

혐기성 소화시 aeration이 수소생성에 미치는 영향

Effects of Aeration on Bio-hydrogen (*Bio-H₂*) Production in the Anaerobic Digestion

이명주* · 장현섭** · 황선진*** · 정연구****

Lee, Myoung Joo · Jang, Hyun Sup · Hwang, Sun Jin · Jeong, Yeon Koo

Abstract

This research investigated the effect of aeration pretreatment for anaerobic seed sludge on hydrogen production. Aeration time for anaerobic sludge was maintained at 0, 1, 3, 6, 12, and 24 hours in batch tests. Two continuous anaerobic reactors (aerated and non-aerated) were also operated. All experiments were conducted at 35°C using mineral salts-glucose (20 g/l) medium. Methane production decreased with the increase in aeration time. Aeration for 6 hours was determined as an optimum from the amount of hydrogen produced. Hydrogen was steadily produced in the continuous reactor seeded with aerated sludge while no methane production was observed. However, small amount of hydrogen was produced in the non-aerated reactor for short period of time from the start even though short HRT (2 days) and low pH (5.5) were maintained.

Keywords : bio-hydrogen production, aeration, anaerobic digestion, VFAs

요 지

본 연구에서는 혐기성 소화에서 aeration이 수소생성에 미치는 영향에 대해 살펴보았다. 혐기성 소화슬러지를 0, 1, 3, 6, 12, 24 시간 동안 aeration 실시 후 glucose(20 g/L)를 기질로 이용하여 batch test를 실시하였다. Aeration 시간이 길어질수록 메탄가스가 감소하고, 수소가스가 증가하였으며, 6시간 동안 aeration을 실시한 반응조에서 가장 높은 수소 생성율(570 ml/L)을 나타내었다. 연속운전의 경우 aerated reactor는 메탄가스의 생성 없이 수소가 지속적으로 발생하였으며, non-aerated reactor의 경우 낮은 pH와 짧은 HRT만으로는 메탄 생성균의 활성을 완전히 저해할 수 없었다. 그러나 미생물관점에서의 보다 명확한 규명을 위해 향후 연구가 추가적으로 진행되어야 하며, 현장 적용성을 고려한 aeration 처리의 최적조건 도출도 이루어져야 할 것이다.

핵심용어 : 수소생성, 공기주입, 혐기성 소화, 유기산

1. 서 론

차세대 에너지로 주목되고 있는 수소에너지는 연소과정에서 2차적인 오염물질을 배출하지 않으며, 화석연료에 비해 약 2.75배 높은 에너지 효율(122 kJ/g)을 가지고 있다(Rifkin, 2002; Han and Shin, 2004; Lay et al., 1999; Mizuno et al., 2000). 뿐만 아니라 수소생성의 원료가 되는 물이나 유기물 등이 지구상에 풍부하게 분포되어 있어 고갈 및 분쟁의 위험이 없고, 연료전지를 통해 전기로 직접 전환이 가능하여 편리하고 효율적인 에너지 사용이 가능하다.

그러나 기존의 수소생성 방법인 전기분해나 열분해 등은 생성되는 수소에너지 보다 더 많은 양의 화석연료를 소모해야 하므로 바람직한 방법은 아니었다. 따라서 최근 미생물을 이용한 수소생성에 대한 관심이 증대되고 있으며, 수소생성

효율을 높이기 위한 연구도 활발히 진행되고 있다.

생물학적 수소생성 방법은 크게 혐기성 소화공정과 광합성 공정으로 구분할 수 있으며, 그 중 혐기성 소화공정이 광합성 공정에 비해 수소생성 속도가 높고, 광원을 필요로 하지 않기 때문에 현장적용성이 높은 것으로 보고되고 있다(Levin et al., 1995).

