Trans. of the Korean Hydrogen and New Energy Society(2015. 6), Vol. 26, No. 3, pp. 247~259
DOI: http://dx.doi.org/10.7316/KHNES.2015.26.3.247
ISSN 1738-7264
eISSN 2288-7407

혐기성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정의 유기성폐자원 처리 및 바이오에너지 생산

이채영[1] · 유규선[2] · 한선기[3†]
[1]수원대학교 토목공학과·하천환경기술연구소, [2]전주대학교 토목환경공학과, [3]한국방송통신대학교 환경보건학과

Two-stage Bioprocesses Combining Dark H_2 Fermentation: Organic Waste Treatment and Bioenergy Production

CHAE-YOUNG LEE[1], KYU-SEON YOO[2], SUN-KEE HAN[3†]
[1]Dept. of Civil Engineering·Institute of River Environment Technology, The University of Suwon, 17 Wauan-gil, Bongdam-eup, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-743, Korea
[2]Dept. of Civil & Environmental Engineering, Jeonju University, 303 Cheonjam-ro, Wansan-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do 560-759, Korea
[3]Dept. of Environmental Health, Korea National Open University, 169 Dongsung-dong, Jongno-gu, Seoul 110-791, Korea

Abstract >> This study was performed to investigate the application of dark H_2 fermentation to two-stage bioprocesses for organic waste treatment and energy production. We reviewed information about the two-stage bioprocesses combining dark H_2 fermentation with CH_4 fermentation, photo H_2 fermentation, microbial fuel cells (MFCs), or microbial electrolysis cells (MECs) by using academic information databases and university libraries. Dark fermentative bacteria use organic waste as the sole source of electrons and energy, converting it into H_2. The reactions related to dark H_2 fermentation are rapid and do not require sunlight, making them useful for treating organic waste. However, the degradation is not complete and organic acids remain. Thus, dark H_2 fermentation should be combined with a post-treatment process, such as CH_4 fermentation, photo H_2 fermentation, MFCs, or MECs. So far, dark H_2 fermentation followed by CH_4 fermentation is a promising two-stage bioprocess among them. However, if the problems of manufacturing expenses, operational cost, scale-up, and practical applications will be solved, the two-stage bioprocesses combining dark H_2 fermentation with photo H_2 fermentation, MFCs, or MECs have also infinite potential in organic waste treatment and energy production. This paper demonstrated the feasibility of two-stage bioprocesses combining dark H_2 fermentation as a novel system for organic waste treatment and energy production.

Key words : Two-stage bioprocess(생물학적 2단공정), Dark H_2 fermentation(혐기성 수소발효), CH_4 fermentation (메탄발효), Photo H_2 fermentation(광합성 수소발효), Microbial fuel cells(미생물 연료전지), Microbial electrolysis cells(미생물 전해전지)

†Corresponding author : skhan003@knou.ac.kr
Received : 2015.5.13 in revised form : 2015.6.5 Accepted : 2015.6.30
Copyright ⓒ 2015 KHNES

1. 서 론

현재 전지구적 에너지 수요의 대부분은 석유, 석탄, 천연가스와 같은 화석연료를 이용하여 충당하고 있다. 그러나 화석연료의 부존량은 충분하지 않으며 또한 화석연료의 사용으로부터 많은 종류의 오염물질이 발생하고 있다[1,2].

이로 인해 수소는 미래의 청정에너지원으로서 전 세계적으로 큰 각광을 받고 있다. 수소는 연소 시 순수한 물만을 배출하기 때문에, 대기오염 뿐만 아니라 지구온난화 문제를 해결할 수 있다. 그리고 수소의 에너지 함량(122 kJ/g H_2)은 메탄보다 약 2.1배 그리고 휘발유보다 약 2.8배 정도 더 큰 장점이 있다[1-3].

수소를 생산하는 방법에는 다양한 물리화학적 및 생물학적 방법이 있다. 물리화학적 방법에는 광화학적, 전기화학적, 광전기화학적, 열화학적 수소생산 등이 있으나, 화석연료의 연소로부터 얻어지는 전기를 이용해야 하는 단점이 있다[4,5].

따라서 최근에는 지속가능하며 친환경적인 생물학적 방법이 각광을 받고 있다. 생물학적 방법에는 녹조류(green algae)를 이용한 직접 물분해(direct biophotolysis of water), 시아노박테리아(cyanobacteria)를 이용한 간접 물분해(indirect biophotolysis of water), 자색비황세균(purple non-sulfur bacteria)을 이용하는 광합성 수소발효(photo H_2 fermentation), 그리고 혐기성 발효균(dark fermentative bacteria)을 이용하는 혐기성 수소발효(dark H_2 fermentation)가 있다[6-8].

이 중에서도 혐기성 수소발효는 다른 생물학적 방법에 비해 반응속도가 빠르고, 기술적으로 단순하며, 빛이 필요하지 않고, 또한 유기성폐자원으로부터 수소를 생산할 수 있는 장점이 있어 약 15~20년 전부터 지금까지 수많은 연구가 이루어지고 있다[9-13].

하지만 혐기성 수소발효는 수소수율이 높지 않을 뿐 아니라 수소와 함께 발생하는 유기산의 후처리가 필요한 단점이 있어 실제적인 적용을 위해서는 생물학적 2단공정의 구성이 반드시 필요하다[14,15]. 그러므로 본 리뷰논문에서는 혐기성 수소발효와 결합할 수 있는 다양한 후단 공정들을 알아보고, 이를 바탕으로 향후 적절한 생물학적 2단공정의 대안을 제시하고자 한다.

2. 혐기성 수소발효 (dark H_2 fermentation)

Fig. 1에서 보는 바와 같이 복합유기물질의 혐기성 분해는 가수분해(hydrolysis), 산생성(acidogenesis), 초산생성(acetogenesis) 및 메탄생성(methanogenesis)의 단계를 거쳐서 이루어진다. 이 때, 유기물의 COD는 약 72%가 초산을 통하여 그리고 약 28%가 수소를 통하여 메탄으로 전환이 되는데, 여기에서 메탄으로 전환되는 마지막 단계를 억제한다면 메탄 대신 수소를 얻을 수 있다는 것이 혐기성 수소발효의 기본 원리이다[15].

