HWAHAK KONGHAK Vol. 36, No. 1, February, 1998, pp. 78-84
(Journal of the Korean Institute of Chemical Engineers)

혐기성소화의 기질조성에 대한 CO_2 분압의 영향

김영철† · 이무강

경성대학교 공과대학 환경공학과
(1997년 7월 9일 접수, 1997년 12월 3일 채택)

Effects of PCO_2 on Substrate Compositions in Anaerobic Digestion

Young-Chur Kim† and Mu-kang Lee

Department of Environmental Engineering, Kyung-Sung University
(Received 9 July 1997; accepted 3 December 1997)

요 약

CO_2의 분압이 0.5기압일 경우 control 반응조와 비교해 메탄생성속도의 증가는 탄수화물을 기질로 사용한 반응조에서 20 %, 단백질을 사용한 반응조에서 29 %, 혼합기질 반응조에서는 26 %로 단백질인 경우가 가장 큰 증가를 나타내었다. 가수분해 세균수, 황산염 환원세균수 및 수소생성 acetogenic세균수는 CO_2 분압에 대해 거의 영향이 없었으며, 수소이용 메탄생성 세균수 및 Homoacetogenic 세균수는 CO_2의 분압이 0.1-0.6기압에서 CO_2 분압의 증가에 따라 세균수는 증가를 나타내었다. 초산이용 메탄생성 세균수는 CO_2의 분압이 0.7기압 이상에서 CO_2 분압의 저해로 인해 상당히 감소되었고, 초산분해 활성도 및 메탄생성 활성도는 CO_2의 분압이 0.5기압에서 가장 높은 것으로 나타났다. 또한, 메탄생성속도, 활성도 및 세균군에 대한 CO_2의 저해는 용액내의 유리 CO_2농도에 의존하는 것으로 판단된다.

Abstract—Effects of carbon dioxide partial pressure(PCO_2) and substrate compositions on the bacterial population, methane production rate and matter degradation in anaerobic digestion were investigated by using anaerobic chemostat type reactors at 35±1 ℃, at the HRT of 7 days. Two kinds of single substrate containing carbohydrate and protein, and mixed of these were used in this study. At PCO_2 of 0.5 atm, the specific methane production rate and specific substrate removal rate reached the maximum rates at the protein substrate reactor. At PCO_2 of 0.5 atm, the methane production rates in the reactors fed by carbohydrate, protein and mixed substrate were 20 %, 29 % and 26 % higher than those obtained under the controlled condition, respectively. The number of acetate consuming methanogenic bacteria enumerated by the MPN (most probable number) method, decreased when PCO_2 exceeded 0.7 atm. Hydrogen consuming methanogenic bacteria and homoacetogenic bacteria increased as PCO_2 increased from 0.1 to 0.6 atm, however, decreased slightly at PCO_2 above 0.7 atm. The number of hydrolytic bacteria, sulfate-reducing bacteria and H_2-producing acetogenic bacteria were not much influenced by the change of PCO_2. The potential methanogenic activity reached the maximum at PCO_2 0.5 atm, however, decreased significantly when PCO_2 exceeded 0.7 atm. It was considered that the inhibition of specific methane production rate at PCO_2 above 0.7 atm would depend on free CO_2 concentration in solution.

Key words: *PCO_2, Methane Production, Matter Degradation, Bacterial Number, Activity*

1. 서 론

혐기성소화는 호기성소화와 비교해 세균의 증식속도가 느려 긴 체류시간을 필요로 하며, 그로 인해 대용량의 반응조를 필요로 하고 있다. 이러한 단점을 극복하기 위한 연구가 급속히 진전되어, 반응조내의 미생물의 체류시간을 길게 유지할 수 있는 UASB법, 유동상법, 혐기성접촉법 등이 개발되어 보급되고 있다. 지구환경시대라고 일컬어지는 오늘에 있어 에너지회수형인 혐기성소화법의 중요성이 점차 재인식되고 있고, 기질제거의 촉진, 높은 활성도를 유지하는 혐기성세균의 탐색과 이용, 산생성균이나 메탄생성세균 이외의 세균의 활동에 의해 혐기성소화의 처리효율을 증가시키려는 새로운 방법이 시도되어 현재 연구가 왕성하게 진행되고 있는 실정이다.

최근 혐기성소화의 처리효율 및 메탄생성량을 증가시키는 방법으로 혐기성소화의 최종 부산물인 CO_2 가스를 혐기성소화조에 보다 많이 공급하여 처리효율을 향상시키는 것과 동시에 메탄생성량을 증가시키려는 새로운 방법이 보고되고 있다[1-4]. 그러나, 하수슬러지나 축산폐기물과 같이 기질조성이 복잡한 유기성폐기물을 CO_2 분압을 조절하여 처리할 경우 복잡한 유기물의 소화과정에 영향을 미치는 CO_2 분압의 영향을 규명하기 위해 각각의 유기물 성분의 소화과정을 파악해야 할 필요가 있다고 사료된다. 따라서, 본 연구는 탄

†E-mail : leemk@star.kyungsung.ac.kr

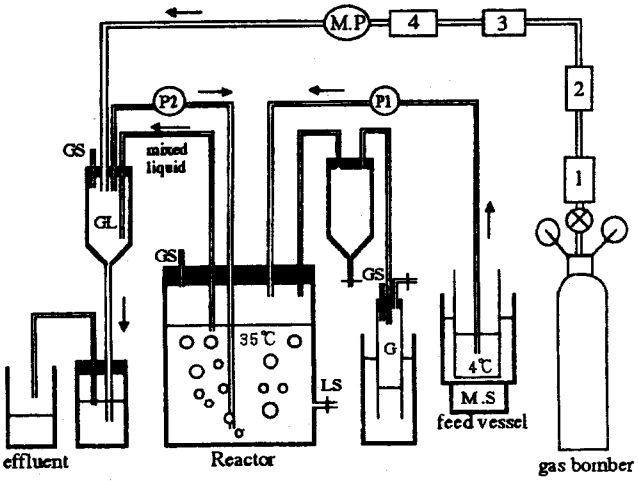

Fig. 1. Schematic of the continuous fermentation system.