혐기성 소화공정에서 수소를 생성하는 미생물 중 가장 대표적으로 알려진 *Clostridium butyricum*은 절대혐기성균으로서 산소에 노출될 경우 활성에 저해를 받아 포자를 형성하게 되며, 수소생성 효율이 현격히 저하된다(Tauchi et al., 1995; Yokoi et al., 1995; Yokoi et al., 1998). 반면 통성혐기성균인 *Enterobacter aerogenes*는 스스로 flocc을 형성한다고 알려져 있으며, 소화조내 산소가 유입되더라도 빠르게 산소를 제거함으로써 혐기성 상태로 복구할 수 있는 능

*정희원 · 경희대학교 대학원 환경공학 전공 박사과정(E-mail : mjsiil@empal.com)

**경희대학교 대학원 환경공학 전공 박사과정(E-mail : jhyunsup@hotmail.com)

***교신저자 · 경희대학교 환경응용화학대학 환경공학전공, 환경연구센터 부교수(E-mail : sjhwang@khu.ac.kr)

****국립금오공과대학교 토목환경공학부 부교수(E-mail : jeongyk@kumoh.ac.kr)

력이 있다(Tauchi *et al.*, 1995; Yokoi *et al.*, 1995; Yokoi *et al.*, 1998; Kato *et al.*, 1993).

Yokoi *et al.*(1998)의 연구에 의하면 *Enterobacter aerogenes*와 *Clostridium butyricum*을 혼합한 배지내에 산소를 유입시켰을 때 *Clostridium butyricum*만이 존재하는 배지 보다 안정적으로 수소가 발생한다고 보고하였다. 즉 단일 미생물 보다는 다양한 미생물이 공존하는 환경에서 미생물의 상호작용에 의해 수소생성 효율이 더 높아지게 되는 것이다.

최근 생물학적 수소생성을 위한 전처리 방법으로 열처리법에 관한 연구가 많이 진행되고 있으나 선택 분리하는 미생물이 *Clostridium sp.*와 같은 포자를 형성하는 미생물로 한정되어 있으며, 경제성 측면에서도 현실적용성이 매우 낮은 단점이 있다.

따라서 본 연구에서는 수소를 기질로 이용하는 미생물들이 대부분 절대혐기성균이라는 점과 수소생성균 중 일부 미생물들이 통성혐기성균임을 착안하여 aeration을 수소생성 반응조의 전처리로 적용하여, 수소생성에 있어서의 aeration의 영향 및 최적조건에 대해 살펴보았다.

2. 실험방법 및 분석

2.1 혐기성 소화 슬러지 및 기질

본 연구에 사용한 슬러지는 G-하수처리장의 소화슬러지 농축조에서 채취한 슬러지를 이용하여 30일간 운전한 혐기성 소화조에서 채취하였으며, TSS; 18,400 mg/L, VSS; 10,000 mg/L, TS; 2%, VS; 1%, TCOD; 12,700 mg/L, SCOD; 400 mg/L, pH는 7.6 이었다. 수소생성을 위한 기질은 농도가 20 g/L의 glucose를 사용하였으며, 유입수에는 기질 외에 미생물에게 요구되는 무기물인 NH_4HCO_3 5.2 g/L K_2HCO_3 0.120 g/L, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.100 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.015 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.005 g/L, $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.000125 g/L, NaHCO_3 6.7g/L도 함께 주입하였다 (Chen and Lin, 2001).

2.2 혐기성 소화 운전

수소생성을 위한 전처리로써 최적의 aeration 조건을 도출하기 위해 aeration 시간을 다르게 하여 batch test를 실시하였다. Aeration 처리는 혐기성 소화슬러지 0.4 L에 0.5 L-air/min의 유량으로 1, 3, 6, 12, 24 시간 동안 실시하였다. 전처리가 완료된 소화슬러지는 미리 제조한 기질과 1 : 1 비율로 혼합하였으며, 총부피가 0.7 L가 되도록 하였다.

또한, 완전한 혐기성 조건을 조성하기 위해 He 가스를 이용하여 DO가 0 mg/L가 되는 지점까지 충분히 탈기시킨 후 미량의 산소를 제거하기 위해 L-cysteine을 0.25 g/L로 주입하였다. 위와 같은 방법으로 준비된 시료는 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 설정된 항온조에서 운전하였으며, stirrer를 이용하여 교반하였다. 이때 pH를 인위적으로 조절하지 않았으며, 발생하는 가스는 포집용기를 이용하였다.