따라서 수소를 이용하여 메탄을 생성하는 미생물, 즉 수소소비 메탄생성균(H_2-consuming methanogens)의 활성을 저해시켜서 수소를 얻고자 하는 다양한 방법이 시도되었다. 공기(산소)를 공급하는 방법, 산 또는 염기로 전처리하는 방법, 동력학적으로 조절하는 방법, 아세틸렌이나 2-bromoethanesulfonate (BES)와 같은 저해물질을 주입하는 방법 등이 사용되었는데, 현재 가장 많이 이용하고 있는 방법은 열처리

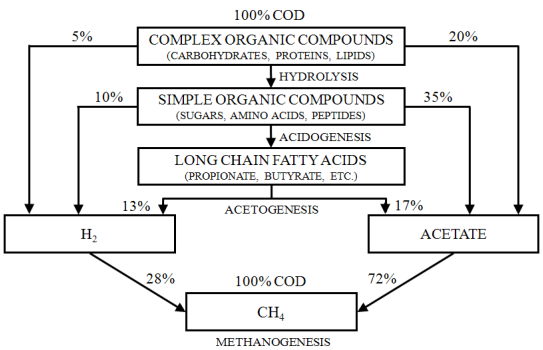

Fig. 1 Anaerobic degradation of complex organic compounds to methane[16]

(heat-shock treatment)방법이다[15,17,18]. 이것은 미생물 배양액에 높은 열을 가해주면 대부분의 미생물은 사멸되지만, 수소생성 능력이 있는 포자형성균(spore-forming bacteria)은 포자를 형성하여 살아남을 수 있다는 원리에 근거한 것이다. 약 90~100°C에서 10분 이상의 가열을 통해 얻어진 포자는 이 후 적절한 조건을 만나게 되면 다시 활발하게 성장한다[19,20].

Clostridium sp.는 포자형성 및 수소생성의 능력을 다 같이 가지고 있는 대표적인 미생물로서 가장 널리 연구되고 있다. 이들은 절대 혐기성균으로 화학종속영양 미생물에 해당하는데, 최적 pH는 약 5.5이며 최적 온도는 약 35°C이다[10]. 많은 종류의 *Clostridium* sp. 중에 약 22종이 유기산과 더불어 수소를 발생하는데, 그 중에서도 *Clostridium butyricum*이 가장 널리 알려져 있다. 이러한 *Clostridium* sp.는 탄수화물을 분해하는 saccharolytic acidogen에 해당되기 때문에, 탄수화물을 많이 포함한 유기성 액상폐자원이 수소발효에 많이 이용되고 있다[21].

이론적으로 1 mol의 포도당(glucose)이 완전히 산화되면 식 (1)과 같이 12 mol의 수소가 생성된다. 그러나 이러한 반응은 혐기성 수소발효에서 열역학적으로 발생하지 않는다[22]. 혐기성 수소발효에서는 식 (2)와 같이 1 mol의 포도당에서 이론적으로 2 mol의 초산(acetate)과 함께 4 mol의 수소가 발생된다. 이 경우 수소수율(H_2 yield)은 4 mol H_2/mol glucose이며 수소전환율(H_2 conversion efficiency)은 33%(=4/12)에 지나지 않는다[10].

$$Glucose + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 12H_2 \quad (1)$$

$$Glucose + 2H_2O \rightarrow 2Acetate + 2CO_2 + 4H_2 \quad (2)$$

그러나 충격부하(shock loading)가 있거나 또는 과다한 수소발생으로 인해 pH, 수소분압(H_2 partial pressure), 산화환원전위(oxidation-reduction potential) 등이 변화되면, 식 (3)~(4)와 같이 초산 대신에 뷰틸산(butyrate)이나 프로피온산(propionate)을 생성하는 것으로 대사경로를 바꾸어 안정성을 향상시킨다. 만약에 1 mol의 포도당에서 1 mol의 뷰틸산이 발생하게 되면 2 mol의 수소만이 발생하게 되어 수소전환율은 16.7% (=2/12)로 감소한다. 그리고 1 mol의 포도당에서 2 mol의 프로피온산이 발생하게 되면 수소의 생산 대신 오히려 2 mol의 수소를 소비하게 된다[23].

$$Glucose \rightarrow Butyrate + 2CO_2 + 2H_2 \quad (3)$$

$$Glucose + 2H_2 \rightarrow 2Propionate + 2H_2O \quad (4)$$

혐기성 수소발효는 상대적으로 반응조가 작고 간단하며, 빠른 반응으로 높은 수소생산 속도를 나타내고, 태양광을 필요로 하지 않으며, 유기성폐자원을 처리함과 동시에 청정에너지를 생산할 수 있는 장점이 있다. 하지만 식 (2)~(3)에서 보는 바와 같이 수소가 생성되는 경우에도, 수소수율이 높지 않으며 또한 수소와 함께 발생하는 유기산의 추가적 처리가 필요한 단점이 있다[15]. 따라서 혐기성 수소발효를 적용하는 경우, 그 후단에 별도의 반응조를 연결하여 유기산을 처리함과 동시에 여분의 에너지(메탄, 수소, 전기 등)를 생산하는 것이 바람직하다.

3. 혐기성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정

3.1 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 생물학적 2단공정(dark H_2 fermentation + CH_4 fermentation)

메탄발효(혐기성소화)는 혐기성 수소발효의 부산물인 유기산을 처리함과 동시에 여분의 메탄을 생산할 수 있는 공정이다. 대표적인 메탄발효균은 *Methanosaeta*, *Methanosarcina* 등으로서 유기산을 이용하여 메탄을

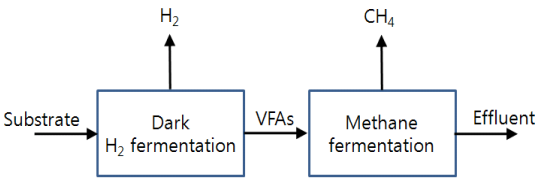

Fig. 2 Schematic diagram of two-stage bioprocess (dark H_2 fermentation + CH_4 fermentation)

생산할 수 있다. 이들은 절대 혐기성균으로 화학종속영양 미생물에 해당하는데, 최적 pH는 약 7.0이며 최적 온도는 약 35°C이다[24]. 오래 전부터 하수처리장에서 잉여슬러지를 처리하기 위해 사용된 메탄발효는 안정적인 거동을 보여줄 뿐만 아니라, 그 동안 축적된 많은 경험을 바탕으로 이미 상용화가 이루어진 공정이다. Fig. 2는 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 생물학적 2단공정을 보여주고 있다[25,26].