GA: gas sampling port — LS: mixed liquid sampling port
MS: magnetic stirrer — P2: gas recirculation pump
P1: substrate micro pump — G: gas collection system
M.P: micro pump — GL: gas and liquid separator
1: gas clean filter — 2: oxygen trap
3: indicating oxygen trap — 4: silicagel trap & feed gas sampling port

수화물 및 단백질을 단일 기질로 하는 반응조와 하수슬러지의 유기물성분과 거의 같은 비율이 되도록 조절한 혼합기질을 이용하여 기질제거속도와 메탄생성속도 및 혐기성세균군에 미치는 CO_2 분압의 영향과 높은 CO_2 분압하에서 저해에 대하여 검토하였다.

2. 실험방법

2-1. 실험장치

실험에 사용한 장치를 Fig. 1에 나타내었다. 실험장치는 3 L의 유리용기로서 유효용적이 2 L인 chemostat형 반응조이다. 기질은 미량정량펌프를 사용하여 연속적으로 공급하였으며, 생성된 소화가스 및 공급한 가스는 혐기성 순환펌프를 이용하여 순환시킴으로서 기상부와 액상부간의 접촉이 원만히 되도록 하였고, 흡인력에 의해 연속적인 소화액의 유출이 가능하도록 제작하였다. 가스 시료채취구(G.S)는 여러 곳에 설치한 후, 각 시료채취구의 가스농도가 동일한 것을 확인한 후에 본 실험을 수행하였다. 또한, 본 실험을 수행하면서 주기적으로 각 가스채취구에서 가스농도를 확인하였다.

CO_2 및 N_2 가스의 공급은 회전식 미량정량펌프를 사용하여 연속적으로 공급하였으며, CO_2 분압은 반응조내의 기상부를 기준으로 가스크로마토그래피의 측정결과에 의해 조절하였다. 공급하는 가스 중의 불순물질과 미량의 산소를 제거하기 위해 가스 clean filter 및 산소제거칼럼을 설치하였고, 또한 산소검지칼럼을 설치해 가스 중의 산소의 유무를 확인했다. 발생한 가스는 물 속에 녹지 않도록 산성의 포화식염수(H_2SO_4, 2 %)에 의한 수상치환법을 이용하였고, 반응조내의 기압은 1기압이 되도록 유지하였다. 기질은 실온에서 변질되기 쉬우므로 냉각장치를 이용하여 기질 탱크내의 온도를 4±1 ℃로 유지하였다.

2-2. 유입기질 및 실험조건

반응조내의 온도는 35±1 ℃, HRT는 7일로 설정하였다. 실험에 사용한 기질의 조성은 Table 1에 나타내었다. 각 반응조의 유입 COD_{cr}농도는 탄수화물을 기질로 한 경우는 11,000 mg/L, 단백질을 기질로 한 경우는 13,400 mg/L, 혼합기질을 사용한 경우는 12,000 mg/L의 3단계로 설정하고, 기질조성에 따른 CO_2 분압의 영향에 대해 실험을 수행하였다. 각 기질조성에 따라 CO_2 분압을 조절하지 않은 상태(이하 control조라 한다)에서 탄수화물을 기질로 사용한 반응조는 0.4 기압, 단백질을 사용한 반응조는 0.2기압 및 혼합기질 반응조는 0.3 기압이었다. CO_2 분압의 조절은 control조의 CO_2 분압 보다 분압을 낮게 할 때는 질소가스를 공급하였으며, control조 보다 분압을 높게 할 때는 CO_2 가스를 공급하여 각각의 CO_2 분압을 조절하였다. 반응조내의 CO_2 분압의 조절은 각 CO_2 분압에서 ±2 %이하가 되도록 유지하였다. 각 조건의 실험에 대해 정상상태에 도달한 것을 확인하기 위해 가스생성량 및 가스조성은 1일 1회, VFA(Volatile Fatty Acid), CODcr, VSS 등은 1주일에 2-3회 측정을 하여 측정치가 안정되었을 때를 정상상태로 판정하고, 정상상태에서 6-7회 측정한 데이터의 평균값을 해석에 사용하였다.

Table 1. Composition of substrates(per liter)

Components	Carbohydrate	Protein	Mixed
Starch	10.0 g	–	6.0 g
Peptone	–	10.8 g	3.04 g
Yeast extract	–	–	3.04 g
KH_2PO_4	0.4 g	0.4 g	0.4 g
K_2HOP_4	0.4 g	0.4 g	0.4 g
NH_4Cl	3.0 g	3.0 g	3.0 g
$MgSO_4$	0.4 g	0.4 g	0.4 g
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.05 g	0.05 g	0.05 g
$NaHCO_3$	6.0 g	–	3.0 g
Mineral sol.[a]	10 mL	10 mL	10 mL

[a]Contains in milligrams per liter of distilled water: $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 120; $AlK(SO_4)_2$ 10; NaCl 1000; Na_2MoO_4 10; $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ 400; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 100; $ZnCl_2$ 100; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 10; H_3BO_3 10; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 20.

