

Rhodospedomonas palustris P4를 이용한 Trickle Bed Reactor에서의 일산화탄소와 물로부터 연속적인 수소생산

박지영¹, 이태호², †박성훈^{1,2}
부산대학교 화학공학과¹, 환경기술·산업개발연구센터²
전화 (051)510-3049, FAX (051)515-2716

Abstract

Continuous H₂ production from CO and water was studied in a trickle bed reactor(TBR) using *Rhodospedomonas palustris* P4. To achieve high cell density, *R. palustris* P4 were cultivated by a fed-batch culture mode under chemoheterotrophic and aerobic condition, and final cell concentration was 13 g/L. TBR could provide sufficient residence time for CO to contact with cell suspension circulating TBR. The maximum CO uptake rate was found to be 16 mmol/L/hr at gas retention time of 50 min and CO partial pressure of 0.4 atm. In our correlation of the experimental data with mathematical model of TBR, the TBR operation with P4 was found to be lie in an intermediate state between mass transfer limitation and kinetic limitation. Due to the high cell density as well as hydrogen production activity in this study, TBR operation showed a superior performance to other previous reports on microbial hydrogen production.

서론

수소에너지는 효율이 높고 수송과 저장이 용이한 미래 청정에너지원으로서 많은 관심의 대상이다(1). 현재 수소생산을 위해 시도되고 있는 생물학적 전환공정은 혐기성 미생물에 의한 환원당의 발효, 광합성 미생물을 사용한 물의 광분해, 그리고 일산화탄소를 물과 반응시켜 수소와 CO₂를 얻는 microbial shift reaction 등 여러 공정등이 있다. 그러나 이들 광합성 미생물과 절대 혐기성 미생물은 성장속도가 낮고 산소에 의해 심각한 피해를 받는 등 실제 산업현장에 적용하기에 어려움이 많다.

최근 본 연구실에서는 기존의 최적 균주로 알려진 *Rhodospirillum rubrum*보다 수소생산속도가 높은 새로운 광합성 미생물 *Rhodospseudomonas palustris* P4를 분리하여 일산화탄소와 물로부터 수소를 생산하는 연구를 진행한 바 있다(2). 하지만 *R. palustris* P4를 연속공정에 적용한 경우 여전히 경제적인 빛의 공급과 고농도 배양에 많은 문제점이 있었다.

본 연구에서는 고농도 배양을 위해 *R. palustris* P4를 호기적 조건에서 유기탄소원을 기질로 배양하였다. 또한 적절한 반응기를 통해 연속적인 수소생산을 연구하였다. 충전탑 반응기의 일종인 trickle bed reactor(TBR)는 반응기 내부에 촉매가 담지된 충전물을 채우고 액상을 연속적으로 순환시켜주는 반응기 형태이다. CO와 같이 물에 잘 용해되지 않는 기체 기질의 경우 기상에서 액상으로의 물질전달이 반응기 성능을 좌우하는 중요한 요소가 된다. 따라서 기-액 상간의 충분한 접촉표면적과 긴 체류시간을 제공하는 TBR의 경우 본 연구와 같은 기체를 기질로 하는 반응기에 많이 적용된다. 따라서 본 실험에서도 TBR을 연속반응기로 적용하여 운전조건이 수소생산에 미치는 영향을 조사하기 위해 기체 체류시간, 유입 CO 분압, 배양액의 순환속도등 여러 조업인자들을 변화시켰다.

재료 및 방법

균주 및 배양조건

실험에 사용된 균주는 광합성 미생물인 *R. palustris* P4이다. 미생물 배양을 위해 7L 용량의 원통형 발효조(Model KF-series, 한국발효기, 서울)가 사용되었고 이 때 조업부피는 5L이었다. 성장시 운전조건은 pH 7.0, 30 °C, 그리고 공기공급속도 1 vvm이었다. 고농도 배양을 위해 기질이 고갈될 때 설탕 농축액과 전체 배지 성분 농축액을 적절히 첨가하였다. 미생물의 성장이 끝난 후 수소생산 효소의 발현을 위해 발효조에 CO-N₂ (20:80, v/v)의 혼합가스를 500 mL/min으로 공급하였다.

