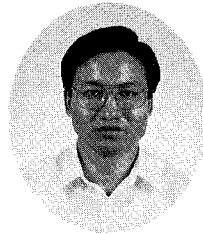


유기성폐기물 자원화의 생물공학적 원리

〈중〉



김학성

〈한국과학기술원 생물공학과 부교수〉

목 차

I. 서론

II. Biomethanation

1. Biogeochemical cycle for carbon
2. Methane and Methanogenesis
3. Methane-producing Bacteria: Methanogenes
4. Biochemistry of CO₂ Reduction to CH₄
5. Autotrophy in Methanogens
6. Acetate와 Methyl Compounds로 부터의 메탄 생성
7. Energetics of Methanogenesis
8. Anaerobic Digestion of Organic Carbon to Methane
9. Sulfate Inhibition of Methanogenesis
10. Stoichiometry of Methanogenesis

III. Composting

1. Composting의 일반적 특징
2. Biochemical Reaction
3. Composting에 관련된 미생물
4. Environmental Requirements

IV. 참고문헌

2.4. Biochemistry of CO₂ Reduction to CH₄

일반적으로 이산화탄소가 메탄으로 환원될 때 H₂가 electron donor로 작용하지만 formate, carbon monoxide, 그리고 elemental iron도 electron donor로 이용된다. 특별히 *Methanospirillum*의 경우에는 2-propanol이나 2-butanol이 산화되면서 전자를 제공한다. 이산화탄소가 메탄으로 환원되는 경로는 그림 4와 같으며 요약하면 다음과 같다.

a. 이산화탄소가 methanofuran에 activation되면서 formyl group으로 환원된다.

b. Formyl group이 methanofuran에서 tetrahydro-methanopterin으로 전달되면서 methylene과 methyl기로 환원된다.

c. Methyl group은 methanopterin에서 Coenzyme M으로 전달된다.

d. Methyl-coenzyme M은 methyl reductase system에 의해 메탄으로 환원되면 이때 F₄₃₀, F₄₂₀, component B가 관여하게 된다.

2.5. Autotrophy in Methanogens

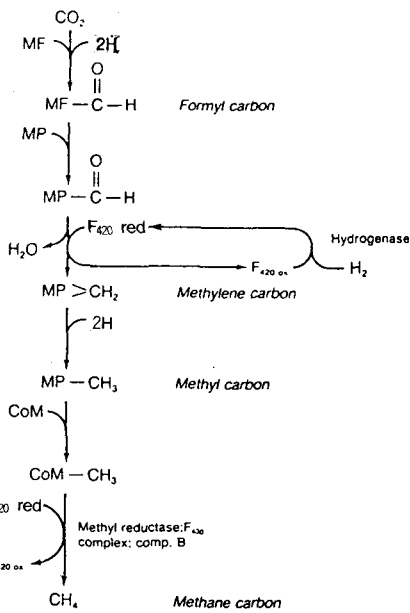


그림 4 Pathway of methanogenesis from CO₂. Abbreviations; MF, methanofuran; MP, tetrahydromethanopterin; CoM, coenzyme M; Comp B, component B; F₄₂₀, coenzyme F₄₂₀; F₄₃₀, coenzyme F₄₃₀. The carbon atom reduced and the source of electrons are highlighted.

일반적인 혐기성 세균은 acetyl-CoA 경로를 통해 이산화탄소로부터 유기물을 얻는 것으로 잘 알려져 있다. 메탄생성균의 경우는 이산화탄소와 H₂ 존재하에서 생합성 경로와 메탄생성 경로를 공유하게 되는데 이는 두 경로에서 CH₃ group이 공동으로 이용되기 때

문이다. 그림 5에서 보듯이 autotrophic 조건에서 성장한 메탄생성균은 methyl group을 생성하는 acetyl-CoA 경로가 없기 때문에 acetate를 생산하기 위해 methanogenic pathway로부터 methyl group을 얻게 된다. 이 경우 methyl tetrahydromethanopterin은 비타민 B₁₂를 포함하는 효소에 methyl기를 전달하고 다시 carbon monoxide dehydrogenase에 전달되어 최종적으로 acetyl-CoA를 생산하게 된다. 이는 acetate를 생산하는데 필요한 enzymatic pathway가 필요하지 않고 methanogenesis에 비해 매우 적은 양의 methyl group이 acetate 생성에 소모되기 때문에 에너지 절약차원에서 매우 효과적이다.

