이 120일까지 약 2 L/L/hr까지 줄어드는 것을 볼 수 있었다. 동시에 lactic acid가 증가하면서 acetic acid 및 butyric acid의 생산이 줄어들게 되어 친수성 담체를 이용한 반응기의 실험 내용과 같은 양상을 보였다.

170일에 sucrose농도를 25 g/L로 기질농도를 변경하였으며 Fig. 4(d)에서 보는 바와 같이 pH는 6.3-6.4로 유지되었고 sucrose전환율은 90%이상 이었다. Butyric acid의 양은 약 10,000 mg/L까지 증가하였고 lactic acid의 양은 약 5,000 mg/L에서 2,000 mg/L로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 210일에 sucrose농도를 15 g/L로 바꾸어 운전하였으며 Fig. 4(d)에서 나타난 바와 같이 pH는 친수성 담체와 비슷한 경향으로 6.5-6.7로 유지되었다. 기질의 전환율은 95% 이상 되었으며 acetic acid의 양은 약 3,000 mg/L까지 증가하였고 butyric acid의 양은 약 10,000 mg/L에서 6,000 mg/L로 감소되었다.

### 3.3 Sucrose농도의 영향

수소생산을 극대화하고 수소생산에 최적화된 조건을 찾기 위하여 recirculation rate, sucrose농도와 HRT 등을 변화시켰다. sucrose는 처음 25 sucrose g/L으로 공급하면서 30일 간 운전하여 반응기 운전상태가 정상 상태가 되었을 때 sucrose 농도를 5 g/L로 바꾸었는데 낮은 sucrose농도에 의해 수소의 생산량이 급격히 떨어져 낮은 sucrose 농도에서 반응기를 지속적으로 운전할 수 없었다. 이러한 상태로 계속 운전하면 sucrose농도가 낮아 지게 되어 우점종인 수소 생산 미생물이 수소를 소모하는 산 생성 미생물로 바뀔 수 있다고 판단하여 기질 농도를 다시 높여 주어 운전하였다<sup>4)</sup>.

Fig. 3(a)와 4(a)에서 보는 바와 같이 40일부터 고농도의 sucrose를 사용하여 운전하였다. Sucrose 농도를 40 g/L로 운전하였을 때 60일에 각 반응기에서 최대 수소 생산속도를 보였는데 소수성 담체

를 이용한 반응기에서는 10.5 L/L/hr, 친수성 담체에서는 5.6 L/L/hr 생산량을 보였다. sucrose 농도를 40 sucrose g/L로 운전하였을 때 sucrose의 전환율은 60% 정도였으며 수소함량은 50%로 유지 되었다. 이때의 pH는 5.5-6사이로 유지 되었다. 보고된 자료에 의하면 안정된 수소 생산을 위해서는 발효조의 pH 조건을 4.5-6.5정도 유지하여야 하며 5.5에서 수소의 생산은 다른 메탄 생성 미생물에 저해 효과를 주어 이상적이라 할 수 있다. 또한 기체분압이 낮을수록 propionate type보다는 butyrate type의 수소생성이 진행되어 수소생산속도를 증가시킬 수 있다. 수소의 생산이 급격히 증가된 실험 기간 동안 수소생산에 효과적인 미생물이 우점화 되었을 것이라 사료되어진다. 이것은 pH를 저하시키고 biogas의 다량 생성을 통해 빠른 수소의 배출을 유도 했으며 이는 수소생산 이외의 균이 수소 기체를 이용하여 다른 VFA를 증가시키지 못하도록 하는 결과를 보였을 것이라 판단된다.

Fig. 5에서와 같이 40일에서의 propionic acid의 생산이 과량 생산되었다가 1시간 이하의 HRT와 함께 점차 감소되는 것을 볼 수 있다. 또한 같은 시간과 조건에서 Fig. 3(e)와 Fig. 4(e)에서 보는 바와 같이 lactic acid의 급격한 생산과 감소를 보였는데 이것은 반응기 내에 biogas의 생산이 적어