혐기성 수소발효의 기본 반응식은 앞서 살펴본 식 (2)와 같은데, 식 (2)의 부산물인 2 mol의 초산을 메탄발효의 기질로 이용하면 다음의 식 (5)와 같이 여분의 메탄을 더 얻을 수 있다.

$$2Acetate \rightarrow 2CO_2 + 2CH_4 \quad (5)$$

그리고 식 (2)와 식 (5)를 합치면 식 (6)과 같은 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 생물학적 2단공정의 식을 얻을 수 있다. 즉, 1 mol의 포도당에서 이론적으로 4 mol의 수소와 더불어 2 mol의 메탄이 생성된다[26].

$$Glucose + 2H_2O \rightarrow 4H_2 + 2CH_4 + 4CO_2 \quad (6)$$

포도당, 수소 및 메탄의 저위발열량을 각각 2,888, 242, 801 kJ/mol로 가정하여 에너지 전환율을 계산하면 생물학적 2단공정의 값은 약 89% (=(4×242+2×801)/2,888)이며, 이것은 메탄발효 공정(Glucose → $3CH_4$ + $3CO_2$)의 값인 약 83% (=(3×801)/2,888)보다 더 높다. 따라서 이론적인 측면에서 생물학적 2단공정이 메탄발효 공정보다 약 6% 정도 더 효율적임을 알 수 있다[27].

Table 1은 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 생물학적 2단공정의 결과들을 보여주고 있다. 음식물쓰레기를 이용한 실험에서는 수소수율이 약 0.07~0.31 m^3 H_2/kg VS로 나타났으며 메탄수율이 약 0.21~0.55 m^3 CH_4/kg VS로 나타났다. 그리고 도시고형폐기물 중 유기성분(organic fraction of municipal solid waste, OFMSW)을 이용한 실험에서는 수소수율이 약 0.21 m^3 H_2/kg VS, 메탄수율이 약 0.46 m^3 CH_4/kg VS로 나타나 음식물쓰레기를 이용한 결과와 유사하였다.

한편, 음폐수를 처리하는 파일롯 플랜트 실험에서는 생산단가에서 별 차이가 없었음에도 불구하고 생

Table 1 Hydrogen and methane production by a two-stage bioprocess (dark H_2 fermentation + CH_4 fermentation)

Substrate	OLR[a)] (H_2 reactor)	H_2 yield (m^3 H_2/kg VS)	OLR[a)] (CH_4 reactor)	CH_4 yield (m^3 CH_4/kg VS)	Ref.
Food waste	11.9 kg VS/m^3d (mesophilic)	0.31	5.4 kg COD/m^3d (mesophilic)	0.21	10
Food waste	22.7 kg VS/m^3d (mesophilic)	0.07	4.6 kg VS/m^3d (mesophilic)	0.55	28
Food waste	39 kg COD/m^3d (thermophilic)	0.11	4.2 kg COD/m^3d (thermophilic)	0.45	29
OFMSW[b)]	38.4 kg VS/m^3d (thermophilic)	0.21	6.6 kg VS/m^3 (mesophilic)	0.46	30

[a)]OLR: organic loading rate
[b)]OFMSW: organic fraction of municipal solid waste

물학적 2단공정이 메탄발효에 비해 약 25%의 전기를 더 많이 생산하여 이론적인 값보다 훨씬 더 효율적임을 보여주었다[31]. 또한 OFMSW를 이용하여 전기 및 열을 동시에 생산하는 co-generation 연구에서는 생물학적 2단공정이 메탄발효에 비해서 약 26%의 전기와 약 23%의 열을 더 많이 생산하였다[32].

3.2 혐기성 수소발효와 광합성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정(dark H_2 fermentation + photo H_2 fermentation)

광합성 수소발효는 혐기성 수소발효의 부산물인 유기산을 처리함과 동시에 추가적으로 여분의 수소를 생산할 수 있는 공정이다. 대표적 광합성 수소발효균은 *Rhodobacter, Rhodopseudomonas*와 같은 자색비황세균(purple non-sulfur bacteria)으로서 유기산을 이용하여 수소를 생성할 수 있다. 이들은 일반적으로 혐기성 조건에서 광종속영양적으로 성장하는 것을 선호하는데, 최적 pH는 약 7.0이며 최적 온도는 약 35°C이다[21]. Fig. 3은 혐기성 수소발효와 광합성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정을 보여주고 있다[22,26].

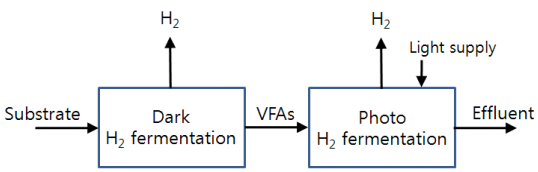

Fig. 3 Schematic diagram of two-stage bioprocess (dark H_2 fermentation + photo H_2 fermentation)

혐기성 수소발효의 기본 반응식은 앞서 살펴본 식 (2)와 같은데, 식 (2)의 부산물인 2 mol의 초산을 광합성 수소발효의 기질로 이용하면 다음의 식 (7)과 같이 여분의 수소를 더 얻을 수 있다[21].

$$2Acetate + 4H_2O \xrightarrow{Light} 4CO_2 + 8H_2 \quad (7)$$

그리고 식 (2)와 식 (7)을 합치면 식 (8)과 같은 혐기성 수소발효와 광합성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정의 식을 얻을 수 있다. 1 mol의 포도당에서 12 mol의 수소를 얻을 수 있기 때문에, 이론적으로 100%(=(4+8)/12)의 수소전환율을 얻을 수 있다[21].

$$Glucose + 6H_2O \xrightarrow{Light} 6CO_2 + 12H_2 \quad (8)$$

그러나 실제의 경우, 혐기성 수소발효에서 초산뿐만 아니라 다양한 유기산이 생성되고 또한 미생물의 성장과 유지에 기질이 사용되기 때문에 생성되는 수소의 몰수는 감소한다.