2.6. Acetate와 Methyl Compounds로 부터의 메탄 생성

Methyl compounds의 methyl group은 비타민 B₁₂에 전달되어 CH₃-B₁₂를 형성한 다음 다시 CoM에 전달되어 CH₃-CoM을 형성하고 이로부터 메탄이 생성된다. 환원에 필요한 전자는 메탄올이 이산화탄소로 산화될 때 얻어지는 것을 이용하게 된다. Acetate에서의 성장은 acetyl-CoA 경로와 관계가 있으며 acetyl-CoA로 전달되어 carbon monoxide dehydrogenase의 작용에 의해 B₁₂로 이동된다. CH₃-B₁₂는 다시 tetrahydromethanopterin을 거쳐 CoM으로 전달된 다음 CO가 CO₂로 산화시 발생하는 전자를 이용하여 methane로 환원된다. 자세한 경로는 그림 6에 잘 나타나 있다.

2.7. Energetics of Methanogenesis

메탄생성균에서의 ATP합성은 substrate-level pho-

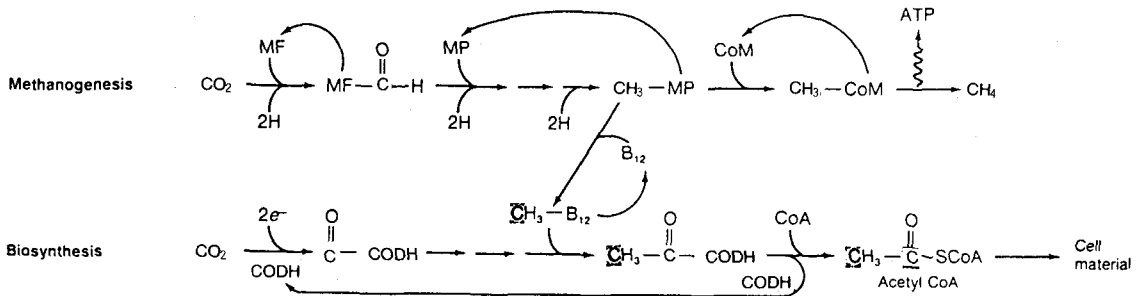
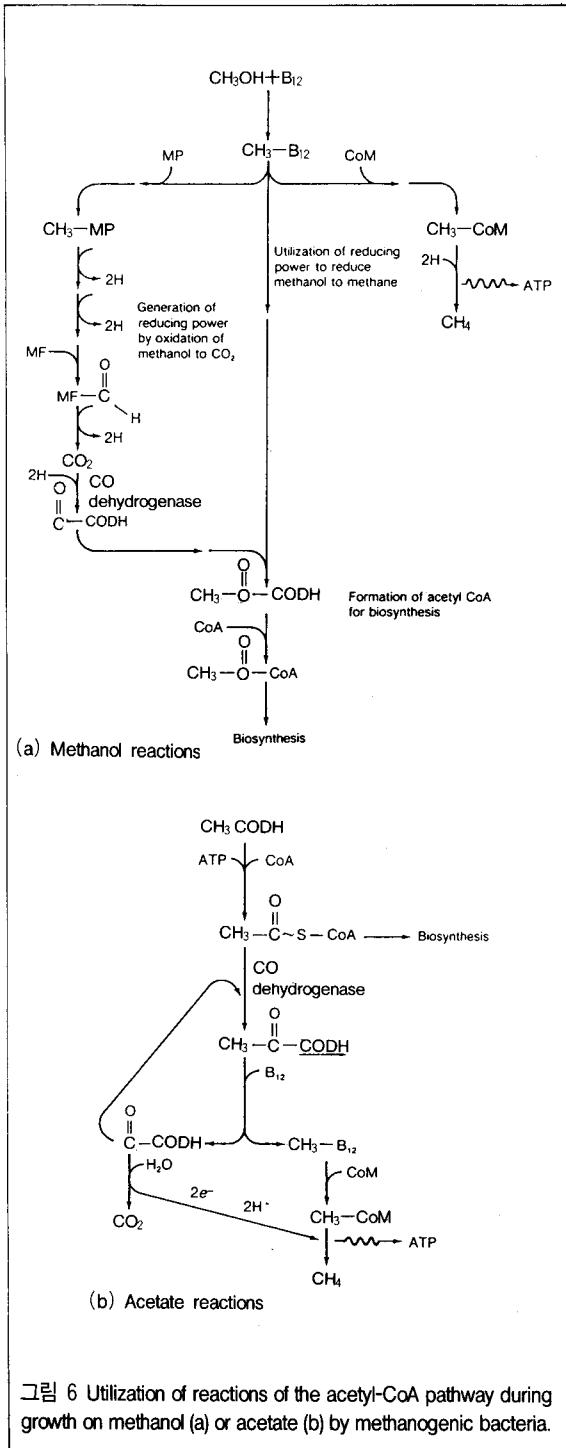
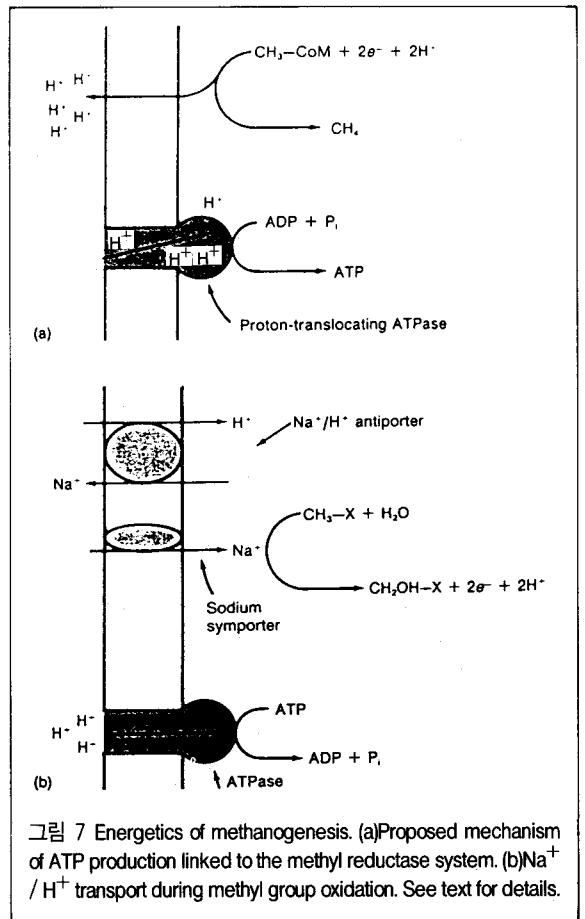


