(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0125877
(43) 공개일자 2015년11월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 3/00 (2006.01) *C12N 1/20* (2006.01)
C12R 1/145 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0052927
(22) 출원일자 2014년04월30일
심사청구일자 2014년04월30일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
조경숙
서울 서초구 동광로1길 87
김태관
서울 강북구 인수봉로72길 4, 101동 807호 (수유동, 극동아파트)
윤정희
서울 마포구 독막로42길 2, 101호 1101호 (염리동, 마포자이)
(74) 대리인
손민

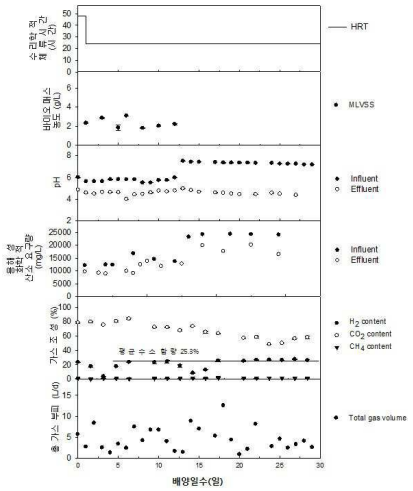
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **탄소원의 간헐적 공급법을 이용한 수소의 생산방법**

(57) 요 약

본 발명은 폐수처리장치의 혐기조에 탄소원을 간헐적으로 공급함으로써 메탄의 생산을 억제하여 수소를 보다 효율적으로 생산하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 방법을 사용하면, 혐기조에서 메탄의 생산을 억제하면서 수소를 생산할 수 있으므로, 보다 효과적인 수소의 생산에 널리 활용될 수 있을 것이다.

대 표 도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711000720

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기초연구사업(학술진흥)-중견연구자지원사업-핵심연구(개인)

연구과제명 On-site 에너지 생산 및 폐기물 처리 시스템의 metatranscriptome 해석을 통한 공정 유연성 향상

기 여 율 1/1

주관기관 이화여자대학교 산학협력단

연구기간 2012.09.01 ~ 2015.08.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

혐기성 수소 생성 미생물을 포함하는 시료를 연속식으로 배양하면서, 탄소원을 간헐적으로 공급하는 단계를 포함하는 수소의 생산방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 미생물은 클로스트리디움 속 미생물(*Clostridium* sp.), 엔테로박터 속 미생물(*Enterobacter* sp.) 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 미생물인 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 시료는 혐기성 수소 생성 미생물과 혐기성 메탄 생성 미생물이 포함된 하수, 오수 또는 폐수인 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 배양은 폐수처리장치에 포함되어 폐수가 유입 및 유출되는 혐기조에서 수행되는 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 혐기조는 완전혼합 반응조(CSTR, continuous stirred tank reactor)인 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 탄소원은 당, 지방, 알코올, 유기산 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 탄소원은 글루코스인 것인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 탄소원의 간헐적인 공급은 1일기준 혐기조용액 1ℓ 당 2 내지 40g의 탄소원을 1 내지 2일당 1회 공급하여 수행되는 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 탄소원의 간헐적인 공급은 1일기준 혐기조용액 1ℓ 당 10g의 탄소원을 1일 1회 공급하여 수행되는 것인 방법.

청구항 10

제3항에 있어서,

상기 시료에 포함된 메탄 생성 미생물에 의하여 생성되는 메탄의 생성을 억제하는 것인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 탄소원의 간헐적 공급법을 이용한 수소의 생산방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 본 발명은 폐수처리장치의 혐기조에 탄소원을 간헐적으로 공급함으로써 메탄의 생산을 억제하여 수소를 보다 효율적으로 생산하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근, 기후변화에 의한 화석연료 사용 감소 및 신재생에너지 개발연구에 대한 투자가 증가하고 있다. 또한, 유기성폐기물을 친환경적으로 처리하면서 동시에 바이오가스를 생산하는 연구도 활발히 이루어지고 있다. 특히, 바이오가스 중 수소는 다양한 화학반응의 원료로서 사용될 뿐만 아니라 단위 질량당 에너지 함유율이 높고 연소시 이산화탄소를 배출하지 않아 신에너지로 각광을 받고 있다.

[0003] 지금까지, 수소는 천연가스 또는 나프타를 개질하거나, 물을 전기분해 하는 등의 화학적인 방법을 통해 생산되어 왔는데, 천연가스 또는 나프타를 개질할 경우, 발생되는 부산물이 환경오염을 초래할 수 있고, 생산비용이 과다하며, 전기분해를 사용할 경우에는 소요되는 전기량이 생성된 수소량에 비하여 과다하기 때문에, 경제성이 낮다는 문제가 있어, 최근에는 미생물을 이용하여 수소를 생산하는 방법이 주목받고 있다. 대체로 오수 또는 폐수를 정화하는 과정에서 혐기발효를 통해 미생물로부터 수소를 생산할 수 있는데, 이처럼 미생물을 이용한 방법은 오염물질의 처리와 수소의 생산을 동시에 수행할 수 있다는 점에서 환경친화적이고 경제성이 높은 것으로 알려져 있다.