Table 2는 혐기성 수소발효와 광합성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정의 결과들을 보여주고 있다. 다양한 기질에 대하여 혐기성 수소발효의 수소수율은 약 0.7~2.5 mol H_2/mol hexose로 나타났으며 광합성 수소발효의 수소수율은 약 1.5~4.9 mol H_2/mol hexose로 나타났다. 그리고 전체 생물학적 2단공정에 대한 총 수소수율은 약 3.3~6.0 mol H_2/mol hexose로 나타나 수소전환율은 약 27.5~50% (=3.3/12~6/12)에

Table 2 Hydrogen and methane production by a two-stage bioprocess (dark H_2 fermentation + photo H_2 fermentation)

Substrate	Dark H_2 fermentation	H_2 yield (mol H_2/mol hexose)	Photo H_2 fermentation	H_2 yield (mol H_2/mol hexose)	Ref.
Sucrose	Mixed culture	1.8	*Rhodobacter sphaeroides* SH2C	1.5	34
Food waste	Mixed culture	1.8	*Rhodobacter sphaeroides* ZX-5	3.6	35
Potato starch	Mixed culture	0.7	*Rhodobacter capsulatus* B10	4.9	36
Cassava starch	Mixed culture (mainly *Clostridium* sp.)	2.5	Mixed culture (mainly *Rhodobacter palustris*)	3.5	37

해당하였다. 하지만 상업화가 이루어지기 위해서는 포도당 1 mol로부터 적어도 8 mol의 수소가 생성되어야 한다. 즉, 수소전환율이 약 67% (=8/12) 이상을 유지해야 한다[33].

3.3 혐기성 수소발효와 미생물 연료전지를 결합한 생물학적 2단공정(dark H_2 fermentation + microbial fuel cell (MFC))

미생물 연료전지(microbial fuel cell, MFC)는 혐기성 수소발효의 부산물인 유기산을 처리함과 동시에 추가적으로 전기를 생산할 수 있는 공정이다. 미생물 연료전지는 전기화학적 활성을 지닌 혐기성 미생물의 촉매작용을 이용하여 유기물에 함유된 화학에너지를 직접 전기에너지로 변환시키는 것이다[38]. 일반적인 미생물 연료전지의 형태는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 이실(double-chamber) 미생물 연료전지의 형태이다.

산화전극(anode)이 포함된 반응조, 환원전극(cathode)이 포함된 반응조, 분리막(proton(cation) exchange membrane) 및 양쪽의 전극을 도선으로 연결한 외부 전기회로로 구성된다. 단, 단실(single-chamber) 미생물 연료전지에서는 분리막이 제외된다. 미생물 연료전지에서는 산화전극 표면에 생물막(biofilm) 형태로 존재하는 *Shewanella, Geobacter*와 같은 전자방출균(exoelectrogen)에 의해서 기질의 분해가 이루어진다. 이들은 절대

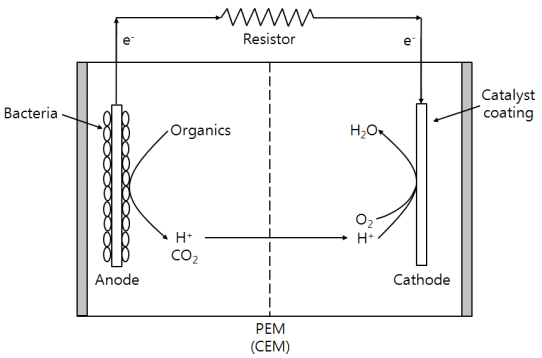

Fig. 4 Schematic diagram of microbial fuel cell (MFC)[39]

혐기성균으로 화학종속영양 미생물에 해당하는데, 최적 pH는 중성 영역이며 최적 온도는 중온 영역이다[40]. 기질의 분해로부터 전자(electron)와 양성자(proton), 이산화탄소(CO_2)가 생성되는데, 이 때 전자는 전자방출균의 다양한 전자전달 메커니즘에 의해서 산화전극으로 전달된 후, 외부 저항(resistor)이 유발한 전위차에 의해서 도선을 통해 환원전극으로 이동한다. 그리고 양성자는 용액과 분리막을 통해 환원전극으로 이동한다. 최종적으로 이러한 전자와 양성자는 외부에서 환원전극으로 공급된 산소(O_2)와 함께 반응하여 물(H_2O)을 생성한다[41]. Fig. 5는 혐기성 수소발효와 미생물 연료전지를 결합한 생물학적 2단공정을 보여주고 있다[14,26].

혐기성 수소발효의 기본 반응식은 앞서 살펴본 식 (2)와 같은데, 식 (2)의 부산물인 2 mol의 초산을 미생물 연료전지의 기질로 이용하면 다음의 식 (9)~(10)과 같은 산화전극과 환원전극의 반응에 의해서 전력을 생산할 수 있다[42].

Anode:

$$2Acetate + 4H_2O \rightarrow 4CO_2 + 16H^+ + 16e^- \quad (9)$$

Cathode:

$$4O_2 + 16H^+ + 16e^- \rightarrow 8H_2O \quad (10)$$

하지만 실제 운전의 경우에는 옴 저항(ohmic resistance)이 존재하고 전극에서의 전압손실(overpotential)이 발생하기 때문에, 초산으로부터 회수되는 전력은

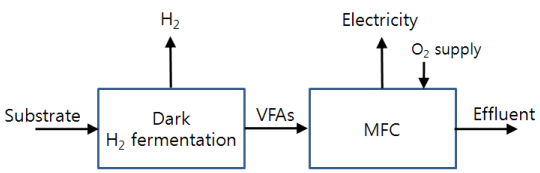

Fig. 5 Schematic diagram of two-stage bioprocess (dark H_2 fermentation + microbial fuel cell (MFC))

Table 3 Electricity production from acetate by microbial fuel cell (MFC)

MFC type	Anode material	Separator material	Cathode material	Max. Power density (W/m^3)	Ref.
SCMFC[a)]	Carbon cloth	Membrane-free	Carbon cloth/Platinum	16.0	44
Tubular SCMFC[a)]	Graphite brush	Membrane-free	AEM[b)] /CoTMPP[c)]	21.2	45
4 Stacked MFC	Titanium plates	CEM[d)]	Titanium plates /MMO[e)]	144.0	46
Double CEA MFC[f)]	Carbon cloth	None-woven cloth	Carbon cloth/Platinum	2,080	47

[a)]Single-chamber microbial fuel cell
[b)]Anion exchange membrane
[c)]Cobalt tetramethoxyphenylporphyrin
[d)]Cation exchange membrane
[e)]Mixed metal oxide
[f)]Cloth electrode assembly microbial fuel cell

그 값이 크지 않다. 그리고 시스템의 재료 및 구조에 따라 그리고 운전조건(pH, HRT, 기질농도, 버퍼 등)에 따라 그 값은 큰 편차를 갖는다[43].

