

Glucose를 기질로 한 *Rhodospirillum rubrum* KCTC-1372 의 수소생산

박준성, 이상목, 박기용, 김철경*, 김남기

성균관대학교 공과대학 화학공학과, 신홍대학 환경관리과*

TEL(031)290-7253, FAX(031)290-7272

초록

Rhodospirillum rubrum KCTC 1372 produced hydrogen from glucose for first 48hrs culture under the anaerobic photosynthetic conditions, and after 48hrs culture the hydrogen production was decreased by the accumulation of producing organic acids in broth. Only 41% of glucose was consumed and 143mL/day/L hydrogen were produced after 96hrs culture. However the hydrogen production and glucose consumption were substantially increased when the pH of the culture broth were controlled to 6.8-7.2. After 96hrs culture, 450mL/day/L hydrogen were produced, and about 80% glucose was consumed. Specific hydrogen production rate was 48.33mL/hr/g cells under pH not controlled, but 45.42mL/hr/g cells under pH controlled.

서론

광합성 세균을 이용한 생물학적 수소 생산은 유기산을 전자공여체로 이용하여 수소를 생산할 수 있기 때문에 하천 슬러지, 제당공장 폐수, 유가공업체의 폐수 등으로부터 환경 처리를 겸해서 많은 연구가 활발히 진행되고 있다¹⁾. 본 연구는 홍색 비유황 세균인 *Rhodospirillum rubrum* KCTC 1372를 광 조사하에 질소 제한 조건과 혐기적 상태에서 하천등에 용해 함유될 수 있는 glucose를 탄소원으로 이용하여 수소생산을 연구하였고, 전자 공여체로 glucose에 따르는 수소생산량을 살펴보고 배양중 pH 저하에 따른 세균 탈색 현상도 연구하였으며 glucose가 포함될 수 있는 유기성 폐수 및 폐자원과 같은 복합기질로부터 최대의 수소 생산과 최적 균주 배양 조건의 기초 자료의 확립을 목적으로 한다.

재료 및 방법

배지 및 시약

*R. rubrum*은 혐기적 조건하에서 유기물을 기질로 하여 증식하는 홍색 비유황 세균의 일종이다. 이 균주들의 stock culture에서 G5배지를 사용하며 그 조성은 증류수 1L에 Peptone 5g, Yeast extract 5g, L-glutamate 4g, DL-malic acid 3.5g, KH₂PO₄ 0.12g, K₂HPO₄ 0.18g, Agar 25g이며 pH 6.8로 조정하였다. 이 세균들은 활성을 유

지하기 위해 broth 상태로 1-2주 마다 계대 배양되었다. 이때 사용한 broth 배양액의 조성은 Ormerod basal medium으로 조성은 증류수 1L에 KH_2PO_4 0.6, K_2HPO_4 0.9, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.075, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0118, EDTA 0.02, Yeast extract 0.1, DL-malic acid 4, Sodium L-glutamate 0.94, 미량원소(증류수 1L에 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.1g, H_3BO_3 2.8g, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.04g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.24g, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.75g) 1mL 이며 pH 6.8로 조정하였다.

분석방법

- ①건조 세균 농도 측정-분광광도계를 사용하여 660nm에서 O.D.를 측정하고 검량선을 작성하여 건조 세균 농도로 환산하였다.
- ②Glucose 농도 분석-Glucose 농도 분석 kit를 사용하여 파장 505nm에서 O.D.를 작성한 후, 표준액의 O.D. 값과의 비교를 통해서 환산하였다.
- ③수소 생산량의 측정-혐기적 상태에서 정지 배양한 배양액으로부터 생산되는 기체 상의 시료는 gas chromatography(5890A, Hewlett Packard, USA)로 분석하였다.²⁾
- ④광조도 측정-회분식 반응기에 조사된 광의 조도는 light meter를 사용하여 측정하였다.