[0004] 한편, 수소를 생산하는 미생물은 외부로부터 유입된 영양분을 이용하여 에너지 생성 및 유기물을 합성하고, 이러한 과정의 부산물로서 수소를 발생시키는 것으로 알려져 있다. 이처럼 수소를 생산하는 것으로 알려진 미생물로는 혐기성 미생물(anaerobic bacteria), 광합성 미생물(photosynthetic bacteria), 미세조류 등이 있고, 이 중에서도 포도당 등과 같은 유기물을 기질로 사용하여 수소를 생산할 수 있는 미생물로는 약 10여 종의 미생물이 알려져 있다.

[0005] 특히, 혐기성 미생물은 광합성 미생물이나 미세조류와는 달리 태양광선이 필요없고, 모든 광주기 조건에서 성장이 가능하며, 균체성장속도가 빠르며 시설의 대형화가 용이하다는 장점을 가지고 있다. 이러한 수소생산능을 갖는 혐기성 미생물로 알려진 클로스트리듐 부티리컴(*Clostridium butyricum*)은 전분 및 다양한 당에 대한 분해능을 가지며, 포자를 형성하는 중온 절대혐기성 수소생산 세균으로서 포도당과 같은 유기물로 부터 성장과 유지에 필요한 에너지를 얻을 수 있고, 공지된 대사경로에 의하여 수소, 이산화탄소 등의 가스와 수용성 유기산을 유용하게 생산하기 때문에 그 효용가치를 인정받아 연구가 활발하게 진행되고 있는 상태이다. 그러나, 연속식 폐수

처리의 특성상 혐기성 미생물에 의한 폐수에 포함된 유기물의 분해효율이 낮고 이로 인하여 수소의 생산수율도 낮은 수준을 나타내므로 이러한 수소생산성을 향상시키는 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 예를 들어, 대한민국 특허공개 제2003-0085423호에는 중온, 절대염기성 및 혐기성의 특징을 갖는 미생물의 일종인 클로스트리듐 부티리컴을 이용하여 유기성 폐기물로부터 수소를 생산하는 방법이 개시되어 있다. 그러나, 상기 방법은 미생물을 고정화시키는 담체를 사용하여야 하는데, 생산된 수소의 판매 비용보다도 사용된 담체로 인한 추가비용이 더 크기 때문에, 경제적인 관점에서 상기 기술이 사용되지 않고 있는 실정이다.

[0006] 혐기성 수소 생산 시스템에 있어 HRT(수리학적 체류시간), pH 및 기질의 종류와 농도 등 여러 가지 인자들을 고려해야 하지만, 가장 중요한 것은 수소생산 미생물 이외의 다른 바이오가스를 생산하는 미생물의 비율을 축소시키는 것이다. 혐기조에 포함된 혐기성 미생물에는 수소생산 미생물 외에도 메탄 생산 미생물이 다량으로 포함되어 있는데, 상기 메탄생산 미생물로부터 생산되는 메탄은 수소의 수율을 저하시킬 뿐만 아니라 생산된 수소의 정제를 요구하므로, 수소의 생산성이 저하되는 직접적인 원인이 되고 있다. 이같은 메탄의 생성을 억제하기 위하여는 혐기조에 존재하는 미생물에서 메탄생산 미생물을 제거하거나 또는 상기 메탄생산 미생물로부터 메탄생산을 억제하여야 한다. 그러나, 혐기조에서 메탄생산 미생물을 제거하더라도 시간이 경과하면 메탄생산 미생물이 새로이 증식하고, 메탄생산을 억제할 경우 소모되는 비용이 수소생산으로 인한 이익을 능가하기 때문에 상업적으로 사용될 수 있는 메탄 생산을 억제하는 방법의 개발이 절실히 요구되고 있으나, 아직까지는 별다른 성과가 보고되지 않고 있는 실정이다.

[0007] 이러한 배경하에서, 본 발명자들은 혐기성 미생물을 이용하여 수소를 생산할 때, 메탄생성을 억제하여 수소의 생산효율을 향상시킬 수 있는 방법을 개발하고자 예의 연구노력한 결과, 혐기성 미생물이 포함된 반응조에 별도의 탄소원을 간헐적으로 공급할 경우, 메탄의 생산성이 급격히 저하됨에 따라 수소의 생산효율이 향상됨을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 하나의 목적은 혐기성 수소 생성 미생물을 포함하는 시료를 연속식으로 배양하면서, 탄소원을 간헐적으로 공급하는 단계를 포함하는 수소의 생산방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명자들은 혐기성 미생물을 이용하여 수소를 생산할 때, 메탄생성을 억제하여 수소의 생산효율을 향상시킬 수 있는 방법을 개발하고자 다양한 연구를 수행하던 중, 낮은 pH에서는 메탄생산균의 메탄생산활성이 억제된다는 점에 착안하여, 반응조용액의 pH를 급격히 저하시키는 방법을 개발하고자 하였다. 그 결과, 연속식공정으로 폐수를 정화시키는 혐기조에서 간헐적으로 탄소원을 공급할 경우, 급격한 탄소원의 증가로 인하여 반응조의 미생물로부터 유기산이 다량생산되고, 상기 생산된 유기산에 의하여 반응조용액의 pH가 저하되어, 결과적으로는 메탄의 생산이 중지됨을 확인하였다.

