

생물학적 수소생산을 위한 혐기성 연속 회분식 반응조(ASBR)의 장기운전 특성 Long Term Operation of Biological Hydrogen Production in Anaerobic Sequencing Batch Reactor (ASBR)

정성진 · 서규태[†] · 이택순
Seong-Jin Jeong · Gyu-tae Seo[†] · Taek-soon Lee

창원대학교 환경공학과
Department of Environmental Engineering, Changwon National University

(2012년 5월 3일 접수, 2012년 11월 30일 채택)

Abstract : Long term hydrogen production was investigated in an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) using mixed microflora. Glucose (about 8,250 mg/L) was used as a substrate for the ASBR operation under the condition of pH 5.5 and 37°C with mixing at 150 rpm. The experiment was carried out over a period of 160 days. Hydrogen yield was 0.8 mol H₂/mol glucose with F/M ratio 2 at initial operation period. The hydrogen yield reached to maximum 2.6 mol H₂/mol glucose at 80th day operation. However decreased hydrogen yield was observed after 80 days operation and eventually no hydrogen yield. Although well-known hydrogen producer *Clostridium* sp. was detected in the reactor by PCR-DGGE analysis, changed reactor operation was the major reason of the decreased hydrogen production, such as low F/M ratio of 0.5 and high propionic acid concentration 2,130 mg/L. Consequently the long period operation resulted in MLSS accumulation and then low F/M ration stimulating propionic acid formation which consumes hydrogen produced in the reactor.

Key Words : Biological Hydrogen Production, Glucose, Propionic Acid, Anaerobic Sequencing Batch Reactor (ASBR), F/M Ratio

요약 : 혐기성 연속 회분식 반응조(Anaerobic sequencing batch reactor; ASBR)를 이용하여 혼합배양을 통한 장기간의 수소생산 특성을 조사하였다. 실험에 사용된 기질은 글루코오스(8,250 mg/L)였고, pH 5.5, 온도 37°C, 교반속도 150 rpm으로 설정하여 160일 동안 반응조를 운전하였다. 운전초기에 F/M비 2로 유지되어 수소생산 수율은 0.8 mol H₂/mol glucose의 수소가 생산되었고, 운전 80일째 수소생산수율은 2.68 mol H₂/mol glucose까지 증가하였다. 그러나 그 이후로 수소 생산량이 지속적으로 감소하여 운전 130일경 이후 수소의 생산은 없는 것으로 나타났다. PCR-DGGE분석을 통해 반응조내 미생물은 일반적인 수소생성 균으로 알려져 있는 *Clostridium* sp.가 검출되었으나 반응조 운전 조건의 변화가 수소생산 저감의 주된 원인으로 밝혀졌다. 즉 반응조의 MLSS 농도가 증가함에 따라 F/M비가 감소하고 생산된 수소는 propionic acid의 생성으로 소모되는 것으로 추정할 수 있고 이는 반응조의 F/M비 0.5와 propionic acid 농도는 2,130 mg/L로 높게 유지된 것으로 확인하였다.

주제어 : 생물학적 수소 생산, 글루코오스, 프로피온 산, 혐기성 연속 회분식 반응조(ASBR), F/M 비

1. 서론

현재 세계적으로 사용되는 에너지의 대부분은 화석연료에 의존하고 있다. 이러한 화석연료는 연소 시 발생하는 NO_x, SO_x, 탄화수소 등으로 인하여 대기를 오염시키며, 지구온난화물질인 CO₂가스를 방출한다. 뿐만 아니라 화석연료는 그 매장량의 한계로 인하여 향후 수십년 이내에 고갈할 문제성을 안고 있으므로 청정하며 미래지향적인 대체 에너지에 대한 개발 및 보급이 시급한 시기라고 할 수 있다. 수소 에너지는 이러한 조건을 모두 만족시키므로 미래의 에너지 자원으로써 주목을 받고 있다.¹⁾ 혐기성 발효는 버려지는 음식물 쓰레기 및, 유기성 폐자원, 분뇨와 같은 고농도 유기물질을 처리하며 동시에 에너지를 회수할 수 있다는 두 가지의 효과를 가지고 있다. 과거에는 혐기성 메탄발효에 대한 연구가 활발하게 이루어 졌으며 발효를 하기 위한 조건이 거의 정립이 되었다고 할 수 있다. 하지만 메탄은 1톤이 연소 시 4톤의 CO₂가스가 발생하기 때문에²⁾ 지구온난화에 기여하게

되므로 메탄에너지에 대한 중요도는 보다 낮다고 할 수 있다. 또한 메탄은 에너지 함량이 55.5 MJ/kg으로 수소의 에너지 함량(120 MJ/kg)^{3,4)}과 비교하여 낮기 때문에 최근에는 혐기성 발효를 통한 수소생산에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다.⁵⁻⁷⁾ 혐기성 수소생산은 미생물 군체의 성장 속도가 빨라서 연속 배양이 가능하고 시설의 대형화 및 유지가 편리하여 산업적으로 수소가스를 대량 생산할 수 있는 방법으로 평가받고 있다.⁸⁾ 또한 별도의 에너지 공급원이 불필요하고, 다양한 종류의 유기성 폐기물로부터 수소가스를 생산할 수 있는 장점이 있다. 수소가스 생산을 위해 혐기성 반응조를 설계할 때는 여러 가지 인자들을 고려해야 한다. 즉 pH, HRT, 기질의 종류와 농도, 미량의 무기물, 수소분압(Hydrogen partial pressure), 반응조의 유형⁹⁾ 등이 있으며 최적의 수소가스를 생산하기 위해서는 이러한 인자들의 영향을 종합적으로 고려하는 것이 바람직하다. 혐기성 반응조의 유형 중 anaerobic sequencing batch reactor (ASBR)은 반응조 내 바이오매스를 높게 유지할 수 있기 때문에 유기물 분해 효율을 높

[†] Corresponding author E-mail: gts@changwon.ac.kr Tel: 055-213-3746 Fax: 055-281-3011

