



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년03월17일
 (11) 등록번호 10-0813151
 (24) 등록일자 2008년03월06일

(51) Int. Cl.
 C01B 3/02 (2006.01) C01B 3/00 (2006.01)
 C12P 3/00 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2006-0138198
 (22) 출원일자 2006년12월29일
 심사청구일자 2006년12월29일
 (56) 선행기술조사문헌
 JP2005211782 A
 (뒷면에 계속)

(73) 특허권자
 한국과학기술연구원
 서울 성북구 하월곡2동 39-1
 (72) 발명자
 상병인
 서울 성북구 하월곡동 39-1 KIST아파트 A동 201호
 이선미
 서울 강동구 길1동 472 희훈리치파크아파트 101동 209호
 (74) 대리인
 이원희

전체 청구항 수 : 총 12 항

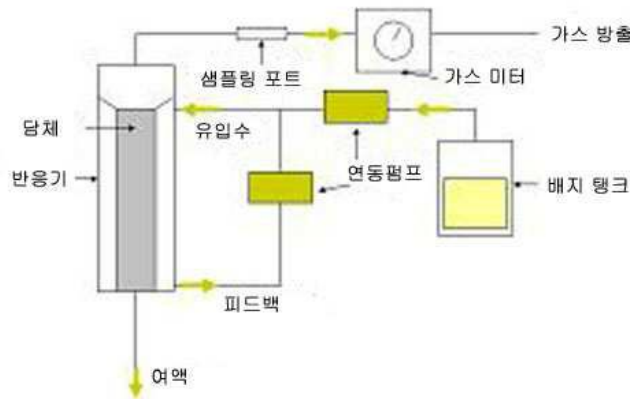
심사관 : 장기완

(54) 트리클링 베드 반응기를 사용하여 수소 생산량을 증대하기 위한 생물학적 수소 생산방법

(57) 요약

본 발명은 트리클링 베드 반응기를 사용하여 수소 생산량을 증대하기 위한 생물학적 수소 생산방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 수소 생산 방법은 베드로서 다공성 담체가 균일하게 충전되어 있는 트리클링 베드 반응기를 사용하므로 수소 생산용 혐기성 미생물이 담체에 부착하기 용이하여 빠른 HRT에서도 워시아웃 현상이 일어나지 않으며, 상기 미생물이 생산한 수소가 담체 내의 기공을 통하여 방출되는 것이 용이하다. 또한 사용되는 상기 혐기성 미생물은 입수하기 용이한 하수 슬러지에서 간단한 열처리로 중온성(25 ~ 40 °C) 수소 생산 미생물이 우점화되므로 경제적이고, 고온성 수소 생산 미생물을 사용하는 것 보다 에너지를 절약할 수 있다. 나아가, 상기 트리클링 베드 반응기를 최적의 조건으로 운전함으로써 기질의 전환율이 90 % 이상이며 수소 함유량이 50% 이상인 높은 수소 생산량을 얻을 수 있으므로 생물학적 수소생산에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(56) 선행기술조사문헌
JP2006042691 A
JP56152795 A
KR1020050099847 A
KR1020060110394 A

특허청구의 범위

청구항 1

미생물을 이용한 생물학적 수소 생산방법에 있어서,

기질을 베드로서 혐기성 미생물이 부착된 담체가 균일하게 충전되어 있는 트리클링 베드 반응기에 로딩하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 로딩된 기질을 생물 반응기에 통과시켜 담체에 부착되어 있는 혐기성 미생물에 의해 발효시켜 수소를 발생시키는 단계(단계 2); 및

상기 단계 2에서 상기 혐기성 미생물과 반응하지 않고 그대로 생물 반응기를 통과한 여분의 기질을 재순환시켜 재로딩하는 단계(단계 3)를 포함하여 이루어지는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 기질은 음식물 쓰레기, 식품가공 공정의 배출수 및 하수처리장의 슬러지를 포함하는 혼합 기질, 또는 자당, 포도당 및 유당을 포함하는 순수기질인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 혐기성 미생물은 25 ~ 40 °C의 온도 범위에서 기질을 발효시키는 중온 혐기성 미생물인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 혐기성 미생물은 하수 처리장의 혐기성 슬러지를 80 ~ 120 °C에서 10 ~ 20분 동안 가열하여 우점화시킨 것을 사용하는 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 담체는 친수성 또는 소수성 담체인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 친수성 담체는 다공성 폴리비닐알콜 재질로 이루어지고, 상기 소수성 담체는 다공성 폴리우레탄 또는 활성탄 재질로 이루어지는 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 담체는 미생물의 부착 효율을 높이고 워시아웃을 최소화하기 위해 다공성 담체인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 기질이 자당인 경우에 상기 담체 내의 미생물 부착 효율을 더욱 향상시키기 위해 초기 HRT는 29 ~ 30 시간이고, 최저 HRT는 0.1 ~ 0.5 시간인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 9

삭제

청구항 10

제1항에 있어서, 미생물에 의해 발효가 일어나는 상기 트리클링 베드 반응기 내의 pH는 4.5 ~ 6.5로 유지시키는 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 기질이 자당인 경우에 박테리오신과 같은 항균물질 또는 젖산을 생성하는 미생물의 생성에 의해 수소 생산 미생물의 수가 감소함으로써 수소 생산 속도가 저하되는 것을 방지할 수 있도록 상기 트리클