[0010] 따라서, 연속식공정으로 폐수를 정화시키는 혐기조에서 간헐적으로 탄소원을 공급하면 수소생산시에 메탄의 생산을 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

[0011] 상기 목적을 달성하기 위한 일 실시양태로서, 본 발명은 혐기성 수소 생성 미생물을 포함하는 시료를 연속식으로 배양하면서, 탄소원을 간헐적으로 공급하는 단계를 포함하는 수소의 생산방법을 제공한다.

[0012] 본 발명의 용어 "혐기성 수소 생성 미생물"이란, 무산소상태에서 생육하면서 수소를 생산할 수 있는 미생물을 의미한다.

[0013] 본 발명에 있어서, 상기 혐기성 수소 생성 미생물은 폐수처리 장치의 일부 구성요소인 혐기조의 슬러지에 포함

된 수소 생성 미생물을 의미하는 것으로 해석될 수 있는데, 상기 혐기성 수소 생성 미생물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 클로스트리디움 속 미생물(*Clostridium* sp.), 엔테로박터 속 미생물(*Enterobacter* sp.) 등의 미생물이 될 수 있고, 보다 바람직하게는 클로스트리디움 부티리컴(*Clostridium butyricum*), 클로스트리디움 파스텡리아넘(*C. pasteurianum*), 클로스트리디움 아세티컴(*C. aceticum*), 클로스트리디움 클루이베리(*C. kluyveri*), 엔테로박터 에로게네스(*Enterobacter aerogenes*) 등의 미생물이 될 수 있다.

[0014] 상기 시료로는 혐기성 수소 생성 미생물 뿐만 아니라 다양한 혐기성 미생물을 포함하는 하수, 오수, 폐수 등을 사용할 수 있는데, 상기 시료에 혐기성 수소 생성 미생물과 함께 혐기성 메탄 생성 미생물이 포함될 경우에는, 상기 미생물에 의하여 시료에 포함된 유기물이 분해되면서 그의 부산물로서 다양한 바이오가스와 유기산이 생성될 수 있다. 예를 들어, 폐수처리장치의 일 구성요소로서 포함된 혐기조에 잔류하는 슬러지에는 혐기성 수소 생성 미생물, 혐기성 메탄 생성 미생물, 혐기성 이산화탄소 생성 미생물 등의 다양한 혐기성 바이오가스 생성 미생물이 포함되어 있으므로, 상기 혐기조의 슬러지를 사용하여 폐수를 정화하면, 상기 슬러지에 포함된 미생물에 의하여 상기 폐수에 포함된 유기물을 분해하면서, 그의 부산물로서 수소, 메탄, 이산화탄소 등의 다양한 바이오가스가 생성될 수 있다.

[0015] 본 발명의 용어 "혐기조"란, 혐기발효조라고도 하고, 폐수처리장치의 일 구성요소로서 무산소 상태에서 혐기성 미생물을 사용하여 폐수에 포함된 유기물을 분해하는 과정이 수행되는 폐수 저장조를 의미한다. 상기 혐기조에 유입된 폐수에 포함된 유기물은 혐기조의 슬러지에 포함된 혐기성 미생물에 의하여 분해되어 유기산과 다양한 바이오가스(수소, 메탄, 이산화탄소 등)로 전환될 수 있다.

[0016] 본 발명에 있어서, 상기 혐기조는 혐기성 미생물에 의하여 폐수에 포함된 유기물을 제거함과 동시에 상기 유기물로부터 전환된 수소를 생성할 수 있는 반응조로서 해석될 수 있는데, 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 완전혼합 반응조(CSTR, continuous stirred tank reactor)가 될 수 있다.

[0017] 본 발명자들은 혐기성 수소 생성 미생물과 혐기성 메탄 생성 미생물을 함께 포함하는 시료(예를 들어, 혐기조 저장액 등)에서 메탄의 생성을 억제하여 수소의 생성효율을 향상시키기 위하여, 상기 시료를 연속식으로 배양하면서 탄소원을 간헐적으로 공급하는 방법을 개발하였다. 구체적으로, 혐기성 수소 생성 미생물과 혐기성 메탄 생성 미생물을 함께 포함하는 시료를 연속식으로 배양하여 수소를 생산할 때, 상기 시료에 간헐적으로 탄소원을 공급하면, 이에 의하여 상기 미생물에서 생성된 다량의 유기산에 의하여 시료의 pH가 급격히 감소하고, 이에 의하여 혐기성 메탄 생성 미생물의 메탄 생성활성이 억제되므로, 결과적으로는 메탄을 생성을 억제할 수 있다.

