

산·알칼리 전처리를 통한 제당 폐수의 생물학적 수소생산 Biological Hydrogen Production By Pre-treatment of Sugar Wastewater Using Acidic or Alkaline Chemicals

이 태 진
Tae-jin Lee

서울과학기술대학교 환경공학과

Department of Environmental Engineering, Seoul National University of Science & Technology

(2012년 10월 25일 접수, 2012년 12월 1일 채택)

Abstract : 제당폐수를 산 또는 알칼리 전 처리한 후 생물학적 수소생산율과 유기산의 생성특성을 평가하였다. 제당 폐수의 수소발생량은 산 전처리된 경우 보다 알칼리 전처리된 시료에서 약 70%의 발생량 증가를 나타내었다. 또한 제당폐수 원액에 적절한 영양염류(질소·인)를 공급하였을 때 보다 양호한 수소생성률을 보여주었다. 제당폐수의 혐기발효에 있어서 탄수화물의 분해와 수소생성의 직접적인 연관성은 나타나지 않았다. Butyric acid/Acetic acid (B/A)비와 수소생산의 연관성을 살펴보면, 영양염류를 첨가한 제당폐수는 순수 제당폐수보다 B/A비가 약 3배 증가하였으며 알칼리 전처리와 영양염류를 첨가한 시료에서 B/A비가 4.02로 가장 높게 나타났다. 실험에 사용된 전체 시료에서 B/A비가 클수록 수소생성률이 높았다.

Key Words : 혐기성 발효, 수소생산, 제당폐수, B/A비

요약 : Characteristics of biological hydrogen production rate and organic acid under anaerobic fermentation process were investigated with sugar wastewater. Hydrogen production rate was higher with alkaline pre-treatment than acidic pre-treatment, resulting in 70% increment. An adequate supply of the nutrients (N or P) into raw sugar wastewater could increase hydrogen production rate. Carbohydrate degradation of the anaerobic fermentation process was not directly related with hydrogen production. Sugar wastewater with the addition of the nutrients shows 3 times higher B/A ratio than the raw sugar wastewater. B/A ratio of the wastewater with alkaline pre-treatment and nutrients addition was most higher than other samples, showing 4.02 of B/A ratio. Higher B/A ratio shows higher hydrogen production rate at each sample.

주제어 : Anaerobic Fermentation, Hydrogen Production, Sugar Wastewater, B/A Ratio

1. 서론

석유와 같은 화석에너지는 온난화의 주요원인 물질이며 오염물질의 배출 그리고 한정된 매장량으로 인한 에너지 고갈의 문제를 내포하고 있어 이를 대체할 에너지 개발이 시급한 실정이다.^{1,2)} 대체에너지 중 수소는 에너지밀도가 매우 크기 때문에 개발할 가치가 큰 부존자원으로 평가되고 있으며 가볍고 또한 보편적인 에너지이므로 고갈이나 분쟁의 위험이 없다. 더욱이 수소에는 탄소 원자가 들어 있지 않아 생태계를 교란시킬 오염물질을 생산하지 않는다.³⁾ 이와 같은 이점으로 수소는 화석연료를 대체할 친환경적인 에너지 자원으로 많은 연구가 활발하게 진행되고 있다.

기존의 수소생산 방식인 화석연료의 열분해와 물의 전기분해는 고가의 제조비와 생산되는 수소에너지를 초과한 화석 에너지를 투입해야 한다는 근본적인 한계가 있어 생물학적 방법을 통해 수소를 생산하고자 최근 미생물을 이용한 수소생산 연구가 활발히 진행되고 있다. 생물학적인 방법은 광합성 미생물을 이용하는 광생물학적 수소생산 방법과 혐기발효로 수소를 생산하는 방법으로 나누어진다.³⁾ 광생물학적인 방법은 햇빛과 미생물을 이용하여 물을 광분해하여 수

소를 얻는 방법으로 혐기발효에 비해 더 많은 연구가 진행되었지만 높은 활성화 에너지가 필요하며, 수소생산 속도가 상당히 느린 편으로 에너지 효율이 상당히 낮다고 알려져 있다.

혐기성 발효를 이용한 수소 생산 방법의 가장 큰 장점은 유기성 폐자원에서 쉽게 얻을 수 있는 글루코스나 녹말 등 유기물을 분해하여 수소를 얻는다는 친환경적인 점이다. 그리고 수소 생산 속도가 광 생물학적 방법에 비하여 상당히 빠르고, 시간에 제한되지 않고 운전이 24시간 가능하며 공간이 많이 소요되지 않아 증축이 용이한 것으로 평가받고 있다.^{4,5)}

유기성 폐자원을 활용하여 생물학적으로 수소를 생산하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있으나 여러 저해 요인으로 인해 수소생산 효율 면에서 실용성이 낮다고 인식되어 왔다. 그러나 최근 활성슬러지, 두부폐수, 음식물쓰레기 등 그 대상물질이 다양화되고 있고 수소 생산효율도 점차적으로 개선되고 있어 유기성 폐자원을 이용한 수소생산의 실용화에 대한 부정적 인식이 점차적으로 개선되고 있다.