연속식 반응조의 모식도는 그림 1과 같으며, 초기 소화슬러지를 6시간 동안 aeration 처리한 후 식중반 반응조(Aerated reactor)와 대조군으로서 무처리한 슬러지를 식중반 반응조(non-aerated reactor)를 동일한 조건에서 운전하였다.

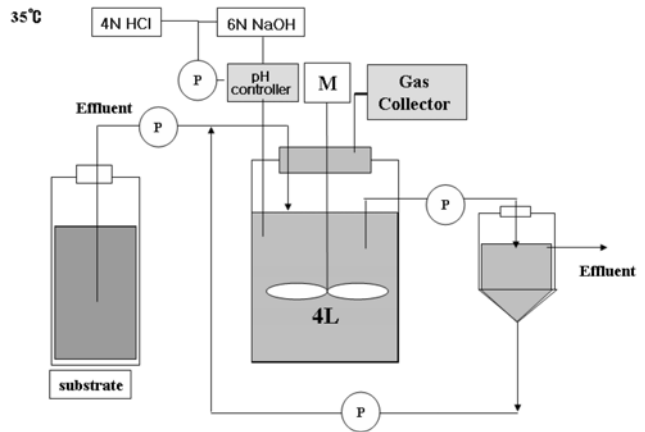


그림 1. 연속운전 반응조 모식도

pH는 4N HCl과 6N NaOH를 이용하여 5.5로 일정하게 유지하였고, HRT는 2 day로 운전하였다.

2.3 분석방법

TS, VS, TSS, VSS 등은 Standard Method에 의해 분석하였다. 발생한 메탄과 수소는 PDD(Pulse Discharge Detector)가 장착된 GC(M600D, Younglin co., Korea)를 이용하여 분석하였다. 이때 칼럼은 내경이 2.1 mm인 Carboxen-1000(60/80 mesh)을 사용하였으며, 운반기체로는 헬륨을 사용하였다. 분석조건은 oven 120°C , injector 100°C 그리고 detector의 온도는 100°C 로 하였다.

유기산의 농도 및 함량은 IC(Basic 792, Ion chromatography, Metrohm, Swiss)를 이용하였으며, 칼럼은 Organic Acids(Metrosep)를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 Aeration 전처리시 슬러지의 DO, pH 변화

혐기성 소화슬러지를 대상으로 1, 3, 6, 12, 24시간 동안 aeration을 실시한 결과, 슬러지의 DO 및 pH 변화는 그림 2와 같이 나타났다.

Aeration 시간을 길게 할수록 DO 농도와 pH가 초기에 비해 증가하였는데, DO는 aeration을 실시하는 초기에 급격히 증가하여 6시간부터는 변화가 거의 없는 것으로 측정되었으며, pH는 aeration 초기 1시간 동안 급격히 증가하여 그 후로는 변화폭이 거의 없는 것으로 측정되었다.

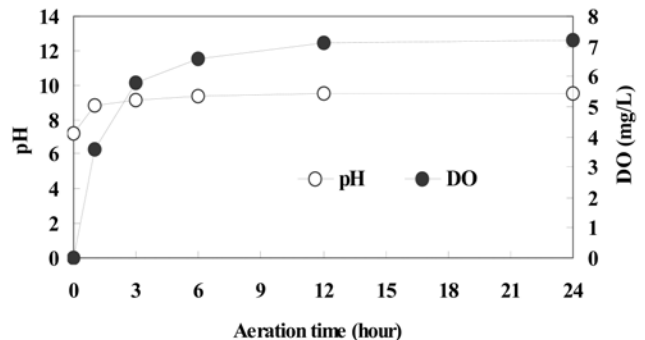


그림 2. Aeration 시간에 따른 pH와 DO 변화 (0.4 L-sludge, flow rate : 0.5 L-air/min)

