

## 축산분뇨에서 수소생산에 미치는 전처리의 영향

고인범·이용두·최영찬\*·野池達也\*\*

제주대학교 해양과학부 토목환경공학전공, \*해양생산과학전공, \*\*일본 동북대학

### Influence of Pretreatment on Hydrogen Production from Cattle Manure

In-Beom Ko, Yong-Doo Lee, Young-Chan Choi\* and Tatsuya Noike\*\*

Major of Civil and Environmental Engineering, Cheju National University, Jeju-Do 690-756, Korea

\*Major of Applied Marine Science, Cheju National University, Jeju-Do 690-756, Korea

\*\*Dept. of Civil engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University, Sendai, Japan

The hydrogen production was investigated by using the cattle manure with and without pretreatment as the substrate. Heat treatment (50, 80, 120°C), initial pH control and acidic hydrolysis was used pretreatment. Without pretreatment, the hydrogen production was limited. By the pretreatment with 0.5% HCl at 121°C, 20min, about 45-55% of solid carbohydrates were hydrolyzed. In the batch test using hydrolyzed liquid, hydrogen production was 1.76 L/L and the degradation efficiency of carbohydrate was above 90%. In the continuous experiment, hydrogen was produced continuously. Hydrogen production rate was 3 L/L/day during the steady condition. The main organic acids were acetic acid and butyric acid.

**Key words** : hydrogen production, cattle manure, pretreatment, hydrolysis, organic acid

### 서론

근년의 급격한 경제성장은 국민소득증대, 생활패턴의 변화 등 많은 편리함을 가져왔지만 경제발전 뒷면에는 구석구석까지 환경오염을 초래하였다. 한편, 음식문화 변화로 축산물 수요가 증가되고 농·축산물의 수입이 자유화됨에 따라 경쟁력을 갖기 위해 축산농가의 규모가 대형화되고 가축사육두수도 매년 증가하는 추세이다.

전국적으로 발생하는 우리나라 가축분뇨의 총 발생량은 연간 약 45,095천톤 정도이며 이중 우 분뇨가 60.3%, 돈 분뇨는 32.6%, 계분이 약 8.15%를 차지하고 있다. 축종별로는 소, 돼지, 닭 순으로 분뇨발생량이 많으나 현장에서는 분뇨의 특성상 양돈분뇨, 젖소 분뇨가 분보다는 뇨의 처리에 많은 애로를 겪고 있다

(농림부, 2002).

최근, 일본에서는 바이오매스 일본 종합전략의 閣議결정과 바이오매스 발전 촉진의 법제도 정립 등, 바이오매스의 유효이용에 대한 정책지원을 강화하고 있다. 우 분뇨는 연간 배출량이 60,000천톤을 넘어, 산업폐기물의 약 15%를 차지하는 폐기물 바이오매스이다. 그 대부분이 퇴적처리 되고 있는 한편, 2004년부터는 가축배설물의 관리의 적정화 및 이용의 촉진에 관한 법률에 따라 육내관리가 의무화되므로 재자원화나 유효이용이 요구되고 있다(고 등, 2004).

본 연구에서는 축산분뇨로부터 생물학적인 방법에 의한 수소생산에 미치는 전처리 방법에 대하여 회분 실험을 통하여 고찰을 행하였으며, 또한 회분실험에서 얻은 수소생산 조건에서의 연속실험을 통하여 축산분뇨에서 수소생산에 대하여 검토를 행하였다.

## 실험 재료 및 방법

### 실험방법

본 실험에는 젓소 200두를 사육하는 농가(일본 岩手縣 葛巻町)에서 발생하는 분뇨를, 분뇨 저류조(스크래퍼형, 분과 노가 유입)에서 채취하여 실험에 이용하였다. 분뇨의 기본 성상을 Table 1에 나타내었다. 분뇨에는 섭취되지 않은 사료 등의 비교적 커다란 고형분을 많이 포함하고 있기 때문에 실험에 이용하기 전에 6 mm의 체를 이용하여 고형분을 분리하였으며, 탄수화물 농도가 10 g/L가 되도록 조절하였다.

