

광합성세균을 이용한 수소생산

김진상

부산수산대학교 자연과학대학 미생물학과

1. 머릿말

장기적인 화석 에너지자원의 수급전망으로 보아 대체 에너지자원의 안전확보 문제는 중대한 과제임에 틀림없다.

수소는 중량당의 발열량이 높고 대량소비시에 대기오염을 유발치 않는 이상적인 에너지자원의 하나로 장래 항공기, 자동차, 연료전지 등의 새로운 연료로서, 또는 수송과 저장에 편리한 에너지매체(2차에너지)로서 고려되고 있다.¹⁾

수소의 대량생산에 관하여 물의 전기분해, 탄화수소의 열화학적 분해법이나 집광렌즈를 이용한 물의 열분해, 반도체전극을 이용한 물의 광분해법 등이 연구되고 있다. 한편, 태양에너지의 효율적인 이용과 관련하여 광합성의 원리를 활용한 광생물학적 수소생산법(biological solar energy conversion)도 에너지절약형의 무공해 process로서 새로운 에너지전환 기술의 하나로 발전되고 있다.

광조사시에 수소를 생산하는 미생물로는 녹조류(green algae), 남조류(blue-green algae) 그리고 광합성세균(photosynthetic bacteria)이 알려져 있으며²⁾, 이 중에서 남조류와 광합성세균이 실용적인 수소생산에 유망시되고 있다. 남조는 광화학계(photosystem) I과 II를 가지며 물을 분해하여 수소를 생산하지만, 산소를 동시에 발생하므로 그 분리가 필요하고, 지속적인 수소생산을 위하여는 argon 등의 불활성 가스를 통기하여 수소와 산소의 분압을 낮추어야 하며, 현재로서는 수소생성 활성이 약한 결점이 있다. 광합성세균의 경우는 광화학계 II가 결여되어 물분해능이 없으나 유기화합물을 전자공여체로하여 남조보다 훨씬 빠른 속도로 수소를 생산하며, 생산가스는 약간의 이산화탄소 외에는 거의 순수한 수소이어서 그대로 연료로 사용할 수 있는 장점을 지닌다. 따라서 광합성세균을 이용하면 유기질 폐기물(식품가공 폐수, 농산폐기물 등)의 처리와 더불어 수소를 생산하는 방법으로 실용화가 가능할 것으로 생각된다.

본고에서는 지금까지 연구·보고된 자료를 토대로 광합성세균에 의한 수소생산의 연구현황과 문제점에 대하여 논의코자 한다.

2. 광합성세균의 수소대사(연구소사)

광합성세균에 의한 수소흡수반응은 1934년 Roelofsen에 의해 처음으로 보고 되었고³⁾, 그는 홍색 유황세균에 속하는 *Chromatium vinosum*이 수소를 전자공여체로하여 CO₂를 고정함을 밝혔다. 그 후 *Rhodospirillum rubrum*(홍색비유황세균) 등이 암-혐기조건에서 formic acid를 분해하여 수소를 생성함을 보고하였다.⁴⁾ 이상은 어느 것이나 수소흡수반응 또는 암반응에 의한 수소생산이다.

광합성세균의 광의존 수소생산은 Gest와 Kamen에 의해 1949년에 처음으로 발견되었다.^{5, 7)} 그들은 *R. rubrum*이 어떤 종류의 아미노산(glutamate 등)을 함유하는 배지에 광조사 배양하면 왕성히 수소를 발생함을 명백히 하였고, 한편 질소가스 또는 암모니움염이 존재할 때는 수소가 생산되지 않음도 알았다. 이러한 특성은 그 후 다른 종류의 광합성세균에 있어서도 일반적으로 일어나는 현상인 것으로 널리 인식되었다.

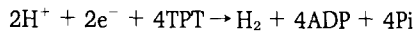
Gest⁸⁾ 등은 물분해에 의해 생산된 전자가 수소생산 효소에 전달되어 수소가 합성된다고 주장했다. 또 Bregoff와 Kamen⁹⁾은 질소가스나 암모니움염이 존재할 때 수소가 생산되지 않음은 수소흡수 반응이 일어나기 때문이라 하였다.