2-3. 측정방법

가스 생성량은 가스수집 cylinder의 눈금의 변화를 측정해 그 체적을 표준상태(0 ℃, 1기압)에서 가스량으로 환산한 것이다. 가스조성(CH_4, CO_2, N_2)의 분석은 TCD gas chromatography(Shimadzu GC-8A)를 사용하였고, VFA농도는 상징액에 1 N의 염산을 첨가하여 pH가 2이하가 되도록 조절한 후, FID gas chromatography(Shimadzu GC-8A)에 의해 측정을 하였다. 균체의 탄소농도측정은 시료의 변질을 막기 위해 얼음을 충진한 용기에 넣어 초음파처리(Branson Sonifier, 20 W, 3분)를 한 후, TOC분석기(TOC-5000, Shimadzu)에 의해 측정을 하였다. 각 수질항목은 혼합액을 14,000 rpm에서 40분간 원심분리하여 그 상징액을 분석에 사용하였다. MLVSS, COD_{cr}는 Standard Method[5], 탄수화물농도는 페놀 · 황산법[6]에 의해, 단백질농도는 Lowery법[7], DOC 및 IC는 TOC-5000에 의해 측정을 하였다.

2-4. 세균수의 측정방법

혐기성 상태의 조작은 Hungate 가스 주사법[8]을 이용하였고, 분사가스는 350 ℃의 환원동칼럼에 의해 산소를 제거한 가스를 사용하였다. 각 세균군의 선택배지는 기존의 연구자들[4, 9]의 배지를 참고로 하였으며, 수소이용 메탄생성세균 및 homoacetogenic 세균의 탄소원으로서 시험관의 기상부에 80 % H_2+20 % CO_2 혼합가스를 1.5 atm, 1분간 주입하였다. 각 세균군의 측정배지는 5단계 5개씩 접종하고, 36 ℃에서 배양하였다. 산생성세균은 3주간 배양하고 세균의 증식에 의해 생성한 백색의 침전물이 있는 것을 양성으로 판정하였다. 단백질 및 전분 가수분해세균은 3주간 배양하였으며, 단백질 가수분해세균은 배지에 네슬러 시약을 첨가할 때 대사산물인 암모니

아가 존재하므로서 갈색을 나타내는 것을 양성, 무색은 음성으로 판정하였다. 전분 가수분해세균의 측정은 페놀-황산법을 이용하여 발색시키고, 오렌지색을 띄면 양성, 흑갈색은 음성으로 판정하였다. 또한, 황산염 환원세균은 시험관이 검은색을 나타내는 것에 의해 판정하였다. 프로피온산분해 acetogenic세균, 낙산분해 acetogenic세균, 초산이용 메탄생성세균 및 수소이용 메탄생성세균은 6주간 이상 배양하였고, 시험관 기상부에 메탄가스가 0.5 %이상 존재하는 시험관을 양성으로 판정하였다[10-12]. homoacetogenic 세균은 6주간 이상 배양하였고, 생성된 초산농도로부터 판정하였다. 각 세균군의 세균수는 5-5-5법[5]의 최확수표에 의해 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 유출액의 성상 및 메탄생성속도의 변화

각 CO_2 분압에 대한 유출수의 성상 및 메탄생성속도에 미치는 영향을 검토하기 위해 각 조건에 대해서 1개월 이상의 운전을 계속하고 메탄생성속도 및 유출수의 농도로부터 정상상태에 도달한 것을 확인한 후 CO_2 분압을 변화시켰다.

각 기질조성 및 CO_2 분압에 대한 pH, MLVSS농도 및 COD제거율을 Fig. 2 및 3에 나타내었다. 각 CO_2 분압에 대한 pH는 CO_2 분압이 0.1-0.8기압에서 6.8-7.5를 보였다. 張 등[13]은 혐기성소화의 pH 영향에 대해 검토하고 반응조의 pH는 6.0-7.5에서 양호한 결과를 얻은 것을 보고하고 있으며, 또한 메탄생성상에 대한 최적 pH범위는 6.4-7.6이라는 결과로부터 본 실험은 pH에 의한 저해는 없는 것으로 사료된다. MLVSS농도는 CO_2 분압이 0.5-0.6기압에서 가장 낮은 농도를 보이고 있으며, 이 기압 보다 이하 및 이상의 기압에서는 높은 농도를 나타내고 있다. CO_2 분압이 0.5-0.6기압 보다 이하 및 이상에서 MLVSS농도가 높은 농도를 나타내는 것에 대해 메탄생성속도, 활성도 및 세균수로부터 3-4절에서 다시 후술하기로 한다.

Fig. 3의 COD제거율은 각 설정의 CO_2 분압에서 기질조성에 따라 차이를 나타내고 있으나 CO_2 분압이 0.5-0.6기압에서 COD제거율은

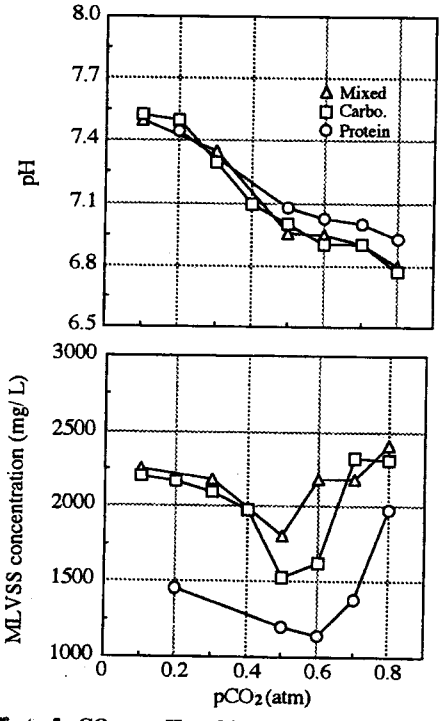

Fig. 2. Effect of pCO_2 on pH and MLVSS concentration.

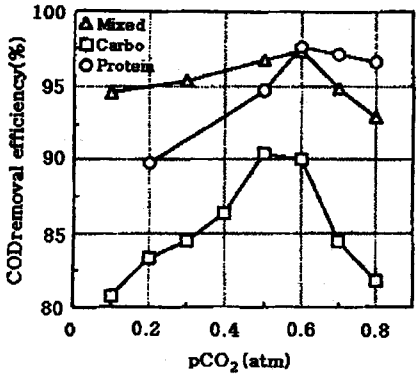

Fig. 3. Effect of pCO_2 on COD removal efficieney.