Table 1. Characteristic of raw cattle manure

| Item                            | Concentration (g/L)     |
|---------------------------------|-------------------------|
| TS / VS (w/w%)                  | 8.0~11.6 / 6.5~10.5     |
| SS / VSS (w/w%)                 | 5.5~8.5 / 5.0~7.8       |
| CODCr (Total/Soluble)           | 120.0~180.0 / 20.0~27.0 |
| Carbohydrate (T/S)              | 33.0~48.0 / 0.6~1.2     |
| Protein (T/S)                   | 24.0~37.0 / 4.5~6.6     |
| pH                              | 6.9~7.5                 |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N | 1.5~2.5                 |
| Acetic acid                     | 4.0~6.0                 |
| Propionic acid                  | 1.5~2.0                 |
| Butyric acid                    | 1.0~1.5                 |
| Formic acid, Lactic acid        | < 0.5                   |

회분실험에 이용한 종균으로는 일반적으로 수소생성 세균으로 널리 알려진 Clostridium속의 순수세균을 식종균으로 이용하였으며, 또한 Clostridium속이 우점종으로 존재하는 수소생성 슬러지를 식종균으로 이용하였다. 실험은 일정량의 분뇨에 각각의 순수세균을 식종하였을 경우의 수소생산 특성에 대하여 행하였으며, 분뇨에 열처리를 행하였을 경우(무처리, 50℃, 80℃, 120℃에서 각각 60분간)의 수소생산 특성에 대하여 실험을 행하였다. 또한, pH가 다른 조건(pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0)에서의 수소생산에 대하여 실험을 행하였으며, 분뇨의 고액분리를 행하여 고형물(분)과 액상물(노) 각각의 수소생산 특성과 탄수화물을 다량으로 함유하는 폐수와 분뇨를 혼합하였을 경우의 수소생산 특성을 파악하기 위하여 Glucose를 첨가(10 g/L)한 경우의 수소생산에 대하여 고찰을 행하였다. 회분실험은 공통적으로 35℃에서 5 rpm의 회전

속도에서 행하였다. 또한, 분뇨에 전처리로서 산, 알칼리처리를 행하였을 경우의 가용화 특성 및 수소생산에 대하여 Fig. 1에 나타낸 실험장치를 이용하여 회분실험을 행하였다.

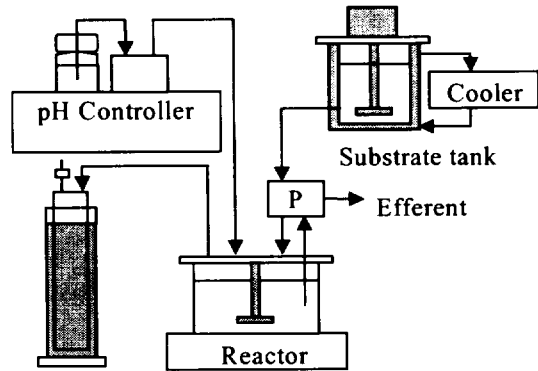


Fig. 1. Schematic diagram of the sequence reactor.

연속실험은 일련의 회분실험의 통하여 얻은 결과를 토대로 분뇨를 이용하여 수소생산이 가능하다고 판단되는 조건을 설정하여 Fig. 1에 나타낸 연속실험 장치를 이용하여 실험을 행하였다. 2.5 L의 반응조에 유효용량이 1.5 L가 되도록 초기 기질(전처리를 행한 분뇨)을 1.2 L 투입하였고, 종균을 0.3 L 식종한 후, 기상부를 질소가스로 치환하였다. 반응조의 운전은 35℃, pH 5.5, HRT 12시간으로 설정하여, 탄수화물 농도가 10 g/L가 되도록 조절한 기질을 연속적으로 주입하면서 연속적인 수소생산을 행하였다.

### 분석 방법

가스 생성량은 glass syringe에 의한 가스평형에 의하여 측정하여, 표준상태(0℃, 1 atm)로 환산하였다. 생성된 가스의 조성을 구하기 위해 H<sub>2</sub> 및 CO<sub>2</sub>에 대해, 다음과 같은 방법으로 분석을 행하였다. H<sub>2</sub>는 GC(Shimadzu GC 8A, 열전도도검출기)를 이용하여 측정하였다. 스테인리스 재질의 컬럼(2m)에 Unibead C를 충전하고, 검출기온도 100℃, 컬럼온도 70℃, carrier gas N<sub>2</sub>(50 mL/min)를 이용하여 분석하였다. CO<sub>2</sub>는 GC(Shimadzu GC 8A, 열전도도검출기)를 이용하여, 스테인리스 재질의 컬럼(2m)에 Porapak T를 충전하고, 검출기온도 100℃, 컬럼온도 70℃, carrier

gas He<sub>2</sub>(30 mL/min)를 이용하여 분석하였다.