장치구성 및 실험방법

①장치구성(Fig.1)

②실험방법

본배양에서는 1L 배양액을 2.5L 용량 반응기에 넣고 Ar 가스를 10분간 흘려서 혐기 조건을 만들었다. 본 배양에서는 pH 6.8, 온도는 30℃에서 백열등으로 10,000Lux를 조사하면서 120rpm으로 교반하였다. pH를 조절하지 않고, 전자 공여체로 glucose를 사용하는 경우, glucose가 산발효에 의해 유기산을 생산하여 pH를 저하시키므로 세균의 탈색현상이 발생하였다. 이에 대처하기 위하여 본 연구자들은 pH를 6.8-7.2로 조절하여 세균의 탈색현상을 방지할 수 있었으며, 세균 농도변화와 수소생산량, 잔류 glucose 농도를 측정하였다. 그리고 수소 생산 속도와 세균 단위 질량을 기준한 비수소 생산 속도를 구하였다.³⁾

결과 및 고찰

pH 변화

광합성 홍색 비유황 세균인 *R. rubrum* KCTC 1372를 glucose를 기질로 하고, 혐기 조건에서 초기 pH 6.8을 조절을 하지 않고 배양할 때 발효에 의한 유기산의 영향으로 pH저하 및 탈색현상이 나타났다.⁴⁾ pH 저하에 의한 세균 성장 저해 현상 및 탈색현상을 방지하기 위하여 본 실험에서는 동일한 배양조건에서 배양액 pH를 6.8-7.2로 조절한 결과, 세균은 배양시간 경과에 따라 계속 성장하였으며 탈색현상을 나타내지 않았다(figure 2).

수소생산

R. rubrum KCTC 1372는 pH 조절없이 혐기 광합성 배양 중 glucose를 이용한 48 시간 동안의 수소 생산이 530 mL이고, 이때 기질 분해율은 36.5%이었다. 48시간 이후부터 수소는 거의 생산되지 않았다.

같은 실험 조건에서 pH를 조절하였을 때는 48시간동안 수소생산과 기질 분해율은 1297 mL, 62% 이었다. 그리고 72시간 이후부터 수소는 거의 생산되지 않았다.

pH 조절을 하지 않았을 때의 최대 수소 생산 속도는 14.5 mL/hr이고, 세균 단위 질량을 기준한 최대 비수소 생산 속도는 48.33 mL/hr/g dry cells이었다(Figure 3).

동일한 조건에서 pH 조절을 하였을 때는 최대 수소 생산 속도는 38.67 mL/hr이고, 세균 단위 질량을 기준한 최대 비수소 생산 속도는 45.42 mL/hr/g dry cells이었다(Figure 3). 최종적으로 96시간 동안 배양하며 pH 조절을 하지않은 경우는 약 570 mL (143 mL/day/L 배양액)의 수소를 생산하였고, 이때 41%의 glucose가 분해 되었다. 30mM glucose가 41% 분해되었을 때 이론적인 수소생산량은 3655 mL가 생산되지만, 실험에서 생산량은 570 mL를 생산하여, 전환율은 15%이었다.

pH 조절을 하였을 경우에는 약 1800mL (450 mL/day/L 배양액)의 수소를 생산하였으며 83%의 glucose가 분해되었다. 30mM glucose가 83% 분해되었을 때 이론적인 수소생산량은 7409 mL가 생산되지만, 실험에서 생산량은 1800 mL를 생산하여, 전환율은 24%이었다(Figure 4).

pH 조절을 하지 않았을 때는 pH의 감소의 영향으로 세균의 탈색현상이 나타나, 48 시간 이후부터 세균의 성장이 둔화되면서 glucose를 거의 이용하지 못하였기 때문에 수소생산을 하지 못하였다. 그리고, pH 조절을 하였을 경우에는 72시간일 때 세균의 최대성장하여 그이후는 세균의 성장이 둔화되면서 glucose를 거의 분해하지 못하여서 수소는 거의 발생하지 않았다(Figure 4).