TBR

실험에 사용된 TBR은 아크릴로 제작되었고 내경은 8 cm이었고 한 단의 높이는 38 cm이었다. 반응기 효율을 높이기 위해 동일한 규격의 반응기를 두단으로 직렬 연결하였고 두 단 사이에 sampling port를 장착하였다. TBR에 사용된 담체는 1 cm × 1 cm × 1 cm 크기의 다공성 polyurethane foam으로 각 단마다 22 cm 높이로 충전하였다. 발효조내에는 CO공급을 차단하고 N₂ 가스만을 주입하였다. 배양액 및 기체는 동일한 방향(co-current)으로 반응기 상단에서 주입되었다.

가스 및 균체 농도 측정

수소와 일산화탄소 분석을 위해서는 molecular sieve 5A column 과 열전도도 검출기가 장착된 gas chromatography (DS6200 Donam System Inc.)를 사용하였다.

균체농도는 spectrophotometer (Lamda 20, Perkin Elmer CO. USA)를 이용하여 optical density(OD₆₀₀) 값을 측정, 미리 구한 검량선으로부터 결정하였다.

수소생산활성 측정

세포 내 효소 활성을 측정하기 위하여 pH 7.0 MOPS buffer (100 mM)를 이용하여 세포농도 0.5 ~ 0.7 mg wt/mL로 희석한 후 8 mL vial에 1 mL을 주입하였다. Ar gas로 반응액을 혐기상태로 조성하고 기질인 일산화탄소가 vial내 기체 부피의 20%(CO-Ar 20:80, v/v)가 되게 한 후 30°C 진탕항온조 (KMC-1205 SWI, Vision Co., Korea)에서 분당 160회 왕복 회전시켜 1시간동안 발생한 수소의 양을 gas chromatography로 분석, 활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

발효조에서의 세포성장 및 수소생산활성

탄소원이 sucrose 10 g/L인 배지를 두 번 추가적으로 첨가하면서 *R. palustris* P4를 호기적 조건에서 배양한 결과 10시간에 13 g/L 정도의 높은 균체 농도를 얻을 수 있었다. 세포의 성장이 끝난 후 발효조내에 N₂-CO (80:20 %, v/v) 혼합가스를 500 mL/min의 유속으로 공급하여 혐기조건에서 효소활성 발현을 유도한 결과 약 12시간 이후부터 점차적인 수소생산 증가를 관찰할 수 있었다. 이후 계속적인 CO 공급에 따라 60시간까지 활성이 계속 증가하였고, 최대 비활성(specific activity) 16 mmol/g-cell/hr에 도달하였다. 이 활성은 겉보기 세포성장이 없는 상태에서 20일 이상 장기간 유지되었다. 이후 TBR 운전을 실시하였다.

유입 CO 분압의 영향

TBR 내에서 CO 분압에 따른 CO의 전환율을 알아보기 위해 유입 CO의 분압을 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 atm으로 변화시켜 실험하였다. 이때 기체 체류시간은 50분이었고, 액체 유속은 300 mL/min으로 유지하였다. Fig. 1(A)는 각각의 CO 분압의 변화에 따른 CO 전환율을 보여준다. 유입 CO 분압이 0.1 atm이었을 때 상단의 전환율은 33 %이었으며 상·하단 전체에서의 전환율은 45 %이었다. 유입 CO 분압이 증가하더라도 상단의 경우 30 %에서 33 %로 비

슷한 전환율을 나타내었다. 하지만 Fig. 1(B)에서 나타난 바와 같이, 각각의 유입 CO 분압이 증가되면 반응기 내의 CO 소모 속도는 상단의 경우 4 mmol/L/hr에서 16 mmol/L/hr로 점차적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 하단의 경우에도 CO 소모속도가 3에서 10 mmol/L/hr로 증가하였다. 유입 CO 분압이 증가됨에 따라 공급되는 기질의 양이 많아지고 이에 따라 반응속도가 증가되어 CO 소모 속도가 증가되었다.