VFA는 capillary 전기 영동 분석기(Photal. CAPI-3200)를 이용하여 분석하였다. 측정은 capillary 컬럼(ID75 μm, 805 mm, EL680 mm)을 이용하여 온도 25℃, 전압 -25 kV의 조건으로 210 nm(indirect UV검출)에서 행하였다. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>도 capillary 전기 영동 분석기(Photal. CAPI-3200)를 이용하여, 25 kV의 조건에서 측정을 행하였다.

### 실험 결과 및 고찰

#### 열처리 및 초기 pH의 영향

열처리 및 초기 pH를 조절한 회분실험의 결과를 Fig. 2, 3, 4, 5에 나타내었다. 축산분뇨의 수소생산 특성에 대한 실험 결과, 식종균을 접종하지 않은 경우와 마찬가지로 수소생산은 볼 수가 없었고, 메탄생성만을 볼 수 있었다. 이러한 결과로 축산분뇨에 존재하는 메탄균에 의하여 수소가 메탄생성에 이용되었다고 판단된다. 따라서 축산분뇨로부터 수소를 생산하기 위해서는 수소이용 메탄균의 활성을 저해, 또는 사멸시킬 필요가 있다고 판단된다. Fig. 2에서 알 수 있듯이 축산분뇨의 열처리에 의하여 수소이용 메탄균의 사멸 또는 활성이 저해됨을 알 수 있었고, 또한 80℃에서 60분간 열처리를 행함으로써 수소생산이 가능함을 알 수 있었다. pH 조절이 수소생산에 미치는 영향에 대한 실험 결과를 Fig. 3에 나타내었다. pH가 5.5 이하에서는 수소생산을 볼 수 없었으며, pH 6.5 이상에서는 수소생산이 가능하나 pH 6.0에서의 수소생산에 비하여 아주 작은 값을 나타내었다. Fig. 4에 축산분뇨를 고액분리한 경우의 수소생산과 탄수화물을 첨가하였을 경우의 수소생산 특성을 나타내었다. 탄수화물의 첨가에 의해 수소생산이 증가함을 알 수 있었으며, 축산분뇨의 고형물이 액상물보다 수소생산에 유리함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Table 1에서 알 수 있듯이 축산분뇨의 액상물중에 포함된 유기산에 의한 영향을 판단된다. 혐기성 수소생성은 유기산생성을 동반하나, 생성된 유기산의 축적에 의해 수소생성이 저해 받고 있음을 알 수 있다. 저해 성분으로서는, 휘발성 지방산(VFA)의 존재가 의심된다.

Ahring and Westermann(1988)는 산생성 단계에 있어서의 초산에 의한 미생물의 증식 저해를 나타냈다.

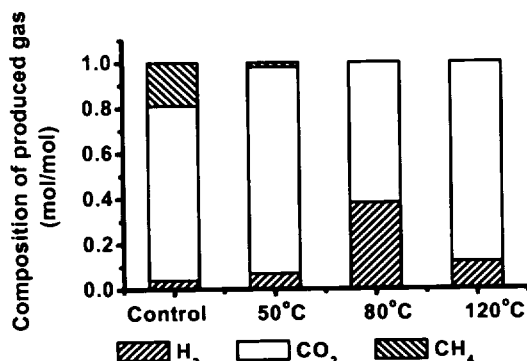


Fig. 2. Effect of heat treatment on the hydrogen production from cattle manure.

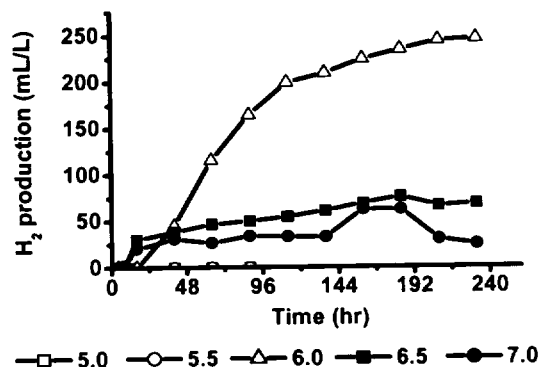


Fig. 3. Effect of pH control on the hydrogen production from cattle manure.