요약

수소 생산량은 기질로부터 생산될 수 있는 수소의 분자수와 균주간의 특성에 의해서 좌우된다. 광합성 세균에 의한 수소 가스 생산은 유기물질 및 물을 전자 공여체로 하여 광합성에 의해 생산되는 것으로 알려져 있다. 이론적으로 수소생산량은 glucose 한 분자로부터 12 분자의 수소가스가 생산된다.

참고문헌

- 1)Thangaraj, A. and G. Kulandaivelu, "Biological hydrogen production using dairy and dugarcane wastes"(1994), Bioresource Tech, 48, pp.9-12,
- 2)Kim, J. S, K. Ito, and H. Takahashi, "The relationship between nitrogenase activity and hydrogen evolution in *Rhodospudomonas palustris*"(1980), Agric.

Biol. Chem, 44(4), pp.827-833

3) Tramm-Werner, S, M. Hackethel, M. Weng, and W. Hartmeier, "Photobiological hydrogen production using a new plate loop reactor, Hydrogen energy progress, Proc."(1996), 11th World Hydrogen Energy Conference, Stuttgart, Germany, 3, pp.2407-2415

4) Kim, M. S, "Production of hydrogen from glucose by *Rhodospseudomonas sphaeroides*"(1998), Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol, 26(2), pp.89-95

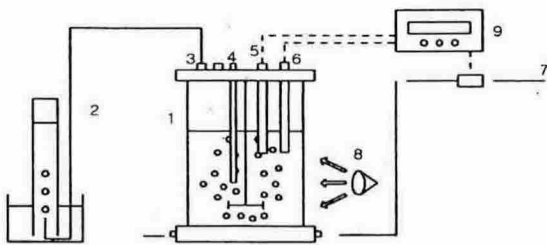


Figure 1. Schematic diagram of batch reactor
 1. Fermentor 2. Gas collector 3. Gas sampling port
 4. Liquid sampling port 5. Temperature sensor
 6. pH sensor 7. Cooling water 8. Lamp 9. Controller

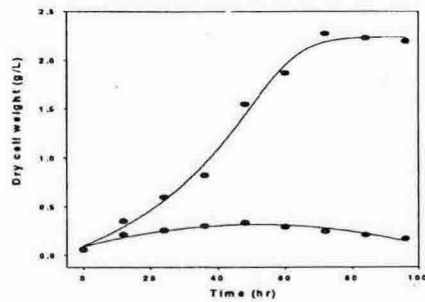


Figure 2. Cell growth using glucose as carbon source.
 (-●-) pH controlled, (-○-) pH not controlled

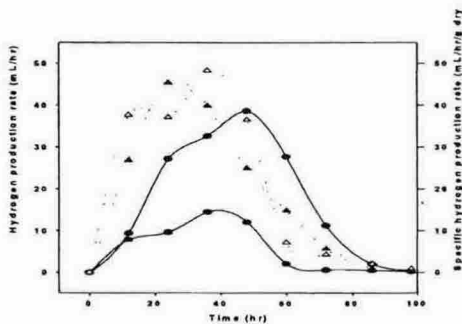


Figure 3. Effect of glucose on the hydrogen production rate and the specific hydrogen production rate.

- :Hydrogen production rate (pH controlled)
- :Hydrogen production rate (pH not controlled)
- ▲- :Specific hydrogen production rate (pH controlled)
- △- :Specific hydrogen production rate (pH not controlled)

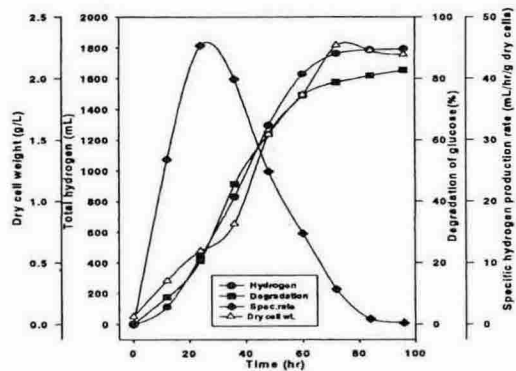


Figure 4. Time courses of cell growth hydrogen production, and degradation of glucose, with pH control.