일 수 있다.¹⁰⁾ 따라서 대변과 같은 고농도 유기물 처리에 적합하며 따로 고액 분리조를 둘 필요가 없으므로 시스템을 단순하게 구성할 수 있다. 또한 ASBR에서는 HRT와 SRT가 분리되기 때문에 짧은 HRT에서도 MLVSS의 유실을 막을 수 있으므로 유연성 있는 운전이 가능하다. 그러나 ASBR을 이용한 수소가스 생산 시 운전의 안정성과 신뢰성을 확보하기 위해서는 반응조의 장기운전에 의하여 나타나는 결과들에 대한 다양한 고찰이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 글루코오스를 이용하여 ASBR에 의한 생물학적 수소발생 및 유기물 분해 특성을 조사하고, 반응조 내 수소생성 미생물 종의 동정과 유기산의 생성을 분석함으로써 ASBR의 장기 운전 시 안정적인 수소발생을 위하여 고려해야 하는 운전 인자에 대하여 실험적으로 검토하였다.

2. 실험장치 및 방법

2.1. 사용균주

실험에 사용된 균주는 도시하수처리장의 혐기성 메탄발효 시설에서 채취하였다. 채취한 시료는 약 1일간 중력 침전시킨 후 15분 동안 90°C에서 열처리를 하였고, 실온에서 약 3시간 가량 식힌 후 사용하였다. 열처리를 적용하는 이유는 메탄 균을 사멸시키고 포자를 형성하는 수소 생성 균을 분리해 내기 위해서이다.¹¹⁾

2.2. 기질

실험에서 사용된 기질은 변기에서 배출되는 대변(Feces)이 수세 시 사용되는 6 L의 물에 의한 희석을 고려하여 유기물 원으로 글루코오스 8,250 mg/L (TCODcr 7,600 mg/L)을 사용하였다(Table 1). 그 외에 완충용액, 질소원, 인, 철 등 미생

Table 1. Composition of the substrate

Distill water	1 L
C ₆ H ₁₂ O ₆	8,250 mg
NH ₄ Cl	1,300 mg
KH ₂ PO ₄	250 mg
MgCl ₂ · 6H ₂ O	125 mg
FeSO ₄ · 7H ₂ O	5 mg
ZnCl ₂	0,5 mg
NiCl ₂ · 6H ₂ O	0,5 mg
H ₃ BO ₄	0,5 mg
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,5 mg
MnCl ₂ · 6H ₂ O	2,5 mg
KI	2,5 mg
CoCl ₂ · 6H ₂ O	2,5 mg

물이 성장하는데 필요한 요소를 첨가하였다. 또한 아연, 니켈, 망간 등의 미량 무기물 등 혐기성 수소 발효 시 수소가스 생산의 효율을 향상시키는 것으로 알려져 있는 미량 영양 요소를 첨가하였다.¹²⁾ 기질은 고농도의 유기물로 이루어져 있기 때문에 변질의 우려를 고려하여 매일 만들어서 사용하였다.

2.3. 실험장치의 구성 및 운전

ASBR 운전 시 혐기성 미생물의 배양을 위하여 밀폐가 가능한 반응조를 제작하여 사용하였다. Fig. 1은 실험에 사용된 장치의 개요도를 나타낸 것이다. 반응조는 장시간 운전 가능하도록 강화유리재질로 만들어졌다. 반응조는 총용량 3 L이며 이중 2.4 L를 유효용량으로 운전하였다. 생산된 수소가스는 반응조 상부의 가스 포집구를 통하여 수중치환으로 포집하였으며, 반응조 내 온도는 항온수조를 이용하여 중온 균 영역인 37.0 ± 0.1°C로 유지하였다. 실험기간 동안 pH 조절장치

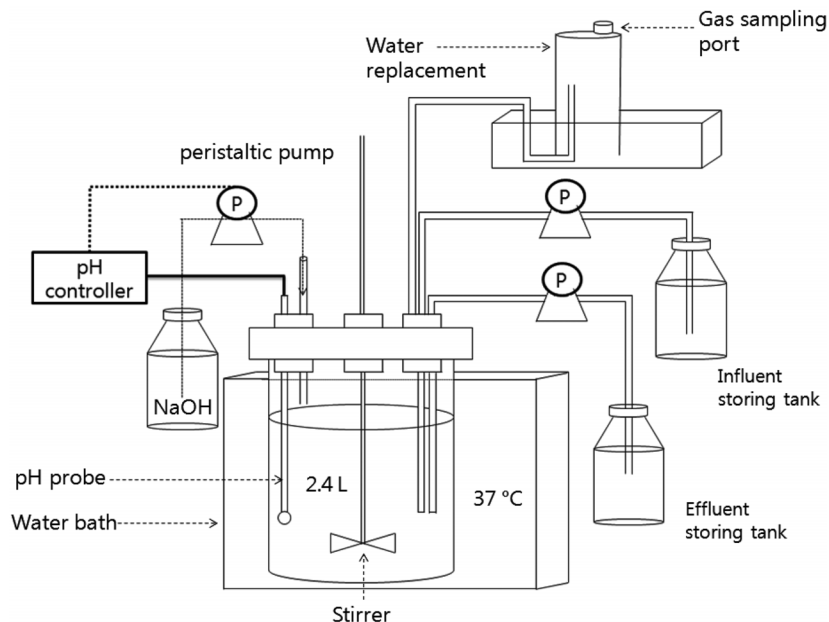


Fig. 1. Schematic of experimental apparatus.

를 이용하여 pH 5.5 ± 0.1로 유지하였다. 또한 반응조내 기질과 미생물의 혼합 상태를 균일하게 유지하기 위하여 150 rpm으로 일정하게 교반하였다. 반응조의 유효용량(2.4 L)은 열처리된 소화슬러지와 기질을 용적비 1 : 2(균주 0.8 L : 기질 1.6 L)로 조정하였다. 운전초기 반응조의 상부 공간에 약 5분간 질소를 주입하여 혐기성 상태를 만들어 주었다.