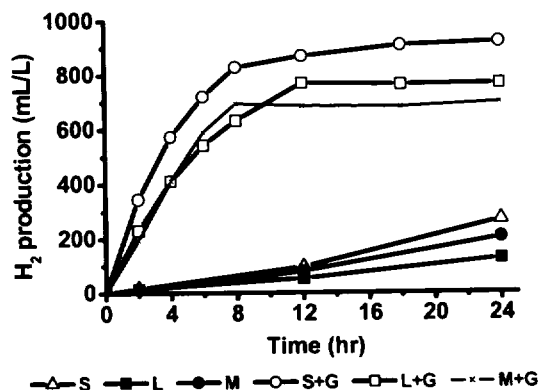


Fig. 4. Effect of solid-liquid separation and carbohydrate addition (S: solid, L: liquid, M: manure, G: Glucose).

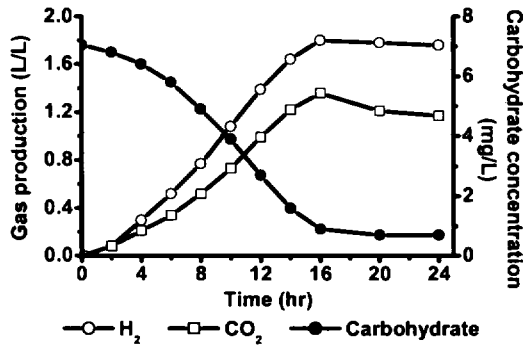


Fig. 5. Hydrogen production on the batch experiment from the pretreated cattle manure (0.5% HCl, 120°C, 20 min).

또 Nanba et al.(1983)는 탄수화물을 포함한 배지에서 *Propionivacterium shermanii*에 의한 혐기적 프로피온산 발효를 했더니, 초산 및 프로피온산 농도의 증가에 수반되어 미생물의 비증식 속도가 감소함을 나타내었다. 미생물의 비증식 속도의 감소는 pH가 낮을수록 현저하는 경향을 얻을 수 있었다고 보고하였다. Savajo et al.(1970)와 Hentegs(1967)은 기질의 pH가 낮은 경우에 세포내의 산농도가 증가한다고 보고하고 있다. 이것은, Tempest and Meers(1968)와 Tempest et al.(1970)에 의하면 비해리 상태의 VFA가 세포막을 통과하고, 그 후에 해리가 일어나 세포내의 pH를 저하시켜 과잉의 proton 흡수가 일어난다고 보고하고 있다. Zoetemeyer et al.(1982)은 이 반응이 에너지 소비 프로세스이기 때문에, 소비 기질당의 이용 가능한 에너지양이 적게 되어, 균체 합성과 증식 속도의 저하로 연결된다고 지적하고 있다. 이러한 요인들이 본 연구에 있어서 수소생산에 영향을 미치고 있음을 알 수 있다. 또한, Yu et al.(2002)은 혼합 미생물을 이용해 양조 제조 폐수로부터의 연속적 수소 생성 실험을 행한 결과, pH 5.5에서 가장 높은 수소 수율 1.74 mol-H<sub>2</sub>/mol-hexose를 얻고 있다. Zoetemeyer et al.(1982)은 소화 슬러지를 이용해 글루코스를 기질로 한 연속 배양 실험을 통해, pH가 5.7 - 6.0일 때 수소 생성량이 가장 많았다고 보고하고 있다. 또한, Tanisho et al.(1987)은 *Enterobacter sp.*를 이용해 글루코스로부터의 수소 생성 실험을 한 결과, pH 6.5에서 최대 수소 수율 1.10 mol-H<sub>2</sub>/mol-glucose가 관측되었고, pH 7.0에서는 균체의 증식은 양호했으나, 수소

수율이 극단적으로 저하함을 보고하고 있다. 佐藤 등 (1999)은 스크로스 및 젤라틴을 기질로 한 연속 배양 실험에서, 수소 수율, 수소 생성 속도 모두 pH가 5.0 일때 최대가 되었다고 보고하고 있다.