그림 5 How autotrophic methanogens combine aspects of biosynthesis and bioenergetics. Abbreviations are as in Figure 19.115. CODH=carbon monoxide dehydrogenase.



ylation에 의한 것으로 생각된다. 전술한 바와 같이 standard조건에서 CO_2 를 CH_4 로 H_2 를 이용하여 환원 시키는 경우의 $\Delta G^\circ = -32\text{Kcal/mol}$ 이지만 실제로는 H_2 의 농도가 매우 낮기 때문에 ($1\ \mu\text{M}$ 정도) Gibbs free energy 변화는 -15Kcal/mol 정도로 예측된다. 그러므로 대강 1 mol정도의 ATP가 합성되는 것으로 생각되며 이 값은 실험적으로 얻어진 molar growth yield와 일치한다. CO_2 와 H_2 에서 성장하는 메탄생성균의 경우 cytochromes이나 다른 전자전달계가 존재하지 않기 때문에 다음과 같은 기작에 의해 ATP가 합성될 것으로 추측되고 있다. 그림 7(a)에서 보듯이 메탄생성의 최종단계에서 $\text{CH}_3\text{-CoM}$ 이 CH_4 로 환원되면서 proton pump에 의해 cytoplasmic membrane밖으로 수소이온이 방출되고 있대 형성된 수소이온의 농도에 의하여 proton-translocating ATPase가 ATP를 합성한다.



sphorylation이 없기 때문에 electrontransport phosphor-
환경관리인. 1992.10

Methyl기를 포함한 기질의 경우 수소가 없기 때문에 methane으로 환원시키는데 필요한 전자를 얻기 위하여 기질이 CO₂로 산화되어야 한다. 메탄올에서 성장하는 *Methanosarcina barkeri*의 경우 Na이온이 필요하기 때문에 membrane내에 sodium pump가 존재하는 것으로 생각되어 그림 7(a)와 같은 기작을 예상하였다. 즉, methyl group의 산화는 열역학적으로 불가능한 반응인데 Na이온이 미생물 안으로 들어가게 되므로 antiporter에 의해 수소이온과 Na이온이 교환된다. 이때 ATPase에 의해 ATP가 분해되면서 수소이온 농도의 gradient가 다시 형성되면서 전체적으로 methyl group의 환원에 필요한 전자를 얻게 된다. Methyl기를 포함한 기질에서 성장하는 미생물의 경우 cytochrome b와 cytochrome c를 포함하고 있는데 이는 methyl기의 산화시 초기의 전자수용체로 작용하는 것으로 생각되어진다. 메탄생성균의 경우 methyl reductase system에 의한 methyl기의 환원이 에너지 보존에 가장 중요한 것으로 알려져 있다.