Table 3은 혐기성 수소발효의 부산물인 초산으로부터 전력을 생산한 미생물 연료전지의 결과들을 보여주고 있다. Liu 등[44]은 탄소천(산화전극)과 백금이 코팅된 탄소천(환원전극)을 장착한 단실 미생물 연료전지를 이용하여 초산으로부터 약 16.0 W/m^3의 전력밀도를 나타내었다. Zuo 등[45]은 흑연브러쉬(산화전극)와 CoTMPP (cobalt tetramethoxyphenylporphyrin)가 코팅된 음이온교환막(환원전극)을 장착한 관(튜브)으로 된 단실 미생물 연료전지를 이용하여 초산으로부터 약 21.2 W/m^3의 전력밀도를 나타내었다. 또한 Dekker 등[46]은 티타늄판(산화전극)과 MMO (mixed metal oxide)가 코팅된 티타늄판(환원전극) 그리고 CEM(분리기)을 장착한 4개의 스택 미생물 연료전지를 이용하여 초산으로부터 약 144.0 W/m^3의 전력밀도를 나타내었다. 그리고 그 이후에 Fan 등[47]은 탄소천(산화전극)과 백금이 코팅된 탄소천(환원전극) 그리고 none-woven cloth(분리기)를 장착한 이중(double) CEA (cloth electrode assembly) 미생물 연료전지를 이용하여 초산으로부터 약 2,080 W/m^3의 전력밀도를 나타내었다.

지금까지 알려진 최대(maximum) 전력밀도(power density) 중 가장 높은 값은 이중 CEA 미생물 연료전지를 이용해서 얻은 2,080 W/m^3이며, 이상적인 운전이 이루어질 경우에 2.87 kW/m^3까지도 가능한 것으로 보고되었다[47]. 이것은 기존 메탄발효조를 이용해서 얻을 수 있는 최대 전력밀도(1.1 kW/m^3)보다 각각 1.9배 및 2.6배 높은 값이다[48]. 그리고 이중 CEA 미생물 연료전지의 전류밀도(current density)는 16.4 A/m^2 (10.9 kA/m^3)로서 93.5 kg/m^3d의 COD 제거율로 환산될 수 있는데, 이는 혐기성소화조의 값(25 kg/m^3d)보다 약 3.7배 높은 값으로 유기물 제거효율도 매우 높음을 보여준다[47].

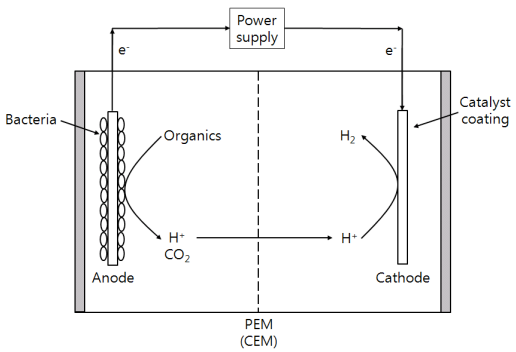

Fig. 6 Schematic diagram of microbial electrolysis cell (MEC)[39]

3.4 혐기성 수소발효와 미생물 전해전지를 결합한 생물학적 2단공정(dark H_2 fermentation + microbial electrolysis cell (MEC))

미생물 전해전지(microbial electrolysis cell, MEC)는 혐기성 수소발효의 부산물인 유기산을 처리함과 동시에 추가적으로 수소를 생산할 수 있는 공정이다. Fig. 6과 같이 미생물 연료전지의 구조 및 운전방법을 간단하게 변형함으로써 전기 대신 높은 수율의 수소를 얻을 수 있다[39].

즉, 환원전극에 대한 산소공급을 중단하고 전기회로에 약간의 전압을 공급하면 환원전극으로부터 수소가 생산된다. 미생물 전해전지에서는 환원전극에 대한 산소공급이 없기 때문에, 산화전극으로 산소가 누출되지 않아 효율을 높게 유지할 수 있다. Fig. 7은 혐기성 수소발효와 미생물 전해전지를 결합한 생물학적 2단공정을 보여주고 있다[26,49].

혐기성 수소발효의 기본 반응식은 앞서 살펴본 식 (2)와 같은데, 식 (2)의 부산물인 2 mol의 초산을 미생물 전해전지의 기질로 이용하면 다음의 식 (11)~ (12)와 같은 산화전극과 환원전극의 반응에 의해서 전력을 생산할 수 있다[50]. 이 때 환원전극에 이론적으로 약 0.11 V의 외부전압을 공급하면 되는데, 실제적으로는 옴 저항과 전극에서의 전압손실로 인해 0.11 V 보다 좀 더 큰 전압의 공급이 필요하다[39].

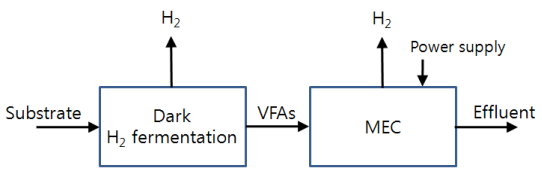

Fig. 7 Schematic diagram of two-stage bioprocess (dark H_2 fermentation + microbial electrolysis cell (MEC))

Anode:

$$2Acetate + 4H_2O \rightarrow 4CO_2 + 16H^+ + 16e^- \quad (11)$$

Cathode:

$$16H^+ + 16e^- \rightarrow 8H_2 \quad (12)$$

따라서 식 (2)에서 얻은 4 mol의 수소와 식 (11)에서 얻은 8 mol의 수소를 합치면 1 mol의 포도당으로부터 총 12 mol의 수소를 얻을 수 있기 때문에, 이론적으로 100% (=(4+8)/12))의 수소전환율을 얻을 수 있다.

