

## Time progress of dark fermentation for biological hydrogen production using *Chlamydomonas reinhardtii*

김지성<sup>1,5</sup>, 공경택<sup>2</sup>, 박대원<sup>1</sup>, 심상준<sup>3</sup>, 박태현<sup>4</sup>, 조경숙<sup>5</sup>, 정윤철<sup>2</sup>  
한국과학기술연구원 수질환경 및 복원연구센터<sup>1</sup>, 한국과학기술연구원 환경공정연구부<sup>2</sup>  
성균관대학교 화학공학과<sup>3</sup>, 서울대학교 응용화학부<sup>4</sup>, 이화여자대학교 환경학과<sup>5</sup>  
전화 (02) 958-5266, Fax (02) 958-5839

### Abstract

Through the experiment, process of producing hydrogen and organic compounds using *C. reinhardtii* has been researched. In dark fermentation, pH and dry cell weight as well as starch content decreased as time goes, while organic compounds and hydrogen were produced more in accordance with time. Still, organic compounds showed tendency to increase in accordance with time, but hydrogen reached the maximum on the third day.

### 서론

현재 수소가 차세대 에너지원으로 각광받고 있는 것은 수소가 가지는 에너지로써의 강력한 이점 때문이다. 대체 연료로써 수소가 갖고 있는 장점은 깨끗하며, 효율적이고, 재생이 가능하며, 부산물로 이산화탄소나 NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub>와 같은 유해기체를 생산하지 않는다는 것이다. 이로 인해 수소는 석탄, 석유와 같은 화석연료를 대체할 환경친화적 에너지 자원으로써 국제적인 연구가 활발하게 진행되고 있다<sup>1)</sup>.

본 연구에서는 녹조류의 일 종인 *C. reinhardtii*를 이용하여 수소 및 유기산 동시 생산을 시도하였다. *C. reinhardtii*는 명반응으로 세포가 성장하며 암반응을 통해서 수소를 생산할 수 있다. 또한, 수소를 생산하면서 발생하는 발효산물인 유기물은 수소 생산성이 비교적 높은 광합성 박테리아의 기질로 공급이 가능하기 때문에<sup>2)</sup>, 암반응을 통한 혐기 발효를 통한 수소와 유기물의 생산성과 생성 패턴을 조사하였다.

### 재료 및 방법

본 연구에 사용된 녹조류는 *Chlamydomonas reinhardtii* UTEX 90이었으며 배지는 TAP medium을 사용하였다. 광반응기(D=3.5cm)를 사용하여 세포를 성장시켰으며, 빛은 양쪽 측면에서 공급하였다. 빛은 형광등으로 100  $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 로 공급하였고, 온도는 25 °C로 고정하였다. 혼합가스는 CO<sub>2</sub>와 공기를 혼합하여 100 ml/min으로 공급하였다. 빛의 세기는 quantum sensor를 통하여 측정하였다. *C. reinhardtii*의 농도는 660 nm에서

의 흡광도를 spectrophotometer로 측정하여 최종 세포의 농도는 dry cell weight로 나타내었다. 암반응에서 발생한 수소는 GC를 통하여 측정하였다. 유기물의 측정은 혐기발효 시킨 후의 균체를 원심분리한 후 여과를 거쳐 상등액을 GC에 주입하였다. 이 때, 정확한 피크를 보기 위하여 50% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용한 acidification의 과정을 이용하였다.

### 결과 및 고찰

dark fermentation에서의 pH는 초기의 pH에 비해 4일 정도 dark fermentation한 결과 pH가 많게는 1.7에서 적게는 0.5 정도의 감소가 나타났다. DCW 역시 시간이 지남에 따라 점차 감소하는 결과를 보였다. 이것은 dark fermentation으로 넘어감에 따라 세포의 성장이 더 이상 일어나지 않고, 세포내에 있는 물질을 분해한다는 것을 의미한다. 또한 정상적인 dark fermentation을 한 경우의 유기물은 시간이 증가할수록 더 많은 양이 생성되었다. 수소 생산은 시간이 가면서 늘어나는 유기물 생산량과는 다른 양상을 보였다. 질소 농도를 다르게 키운 세포와 인 농도를 다르게 키운 세포 모두 어느 정도 dark fermentation을 하면 수소의 양은 더 이상 늘어나지 않았다. 수소가 많이 생산되는 7.48 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>와 1.0 mM PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>의 경우 3일에 수소 생산이 최대치에 도달하였고, 그 이후에는 큰 변화가 관찰되지 않았다.

### 요약

수소를 생산하는 암반응에서는 pH와 dry cell weight, 세포내의 starch 함유량이 시간에 따라 줄어들었다. 유기물은 시간에 따라 증가하였지만, 수소는 3일째에 생산이 최대치에 도달하였다.

### 감사

본 연구는 과학기술부의 고효율 수소제조기술개발사업의 일환으로 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. Hansel A. and Lindbald P. "Towards optimization of cyanobacteria as biotechnologically relevant producers of molecular hydrogen, a clean and renewable energy source" (1998) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. **50**, pp 153-160
2. Kim M. S., Moon K. W., Lee I. G., Lee T. J., Sung C. K. "Hydrogen Gas Production by Fermentation From Various Sugars Using *Clostridium butyricum* BCIB 9576." (1999) *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. **27(1)**, pp 62-69