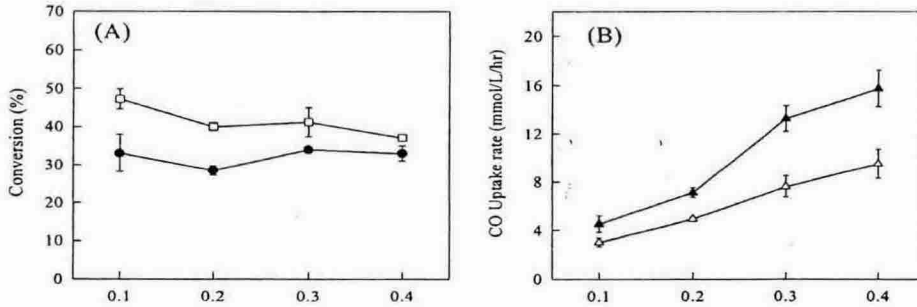


Fig. 1. Effect of inlet CO partial pressure on CO conversion(●, ○)(A) and CO uptake rate(▲, △)(B). Closed symbols represent the results from the 1st stage and open symbols the results from the 1st plus 2nd stage

기체 체류시간의 영향

Fig. 2(A)는 기체 체류시간에 따른 CO 전환율을 보여준다. 유입 CO 분압은 0.2 atm, 액체 유속은 300 mL/min이었다. 반응기 상·하단 전체를 기준으로 하여 체류시간이 12분이었을 때 전환율은 14 %, 96분이었을 때 63 %에 도달하였다. 상단에서의 CO의 전환율은 체류시간이 6분일 경우 8 %이었으며, 48분의 경우에는 53 %이었다. CO의 전환율과는 달리 CO의 소모속도는 8 mmol/L/hr에서 점차 감소하여 체류시간이 96분이었을 때 4 mmol/L/hr 이었다. 상단의 경우 CO의 전환율은 체류시간이 증가함에 따라 증가되었으나 CO 소모속도는 체류시간 6분에서보다 14분에서 최대 속도 값을 나타내었다. 이때 최대 CO 소모 속도는 12 mmol/L/hr이었다. 기체 체류시간이 길어지면 기체 유속이 낮아지고 반응기에 부하되는 기질의 양은 적어진다. 비록 체류시간이 길어져 전환율이 커지더라도 기체의 체류시간은 반응 속도에 반비례하기 때문에 본 실험에서는 기체의 체류시간이 6분이었을 때 최대 CO 소모속도를 나타내었다.

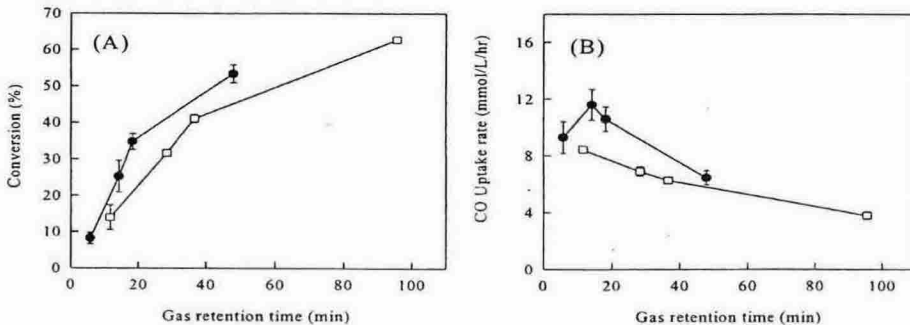


Fig. 2. Effect of gas retention time on CO conversion(●, ○)(A) and CO uptake rate (▲, △)(B). Closed symbols represent the results from the 1st stage and open symbols the results from the 1st plus 2nd stage