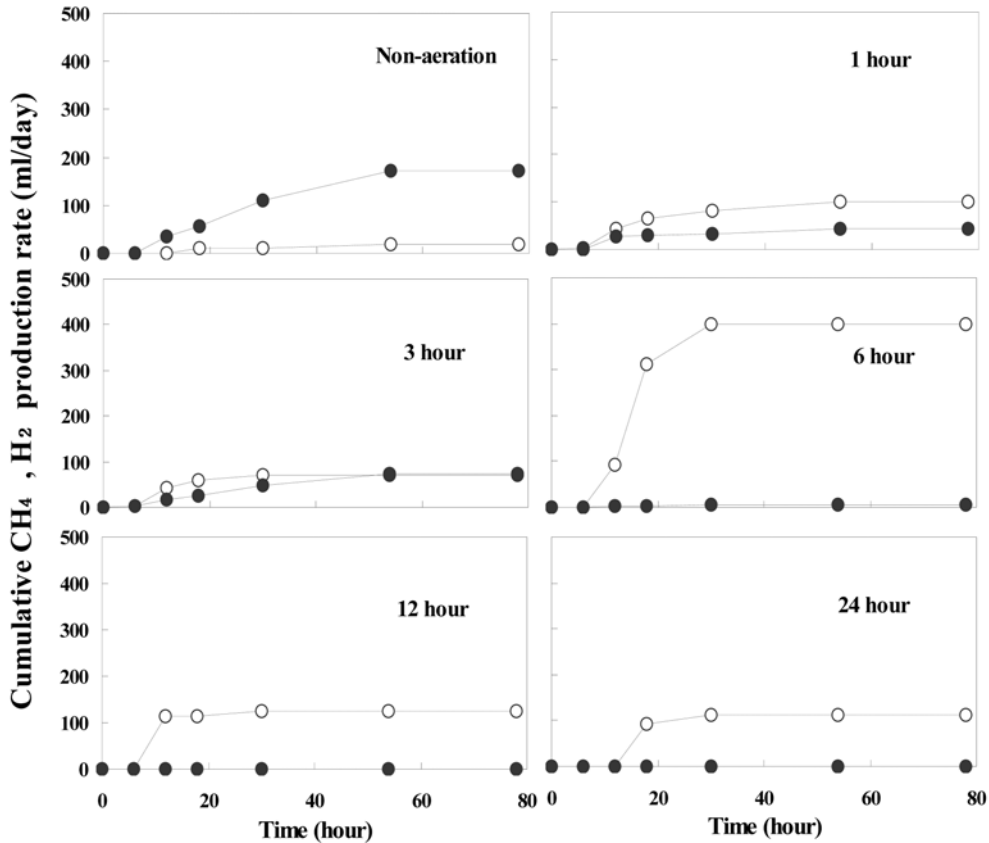


그림 3. Aeration이 수소와 메탄가스 생성에 미치는 영향 (회분식 반응조, 기질 : 20 g/L 농도의 glucose, working volume : 0.7L, 온도 : 35°C, pH : 컨트롤하지 않음)

3.2 수소생성을 위한 최적의 aeration 처리시간 도출

Aeration 조건에 따라 batch test를 실시하였으며 운전시간에 따른 수소와 메탄가스의 발생이 그림 3과 같이 나타났다. 전처리를 하지 않은 반응조에서는 수소의 발생이 거의 없었으며, 메탄가스가 지속적으로 발생하였다. 그러나 aeration 시간이 길어질수록 수소가스는 증가하고 메탄가스가 점차적으로 감소하여 aeration을 6, 12, 24 시간 처리한 반응조에서는 메탄가스가 발생량이 매우 적거나 전혀 발생하지 않았다.

수소가스의 경우 메탄가스에 비해 반응시간이 짧은 것으로 나타났다. 특히 6시간 동안 aeration 실시한 반응조에서는 수소생성 속도가 가장 높게 측정되었으며, 수소생성 지속시간 또한 가장 긴 것으로 나타났다.