링 베드 반응기에 로딩되는 기질의 농도는 15 ~ 40 g/l 인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 기질이 자당인 경우에 상기 트리클링 베드 반응기를 통과한 여분의 기질을 재순환시키는 속도는 6 ~ 50 ml/분인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 기질이 자당인 경우, 기질 농도는 15 ~ 40 g/l 이고, 담체 내에 미생물 부착 효율을 증가시키기 위한 초기 HRT는 29 ~ 30시간이고, 최저 HRT는 0.1 ~ 0.5시간이며, 재순환속도는 6 ~ 50 ml/분인 것을 특징으로 하는 생물학적 수소 생산방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <18> 본 발명은 트리클링 베드 반응기를 사용하여 수소 생산량을 증대하기 위한 생물학적 수소 생산방법에 관한 것이다.
- <19> 수소에너지는 연료로서의 우수한 특성과 함께, 1970년대 '에너지 위기'를 겪으면서 화석에너지를 대신할 대체 에너지로써 그 중요성이 인식되기 시작하였다. 이후 장기적인 화석연료의 사용으로 초래된 지구 온난화 현상을 비롯한 환경 문제는 이제 1990년대에 '지구환경 위기'를 겪으면서 환경 문제를 근본적으로 해결할 수 있는 청정 에너지로 각광을 받고 있다. 이와 같이 대체·청정에너지로 그 중요성이 부각되고 있는 수소는 21세기 에너지 시스템을 실현할 수 있는 높은 가능성을 갖는다.
- <20> 현재까지 상용화된 수소제조기술은 주로 석유나 천연가스 열분해에 의하여 제조되거나 다른 화학공정의 부산물로 주로 얻어지고 있다. 그러나 상기 수소제조기술은 화석연료의 부존성 및 편재성에 의한 국가간 긴장과 지구 환경 오염 등의 심각한 문제를 야기시킨다. 따라서 이러한 화석연료를 이용한 화학공학적인 수소제조방법을 대체하기 위하여 환경친화적인 태양광, 수력, 풍력, 미생물과 같은 청정기술을 이용하여 수소를 제조하는 방법이 연구되고 있으며, 특히 최근에는 미생물을 이용하여 물이나 유기성 폐자원으로부터 수소를 제조하는 생물학적 수소 생산 방법에 대한 관심이 증대되고 있다.
- <21> 생물학적 수소생산방법은 화학공학적인 수소생산방법에 비해 상온, 상압 조건에서 조업이 이루어지기 때문에 덜 에너지 집약적이며, 물이나 바이오 매스, 유기성 폐자원 등과 같은 재생 가능한 연료로부터 수소생산이 이루어지기 때문에 이론적으로 무한정 수소생산이 가능하다. 또한, 생물학적 수소 생산 방법은 유기성 폐자원 처리, 이산화탄소 저감 등 환경처리 기술과 결합하여 환경오염 감소와 대체 에너지 생산이라는 두가지 장점을 모두 가진다.
- <22> 생물학적인 방법은 크게 광합성 미생물을 이용하는 광 생물학적 수소생산 방법과 빛이 없는 조건에서 혐기성 발효로 수소를 생산하는 방법으로 나누어진다. 광 생물학적인 방법은 햇빛과 미생물을 이용하여 물을 광분해하여 수소를 얻는 방법으로 혐기 발효에 비해 더 많은 연구가 진행되었지만 높은 활성화 에너지가 필요하며, 수소생산 속도가 상당히 느린 편으로 에너지 효율이 상당히 낮다고 보고되고 있다.
- <23> 혐기성 발효를 이용한 수소 생산 방법의 가장 큰 장점은 유기성 폐자원에서 쉽게 얻을 수 있는 자당, 녹말 등의 탄수화물을 분해하여 수소를 얻는다는 친환경적인 점이다. 또한, 수소 생산 속도가 광 생물학적 방법에 비하여 상당히 빠르며, 광원을 필요로 하지 않아 밤, 낮 동안 운전이 가능하다. 나아가, 작은 공간만 필요하므로 증축이 용이하다. 따라서 최근에는 혐기성 발효를 이용한 수소 생산 방법에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이때 수소를 생산하는 균은 클로스트리듐 균체(*Clostridium* sp.)와 같은 산 생성 균으로서, 자당과 같은 탄소원을 이용하여 아세트산, 부티르산 등과 같은 산을 생성하며, 상기 산 생성시 수소를 방출하게 된다. 상기 과정을 하기 반응식에 나타내었다.
- <24> 자당 + H₂O → 2 아세트산 + 4H₂ + 2CO₂ (a)

- <25> 자당 → 부티르산 + 2H₂ + 2CO₂ (b)
- <26> 생물학적인 수소생산 공정을 통하여 생산된 수소가 연료전지와 같은 에너지 생산공정과 유기적으로 연결되어 의미있는 에너지 생산이 되기 위하여는 연료전지의 운전에 필요한 수소를 안정적으로 공급할 수 있어야 한다. 따라서 단위 반응기 부피당 수소 생산 수율을 증가시키는 일은 생물학적 수소 생산 공정이 실제 에너지 생산 공정과 유기적으로 운전하기 위해 해결해야 할 중요한 과제이다. 이를 위해 많은 연구가 진행되고 있다.
- <27> 종래 생물학적 수소 생산을 통하여 수소 생산 수율을 증가하기 위한 방법으로는 대한민국 특허등록 제85423호에서 전처리로 분쇄 및 파쇄하고 고-액 분리한 액상의 유기성 폐기물을 변형 PYG 합성배지에서 종배양시킨 클로스트리듐 부티리쿰(*Clostridium butyricum*) 균체가 장착된 혐기성 생물반응기에서 반응기 내 온도를 35 ~ 37℃, pH를 6 ~ 7로 유지하면서 혐기발효하여 수소를 생산하는 방법에 있어서, 상기 클로스트리듐 부티리쿰의 종 배양이 50 ml의 병에 변형 PYG 배지를 40 ml까지 넣고, 클로스트리듐 부티리쿰을 660 nm 파장에서 흡광도가 0.1이 되도록 접종한 후, 시럽병을 완전 밀폐하고 아르곤으로 혐기치환한 상태에서 35 ~ 37℃에서 혐기배양하는 과정을 2 ~ 3회 반복함으로써 이루어지는 것을 특징으로 하는 유기화합물의 혐기발효에 의한 수소 생산방법을 개시하고 있다.
- <28> 대한민국 등록특허 제442741호에서는 유기성 폐기물을 분쇄 및 파쇄하여 고-액 분리시키고 액상만을 혐기성 생물반응기로 보내는 전처리과정과, 상기 전처리된 액상 폐기물을 변형 PYG 합성배지에 클로스트리듐 부티리쿰 균주를 투여하여 종배양시킨 균주가 장착된 혐기성 생물반응기에 보내고, 반응기 내 온도를 35 ~ 37℃, pH를 6 ~ 7로 유지한 상태에서 혐기발효시켜 수소를 포함하는 가스와 혐기발효폐수를 생산하는 혐기생물반응과, 상기 혐기생물반응 후 생성된 혐기발효폐수를 고-액분리시켜 유기산이 함유된 액상만을 취하여 광합성 생물반응기로 보내는 분리과정과, 상기 액상 생성물에 함유된 유기산을 혐기 광합성 수소생산 세균을 광합성 생물 반응기에 장착하여 연속적으로 광발효시켜 유기산으로 부터 다시 수소를 생산하는 광합성 생물반응으로 이루어지는 것을 특징으로 하는 유기성 폐기물의 생물학적 반응에 의한 수소 생산방법이 개시되어 있다.
- <29> 그러나 이들 방법은 일반적으로 연속 교반 탱크 반응기(continuous stirred tank reactor, CSTR)을 사용하기 때문에 워시아웃(washout)에 의한 바이오매스의 소실이 쉽게 일어나므로 반응기 내의 바이오매스의 농도를 높게 유지하기 어렵다는 문제가 있다.
- <30> 상기 문제를 해결하기 위하여 종래 연속 교반 탱크 반응기 대신 다른 형태의 반응기, 예를 들면 트리클링 베드 반응기(trickling bed reactor, TBR) 등을 사용하여 생물학적으로 수소를 생산하는 방법이 연구되고 있다.
- <31> 상기 트리클링 베드 반응기는 하부에 바이오필터가 구비되어 있는 컬럼형 원통 반응기로서, 주로 고농도의 폐수를 처리하는 데 사용되어 왔으며, 상기 폐수는 트리클링 베드 반응기 내 바이오필터가 부착된 기질(matrix)을 연속적으로 통과하면서 정화된다[Bailey JE, Ollis DF, (1986), Biochemical engineering fundamentals, 2nd ed. Singapore: McGraw-Hill, 606-619]. 또한, 상기 트리클링 베드 반응기는 악취를 제거하는 목적으로 연구되었고[Okkerse WJH, Ottengraf SPP, Osinga-Kuipers B, Okkerse M. (1999), Biomass accumulation and clogging in biotrickling filters for waste gas treatment. Evaluation of a dynamic model using dichloromethane as a model pollutant. *Biotechnol Bioeng* 63:418-430], 생물학적 수소 생산 방법으로는 주로 고온(45 ~ 65℃) 발효에 의한 수소 생산 방법이 연구되었다[Husen Zhanga, Mary Ann Brunsb, Bruce E. Logana, *WATER RESEARCH*, 40, (2006), 728-734; You-Kwan Oh, Seo Hyoung Kim, Mi-Sun Kim, Sunghoon Park, *Biotechnology and Bioengineering*, 88, 6, (2004), 690-698].
- <32> 그러나 상기 트리클링 베드 반응기를 이용한 고온 발효에 의한 수소 생산 방법은 중온 발효보다 더 많은 에너지를 공급해주어야 하며, 아직까지 수소의 생산량이 낮아 만족할 만한 수준에 이르지 못하고 있다.
- <33> 이에, 본 발명자들은 사용되는 에너지의 양을 감소시키면서 수소의 생산량을 증가시키기 위한 생물학적 수소 생산 방법을 연구하던 중, 상기 트리클링 베드 반응기를 최적의 조건으로 운전할 때, 중온(25 ~ 40℃)에서도 수소생산 미생물의 농도를 증가시켜 수소생산량을 증가시킬 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <34> 본 발명의 목적은 트리클링 베드 반응기를 사용하여 수소 생산량을 증대하기 위한 생물학적 수소 생산방법을 제공하는 데 있다.