최대를 보이고 있다. CO_2 0.5기압 이하에서 CO_2 분압의 감소에 따른 COD제거율은 서서히 감소하는 경향을 보이고 있으며, CO_2 0.5-0.6기압에서 COD제거율은 CO_2 분압을 조정하지 않은 반응조와 비교해 약 3-5 %정도 증가하고 있다. 그러나, CO_2 0.7기압 이상이 되면 CO_2 분압에 의한 저해에 의해 COD제거율은 감소하였다.

Fig. 4의 비기질제거속도 및 비메탄생성속도는 CO_2 0.5-0.6기압에서 최대를 보이고 있으며, 이 기압 보다 이하 및 이상의 기압에서는 낮은 값을 나타내고 있다. Control조와 비교해 CO_2 분압이 0.5-0.6기압일 경우, 비기질제거속도 및 비메탄생성속도의 증가는 단백질을 기질로 사용한 반응조에서 가장 큰 것을 알 수가 있다. Mitz[14]에 의하면 CO_2는 물리화학적 작용에 의해 효소에 직접적인 영향을 미치고 수중의 단백질의 용해도 및 용해속도를 향상시키며 난용해성 단백질을 용해시키는 경우도 있다고 하였다. 본 연구에서도 단백질을 기질로 한 반응조에서 가장 큰 기질제거속도를 나타내고 있는 것은 위에서 언급한 연구결과에 의한 것으로 사료된다. 또한, Tan과

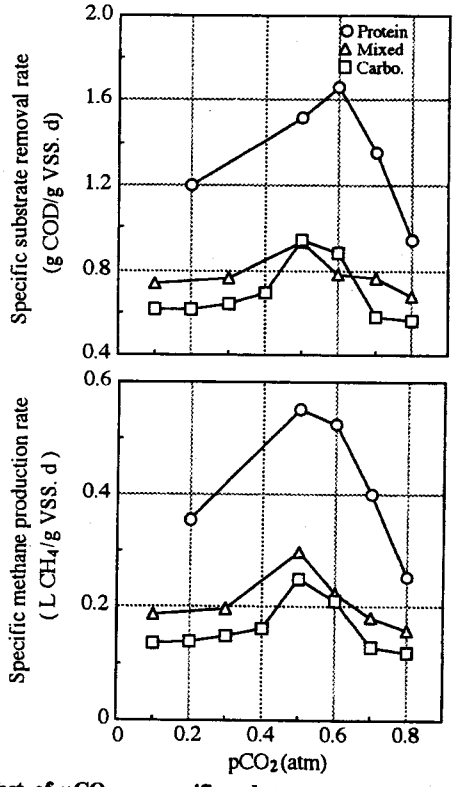

Fig. 4. Effect of pCO_2 on specific substrate removal rate and specific methane production rate.

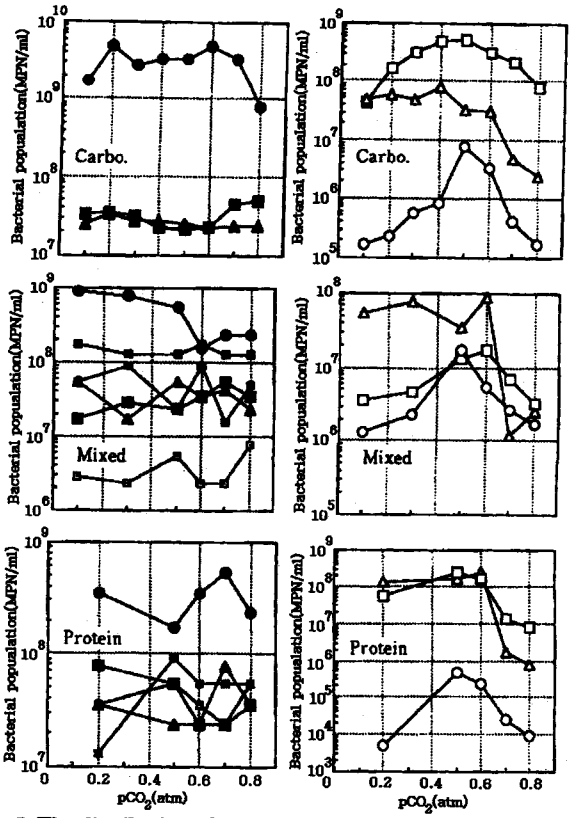

Fig. 5. The distribution of anaerobic bacteria for pCO_2.
● Total hydrolytic bacteria, ⊞ Starch degraders, ⊡ Protein degraders, ▨ Sulfate reducing bacteria, ■ Propionate degraders, ▲ Butyrate degraders, △ Acetate consuming methanogenic bacteria, □ H_2 consuming methanogenic bacteria, ○ Homoacetogenic bacteria.

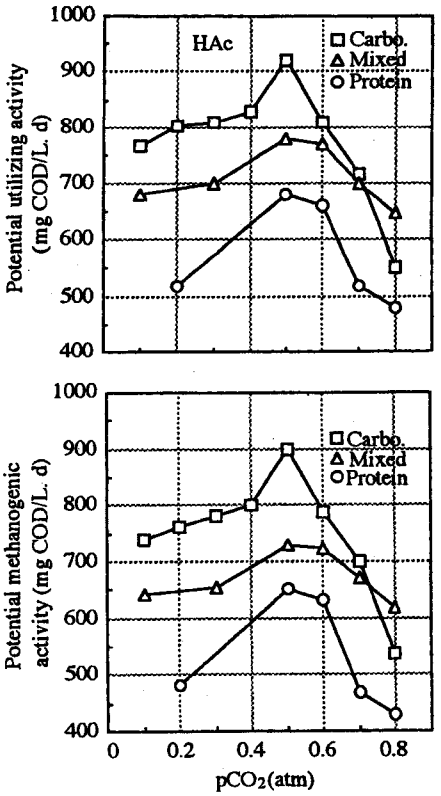

Fig. 6. Effect of pCO_2 on PUA and PMA at batch experiment.