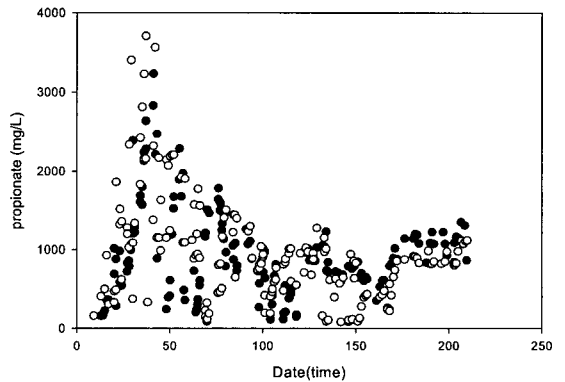


Fig. 5 Changes of propionate concentration. Hydrophilic media (●), Hydrophobic media (○)

수소기체가 밖으로 쉽게 빠지지 못하고 반응기 내부에 장시간 머물게 되어 수소가 미생물의 산 생성에 이용된 것으로 판단된다<sup>9,11</sup>.

60일에서 120일까지 수소생성이 점차 감소되는 것을 볼 수 있는데 Fig. 3(c)와 Fig. 4(c)에서 보면 반응기에서 유출되는 sucrose의 전환율이 기존에 25 g/L로 유지하던 것을 40 g/L로 바꾸어서 운전하였을 때 120일에서는 전환율이 30%정도까지 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이것은 점차 반응기 내부가 수소 생산에 적합하지 않은 환경으로 진행되고 있음을 보여주었다. 증가된 기질에 대한 부하를 반응기 내부의 미생물 및 구조적인 조건들이 감당하지 못하였다고 판단되며 계속적으로 수소생산량이 감소되고 전환율 또한 감소되게 하였다고 사료된다. Fig 3(f)와 Fig. 4(f)에서 lactic acid 같은 VFA의 과량 생성은 물론 bacteriocin과 같은 물질을 내는 다양한 균의 길항작용을 고려할 수 있으며, 이것은 수소 생성균의 수소 생산을 막을 뿐 아니라 균 자체의 생성을 저해하여 이와 같은 결과를 나타내었을 것으로 사료된다<sup>48</sup>.

170일에 sucrose 농도를 25 g/L로 바꾸어 운전하였는데 7.8 L/L/h의 수소 생산량을 유지하였으며 sucrose 전환율은 90% 가까이 유지되었다. Lactic acid의 생산량은 줄어들고 butyric acid의 양은 약 10,000 mg/L까지 급격히 증가하였다. 이것은 다른 기질농도 조건에서 보였던 butyric acid/acetic acid(B/A)에의 비와 견주어 상당히 큰 차이를 보였는데, 이것을 통하여 반응이 butyrate type으로 진행되고 있음을 알 수 있었다. B/A 비는 수소생산에서 적절한 조건을 맞추기 위해서 고려되어지는데 B/A의 비가 높게 유지될 때 수소의 생산이 가능한 미생물들이 증가하여 소모된 기질 대비 수소생산 효율이 높은 것으로 알려져 있다. 반응기의 안정적인 수소생산, 높은 기질 분해 효율을 위해서는 이와 같은 기질 농도를 유지하는 것이 이상적이라 판단된다<sup>12-13</sup>. 210일부터 배지의 sucrose농도를 15 g/L로 바꾸었는데 acetic acid의 생산이 약 3,000 mg/L 까지 증가하였고 butyric acid의 생산이 약 10,000 mg/L에서 4,000 mg/L로

감소한 것을 볼 수 있었다. 유입된 sucrose의 전환율은 높아 졌지만 butyric acid에 대한 acetic acid의 상대적인 증가는 수소를 이용하여 acetic acid를 생성하는 미생물이 증가되었음을 알 수 있었다.