[0018] 이처럼, 본 발명에서 제공하는, 혐기성 수소 생성 미생물을 포함하는 시료의 연속식 배양시에 탄소원을 간헐적으로 공급함으로써 상기 시료에 오염된 혐기성 메탄 생성 미생물에 의한 메탄생성을 억제하는 기술은, 본 발명자에 의하여 최초로 개발된 기술로서 지금까지 전혀 알려지지 않았다.

[0019] 본 발명의 용어 "탄소원"이란, 생체에 흡수되어 생체구성탄소로서 이용되는 탄소화합물을 의미한다.

[0020] 본 발명에 있어서, 상기 탄소원은 혐기조의 슬러지에 포함된 혐기성 미생물에 의해 대사되어 유기산을 생산할 수 있는 원료로 사용될 수 있는데, 상기 탄소원은 혐기조에 간헐적으로 공급되어 혐기성 미생물로 하여금 유기산을 대량으로 생산하게 하고, 상기 생산된 유기산은 혐기조용액의 pH를 급격하게 감소시켜서 메탄생성 미생물의 메탄생성을 억제하는 역할을 수행할 수 있다. 이때, 상기 탄소원은 혐기성 미생물에 의해 대사되어 유기산을 합성하게 할 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 글루코스, 자일로스, 수크로스, 락토스, 프락토스, 말토스, 전분, 셀룰로즈와 같은 당 및 탄수화물, 대두유, 해바라기유, 피마자유, 코코넛유 등과 같은 오일 및 지방, 팔미트산, 스테아린산, 리놀레산과 같은 지방산, 글리세롤, 에탄올과 같은 알코올, 아세트산과 같은 유기산이 될 수 있고, 이들 탄소원은 개별적으로 또는 혼합물로서 사용될 수 있다.

[0021] 상기 탄소원의 공급조건은 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 1일기준 혐기조용액 1ℓ 당 2 내지 40g의 탄소원을 공급할 수 있고, 보다 바람직하게는 1일기준 혐기조용액 1ℓ 당 10 내지 20g의 탄소원을 공급할 수

있으며, 가장 바람직하게는 1일기준 혐기조용액 1ℓ 당 10g의 탄소원을 공급할 수 있다. 또한, 상기 탄소원은 1 내지 2일당 1회 공급할 수 있다.

[0022] 본 발명의 일실시예에 의하면, 연속적 탄소원 공급법 또는 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 반응조에서 생산된 메탄의 생산량을 비교한 결과, 연속적 탄소원 공급법을 이용할 경우에는 약 7%의 메탄이 생산되었으나, 간헐적 탄소원 공급법을 이용할 경우에는 메탄이 전혀 생산되지 않음을 확인하였다(표 1). 이에, 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 수리학적 체류시간을 변화시키면서 배양한 결과, 수리학적 체류시간이 증가하면 생산되는 가스의 부피와 반응조용액 내의 유기산 함량이 급격히 증가됨을 알 수 있었다(도 1). 또한, 상기 간헐적 탄소원 공급법을 운전할 경우 탄소원 농도에 의한 영향을 확인한 결과, 모든 농도의 탄소원 조건에서 수소를 생산할 수 있었고, 10g/ℓ의 글루코스를 포함하는 시료에서 가장 높은 효율로 수소를 생산할 수 있음을 확인하였다(도 2). 끝으로, 30일 동안 간헐적 탄소원 공급법을 운영할 경우 평균 25.3%의 수소를 포함하고, 메탄은 포함되지 않는 가스를 생산할 수 있었고, 아세트산과 부티르산이 대부분을 차지하는 유기산을 생산할 수 있었다(도 3 및 표 2).

발명의 효과

[0023] 본 발명의 방법을 사용하면, 혐기조에서 메탄의 생산을 억제하면서 수소를 생산할 수 있으므로, 보다 효과적인 수소의 생산에 널리 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 총 9일 동안 CSTR 반응조를 사용하여 수소 생산 미생물을 집식배양한 결과를 나타내는 그래프로서, 수리학적 체류시간은 24시간에서 안정적으로 수소생산이 관찰되었으나 적정 수소생산 미생물 컨소시엄 형성으로 인지되는 크림색의 반응조용액이 관찰되고 급격히 감소한 바이오매스 농도를 향상시키기 위하여 5일이 경과된 후 48시간으로 4일 동안 운전하였다.

도 2는 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 수소를 생산할 경우, 탄소원의 농도에 따른 가스 조성의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 3은 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 총 30일 동안 CSTR 반응조를 사용하여 수소 생산 미생물을 집식배양한 결과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0026] **실시예 1: 연속적 탄소원 공급법과 간헐적 탄소원 공급법 반응조에서의 메탄 생성 비교**

[0027] 먼저, 수소 생산을 위한 접종원은 국내 하수처리장의 혐기성 소화조에서 배출되는 소화조슬러지를 1mm 체를 이용하여 여과하여 큰 고형성분을 제거하였다. 열에 약한 메탄 생산 미생물을 사멸시키고 포자를 생성하는 수소생산 미생물만 남도록 90℃에서 30분간 열처리하여 사용하였다. CSTR 반응조는 아크릴 재질로 유효용적 3.5L 용량(내경 0.14m, 높이 0.23m)의 원통형으로 제작하여 수소생성 반응조로 사용하였다. 반응기 외부는 항온수조를 이용하여 35℃로 온도를 유지하였다.