발명의 구성 및 작용

- <35> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- <36> 미생물을 이용한 생물학적 수소 생산방법에 있어서,
- <37> 기질을 혐기성 미생물이 부착된 담체가 충전되어 있는 생물 반응기에 로딩하는 단계(단계 1);
- <38> 상기 단계 1에서 로딩된 기질을 생물 반응기에 통과시켜 담체에 부착되어 있는 혐기성 미생물에 의해 발효시켜 수소를 발생시키는 단계(단계 2); 및
- <39> 상기 단계 2에서 상기 혐기성 미생물과 반응하지 않고 그대로 생물 반응기를 통과한 여분의 기질을 재순환시켜 재로딩하는 단계(단계 3)를 포함하여 이루어지는 생물학적 수소 생산방법을 제공한다.
- <40> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <41> 본 발명에 따른 생물학적 수소 생산방법에 있어서, 상기 수소 생산은 생물 반응기를 포함하는 일반적인 생물학적 수소 생산 공정을 통하여 이루어질 수 있으며, 상기 생물학적 수소 생산 공정의 일 실시형태를 도 1에 나타내었다.
- <42> 도 1에 나타난 바와 같이, 상기 수소 생산 공정은 수소생산용 반응기에 운전시 배출되는 가스량을 측정하기 위한 수단, 기질을 주입하는 수단 및 반응기에 반응하고 남은 기질을 재순환하는 수단을 포함하여 이루어질 수 있으며, 이때 반응기 운전시 상기 주입되는 기질의 농도, 수리학적 체류시간(Hydraulic Retention Time, HRT), 반응기 내 pH, 온도, 재순환 속도 등의 여러 조건들이 최적화될 때 높은 수소 생산량을 얻을 수 있다.
- <43> 이하에서는 본 발명에 따른 수소 생산 방법의 각 단계를 상세하게 설명한다.
- <44> 먼저, 단계 1은 기질을 혐기성 미생물이 부착된 담체가 충전되어 있는 생물 반응기에 로딩하는 단계이다.
- <45> 본 발명에 따른 생물학적 수소 생산방법에 있어서, 상기 기질은 음식물 쓰레기, 식품가공 공정의 배출수 및 하수처리장의 슬러지를 포함하는 혼합기질, 또는 자당, 포도당 및 유당을 포함하는 순수기질을 사용할 수 있다.
- <46> 다음으로, 단계 2는 상기 단계 1에서 로딩된 기질을 생물 반응기에 통과시켜 담체에 부착되어 있는 혐기성 미생물에 의해 발효시켜 수소를 발생시키는 단계이다.
- <47> 본 발명에 따른 생물학적 수소 생산방법에 있어서, 사용되는 생물 반응기는 혐기성 미생물이 부착된 담체가 충전된 반응기인 것이 바람직하며, 특별히 제한되지 않으나, 베드로서 담체가 균일하게 충전되어 있는 트리클링 베드 반응기를 사용하는 것이 바람직하다.
- <48> 이때, 상기 혐기성 미생물은 특별히 제한되지 않으나, 25 ~ 40 °C의 온도 범위에서 기질을 발효시키는 중온성 혐기성 미생물인 것이 바람직하다. 상기 중온성 혐기성 미생물을 사용하면 종래의 고온 혐기성 미생물을 사용할 때보다 미생물의 활성을 증가시키기 위한 에너지를 절감할 수 있다.
- <49> 본 발명에 따른 생물학적 수소 생산방법에 있어서, 사용되는 상기 중온성 혐기성 미생물은 특별히 제한되지 않으며, 통상적으로 시판되는 것을 사용할 수 있으나 바람직하게는 일반적인 하수 처리장의 혐기성 슬러지를 80 ~ 120 °C에서 10 ~ 20분 동안 가열하여 우점화시킨 것을 사용할 수 있다. 상기 우점화 방법은 상기 중온성 혐기성 미생물의 입수를 용이하게 하며, 방법이 간단하여 경제적인 장점이 있다.
- <50> 본 발명에 따른 생물학적 수소 생산방법에 있어서, 상기 담체는 친수성 또는 소수성 담체를 사용할 수 있으며, 상기 친수성 담체는 다공성 폴리비닐알콜(PVA) 재질로 이루어지는 것이 바람직하고, 상기 소수성 담체는 다공성 폴리우레탄(PU), 활성탄 등의 재질로 이루어지는 것이 바람직하다.
- <51> 이때, 상기 담체는 미생물의 부착 효율을 높이고 워시아웃을 최소화하기 위해 미생물과의 충분한 접촉면적을 갖는 다공성 담체인 것이 바람직하다. 상기 다공성 담체 내에서 수소생산용 중온성 혐기성 미생물이 고정되어 빠른 유입수의 흐름에서도 미생물이 워시아웃되지 않고, 미생물의 우점화 및 증식이 용이하게 된다. 또한 다공성 담체 내의 기공을 통해 수소 방출이 용이하여 수소생산량을 증가시킬 수 있다.
- <52> 또한, 상기 담체 내의 미생물 부착 효율을 더욱 향상시키기 위해 반응기 운전시 초기 HRT를 전체 수소 생산과정의 최저 HRT의 55 ~ 60배로 유지하는 것이 바람직하다. 상기 HRT로 약 14 ~ 30일 정도 유지하였을 때, 반응기에서 안정적인 수소생산이 이루어질 수 있다.
- <53> 본 발명에 따른 수소 생산 방법에 있어서, 미생물에 의해 발효가 일어나는 상기 트리클링 베드 반응기 내의 pH는 4.5 ~ 6.5로 유지시키는 것이 바람직하다. 상기 범위에서의 수소 생산은 다른 메탄 생성 미생물에 저해 효