### 3.4 수소생성 저해작용

두 반응기 모두 0.5 hr의 빠른 HRT에서 40 sucrose g/L의 높은 농도로 운전하였을 때 washout 현상은 일어나지 않았다. 일반적으로 carrier를 사용하지 않는 CSTR에서 washout 현상은 반응기 내에 있는 미생물의 증가속도보다 상대적으로 기질이 들어와서 배출되는 속도가 더 빠르기 때문에 발생하는데 0.5 hr의 HRT에서는 충분히 washout이 가능하다고 판단된다<sup>18</sup>. 그러나 이번연구에서 CSTR과는 다른 구조를 가진 trickling filter의 경우 빠른 HRT에서도 충분히 운전이 가능하였는데 그 이유는 Fig. 6에서와 같이 전자 현미경으로 관찰한 결과 미생물이 담체에 부착되어있어 짧은 HRT에서도 충분히 견딜 수 있었다고 사료되며 HRT가 짧아질수록 수소 생산 미생물이 새로운 기질과 접촉하는 면적이 넓어져 수소의 생산을 증가 시킨 것으로 사료된다<sup>17</sup>. 그러나 Fig. 3(f)와 Fig. 4(f)에서 보는 바와 같이 lactic acid의 생산이 70여일 이후로 급격히 증가하는 것을 볼 수 있는데 이것은 lactic acid를 생산하는 미생물이 점차 증가하여 담체에 부착된 것으로 사료된다. Lactic acid의 증가는 lactic acid가 생성되면서 수소를 소모시킬 뿐만 아니라 lactic acid는 각 균에 대하여 반응하는 농도가 다르지만 그 자체가 항균제(antimicrobiol agent)로서도 작용하여 다른 균의 생육을 억제시킨다<sup>3</sup>. 또한 Noike et al(2002)은 수소생산에서 수소의 생산을 저하시키는 것은 lactic acid의 생성 때문이 아니라 수소 생산균을 저해시키는 bacteriocin에 의한 작용이라고 보고한 바가 있다. 특별히 lactic acid를 생산하는 균주에서 생산된 nisin과 같은 bacteriocin은 gram 양성균에 대해 항균활성을 갖는데 수소 생산 미생물의 대표적인 Clostridium. sp.대부분이 gram양성에 속하

기 때문에 심각한 타격을 입힌 것으로 사료된다. 또한 이러한 bacteriocin은 포자를 형성하는 균인 *Clostridium. sp*, *Bacillus. sp*의 포자에 대해서도 심한 항균 활성을 갖는다<sup>3)</sup>. Lactic acid를 생산하는 *Lactococcus. sp*, *Bacillus. sp*속 미생물들은 수소생산균인 *Clostridium. sp*과 기질 경쟁관계에 있고 생성되는 부산물이 수소 생산균을 저해하기 때문에 반드시 수소생산공정 시 조절되어야 하는 것으로 고려된다<sup>1-2)</sup>.

Fig. 3(f)와 4(f)에서 보는 바와 같이 lactic acid가 120여일까지 계속적으로 증가되는 것을 볼 수 있는데 이때 미생물 flocc도 같이 증가하여 반응기 상단이 막혀 운전이 불가능 하였다. 미생물 flocc은 반응기의 상단에 clogging과 전체적인 SRT의 증가를 가져와 정상적인 운전을 방해하였다. 이것은 인위적으로 해결해야 했으며 반응기 상단 부분에 쌓이는 미생물 flocc을 제거 하고 액체상과 기체상의 전환을 용이하게 하기 위하여 친수성 담체를 이용한 반응기에서는 120일에, 소수성 담체를 이용한 반응기에서는 140일에, 기존에 배지의 분산을 위해 사용하던 철 수세미를 직경 3~4 mm 망으로 교체하였다. 교체하고 난후 Fig. 3(e)와 Fig. 4(e)에서 보면 120일 이후로 butyric acid생산이 점차 증가하였으며 Fig. 3(f)와 Fig. 4(f)에서 lactic acid의 생산이 점차 줄어들면서 수소의 생산이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

반응기 내에 기체분압은 수소생산에 큰 영향을 미치는데 100 Pa 이상에서는 수소생산의 저감에 영향을 준다고 하였다. 또한 60 Pa 이상에서는 butyrate의 생산이 증가 하고 60 Pa 이하일 때는 acetate의 생산이 증가한다고 하였다<sup>8,10)</sup>. 기체분압이 높을 때 butyrate의 생산 보다 propionate의 생산이 우월하다고 하였는데 이번 실험에서 수소의 생산이 감소될 때에 Fig. 5에서와 같이 propionate의 생산도 계속적인 감소를 보여 수소분압의 증가로 인해 생성된 propionate의 수소 생산저해 보다는 lactic acid를 생산하는 균이 생성하는 부산물에 의한 수소생산 저해가 많이 작용했을 것으로 사료되어진다<sup>11)</sup>.