[0028] 다음으로, 연속적 탄소원 공급법으로서, 10g/ℓ의 글루코스를 포함하는 인공유입폐수(NH_4Cl 500mg/ℓ, KH_2PO_4 250mg/ℓ, K_2HPO_4 250mg/ℓ, $MgCl_2$-$6H_2O$ 300mg/ℓ, $FeCl_3$ 25mg/ℓ, $NiSO_4$ 16mg/ℓ, $CaCl_2$ 25mg/ℓ, $ZnCl_2$ 11.5mg/ℓ, $CoCl_2$-$6H_2O$ 10.5mg/ℓ, $CuSO_4$-$2H_2O$ 5mg/ℓ, $MnCl_2$-$4H_2O$ 15mg/ℓ 및 $NaHCO_3$ 2000mg/ℓ, pH 6.2)를 수

리학적 체류시간 24시간 조건으로 연동펌프를 이용하여 균일하게 유입되도록 하면서(1일 부하량: 10 g 글루코스/ℓ), 상기 CSTR 반응조를 8일 동안 운영하였다. 상기 반응조 상단에 10ℓ 가스백을 연결하여 반응조로부터 발생된 가스를 포집하였다.

[0029] 상기 포집된 가스의 부피와 이에 포함된 메탄가스의 농도를 분석하였다. 상기 메탄가스의 함량은 상기 포집된 가스 100㎕를 gas-tight syringe로 채취하고, 상기 채취된 가스를 capillary 컬럼(30 m*0.32 ID mm*0.45 OD mm, Agilent, CP-Molsieve 5A)과 열전도도 검출기를 포함하는 TCD 장착 가스 크래마토그래피(Agilent 7890A, Santa Clara, US)에 적용하여 측정하였으며, 이때, 오븐, 주입구 및 검출기 온도는 각각 50, 80 및 120℃로 설정하고, 3㎖/분의 헬륨을 캐리어가스로 사용하였다.

[0030] 한편, 간헐적 탄소원 공급법으로서, 글루코스를 포함하는 인공유입폐수 대신에 글루코스를 포함하지 않는 인공유입폐수를 사용하고, 35g/100㎖의 글루코스 용액을 1일 부하량이 10 g/ℓ이 되도록 하루에 한번 반응조에 주입하는 것을 제외하고는, 상술한 바와 동일한 방법을 사용하여, CSTR 반응조를 운영하고, 이로부터 생산된 가스에 포함된 메탄가스의 함량을 측정한 다음, 상기 두가지 방식으로 수득한 가스에 포함된 메탄가스의 함량을 비교하였다(표 1).

표 1

[0031] 글루코스의 공급방법을 달리하여 수득한 가스에 포함된 메탄가스의 함량

	메탄가스의 함량(%)
연속적 탄소원 공급법	7.68 ± 1.45
간헐적 탄소원 공급법	0.0 ± 0.0

[0032] 상기 표 1에서 보듯이, 글루코스의 공급방법을 달리함에 따라 반응조에서 생산된 가스에 포함된 메탄가스의 함량이 변화됨을 확인하였다. 이처럼 열처리를 통하여 수소 생산 미생물을 우점화하였음에도 불구하고 메탄생산균이 완전히 사멸되지 않았으나, 간헐적 탄소원 공급법을 수행함으로써 메탄가스의 생성을 억제하는 결과를 얻을 수 있었다.

[0033] 상기 결과는, 간헐적 탄소원 공급법에 의하여 글루코스가 일시에 유입됨으로써, 글루코스 쇼크효과를 유발시킬 뿐만 아니라, 이에 의해 다량으로 생성되는 유기산으로 인하여 pH가 급감함에 의하여 메탄생산균의 대사를 조절함에 의한 것으로 분석되었다.

[0034] **실시예 2: 간헐적 탄소원 공급법을 통한 수소 생산 미생물 집식배양**

[0035] 먼저, CSTR 반응조에 글루코스를 포함하지 않는 인공유입폐수를 수리학적 체류시간 24시간의 조건으로 연동펌프를 이용하여 균일하게 유입되도록 하면서, 35g/100㎖의 글루코스 용액을 1일 부하량이 10 g/ℓ가 되도록 하루에 한번 반응조에 주입하는 방식으로 CSTR 반응조를 5일 동안 운전하여, 하루에 한번씩 반응조로부터 발생된 가스와 유출수를 분취하였다. 그런다음, 수리학적 체류시간(48시간), 상기 글루코스 용액의 1일 부하량(5 g/ℓ) 및 글루코스 공급시간(2일에 한번)을 변형시키고, CSTR 반응조를 4일 동안 운전하여, 하루에 한번씩 반응조로부터 발생된 가스, 반응조 용액, 유입폐수 및 유출수를 분취하였다.