Aeration 처리 시간에 따른 수소와 메탄 수율(ml/L)을 그

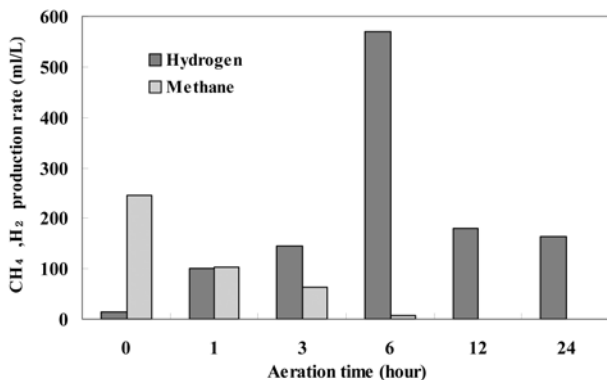


그림 4. Aeration 시간에 따른 CH₄과 H₂ 생성속도(회분식 반응조, 기질 : 20g-glucose/L, working volume : 0.7L, 온도 : 35°C, pH : 컨트롤하지 않음)

림 4에 나타내었다. 이때 6시간 동안 aeration 처리한 경우가 메탄의 발생 없이 가장 많은 양의 수소를 생성하였으며 그 발생량이 570 ml/L로 측정되었다.

Aeration을 실시할수록 수소기스가 증가하는 이유는 산소가 주입됨에 따라 절대혐기성균인 메탄생성균의 활성이 저하되어 수소에서 메탄으로 전환이 이루어지지 않았기 때문이라 사료된다. 그러나 1, 3 시간동안 aeration을 실시했음에도 불구하고 메탄가스가 발생한 것은 소화슬러지내에 존재하는 통성혐기성균들에 의해 산소가 빠르게 소모됨으로써 메탄생성균의 저해가 완전히 이루어지지 않았기 때문인 것으로 판단된다(Yokoi *et al.*, 1998; Kato *et al.*, 1993).

또한 수소생성균이 혐기성균임에도 불구하고 산소에 의해 활성을 유지할 수 있었던 것은 대부분이 *Enterobacter sp.*와 같은 통성혐기성균이거나 *Clostridium sp.*이나 *Bacillus sp.*와 같은 포자를 형성하는 균이 다량 존재하여 산소저해에도 활성을 유지할 수 있었다고 사료된다(Ueno *et al.*, 2001).

3.3 Aeration이 연속적인 수소생성에 미치는 영향

Aeration 처리한 슬러지를 대상으로 혐기성 발효를 진행하였으며, 시간경과에 따른 수소와 메탄 생성율을 그림 5와 같이 나타내었다. Non-aerated reactor의 경우 짧은 HRT와 낮은 pH에 의해 초기에 수소가 발생하였으나, 운전기간이 길어질수록 수소의 발생량은 점차적으로 감소하여 약 4.5일 시점부터는 거의 발생하지 않는 것으로 나타났다. Aerated reactor의 경우 메탄의 발생없이 수소가 지속적으로 발생하였으며, 이때의 수소생성속도는 910 ml/day($R^2=0.97$)였다.

낮은 pH와 짧은 HRT에서의 메탄가스 생성은 이미 많은

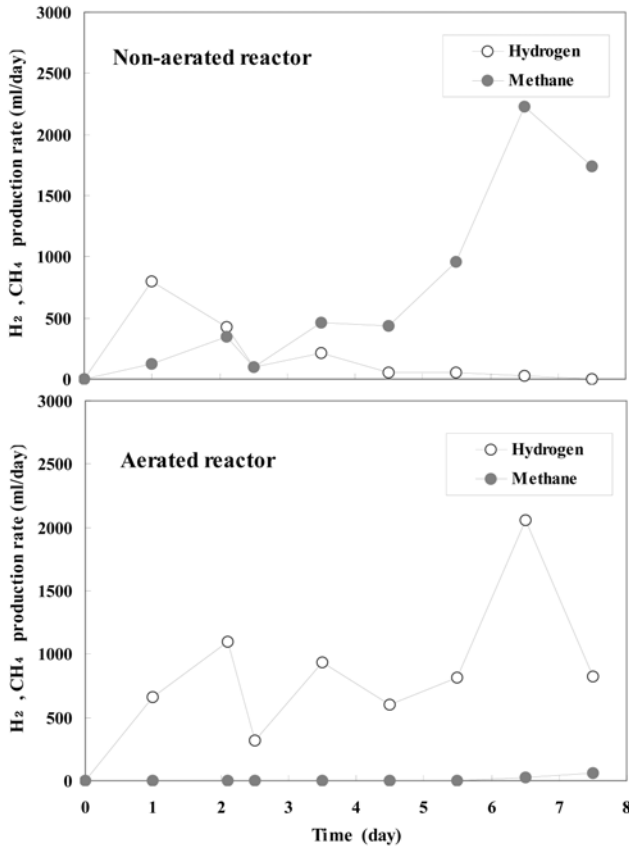
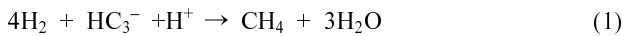


