

자연계로부터 분리한 strain YJ에 의한 수소생산에 관한 연구

이기석 · 광경오 · 김성준 · 정선용

전남대학교 공과대학 환경공학과

전화 (062) 530-0741, FAX (062) 530-1859

Abstract

Hydrogen is considered to be a clean energy because it doesn't generate the global warming gas such as CO₂, SO_x and NO_x, after its combustion.

In this study, strain YJ isolated from shore system was used to produce efficiently hydrogen using the various carbon sources such as glucose, sucrose and fructose and its characteristics were investigated in batch cultivation. The maximum hydrogen production shown that glucose, sucrose and fructose were highest obtained at 2, 4 and 5 % concentration, respectively. In addition, we investigated the effect of pH under various conditions as range of initial pH 5.5 to 8.0 pH because growth of strain YJ declined due to produced organic acids. The results showed that the highest production rate of hydrogen was obtained at pH 7.5.

서론

산업화의 진전에 따라 심각한 대기오염과 화학연료의 고갈현상이 나타나게 되었다. 뿐만 아니라 지구온난화, 산성비, 오존층 파괴, 엘니뇨 현상 등 화석연료에 따른 전지구적 생태계 위기는 청정에너지 개발 문제와 함께 인류가 해결해야 할 최대의 당면과제라 할 것이다. 대체 에너지는 연료로서의 우수한 특성 뿐만 아니라 연소 후 CO₂ 및 SO_x, NO_x 등 지구 온난화 가스를 발생하지 않는 청정 연료이어야 한다. 최근 생물학적인 방법에 의한 대체에너지의 개발에 관한 연구가 활발히 진행중에 있으며, 이 중 수소는 열효율이 높은 energy carrier로서 연소 후 대기오염물질을 방출하지 않고, 수송과 저장이 편리한 에너지 매체로서 고려되고 있다¹⁾. 자연계에서 수소를 생산하는 미생물은 조류, 광합성 세균, 혐기성 세균등으로 구분되며, 이들의 수소생산기작, 사용기질 및 수소발생량은 상당한 차이가 있다²⁾. 혐기성 세균 중 *Clostridium butyricum*, *Cl. pasteurianum*, *Cl. aeticum*, *Cl. kluveril* 및 *Enterobacter aerogens*는 잘 알려진 혐기 발효 수소생산 박테리아로서, 현재 이들을 이용한 수소생산에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다^{3,4)}. 본 연구는 자연계로부터 분리한 strain YJ의 혐기 발효 조건에서 탄소원으로 glucose, sucrose, fructose를 이용하여 수소생산에 영향을 미치는 주요조건들을 검토하여 수소생산의 최적화를 기하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양조건

자연계에서 분리한 YJ균주의 분리 및 수소생산 실험에 이용된 배지는 yeast extract 1.0g, ethanol 0.5ml, disodium succinate 1.0g, KH_2PO_4 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g, NaCl 0.4g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05g, Trace element solution SL-6 1.0ml($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.03g, $\text{CoCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.02g, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.03g를 증류수 1Liter) 증류수 1Liter로 하여 100ml 용량 serum 병에 40ml의 배지를 넣고 고무마개와 알루미늄 덮개로 밀폐하였으며, vacuum pump로 충분히 진공상태를 만든 후 질소가스를 주입시켜 혐기적 조건을 만들었다. 배양기 온도는 35°C, 120rpm에서 교반하였다.

균체 농도 측정

균체농도는 spectrophotometer를 사용하여, O.D는 660nm에서 흡광도를 측정하였다.

가스분석

배양 중 발생하는 전체가스는 용기내 head space 가스를 gas-tight microsyringe로 200 μl 채취하여 gas chromatography(Shimadzu 14-B)로 분석하였다. 사용된 column은 3m \times 3mm ID glass로 molecular sieve 5A를 충전물질로 사용했으며, thermal conductivity detector(TCD)로 분석하였다. 생산가스 중 수소가스 정량을 위한 GC의 조건은 column 온도 80°C, injector 온도 100°C, detector 온도 120°C, carrier 가스는 아르곤이었으며, flow rate 35ml/min을 유지하였다.