반응조의 운전 모드는 혐기성 연속 회분식으로서 기질주입시간(Filling) 10분, 침전시간(Settling) 30분, 기질유출시간(Decanting) 10분, 반응시간(Reaction time)은 5시간 10분으로 일정하게 유지하였다. HRT는 12시간이며 2번의 cycle로 나누어 운전함으로써 1 cycle당 시간은 6시간으로 조정하였다.

2.4. 분석방법

2.4.1. 수소가스 발생량

혐기성 반응조에서 발생하는 총 가스량은 수증치환법으로 실린더에 포집된 가스의 부피를 측정하였다. 측정된 총 가스 발생량 중 수소 가스 함량은 가스 크로마토그래피(Gas Chromatography)를 이용하여 분석하였다. 검출기는 열전도도 검출기(Thermal Conductivity Detector)를 사용하였으며 분석조건은 Table 2에 나타내었다.

2.4.2. SS (Suspended solids), VSS (Volatile suspended solids), 글루코오스, SCODcr 분석

운전 기간 중 일정시간마다 반응조 내 시료를 채취하여 SS, VSS, SCODcr 농도를 수질오염공정시험법¹³⁾에 따라 분석하였으며, 유출수의 글루코오스 농도는 DNS법¹⁴⁾을 이용하여 분석을 하였다.

2.4.3. 반응조내 미생물 종 분석

반응조내 미생물의 종은 Polymerase chain reaction-dena-

turing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) 기법을 이용하여 분석하였다. ASBR에서 장기간 배양된 시료의 DNA는 Power Soil DNA Isolation Kit를 이용하여 추출하였다. DNA는 16s rDNA의 가변 부위인 V3 region 증폭을 위해 서로 다른 2개의 primer를 이용하여 PCR을 실시하였다. PCR solution은 10X Tag buffer, dNTP 10 mM, primer, 멸균수로 구성되어 있으며 추출된 DNA sample 2 µL와 PCR solution 25 µL를 혼합하여 1차 PCR을 실시하였으며 2차 PCR에서는 DNA sample 2 µL와 PCR solution 50 µL를 혼합하여 사용하였다. 1차 및 2차 PCR에 사용된 primer와 염기서열 및 분석조건을 Table 3에 나타내었다.

만들어진 Polyacrylamide Gel을 50 TAE buffer를 채운 DGGE 전기영동 기기(Bio-Rad D-code system)를 이용하여 동일한 크기의 PCR product를 gel에 Loading한 후 200 V에서 360분(runing time)으로 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후 UV transilluminator에서 DGGE 밴드 확인 후 원하는 밴드 부위를 잘라내어 튜브에 넣고 밴드의 PCR 및 정제 후 sequence를 통하여 NCBI BLAST의 Genbank database와 비교하여 종을 동정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. ASBR의 장기운전 특성

3.1.1. 운전기간 중 가스 발생량 변화

실험기간 동안 HRT 12 h, pH는 5.5 ± 0.1 온도는 37.0 ± 0.1 °C로 유지되었으며 유입되는 글루코오스 농도는 8,250 mg/L였다. 160일 동안 ASBR의 운전결과 총 가스 발생량의 일일 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 그래프에 표시된 각점은 1 cycle (6 h) 동안 생산된 총 가스량 및 수소가스 발생량이다. 그림에서 보는 바와 같이 운전초기에 총 가스 발생량은 1,500 mL 정도에서 시작하였다. 이는 다시 시간이 경과함에 따라서 감소하였다가 다시 증가하는 경향을 보였고, 운전 30일째 그 발생량이 약 3,000 mL까지 증가하였다. 운전기간 동안 두 번의 pH 조절 장치의 오작동으로 인하여 약 10분 동안 pH가 10으로 상승하였으나 즉시 pH를 5.5로 조절하여 총 가스 및 수소 가스 발생량을 원상태로 회복시켰다. 기존 연구에 의하면 혼합배양 상태에서 혐기성수소생성 균을 분리해내기 위해 산 및 염기 처리를 시행한 경우가 있다.¹⁵⁾ 따라서 수소생성 균이 혐기성 상태에 노출되었더라도 포자를 형성하여 생존할 수 있으므로 운전경과 35~45일경에 수소 가스 발생량이 감소되었다가 즉시 회복한 것은 이 같은 이유에

Table 2. Condition of gas chromatography for H₂ gas analysis

Model	Shimadzu jp/ GC-2010 plus
Detector	Thermal Conductivity Detector, TCD
Column	Molecular Sieve 5A porous layer open tubular capillary column
Sample volume	200 µL
Column oven	35 °C
Injection port	50 °C
Detector port	120 °C
Carrier gas	He 99.999%
Gas flow rate	30 mL/min

Table 3. Primers and device conditions in PCR

Step	Primer	Sequence (5' to 03')	PCR conditions
1st. trial	Eub 8F	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG	9 min 95 °C, followed 30 cycle of 1 min at 95 °C, 1 min 53 °C, 2 min 72 °C followed by a 10 min final extension at 72 °C
	Eub 1392R	ACG GGC GGT GTG TAC AAG	
2nd trial	Eub 27F (GC)	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AGC CT	9 min 95 °C, followed 35 cycle of 1 min at 95 °C, 1 min 55 °C, 2 min 72 °C followed by a 10 min final extension at 72 °C
	Eub 518R	ATT ACC GCG GCT GCT GG	

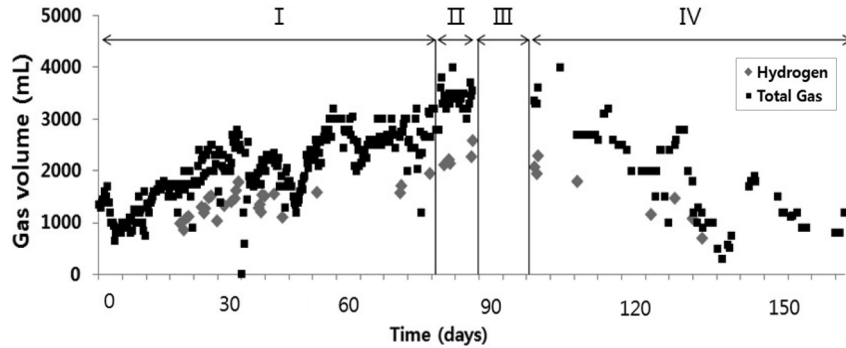


Fig. 2. Daily observation of gas production at 8,250 mg-glucose/L for 1 cycle (6 h) operation.