혐기성 발효 수소생산에 대한 연구에서 수소생산을 저해하는 요인으로 pH, 분압, 염분도, 온도, 미생물의 군집 등이

† Corresponding author E-mail: leetj@seoultech.ac.kr Tel: 02-970-6614 Fax: 02-971-5776

지적된 바 있다. 활성슬러지나 두부폐수와 같은 유기성 폐기물을친환경적 재생에너지로서의 수소를 생산하기 위한 기질로 이용할 경우 각 폐기물에 대한 전처리 조건 및 운전방법이 확립되어 있지 않아서 생산율이 매우 낮거나 경제성이 없다고 보고되기도 하였다.⁶⁻⁸⁾ 따라서 유기성 폐자원을 에너지로서 이용을 극대화하기 위해서는 적절한 전처리 방법에 대한 고찰이 필수적으로 필요하다.

제당 폐수는 설탕제조과정에서 발생하는 폐수로 폐수발생량은 연간 200만 톤 이상으로 추정된다. 그 성상 중 아미노산은 주로 glutamate, aspartate, alanine으로 구성되어 있으며, 당은 자당이 90% 이상 차지하고 있다. 제당 폐수를 소각처리할 경우 NOx, SOx를 발생할 수 있고 토양매립 역시 적절한 처리방법이 아니므로 환경친화적인 제당폐수 처리기술의 개발이 필요하며, 이를 유기성자원으로 활용하여 에너지를 생산하는 방안이 고려되어야 한다.⁹⁾

따라서 본 연구에서는 혐기성 발효공정을 이용하여 제당 공정에서 발생하는 고농도 유기성 폐수를 기질로 사용하여 수소생산 효율 및 특성 및 유기산의 생성 특성 등을 살펴 보았다. 제당폐수의 생물학적 수소생산을 증진시키기 위해 산·알칼리 전 처리를 수행하여 그 결과를 비교하였으며, 생물학적 성장을 위한 최적 조건을 도출하고자 하였다. 본 연구의 결과는 제당폐수를 이용한 생물학적 수소생산에 대한 연구가 미흡한 현재의 환경에서 제당폐수를 이용한 수소생산의 실용화를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 균주 및 배양 방법

본 실험에서 사용된 기질은 C사의 제당폐수를 이용하였으며 성상분석 결과 TCOD, T-N, 그리고 T-P는 307,803 ± 22,197, 24.37 ± 2.92, 1.74 ± 1.04 mg/L로 각각 나타났으며 SS는 1.6 mg/L 이하로 매우 낮게 측정되었다. 혐기발효를 위해 필요한 질소나 인의 함유량이 낮은 관계로 실험목적에 따라 영양염류(N·P)가 추가 공급되었으며 원액은 일부 희석해서 사용하였다. 실험목적에 따라 인공합성폐수(SPL A),

Table 1. Component of the culture medium

Components	Concentration (mg/L)
NH ₄ HCO ₃	2,000
KH ₂ PO ₄	1,000
MgSO ₄ 7H ₂ O	100
NaCl	10
NaMoO ₄ 2H ₂ O	10
CaCl ₂ 2H ₂ O	10
MnSO ₄ 7H ₂ O	15
FeCl ₂	2.78

산 전처리된 제당폐수(SPL B), 영양염류가 주입되고 산 전처리된 제당폐수(SPL C), 그리고 영양염류가 주입되고 알칼리 전처리된 제당폐수(SPL D)로 구분하여 실험하였다. 전처리는 pH 조정 후 60분간 수행되었으며, 접종균의 배양과 비교실험을 위해 순수 탄수화물인 자당(sucrose)으로 만들어진 인공합성폐수의 조성은 Table 1에 나타난 바와 같다.¹⁰⁾

접종(seeding)을 위한 수소생성균은 물재생센터의 활성슬러지조에서 발생하는 활성슬러지를 중력침강 시킨 뒤, 그 상등액 중 1 mL를 취하여 Table 1의 성분으로 구성된 배지 50 mL를 넣은 세럼병에 주입하고 N₂가스로 Purging하였다.^{11,12)} 세럼병에 계대 배양된 혼합 미생물(Seeding 균주)에 수소 생성균의 존재를 확인하기 위해 341f와 518r을 primer로 이용하여 약 200 bp의 PCR product를 증폭하여, DGGE를 한 결과¹³⁾ *Pantoea agglomerans*, *Clostridium* sp., *Enterobacter* sp.와 *Enterobacter cloacae* 등이 존재하였으며(similarity index 90% 이상), 이 4종의 미생물은 일반적으로 수소생산 미생물로 기준에 보고된 종들이다.^{14,15)} 그 후 Shaking Incubator에서 120 rpm, 35°C 조건 하에 2~3일 배양한 후 세럼병 내 수소생성균을 폐수에 주입하여 수소생성량을 측정하였다.