결과 및 고찰

Glucose로부터 수소생산

본 연구에서 회분식 배양에 따른 수소생산능을 살펴보았다. 그 결과 초기 균성장과 수소생산능은 낮았으나 8시간 후부터 급격하게 증가하였고, pH는 5.0이하로 매우 감소하였다(Fig.1). 이것은 발효 생산물질인 유기산에 의한 것이라고 사료된다⁵⁾.

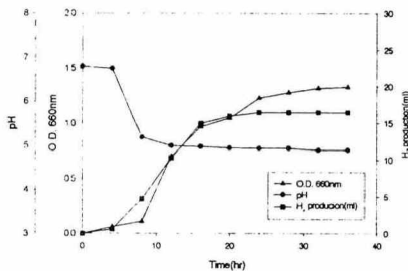


Fig. 1 Time course profiles of cell growth and H₂ production : 35°C, initial pH 6.8 and 30mM glucose

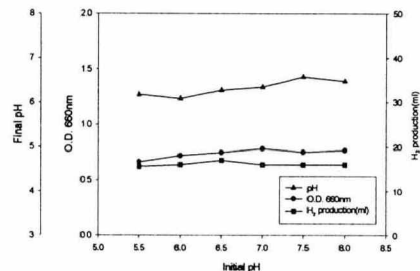


Fig. 2. Effect of initial pH for growth and H₂ production : 35°C, 30mM glucose

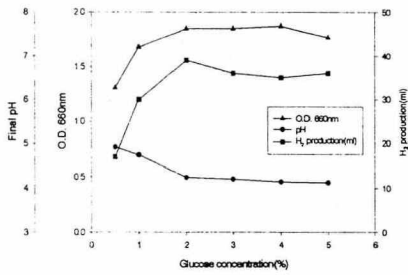


Fig. 3. Effect of glucose for growth and H₂ production :35°C, initial pH 7.5

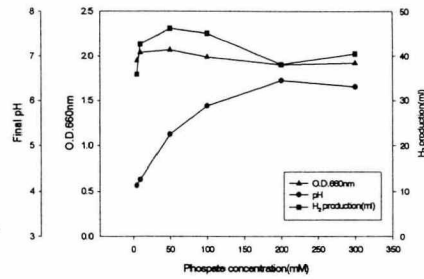


Fig. 4. Effect of phosphate for growth and H₂ production, 2% glucose, 35°C, initial pH 7.5