Methyl group의 산화는 열역학적으로 불가능한 반응인데 Na이온이 미생물 안으로 들어가게 되므로 antiporter에 의해 수소이온과 Na이온이 교환된다.

Methyl기를 포함한 기질에서 성장하는 미생물의 경우 cytochrome b와 cytochrome c를 포함하고 있는데 이는 methyl기의 산화시 초기의 전자수용체로 작용하는 것으로 생각되어진다. 메탄생성균의 경우 methyl reductase system에 의한 methyl기의 환원이 에너지 보존에 가장 중요한 것으로 알려져 있다.

2.8. Anaerobic Digestion of Organic Carbon to Methane

일반적으로 혐기성 소화는 여러 가지 미생물군에 의해서 polysaccharides, proteins, fats로부터 메탄이 생성되는 것으로 인식되어 있으며 서로 다른 미생물군간의 상호대사작용이 매우 중요하다. 대략적인 메탄생성 경로는 그림 8과 같다. 대표적인 다당류인 섬유소의 경우 예를 들면 다음과 같다. 먼저 cellulosic bacteria는 cellulosic enzyme을 분비하여 cellulose를 cellulose를

거쳐 단당류인 포도당으로 전환시킨다. 이때 혐기성 발효균(fermentative anaerobes)은 포도당을 섭취하여 acetate, propionate, butyrate, H₂와 CO₂를 생산하게 되며 메탄생성균이 이를 이용하여 methane을 생산하게 된다.

유기물로부터 methane을 생산하는데 가장 중요한 미생물은 H₂-producing fatty acid oxidizing bacteria이다. 이 미생물은 지방산이나 알콜류를 에너지원으로 이용하는데 순수배양을 할 경우는 성장속도가 매우 느리다. 그러나, H₂를 소모하는 세균(methanogens or sulfatereducing bacterium)과 배양할 경우 수소생성균은 매우 빠르게 성장하게 된다. 수소생성균으로는 Syntrophomonas와 Syntrophobacter등이 있다. 전자의 경우는 탄소수가 4개에서 7개까지의 지방산을 분해하여 acetate, H₂ 및 CO₂를 생산하고 후자의 경우는 propionate를 산화시켜서 acetate, H₂ 및 CO₂를 생성시킨다. 지방산이 분해되는 반응은 표준조건(solutes, 1 M; gases, 1 atm)에서 Gibbs자유에너지 변화가 positive이므로 에너지가 방출되지 않고 반응도 일어나지 않는다(표 4). ATP합성을 위해서는 자유에너지가 방출되어야 하므로 이런 조건에서는 지방산 분해균은 성장이 불가능하다. 그러나, 실제 상황에서는 생성된 수소가 메탄

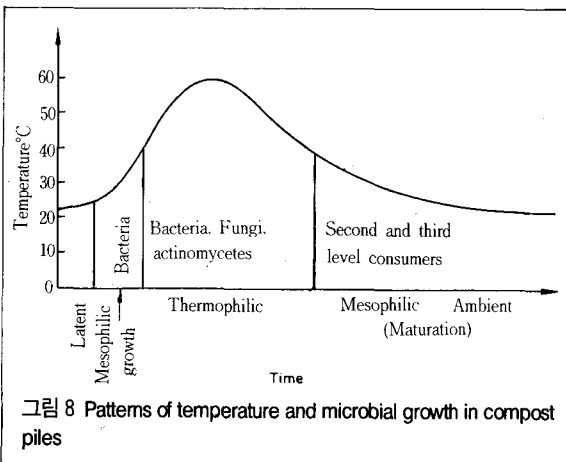


표 4. Major reactions occurring in the anaerobic conversion of organic compounds to methane

Reaction type	Reaction	Free energy change (Kcal / reaction)	
		$\Delta G^{\circ a}$	$\Delta G^{\circ b}$
Fermentation of glucose to acetate, H_2 and CO_2	$Glucose + 4H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + 2HCO_3^- + 4H^+ + 4H_2$	-49.4	-76.2
Fermentation of glucose to butyrate, CO_2 and H_2	$Glucose + 2H_2O \rightarrow CH_3CH_2CO_2^- + 2HCO_3^- + 2H_2 + 3H^+$	-32.2	-67.8
Fermentation of butyrate to acetate and H_2	$Butyrate + 2H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + H_2$	+11.5	-4.2
Fermentation of propionate to acetate, CO_2 and H_2	$Propionate + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + H_2$	+18.2	-1.3
Methanogenesis from $H_2 + CO_2$	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-32.5	-7.6
Methanogenesis from acetate	$Acetate + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^- + H^+$	-7.4	-5.9
Acetogenesis from $H_2 + CO_2$	$4H_2 + 2HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 2H_2O$	-25.0	-1.7

Data taken from Zinder S. 1984. American Society for Microbiology News 50 : 294 - 298.