의한 것으로 판단된다. 운전기간 중 I번 구간에서 80일 운전 후 총 가스 발생량은 최대 3,500 mL까지 증가하였다. II번 구간에서 약 1주일간 총 가스 발생량이 $3,500 \pm 200$ mL에서 수렴하는 결과로 보아 정상상태로 판단되었다. 이 때 수소가스의 발생량은 총 가스 발생량과 같은 패턴으로 증감을 하였고 총 가스 발생량의 60~70%를 유지하였다.

그러나 III번 구간에서 pH probe의 고장으로 인해 약 7일간 ASBR의 운전을 중단하였다. 운전이 중단된 시간 동안 슬러지는 중력침강 후 4°C 냉장실에서 보관하였다. IV번 구간에서 ASBR을 재운전 하였을 때 초기에는 수소가스 발생량은 그 이전과 같이 정상상태의 수준을 유지하였다. 그러나 이후 수소가스 발생량이 감소하였다. 총 160일간 동안의 운전 중 초기에는 수소가스가 원활하게 생산되었으나 후기에는 수소가스의 발생량이 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었다.

3.1.2. 수소가스 생성 감소 원인 분석

ASBR의 장기 운전 시 수소가스의 생성이 줄어드는 원인을 분석하기 위하여 반응조 내부의 물질변화와 미생물 동정을 실시하였다. ASBR의 운전기간 중 수소가스의 생성이 중단된 시점인 운전 150일에서 반응조로부터 샘플을 2회 채취하여 분자생물학적 분석기법인 PCR-DGGE에 의한 미생물종을 동정하였다. Fig. 3은 PCR-DGGE 분석결과를 나타낸

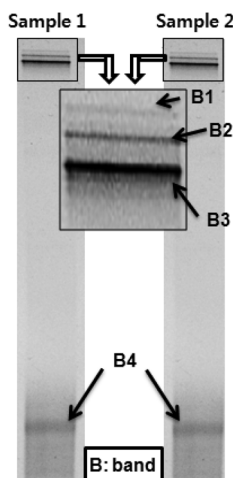


Fig. 3. DGGE profiles of microbial community in ASBR.

Table 4. Gen Bank search result

Band	The closet sequence	Similarity (%)	Acc.No.
1	<i>Clostridium</i> sp. rennanqily3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	96	AY363375.2
2	TM7 phylum sp,oral taxon 347 clone AQ127 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	85	GU410576.1
3	<i>Clostridium pasteurianum</i> strain CSTR-G16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	EF656617.1
4	<i>Clostridium pasteurianum</i> strain AFBR-B16S ribosomal RNA gene, partial sequence	98	EF656615.1

것이다. 두 개의 샘플에서 밴드의 형성은 유사하게 총 4개의 밴드로 나타났다. 각 밴드를 회수하여 PCR에 의한 재 증폭 후 sequence하여 NCBI BLAST의 Genbank database와 비교한 결과를 Table 4에 나타내었다. 시료의 염기서열과 Genbank database에 보유되어있는 염기서열과의 유사도(Similarity)를 통해 미생물의 종을 식별하여 유사도가 97%가 넘으면 검색된 미생물 종이 신뢰성을 가지고 있다고 볼 수 있다. 그 결과 3번 밴드의 유사도가 100%로 나타나 ASBR내 수소생성 미생물인 *Clostridium pasteurianum*을 동정하였다. 이 종은 절대 혐기성 균으로 Ferredoxin이 중재하는 NADH의 산화 환원 반응에 기반을 둔 Hydrogenase ferredoxin activity에 의하여 수소를 생성하는 것으로 밝혀진 바 있다.¹⁶⁾ 이와 같이 수소생성 균이 반응조 내에서 서식하고 있음에도 불구하고 그 생성량이 감소한 이유를 밝히기 위하여 반응조내 여러 가지 종류의 유기산(VFAs)을 분석하여 글루코오스의 분해과정을 추정하였다. 유기산 분석 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 그림과 같이 acetic acid, propionic acid, butyric acid의 농도가 각각 2,200 mg/L, 2,130 mg/L, 97 mg/L로 나타났다. 혐기성 수소생성 과정에서 대표적으로 발생하는 중간산으로 acetic acid, propionic acid, butyric acid가 있으며 본 실험 결과 유사한 물질들이 검출되었다. 이들의 생성경로는 아래의 반응식에서 보논바와 같이 acetic acid의 경우 글루코오스로부터 acetic acid 2몰 생성 시 4몰의 수소가 생성되며, butyric acid의 경우는 2몰의 수소가 생성된다. 그러나 propionic acid 생성반응에서 수소 2몰이 소모되는 현상이 일어난다.¹⁷⁾ 이

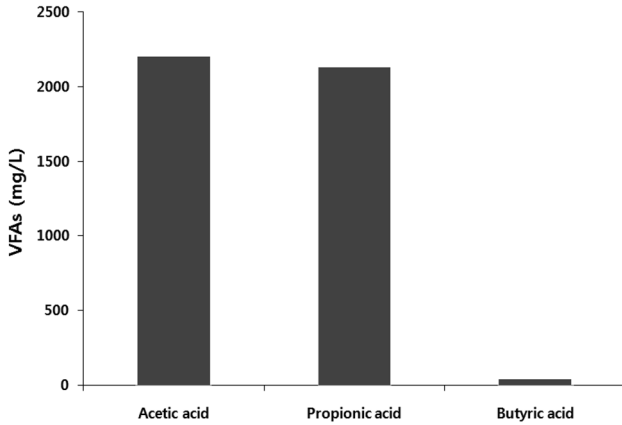
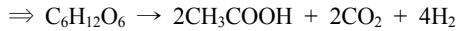


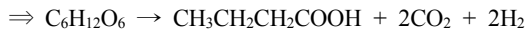
Fig. 4. Volatile fatty acids (VFAs) concentration in ASBR.

