



전기화학활성 미생물

김 병 홍

한국과학기술연구원 생물전기화학연구실(NRL)

생명현상을 “대전된 물질의 이동과 이러한 이동과 연계된 생합성(The controlled movement of charge, and the coupling of such movement to chemical synthesis)”이라고 정의할 정도로 양이온과 음이온의 막을 통한 이동이 중요한 생물학의 한 분야가 된다. 전자 전달을 통한 proton(또는 sodium) motive force 형성으로 이루어지는 호흡, ATP synthase에 의한 ATP 합성과 분해 그리고 물질 운반 등 필수적인 생명현상을 예로 들 수 있다. 생물 또는 그 일부를 전기화학적으로 이용하는 분야를 생물전기화학이라 한다. Cyclic voltammetry 등 전기화학 기법이 대전된 물질의 이동을 연구하는 한 방법이며, 생물전기화학은 biosensor, 생물연료전지, bioelectrochemical synthesis 등의 분야에 활용된다(1).

표 1. 미생물이 이용하는 전자수용체와 이들이 NADH의 산화에 이용되는 호흡에서 발생하는 자유에너지의 변화(2)

환원 반반응	ΔG° (KJ/2e ⁻)
O ₂ ----- 2H ₂ O	-219.07
2NO ₃ ⁻ ----- N ₂	-206.12
Fe ₃ ⁺ ----- Fe ²⁺	-209.46
CH ₃ Cl ----- CH ₄ + HCl	-135.08
MnO ₂ ----- Mn ²⁺	-134.52
Se(VI) ----- Se(IV)	-129.96
Cr(VI) ----- Cr(III)	-90.04
As(VI) ----- As(0)	-46.11
SO ₄ ²⁻ ----- HS ⁻	-20.24
CO ₂ ----- CH ₄	-14.58

호기성 미생물이 이용하는 전자수용체인 산소 이외에 혐기성 미생물은 다양한 산화된 물질을 전자공여체로 이용한다. 이들 중에는 질산염, 황산염 등 오래전부터 알려진 것 이외에 최근에 알려지기 시작한 Fe(III), Mn(IV), Se(VI), Cr(VI), As(VI) 등 금속산화물과 유기염소화합물 등도 포함된다(2, 표 1). 이들 중에 Fe(III)는 중성에서 대부분 물에 녹지 않는 성질이 있다. 이처럼 물에 녹지 않는 전자수용체를 이용하는 세균은 전자수용체를 세포 안으로 운반하는 대신 호흡의 전자전달 과정에서 최종적으로 전자를 세포외막에 있는 cytochrome으로 전달하고 여기서 전자가 전자수용체로 전달되는 것으로 알려지고 있다(3). 연료전지 형태의 전기화학 장치의 음극부위에 Fe(III)를 전자수용체로 이용하는 *Shewanella putrefaciens* IR-1의 균체와 이 세균이 전자공여체로 이용하여 아세트산으로 산화하는 젖산을 공급하고 양극부에 공기로 포화된 물을 공급한 결과 다른 전자수용체를 공급하지 않은 조건에서 젖산을 산화하여 아세트산을 생산하면서 성장하였으며, 이 때 음극과 양극을 연결하지 않았을 때는 젖산의 소비와 균체 증식이 거의 일어나지 않았다(4, 5, 그림 1). 이러한 결과는 *S. putrefaciens*가 젖산의 산화에서 발생하는

전자를 음극으로 전달하며, 이러한 전자전달을 통해 생장에 필요한 에너지를 얻는다는 것을 나타낸다.

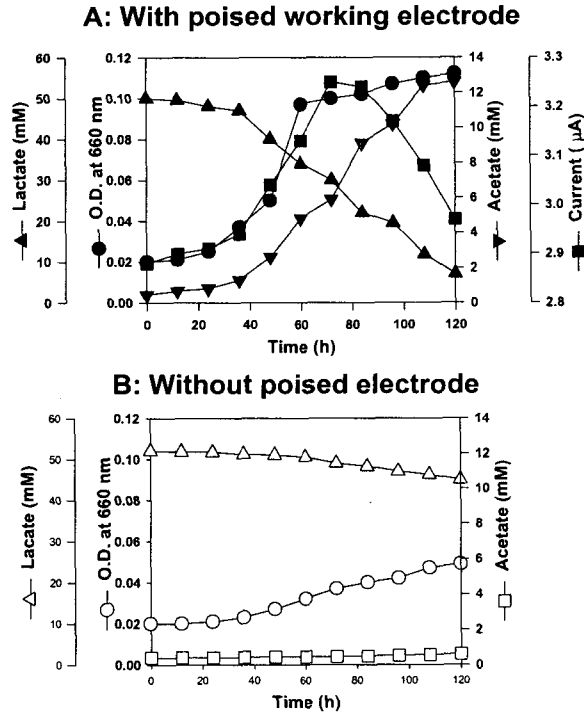


그림 1. 연료전지형 전기화학장치를 이용한 *S. putrefaciens*의 배양. 제2철을 전자수용체로 이용하는 이 세균은 전자공여체인 젖산을 산화하면서 발생하는 전자를 물에 녹지 않는 전자수용체로 전달하기 위해 전자를 세포 표면에 있는 cytochrome으로 전달한다. 연료전지의 음극이 이 전자를 받을 수 있기 때문에 전자수용체를 공급하지 않아도 이 세균은 성장한다(A). 이 때 음극을 양극으로부터 분리하면 성장하지 않는다(B).