과를 나타내므로 바람직한 수소 생산을 일으킬 수 있다.

- <54> 본 발명에 따른 수소 생산 방법에 있어서, 박테리오신(bacteriocin)과 같은 항균물질 또는 젖산을 생성하는 미생물의 생성에 의해 수소 생산 미생물의 수가 감소함으로써 수소 생산 속도가 저하되는 것을 방지할 수 있도록 상기 트리클링 베드 반응기에 로딩되는 기질의 농도를 조절하는 것이 바람직하다.
- <55> 상기 트리클링 베드 반응기에서 안정적인 수소생산이 이루어진 후, 상기 수소생산 미생물이 담체에 적절히 부착되어 0.5 시간의 짧은 HRT와 기질을 40 g/l의 높은 농도로 하여 운전할 때에도 워시아웃 현상을 일으키지 않으며, HRT가 짧아질수록 수소 생산 미생물이 새로운 기질과 접촉하는 면적이 넓어져 수소의 생산을 증가시킨다. 그러나 시간이 지날수록 수소 생산 미생물과 함께 젖산을 생산하는 미생물 또한 담체에 부착되어 점차 증가하게 된다. 상기 젖산의 증가는 수소를 소모시키며, 젖산을 생산하는 미생물이 분비하는 박테리오신 물질 그 자체가 항균제로서 작용하여 다른 균, 특히 수소를 생산하는 미생물의 생육을 억제시킨다[I. M. Helander., A. von Wright and T-M. Matilla-Sandholm. "Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against gram-negative bacteria." Trends in food Sci & Tech 8. 5. 1997. 146-150].
- <56> 또한, 노이케(Noike) 등은 수소 생산에서 수소의 생산을 저하시키는 것은 젖산의 생성 때문이 아니라 수소 생산 균을 저해시키는 박테리오신에 의한 작용이라고 보고한 바가 있다. 특히, 젖산을 생산하는 균주에서 생산된 니신(nisin)과 같은 박테리오신은 그람 양성균에 대해 항균활성을 갖는데 수소 생산 미생물의 대표적인 클로스트리듐 균주 대부분이 그람 양성균에 속하기 때문에 젖산의 증가는 수소 생산에 심각한 타격을 입힌다. 또한, 이러한 박테리오신은 포자를 형성하는 균인 클로스트리듐 균주, 바실러스 균주의 포자에 대해서도 심한 항균 활성을 갖는다.
- <57> 이와 같이, 젖산을 생산하는 미생물들은 수소 생산 미생물과 기질 경쟁관계에서 있고, 생성되는 부산물이 수소 생산 미생물의 생성을 저해하기 때문에 수소 생산 공정시 이러한 젖산의 생산이 최소화도록 로딩되는 기질의 농도를 조절하여야 한다.
- <58> 다음으로, 단계 3은 상기 단계 2에서 상기 혐기성 미생물과 반응하지 않고 그대로 생물 반응기를 통과한 여분의 기질을 재순환시켜 재로딩하는 단계이다.
- <59> 본 발명에 따른 수소 생산 방법에 있어서, 상기 생물 반응기를 통과한 여분의 기질을 재순환시키는 속도는 재순환빈도에 비례하여 증가시키는 것이 바람직하다.
- <60> 본 발명에 따른 수소 생산 방법에 있어서, 상기 반응기 운전시 주입되는 기질에 따라 상기 기질의 농도, HRT, 재순환 속도 등의 운전 환경을 최적화시킴으로써 수소 생산량을 증대시킬 수 있다. 일례로 상기 기질이 자당이고 생물 반응기가 트리클링 베드 반응기인 경우, 기질 농도는 15 ~ 40 g/l 이고, 담체 내에 미생물 부착 효율을 증가시키기 위한 초기 HRT는 29 ~ 30시간이고, 최저 HRT는 0.1 ~ 0.5시간이며, 재순환속도는 6 ~ 50 ml/분인 것이 바람직하다.
- <61> 본 발명에 따른 수소 생산 방법은 베드로서 다공성 담체가 균일하게 충전되어 있는 트리클링 베드 반응기를 사용하므로 수소 생산용 혐기성 미생물이 담체에 부착하기 용이하여 빠른 HRT에서도 워시아웃 현상이 일어나지 않으며, 상기 미생물이 생산한 수소가 담체 내의 기공을 통하여 방출되는 것이 용이하다. 또한 사용되는 상기 혐기성 미생물은 입수하기 용이한 하수 슬러지에서 간단한 열처리로 중온성 수소 생산 미생물이 우점화되므로 경제적이고, 고온성 수소 생산 미생물을 사용하는 것보다 에너지를 절약할 수 있다. 나아가, 상기 트리클링 베드 반응기를 최적의 조건으로 운전함으로써 기질의 전환율이 90 % 이상이며 수소 함유량이 50% 이상인 높은 수소 생산량을 얻을 수 있다(도 3 및 도 4 참조).
- <62> 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- <63> <실시예 1> 혐기성 미생물이 고정된 소수성 다공성 담체를 포함하는 수소생산용 반응 공정
- <64> 다공성 형태의 폴리우레탄(PU)으로 이루어진 가로, 세로, 높이가 각각 5 mm의 담체를 직경 4 cm, 높이 40 cm의 컬럼 형태의 원통형 트리클링 베드 반응기에 채웠다. 수소생산을 위한 미생물은 서울시 J 하수처리장의 혐기성 슬러지를 100 ℃에서 15분간 가열하여 중온성 미생물을 우점화하여 사용하였다. 상기 반응기에 우점화된 수소 생산용 미생물을 넣어 본 발명에 따른 수소생산용 반응기를 제조하였다. 상기 수소생산용 반응기를 사용하여 도 1과 같이 수소생산용 반응기를 운전하기 위한 장치를 제작하였다. 구체적으로 상기 수소생산용 반응기에 운전시 배출되는 가스량을 측정하기 위해 습식가스미터(Wet gas meter)(WN-KO.5B, 시나가와)를 설치하였으며, 연

동펌프(peristaltic pump)를 이용하여 배지를 주입하고, 일정량을 재순환할 수 있도록 하였다.