그림 5. 연속운전시 운전시간에 따른 H₂와 CH₄ 생성을 변화 (기질 : 20g-glucose/L, working volume : 4L, 온도 : 35°C, pH : 5.5±0.5)

연구자들에 의해 보고된바 있다(Cohen *et al.*, 1979; Ghosh and Pohald, 1974). 특히 Zhang and Noike(1994)의 연구 결과에 의하면, 체류시간이 짧은 산생성 단계에서의 메탄가스 생성은 아세트산을 기질로 이용하는 메탄생성균 보다 수소를 기질로 이용하는 메탄생성균에 의해 생성된다고 보고되었다. 따라서 non-aerated reactor에서 발생된 대부분의 메탄은 아래식(1)과 같이 수소를 기질로 이용하는 메탄생성균에 의해 발생된 것이라 판단된다(Noike *et al.*, 1985; Zinder *et al.*, 1984; Chen and Lin, 2001; Fang and Liu, 2002).



혐기성 소화시 유기물로부터 수소를 생성하는 반응은 대부분 산생성 단계에서 이루어지기 때문에 항상 유기산 생성이 동반된다. 그림 6은 두 반응조에서의 운전시간에 따른 유기산 변화 및 butyrate의 분율을 나타낸 것이다. 두 반응조 모두 과량의 유기산이 생성되었으며, 생성된 유기산의 60% 정도가 butyrate인 것으로 나타났다.

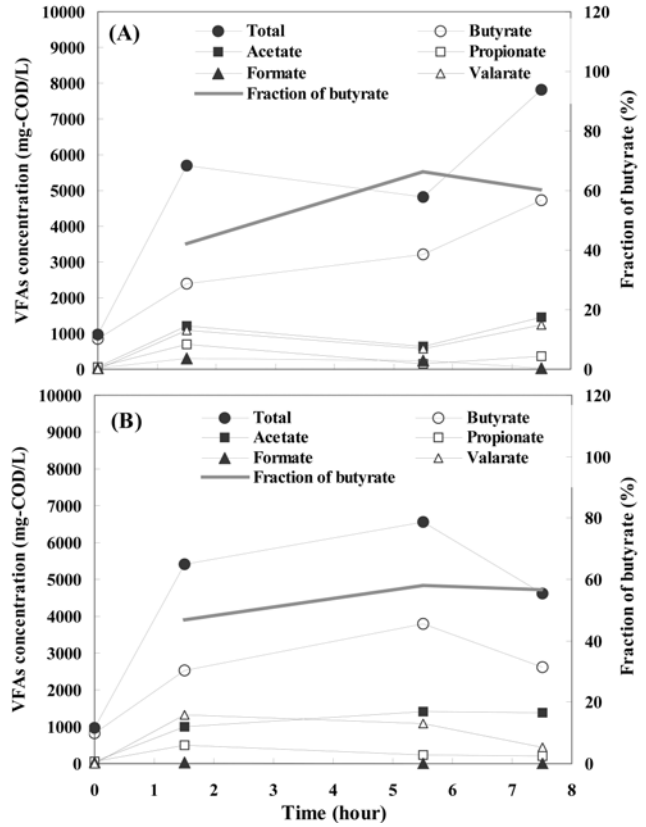


그림 6. 연속식 운전시간에 따른 VFAs 변화 및 butyrate 분율 변화 (A) : Aerated reactor, (B) : Non-aerated reactor

수소는 아래 식(2)식(3)과 같이 4몰의 수소와 2몰의 acetate가 생성되거나 2몰의 수소와 1몰의 butyrate가 생성된다. 이 식에 의하면 butyrate가 생성되는 과정 보다는 acetate가 생성되는 과정에서 수소생성이 유리하다.