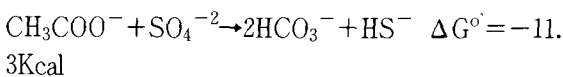
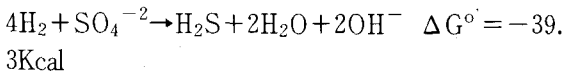
^aStandard conditions : solutes, 1 molar ; gases, 1 atmosphere.

^bConcentrations for reactions in typical anaerobic ecosystem : fatty acids, 1 mM ; HCO_3^- , 20 mM ; glucose, 10 μ M ; CH_4 , 0.6 atm ; H_2 , 10^{-4} atm.

생성균에 의해 소모되므로 수소의 농도가 매우 낮게 (대략 10^{-3} atm) 유지되므로, 표 4에서 보듯이 Gibbs 자유에너지 변화가 음의 값을 갖게 되고 ATP 합성에 필요한 에너지가 얻어진다. 수소를 소모하는 acetogenic bacteria는 메탄생성을 위한 acetate를 생성하여 공급하는 역할을 한다. Rumen의 경우는 수소를 매체로한 메탄생성이 주로 진행되며 혐기성 sewage에서는 acetate가 메탄생성의 중요한 기질이다. 메탄생성에서의 rate-limiting 단계는 acetate와 수소가 생성되는 단계이다.

2.9. Sulfate Inhibition of Methanogenesis

메탄 생성은 바다 보다는 fresh water 등에서 활발한데 그 이유는 바다나 퇴적층에는 sulfate가 많이 포함되어 있기 때문이다. Sulfate-reducing bacteria는 electron donor로서 acetate와 수소를 이용하므로 메탄생성균과 경쟁하게 된다. 이때의 반응식은 다음과 같다.

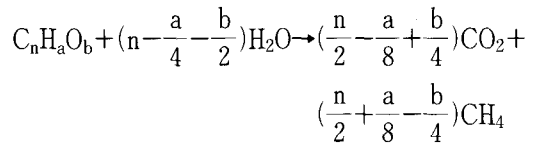


환경관리인, 1992.10

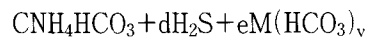
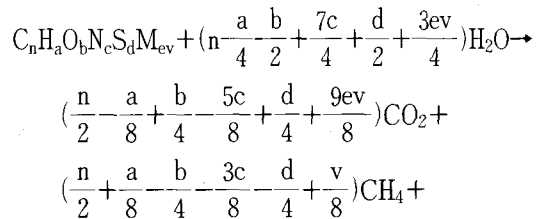
Sulfate reducing bacteria는 수소에 대한 affinity가 메탄생성균보다 크기 때문에, 수소농도가 5-10 μ M 보다 낮고 sulfate가 충분한 경우 메탄생성균이 성장할 수 없는 반면에 sulfate-reducing bacteria는 수소를 섭취하여 성장하게 된다. 그러나, fresh water의 경우 sulfate의 농도가 매우 낮기 때문에 더이상 sulfate-reducing bacteria가 성장하지 못하고 대부분 메탄생성균이 주종을 이루게 된다. Acetate에 대한 친화도도 sulfate-reducing bacteria가 메탄생성균에 비해 10배 정도 크기 때문에 sulfate가 충분한 환경조건에서의 acetate 소모는 주로 sulfate-reducing bacteria에 의한 것으로 생각된다.

2.10. Stoichiometry of Methanogenesis

메탄 생성시 이용되는 기질의 구성성분이 알려져 있을 경우 메탄과 이산화탄소의 생성량을 반응식에 의해 예측할 수 있다. 먼저 기질이 C, H, O로만 되어 있는 경우는 다음과 같다.



보다 일반적인 기질의 형태에 대한 반응식은 다음과 같다.



여기서 M은 금속이온을 v는 valence를 나타낸다. Lignin을 포함하는 기질의 메탄으로의 biodegradability는 다음과 같이 예측된다. 즉

$$B = 0.830 - 0.028 S_{lignin}$$

여기서 S_{lignin} 는 기질의 lignin 함량이며 volatile solid 의 %로 나타낸다.

(다음호에 계속)