Gill[15]은 CO_2에 의한 저해는 효소 또는 기질제거속도에 저해의 영향을 나타낸다고 하였으며, 본 연구 결과에서도 CO_2 분압이 0.7기압 이상의 높은 CO_2 분압에서는 기질제거속도가 감소하는 것으로 보아 CO_2 분압이 0.7기압 이상이 되면 기질제거속도는 저해를 나타내는 것을 알 수 있었다.

3-2. 세균군에 대한 CO_2 분압의 영향

기질조성에 따른 CO_2 분압에 대해 정상상태에서의 세균군의 분포를 Fig. 5에 나타내었다. 산생성세균의 세균수는 10^8 MPN/mL-10^9 MPN/mL로 CO_2 분압에 의한 영향은 거의 보이지 않고 있지만, 기질조성에 의해 세균수는 차이를 나타내고 있다. 단백질 및 전분의 가수분해세균수와 황산염 환원세균수, 프로피온산 및 낙산분해성 acetogenic세균수도 CO_2 분압에 의한 영향을 보이지 않고 있다. 落과 佐藤[1]은 혐기성소화의 CO_2 분압에 대한 고찰에서 황산염 환원세균의 활성도는 CO_2 분압의 증가에 따라 감소하였다고 보고하고 있다. 보통 혐기성소화의 유출액은 황산염 환원세균에 의해 생성된 H_2S와 Fe의 결합에 의해 검은색을 띄고 있지만, 본 연구에서는 CO_2 0.5기압 보다 낮은 기압에서 소화조의 유출액이 검은색을 띄었고, CO_2 분압이 0.5기압 이상이 될 경우는 CO_2 분압의 증가에 따라 소화조의 유출액이 검은색에서 점차 엷어지는 현상을 나타내었다. 또한, CO_2 0.5기압 이상에서 황산염 환원세균수의 감소는 보이지 않았지만, 소화조의 유출액이 검은색에서 점차 엷어지는 현상을 나타내는 것으로 보아 황산염 환원세균의 활성도의 감소가 추측된다.

초산이용 메탄생성 세균수는 CO_2 0.6기압 이하에서는 10^7-10^8 MPN/mL로서 CO_2 분압에 의한 영향이 크게 나타나지 않고 있으나, 이 이상의 기압에서는 CO_2 분압의 저해에 기인해 세균수는 감소를 보이고 있다. CO_2 분압이 0.1-0.6기압의 범위에서 homoacetogenic 세균수는 탄수화물 및 혼합기질을 사용한 반응조는 CO_2 분압의 증가와 함께 10^1정도의 증가를 나타내고 있고, 단백질을 사용한 반응조는 5.0×10^3-4.9×10^5 MPN/mL로서 10^2정도의 증가를 나타내고 있다. 그러나, CO_2 분압이 0.7기압 이상에서는 homoacetogenic 세균수는 다시 감소를 보이고 있다.

3-3. 물질대사 활성도에 대한 CO_2 분압의 영향

최근에 물질분해와 대사생성물을 근거로 하여 각 세균군의 물질대사 활성도를 측정하는 것이 널리 이용되고 있으며, 혼합 미생물계에서도 의의가 있다고 사료된다. 따라서, 본 연구는 반응조내의 초산이용 메탄생성 세균군의 물질 대사활성도에 대한 CO_2 분압의 영향

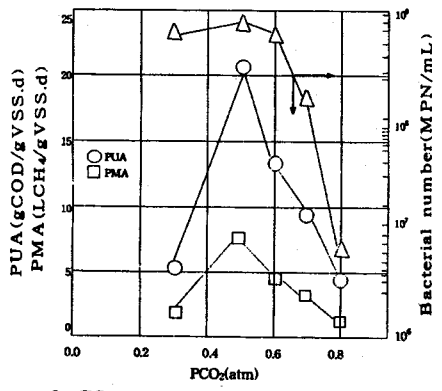

Fig. 7. Effects of pCO_2 on metabolic activity and bacterial number of AMB in continuous experiment.
PUA: Potential utilizing activity, PMA: Potential methanogenic activity, AMB: Acetate consuming methanogenic bacteria.

Table 2. Conversion of removal organic carbon to output methane and CO_2 under pCO_2 operating condition

Substrates	pCO_2 (atm)	Input IC conc.[1] (mg C/L)	Output OR[a] conc.(mg/C/L)[2]		Methane conc.[3] (mg C/L)	Output TIC conc.(mg C/L)		Conversion IC ratio(%)[b]	Conversion CH_4 ratio(%)[c]	Carbon recovery (%)
			Biomass	DOC		DIC	CO_2 gas			
Carbo.	0.1	880	1700	670	1090	660	1290	44.0(49.5)	44.9(50.5)	95
	0.2	880	1650	580	1110	815	1145	42.0(49.3)	43.2(50.7)	93
	0.3	880	1600	540	1140	700	1220	39.1(47.7)	42.9(52.3)	92
	0.4	880	1510	490	1180	690	1180	35.4(45.7)	42.1(54.3)	89
	0.5	1400	1320	390	1410	760	1430	25.6(35.9)	45.6(64.1)	86
	0.6	2100	1300	400	1250	825	1905	20.3(33.5)	40.3(66.5)	82
	0.7	3400	1780	560	1100	995	3355	38.6(46.3)	44.7(53.7)	95
	0.8	9200	1760	680	1000	1419	9060	53.8(56.0)	42.4(44.0)	99
Prote	0.2	110	910	715	1850	910	500	35.9(41.3)	51.0(58.7)	91
	0.5	3000	630	550	2385	950	2785	18.1(23.6)	58.6(76.4)	88
	0.6	4160	610	330	2150	1000	3715	12.9(20.5)	49.9(79.5)	83
	0.7	6110	800	343	1993	1160	6108	28.2(36.8)	48.5(63.2)	92
	0.8	7310	1120	480	1828	1240	8930	78.4(61.0)	50.1(39.0)	108
Mixed	0.1	480	1660	490	1525	710	900	41.9(42.6)	56.5(57.4)	99
	0.3	480	1620	480	1555	750	780	38.2(40.3)	56.5(59.7)	97
	0.5	2080	1340	310	1960	710	2080	22.2(26.6)	61.3(73.4)	92
	0.6	2750	1445	255	1740	750	2465	14.8(21.1)	55.2(78.9)	88
	0.7	3700	1400	410	1430	755	4520	51.8(52.4)	47.0(47.6)	100
	0.8	4600	1430	520	1400	860	5860	73.1(60.2)	48.3(39.8)	106