2.2. 실험 장치 및 운전 방법

Fig. 1은 연구에 사용된 회분식 반응기로 배지 또는 폐수를 첨가시킨 후 N₂ 가스로 purging 시켜 혐기성 상태로 만든 후 가스의 유출입이 없도록 완전 밀폐시켰다. 유효 용적 1.5

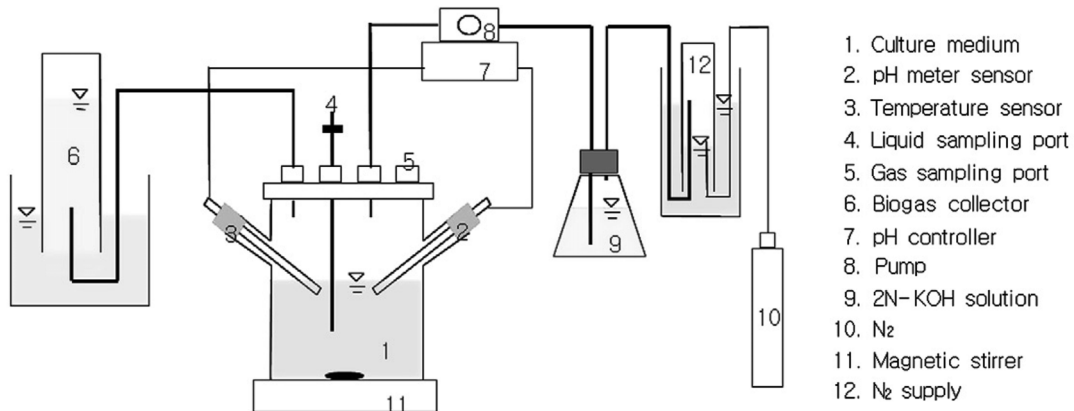


Fig. 1. Schematic diagram of the batch reactor for anaerobic fermentative hydrogen production.

L의 반응조 내 배양액을 완전혼합하기 위한 교반속도는 200 rpm으로 유지하였으며 실험은 $30 \pm 3^\circ\text{C}$ 에서 수행하였다. 주입된 초기 배양액은 반응기 유효용적의 1% (v/v)이었으며 초기 생체량은 약 6 mg VSS/L이었다. pH 조절을 위한 용액은 pH 조절기(controller)에서 자동 조절되어 주입되도록 하였다. 반응기에서 발생하는 총 가스는 2% (v/v) H_2SO_4 을 담은 포화식염수에 포집하였으며, 반응 장치 상단부에는 발생된 수소 가스의 함량을 측정하기 위해 가스포집관(gas sampling port)을 설치하였다. 또한 배양액 내에 축적되는 유기산, 균체량 및 잔존 탄수화물 측정을 위한 용액시료채취관(liquid sampling port)을 설치하였다.

2.3. 분석방법

2.3.1. 가스 분석

배양 중 발생하는 가스 중 수소함량은 head space 가스를 gas-tight syringe로 100 μL 를 채취하여 열전도도 검출기를 장착한 가스 크로마토그래피(GOW-MAC series 350)에서 측정하였다. 사용된 칼럼은 6' \times 1/8" stainless steel SS 350A (Molesieve 13X, 80/100 mesh)이었으며 GC의 운전조건은 칼럼온도 80°C , injector 온도 100°C , 그리고 detector 온도는 100°C 였으며, carrier gas는 질소이고 flow rate는 30 mL/min로 유지하였다.

2.3.2. 누적 수소생산량

누적수소생산량 곡선은 식 (1)을 이용하여 일정시간마다 측정된 수소함량과 발생된 총 가스량으로부터 계산되었다.¹⁰⁾

$$V_{\text{H}_i} = V_{\text{H}_{i-1}} + C_{\text{H}_i}(V_{\text{G}_i} - V_{\text{G}_{i-1}}) + V_{\text{H}}(C_{\text{H}_i} - C_{\text{H}_{i-1}}) \quad (1)$$

여기서, V_{H_i} 와 $V_{\text{H}_{i-1}}$ 은 시간간격에 따른 누적 수소생산량의 현재 생산량(i)과 이전 생산량(i-1)이며, V_{G_i} 와 $V_{\text{G}_{i-1}}$ 은 현재 총 가스량과 이전 총 가스량을 나타낸다. C_{H_i} 와 $C_{\text{H}_{i-1}}$ 은 반응기의 head space에서 측정된 현재의 수소 함량(%)과 이전의 수소함량(%)이며, V_{H} 와 V_{S} 는 반응기의 head space부피 (500 mL)와 이전의 누적된 배양액 sampling양을 나타낸다.

미생물에 의해 생성된 수소 생산곡선을 분석하기 위해 식 (2)과 같이 수정된 Gompertz 방정식¹⁶⁾을 이용하였다.

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

여기서 M은 누적가스 생성량(cumulative gas production), λ 는 지연시간(lag phase time), P는 가스 생성량(gas production potential), R은 최대 가스 생성률(maximum gas production rate) 그리고 e는 exp(1)을 나타낸다. 누적가스 생성량은 식 (2)를 이용하여 해석하였으며, 각 λ , P, R의 값은 SIGMA PLOT 2002 (SPSS Science, UK) software 중 곡선분석을 이용하여 산출하였다.

2.3.3. 유기산 및 분자량 분석

유기산은 SUPELCOGEL C-610H (130 \times 7.8 mm ID) 칼럼을 장착한 HPLC로 분석하였다. 검출기는 파장 210 nm로 조정된 UV detector (Detector ERC-7215, ERMA CR. INC.)를 이용하였으며, 0.1 % H_3PO_4 를 이동상으로 하여 flow rate 0.7 mL/min로 유지하였다. 분자량의 분포를 확인하기 위해 0.1 M NaNO_3 를 이동상으로 하고 Ultrahydrogel 120 (Waters, 7.8 \times 300 mm)칼럼과 RI검출기가 장착된 GPC (gel permeation chromatography, Young Lin Instrument Co. YL9100)를 이용하였다.