비슷한 전기화학 장치를 이용하여 미생물 원으로 활성오니를 첨가하고 인공 폐수를 공급한 결과 초기 양극과 음극을 분리한 상태에서 약 0.7 volt의 전압차이를 형성하였으며, 두 전극을 500 ohm의 저항으로 연결한 다음 전류의 발생이 서서히 증가하여 3주 이후에는 일정한 값을 보였다(6). 이러한 결과는 활성오니에 전기화학적으로 활성이 있는 물질이 있으며, 운전을 계속하여 전류가 증가하는 것은 이 전기화학 활성이 있는 물질이 증식할 수 있는 미생물임을 나타낸다. 실제 전극으로부터 여러 종류의 전기화학 활성이 있는 세균을 분리하였으며, 이 중에는 Fe(III) 환원력이 있는 *Aeromonas hydrophila*(7)와 *Clostridium butyricum*(8)이 포함되어 있다.

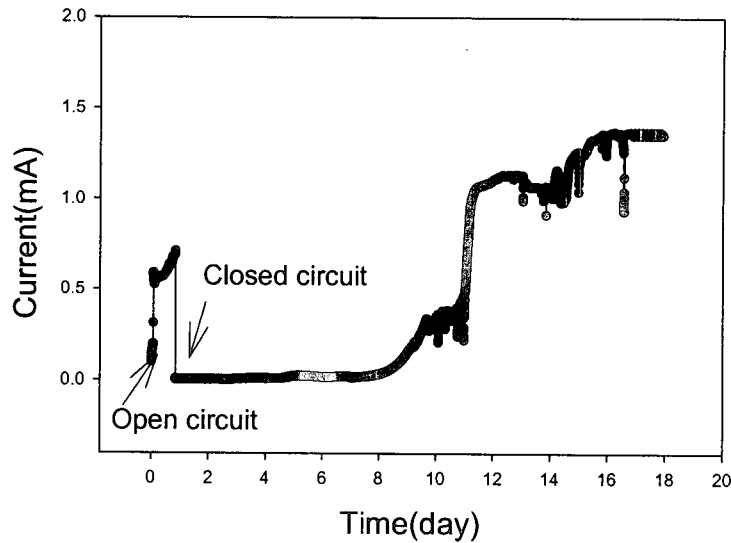


그림 2. 연료전지를 이용한 전기화학 활성 미생물의 종화배양. 활성오니를 미생물 원으로, 인공 폐수를 전자공여체로 이용하였다.

이처럼 농화배양한 미생물연료전지에서 발생하는 전류는 사용하는 폐수의 농도와 비례하기 때문에 이를 생물학적 산소 요구량(BOD) 계측기로 활용할 수 있으며 (9), 최적화 실험을 통해(10, 11) 전력 생산을 향상시켜 연속 BOD 계측기(12)는 물론 전기를 생산하면서 폐수를 처리하는 공정(13)으로도 개발할 수 있다.

농화배양한 연료전지에는 실험실에서 배양되지 않은 많은 종류의 미생물이 있는 것으로 16S rDNA 분석을 통해 밝혔으며, 분리균의 전기화학 활성은 용존산소의 농도에 따라 조절되는 것으로 분석되었다. 이러한 조절 기작을 응용하면 단일 단백질을 전기화학적으로 활용하는 nanobio-technology 기술 개발에도 응용할 수 있다.

참고문헌

1. Higgins, I. J. and H. A. O. Hill. 1985. Bioelectrochemistry. *Essays Biochem.* 21:119-145
2. Stolz, J. F. and R. S. Oremland. 1999. Bacterial respiration of arsenic and selenium. *FEMS Microbiol. Rev.* 23:615-627
3. Myers, C. R. and J. M. Myers. 1992. Localization of cytochromes to the outer membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. *J. Bacteriol.* 174:3429-3438
4. Kim, B. H., H. J. Kim, M. S. Hyun, and D. H. Park. 1999. Direct electrode reaction of an Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9:127-131.
5. Kim, B. H., T. Ikeda, H. S. Park, H. J. Kim, M. S. Hyun, K. Kano, K. Takagi, and H. Tatsumi. 1999. Electrochemical activity of an Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* IR-1, in the presence of alternative electron acceptors. *Biotechnol. Tech.* 13:475-478
6. Lee, J. N. T. Phung, I. S. Chang, B. H. Kim, and H. C. Sung. Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses. *FEMS Microbiol. Lett.* Accepted
7. Pham, C. A., S. J. Jung, N. T. Phung, J. Lee, I. S. Chang, B. H. Kim, H. Yi and J. Chun. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Aeromonas hydrophila*, isolated from a microbial fuel cell. *FEMS Microbiol. Lett.* Accepted.
8. Park, H. S., B. H. Kim, H. S. Kim, H. J. Kim, G. T. Kim, Mia Kim, I. S. Chang, Y. K. Park and H. I. Chang.



2001. A novel electrochemically active and Fe(III) reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*. 7:297-306
9. Kim, B. H., I. S. Chang, G. C. Gil, H. S. Park and H. J. Kim. 2003. Novel BOD sensor using mediator-less microbial fuel cell. *Biotechnol. Lett.* 25:541-545
 10. Gil, G. C., I. S. Chang, B. H. Kim, Mia Kim and J. K. Jang. 2003. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosen. Bioelectron.* 18:327-334
 11. Kim, B. H., H. S. Park, H. J. Kim, G. T. Kim, I. S. Chang, J. Lee and N. T. Phung. Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel cell type electrochemical cell. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (Accepted)
 12. Chang, I. S., J. K. Jang, G. C. Gil, M. Kim, H. J. Kim, B. H. Kim. Continuous determination of biochemical oxygen demand using a microbial fuel cell type novel biosensor. *Biosen. Bioelectron.* (Accepted)
 13. Jang, J. K., P. T. Hai, I. S. Chang, K. H. Kang, H. S. Moon, K. S. Cho, B. H. Kim. Construction and operation of a novel mediator- and membrane-less microbial fuel cell. *Process Biochem.* (Accepted)