지금까지의 연구에 의해, 수소 생성량은, pH가 5.5에 가까워지는 것에 따라 증가해, 그 후 pH의 증가와 함께 감소하고, 수소 가스의 비율은 pH가 증성 부근에 가까워지는 것에 따라 증가하는 것이 알려져 있다. 수소 생성에 적절한 pH는 대략 5.0 - 6.0인 것으로 알려져 있다. pH가 7.0 - 8.0이상에서는, 균체의 합성이 증가하는 것에 따라 수소 생성에 이용되는 기질의 비율이 감소해, 수소수율이 저하하는 것이 다수의 연구에서 보고 되고 있다. 또, 저pH조건에서는 균체의 생육이 억제되는데 더해, 비수소 생성형태의 대사인 젖산 생성이나 에탄올 생성이 일어나는 것으로 알려져 있다.

### 산을 이용한 전처리의 영향

본 연구에서는 분뇨의 가용화처리에 대하여 ball mill, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH를 사용하여 실험한 결과, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 이용하는 것이 HCl을 이용하는 것보다 탄수화물의 가용화율이 높은 결과를 얻을 수 있었으나 (Table 2), 수소생산을 고려하면 HCl을 이용하여 가용화 처리를 행하는 것이 유리함을 알 수 있었다. NaOH를 이용하였을 경우에는 탄수화물보다는 단백질의 가용화율이 높음을 알 수 있었다. Fig. 5에는 0.5%의 HCl을 이용하여 축산분뇨를 가용화한 후, 수소생산에 이용한 결과를 나타내었다. 실험개시 후 16시간의 경과한 지점에서 수소생산이 종료되었고, 탄수화물도 90%이상 분해됨을 알 수 있었다. Fig. 6에는 회분 실험에서의 유기산농도의 경시변화를 나타내었다. 그

Table 2. Hydrolysis rate of cattle manure

|                                | control | ball mill | NaOH | ball mill + NaOH |
|--------------------------------|---------|-----------|------|------------------|
| control                        | 0.6     | 0.6       | 0.9  | 1.3              |
| control                        | 0.7     | 1.5       | 1.8  | 2.6              |
| 80°C                           |         |           |      |                  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 3.4     | 4.4       | 24.5 | 29.0             |
| HCl                            | 2.9     | 4.9       | 21.0 | 28.1             |
| control                        | 1.2     | 2.0       | 0.9  | 1.8              |
| 120°C                          |         |           |      |                  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 48.1    | 57.4      | 51.0 | 63.5             |
| HCl                            | 46.2    | 49.7      | 48.6 | 53.9             |

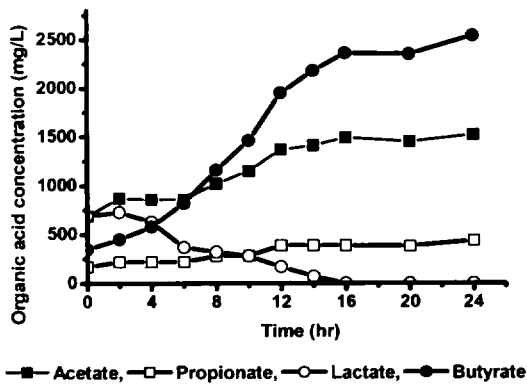


Fig. 6. Variation of organic acid concentration on the batch experiment from the pretreated cattle manure (0.5% HCl, 120°C, 20min).

림에서 알 수 있듯이 수소생산에 수반되어 부틸산 및 초산이 주요한 대사산물임을 보여주고 있다.

연속실험에 있어서의 수소생산

축산분뇨를 이용한 연속 수소생산 실험에 있어서, H<sub>2</sub> 및 CO<sub>2</sub>의 생성속도의 경시변화를 Fig. 7에 나타내었다. 실험은 초기 18시간까지는 회분상태로 운전하였으며, 그 후로는 HRT를 12시간으로 조절하여 연속실험을 행하였다. 수소생성속도는 26시간 경과 후, 최대값인 5.688 mL/L/day를 나타내었으나, 시간의 경과에 따라 생성속도가 감소함을 알 수 있으며, 120시간이 경과 후부터는 평균 3.000 mL/L/day의 속도로 수소생성이 안정됨을 알 수 있었다. 이 지점에서의 수소생성 수율은 1.12 mol H<sub>2</sub>/mol Glucose였다. 축산분뇨의 연속 수소생산 실험에 있어서 대사산물의 경시변화를 Fig. 8에 나타내었다. 부틸산과 초산이 주요 대사산물임을 알 수 있었고, 젖산 및 프로피온산은 아주 낮은 농도를 나타내었다.

