

## 통성 혐기성 수소생산균주를 이용한 수소생산효율에 미치는 glucose 및 sucrose 농도의 영향

이은영<sup>1,3</sup>, 이태호<sup>1</sup>, 류희욱<sup>1,2</sup>, 이철민<sup>2</sup>

전화 (02) 821-4190, Fax (02) 821-4192

바이오세인트 환경생명공학연구소<sup>1</sup>, 숭실대학교 환경화학공학과<sup>2</sup>, 수원대학교 환경공학과<sup>3</sup>,

### Abstract

Hydrogen producing bacterium, strain Ye13-6 was isolated from the sludge of the factory areas in Gunpo through the acclimation in basal salt medium(BSM) supplemented with 10g/ℓ of sucrose. Isolated strain Ye13-6 was a facultative anaerobe which could grow in both aerobic and anaerobic environments. Effects of the concentrations of glucose and sucrose on the hydrogen production rate and the hydrogen production yield were investigated. When glucose in the range of 1~12g/ℓ was supplemented to the BSM, strain Ye13-6 could grow without lag phase. An increased glucose concentration increased the specific hydrogen production rate linearly to  $60\text{mmol-H}_2 \cdot \text{mg-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . The hydrogen production yield was maintained over a range from 2.6 to  $3.1\text{mol-H}_2 \cdot \text{mol-glucose}^{-1}$ . When sucrose in the range of 1~12g/ℓ was supplemented to the BSM, strain Ye13-6 could grow after ten hours. An increased sucrose concentration increased the specific hydrogen production rate and the hydrogen production yield to  $163\text{mmol-H}_2 \cdot \text{mg-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  and to  $4.5\text{mol-H}_2 \cdot \text{mol-sucrose}^{-1}$ , respectively.

### 서론

음식물 쓰레기, 활성오니 등과 같은 유기성 폐기물들을 자원화하여 폐기물의 발생량을 최소화시키려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 유기성 폐기물로부터 에너지를 생산하고 있는 등 단순한 폐기물의 감량화가 아닌 적극적인 대체에너지원으로서의 활용에 많은 연구를 수행하고 있다. 최근 많은 연구가 이루어지는 기술 중 하나가 청정에너지인 수소생산방법이다. 미생물을 이용하여 수소를 생산하는 데는 발효를 이용한 경로와 광합성을 이용하는 경로가 있다. 그 중 발효를 통한 수소생산은 빛에 의존하지 않고, 배양액의 탁도의 증가와 무관 (Hart, 1997)하게 수소 생산속도가 빠르기(Kumar and Das, 2001) 때문에 장점이 있다. 본 연구에서는, 절대 혐기성 수소생산 세균보다 빠르게 성장하는 통성 혐기성 수소 생산균주를 이용하여 고농도의 당이 함유된 유기성 폐기물로부터 수소를 생산하기 위한 최적 조건을 찾아보았다.

## 재료 및 방법

### 수소 생성 미생물의 순수 분리 및 배양 조건

수소생성 미생물의 분리를 위하여 멸균된 무기염배지( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5g/l;  $\text{MgCl}_2$  0.5g/l;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2.5g/l; Yeast extract 6g/l) 80ml에 10g/l의 sucrose를 첨가한 후 500ml 혈청병에 넣고, 질소가스로 purging한 후 균포 공단 주변 슬러지를 20%가 되도록 접종하였다. 혈청병을 aluminum cap으로 밀봉하고 rubber stopper에 50ml syringe를 꽂아서 35°C 배양기에 정치 배양하면서, headspace 시료를 채취하여 수소생성량을 분석하였다. 배양하는 혈청병의 수소 생산이 증가하지 않는 시점에 새로운 배지가 함유된 혈청병으로 10%가 되도록 접종하여주었다. 약 13회 세대 배양한 배양액으로부터 gellan gum을 10g/l 함유한 무기염 고체배지에 도말하여 약 7종의 미생물을 분리하였다. 그 중 수소 생성효율이 가장 좋고 성장속도가 가장 빠른 Ye13-6을 선정하였다. Ye13-6 균주를 glucose 및 sucrose가 10g/l 함유된 무기염 배지에서 전배양하여 약 2일 배양하였다. 500ml 혈청병에 45ml의 멸균된 무기염배지와 glucose 및 sucrose의 농도를 1~12g/l로 각각 다르게 설정한 후 균주 배양액을 10% 씩 접종하였다. 질소로 purging 한 후 35°C 배양기에서 배양하였다. 각 조건은 매 2set 씩 실험하였으며, 5시간 간격으로 시료를 채취하여 OD, glucose (sucrose)농도, 및 수소를 측정하였다.