러한 현상이 ASBR의 장기운전 시 수소생성량이 감소되는 원인으로 분석될 수 있다. 이는 혐기성 수소생성 실험에서 propionic acid의 생성이 수소발생을 저해한다는 기존의 연구 결과로^{18,19)}부터 그 원인을 추정할 수 있다.

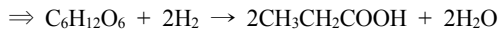
Acetic acid production



Butyric acid production



Propionic acid production



3.1.3. 수소가스 함량 및 생산수율 분석

ASBR의 운전에 의한 총 가스 생성량에 대한 수소가스의 함량 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 실험 기간 동안 수소가스 함량은 60~70%를 나타내었다. 이는 다른 연구결과에서 보고된 총 가스 생성량 대비 수소가스 함량 60~65%^{14,20)}과 비교하여 다소 높게 나타났다.

고농도의 propionic acid생산의 영향을 받고 있을 시기인 운전 경과 120일 이후에도 수소가스 함량에는 큰 변화가 없었다. 160일의 운전기간 동안 수소가스 생산수율(Hydrogen yield)을 Fig. 6에 나타내었다. 운전 시작 20일 경과 후 수소가스 생산수율은 0.8 mole H₂/mole glucose로 나타났으며 운전경과 80일 후 2.6 mole H₂/mole glucose로서 최대를 나타내었다. 그 이후 수소가스 생산 수율은 지속적으로 감소하여 운전 120일 경과 이후에는 0.5 mole H₂/mole glucose 이하로 떨어졌다.

Table 5에 생물학적 수소생산 수율에 관한 본 실험 결과를 기존의 연구결과와 비교하였다. 본 연구의 수소가스 생산수율은 0.5~2.5 mole H₂/mole glucose로 타 연구결과와 비교하여 유사한 범위에 있음을 알 수 있다. 이론적으로 수소가스의 생성은 글루코오스 1몰 당 최대 4몰이지만 실제 실험에서는 그보다 낮은 1~2 mole H₂/mole glucose의 수소가스가 생성되는 것으로 보고되고 있다.²⁵⁾ 이에 비하여 본 연구결과 나타난 수소생산 수율은 운전 후반기 발생량의 감소현상을 적절히 제어하면 비교적 높은 수율로 수소를 생성할 수 있는 것으로 나타났다.

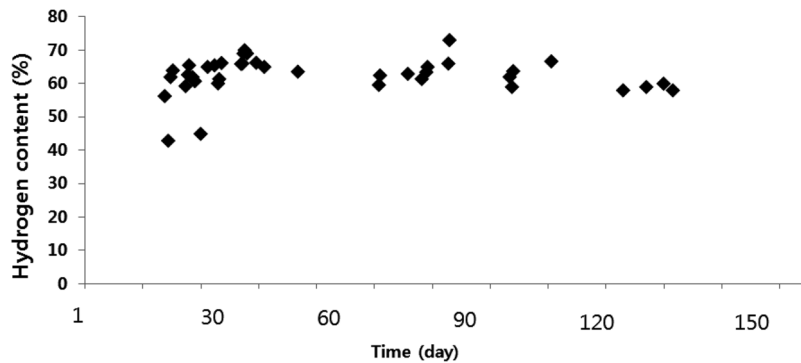


Fig. 5. Daily variation of Hydrogen gas content on the total biogas.

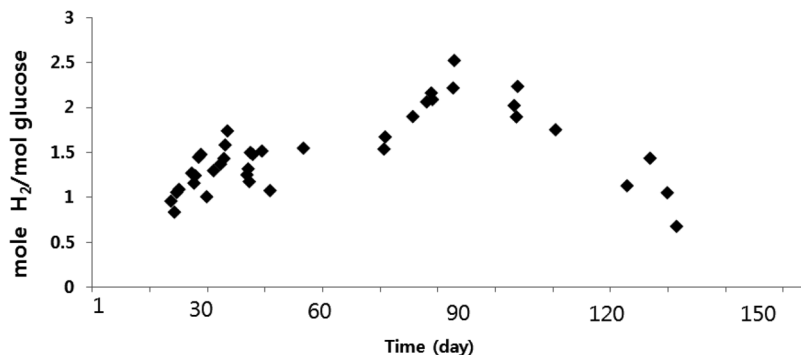
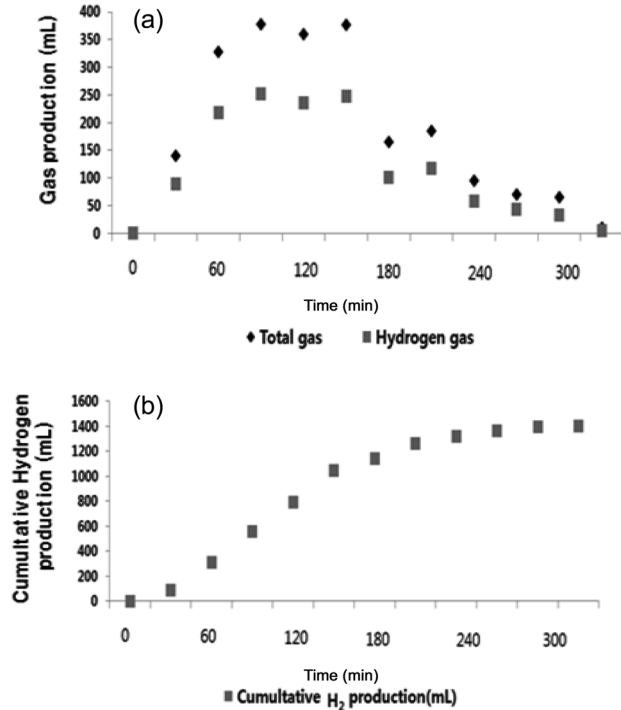


Fig. 6. Daily variation of Hydrogen gas yield (mole H₂/mole glucose) in ASBR.