액체 유속의 영향

Fig. 3(A, B)는 액체 유속의 변화에 따른 CO의 전환율과 CO 소모속도를 보여준다. 액체 유

속을 각각 100, 165, 230, 300 mL/min으로 변화시켰다. 유입 CO 농도와 가스의 체류시간은 0.2 atm 및 50분이었다. 액체 유속을 100 mL/min ~ 300 mL/min 범위에서 증가시켰을 때 반응기 전체 CO 전환율은 36 % ~ 40 % 범위에서 거의 일정한 값을 나타내었다. 하지만 상단만을 고려할 때 액체 유속이 증가함에 따라 전환율이 27 %에서 35 %로 선형적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 한편 CO 소모 속도는 반응기 전체의 경우 약 5 mmol/L/hr의 일정한 값을 유지하였지만 상단의 경우 액체유속의 증가에 따라 8 ~ 10 mmol/L/hr의 범위에서 증가하는 경향을 나타내었다. TBR내로 순환하는 배양액은 미생물 촉매를 포함하고 있고 따라서 반응기의 성능에 많은 영향을 미칠 것으로 기대되었다. 즉 반응기내 배양액 체류량이 증가함에 따라 기-액 계면 면적도 증가하여 이에 따라 액체 유속의 증가에 따른 전환율과 CO 소모속도가 증가될 것을 예상하였다. 그러나 본 반응기의 실험에서는 뚜렷하게 증가되는 경향이 나타나지 않았다.

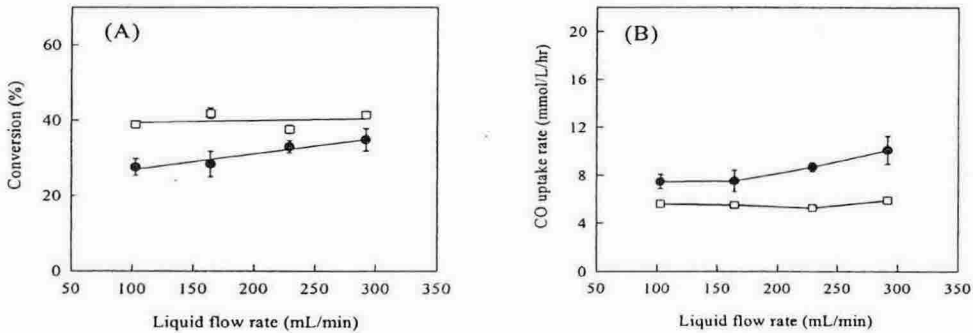


Fig. 3. Effect of liquid flow rate on CO conversion(●, ○)(A) and CO uptake rate (▲, △)(B). Closed symbols represent the results from the 1st stage and open symbols the results from the 1st plus 2nd stage

요약

CO로부터 수소를 생산할 수 있는 미생물인 *R. palustris* P4를 반응기에 적용하여 연속적으로 수소를 생산하는 연구를 진행하였다. 고농도 배양을 위해 *R. palustris* P4를 호기적 조건에서 영양요구성 성장을 시켰고 그 결과 13 g/L정도의 높은 균체 농도를 얻을 수 있었다. CO는 물에 잘 녹지 않는 기상의 기질이므로 반응기내에서 기체의 충분한 체류시간을 제공할 수 있는 반응기인 TBR을 수소생산 단계에 적용하였다. 기체 체류시간이 50분으로 운전되는 조건에서 CO의 분압이 0.4 atm일 때 최대 CO 소모 속도가 16 mmol/L/hr였다. 또한 광합성 미생물 *R. rubrum*을 적용하여 TBR에서 수소생산을 시도한 Gaddy group의 수소생산속도 3-4 mmol/L/hr에 4-5배 높은 수소생산 속도이다(3).

참고문헌

1. Sung, J. K. (1997), The Korean Journal of energy and Resource technique, 14, 918-925
2. Jung, H. O. (2000), Biological H₂ production using new phototrophic bacterium *Rhodospseudomonas palustirs* P4 from CO, M. S. Thesis, Dept of Chemical Engineering, Pusan National University, Pusan.
3. Cowger J. P, K. T. Klasson, M. D. Ackerson, E. C. Claüsen, and J. L. Gaddy (1992), Mass-Transfer and Kinetic Aspects in Continuous Bioreactors Using *Rhodospirillum rubrum*, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 34/35, 613-624.