Table 4는 혐기성 수소발효의 부산물인 2 mol의 초산으로부터 수소를 생산하는 미생물 전해전지의 결과들을 보여주고 있다. Rozendal 등[51]은 흑연펠트(산화전극)와 백금이 코팅된 티타늄메쉬(환원전극) 그리고 양이온교환막(분리기)을 장착한 미생물 전해전지에 0.5 V를 공급하여 초산으로부터 4.2 mol H_2/2 mol acetate의 수소를 생산하였다. Hu 등[52]은 탄소천(산화전극)과 백금이 코팅된 탄소천(환원전극)을 장착한 미생물 전해전지에 0.6 V를 공급하여 초산으로부터 5.0 mol H_2/2 mol acetate의 수소를 생산하였다.

Table 4 Hydrogen production from acetate by microbial electrolysis cell (MEC)

Applied Voltage (V)	Anode material	Separator material	Cathode material	H_2 yield (mol H_2/2 mol acetate)	Ref.
0.5	Graphite felt	CEM[a]	Titanium mesh/Platinum	4.2	51
0.6	Carbon cloth	Membrane-Free	Carbon cloth/Platinum	5.0	52
0.85	Carbon cloth	CEM[a]	Carbon cloth/Platinum	2.2	53
0.9	Graphite brush	AEM[b]	Stainless steel mesh/Platinum	6.6	54

[a]Cation exchange membrane
[b]Anion exchange membrane

Table 5 Comparison of various two-stage bioprocesses combining dark H_2 fermentation

	Advantages	Disadvantages
Dark H_2 fermentation + methane fermentation	• 25-26% increase in electricity compared to single CH_4 fermentation • Stable operation • Light-independent process	• CO_2 emissions from methane combustion
Dark H_2 fermentation + photo H_2 fermentation	• Improved H_2 yield (theoretical yield: 12 mol H_2/mol hexose)	• Light supply • Low light penetration efficiency • High cost of photo-bioreactors • Scale-up problem • Limited practical applications
Dark H_2 fermentation + microbial fuel cell (MFC)	• Direct conversion of organic matter into electricity by MFC • Efficient MFC operation at ambient and even low temperatures • Light-independent process	• O_2 supply (only in double MFC) • Increased system complexity • High cost of MFC • Scale-up problem • Limited practical applications
Dark H_2 fermentation + microbial electrolysis cell (MEC)	• Improved H_2 yield (theoretical yield: 12 mol H_2/mol hexose) • Light-independent process	• Power supply • Increased system complexity • High cost of MEC • Scale-up problem • Limited practical applications

또한 Kyaze 등[53]은 탄소천(산화전극)과 백금이 코팅된 탄소천(환원전극) 그리고 양이온교환막(분리기)을 장착한 미생물 전해전지에 0.85 V를 공급하여 초산으로부터 2.2 mol H_2/2 mol acetate의 수소를 생산하였다. 그리고 그 이후에 Nam 등[54]은 흑연브러쉬(산화전극)와 백금이 코팅된 스테인리스강메쉬(환원전극) 그리고 음이온교환막(분리기)을 장착한 미생물 전해전지에 0.9 V를 공급하여 초산으로부터 6.6 mol H_2/2 mol acetate의 수소를 생산하였다.

4. 혐기성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정의 비교

다양한 생물학적 2단공정의 특성이 Table 5에 나타나있다.

첫째, 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 생물학적 2단공정은 기존 메탄발효조와 비교했을 때 약 25~26%의 전기생산이 증가하며, 운전이 안정적이고, 빛이 필요 없어 하루종일 운전이 가능하다. 하지만 생산된 메탄가스의 연소는 CO_2의 배출로 지구온난화를 가속화시킨다.

둘째, 혐기성 수소발효와 광합성 수소발효를 결합한 생물학적 2단공정은 매우 높은 수소수율이 가능하다. 하지만 빛이 필요하며, 기질에 대한 빛의 투과율이 낮고, 광반응조의 비용이 고가이며, 규모 확대가 어렵고, 실용화 실적이 거의 없다.

셋째, 혐기성 수소발효와 미생물 연료전지를 결합한 생물학적 2단공정은 유기물을 처리하면서 직접 전기를 생산할 수 있으며, 상온이나 저온에서도 미생물 연료전지의 운전이 가능하고, 빛이 필요 없어 밤에도 운전이 가능하다. 하지만 이실 미생물연료전지의 경우는 산소의 공급이 필요하며, 시스템이 복잡하고, 미생물 연료전지의 비용이 고가이며, 규모 확대가 어렵고, 실용화 실적이 거의 없다.

그리고 넷째, 혐기성 수소발효와 미생물 전해전지를 결합한 생물학적 2단공정은 매우 높은 수소수율이 가능하고, 빛이 필요 없어 하루종일 운전이 가능하다. 하지만 전력의 공급이 필요하며, 시스템이 복잡하고, 미생물 전해전지의 비용이 고가이며, 규모 확대가 어렵고, 실용화 실적이 거의 없다.

그러므로 아직까지는 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 생물학적 2단공정이 가장 유망하다고 할 수 있다. 그러나 광합성 수소발효, 미생물 연료전지, 미생물 전해전지의 반응조 제작비용과 운전비용이 감소하고, 스케일업 기술이 향상되며, 실용화 관련자료가 축적된다면, 이들을 결합한 생물학적 2단공정들의 향후 응용가능성과 전망도 매우 크다고 할 수 있다.

5. 결 론

화석연료의 고갈과 지구온난화로 인해 수소는 미래의 청정에너지로서 각광을 받고 있다. 수소를 생산하는 방법에는 여러 가지가 있지만, 그 중에서도 혐기성 수소발효는 유기성폐자원의 처리 및 에너지의 생산이라는 일석이조의 장점으로 인해 최근 많은 연구가 이루어지고 있다. 하지만 혐기성 수소발효는 수소수율이 높지 않고 또한 수소와 함께 발생하는 유기산의 추가적 처리가 필요한 단점이 있기 때문에, 실제적인 적용을 위해서는 생물학적 2단공정의 구성이 반드시 필요하다. 생물학적 2단공정은 크게 4가지로 나눌 수 있는데, (1) 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 것, (2) 혐기성 수소발효와 광합성 수소발효를 결합한 것, (3) 혐기성 수소발효와 미생물 연료전지를 결합한 것, (4) 혐기성 수소발효와 미생물 전해전지를 결합한 것이 이에 해당한다. 아직까지는 기술적인 그리고 경제적인 측면에서 혐기성 수소발효와 메탄발효를 결합한 생물학적 2단공정이 가장 유망하다고 할 수 있다. 그러나 광합성 수소발효, 미생물 연료전지, 미생물 전해전지의 반응조 제작비용과 운전비용이 감소하고, 스케일업 기술이 향상되며, 실용화 관련자료가 축적된다면, 이들을 결합한 생물학적 2단공정들의 향후 응용가능성과 전망도 매우 크다고 할 수 있다.