[0036] 상기 분취된 각 가스를 대상으로, 가스에 포함된 수소, 이산화탄소 및 메탄의 함량 및 총 가스부피를 측정하고, 상기 분취된 유입폐수와 유출수의 용해성 화학적 산소요구량(SCOD, soluble chemical oxygen demand) 및 pH와 반응조 용액의 바이오매스 농도 및 VFA(휘발성 유기산: 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 발레릭산 및 이소발레릭산)의 농도를 측정하였다(도 1). 이때, 상기 가스의 분석은 상기 실시예 1에서 사용한 TCD 장착 가스 크래마토그래피를 사용하여 수행하고; 상기 SCOD는 0.45 ㎛ 실린지 필터를 이용하여 여과한 시료를 HACH(Colorado, USA)에서 제공하는 분석용액을 이용하여 Thermo Orion AQ2040(USA) 분광광도계를 사용하여 측정하였으며; 상기 바이오매스 농도는 3㎖의 시료를 GF/C(직경47mm, 100 circles) 여과지를 이용하여 감압여과하여 측정하고; VFA 농도 및 함량은 0.45 ㎛ 실린지 필터를 이용하여 여과한 시료를 Agilent Hi-Plex H PL1170-6830 column(300 mm × 7.7 mm, 8 ㎛) 컬럼과 UV 검출기를 포함하는 액체크로마토그래피(Waters Binary HPLC pump, USA)에 적용하

여, 0.6㎖/분의 이동상(0.005M H_2SO_4) 및 파장 210 nm의 조건에서 측정하였으며; 유출수의 pH는 pH meter(Orion, model 420A)로 실온에서 측정하였다.

[0037] 도 1은 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 총 9일 동안 CSTR 반응조를 사용하여 수소 생산 미생물을 집식배양한 결과를 나타내는 그래프로서, 수리학적 체류시간은 24시간에서 안정적으로 수소생산이 관찰되었으나 적정 수소 생산 미생물 컨소시엄 형성으로 인지되는 크림색의 반응조용액이 관찰되고 급격히 감소한 바이오매스 농도를 향상시키기 위하여 5일이 경과된 후 48시간으로 4일 동안 운전하였다. 도 1에서 보듯이, 반응조내 바이오매스 농도는 초기 5.68±0.32 g/L에서 5일차에 1.48±0.09 g/L로 감소한 이후 7일차에 2.19±0.09로 향상되었고; 유출수의 pH는 4.5±0.01 정도로 유지되었으며 이는 반응조내 수소생산을 위한 최적 pH 범위에 해당하는 값으로 부산물로 다량의 유기산이 생성되었음을 나타내었다. 유기물 제거율은 최대 60%였고 평균적으로 약 52% 정도를 나타내었다. 평균 수소함량 및 가스발생량은 각각 34.9% 및 4.8 L/d로 나타났으며, 메탄은 운전기간 동안 전혀 검출되지 않았다. 총유기산 농도는 8일차에 최대 2,878 mg/L를 나타내었으며, 2일차에 프로피온산 74% 관찰되기는 하였으나 총유기산 농도가 51 mg/L로 수소 생산 성능에 영향을 줄 정도의 유의한 수준은 아니었다. 3일차 이후 총유기산 함량이 증가하는 경향을 나타내었으며 유기산 함량은 대부분 뷰티르산으로 약 83%로 비중이 높았으며 아세트산은 7일차에 39%를 나타내었고 평균 18%임을 확인하였다.

[0038] 한편, 수리학적 체류시간이 24시간에서 48시간으로 증가하면 생산되는 가스의 부피와 반응조용액 내의 유기산 함량이 급격히 증가됨을 알 수 있었는데, 이는 반응조용액에 포함된 유기물이 미생물에 의하여 충분히 분해되기 때문에 분해산물인 가스와 유기산의 함량이 증가되는 것으로 분석되었다.

[0039] **실시예 3: 간헐적 탄소원 공급법에 미치는 탄소원 농도의 영향**

[0040] 상기 실시예 2의 결과로부터, 간헐적 탄소원 공급법을 이용할 경우, 메탄가스의 생산을 억제할 수 있음을 확인하였으므로, 상기 간헐적 탄소원 공급법에 미치는 탄소원 농도의 영향을 분석하고자 하였다.

[0041] 구체적으로, 상기 실시예 2에서 운전한 CSTR 반응조용액을 10000 rpm에서 10분간 원심분리하여 바이오매스를 수득하였다. 상기 수득한 바이오매스를 탄소원이 포함되지 않은 인공유입폐수에 현탁시키고, 이에 서로 다른 농도(0, 2, 10, 20 및 40g/ℓ)의 글루코스를 가하여 각 시료를 준비한 다음, 질소가스로 포화된 혐기상태에서 35℃ 및 120 rpm의 조건으로 9일 동안 배양하면서 발생된 가스를 수득하였으며, 상기 수득한 각 가스에 포함된 수소, 이산화탄소 및 메탄가스의 조성을 상기 실시예 1에서 사용한 TCD 장착 가스 크래마토그래피를 사용하여 분석하였다(도 2).