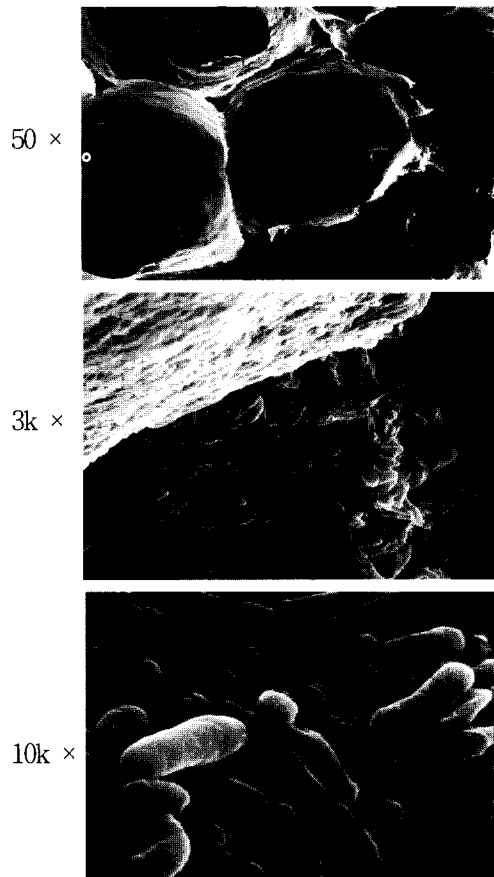


Fig. 6 Observation of hydrogen-producing bacteria in trickling bed filter

### 3.5 T-RFLP를 이용한 미생물 군집분석

친수성, 소수성 담체 내 고정화 된 미생물을 이용하여 수소를 생산하는 과정에서 담체 내 미생물 군집의 변화가 수소생산량에 미치는 영향을 파악하기 위하여 T-RFLP를 수행하였다. 미생물 군집 분석을 위한 시료는 안정적인 수소생산을 보일 때와 수소생산이 감소되어 반응기가 불안정한 때에 취하였다. 수소생산량이 많은 조건에서의 lactic acid의 농도는 약 1,000 mg/L 미만이었으며, 미생물 flocc이 형성되지 않아 안정적으로 수소가 생산될 수 있었다. T-RFLP 결과를 통해 수소 생산량에 따른 미생물 군집 변화를 확인 할 수 있었으며



친수성 반응기에서 더 많은 군집변화를 확인 할 수 있었다. 이것은 친수적 성질을 가진 담체의 조건하에서 다양한 미생물이 번식할 수 있음을 알 수 있었으며 수소생산균의 우점화를 위해서는 다양한 균의 생성보다는 특정한 미생물의 우점화를 도울 수 있는 소수성 담체를 이용한 수소생산이 더 효과적일 수 있을 것이라 판단하였다.

#### 4. 결 론

- 1) 40 sucrose g/L농도의 기질에서 bacteriocin과 같은 항균물질 또는 lactic acid를 생성하는 미생물의 급격한 생성으로 수소생산속도가 저하 되는 결과를 가져왔다.
- 2) 친수성 담체를 이용한 수소생산보다는 소수성 담체를 이용한 수소생산이 biogas의 배출을 용이하게 함으로써 미생물들이 수소를 이용하지 못하도록 했으며 그 결과 수소생산을 증가시켰다.
- 3) 수소의 생성이 증가되어 안정적일 때와 수소의 생성이 저해 되어 불안정할 때에 시료를 채취하여 T-RFLP 방법을 통해 미생물 분석을 한 결과 소수성 반응기의 군집변화가 친수성 반응기의 군집변화보다 다양하지 않았다. 수소생산균의 우점화를 도울 수 있는 소수성 담체를 이용한 수소의 생산이 친수성 담체를 이용한 수소생산 보다 효과적이다.
- 4) 친수성 담체를 이용한 수소생산에서 4.2 L/L/hr 까지 수소생산량을 보였으며 소수성 담체에서는 10.5 L/L/hr 까지 증가 하여 단위 반응기 부피당 수소생산 속도가 상대적으로 빠른 소수성 담체를 이용한 수소생산이 효과적이다.