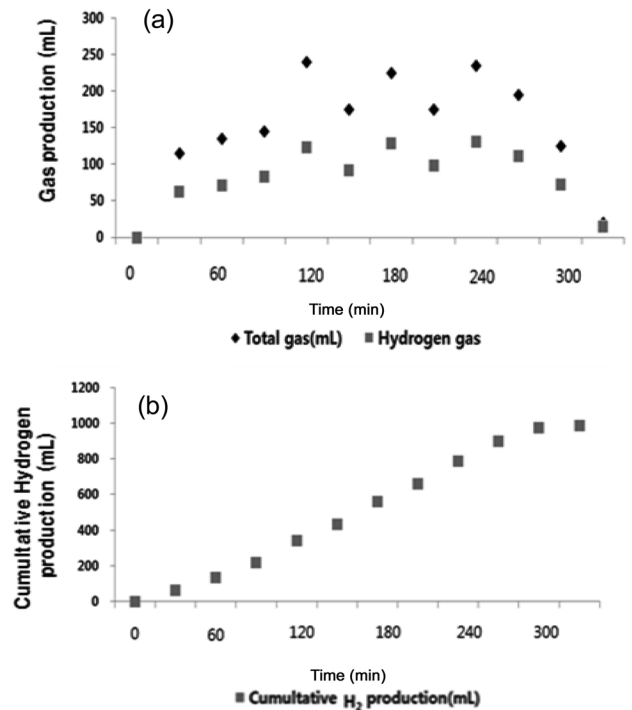
Table 5. Comparison of Hydrogen yield

HRT (hr)	Reactor classification	Substrate	Seed	H ₂ yield (mol H ₂ /mol substrate)	Reference
6~12	ASBR	Sucrose	Non-pretreated microflora	0.7~2.6 mol H ₂ /mol sucrose	21)
12~96	ASBR	SWEET sorghum syrup	Heat-treated sludge	0.43~0.68 mol H ₂ /mol hexose	22)
6	CSTR	Glucose	Hydrogen producing sludge	2.24 mol H ₂ /mol glucose	23)
0.5~12	CSTR	Glucose	2 month acclimated sludge with glucose	1.93 mol H ₂ /mol glucose	24)
12	ASBR	Glucose	Heat-treated sludge	0.5~2.5 mol H ₂ /mol glucose	This study

**Fig. 7.** Hydrogen gas production for 1 cycle (6 h) reaction at 20 days operation of ASBR.

3.2. ASBR의 운전 1 cycle당 수소가스 발생특성

ASBR의 운전 중 각 운전 cycle 동안 수소의 발생특성을 조사하였다. 총 운전 기간 160일 중 수소가스 발생량이 증가하는 시기인 운전 20일(Fig. 7)과 수소가스 발생이 감소하는 시기인 120일(Fig. 8)에 1 cycle (6 h) 동안 가스발생량을 측정하였다. 반응조의 운전 20일 경과 시 30분 간격으로 총 가스 및 수소가스 발생량을 측정하고 결과 기질 주입 후 120분에서 각각 350 mL 및 250 mL 이상의 최대값을 나타내었다. 각 반응시간대별 총 가스 발생량 중 수소의 함량은 역시 60~70%였고(Fig. 7(a)), 누적 수소가스 발생량은 총 1,400 mL로 나타났다(Fig. 7(b)). 이에 비하여 ASBR 운전 120일 이후의 반응조 내 수소발생 특성은 Fig. 8(a)와 같이 가스의 발생 속도가 느리게 나타나 기질주입 후 180분에서 총 가스와 수소가스의 발생량은 각각 250 mL와 150 mL 미만으로 나타났다, 수소가스 발생도 불규칙하였다. 누적 수소가스 생산량은 1,000 mL였고(Fig. 8(b)), 전체 가스 발생량 중 수소가스 함량은 50~60% 범위로 운전 20일의 결과와 비교하여 수소가스 함량이 약 10% 정도 낮게 나타났다. 이 시기는 propionic acid에 의해 수소가스 생산 박테리아의 활동에 영향을 받은

**Fig. 8.** Hydrogen gas production for 1 cycle (6 h) reaction at 120 days operation of ASBR.

것에 기인하였다.

1 cycle 동안 수소가스의 발생자료로부터 수소생산속도 (hydrogen production rate, HPR)와 비수소생산속도(specific hydrogen production rate, SHPR)를 구하여 운전 20일과 120일에 대하여 각각 Table 6에서 비교하였다. 운전 20일에서 HPR은 4.46 mmol H₂/L/hr이며 SHPR은 1.61 mmol H₂/g-VSS/hr로서 운전 120일의 HPR (3.72 mmol H₂/L/hr) 및 SHPR (1.06 mmol H₂/g-VSS/hr)과 비교하여 높았다. 이상으로부터 ASBR에 의한 수소가스 발생은 기질의 주입 후 약 2시간 동안 대부분 이루어지고 이를 장기적으로 안정하게 유지하기 위하여 적절한 운전 조건을 조절해야 함을 알 수 있다.

Table 6. Comparison of HPR and SHPR at 20 and 120 days operation of ASBR

Operation time	HPR (mmol H ₂ /L/hr)	SHPR (mmol H ₂ /g-VSS/hr)
20 days	4.46	1.61
120 days	3.72	1.06

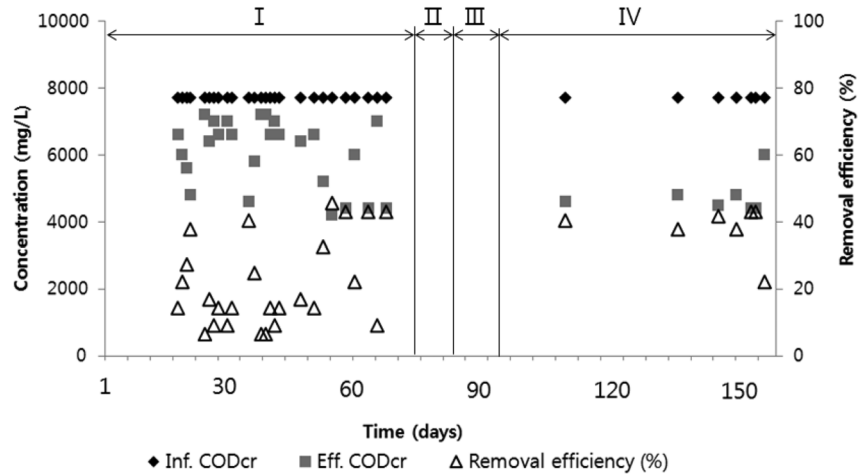


Fig. 9. Daily observation of organic matter removal in the ASBR.