### 분석조건

Ye13-6 균주의 세포농도를 측정하기 위하여 배양액을 취한 후 600nm의 파장에서 spectrophotometer(Agilent 8453, USA)로 OD를 측정한 후, 건조중량으로 환산하였다. 배양액상의 glucose 및 sucrose의 농도를 분석하기 위하여 배양액을 원심분리(10000rpm, 5분)한 후 각각 Glucose-E kit(Yeongdong, Korea) 및 Phenol-sulfuric acid 법(Herbert et al., 1971)에 의거하여 분석하였다. Headspace 상의 수소를 분석하기 위하여 Molesieve(13×80×100, 6'×1/8' SS, Alltech, USA)와 TCD가 장착된 gas chromatography (Younglin 600D, Korea)로 분석하였다. 오븐, 주입기 및 검출기의 온도는 각각 90, 120, 및 160°C로 설정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. Glucose의 농도 변화가 Ye13-6균주의 수소 생성효율에 미치는 영향

1~12g/l의 glucose를 함유한 무기염 배지에 Ye13-6 균주를 10%가 되도록 접종한 후 5시간 간격으로 sampling 하면서 배양액의 OD, glucose 농도 및 headspace에서의 수소농도를 측정하였다. 1~12g/l의 모든 범위에서 초기 lag phase 없이 성장하였으며, 1~2g/l인 경우 수소 생성은 균체 건조중량 증가 곡선과 일치하여 20시간 까지 증가하다가 더 이상 증가하지 않았다. Glucose의 농도가 4~12g/l인 경우, 균

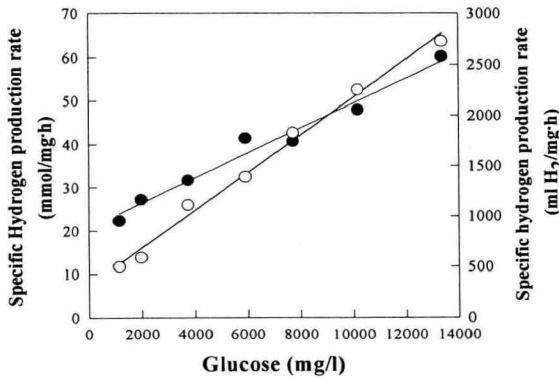


Fig.1 Effect of the concentration of glucose on the specific hydrogen production rate of strain Ye13-6

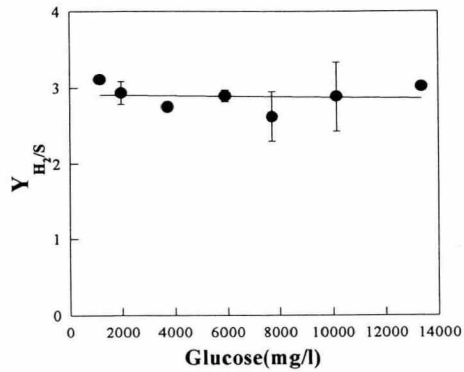


Fig.2 Hydrogen production yield of strain Ye13-6

체량이 더 이상 증가하지 않는 25시간 이후 53시간까지 지속적으로 60~150ml의 수소가 생성되었다. 기질로 첨가된 glucose는 8g/l 까지 모두 분해되었으며, 10~12g/l의 경우 배양 53시간에 각각 96%와 62%의 분해율을 보였다. 1~12g/l의 영역에서는 glucose 첨가량이 증가할수록 수소 비생산속도가 지속적으로 증가하였으며, 12g/l에서 60mmol-H<sub>2</sub> · mg-DCW<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>(2728 ml-H<sub>2</sub> · mg-DCW<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>)의 최대값을 나타냈다. 수소생산수율은 2.6~3.1mol-H<sub>2</sub> · mol-glucose<sup>-1</sup>의 범위였다.