그러나 많은 연구자들에 의해 수소생성 효율이 높아질수록 유기산내 butyrate의 농도가 높아진다고 보고된 바 있다 (Yokoi *et al.*, 1998; Dinopoulou *et al.*, 1988; Lin and Chang R.C., 1999). 또한 혼합균주를 이용하여 수소를 생성시 아세테이트/부티레이트(A/B)의 비가 낮아질수록 수소생성 효율이 증대되며, 높아지는 경우에는 수소생성균 외에 다른 미생물의 양이 증가된다고 보고되었다(Han and Shin, 2004; Fang and Liu, 2002).

Non-aerated reactor의 경우 butyrate의 농도가 높았음에도 불구하고 수소가스가 발생하지 않은 이유는 수소가 생성되어 세포 밖으로 배출되었으나 메탄생성균 등 수소를 기질로

표 1. A/B 비에 따른 수소생성속도 비교

Substrate	pH	VFA (mg/L)	A/B ratios	Hydrogen production rate		Reference
				ml-H ₂ /L/d	ml-H ₂ /(g-VSS · d)	
Glucose	5.5	7823	0.31	0.23	26.2	This study
Glucose	5.5	933 (TOC-mg/L)	0.83	-	4.6	Fang and Liu (2002)
Glucose	5.5	3401	0.70	-	3.1	Fang <i>et al.</i> (2006)
Acid waste water	5.0-5.5	2300	0.15	0.40	-	Yang <i>et al.</i> (2006)

이용하는 미생물들에 의해 빠르게 다른 물질로 전환되었기 때문이라 판단된다(Fang and Liu, 2002; Noike *et al.*, 2002).

Aerated reactor의 A/B비 값 Non-aerated reactor에서의 A/B비를 비교한 결과 aerated reactor에서 낮게 측정되었으며, 수소 생성율을 계산한 결과 26.2 ml-H₂/(g-VSSd)으로 나타났다. 이때의 결과값을 기존문헌과 비교하여 표 1에 비교해 놓았으며, A/B 비가 감소할수록 수소발생 비율이 증가하는 것으로 나타났다(Fang and Liu, 2002; Fang *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2006).

4. 결 론

본 연구에서는 혐기성 소화에서의 수소생성을 위한 전처리로서 aeration을 실시하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

전처리로서 aeration을 적용한 결과 수소생성 효율을 증대시킬 수 있었으며, 6시간 동안 처리하는 경우가 최적조건으로 도출되었다.

연속운전시 두 반응조 모두 과량의 butyrate가 생성되었으나, aerated reactor의 경우 수소가 지속적으로 발생하는데 반해 non-aerated reactor에서는 메탄가스가 발생하였다.

이는 초기 1회적인 aeration을 통해 메탄생성균의 활성을 저해하는 동시에 수소생성균의 활성을 유지할 수 있었던 것이라 판단되며, 전처리 없이 낮은 pH와 짧은 HRT만으로는 메탄생성균의 활성이 저해되지 않아 수소가스를 지속적으로 생성시킬 수 없었다.

그러나 미생물 관점에서의 보다 명확한 규명을 위해 향후 연구가 추가적으로 진행되어야 하며, 현장 적용성을 고려한 aeration 처리의 최적조건 도출도 이루어져야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 2005년 제12차 산학연 컨소시엄사업의 지원(지원기관 : 경기지방중소기업청)으로 이루어졌으며, 이에 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

Chen, C.C. and Lin, C.Y. (2001) Start-up of anaerobic hydrogen producing reactors seeded with sewage sludge, *Acta. Biotechnol.*, 21, pp. 371-379.

Cohen, A., Zoetemeyer, R.J., VanDeursen, A., and Ande, J.G. (1979) Anaerobic digestion of glucose with separated acid production and methane formation. *Wat. Res.* 13, pp. 571-580.