Input DOC(Carbohydrate)=4800 mgC/L, Input DOC(Protein)=5250 mgC/L, Input DOC(Mixed)=4850 mgC/L, TIC=Total inorganic carbon(Liquid IC+ gas phase CO_2), [a]OR=Organic carbon(Liquid DOC+biomass), DIC=Dissolved inorganic carbon, [b]Conversion of removal DOC to output IC ratios: {[output TIC-(1)]/[Input DOC-output OR conc.]}, [c]Conversion of removal DOC to output methane ratios: {[(3)]/[Input DOC-output OR conc.]}, Number in parentheses are percentage.

을 검토하기 위해 회분식실험 및 연속식실험을 수행하여 그 결과를 Fig. 6 및 7에 나타내었다.

초산이용 메탄생성세균의 PUA(Potential Utilizing Activity) 및 PMA (Potential Methanogenic Activity)는 CO_2 0.5기압까지는 CO_2 분압의 증가에 수반하여 증가하고 있지만, CO_2 0.6기압부터는 감소를 나타내고 있다. 또, CO_2는 효소에 저해 및 자극의 양쪽성을 가지고 반응속도에 영향[16]을 미친다고 알려져 있는 바와 같이, 본 연구에서도 초산이용 메탄생성 세균수는 CO_2 0.1기압부터 0.6기압에서 거의 동일한 세균수를 나타내고 있지만, PUA 및 PMA는 CO_2 0.5기압에서 가장 높은 활성도를 유지하고 있음을 볼 때, 최적의 CO_2 분압인 0.5기압에서 활성도의 증가는 자극작용에 의한 것이라고 생각된다. 또한, CO_2 0.7기압 이상에서 초산이용 메탄생성세균은 세균수 및 PMA 등의 감소로부터 CO_2 분압에 의한 저해영향을 받고 있음을 알 수 있다.

3-4. 활성이 낮은 균체의 증가

전술한 바와 같이, CO_2 0.5-0.6기압 이하 및 이상에서 MLVSS는 높은 농도를 나타내고 있음에도 불구하고, 메탄생성속도 및 대사활성도는 낮게 나타내고 있다. 이와 같이 CO_2 분압에 의한 MLVSS농도의 차이는 활성이 낮은 균체량에 의한 것으로 추측되며, Pirt[17]는 증식속도가 적은 연속배양에서는 휴면 또는 휴지세포가 생성하여 활성이 낮은 균체를 구성한다고 보고하고 있다. 본 연구에서도 활성이 낮은 균체에 대한 추측을 세균수 및 활성도의 관계로부터 해석을 하였다. CO_2 0.5기압 보다 낮은 분압에서 총 세균수(예: 혼합기질의 경우, CO_2 0.1기압: 4.87×10^{11} MPN/gVSS, CO_2 0.5기압: 3.64×10^{11} MPN/gVSS) 및 MLVSS농도는 CO_2 0.5기압에 비해 더 높지만, 메탄생성속도와 활성도가 감소하고 있는 것으로부터 CO_2 분압이 0.1-0.4기압에서는 활성이 낮은 균체의 증가로 인해 MLVSS농도가 증가하였을 것으로 추측된다. 또한, CO_2 0.7기압 이상에서는 활성도 및 초산이용 메탄생성 세균수의 감소에도 불구하고 MLVSS농도가 증가한 것은 CO_2 분압의 저해로 인한 활성을 잃은 균체의 축적 및 내성에 기인한 것으로 생각된다.

3-5. 물질수지 및 메탄생성의 증가

Table 2는 각 기질조성에 대한 CO_2 분압을 변화시킬 경우, 유기탄소에서 메탄 및 CO_2로의 전환비율 및 탄소회수율을 나타내었다. 유기탄소에서 메탄 및 무기탄소로 전환된 비율의 산출식은 Table 2에 상세히 나타내었으며, 유출액의 유기탄소(DOC+Biomass)는 각 기질조성의 CO_2 분압이 0.5-0.6기압에서 가장 낮은 농도를 보이고 있다. 유기탄소에서 무기탄소로 전환된 비율은 CO_2 0.5기압 이하에서는 50 %로서 이론값과 거의 동일한 값을 보이고 있지만, CO_2 분압이 0.7기압 이상일 경우는 무기탄소로 전환되는 비율이 점차 증가를 나타내고 있다. 또한, 단백질 및 혼합기질을 사용한 반응조는 탄수화물을 사용한 반응조와 비교할 때 메탄으로의 전환비율이 10 % 정도 더 높다. 괄호내의 숫자는 무기탄소 및 메탄으로 전환된 비율을 100 %가 되도록 수정한 값이다.