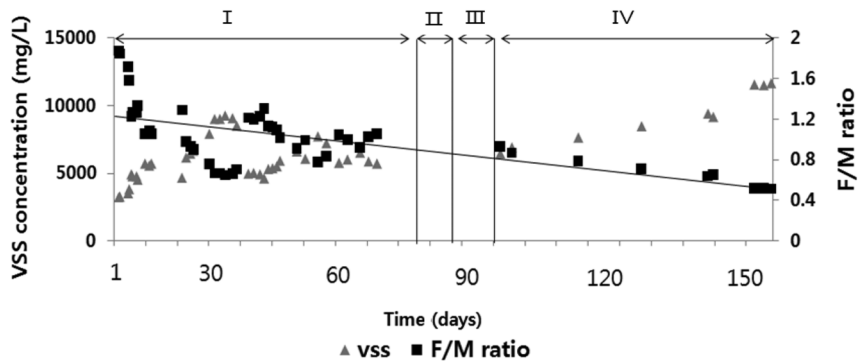


Fig. 10. Variation of MLVSS concentration with F/M ratio in ASBR.

3.3. 유기물 제거 및 MLVSS 변화

ASBR에서의 유기물제거와 그에 따른 미생물 증식을 SCODcr과 MLVSS의 농도 변화로 나타내었다. Fig. 9는 ASBR의 운전기간 동안 유입수와 유출수의 SCODcr 농도 및 제거효율에 대한 일변화를 나타낸 것이다. 유입수의 SCODcr 농도 7,800 mg/L에 대하여 운전 70일까지 유기물 제거율은 5~45%의 범위에서 크게 변동함을 보여주었다. 이는 글루코오스가 분해되면서 중간생성물로 유기산이 생성됨에 따라 SCODcr로 나타나는 유기물의 제거가 그다지 높지 않은 것으로 사료된다. 그러나 이 기간 중에는 수소의 발생이 비교적 활발하게 일어나고 있었다. 한편 운전 70일에서 100일 사이 반응조의 pH 조절에 문제가 발생하여 CODcr 분석을 하지 않았으나 운전이 재개되었을 때 SCODcr 제거율은 40~45%로 안정적인 경향을 보여주었다. 이는 반응기간이 길어질수록 반응조 내 MLVSS농도가 증가하여 F/M비($gCODcr \cdot V/g MLVSS \cdot V$)가 낮게 유지되었기 때문인 것으로 판단된다. 본 실험에서의 유기물제거율은 일반적인 혐기성 소화의 메탄발효에 의한 SCODcr 제거율 73~91%에^{26,27)} 비하여 상당히 낮으나, CSTR에²⁸⁾ 의한 혐기성 수소발효에서의 TCODcr 제거율 20%에 비하여 높게 나타났다.

Fig. 10에 ASBR의 운전기간 동안 반응조 내 MLVSS농도와 그에 따른 F/M비의 변화를 나타내었다. 반응조 내 MLVSS

농도는 초기 3,000~4,000 mg/L였으나, 운전기간이 지속될수록 MLVSS농도는 증가하여 160일 경과 후 12,000 mg/L로 유지되었다. 이에 따라 유입 SCODcr 대비 MLVSS로 나타나는 F/M비는 운전 초기에 약 2로 유지되었으나, 운전기간이 증가할수록 MLVSS농도 증가에 의하여 F/M비는 0.5까지 감소하였다. 이와 같은 F/M비의 감소는 본 실험에서 나타난 ASBR의 장기운전 시 수소가스 발생에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추정할 수 있다. 즉 F/M비가 수소생성 미생물 성장패턴에 대한 회분식 실험에서 F/M비가 6일 때 가장 많은 수소가스가 발생되며 F/M비가 이보다 낮거나 높아도 수소 가스 생산량이 감소한다는 연구결과로 해석할 수 있다.²⁹⁾ 비록 ASBR에 의한 수소 가스 생산과 유기물 제거에 미치는 영향인자가 다양하게 있을 수 있으나, 본 연구에서 ASBR을 이용한 장기실험 결과 유기물제거와 수소발효의 극대화를 이룰 수 있도록 ASBR 반응조의 적정 F/M비를 유지해야 함을 알 수 있다.

4. 결론

글루코오스를 기질로 이용하여 생물학적 수소가스 생산 특성을 조사하기 위해 ASBR의 장기 운전특성을 검토한 결과

다음과 같은 결론을 도출하였다.

1) ASBR의 장기운전에 의한 수소가스 발생패턴은 다양하게 나타났다. 즉 초기 적응단계에서 수소가스 생산수율은 0.8 mol H₂/mol glucose로 나타났으며 최대 발생시기의 수율은 2.6 mol H₂/mol glucose이었다가 운전기간이 길어질수록 수소가스 생산 수율은 감소하여 생성이 멈추었다. 이는 장기운전에 따른 반응조내 수소발생 반응경로가 propionic acid의 생성으로 변한 것에 기인하였다. 그러나 반응조내 주요 미생물은 수소생성균인 *Clostridium pasteurianum*으로 동정되었다.

2) ASBR의 1 cycle에서 수소발생은 기질의 주입 후 약 2 시간 동안 대부분 이루어지고 이를 장기적으로 안정하게 유지하기 위하여 적절한 운전 조건을 조절해야 함을 알 수 있었다. 수소발생 속도는 4.46~3.72 mmol H₂/L/hr 및 1.61~1.06 mmol H₂/g-VSS/hr로 운전기간이 길어질수록 점차 감소하는 것으로 나타났다.