References

1. A. Ghimire, L. Frunzo, F. Pirozzi, E. Trably, R. Escudie, P. N. Lens, and G. Esposito, “A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products”, Appl. Energ., Vol. 144, 2015, pp. 73-95.
2. C. Sambusiti, M. Bellucci, A. Zabaniotou, L. Beneduce, and F. Monlau, “Algae as promising feedstocks for fermentative biohydrogen production according to a biorefinery approach: A comprehensive review”, Renew. Sust. Energ. Rev., Vol. 44, 2015, pp. 20-36.
3. S. K. Khanal, “Anaerobic biotechnology for bioenergy production: Principles and Applications”, 1st ed., John Wiley & Sons, New York, USA, 2008, pp. 189-192.
4. M. Momirlan, and T. Veziroglu, “Current status of hydrogen energy”, Renew. Sust. Energ. Rev., Vol. 6, No. 1, 2002, pp. 141-179.
5. J. D. Holladay, J. Hu, D. L. King, and Y. Wang, “An overview of hydrogen production technologies”, Catal. Today, Vol. 139, No. 4, 2009, pp. 244-260.
6. J. Benemann, “Hydrogen biotechnology: progress and prospects”, Nat. Biotechnol., Vol. 14, No. 9, 1996, pp. 1101-1103.
7. R. Kothari, D. P. Singh, V. V. Tyagi, and S. K. Tyagi, “Fermentative hydrogen production-An alternative clean energy source”, Renew. Sust. Energ. Rev., Vol. 16, No. 4, 2012, pp. 2337-2346.
8. K. Y. Show, D. J. Lee, J. H. Tay, C. Y. Lin, and J. S. Chang, “Biohydrogen production: Current perspectives and the way forward”, Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 37, No. 20, 2012, pp. 15616-15631.
9. R. Nandi, and S, Sengupta, “Microbial production of hydrogen: an overview”, Crit. Rev. Microbiol., Vol. 24, No. 1, 1998, pp. 61-84.
10. S. K. Han, and H. S. Shin, “Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste”, Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 29, No. 6, 2004, pp.

569-577.
11. S. H. Kim, S. K. Han, and H. S. Shin, "Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter", Process Biochem., Vol. 41, No. 1, 2006, pp. 199-207.
12. M. F. Arooj, S. K. Han, S. H. Kim, D. H. Kim, and H. S. Shin, "Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 33, No. 22, 2008, pp. 6509-6514.
13. C. Nathao, U. Sirisukpoka, and N. Pisutpaisal, "Production of hydrogen and methane by one and two stage fermentation of food waste", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 38, No. 35, 2013, pp. 15764-15769.
14. F. R. Hawkes, I. Hussy, G. Kyazze, R. Dinsdale, and D. L. Hawkes, "Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 32, No. 2, 2007, pp. 172-184.
15. S. K. Han, D. H. Kim, and H. S. Shin, "Bio-hydrogen Production from Organic Waste", J. Korean Soc. Environ Eng., Vol 30, No. 9, 2008, pp. 1-11.
16. P. L. McCarty, and D. P. Smith, "Anaerobic wastewater treatment", Environ. Sci. Tech., Vol. 20, No. 12, 1986, pp. 1200-1206.
17. R. Sparling, D. Risbey, and H. M. Poggi-Varaldo, "Hydrogen production from inhibited anaerobic composters", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 22, No. 6, 1997, pp. 563-566.
18. J. J. Lay, Y. J. Lee, and T. Noike, "Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste", Water Res., Vol. 33, No. 11, 1999, pp. 2579-2586.
19. J. J. Lay, "Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen", Biotechnol. Bioeng., Vol. 68, No. 3, 2000, pp. 269-278.
20. S. V. Ginkel, J. J. Lay, and S. Sung, "Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration", Environ. Sci. Technol., Vol. 35, No. 24, 2001, pp. 4726-4730.
21. H. Argun, and F, Kargi, "Bio-hydrogen production by different operational modes of dark and photo-fermentation: An overview", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 36, No. 13, 2011, pp. 7443-7459.
22. T. Keskin, M. Abo-Hashesh, and P. C. Hallenbeck, "Photofermentative hydrogen production from waste", Bioresource Technol., Vol. 102, No. 18, 2011, pp. 8557-8568.
23. D. H. Kim, "Innovative two-stage fermentation system converting organic solid waste to hydrogen and methane", Ph. D. dissertation, KAIST, 2008, pp. 10-13.
24. R. E. Speece, "Anaerobic biotechnology", 1st ed., Archae press, Tennessee, USA, 1996, pp. 54-56.
25. S. K. Han, and H. S. Shin, "Performance of an Innovative Two-Stage Process Converting Food Waste to Hydrogen and Methane", J. Air Waste Manage., Vol. 54, No. 2, 2004, pp. 242-249.
26. G. D. Gioannis, A. Muntoni, A. Polettini, and R. Pomi, "A review of dark fermentative hydrogen production from biodegradable municipal waste fractions", Waste manage., Vol. 33, No. 6, 2013, pp. 1345-1361.
27. L. Dong, Y. Zhenhong, S. Yongming, and M. Longlong, "Anaerobic fermentative co-production of hydrogen and methane from an organic fraction of municipal solid waste", Energ. Source Part A, Vol. 33, No. 6, 2011, pp. 575-585.
28. X. Wang, and Y. C. Zhao, "A bench scale study of fermentative hydrogen and methane production from food waste in integrated two-stage process", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 34, No. 1, 2009, pp. 245-254.
29. D. Y. Lee, Y. Ebie, K. Q. Xu, Y. Y. Li, and Y. Inamori, "Continuous H_2 and CH_4 production from high-solid food waste in the two-stage thermophilic fermentation process with the recirculation of digester sludge", Bioresource Technol., Vol. 101, No. 1, 2010, pp. S42-S47.
30. C. F. Chu, Y. Y. Li, K. Q. Xu, Y. Ebie, Y.