<65> 수소 생산에 이용된 기질은 자당을 사용하였으며, 유입수에는 기질 외에 하기 표 1에 나타난 무기물을 포함하였다.

표 1

<66> **무기물의 함량**

성분	농도(g/ℓ)
NH ₄ HCO ₃	5.24
NaHCO ₃	6.72
K ₂ HPO ₄	0.125
MgCl ₂ · H ₂ O	0.100
MnSO ₄ · 6H ₂ O	0.015
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.025
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.005
CoCl ₂ · 5H ₂ O	1.25 × 10 ⁻⁴

<67> 이후 상기 반응기 운전에 있어서, 기질 농도는 40 g/ℓ 이고, 초기 HRT는 29시간이고, 최저 HRT는 0.5 시간이며, 재순환속도는 50 ml/분으로 설정하여 운전하여 수소를 생산하였다.

<68> <분석>

<69> 상기 제조된 수소생산용 반응기를 주사전자현미경으로 관찰한 결과를 도 6에 나타내었다.

<70> 도 6에 나타난 바와 같이, 담체 내 다공성 기공 안에 수소생산용 미생물이 고정되어 있음을 확인하였다.

<71> <실시예 2> 혐기성 미생물이 고정된 친수성 다공성 담체를 포함하는 수소생산용 반응 공정

<72> 상기 담체의 재질이 폴리비닐알콜(PVA)인 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 수행하여 수소를 생산하였다.

<73> <실험예 1> 다공성 담체를 포함하는 수소생산용 반응기의 운전 특성

<74> 본 발명에 따른 혐기성 미생물이 고정된 다공성 담체를 포함하는 수소생산용 반응기의 운전에 있어서 수소생산을 극대화하고 수소생산에 최적화된 조건을 찾기 위하여 재순환속도를 6 ~ 50 ml/min, 자당 농도를 5, 25, 40 g/ℓ, HRT를 0.5 ~ 29 시간으로 변화시키면서 230일 동안 수소, 이산화 탄소, 젖산(lactic acid), 부티르산(butyric acid) 등의 생성량을 측정하였다.

<75> 반응기 운전 중 발생한 수소 및 이산화탄소는 샘플링 포트(sampling port)에서 가스 타이트 주사기(gas tight syringe)로 0.1 ml 채취하여 열전도도 검출기(TCD)를 장착한 가스 크로마토그래피(agilent 6890N)를 사용하여 분석하였다. 또한 불꽃 이온화 검출기(FID)를 장착한 가스 크로마토그래피(agilent 6890N)를 사용하여 반응기에서 생산되는 액체의 휘발성 지방산(Volatile Fatty Acid, VFA) 및 에탄올의 양을 측정하였다. 자당 및 젖산의 농도는 일일 2 ml씩 시료를 채취하여 reflect quant strip(Merk co., Ltd, 자당 테스트 및 젖산 테스트 스트립)을 이용하여 측정하였다. pH는 pH미터(orion Model 290A)를 이용하여 측정하였으며 일일 2회 측정하였다.

<76> <1-1> 자당의 농도에 따른 수소생산량의 영향

<77> 실시예 1 및 2에 따른 반응기 내 담체에 미생물 부착을 돕기 위하여 유입되는 자당 농도를 25 g/ℓ 로, 수리학적 체류 시간(Hydraulic Retention Time, HRT)을 29시간으로 운전하였다. 또한 재순환 속도를 6 ml/min에서 50 ml/min까지 점차 증가시켰다.

<78> 30일 후, 반응기 운전상태가 정상 상태가 되었을 때, 자당 농도를 시간이 지남에 따라 단계적으로 5, 40, 25, 15 g/ℓ 로 변화시키면서 이때의 수소생산량, pH, 젖산 및 부티르산의 양을 측정하여 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

<79> 도 3 및 도 4는 시간에 따라 유입된 자당 농도에 의한 수소생산량을 나타내는 그래프로서, 구체적으로 (a) 수소

생산속도(●)와 필요한 조건(자당의 농도(□), HRT(△), 재순환 속도(■))의 관계, (b) 바이오가스 내 수소 함량(●)과 이산화탄소의 함량(○)의 관계, (c) 자당 전환율(%), (d) pH(●)와 수소생산속도(○)의 관계, (e) 부티르산(●)과 아세트산(○)의 관계, 및 (f) 젖산(○)과 수소생산속도(●)의 관계를 나타낸 그래프이다.

<80> 먼저 반응기 운전상태가 정상 상태가 되었을 때, 자당 농도를 5 g/l로 바꾸었는데 낮은 자당 농도에 의해 수소의 생산량이 급격히 떨어져 반응기를 지속적으로 운전할 수 없었다. 따라서 기질 농도를 다시 높여 운전하였다.

<81> 반응기 운전 52일 후부터는 자당 농도를 40 mg/l의 고농도로 바꾸어 반응기 운전을 수행하였다. 도 3 및 4의 (a)에 나타낸 바와 같이, 각각 70, 90일에 반응기에서 최대 수소 생산속도를 나타내었으며, 구체적으로 실시예 1의 소수성 담체를 이용한 반응기에서는 10.5 l/l/hr, 실시예 2의 친수성 담체를 이용한 반응기에서는 5.6 l/l/hr의 생산량을 나타내었다. 또한 자당의 전환율은 60% 정도였으며, 수소함량은 50%로 유지되었다. 이때의 pH는 5.5 ~ 6.5로 유지되었다. 이러한 수소의 급격한 증가로 인해 수소생산에 효과적인 미생물이 우점화됨을 알 수 있다.

<82> 그러나 70일 후부터는 자당의 전환율이 30%까지 감소되었다. 이는 도 3 및 4의 (f)에 나타낸 바와 같이, 젖산과 같은 휘발성 지방산의 과량 생성에 의해 반응기 상단이 막힘과 동시에 박테리옌(bacteriocin)과 같은 물질을 내는 다양한 균의 길항작용으로 수소 생성균의 수소 생산을 막기 때문이다. 따라서 이 문제를 해결하기 위해 120일 ~ 140일 사이에 종래 배지의 분산을 위해 사용하던 철 수세미를 직경 3 ~ 4 mm 망으로 교체하였으며, 이후 다시 수소 생산량이 증가함을 알 수 있다.