#### 참 고 문 헌

- 1) Vandenberg, P. A., "Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth", FEMS. Microbial. Review, Vol. 12. 1993, pp. 221-238.
- 2) Noike, T., Takabatake, H., Mizuno O., and Ohba, M. "Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria". Int. J. hydrogen energy, Vol. 27, 2002, pp. 1367-1371.
- 3) I. M. Helander., A. von Wright and T-M. Matilla-Sandholm, "Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against gram-negative bacteria", Trends in food Sci. & Tech 8. Vol. 5, 1997, pp. 146-150.
- 4) Kusel, K., Dorch, T., Acker, G., Stackebrandt, E. and Drake, H. L. "Clostridium scatologenes strain SL1 isolated as an acetoclastic bacterium from acidic sediments", Int. J. Syst. Evol. Micr. vol. 50, 2000, pp. 537-546.
- 5) Van, Ginkel. S., Sung, S., Lay, J. J., "Biohydrogen production as a function pH and substrate concentration", Environ. Sci. Technol. Vol. 35, 2001, pp. 4726-4730.
- 6) Tashino, S., Kamiya, N., Wakao, N., "hydrogen evolution of Enterobacter aerogenes depending on culture pH: Mechanism of hydrogen evolution from NADH by means of membrane-bound hydrogenase", Biochimich et Biophysica. Acta. Vol. 973, pp. 1-6.
- 7) 김미선, 문광웅, 이인구, 이태진, 성창근, "Clostridium butylicum NCIB 9676에 의한 당으로부터 혐기적 수소생산", Kor. J. Appl. Microbiol. biotechnol. Vol. 27, No. 1, 1999, pp. 62-69.
- 8) Endo, G., Nike, T., Matsumoto, J., "Characterstics of cellulose and glucose decomposition in acidogenic phase of anearobic digestion", Proc. Soc. Civ. Eng. Vol. 325, 1982, pp. 61-68.
- 9) Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L., and Noike, T., "Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging", Bioresause Technol., Vol. 73, 2000, pp. 59-65.
- 10) Speece, R. E., "Anearobic biotechnology for

- industrial waste water", Archea Press. 1996. pp. 245-286.
- 11) Chung, K. T., "Inhibitory Effects of H<sub>2</sub> on growth of clostridium cellobioparum", Appl and Env. Microbiol., Vol.31. No.3. 1976. pp.342-348.
  - 12) Kleerebenzen, R. and Stamp, A. R., "Kinetics of Syntrophic Culture: a Theoretical Treatise on butyrate Fermentation", Biotechnol. Bioeng. Vol. 54, No .5, 1997, pp. 428-433.
  - 13) Chen, C. C. and Lin, C. Y., "Hydrogen production sucrose as a substrate in an anerobic sludge blanket reactor", Adv. Environ. Res. Vol. 7, 2003, pp. 695-699.
  - 14) Han, S. K. and Shin, H. S., "Biohydrogen production by anerobic fermentation of food waste", Int. J. hydrogen Energy, Vol. 29, 2004, pp. 569-577.
  - 15) Angela, D. Kent, Dan, J. Smith, Babara J. Benson, and Eric, W. Triplett, "Web-based phyrogenetic assignment tool for analysis of termial restriction fragment length polymorphism profiles of microbial communities", Appl. and Env. Microbiol. Vol. 69, No. 11, 2003, pp. 6768-6776.
  - 16) Rho Sang-Chul, Nan-Hee An, Kyu-Ho Lee, Dong-Hun Lee and Deok-Jin Jahng, "PCR-T-RFLP Analyses of bacterial communities in activated sludges in the aeration tanks of domestic and industrial wastewater treatment plant", J. Microbiol. biotechnol. Vol. 15, No .2, 2005, pp. 287-295.
  - 17) Kuo-Shing Lee, Ji-Fang Wu, Yung-Sheng Lo, Ping-Jei Lin, Jo-Shu Chang, "Anaerobic hydrogen production with an efficientcarrier-induced granular sludge bed bioreactor", Biotech. & bioeng., Vol. 87, No. 5, 2004, pp. 648-657.
  - 18) Zhen-Peng Zhang, Kuan-Yeou Show, Joo Hwa Tay, David Tee Liang, Duu-Jong Lee, Wen-Ju Jiang, "Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community", Process biochemistry, Vol. 41, No. 10, 2006, pp. 2118-2123.