2.3.4. 잔존 탄수화물 분석

배양액 내에 잔존하는 탄수화물을 정량하기 위하여 배양액 일정량을 원심분리(11,000 rpm, 5 min)하여 균체와 상등액을 분리하고 상등액을 취해 페놀-황산법으로 발색시킨 후 UV-Visible spectrophotometer (UV-1601, SHIMADZU)로 흡광도 파장 490 nm에서 측정하였다.^{17,18)}

2.3.5. 기타 분석

균체량(volatile suspended solids)의 측정은 일정량의 배양액을 취하여 UV-Visible spectrophotometer (UV-1601, SHIMADZU)로 600 nm에서 흡수된 광량을 기준에 건조중량으로 검량된 곡선에 대입하여 환산 측정하였다. COD_w 와 균체 건조 중량 분석은 Standard Methods에¹⁹⁾ 의하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 산 · 알칼리 처리에 의한 제당폐수의 가용화율

제당폐수의 TCOD (Total Chemical Oxygen Demand) 및 SCOD (Soluble Chemical Oxygen Demand) 값을 측정하여 가용화율(SCOD/TCOD)을⁷⁾ 산정해 본 결과 pH가 증가함에 따라 제당폐수의 가용화율이 높게 나타났다. Fig. 2에서 보

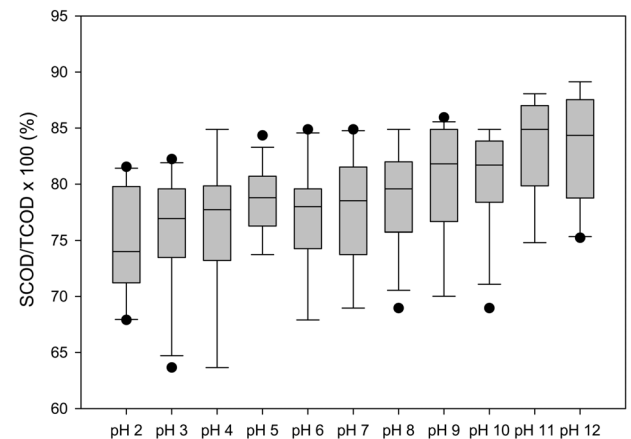


Fig. 2. Solubilization ratios of the sugar wastewater with acidic or alkaline pre-treatment. Box plot at each pH was obtained from 8 to 21 numbers of trials.

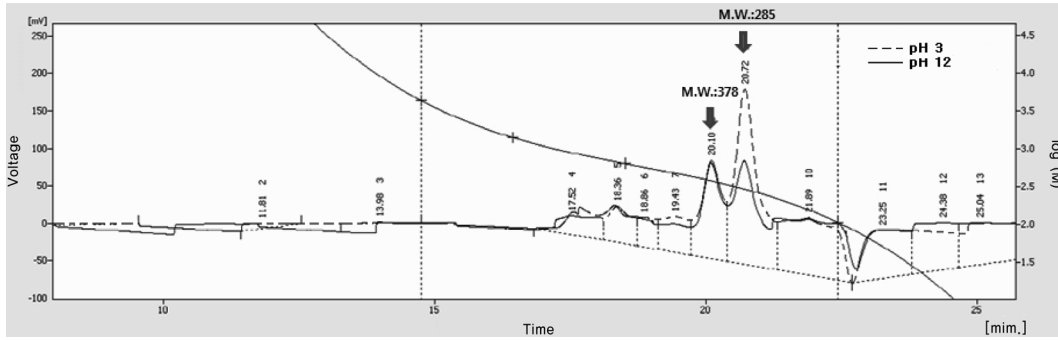


Fig. 3. Gel permeation chromatogram of the pre-treated sample at pH 3 and pH 12. Full line: pre-treated sample at pH 3, Dot line: pre-treated sample at pH 12, M.W.: molecular weight.

는 바와 같이 제당폐수는 산성조건에서의 전처리 보다 알칼리 전처리를 거친 원액의 SCOD 증가현상이 뚜렷하였다. pH 2와 12에서 가용화율의 평균값은 74.6%에서 83.3%로 약 11.7%의 가용화율의 증가가 나타났다. 이와 유사한 실험인 활성슬러지 공정에서 발생하는 슬러지를 이용한 전처리 실험에서⁶⁾ 나타난 결과에 의하면 가용화율의 증가는 용해성 유기물의 증가를 수반하고 결국 수소의 생성을 촉진하는 것으로 보고된 바 있다. 또한 알칼리 환경에서 가용화율이 산 환경보다 더 높게 나타난다고 보고한 Ozkan et al.의⁷⁾ 실험과도 유사한 결과를 나타내었다.

제당폐수의 전처리에 따른 분자량의 변화를 살펴보기 위해 GPC (Gel Permeation Chromatography)를 이용하여 전처리된 시료를 분석하였다(Fig. 3). 가장 많이 분포한 분자량을 확인한 결과 실험에 사용되었던 제당폐수는 분자량 378와 분자량 285 인근에서 최대 분포를 가지는 것으로 파악되었으며 제당폐수의 알칼리 전처리를 통하여 분자량 285 인근 화합물들이 분해되어 분자량 전환이 이루어지고, 이를 통하여 용존성 유기물질의 증가가 나타나는 것으로 파악되었다.