Taguchi et al.(1993)은 *Clostridium sp.*를 이용해 아라비노스, 세로비오스, 후락토스, 갈락토스, 글루코스, 락토스, 녹말, 스크로스, 크실로스로부터의 수소생성 실험을 행한 결과, 수소 수율 17.2, 17.1, 15.7, 17.0, 16.4, 17.9, 12.2, 19.0, 17.2 mmol-H<sub>2</sub>/g-substrate를 각각 얻었다. 沈 등(1996)은 혼합 미생물을 이용해 글루코스, 락토스, 스크로스, 전분으로부터의 연속적 수소생성 실험을 행한 결과, 수소 수율 9.33,

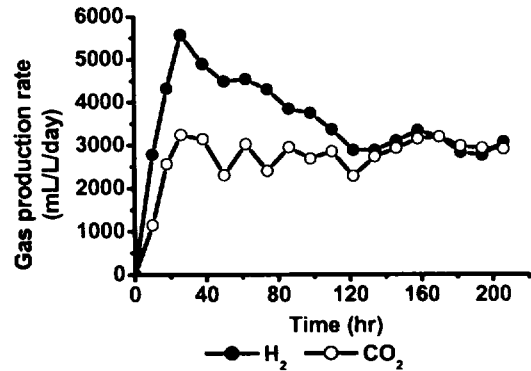


Fig. 7. Variation of gas production rate on the continuous experiment.

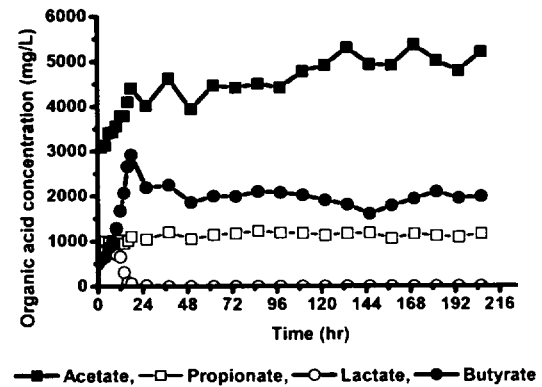


Fig. 8. Variation of Organic acid concentration on the continuous experiment.

11.01, 9.29, 10.03 mmol-H<sub>2</sub>/g-substrate를 각각 얻고 있다. 水野 등(1999)은 혼합 미생물을 이용해 비지, 쌀겨로부터의 수소생성 실험을 행한 결과, 수소 수율 2.54, 1.29 mol-H<sub>2</sub>/mol-hexose를 각각 얻었다. 또, 주된 대사산물은 초산 및 부틸산이었지만, 에탄올이 생성을 확인했다고 보고하고 있다. 이 밖에도, 밀폐기물(Lay and Noike, 1999), 당밀 폐수(Kalia et al., 1994), 제당 공장폐수(Kurabe et al., 1981), 양조 제조 폐수(Ueno et al., 1996) 등에서의 수소생성도 다수 보고되어 있다. 또, 셀룰로오스 등의 고분자 화합물을 기질로 하는 경우에는, 가수분해 효소 등에 의하기 전 처리를 가하는 것으로 수소수율을 높일 수가 있다고 하는 보고도 있다(Taguchi et al., 1996).

본 연구에서 얻은 수소수율 1.12 mol H<sub>2</sub>/mol Glucose는 타 연구결과보다 조금은 낮은 값을 보이고 있는

나. 전처리 방법을 통하여 축산분뇨에서 수소생산이 가능함을 시사하고 있다.