[0042] 도 2는 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 수소를 생산할 경우, 탄소원의 농도에 따른 가스 조성의 변화를 나타내는 그래프이다. 도 2에서 보듯이, 2 g/L 조건에는 12h 경과시점부터 수소 발생이 관찰되었고, 10 및 20 g/L조건에는 2일 경과시점부터 수소 발생이 시작되었으며 40 g/L조건에는 4일차부터 수소 발생이 관찰되었으므로, 글루코스가 포함된(2 내지 40g/ℓ) 모든 시료에서 수소를 생산할 수 있음을 확인하였다. 특히, 10g/ℓ의 글루코스를 포함하는 시료에서 가장 높은 효율로 수소를 생산할 수 있었다. 이는 COD 기준 2,000~40,000 mg/L의 광범위한 폐수를 대상으로 수소 생산이 가능함을 시사하는 것으로 분석되었다.

[0043] 이에 반하여, 메탄은 어떠한 조건에서도 생산되지 않았는데, 이는 유기산이 다량 발생함으로써 메탄생산균이 활동할 수 없는 pH 조건을 형성하게 되기 때문인 것으로 분석되었다.

[0044] **실시예 4: 간헐적 탄소원 공급법을 이용한 장기간의 운전**

[0045] 실시예 2에서 수득한 반응조용액을 접종원으로 사용하고, 글루코스를 포함하지 않는 인공유입폐수를 수리학적 체류시간 24시간 조건으로 연동펌프를 이용하여 균일하게 유입되도록 설정하였으며, 35g/100㎖의 글루코스 용액을 1일 부하량이 10 g/ℓ가 되도록 하루에 한번 반응조에 주입하면서 30일 동안 운전하여, 하루에 한번씩 반응조로부터 가스, 반응조 용액, 유입폐수 및 유출수를 분취하였다. 상기 분취된 가스, 반응조 용액, 유입폐수 및 유출수를 대상으로 하여, 바이오매스 농도, pH, SCOD, 가스조성 및 총가스부피를 측정하였다(도 3).

[0046] 도 3은 간헐적 탄소원 공급법을 이용하여 총 30일 동안 CSTR 반응조를 사용하여 수소 생산 미생물을 집식배양한

결과를 나타내는 그래프이다. 도 3에서 보듯이, 반응조내 바이오매스 농도는 평균 2.33±0.09로 유지되었고; 유출수의 pH는 4.6±0.01 정도로 유지되었으며;유기물 제거율은 최대 32%였고 평균적으로 약 29% 정도를 나타내었으며; 평균 수소함량은 22%이고; 평균 가스발생량은 4.6 L/d 였으며; 평균 수소생산속도는 11.4 mmol/ℓ/d이고; 평균 수소수율은 글루코스 1mol 당 1.37 mol이며; 메탄은 전혀 검출되지 않음을 확인하였다.

[0047] 한편, 30일 동안 운영된 반응조용액에 포함된 유기산에 포함된 아세트산, 부티르산, 프로피온산, 발레린산 및 이소발레릭산의 농도와 함량을 분석하였다(표 2).

표 2

[0048] 반응조용액에 포함된 유기산의 농도 및 함량

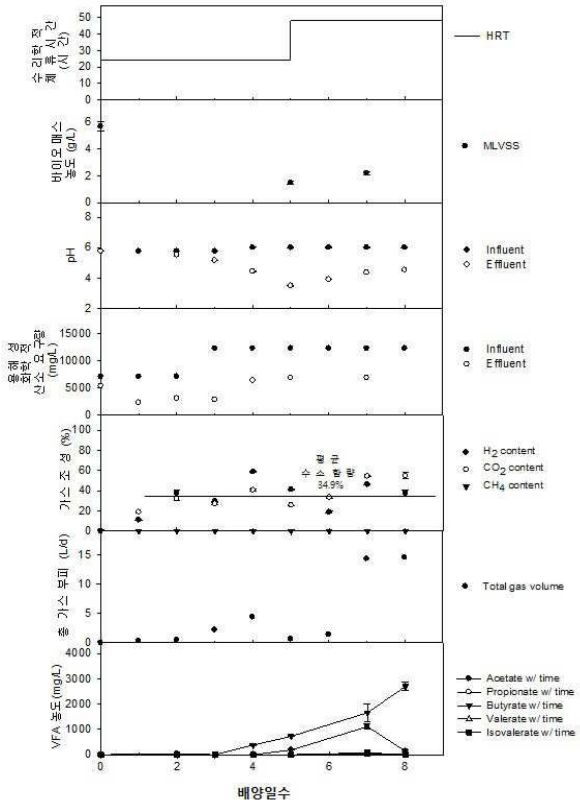
유기산 종류	농도(mg/L)	함량(%)
아세트산	1,822 ± 396	50 ± 7
뷰티르산	1,698 ± 347	47 ± 9
프로피온산	128 ± 137	4 ± 4
발레릭산	0	0
이소발레릭산	0	0
총유기산	3,648 ± 441	-