그 후 광합성세균은 광에 의한 물분해능이 없으며, 물 이외의 환원물질이 수소생산의 전자공여체로서 필요함이 명백해졌다. 이용가능한 전자공여체는 광합성세균의 종류에 따라 다르나 각종의 유기화합물(주로 저급 유기산류)이 수소생산에 효과적임이 인정되었다.

3. 수소생산 기작

광합성세균은 광화학계 I만을 가지며, 생육을 위해 유황을 요구하는 것과 요구하지 않는 것이 있다. 광합성세균을 분류하면 홍색 유황세균(Chromatiaceae)과 녹색 유황세균(Chlorobiaceae), 홍색 비유황세균(Rhodospirillaceae)으로 대별된다. 이들 세균은 질소고정능을 가지며, 광화학계 II가 결여되므로 물분해능이 없고, 유기화합물 또는 유황화합물을 전자공여체로 이용한다. 수소생산의 실험에는 홍색 비유황세균(purple non-sulfur bacteria)이 많이 이용되며, 이 부류의 세균은 광·혐기조건에서 질소원으로서 glutamate 등의 아미노산과 탄소원으로서 lactate, pyruvate, malate 등의 유기산을 함유하는 배지 중에서 왕성히 수소를 발생한다.^{7, 10)} 그러나 분자상의 질소나 암모니아가 존재하면 수소생산이 억제된다.^{7, 11)} 이러한 광합성세균의 수소발생은 광의존성이며, 산소를 발생치 않고, 생산물인 수소기류 중에서도 생산이 지속된다.¹¹⁾ 또한 탈공역제로 ATP의 생산을 억제하면 광수소생산이 정지된다.¹²⁾ 한편 질소고정능이 없는 변이주(nif-mutant)는 수소생산능이 없는 것으로 부터 홍색 비유황세균의 수소생산은 nitrogenase에 의해 촉매되는 것으로 추정되고 있다.^{13, 14)} 전통적인 hydrogenase는 다음의 가역반응을 촉매하지만($H_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^-$), 광합성세균에 있어서 이 효소는 주로 수소흡수 반응을 촉매(uptake hydrogenase)하는 듯 하다.¹¹⁾

이러한 사실로부터 광합성세균은 Fig. 1에 예시한 것처럼 세포내의 광화학계 I이 관여하는 순환식 광인산화 반응으로 APT가 생산되고,¹⁶⁾ 기질이 공급하는 전자에 의해 nitrogenase계의 전자전달체가 환원되며, 그 환원력과 ATP를 이용하여 아래 식과 같이 nitrogenase가 수소이온을 환원하여 분자상의 수소를 생산하는 것으로 추정되고 있다.¹³⁾



N_2 가 존재할 때 수소생산이 억제됨은 nitrogenase 본래의 반응($N_2 + 3H^+ + 3e^- + 6ATP \rightarrow NH_3 + 6ADP$)이 우선되기 때문이며, NH_4^+ 함유배지에서는 nitrogenase의 합성이 유도되지 않으므로 수소가 생산되지 않는다. ATP를 허비하는 이 수소발생 현상은 전자(e^-)나 ATP가 과잉공급되었을 때 작동되는 대사 조절기구의 하나인 것으로 생각된다.^{10, 15)}

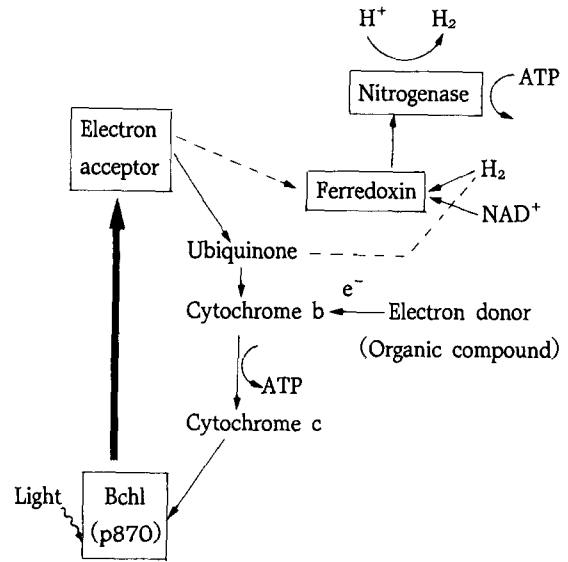
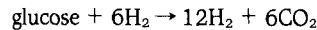