Table 3은 control조와 비교하여 CO_2 분압이 0.5기압에서 메탄은 증가를 나타내고 있다. 메탄 증가율의 산출은 Table 2를 근거로 하였으며 또한, 메탄생성의 증가요인을 제거유기탄소의 증가와 소비된 CO_2로 나누어 산출하였다. 괄호내의 숫자는 메탄의 증가율을 나타내고 있다. CO_2 0.5기압에서 control조와 비교하여 증가한 제거 유기탄소당 메탄 및 CO_2농도는 control조와 동일하다고 가정하였고, 소비된 CO_2농도에 의해 증가한 메탄은 金과 野池[4]의 식을 이용해 산출하였다.

각 기질조성에 대한 메탄생성의 증가는 control조와 비교해, 탄수화물을 사용한 반응조에서 20 %, 단백질을 사용한 반응조에서 29 %, 혼합기질을 사용한 반응조에서는 26 %의 증가를 보였다. 또한, CO_2 0.5기압에서 메탄생성의 증가율을 보면, 제거유기탄소의 증가에 의한 비율은 13.3-17.3 %로서, 메탄생성의 증가는 혼합기질조>단백질

Table 3. Conversion flow of carbon at pCO_2 0.5 atm

Substrates	Removal organic[a] matters		Consumed CO_2[b]		Increment[a] of CH_4(mgC/L)	The conc. of CH_4 at control(mgC/L)
	CO_2[c] (mgC/L)	CH_4[c] (mgC/L)	Cell mass or others(mgC/L)	Conversion of[d] CO_2 to CH_4(mgC/L)		
Carbo.	132.5	157.5(13.3)	231.1	72.5(6.2)	230(19.5)[f]	1180
Protein	183.8	261.2(14.1)	452.3	273.8(14.8)	535(28.9)	1850
Mixed	181.4	268.7(17.3)	376.1	136.3(8.7)	405(26.0)	1555

[a]Values were determined from the difference of values for control reactors and pCO_2 0.5 atm using the data in Table 2. [b]Consumed CO_2=[(Values for conversion of removal organic matters to CO_2 at pCO_2 0.5 atm+Influent inorganic matters)−(Effluent inorganic matters)], [c]The percentage of CO_2 and CH_4 in each items were determined from the control reactors, [d]Values for conversion of CO_2 to CH_4=(Increment of CH_4 − Values for conversion oef removal organic matters to CH_4}, [e]Cell mass or others=(Consumed CO_2 − Values for conversion of CO_2 to CH_4), [f]Number in parentheses are percentage of increased CH_4.

조>탄수화물을 사용한 반응조의 크기로 증가를 나타내었고, 소비된 CO_2에 의해 증가한 메탄생성의 비율은 6.2-14.8 %로서, 단백질조>혼합기질조>탄수화물을 사용한 반응조의 크기로 증가를 보였다.

소비된 CO_2에 의한 메탄생성의 증가는 다음과 같은 요인에 의해 증가하였다고 사료된다. 본 연구의 CO_2 0.5기압에서 수소이용 메탄생성세균 및 homoacetogenic 세균의 증가는 반응조내의 수소생성을 자극했을 가능성을 시사하고 있으며, 수소를 기질로 이용하는 세균군 중에 수소이용 메탄생성세균이나 homoacetogenic 세균을 제외한 세균군(예: 황산염 환원세균 등)의 활성도를 억제함으로서 H_2/CO_2에 의한 메탄생성의 증가가 사료된다. 또한, CO_2로부터 탄수화물 및 유기산을 경유한 물질이 메탄으로의 전환과 CO_2의 일부는 혐기성세균의 세포막의 구성물질로 전환[18]되므로 CO_2에서 세포막으로 전환된 탄소량에 해당하는 만큼 유기탄소의 일부가 메탄을 생성하였다고 생각된다.

3-6. 높은 CO_2 분압에서 저해영향

높은 CO_2 분압에 대한 저해의 영향을 용액내의 탄산물질농도에 의해 해석을 하였고, 총 탄산농도는 각 조건에서 측정한 IC(Inorganic Carbon)농도를 총 탄산농도로 환산한($mgCO_2/L$=IC농도×44/12) 값이다. 또한, 유리탄산농도 및 중탄산농도는 pH 및 총 탄산농도로부터 구하였다[19]. 그 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 모든 기질에 대해 CO_2 0.6기압까지는 총 탄산농도에 대한 유리탄산농도 및 중탄산농도의 비율이 10-20 %, 78-90 %로 나타났으며, 이 이상의 분압에서 유리탄산농도는 점차 증가하여 830 mg/L이상을 나타내고, 이때 총 탄산농도에 유리탄산농도의 비율은 약 30 %을 보였다.

한편, pH 7에 가까운 미생물의 세포질내에서는 탄산농도는 거의 존재하지 않고 중탄산농도 및 유리탄산농도는 84 % 및 16 %를 차지하며 화학반응은 유리탄산이 중탄산보다 빠른 것으로 알려져 있다[20]. 또한, Neil과 Douglas[21]는 미생물의 포자형성에 미치는 CO_2 저해영향의 메커니즘을 밝히고, 높은 CO_2 분압에서는 세포막내로 이동한 과잉의 CO_2에 의해 세포막이 손상됨으로 인해 저해를 입는다고 보고하고 있다. 앞에서 고찰한 바와 같이, 본 연구는 CO_2 분압에 따른 pH의 저해영향이 없음을 고려할 때, CO_2 0.7기압 이상에서 메탄생성세균에 미치는 저해는 용액내의 유리탄산농도에 의해 해석이 가능할 것으로 추측된다. 또한 세포막내부는 pH변화에 의해 내부의 효소활성이 파괴되고 탈카르복실화 반응에 의해 생성된 CO_2는 유리탄산형태로 존재하기 때문에 feed back저해의 가능성이 있다고 알려져 있다[22]. 따라서, 유리탄산에 의한 저해는 세포막을 통과한 유리탄산이 미생물의 세포막 내부의 pH를 변화시키는 것에 의해 저해를 나타낸 것으로 사료된다. 또한, 세포막내에서 화학 반응성이 큰 유리탄산과 물이 반응해 중탄산과 H^+을 생성하게 되며, 생성된 H^+에 의해 pH가 감소함으로 pH를 유지하기 위해 H^+을 방출하는 과정에서 에너지소모가 일어날 것이다. 따라서, 본 연구의 CO_2 0.7 기압 이상에서는 이와 같은 에너지소모가 더욱 많아지므로 인해 메탄생성속도, 활성도 및 메탄생성세균수에 저해의 영향을 나타내었다고 사료된다.