[0049] 상기 표 2에서 보듯이, 총유기산 농도는 최대 4,779 mg/L(12일차)를 나타내었고 이후 약 3,648 mg/L 정도로 유지하였으며; 유기산에 포함된 아세트산의 함량은 약 50%이고; 유기산에 포함된 부티르산의 함량은 약 47%로서, 아세트산과 부티르산이 생산된 유기산의 대부분을 차지함을 확인하였다.

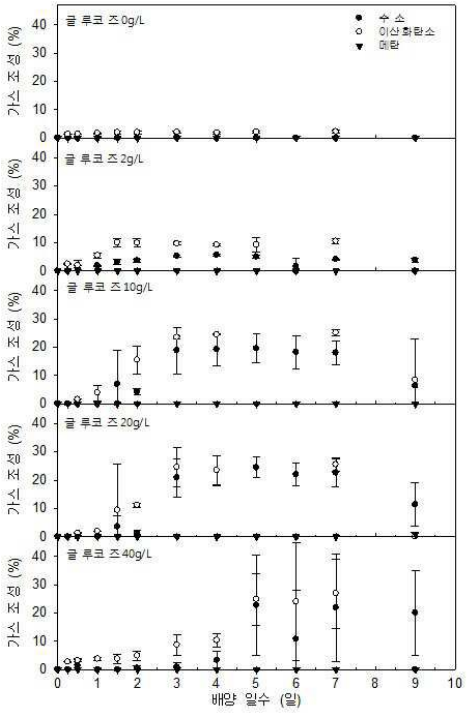
[0050] 상기 측정된 pH 값은 다량으로 생산된 유기산에 의하여 야기된 것으로 분석되었는데, 상기 유기산은 적정농도로 존재할 경우 메탄생산균의 탄소원으로서 이용될 수 있으므로, 이후에 메탄생산 반응조를 연계시킬 경우, 높은 메탄생산 효율을 나타낼 수 있을 것으로 분석되었다.

도면

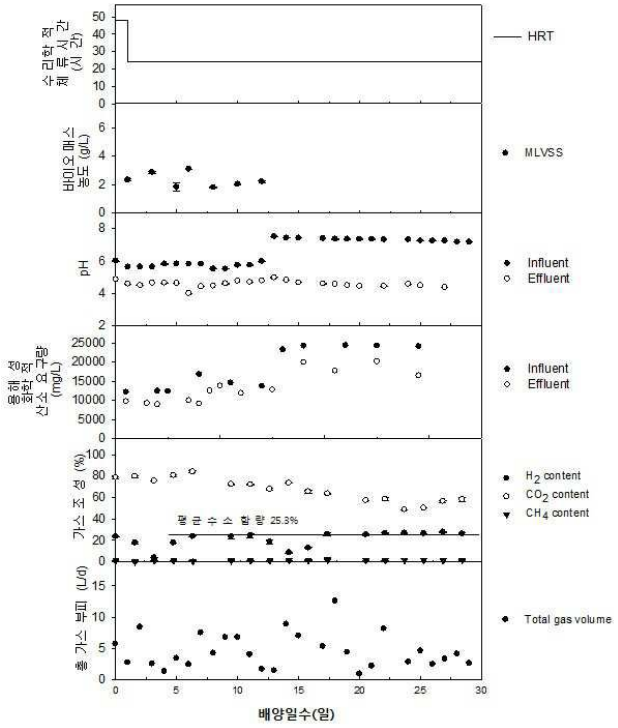
도면1


수리학적 체류 시간 (시 간)
HRT
바이오매스 농도 (g/L)
MLVSS
pH
Influent
Effluent
전환 화학적 산소 요구량 (mg/L)
Influent
Effluent
가스 조성 (%)
H_2 content
CO_2 content
CH_4 content
수소함량 34.9%
총 가스 부피 (L/d)
Total gas volume
VFA 농도(mg/L)
Acetate w/ time
Propionate w/ time
Butyrate w/ time
Valerate w/ time
Isovalerate w/ time
배양일수

도면2


글루코즈 0g/L
글루코즈 2g/L
글루코즈 10g/L
글루코즈 20g/L
글루코즈 40g/L
수소
이산화탄소
메탄
가스 조성 (%)
배양 일수 (일)

도면3


수리학적 체류시간 (시 간)
HRT
바이오매스 농도 (g/L)
MLVSS
pH
Influent
Effluent
용해된 산소 요구량 (mg/L)
Influent
Effluent
가스 조성 (%)
H_2 content
CO_2 content
CH_4 content
메탄수소함량 25.3%
총 가스 부피 (L/d)
Total gas volume
배양일수(일)