3.2. 전처리 방법에 따른 제당폐수의 수소 생성량

산 또는 알칼리 전처리를 수행한 후 pH 5.5를 유지한 상태에서 실시한 혐기성 수소생산 실험에서 발생한 가스는 수소와 이산화탄소로 구성되어 있었으며 메탄의 생성은 관찰되지 않았다. Fig. 4에 전처리 방법에 따른 수소생산 효율을 나타내었다. 비교실험을 위한 자당을 탄소원으로 하는 합성폐수(SPL A)와 산(pH 3) 또는 알칼리(pH 12) 처리를 한 제당폐수(SPL B, SPL C와 SPL D)를 배지로 하여 혐기발효를 실시하였다. 제당폐수 원액에 질소나 인의 농도가 충분하지 않은 것을 감안하여 질소와 인을 첨가한 제당폐수(SPL D)와 첨가하지 않은 제당폐수(SPL B)로 구분하여 실험을 실시하였으며 수소 발생량에 대한 원활한 비교를 위해 각 폐수의 초기 COD 농도는 10,000 mg/L로 조정하였다.

pH 3에서 전처리된 제당폐수에서 누적 수소발생량은 341.05 mL로 가장 낮았다. 같은 시료를 질소와 인을 보충한 상태에서 수소 발생량은 774.59 mL로 증가하였다. 따라서 제당폐수 원액의 양호한 수소생성을 위해서는 질소와 인과 같

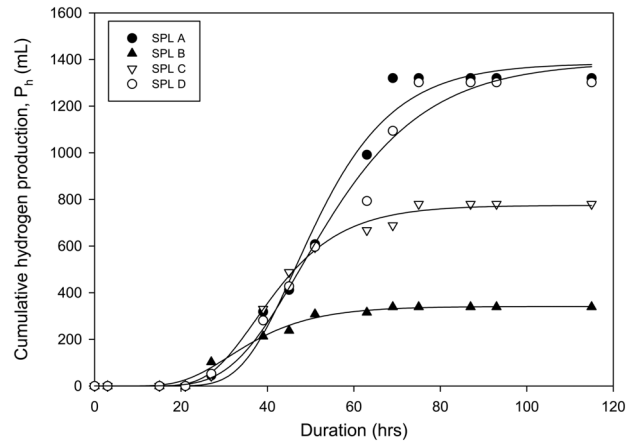


Fig. 4. Hydrogen gas production curve with microbial digestion of the pre-treated sugar wastewater. Regression of experimental data was performed by Sigma Plot of SPSS Science Inc, using the modified Gompertz equation, (SPL A: synthetic wastewater (sucrose), SPL B: pre-treated sugar wastewater at pH 3, SPL C: pre-treated sugar wastewater at pH 3 with addition of N/P, SPL D: pre-treated sugar wastewater at pH 12 with addition of N/P).

은 영양염류의 보충이 필수적으로 필요하다는 것을 보여준다. 이러한 실험 결과는 슬러지로 실험한 Kang et al.⁶⁾의 실험결과와 유사하다. 용존성 유기물의 농도가 증가했던 pH 12로 전처리된 시료의 경우 영양염류가 보충된 상태에서 수소 발생량이 1309.30 mL로 나타났다. 이는 산(pH 3) 처리된 경우보다 약 70%의 수소발생량이 증가된 것이며 자당을 탄소원으로 한 시료(1383.94 mL)와 거의 같은 양의 수소가 생성된 것이다. 각 시료에 대한 수소발생량을 Table 2에 정리하여 나타내었다. 수소가스 발생량(Ph)과 최대 수소생산율(Rh)은 Fig. 4에 나타난 실험결과를 수정 Gompertz 방정식을 이용하여 분석하였으며 이 때 r-square값은 0.99 이상, p-value는 0.05 이하로 본 회귀분석의 95% 신뢰구간에서 통계적으로 중요한 의미를 가진다는 것을 확인하였다.

본 실험을 통해 제당폐수에서 발생된 수소의 양과 슬러지를 이용한 수소 발생량을 비교하여 보았다. Table 3에 나타난 바와 같이 슬러지를 이용하여 발생된 수소에 비해 본 제당폐수를 활용한 수소의 생성이 월등히 높게 나타는 것을 알 수 있다.

Table 2. Parameter values from nonlinear regression of modified Gompertz equation for gas production with pre-treatment (pH) on sugar wastewater

	Hydrogen production potential		Max. hydrogen production rate		r^2
	P_h (mL)	p-value	R_h (mL/hr)	p-value	
SPL A ^{a)}	1383.97	<0,0001	40.86	<0,0001	0.99
SPL B ^{b)}	341.05	<0,0001	11.71	<0,0001	0.99
SPL C ^{c)}	774.59	<0,0001	26.14	<0,0001	0.99
SPL D ^{d)}	1309.30	<0,0001	31.87	<0,0001	0.99

^{a)}SPL A: synthetic wastewater (sucrose)