<83> 170일에 자당 농도를 25 g/l로 변경한 경우, 7.8 l/l/hr의 수소 생산량을 유지하였으며, 자당 전환율은 90% 이상 유지되었으며 부티르산의 양은 10,000 mg/l로 증가하였으며, 젖산의 생산량은 5,000 mg/l에서 2,000 mg/l로 감소하였다. 상기 부티르산농도(B)/아세트산농도(A)의 비는 수소생산에서 적절한 조건을 맞추기 위해서 고려되어지는데 B/A의 비가 높게 유지될 때에 수소의 생산이 가능한 미생물들이 증가하여 소모된 기질 대비 수소생산 효율이 높은 것으로 알려져 있다. 이를 통해 반응기의 안정적인 수소생산, 높은 기질 분해 효율을 위해서는 이 같은 기질 농도를 유지하는 것이 효과적임을 알 수 있다.

<84> 210일에 자당 농도를 15 g/l로 변경한 경우, 도 3 및 도 4의 (d)에 나타낸 바와 같이, pH는 6.5 ~ 6.7로 유지되며, 기질의 전환율은 95% 이상이고, 아세트산의 양은 약 3,000 mg/l까지 증가하였고, 부티르산의 양은 약 10,000 mg/l에서 4,000 mg/l로 감소하였다. 상기 아세트산의 증가는 수소를 이용하여 아세트산을 생성하는 미생물이 증가됨을 알 수 있다.

<85> <1-2> HRT에 따른 수소생산량의 영향

<86> 실시예 1 및 2에 따른 반응기에서 HRT를 29시간에서 0.5시간의 빠른 HRT로 변화시키고 자당을 40 g/l의 높은 농도로 운전하면서 워시아웃 현상이 일어나는지 관찰하였다. 그 결과, 워시아웃 현상이 일어나지 않았으며, 수소생산량이 증가하였다(미도시).

<87> 일반적으로 워시아웃 현상은 반응기 내에 있는 미생물의 증가속도보다 상대적으로 기질이 들어와서 배출되는 속도가 더 빠르기 때문에 발생한다. 그러나 본 발명의 반응기는 미생물이 담체에 부착되어 있으므로 짧은 HRT에서도 충분히 견딜 수 있으며, HRT가 짧아질수록 수소생산 미생물이 새로운 기질과 접촉하는 면적이 넓어져 수소의 생산이 증가하는 것이다.

<88> 따라서 본 발명에 따른 반응기는 빠른 HRT와 높은 농도의 유입수에도 워시아웃이 일어나지 않고 수소 생산량이 증가하므로 수소생산에 유용하게 사용될 수 있다.

<89> <1-3> 수소생성 저해작용

<90> 본 발명에 따른 수소 생산 공정에서 반응기 운전시 최적 조건에서 70 ~ 90일에 최대 수소 생산속도를 나타내었으나 이후 시간이 지날수록 수소 생산량이 감소하였다.

<91> 상기 생물학적 수소 생산 방법에 있어서, 상기 수소 생산량 감소는 크게 두 가지 원인으로 생각할 수 있다.

<92> 첫번째는 반응기 내의 기체분압에 따른 수소 생성 저해작용이다.

<93> 혐기성 미생물에 의한 발효로 인해 수소가 생성되는 경우, 기질이 전환되어 수소가 생성되나, 이와 함께 아세트산 또는 부티르산 또한 생성된다. 이때 부티르산에 대한 아세트산의 비가 높게 유지될 때에 수소의 생산이 가능한 미생물들이 증가하여 소모된 기질 대비 수소 생산 효율이 높은 것으로 알려져 있다.

- <94> 이때, 반응기 내에 기체분압은 수소 생산에 큰 영향을 미치는데 100 Pa 이상에서는 수소 생산의 저감에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 또한, 상기 기체분압이 60 Pa 이상에서는 부티르산의 생산이 증가하며, 기체분압이 더 높아지면 부티르산의 생산보다 프로피온산의 생산이 우월한 것으로 알려져 있다.
- <95> 둘째로, 상기 수소 생성 저해작용에 대해 노이크(Noike) 등은 수소 생산균을 저해시키는 박테리오신에 의한 작용이라고 보고한 바가 있다. 특히, 젖산을 생산하는 균주에서 생산된 니신(nisin)과 같은 박테리오신은 그람 양성균에 대해 항균활성을 갖는데 수소 생산 미생물의 대표적인 클로스트리듐 균주 대부분이 그람 양성균에 속하기 때문에 젖산의 증가는 수소 생산에 심각한 타격을 입힌다고 알려졌다.
- <96> 따라서, 상기 수소 생산 저해 원인을 알아보기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.
- <97> 실시예 1 또는 실시예 2의 반응기 운전시, 시간에 따라 프로피온산(propionate)의 농도를 측정하였다. 구체적으로 불꽃이온화 검출기(FID)를 장착한 가스 크로마토그래피(agilent 6890N)를 사용하여 반응기에서 생산되는 프로피온산의 양을 측정하여 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- <98> 도 5에 나타낸 바와 같이, 수소의 생산이 감소될 시점(약 70 ~ 90일 후)에서 프로피온산의 생산도 지속적인 감소를 보임을 알 수 있다. 따라서 상기 수소 생산 저해는 프로피온산에 의한 수소 생산 저해보다는 젖산을 생산하는 균이 생성하는 부산물에 의한 수소 생산 저해가 주로 작용함을 알 수 있다.
- <99> <실험예 2> 미생물 균집 분석
- <100> 본 발명에 따른 반응기의 다공성 담체 내 고정화된 미생물을 이용하여 수소를 생산하는 과정에서 담체 내 미생물 균집의 변화가 수소생산량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 제한효소 다형법(Terminal-Restriction Fregment Length Polymorphism; T-RFLP)을 이용하여 분석하였다.
- <101> 균집 분석을 위한 시료는 안정적인 수소생산을 보일 때와 수소생산이 감소되어 반응기가 불안정한 때에 취하였다.
- <102> 16S r-RNA를 증폭하기 위하여 유니버설 프라이머로서 8f(5'-(FAM)- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 926r (5'-CCGTCATTCCTTTRAGTTT -3')를 사용하였으며, 제한효소 HhaI, HaeIII, AluI를 이용하여 절단하였다. 이후, ABI PRISM 3100 automated sequencer (Applied Biosystems)를 이용하여 T-RFLP 패턴을 확인하였다.
- <103> T-RFLP 결과로부터 얻은 DNA 단편의 길이를 이용하여 유사도, $C_s = 2M_{ab}/(M_a + M_b)$ 를 구하였다. 덴드로그램(Dendrogram)을 이용하여 각 미생물 균집에 대한 유사도를 측정하여 도 2에 나타내었다.
- <104> 이때, 소수성 담체를 사용한 반응기에서 수소 생산 효율이 가장 높을 때의 반응기 내 미생물 우점화 형태를 PhobicH로 나타내었고, 수소 생산 효율이 가장 낮을 때의 우점화 형태를 PhobicL로 나타내었다. 마찬가지로 친수성 담체를 사용한 반응기에서 수소 생산 효율이 가장 높을 때의 우점화 형태를 PhilicH로 나타내었고, 수소 생산 효율이 가장 낮을 때의 우점화 형태를 PhilicL로 나타내었다.
- <105> 도 2에서 나타낸 바와 같이, 친수성과 소수성 담체를 이용한 두개의 반응기에서 수소 생산 효율이 높았을 때의 반응기 내 미생물의 우점화 형태가 서로 유사한 것을 알 수 있다. 이러한 결과로부터 수소 생산에 적합한 반응기 내 미생물의 우점화 형태를 알 수 있으며, 본 발명에 따른 반응기는 특정한 미생물의 우점화를 도울 수 있는 담체를 이용하므로 수소 생산에 효과적으로 사용될 수 있다.

