

## Enterobacter aerogenes의 혐기발효에 의한 수소생산 최적화

김지현, 박성훈, 윤진선, 조대행, 김의용\*  
서울시립대학교 화학공학과  
(eykim@uos.ac.kr\*)

## The optimization of hydrogen production by dark fermentation with an Enterobacter aerogenes

Kim Ji Hyun, Park Sung Hun, Yoon Jin Sun, Jo Dea Hang, Kim Eui Yong\*  
Department of Chemical Engineering, the University of Seoul  
(eykim@uos.ac.kr\*)

### 1. 서론

전 세계적으로 가장 많이 이용 되고 있는 에너지원인 화석연료는 그 매장량에 한계가 있을 뿐만 아니라 각종 환경오염 문제를 야기한다. 이를 해결하고자 친환경적이고 반영구적인 대체에너지 개발에 끊임없는 노력을 기울이고 있다. 주목 받는 대체에너지인 수소는 높은 에너지 수율을 가지며 연료전지에 직접 사용할 수 있다. 수소를 생산하는 방법은 크게 열화학적, 생물학적 방법으로 나누어진다. 이 중 생물학적인 수소 생산방법은 미생물의 특성에 따라 광합성 미생물로부터 수소를 생산(photosynthesis) 하는 것과 다른 하나는 빛을 이용하지 않는 혐기성미생물로부터 수소를 생산(dark fermentation)하는 것이 있다.

본 연구는 혐기 발효를 통한 생물학적 수소에너지 생산방법에 관하여 수행되었다. 혐기성 미생물인 Enterobacter aerogenes 를 합성배지 조건에서 수소생산의 최적화 실험을 수행하였다. 미생물의 수소생성에 영향을 미치는 인자로 pH 의 변화, pH 를 조절하는 버퍼의 농도 등으로 정하였다. 각각의 조건을 변화시켜 수소생산량을 측정하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 2.1 사용균주

본 실험에 사용된 Enterobacter aerogenes 는 연세대학교 화학공학과에서 분리 동정되었다.

## 2.2 배지 및 배양조건

*Enterobacter aerogenes*는 NB배지에서 24시간 동안 배양하였다. 배양액 10ml을 1리터당 Glucose 25g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  5g, NaCl 0.1g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.015g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.025g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.005g,  $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   $1.25 \times 10^{-4}$ g 첨가된 합성배지에 접종하여, shaking incubator(Sam Woo Scientific Co)에서 37°C, 130 rpm의 조건으로 배양하였다. 최적 버퍼의 농도와 pH를 알아보기 위하여 0.3M, 0.5M, 1M의 potassium phosphate buffer와 대조군으로 버퍼를 넣지 않은 실험도 병행하였다. 초기 pH는 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0의 총 5개로 설정하여 각각의 버퍼농도에서 실험하였다. 혐기조건 조성을 위해 250ml의 bottle에 200ml의 배지를 첨가한 후 아르곤 가스로 배지와 head space를 치환하여 실리콘 마개로 밀폐하였다.

## 2.3 분석방법

수소발생에 영향을 미치는 다양한 인자를 측정하기 위하여 pH, cell mass의 농도, 잔존 glucose의 농도를 측정하였다. pH의 측정은 portable pH meter(Thermo Orion, model 720A), cell mass의 농도측정은 건조중량 법을 사용하였다. 잔존 glucose의 농도측정은 DNS법을 이용하여 UV spectrophotometer(Varian Technology Korea Co., CARY 50 Probe) 560nm에서 측정하였다. 가스의 조성은 배양기내 head space가스를 micro syringe로 1ml를 채취하여 GC(영린M 600D)로 분석하였다. 사용된 column은 packed column(carboxen 1000)이고, TCD로 검출하였다. 분석온도는 oven 50°C, injector 50°C, detector 50°C였으며, carrier gas로는 아르곤을 사용하였고, flow rate는 30ml/min이었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 균체의 성장

각 buffer의 농도에서의 균체의 성장은 다른 양상을 보인다. Buffer를 넣지 않은 반응기와 1M의 buffer를 사용한 반응기에서는 성장이 거의 이루어지지 않았고, 0.3M과 0.5M의 buffer에서는 각각 최고 26mg/l, 21mg/l 까지 성장하였다. 균체는 배양 후 20시간까지는 성장이 미비하였으나 20시간부터 40시간 사이에 급격히 성장했다.(Fig. 1.) 1M의 buffer에서는 높은 buffer의 농도가, buffer를 넣지 않은 반응기에서는 초기 pH가 급격하게 4.5 이하로 떨어진 것이 성장저해의 원인으로 생각된다. (*Enterobacter aerogenes*의 적정성장 pH는 5.5~6.0이다.) 그리고 균체가 성장하면서 수소생산이 증가하는 경향을 보인다.(Fig. 2.)