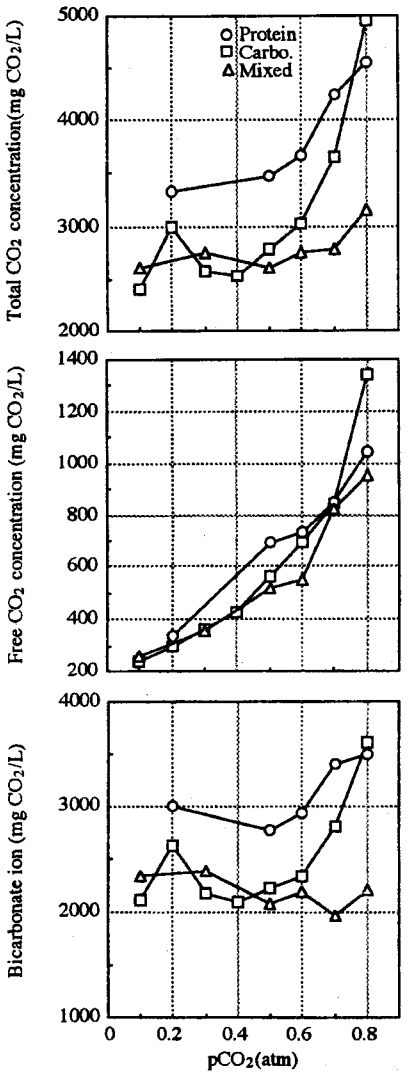

Fig. 8. Effect of pCO_2 on distribution of inorganic carbon species in solution.

5. 결 론

각 기질조성에 대한 CO_2 분압의 영향에 대해 검토한 결과 다음과

같은 결과를 얻었다.

(1) Control반응조와 비교해 CO_2 0.5기압일 경우, 메탄생성속도의 증가는 탄수화물을 사용한 반응조에서 20 %, 단백질을 사용한 반응조에서 29 %, 혼합기질 반응조에서는 26 %로 단백질을 기질로 사용한 경우가 가장 큰 증가를 나타내었다.

(2) 가수분해세균수, 황산염 환원세균수 및 수소생성 acetogenic세균수는 CO_2 분압에 따른 영향은 거의 없었으며, 수소이용 메탄생성세균수 및 homoacetogenic세균수는 CO_2 0.1-0.6기압에서 CO_2 분압의 증가에 따라 증가를 나타내었다. 초산이용 메탄생성세균수는 CO_2 0.7기압 이상에서 CO_2 분압의 저해로 인해 상당히 감소를 나타내었다.

(3) 초산분해 활성도 및 메탄생성 활성도는 CO_2 0.5기압에서 가장 높은 것으로 나타났다. 또한, 메탄생성속도, 활성도 및 세균군에 대한 CO_2의 저해는 용액내의 유리 CO_2농도에 의존하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 落 修一, 佐藤 和明: 日本衛生工學研究論文集, **28**, 21(1992).
2. Kazuki, S. and Shuichi, O.: The 7th International Symposium on Anaerobic Digestion(1994).
3. 市川茂樹, 金井晶邦: 日本下水道協會誌, **19**(216), 62(1982).
4. 金永哲, 野池達也: 日本水環境學會誌, **19**(6), 491(1996).
5. APHA, AWWA & WEF.: "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 15th ed., N.Y.(1987).
6. Herbert, D., Phipps, P. J. and Strange, R. E.: "Chemical Analysis of Microbial Cells", Academic Press London and New York, 210 (1971).
7. 菅原潔, 副島正美: "蛋白質の定量法", 學會出版センタ-, 東京, 95 (1982).
8. Miller, T. L. and Wolin, M. A: *Applied Microbiology,* **27**, 985 (1974).
9. 李玉友, 野池達也: 日本水質汚濁研究, **12**(12), 771(1989).
10. Braun, M., Schoberth, S. and Gottshalk, G.: *Archives of Microbiology,* **120**, 201(1979).
11. Chartrain, M. and Zeikus, J. G.: *J. Appl. Environ. Microbio.,* **51**, 188(1986).
12. Zhang, T. C. and Noike, T.: *Water Research,* **28**, 27(1994).
13. 張祖恩, 野池達也, 松本順一郎: 日本土木學會論文報告集, **333**, 101(1983).
14. Mitz, M. A.: *Enzyme Engineering,* **3**, 235(1978).
15. Tan, K. H. and Gill, C. O.: *Meat Science,* **7**, 9(1982).
16. Foster, J. W. and Davis, J. B.: *Archives of Biochemistry,* **21**, 135 (1949).
17. Pirt, S. J.: *J. Fermen. Technol.,* **65**, 173(1987).
18. Wise, D. L., Cooney, C. L. and Augensteein, D. C.: *Biotechnol. Bioeng.,* **20**, 1153(1978).
19. 日本下水道協會: "下水試驗方法", 113(1984).
20. 井上樣平, 泉井 桂, 田中 二: "二酸化炭素-化學, 生化學, 環境-", 東京化學同一, 102(1994).
21. Neil, M. D. and Douglas, B. K.: *J. Appl. Bacteriol.,* **67**, 109(1989).
22. Wolfe, S. K.: *Food Technol.,* **34**, 55(1980).