발명의 효과

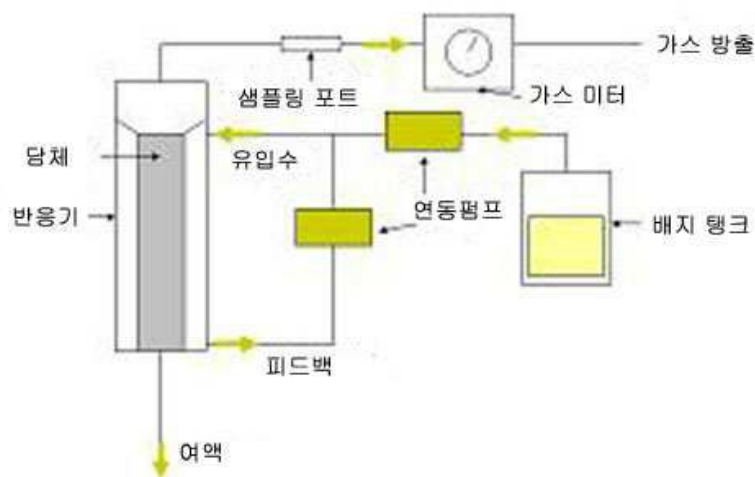
- <106> 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 수소 생산 방법은 베드로서 다공성 담체가 균일하게 충전되어 있는 트리클링 베드 반응기를 사용하므로 수소 생산용 혐기성 미생물이 담체에 부착하기 용이하여 빠른 HRT에서도 워시아웃 현상이 일어나지 않으며, 상기 미생물이 생산한 수소가 담체 내의 기공을 통하여 방출되는 것이 용이하다. 또한 사용되는 상기 혐기성 미생물은 입수하기 용이한 하수 슬러지에서 간단한 열처리로 중온성(25 ~ 40 ℃) 수소 생산 미생물이 우점화되므로 경제적이고, 고온성 수소 생산 미생물을 사용하는 것보다 에너지를 절약할 수 있다. 나아가, 상기 트리클링 베드 반응기를 최적의 조건으로 운전함으로써 기질의 전환율이 90 % 이상이며 수소 함유량이 50% 이상인 높은 수소 생산량을 얻을 수 있으므로 생물학적 수소생산에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

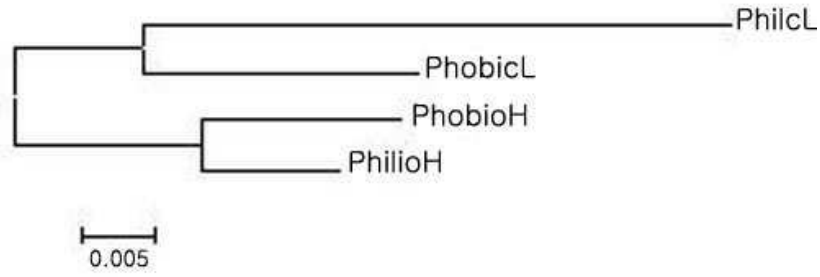
- <1> 도 1은 본 발명에 따른 트리클링 베드 반응기를 사용한 수소생산공정의 개략도이다.
- <2> 도 2는 본 발명의 일실시예에 따른 수소생산 과정에서 담체 내 미생물 군집의 변화를 나타내는 텐드로그램이다.
- <3> 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 소수성 담체를 포함하는 반응기 운전시 시간에 따라 유입된 자당 농도에 의한 수소생산량을 나타내는 그래프이다:
- <4> (a) 수소생산속도(●)와 필요한 조건(자당의 농도(□), HRT(△), 재순환 속도(■))의 관계;
- <5> (b) 바이오가스 내 수소 함량(●)과 이산화탄소의 함량(○)의 관계;
- <6> (c) 자당 전환율(%);
- <7> (d) pH(●)와 수소생산속도(○)의 관계;
- <8> (e) 부티르산(●)과 아세트산(○)의 관계, 및 (f) 젖산(○)과 수소생산속도(●)의 관계).
- <9> 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 친수성 담체를 포함하는 반응기 운전시 시간에 따라 유입된 자당 농도에 의한 수소생산량을 나타내는 그래프이다:
- <10> (a) 수소생산속도(●)와 필요한 조건(자당의 농도(□), HRT(△), 재순환 속도(■))의 관계;
- <11> (b) 바이오가스 내 수소 함량(●)과 이산화탄소의 함량(○)의 관계;
- <12> (c) 자당 전환율(%);
- <13> (d) pH(●)와 수소생산속도(○)의 관계;
- <14> (e) 부티르산(●)과 아세트산(○)의 관계, 및 (f) 젖산(○)과 수소생산속도(●)의 관계).
- <15> 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 시간에 따라 유입된 자당 농도에 의한 친수성 담체(●) 또는 소수성 담체(○)에서 프로피온산 농도의 변화를 나타낸 그래프이다.
- <16> 도 6는 본 발명에 따른 반응기 내 담체를 나타낸 주사현미경사진이다:
- <17> (a) 50배 배율; (b) 3000배 배율; (c) 10000배 배율.