### 3.2 수소의 생산

buffer를 넣지 않은 반응기와 1M의 buffer를 사용한 반응기에서는 수소생산이 미비하였고, 0.3M과 0.5M의 buffer에서는 수소생산이 각각 45ml, 48ml이 발생되었다.

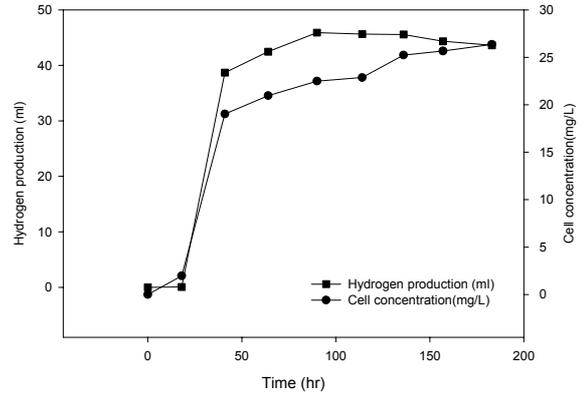
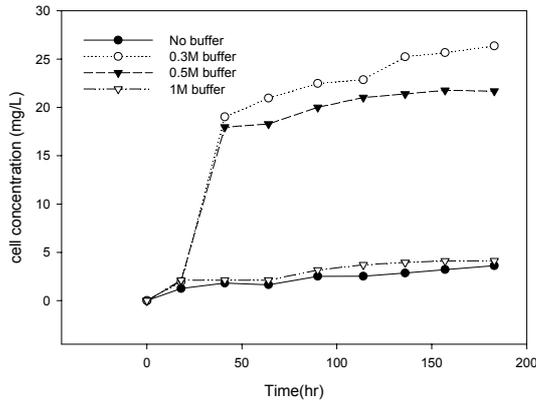


Fig. 1. The patterns of cell concentration by various buffer conditions

Fig. 2. The Comparison of hydrogen production and cell concentration (0.5M buffer and pH 5.5)

수소는 초기 배양 20시간 후부터 생성되었으며, 50시간을 전후하여 수소생산이 마무리 되는 것을 확인 할 수 있었다. (Fig. 3.) 수소 생산율은 40시간, 0.5M의 buffer-초기 pH 5.5의 반응기에서 11ml/hr/l를 보여주었다. (Fig 4.) 실험 결과 0.5M의 buffer-초기 pH 5.5에서 가장 높은 수소생산을 기록하였는데, 이는 0.5M의 버퍼가 pH를 일정하게 조절함으로써 균체가 성장 할 수 있는 조건을 만들어 주었기 때문으로 보여진다.

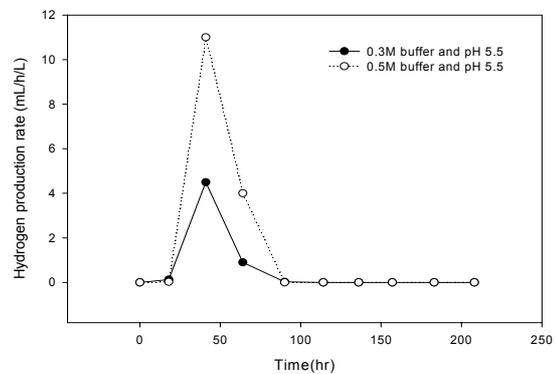
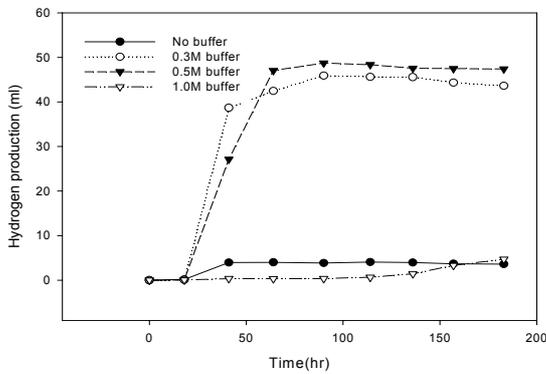