Inamori, and H. N. Kong, "A pH- and temperature-phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 33, No. 18, 2008, pp. 4739-4746.

31. Y. W. Lee, and J. Chung, "Bioproduction of hydrogen from food waste by pilot-scale combined hydrogen/methane fermentation", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 35, No. 21, 2010, pp. 11746-11755.
32. G. Kvesitadze, T. Sadunishvili, T. Dudauri, N. Zakariashvili, G. Partskhaladze, V. Ugrekhelidze, G. Tsiklauri, B. Metreveli, and M. Jobava, "Two-stage anaerobic process for bio-hydrogen and bio-methane combined production from biodegradable solid wastes", Energy, Vol. 37, No. 1, 2012, pp. 94-102.
33. C. Y. Chen, K. L. Yeh, Y. C. Lo, H. M. Wang, and J. S. Chang, "Engineering strategies for the enhanced photo-H_2 production using effluents of dark fermentation processes as substrate", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 35, Nol. 24, 2010, pp. 13356-13364.
34. Y. Tao, Y. Chen, Y. Wu, Y. He, and Z. Zhou, "High hydrogen yield from a two-step process of dark- and photo-fermentation of sucrose", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 32, No. 2, 2007, pp. 200-206.
35. W. Zong, R. Yu, P. Zhang, M. Fan, and Z. Zhou, "Efficient hydrogen gas production from cassava and food waste by a two-step process of dark fermentation and photo-fermentation", Biomass Bioenerg., Vol. 33, No. 10, 2009, pp. 1458-1463.
36. T. V. Laurinavichene, B. F. Belokopytov, K. S. Laurinavichius, D. N. Tekucheva, M. Seibert, and A. A. Tsygankov, "Towards the integration of dark- and photo-fermentative waste treatment. 3. Potato as substrate for sequential dark fermentation and light-driven H_2 production", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 35, No. 16, 2010, pp. 8536-8543.
37. J. Cheng, H. Su, J. Zhou, W. Song, and K, Cen, "Hydrogen production by mixed bacteria through dark and photo fermentation", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 36, No. 1, 2011, pp. 450-457.
38. B. E. Logan, B. Hamelers, R. Rozendal, U. Schroder, J. Keller, S. Freguia, P. Aelterman, W. Verstraete, and K. Rabaey, "Microbial fuel cells: methodology and technology", Environ. Sci. Technol., Vol. 40, No. 17, 2006, pp. 5181-5192.
39. S. K. Han, "Microbial Fuel Cells: Principles and Applications to Environmental Health", J. Environ. Health Sci., Vol. 38, No. 2, 2012, pp. 83-94.
40. B. E. Logan, "Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells", Nat. Rev. Microbiol., Vol. 7, No. 5, 2009, pp. 375-381.
41. B. E. Logan, "Microbial fuel cells", 1st ed., John Wiley & Sons, New York, USA, 2008, pp. 4-6.
42. T. H. Lee, J. C. Yu, and S. J. Choi, "Microbial fuel cells suing biocathodes", J. Korean Soc. Environ. Eng., Vol. 31, No. 8, 2009, pp. 593-600.
43. V. B. Oliveira, M. Simões, L. F. Melo, and A. M. F. R. Pinto, "Overview on the developments of microbial fuel cells", Biochem. Eng. J., Vol. 73, No. 15, 2013, pp. 53-64.
44. H. Liu, S. Cheng, L. Huang, and B. E. Logan, "Scale-up of membrane-free single chamber microbial fuel cells", J. Power Sources, Vol. 179, No. 1, 2008, pp. 274-279.
45. Y. Zuo, S. Cheng, and B. Logan, "Ion exchange membrane cathodes for scalable microbial fuel cells", Environ. Sci. Technol., Vol. 42, No. 18, 2008, pp. 6967-6972.
46. A. Dekker, A. T. Heijne, M. Saakes, H. V. M. Hamelers, and C. J. N. Buisman, "Analysis and improvement of a scaled-up and stacked microbial fuel cell", Environ. Sci. Technol., Vol. 43, No. 23, 2009, pp. 9038-9042.
47. Y. Fan, S. K. Han, and H. Liu, "Improved performance of CEA microbial fuel cells with increased reactor size", Energy Environ. Sci., Vol. 5, No. 8, 2012, pp. 8273-8280.
48. A. T. Heijne, F. Liu, L. S. V. Rijnsoever, M. Saakes, H. V. M. Hamelers, and C. J. N. Buisman, "Performance of a scaled-up Microbial Fuel Cell

with iron reduction as the cathode reaction", J. Power Sources, Vol. 196, No. 18, 2011, pp. 7572-7577.

49. N. Ren, A. Wang, G. Cao, J. Xu, and L. Gao, "Bioconversion of lignocellulosic biomass to hydrogen: potential and challenges", Biotechnol. Adv., Vol. 27, No. 6, 2009, pp. 1051-1060.
50. O. Bičáková, and P. Straka, "Production of hydrogen from renewable resources and its effectiveness", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 37, No. 16, 2012, pp. 11563-11578.
51. R. A. Rozendal, H. V. Hamelers, and C. J. Buisman, "Effects of membrane cation transport on pH and microbial fuel cell performance", Environ. Sci. Technol., Vol. 40, No. 17, 2006, pp. 5206-5211.
52. H. Hu, Y. Fan, and H. Liu, "Hydrogen production using single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells", Water Res., Vol. 42, No. 15, 2008, pp. 4172-4178.
53. G. Kyazze, A. Popov, R. Dinsdale, S. Esteves, F. Hawkes, G. Premier, and A. Guwy, "Influence of catholyte pH and temperature on hydrogen production from acetate using a two chamber concentric tubular microbial electrolysis cell", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 35, No. 15, 2010, pp. 7716-7722.
54. J. Y. Nam, and B. E. Logan, "Optimization of catholyte concentration and anolyte pHs in two chamber microbial electrolysis cells", Int. J. Hydrogen Energ., Vol. 37, No. 24, 2012, pp. 18622-18628.