도면

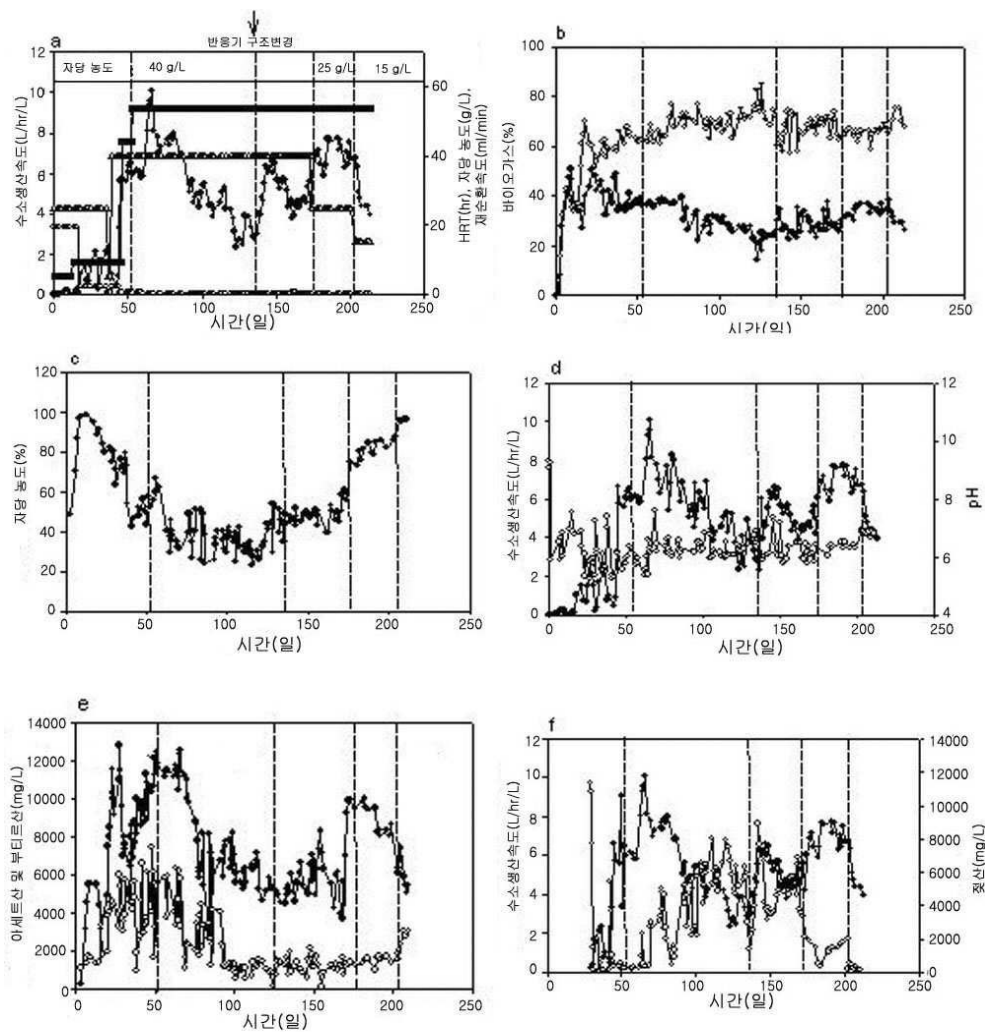
도면1



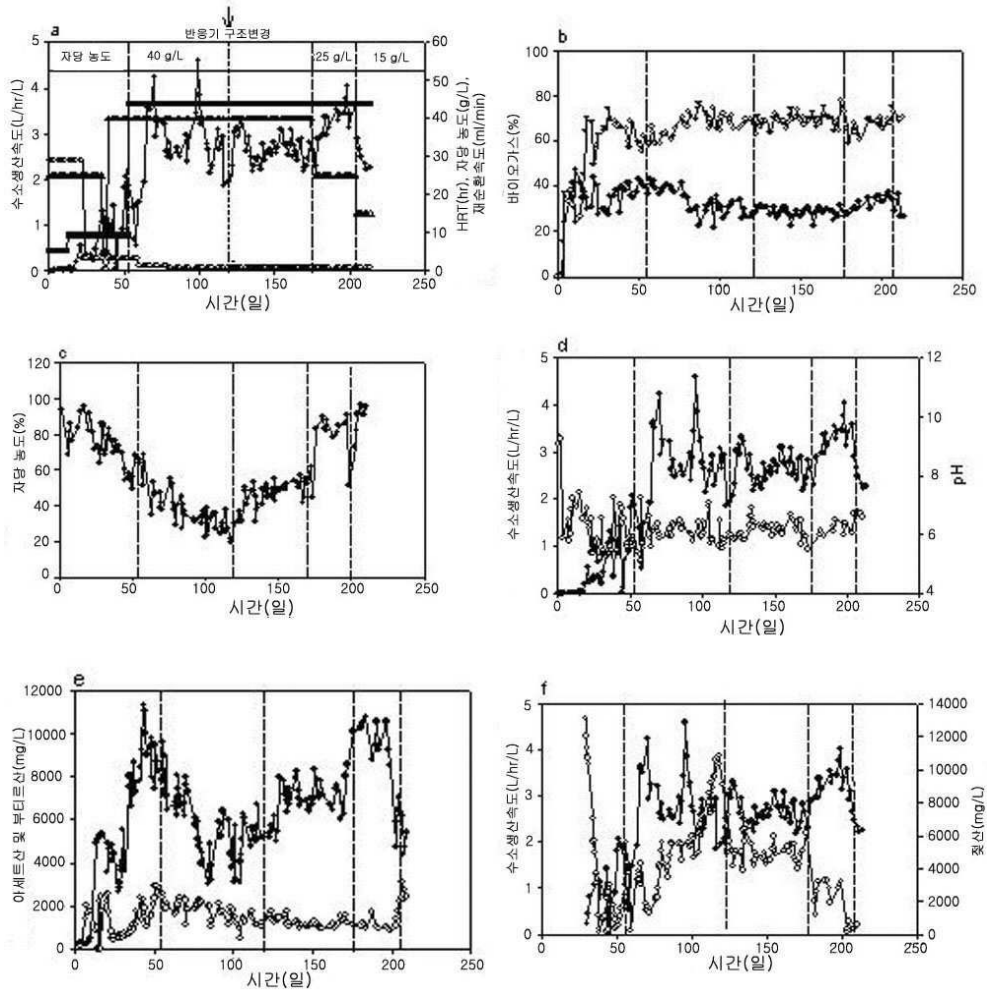
도면2



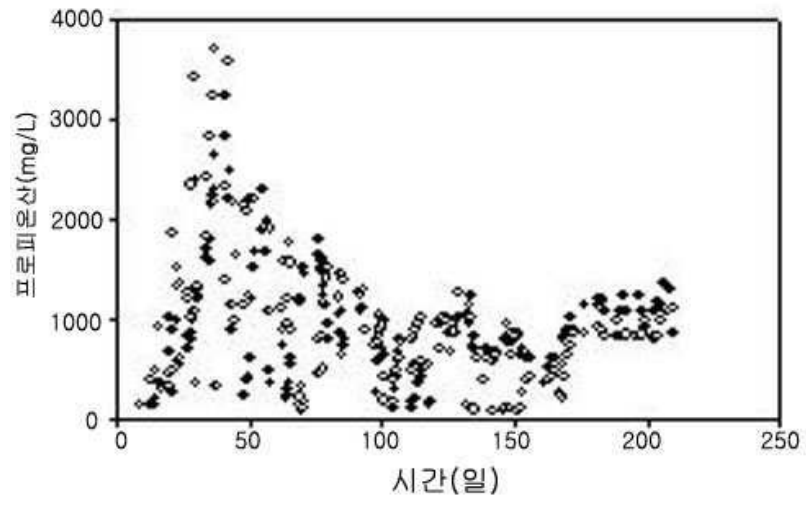
도면3



도면4



도면5



도면6