Fig. 1. 광합성세균의 순환식 광인산화와 nitrogenase에 의한 수소생산 기구의 모식도

4. 수소생산의 에너지론

광합성세균에 있어서 nitrogenase 반응에 필요한 ATP는 광합성에 의해 생산되므로 유기기질은 전자공여체로서만 이용할 수 있고, 광의존성의 혐기적 Krebs cycle의 작동에 의해 carbohydrates가 완전히 분해된다.¹⁷⁾ 아래 식에서와 같이 이론적으로 1 mole의 glucose가 완전히 분해되면 12 mole의 수소가 생산된다. 실제적으로



광합성세균의 배양에 의해 lactate로부터 약 70%의 에너지 전환효율이 얻어져 있다.¹⁸⁻²⁰⁾

이론적으로 생세포의 최대 태양에너지 전환효율은 12% ($0.9 \times 10^8 \text{Kcal} \cdot \text{Acer}^{-1} \cdot \text{Year}^{-1}$)인 것으로 추정되며, 식물(사탕수수)에서 관찰되는 최고효율은 2.5% 정도이다.²¹⁾ 광합성세균의 광화학계는 bacteriochlorophylls와 carotenoids를 함유하므로 넓은 범위의 광파장을 흡수하여 효율적으로 태양광을 이용하도록 적응되어 있다. 강광 하에서 광합성세균의 수소생산 효율은 2~3% 정도이나, 약광 하에서는 7%의 높은 전환율을 나타내었고²²⁾, 평균 광에너지 전환효율은 약 2.6% 정도이므로 균체의 능력계량 및 수

소생산 배양조의 개량이 필요하다.

5. 수소생산 속도 및 수소생산을 위한 기질

광합성세균은 탄수화물, 유기산, 유황화합물을 이용하여 수소를 생산할 수 있다.^{4, 10, 25)} 수소의 생산속도는 기질과 균종에 따라 달라지지만 lactate로부터 높은 생산속도가 얻어져, *Rhodospseudomonas capsulata*의 경우 130 μ l/hr/mg dry cells¹⁰⁾ 및 168 μ l/hr/mg dry cells²³⁾ 그리고 *Rhodospseudomonas sphaeroides*에 있어서 140 μ l/hr/mg dry cells²⁵⁾ 등의 활성이 보고되었다.

탄수화물은 양적으로 가장 풍부한 biomass의 주성분이며, glucose로부터 수소생산에 관하여는 보고되었으나²⁶⁾, cellulose 분해성의 광합성세균은 아직 발견되지 않았다. 생전분을 분해하여 수소를 생산하는 *Rhodospseudomonas* sp.는 분리되어 있다.²⁷⁾

Alcohol은 고환원 상태의 화합물로서 수소생산의 훌륭한 기질이 될 수 있고, *Rhodospseudomonas* sp.에 의한 ethanol, propanol, butanol로부터 수소생산이 가능하였다.²⁸⁾

식품가공 폐수와 농산폐기물 등을 이용한 수소생산도 시험되었다. 즉, Zürer와 Bechhofen¹⁹⁾은 whey 등의 낙농 부산물, Mitsui 등²⁹⁾은 오렌지가공 폐수, Vincenzini 등³⁰⁾은 설탕정제 폐수 및 제지공장 폐수, Vrati와 Verma³¹⁾는 우분으로부터의 수소생산을 각각 시도하였고, 그 주요한 결과는 Table 1과 같다. 한편 광합성세균 중에서 *Chromatium*이나 *Thiocapsa* 등을 이용하여 유황화합물(sulfide 등)로부터의 수소생산도 연구되고 있다.³²⁾ 또한 *Clostridium* 등의 혐기성세균과 광합성세균의 혼합배양에 의한 수소생산에 관하여도 연구되었으며³³⁾, 이는 폐수처리와 더불어 에너지회수에 유리할 것으로 생각된다.

Table 1. 각종 유기질폐기물로부터의 수소생산

기 질	균 주	수소생산속도 (μ l/hr/mg dry cells)	수 율 (%)
Whey	<i>R. rubrum</i>	2-5	67
오렌지쥬스 가공폐액	<i>Rhodospseudomonas</i> sp.	90	-
설탕정제폐액	<i>R. palustris</i>	30-43	43
제지공장폐수	<i>R. molischianum</i>	70	33
우 분	<i>R. capsulata</i>	6.3	-

6. 수소생산의 문제점과 전망

광합성세균에 의한 수소생산의 실용화를 위하여는 균체의 수소생산성 향상 및 활성의 유지, 원료문제 및 암모니아에 의한 수소생산의 억제문제, 적합한 배양조개발과 균체의 이용방안 등에 관련된 제문제의 해결이 필요하다.