Fig. 3. Hydrogen production by various buffer conditions

Fig. 4. The comparison of Hydrogen production rate (0.3M, 0.5M buffer and pH 5.5)

### 3.4. pH의 영향

수소생산량이 가장 높은 최적의 pH는 pH 5.5일 때이고. 다음으로 pH 5.0, 6.0, 6.5, 7.0의 순서로 수소발생량이 많았다.(Fig. 7.) 초기 pH가 7.0일 경우에는 수소가 거의 발생되지 않은 점에서 일정 pH이상일 경우에는 수소가 생산되지 않는 것으로 추정 된다. 또한 초기 pH의 값은 시간이 지날수록 조금씩 떨어지는데, pH 4.5 이하로 내려가면 수소 생산에 저해를 주는 것으로 분석된다. (Fig. 8.) 따라서 가장 높은 수율의 수소생산을 위

해서는 pH를 5.5로 유지하는 것이 최적으로 분석된다.

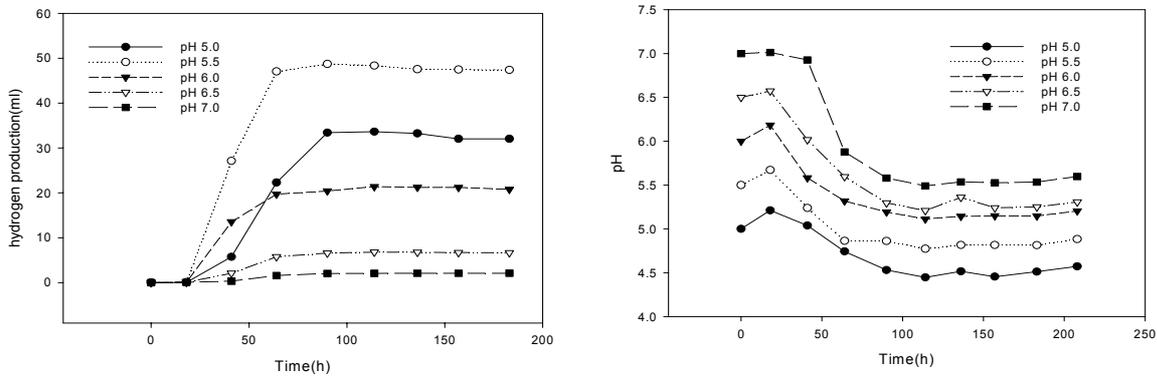


Fig. 7. Hydrogen production by various pH conditions

Fig. 8. 1pH changes in 0.5M buffer reactor

#### 4. 결론

본 연구는 혐기성 미생물인 *Enterobacter aerogen* 를 합성배지 조건하에서 수소생산의 최적화 실험을 수행하였다.

미생물의 수소생성에 영향을 미치는 인자로는 pH의 변화와 pH를 조절하는 버퍼의 농도 등이 있으며 각각의 조건에서 수소생산량을 측정하였다. Phosphate buffer 0.5M을 사용하고 pH가 5.5일 때 수소생산이 최대를 나타내는 것을 확인 할 수 있었고, 이때의 수소생산량은 0.24 mmol/l/h 이었다. 셀의 성장기에 수소가 같이 생산되는 경향을 보였으며, 탄소원으로 사용된 Glucose는 약 15g이 사용되었다.

#### 참고문헌

1. Ogino, H., Miura, T., Ishimi, K., Seki, M. and Yoshida, H. *Biotechnol. Prog.* 2005, **21**, 1786-1788.
2. Meng Li, Dennis Y.C. Leung, Michael K.H. Leung and K. Sumathy. *Fuel Processing Technology.* 2006, **87**, 461-472.
3. Tanisho, S., Kuromoto, M. and Kadokura, N. *Int. J. Hydrogen Energy.* 1998, **23**, 559-563.
4. Shin, J.H. and Park, T.H. *Korean Chem. Eng. Res.* 2006, **44**, 16-22.