## 결론

축산분뇨를 이용한 생물학적 수소생산에 관하여 회분실험 및 연속실험을 통하여 고찰을 행한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 축산분뇨에서 수소를 생산하기 위해서는 전처리 과정의 도입 없이는 수소생산이 불가능하다.
- 2) 축산분뇨에 열처리를 행하여, 수소생성세균을 식중독한 결과 수소생산이 가능하다.
- 3) 축산분뇨의 수소생산을 위해서는 가용화 처리가 필요하며, 0.5% HCl, 121℃, 20 min의 가용화 처리가 필요하다.
- 4) 축산분뇨의 가용화처리에 의해 연속적인 수소생산이 가능하였고, 1.12 mol H<sub>2</sub>/mol Glucose의 수소생성 수율을 얻었다.

## 참고문헌

고인범·이용두·野池達也·李玉友. 2004. 축산폐수를 이용한 수소생산의 타당성 평가. 폐기물학회 2004년도 춘계학술연구발표회 논문집, pp. 176-179

농림부. 2002. 농정주요 통계자료

沈建權·李玉友·野池達也. 1996. 嫌性細菌による糖類水の 수소酵特性の比較. 土木論文集, 552(VI-1): 23-31.

佐藤靖敏·円谷輝美·佐藤洋一·中村玄正. 1999. 複合基質からの嫌性水素酵における pH と HRT の影響について. 土木第54回年次術講演集, pp. 394-395

水野修·大原健史·新谷史·野池達也. 1999. 水素酵における有機性薬物の分解特性. 環境工究論文集, 36: 423-429.

Ahring B. K. and P. F. Westermann. 1988. Product inhibition of butyrate metabolism by acetate and hydrogen in a thermophilic coculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54: 2393-2397.

Akira N., Reichi N. and N. Shiro. 1983. Inhibition by acetic acid and propionic acid of the growth

of *Propionivacterium shermanii*. *Department of fermentation technology*, 61(6): 551-556.

Hentegs D. J. 1967. Influence of pH on the inhibitory activity of foemic acid and acetic acids for *Shigella*. *Journal of Bacteriology*, 93: 2029-2030.

Kalia V. C., Jain S. R., Kumar A. and A.P. Joshi. 1994. Fermentation of biowaste to H<sub>2</sub> by *Bacillus licherniformis*. *World J. Microbial. Biotechnol.*, 10: 224-227.

Karube I., Kuriyama S., Matsugana T. and S. Suzuki. 1981. *Energy Development Japan*, 3: 141.

Lay J. J. and T. Noike. 1999. Hydrogen production and degradation of cellulose by anaerobic digested sludge. *J. Environ. Syst. and Eng.*, 636(VII-1): 97-104.

Savajo Rao G. and L. R. Berger. 1970. Basis of pyruvate inhibition in *Thiobacillus thiooxidans*. *Journal of Bacteriology*, 102: 462-466.

Taguchi F., Chang J. D., Mizukami N., Saito-Taki T. and K. Hasegawa. 1993. Isolation of a hydrogen-producing bacterium *Clostridium beijerinckii* strain AM21B from termites. *Can. J. Microbiology*, 39: 726-730.

Taguchi F., Yamada K., Hasegawa K., Saito-Taki T. and K. Hara. 1996. Continuous hydrogen production by *Clostridium* sp. Strain No. 2 from cellulose hydrolysate in aqueous two-phase system. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82(1): 80-83.

Tempest D. W. and J. L. Meers. 1968. The influence of NaCl concentration of the medium on the potassium content of *Aerobacter aerogenes* and the inter relationship between potassium, magnesium and ribonucleic acid in the growing bacteria. *Journal of general Microbiology*, 54: 319-325.

Tempest D. W., Meers J. L. and C. M. Brown. Influence of environment on the content and composition of microbial free amino acids pools. *Journal of general Microbiology*, 64: 171-185.

Ueno Y., Otsuka S. and M. Morimoto. 1996. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82(2): 194-197.

Yu H., Zhu Z., Hu W. and H. Zhang. 2002. Hydrogen Production from Rice Winery Wastewater in an Upflow Anaerobic Reactor by Using Mixed Anaerobic Culture. *International J. Hydrogen Energy*, 27: 1359-1365.

Zoetemeyer R. J., Matthijsent A. J. C. M., Cohen A. and C. Boelhouwer. 1982. Product inhibition in

the acid forming stage of the anaerobic digestion process. *Water Research*, 16: 633-639.

Zoetemeyer, van den Heuvel J. C. and A. Cohen. 1982. pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester. *Water Research*, 16: 303-311.