광합성세균의 수소생산성 향상을 위해서는 자연계로부터 보다 고효율균주의 탐색과 아울러 유전적인 개량이 병행되어야 한다. 광합성세균의 유전자조작 기술은 대장균 등에 비해 매우 빈약하지만, 점차 활발해져 유전적인 육종이 기대된다. 특히 *R. capsulata*에 있어서 GTA(gene transfer agent)가 발견되어 유전적 연구가 진보되고 있다.³⁴⁾ 또한, 광합성기능을 상실한 광합성세균에 plasmid를 도입하여 기능회복이 가능하다는 보고가 있으므로, 효율적으로 태양에너지를 이용할 수 있는 광합성기관의 개량에 의한 균의 육종이 기대된다.

균체의 활성유지와 산소로부터 nitrogenase의 보호를 위한 수단으로서 균체의 고정화가 효과적인 방법이며, agar^{35, 36)}, carrageenan³⁷⁾, calcium alginate³⁸⁾ 등이 광합성세균의 고정화담체로서의 이용을 위해 조사되어 왔다.

광합성세균의 nitrogenase에 의한 수소생산은 생산물에 의한 feed back inhibition의 문제는 없으나³⁹⁾, 폐수 등 광범위한 기질의 이용면에서 암모니아에 의한 nitrogenase 합성의 억제 또는 활성저해를 회피할 수 있는 방법이 요구되며, 완전함 암모니아 탈억제 균주의 개발이 장차 기대된다. 또한 가장 풍부한 biomass성분인 cellulose를 이용하여 수소를 생산하는 광합성세균의 육종개발도 중요하다.

옥외배양에 적합한 수소생산의 배양조는 태양에너지의 전환효율과 일정범위의 온도유지 등을 고려한 간소한 것이 유리할 것이다. 전환효율의 향상을 위해서는 광섬유나 거울을 이용하여 광을 적절히 분산시키는 반응조가 고려되고 있으며, 일정온도의 유지에는 구조의 복잡성을 피하기 어렵고, 시설비가 상승되므로, 고온성균의 사용이나 수면 등의 온도변화가 적은 장소에 배양장치를 설치하는 것도 한가지 방법으로 생각된다.

광합성세균의 균체는 약 65%의 단백질로 구성되며, 필수 아미노산의 균형이 고르고, 많은 양의 비타민류와 bacteriochlorophyll 및 carotenoid 등을 함유하므로 SCP로서의 이