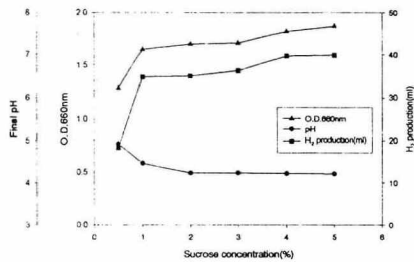


Fig. 5. Effect of sucrose for growth and H₂ production, 35°C, initial pH 7.5

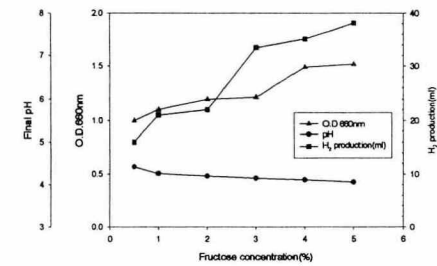


Fig. 6. Effect of fructose for growth and H₂ production, 35°C, initial pH 7.5

초기 pH를 5.5~8.0까지 점차 증가시켰을 때 pH와 균성장은 증가되어 pH 7.5에서 가장 높은 균성장을 보였다(Fig. 2). 균성장이 좋은 pH를 7.5로 하여 glucose 농도를 0.5~5%로 변화시켜 기질 농도에 따른 수소생산량을 조사하였다. 그 결과 2%에서 총 38ml의 최대 수소생산을 보였다. 2% glucose를 첨가할 때부터 배양액 pH가 4.1로 낮아졌고 동시에 균체성장 및 수소생산은 거의 정지하였다(Fig. 3). Phosphate를 10~300mM 증가시켰을 때 수소생산은 50mM에서 총 45ml의 최대 수소생산을 보였고, 초기 pH 7.5에서 4.1~6.4로 낮아졌다. 배지중에 첨가된 phosphate는 pH의 완충제로서, 배양말기의 pH가 6이하로 강하하는 것을 방지하였다⁶⁾. phosphate를 첨가한 수소의 양은 2% glucose로부터 발생된 수소량보다 1.21배 높았다. 일반적으로 발효액의 pH가 높을수록 수소생산은 많았다(Fig. 4). Glucose를 기질로 이용할 때 이 균주는 butyrate, propionate를 배양액 중에 많이 축적하였고, acetate와 formate는 거의 축적하지 않았다.

Sucrose 및 fructose로부터 수소생산

탄소원을 0.5~5%로 증가시켰을 때 sucrose는 4%에서 가장 높은 총 40.5ml의 수소가 생산하였으며 그 이후는 수소생산이 거의 없었다. 이 때 배양액의 pH는 4.2였고, glucose를 기질로 사용하여 같은 배양조건에서 배양했을 때 발생된 수소량보다 많았다(Fig. 5). Fructose는 5%에서 기질을 사용하여 총 38.1ml의 최대 수소가 생산됨을 보였다. 배양중 pH는 초기

pH7.5에서 4.4~4.0로 낮아졌다(Fig.6). Strain YJ는 발효중에 발생하는 pH변화, 유기산 생성 등의 변화에 따라 수소생산 효율이 크게 좌우되었고, 절대 혐기성 상태에서 glucose, mannitol, glycerol, sucrose등을 분해하여 수소로 전환시키는 기질 다양성을 갖고 있기때문에, 바이오매스 자원을 생물학적으로 전환시켜 청정에너지를 생산할 수 있는 유용한 균주라고 사료된다.

요약

Strain YJ는 혐기 발효에서 glucose를 이용하여 복합 유기산 및 수소를 생산하였다. 2% glucose를 이용할 때 총 38ml의 수소가 생산되었으며, pH 완충제인 인산염을 첨가시켰을 경우 1.21배의 수소가 증가되었다. 4% sucrose를 기질로 이용하였을 때 총 40.5ml의 수소를 생산하였으며, 5% fructose에서 38.1ml의 수소를 생산하였다. Glucose를 이용할 때 이 균주는 butyrate, propionate를 많이 축적하였고, acetate, formate등이 소량 검출되었다.

참고문헌

1. Nagai, S., T. Kodama, K. Ohmiya, K. Miyamoto, S. Yokoyama, and H. Saiki. 1996. Interim evaluation report of development of environmentally friendly technology for the production of hydrogen. NEDO. Tokyo, Japan.
2. Gray, C. T. and H. Gest. 1965. Biological formation of molecular hydrogen, *Science* 148:186-192
3. Heyndrickx, M., A. Vansteenbeek, and, J. DeLeg. 1986. Hydrogen gas production from continuous fermentation of glucose in a minimal medium with *Clostridium butyricum* system. *Appl. Microbiol.* 8: 239-24
4. Kim, J. S.,K. Ito, K. Izaki, and H. Takahashi. 1987. Production of molecular hydrogen by a continuous culture under laboratory condition. *Agri. Biol. Chem.* 54(9): 2591-3594
5. Heyndrix, M., P. De Vos, B. Thibau, P. Stevens, and Ji De Ley. 1987. Effect of various external factors on the fermentative production of hydrogen gas from glucose by *Clostridium butyricum* strains in batch culture. *System. Appl. Microbiol.* 9:163-168
6. Daniel, S. S. and L. U. Robert. 1982. Pyruvate dependent diauxic growth of *Rhodospirillum rubrum* in light. *J. Bacterial.* 152: 1175-1187