^{b)}SPL B: pre-treated sugar wastewater at pH 3

^{c)}SPL C: pre-treated sugar wastewater at pH 3 with addition of N/P

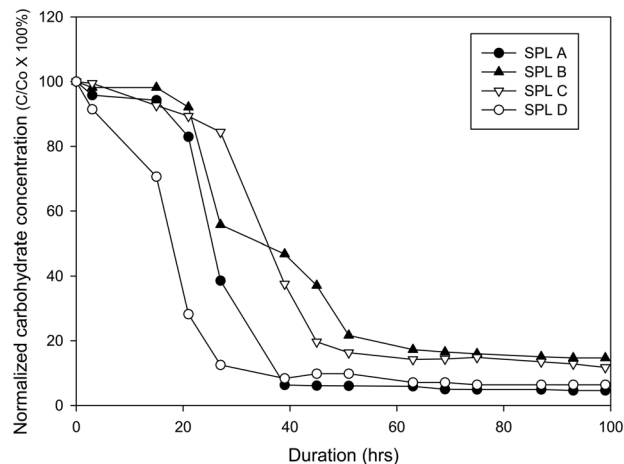
^{d)}SPL D: pre-treated sugar wastewater at pH 12 with addition of N/P

Table 3. Comparison of the literature data on biohydrogen production

Reference	Substrate	Hydrogen yield (mg of H ₂ /g of COD)
This study (SPL A)	Synthetic wastewater (sucrose)	7.55
This study (SPL C)	sugar wastewater (pH 3)	4.22
This study (SPL D)	sugar wastewater (pH 12)	7.14
20	Waste activated sludge	1.20
21	Boiling treated sludge	0.40
22	Raw sludge	0.90
22	Alkaline treated sludge	1.65

3.3. 미생물의 성장 및 탄수화물의 분해

전처리를 수행한 제당폐수를 이용하여 생물학적 분해양상을 확인하기 위해 각 시료의 탄수화물의 농도 변화를 측정하여 비교 분석하였다(Fig. 5). 슬러지 내 탄수화물의 분해양상은 Table 2에서 제시되는 최대 수소가스 생성량의 변화와 반드시 일치하지 않는 것으로 나타났다. 자당을 탄소원으로 하는 합성폐수(SPL A)보다 알칼리에서 가용화된 제당폐수

**Fig. 5.** Carbohydrate utilization of pre-treated sugar wastewater with anaerobic fermentative digestion. (SPL A: synthetic wastewater (sucrose), SPL B: pre-treated sugar wastewater at pH 3, SPL C: pre-treated sugar wastewater at pH 3 with addition of N/P, SPL D: pre-treated sugar wastewater at pH 12 with addition of N/P).

(SPL D)에서 탄수화물의 분해가 빠르게 나타났으며 산으로 전처리된 제당폐수(SPL B, SPL C)의 경우 질소나 인의 첨가가 탄수화물의 분해를 반드시 촉진시키지 않는다는 것을 알 수 있었다. 이는 시료의 성상에 따라 미생물 군집은 다양하게 나타날 수 있으며 탄수화물의 분해와 수소 생성은 관여하는 미생물 군집에 따라 다르다는 것을 알 수 있다. 시료의 성상이나 조건에 따른 미생물 군집양상은 확연히 다르게 나타날 수 있음은 기존 연구에서도 보고된 바 있다.^{8,23,24)} 따라서 보다 명확하게 군집이 수소생성에 미치는 영향을 파악하기 위해서는 미생물 군집 양상을 해석할 수 있는 후속 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

3.4. 발효산물 분포 특성 및 물질 수지

발효를 통한 수소 생성에 관여하는 세균은 생화학 반응을 거쳐 수소뿐 아니라 각종 유기산을 발생시키며 이론적으로 글루코스 1분자는 초산 2분자와 동시에 최대 수소 4 mol를 생산한다. 대사산물이 생산되는 방향으로 진행되는 대사적 흐름에 의해 이상적인 수소생성률은 영향을 받기 때문에, 실제의 수소생성률은 이론적인 수율 보다 낮게 나타난다.²⁵⁾ 본 실험에서 나타난 유기산의 생성은 Fig. 6과 같은 분포 특성을 나타내었고, 수소생성에 가장 큰 기여를 한다고 여겨지는 butyric acid가 가장 높은 비율을 차지했으며, 그 다음은 acetic acid로 나타났다. Butyric acid/Acetic acid (B/A)는 수소생산과 비례한다는 종래의 연구결과가 있음을 고려할 때,²⁶⁾ 합성폐수(SPL A)와 제당폐수를 탄소원으로 한 경우(SPL B), 각각 3.73, 0.19의 B/A비를 보였는데, 제당폐수의 B/A비가 합성폐수에 비해 매우 낮음을 나타낸다(합성폐수의 5.09%). 영양염류(N and P)를 첨가한 제당폐수는(SPL C) B/A비가 0.62로 나타나 순수한 제당폐수보다 B/A비가 약 3배 증가하였다. 알칼리 전처리한 제당

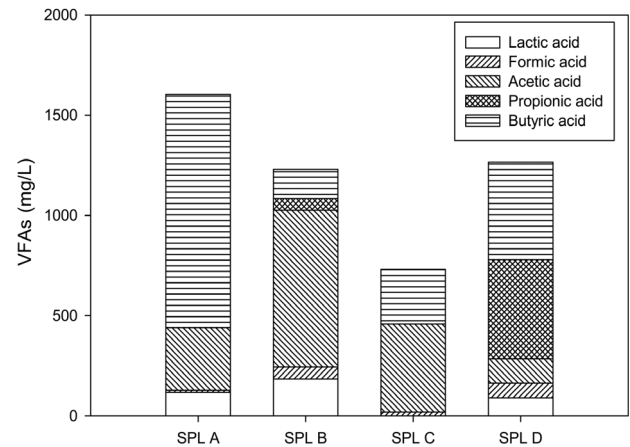
**Fig. 6.** Organic acid profiles at strong acidic or alkaline pre-treatment on the sugar wastewater. (SPL A: synthetic wastewater (sucrose), SPL B: pre-treated sugar wastewater at pH 3, SPL C: pre-treated sugar wastewater at pH 3 with addition of N/P, SPL D: pre-treated sugar wastewater at pH 12 with addition of N/P).