Dinopoulou, G., Rudd, T., and Lester, J.N. (1988) The influence of operational parameters on reactor performance, *Biotechnol Bioeng.* 31, pp. 958-968.

Fang, H.H.P. and Liu, H. (2002) Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture, *Bioresource Technology*, 82, pp. 87-93.

Fang, H.H.P., Chenlin, L., and Tong, Z. (2006) Acidophilic bio-hydrogen production from rice slurry, *Int. J. Hydrogen Energy*, in Press, 31, pp. 683-692.

Ghosh, S. and Pohald, F.G. (1974) Kinetics of substrate assimilation and product formation in anaerobic digestion. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, 46, pp. 748-759.

Han, S.K. and Shin, H.S. (2004) Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste, *Int. J. Hydrogen Energy*, 29, pp. 569-577.

Kato, M.T., Field, J.A., and Lettinga, G. (1993) High tolerance of methanogens in Granular Sludge to Oxygen, *Biotechnology and Bioengineering*, 42, pp. 1360-1366.

Lay, J.J., Lee, Y.J., and Noike, T. (1999) Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid. *Waste Water Res.*, 33, pp. 2579-2586.

Levin, D.B., Pitt, L., and Love, M. (2004) Biohydrogen production: prospects and limitation to practical application. *Inr. J. Hydrogen Energy*, 29, pp. 173-185.

Lin, C.Y. and Chang, R.C. (1999) Hydrogen production during the anaerobic acidogenic conversion of glucose. *J. Chem. Technol. Biochemol.*, 74, pp. 498-500.

Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L., and Noike, T., Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging, *Bioresource Technol.*, 73, pp. 59-65.

Noike, T., Endo, G., Chang, J.E., Yaguchi J.I., and Matsumoto, J.I. (1985) Characteristics of carbohydrate degradation and the rate-limiting step in anaerobic digestion, *Biotechnol. Bioengng.* 27, pp. 1482-1489.

Noike, T., Takabatake, H., Mizuno, O., and Ohba, M. (2002) Inhibition of hydrogen fermentation of organic waste by lactic acid bacteria. *Int. J. Hydrogen Energy*, 27, pp. 1367-1371.

Rifkin, J. (2002) The creation of the worldwide energy web and the redistribution of the power on earth, *The hydrogen economy; Penguin Putam*, New work, NY, pp. 15-17.

Shen, C.F. and Guiot, S.R. (1996) Long term impact of dissolved O₂ on the activity of anaerobic digestion, *Biotech. Bioeng.* 49, pp. 611-620.

Tauchi, F., Mizukami, N., Saito-Taki, T., and Hesegawa, K. (1995) *Can. J. Microbiol.* 41, pp. 536-540.

Ueno, Y., Haruta, S., Ishii, M., and Igarashi, Y. (2001) Microbial community in anaerobic hydrogen-producing microflora enriched from sludge compost *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 57, pp. 555-562.

Yang, H., Shao, P., Lu, T., Shen, J., Wang, D., Xu, Z., and Yuan X. (2006) Continuous bio-hydrogen production from citric acid wastewater via facultative anaerobic bacteria, *Int. J. Hydrogen Energy*, 31, pp. 1306-1313.

Yokoi, H., Ohkawara, T., Hirose, J., Hayashi, S., and Takasaki, Y. (1995) Characteristics of hydrogen production by aciduric enterobacter aerogenes strain HO-39. *J. Ferment. Bioeng.*, 80, pp. 571-574.

Yokoi, H., Tokushige, T., Hirose, J., Hayashi, S., and Takasaki, Y. (1998) H₂ production from starch by a mixed culture of *clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*, *Biotechnolgy Letters*, 20, pp. 143-147.

Zinder, S.H., Anguish, T., and Cardwell, S.C. (1984) Effect of temperature on methanogenesis in a thermophilic anaerobic digester, *Applied Environ. Microbiol.*, 47, pp. 808-813.

(접수일: 2006.8.18/심사일: 2006.8.19/심사완료일: 2006.8.19)