용가치가 높아⁴⁰⁾, 수소생산에 사용한 균체의 재이용으로 여기서 논한 수소발효의 가치를 더욱 높일 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Lawrence, W. J., *Science*, **174**, 367(1971).
2. Peschk, W., and Winter, C. J., *Int. J. Hydrogen Energy*, **9**, 319(1984).
3. Eickhoff, H. G., Martinsen, D., and Walbeck, M., *Int. J. Hydrogen Energy*, **9**, 233(1984).
4. Weaver, P. F., Lien, S., and Seibert, M., *Sol. Energy*, **24**, 3(1980).
5. Roelofsen, P. A., *Academical Science Amsterdam*, **37**, 660(1934).
6. Gest, H., and Kamen, M. D., *Science*, **109**, 558(1949).
7. Gest, H., and Kamen, M. D., *J. Bacteriol.*, **58**, 239 (1949).
8. Gest, H., Judis, J., and Peck, H., In *Inorganic Nitrogen Metabolism*, p. 298, Johns Hopkins Univ. Press(1956).
9. Bregoff, H. M., and Kamen, M. D., *J. Bacteriol.*, **63**, 147(1952).
10. Hillmer, P., and Gest, H., *J. Bacteriol.*, **129**, 724(1977).
11. Gest, H., Kamen, M. D., and Bregoff, H. M., *J. Biol. Chem.*, **182**, 153(1950).
12. Gest, H., *Bacteriol. Rev.*, **15**, 183(1951).
13. Gest H., *Adv. Microbiol. Physiol.*, **7**, 243(1972).
14. Kim, J. S., Ito, K., and Takahashi, H., *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 827(1980).
15. Dixon, R. O. D., *Archs Microbiol.*, **85**, 195(1972).
16. Arnon. A. I., Losada, M., Nozaki, M., and Tagawa, K., *Nature*, **190**, 601(1961).
17. Gest, H., Ormerod, J. G., and Ormerod, K. S., *Archs Biochem. Biophys.*, **97**, 21(1962).
18. Hillmer, P., and Gest, H., *J. Bacteriol.*, **129**, 732(1977).
19. Zürer, H., and Bachofen, R., *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 789(1979).
20. Kim, J. S., Ito, K., and Takahashi, H., *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 937(1982).
21. Mitsui, A., In *Solar-Hydrogen Energy Systems*, Ohta, T. (Eds.), p. 171, Pergamon Press Ltd.(1979).
22. Miyake, J., and Kawamura, S., *Int. J. Hydrogen Energy*, **12**, 147(1987).
23. Kim, J. S., Ito, K., and Takahashi, H., *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 937(1982).
24. Mitsui, A., Philips, E. J., Kumazawa, S., Reddy, K. J., Ramachandran, S., Matsunaga, T., Haynes, L., and Ikemoto, H., *Ann. New York Acad. Sci.*, **413**, 514 (1983).
25. Kumazawa, S., and Mitsui, A., *Hydrogen Metabolism of Photosynthetic Bacteria and Algae*. In *CRC Handbook of Biosolar Resources, Vol. I, Basic Principles Part 1*, Mitsui, A., and Black, C. C.(Eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 299-316(1982).
26. Margaritic, A., and Vogrinetz, J., *Int. J. Hydrogen Energy*, **8**, 281(1983).
27. Buranakarl, L., Fan, C. Y., Ito, K., Izaki, K., and Takahashi, H., *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3339(1985).
28. Fujii, T., Nakazawa, A., Sumi, N., Tani, H., and Yabuki, M., *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2747(1983).
29. Mitsui, A., Matsunaga, T., Matsunaga, T., Ikemoto, H., and Renuka, B. R., *Dev. Ind. Microbiol.*, **26**, 209 (1985).
30. Vincenzini, M., Materassi, R., Tredioi, M. R., and Florenzano, G., *Int. J. Hydrogen Energy*, **7**, 725(1982).
31. Vrati, S., and Verma, J., *J. Ferment. Technol.*, **61**, 157 (1983).
32. Matheron, R., and Baulaigue, R., *Arch. Microbiol.*, **135**, 211(1983).
33. Miyake, J., Mao, X. Y., and Kawamura, S., *J. Ferment. Technol.*, **67**, 531(1984).
34. Scolnik, P. A., Marrs, B. L., *Ann. Rev. Microbiol.*, **41**, 703(1987).
35. Bennett, M. A., and Weetall, H. H., *J. Solid-Phase Bio-*

- chem.*, **1**, 137(1976).
36. von Felten, P., Zürrer, H., and Bachofen, R., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 15(1985).
37. Francou, N., and Vignais, P. M., *Biotechnol. Lett.*, **6**, 639(1984).
38. Karube, L., Matsuoka, H., Murata, H., Kajiwara, K., and Suzuki, S., *Ann. New York Acad. Sci.*, **434**, 427 (1984).
39. Simpson, F. B., and Burris, R. H., *Science*, **224**, 1095 (1984).
40. Shipman, R. H., Fan, L. T., and Kao, I. C., *Appl. Microbiol.*, **21**, 161(1977).

생명과학 편집 원고 모집

생명과학의 편집계획과 관련된 원고들은 수시로 모집하오니, 회원동정에 관한 부분까지도 본 연구회 사무실로 보내주시기 바랍니다.

편집은 권두언, 총설, 최근연구동향, 세미나리포트, 학회참관기, 생명과학중계실, 생명과학에세이, 오류도 게시판, 자유 칼럼 순으로 계획되어 있으니 관련원고를 적극적으로 투고하여 주시면 보다 충실한 생명과학지로 성장할 수 있을 것으로 믿습니다.

또한 총설 및 미니리뷰의 경우에는 본지에 게재된 투고요령을 참고 하시기 바랍니다.