Table 4. COD balance with strong acid/base pre-treatment on sugar wastewater (unit: %)

	Initial COD	VFAs					Biomass	Remain of substrate	Others	H ₂	Recovery
		Lactic acid	Formic acid	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid					
SPL A	100	1.17	0.11	3.12	-	11.64	12.24	8.33	52.87	7.14	96.62
SPL B	100	1.84	0.6	7.82	0.58	1.45	2.09	7.51	77.8	1.78	101.47
SPL C	100	0.9	0.18	4.39	-	2.73	5.41	5.28	70.86	5.41	95.16
SPL D	100	0.00	0.73	1.21	4.98	4.87	4.42	2.19	68.16	6.92	93.49

Others : SCOD - (VFA + soluble carbohydrate), -: not detected

폐수(SPL D)의 B/A비는 4.02로 나타나 B/A비가 클수록 수소생성률이 높다는 기존의 연구결과와 본 실험에서 나타나는 B/A비의 거동이 매우 유사함을 알 수 있었다.

제당폐수를 이용한 수소생산에서 부산물의 특성을 파악하기 위해 초기 COD를 100%로 설정하여 물질수지를 검토하였으며 Table 4에 부산물의 분포를 나타내었다. 반응 후 여액에 잔류하는 성분은 대부분 에탄올과 같은 알코올로 구성되어 있다고 보고된 바 있음을 상기하였을 때^{27,28)} 가용화된 슬러지의 COD 유발성 유기물의 약 50~78%가 알코올류로 잔존한다고 파악되었다. lactic acid와 propionic acid 역시 일부 시료에서 검출되었으며 기존의 연구에서 lactic acid와 propionic acid의 생성은 낮은 수소생산을 유발한다고 보고된 바 있으나²⁹⁾ 본 실험의 경우 제당폐수에 영양물질과 알칼리성 전처리를 거친 시료의 경우 propionic acid가 생성되었음에도 불구하고 상당량의 수소 생성량을 나타내었다.

4. 결론

본 연구에서는 제당폐수를 전 처리한 후 혐기성 발효에 의한 수소생산을 실시하였으며 배양기간 동안 pH를 5.5로 일정하게 유지하는 상태에서 전처리된 제당폐수의 수소생산물과 유기산의 생성특성을 살펴보았을 때 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

유기성 폐수인 제당 폐수를 산 또는 알칼리 전처리를 실시한 후 가용화율의 변화는 알칼리 전처리 된 경우 약 11.7%의 가용화율의 증가가 나타났으며, 수소발생량은 산 전처리된 경우보다 알칼리 전처리된 시료에서 약 70%의 발생량의 증가를 나타내었다. 또한 제당폐수 원액에 적절한 영양염류(질소 · 인)를 공급하였을 때 7.14 mg H₂/g of COD의 수소 생성량이 검출되어 보다 제당폐수의 수소생성을 위해서는 영양염류의 첨가가 매우 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

전처리 과정을 거친 제당폐수의 수소가스 발생량을 분석하였을 때 약 4.22~7.14 mg H₂/g COD로 분석되었으며, 이는 유기성폐자원인 슬러지를 이용한 수소생성률(0.40~1.65 mg H₂/g COD) 보다 높게 나타났다. 따라서 유기성자원을 이용한 수소가스의 생성 측면에서 제당폐수의 활용성이 매우 높다는 것을 알 수 있었다.

Butyric acid/Acetic acid (B/A)과 수소생산의 연관성을 살펴보았을 때, 자당과 제당폐수를 탄소원으로 한 경우, 각각

3.73, 0.19의 B/A비를 보였으나 영양염류(N and P)를 첨가한 제당폐수는 B/A비가 0.62로 나타나 순수한 제당폐수보다 B/A비가 약 3배 증가하였다. 특히 알칼리 전처리와 영양염류를 첨가한 시료에서 B/A비가 4.02로 나타나 B/A비가 클수록 수소생성률이 높다는 기존의 연구결과와 본 실험에서 나타나는 B/A비의 거동이 매우 유사함을 알 수 있었다.

제당폐수의 혐기발효에 있어서 탄수화물의 분해는 수소생성과 직접적인 연관성을 찾지 못하였으나 영양염류의 첨가는 수소발생에 미치는 영향이 크다는 것을 알 수 있었다. 따라서 혐기성 발효에서 수소생성에 영향을 미치는 미생물 군집변화 양상을 해석할 수 있는 후속연구가 필요할 것으로 판단되었다.