3) ASBR의 유기물제거와 MLVSS 농도의 변화에 의하여 ASBR의 F/M비는 운전 시간의 경과에 따라서 변화하였다. F/M비가 운전초기에는 1.1~2.0로 높게 유지되었으나 MLVSS 농도가 증가함에 따라 F/M비는 0.5로 낮아졌으며 이는 수소가스 생성 경로가 propionic acid 생성으로 변화하는 요인으로 추정되었다. 따라서 시스템의 장기 운전 시 안정적인 수소가스 생산을 위한 적정 F/M비를 유지가 중요한 운전 조건임을 알 수 있다.

사 사

본 연구는 교육과학기술부와 한국 연구재단의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과임(과제번호: 2011-02-대-04-009).

KSEE

참고문헌

- Solomon, B. D. and Banerjee, A., "A global survey of hydrogen energy research, development and policy," *Energy Policy*, **34**(7), 781~792(2006)
- Fulcheri, L. and Schwob, Y., "From methane to hydrogen, carbon black and water," *Int. J. Hydrogen Energy*, **20**(3), 197~202(1995).
- Suzuki, Y., "On Hydrogen as Fuel Gas," *Int. J. Hydrogen Energy*, **7**(3), 227~230(1982).
- Bockris, J. O. M., "The Economics of Hydrogen as a Fuel," *Int. J. Hydrogen Energy*, **6**(3), 223~241(1981).
- Lay, J. J., Lee, Y. J. and Noike, T., "Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste," *Water Res.*, **33**(11), 2579~2586(1999).
- Han, S. K., Kim, H. W. and Shin, H. K., "Enhanced hydrogen fermentation of food waste," *J. of KOWREC*, **11**(4), 105~113(2003).
- Lee, J. G., "Evaluation of anaerobic sequencing batch reactor for night soil digestion," Kon-kuk University, The degree of Doctor of Philosophy, (2000).
- Yokoi, H. and Maki, R., "Microbial production of hydrogen from starch-manufacturing wastes," *Biomass Bioenergy*, **22**(5), 389~395(2002).
- Jung, K. W., Kim, D. H., Kim, S. H. and Shin, H. S., "Bio-reactor design for continuous dark fermentative hydrogen production," *Bioresour. Technol.*, **102**(18), 8612~8620(2011).
- Ratusznei, S. M., Rodrigues, J. A. D., Camargo, E. F. M., Zaiat, M. and Borzani, W., "Feasibility of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass for wastewater treatment," *Bioresour. Technol.*, **75**(2), 127~32(2000).
- Kim, D. H., Kim, S. H. and Shin, H. S., "Start-up strategy for continuous fermentative hydrogen production," The 2007 Environmental Societies Joint Conference, Civil & Environmental Engineering, pp. 910~913(2007).
- Lin, C. Y. and Lay, C. H., "A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora," *Int. J. Hydrogen Energy*, **30**(3), 285~292(2005).
- Choi, G. C., "Standard methods for water quality analysis," DongHwa Technology, (2004)
- Kim, G. H., "The production of biohydrogen from mixed culture using anaerobic microorganisms," The Degree of Master of philosophy(2008)
- Wang, J. L. and Wan, W., "Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing cultures from digested sludge," *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**(12), 2934~41(2008).
- Valentine, R. C., Mortenson, L. E. and Carnahan, J. E., "The hydrogenase system of *Clostridium pasteurianum*," *J. Biol. Chem.*, **238**(3), 1141~1144(1962).
- Antonopoulou, G., Gavala, H. K., Skiadas, I. V., Angelopoulos, K. and Lyberatos, G., "Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass," *Bioresour. Technol.*, **99**, 110~119(2007).
- Wang, L., Zhou, Q. and Li, F. T., "Avoiding propionic acid accumulation in the anaerobic process for biohydrogen production," *Biomass Bioenergy*, **30**(2), 177~182(2006).
- Kim, S. H., Han, S. G. and Shin, H. S., "Continuous anaerobic H₂ production with a mixed culture," *J. of KOWREC*, **11**(1), 70~76(2003)
- Kang, M. Y., "Optimum condition for hydrogen fermentation of organic waste," Daegu University, The Degree of Master of philosophy (2006)
- Lin, C. Y. and Jo, C. H., "Hydrogen production from sucrose using anaerobic sequencing batch reactor process," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **78**(6), 678~684(2003).
- Saraphirom, P. and Reungsang, A., "Biological hydrogen production from sweet sorghum syrup by mixed cultures using an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR)," *Int. J. Hydrogen Energy*, **36**(14), 8765~8733(2011).

23. Fang, et. al., "Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture," *Bioresour. Technol.*, **82**, 87~93 (2002).
24. Zhang, Z. P., Show, K. Y., Tay, J. H., Liang, D. T., Lee, D. T. and Jiang, W. J., "Rapid formation of hydrogen-producing granules in an anaerobic continuous stirred tank reactor induced by acid incubation," *Biotechnol. Bioeng.*, **96**(6), 1040~1050(2007).
25. Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L. and Noike, T., "Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging," *Bioresour. Technol.*, **73**(1), 59~65(2000).
26. Takeno, k., Nakashimada, Y., Kakizono, T. and Nishio, N., "Methane fermentation of coastal mud sediment by a two-stage upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor system," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **56**(1), 280~285(2001).
27. Sung, S. and Dague, R. R., "Laboratory studies on the anaerobic sequencing batch reactor," *Water Environ. Res.*, **67**(3), 294~301(1995).
28. Sung, S., Raskin, L., Duangmanee, T., Padmasiri, J. and Simmons, J. J., "Hydrogen production by anaerobic microbial communities exposed to repeated heat treatments," In Proceedings of the 2002 U.S. DOE Hydrogen Program Review NREL/CP-610-32405(2002).
29. Nasr, N., Elbeshbishy, E., Hafez, H. and Nakhla, G., "Biohydrogen production from thin stillage using conventional and acclimatized anaerobic digester sludge," *Int. J. Hydrogen Energy*, **36**(20), 12761~12769(2011).