## 2. Sucrose의 농도 변화가 Ye13-6균주의 수소 생성효율에 미치는 영향

1~12g/l의 sucrose를 첨가한 무기염 배지에서 성장하는 Ye13-6 균주는 glucose에서 성장할 때와는 달리 10시간의 lag phase 후 균주의 생장이 시작되었다. 일단 균주의 생장이 개시된 후에는 원활하게 성장하며, 성장시간 및 세포농도는 glucose에서 성장할 때와 유사한 값을 보였다. 1~10g/l의 sucrose가 첨가되는 범위에선 첨

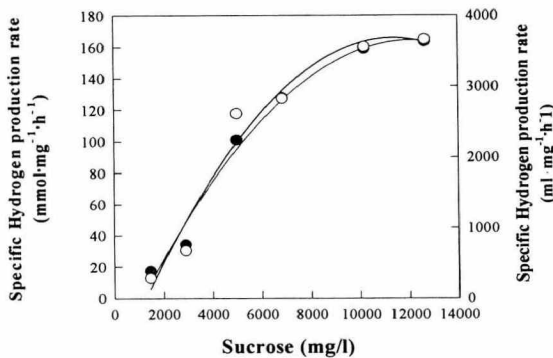


Fig. 3. Effect of the concentration of sucrose on the specific hydrogen production rate of strain Ye13-6

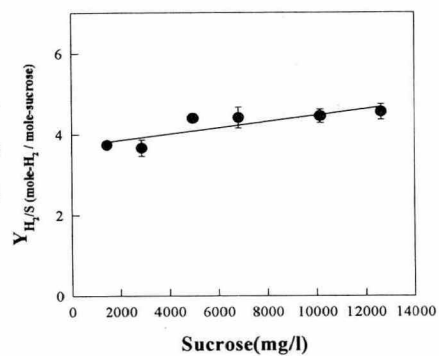


Fig. 4 Hydrogen production yield of strain Ye13-6

가량이 증가할수록 수소 생성량이 증가하여 53시간이 경과한 후 127ml의 수소가 생성되었다. 10g/l 이하의 농도로 첨가한 sucrose는 모두 분해되었지만, 12g/l로 첨가된 sucrose는 53시간이 경과한 후 74%만이 분해되어, 120ml의 수소가 생성되었다. 수소 비생산속도는 sucrose 첨가량이 증가할수록 증가하였으며, 10g/l의 농도에서  $163\text{mmol-H}_2 \cdot \text{mg-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  ( $3664 \text{ ml-H}_2 \cdot \text{mg-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )의 최대값을 보였다. 수소 생산수율은 1~12g/l의 영역에서  $3.7\sim 4.5 \text{ mol-H}_2 \cdot \text{mol-sucrose}^{-1}$ 로 sucrose의 첨가량이 증가함에 따라 소량 증가하는 경향을 보였다.

### 요약

균포 공단 주변 슬러지를 미생물 접종원으로 무기염배지에 10g/l의 sucrose를 첨가하여 수소 생산 균주 Ye 13-6을 분리하였다. 분리 균주 Ye 13-6은 호기성 조건과 혐기성 조건에서 모두 성장하는 통성 혐기성 균주였다. 유기성 폐기물 내에 다량 함유되어있는 glucose와 sucrose의 농도변화가 수소 생산 속도 및 수소 생성효율에 미치는 영향에 대하여 알아보았다. Glucose를 1~12g/l의 범위로 첨가할 경우 lag phase 없이 성장하였으며, 첨가량이 증가할수록 수소 비생산속도가 증가하여, 12g/l에서  $60\text{mmol-H}_2 \cdot \text{mg-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 의 최대값을 나타내었으며, 수소 생산수율은  $2.6 \sim 3.1 \text{ mol-H}_2 \cdot \text{mol-glucose}^{-1}$ 의 범위였다. Sucrose를 1~12g/l의 범위에서 첨가할 경우 약 10시간의 lag phase 후 원활한 성장을 보였다. 비생산속도는 및 수소 생산수율은 sucrose 첨가량이 증가할수록 증가하여 각각  $163\text{mmol-H}_2 \cdot \text{mg-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  및  $4.5 \text{ mol-H}_2 \cdot \text{mol-glucose}^{-1}$ 의 최대값을 보였다.

### 참고문헌

- Hart, D. "Hydrogen power : The commercial future of the ultimate fuel". (1997), Financial Times Energy Publishing, London.
- Kumar, K. and Das, D. "Electron microscopy of hydrogen producing immobilized *E. cloacae* IIT-BT 08 on natural polymers", (2001), Int. J. of Hydrogen Energy, 26: 1155-1163.
- Herbert, D., Philipps, P.J., Strange, R.E., "Carbohydrate analysis", (1971), Methods Enzymol 5B, 265-277.