사 사

이 연구는 환경부의 폐기물에너지화 특성화대학원사업으로 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

KSEE

참고문헌

- Momirlan, M. and Veziroglu, T. N., "Recent directions of world hydrogen production," *Renew. Sust. Energy Rev.*, **3**, 219~231(1999).
- Debabrata, D. and Veziroglu, T. N., "Hydrogen production by biological processes: a survey of literature," *Int. J. Hydrogen Energy*, **26**, 13~28(2001).
- Rifkin, J., "The hydrogen economy: the worldwide energy web and the redistribution of the power on earth," *Penguin Putnam, New Work, NY US*, 15~17(2002).
- Mizuno, O., Ohara, T., Shinya, M. and Noike, T., "Characteristics of hydrogen production from bean curd manufacturing waste by anaerobic microflora," *Water Sci. Technol.*, **42**(3), 345~350(2000).
- Jiunn, J. L., Lee, Y. J. and Tatsuya, N., "Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste," *Water Res.*, **33**, 2579~2586(1999).
- Kang, J.-H., Kim, D.-K. and Lee, T.-J., "Hydrogen production and microbial diversity in sewage sludge fermentation preceded by heat and alkaline treatment," *Bioresour. Technol.*, **109**, 239~243(2012).

7. Ozkan, L., Tuba, H. E. and Goksel, N. D., "Effects of pretreatment methods on solubilization of beet-pulp and bio-hydrogen production yield," *Int. J. Hydrogen Energy*, **36**(1), 382~389(2011).
8. Jun, Y. S., Joe, Y. A. and Lee T. J. "Change of Microbial Community and Fermentative Production of Hydrogen from Tofu Wastewater," *J. Kor. Soc. Environ. Eng.*, **31**(2), 139~146 (2009).
9. Lee, I. G., "Hydrogen production by SCWG treatment of the wastewater from molasse fermentation, Eco-II Project Final report," Korea Institute of Energy Research(2008).
10. Logan, B. E., OH, S. E., Kim, I. S. and Ginkel, S. V., "Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers," *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 2530~2535(2002)
11. Samir K. K., Chen, W.-H., Li, L. and Sung, S.-H., "Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products," *Int. J. Hydrogen Energy*, **29**, 1123~1131(2004).
12. Chen, C.-C. and Lin, C.-Y., "Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor," *Adv. Environ. Res.*, **7**, 695~699(2003).
13. Mannix, S. P., Shin, H., Masaru, H., Rumiko, S., Chie, Y., Koichiro, H., Masaharu, I. and Yasuo, I., "Denaturing gradient gel electrophoresis analyses of microbial community from field-scale compost," *J. Biosci. Bioeng.*, **91**(2), 159~165(2001).
14. Narendra K., Debabrata D., "Enhancement of hydrogen production by Enterobacter cloacae IIT-BT 08," *Proc. Biochem.*, **35**, 589~593(2000).
15. Zajic, J. E., N. Kosaric and J. D. Brosseau, "Microbial production of hydrogen," *Adv. Biochem. Eng.*, **7**, 57~109, (1978).
16. Lowry, O. H., Rasebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., "Protein measurement with Folin phenol reagent," *J. Biol. Chem.*, **193**, 265~275(1951).
17. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F., "Colorimetric method for determination of sugars and related substances," *Anal. Chem.*, **28**(3), 350~356, (1956).
18. Miller, G. L., "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar," *Anal. Chem.*, **31**, 426~428 (1959).
19. APWA, AWWA, WPCF, "Standard methods for the examination of water and wastewater," 20th ed., 1999.
20. Wang, C. C., Chang, C. W., Chu, C. P., Lee, D. J., Chang, B. V., Liao, C. S. and Tay, J. H. "Using filtrate of waste biosolids to effectively produce bio-hydrogen by anaerobic fermentation," *Water Res.*, **37**(11), 2789~2793(2003).
21. Wang, C. C., Chang, C. W., Chu, C. P. and Lee, D. J., Chang, B. V. and Liao, C. S. "Producing hydrogen from wastewater sludge by *Clostridium hifermentans*," *J. Biotechnol.*, **102**, 83~92(2003).
22. Cai, M. L., Liu, J. X. and Wei, Y. S., "Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment," *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 3195~3202(2004).
23. Jun, Y. S., Lee, K. Y., Joe, Y. A. and Lee, T. J., "Change of Microbial Communities in Fermentative Hydrogen Production at Difference Cultivation pHs," *J. Kor. Soc. Environ. Eng.*, **30**(12), 1239~1244(2008).
24. Park, J. I. and Lee, T. J., "Changes of Microbial Community Depending on Different Dissolved Oxygen in Biological Nitrogen Removal Process," *J. Kor. Soc. Environ. Eng.*, **30** (9), 939~947(2008).
25. Shin, J. H. and Park, T. H., "Biological Hydrogen Production Processes," *Kor. Chem. Eng. Res.*, **44**(1), 16~22(2006).
26. Kim, M. S., Moon, K. W., Lee, I. G., Lee, T. J. and Sung, C. K., "Hydrogen Gas Production by Fermentation from Various Sugars Using *Clostridium butyricum* NCIB 9576," *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **27**(1), 62~69(1999).
27. Leclere, M., Bernalier, A., Donadille, G. and Lelait M., "H₂/CO₂ metabolism in acetogenic bacteria isolated from the human colon," *Anaerobe*, **3**, 307~315(1997).
28. Morvan, B., Rieu-Lesme, F., Fonty, G. and Gouet, P. "In vitro interactions between rumen H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria," *Anaerobe*, **2**, 175~180(1996).
29. Lee S. M., Park, J. Y. and An, J. S., "The Study on the Alcohol Production from Organic Wastes by Anaerobic Digestion(I)," *J. of KSWM*, **3**(2), 49~64(1986).