

생물전기화학적 기술을 이용한 물질 전환



한국과학기술연구원 공정연구부 김 병 흥

1. 생명현상은 전자의 흐름이다.

생물은 자기 복제를 통한 생장이나 생명유지를 위해 에너지를 필요로 한다. 화학영양생물은 화학 에너지를 발효 혹은 호흡을 통해 생물학적 에너지로 전환시키며, 광영양생물은 광합성 작용을 통해 광 에너지를 이용한다. 발효, 호흡, 광합성은 모두 산화-환원 반응을 통해 이루어진다. 생물의 모든 에너지 전환반응은 산화-환원 반응, 즉 전자의 흐름으로 이루어지며 생명현상이 에너지를 필요로 하기 때문에 생명현상은 전자의 흐름으로 이루어진다고 할 수 있다. 모든 생물이 에너지 전환 반응에 산화·환원 반응을 이용한다는 말은 생물이 많은 종류의 산화-환원 효소를 보유하고 있다는 뜻이며, 실제 많은 종류의 산화-환원 효소가 발견되고 연구되었다.

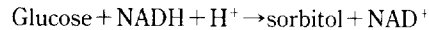
2. 산화-환원 효소가 산업적으로 이용되는 예는 드물다.

지금까지 알려진 산화-환원 효소의 종류는 다른 어떤 종류의 효소보다 많으며, 작용하는 기질도 다양하지만 bioconversion 공정에 이용되는 예는 극히 드물다. 수많은 종류의 화학반응을 촉매하는 산화-환원 효소가 알려지고 있으나 이들이 산업적으로 활용하지 못하고 있는 이유는 산화-환원 반응에 전자를 공급하거나 제거할 때 관여하는 pyridine nucleotides(NA, NADP) 등 조효소를 계속 공급하는 것이 기술적으로 어렵기 때문이다. 이러한 현실은 지금까지 산업적으로 응용되고 있는 생물에 의한 산화-환원 반응예가 steroid bioconversion 같이 생육하는 미생물 균체를 활용하는 반응 뿐이라는 사실로부터 쉽게 알 수 있다. NADH 혹은 NAD^+ 등 조효소는 전자전달체로 작용하므로 이들을 필요한

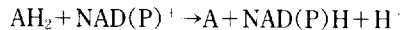
만큼 공급할 수도 있으나 이들의 가격이 워낙 비싸 반응계에서 재생하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다.

3. 짝물림 반응을 이용하는 반응

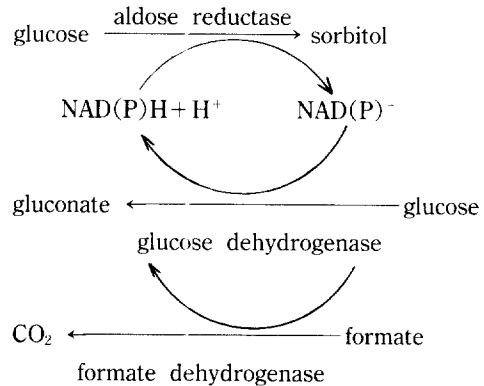
포도당을 원료로 효모 *Candida tropicalis*가 생산하는 aldose reductase를 이용하여 sorbitol을 생산할 때 NADH 형태의 환원력이 필요하다.



이 때 NADH를 포도당과 같은 분자수로 공급할 수 있으나 NADH의 가격이 sorbitol의 그것보다 훨씬 비싸기 때문에 경제성이 없다. 이 때 NAD^+ 를 NADH로 재생하기 위해 제 2의 효소를 이용하는 짝물림 반응으로 경제성을 높일 수 있다.



일반적으로 이용하는 짝물림 반응은 포도당 탈수소효소-포도당 혹은 포름산 탈수소효소-포름산계이다.



상기 짝물림 반응에서 효소들과 조효소는 재사용

이 가능하며 생산되는 산물을 제거하면서 기질을 공급하면 연속공정이 가능하다. 분자량이 큰 물질은 통과하지 못하는 막을 사용하면 효소를 반응조에 유지하면서 산물을 제거할 수 있게된다. 이 때 NAD(P)⁺ 혹은 NAD(P)H도 재사용하기 위해 이 조효소를 고분자물질에 결합시켜 조효소의 역할을 갖는 고분자물질로 합성하여 이용할 수 있다(윤 등, 1989). NAD⁺나 NADP⁻ 중의 인산이 전리하여 음이온 상태로 존재한다. 따라서 음이온과 고분자물질을 통과시키지 않는 막을 이용하면 효소와 조효소를 계속적으로 이용하는 연속공정이 가능해진다(Ikemi 등 1990).

4. 전기화학적 조효소 재생

짜물림 반응을 통한 조효소의 재생에서는 1) 제 2의 효소를 사용해야 하므로 2) 이 때 필요한 기질을 공급해야 하며, 3) 제 2반응으로 생산되는 산물을 우리가 원하는 산물과 분리해야 하는 단점이 있다. 이와 같은 단점을 극복하기 위해 전기화학적으로 조효소를 재생하는 연구가 많이 진행되고 있다(Allen and Bowen, 1985).

조효소의 재생을 앞에서 예로 든 환원반응에 필요한 NAD(P)H의 재생과 산화반응에서 발생하는 NAD(P)H를 NAD(P)⁺로 산화시키는 두 가지를 생각할 수 있다. 전기화학적 조효소의 재생에서 NAD(P)⁺를 NAD(P)H로 환원시킬 때는 음극(cathode)에서 전자를 받는 반응을 이용하며, 양극(anode)에서는 NAD(P)H로부터 전자가 제거되어 NAD(P)⁺로 산화된다.

NAD(P)H의 전기화학적 산화반응에서 NADH 탈수소효소를 사용하는 예도 있으나(Matsue 등, 1990) 0.4 V 정도의 전압이 유지되는 상태에서 NAD(P)H는 스스로 NAD(P)⁺로 쉽게 산화된다(Higgins and Hill, 1985, Fassouane 등, 1990). 따라서 NAD(P)⁺를 NAD(P)H로 환원시키는 전기화학반응에 대해 살펴보기로 한다.

5. NAD(P)⁺의 전기화학적 환원

NAD(P)⁺는 두 개의 전자를 전달하는 조효소이다. 음전극표면에서 하나의 전자를 받는 NAD(P)⁺

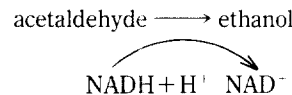
는 2합체(dimer)를 형성하여 생물학적 기능을 잃게된다(Allen and Bowen, 1985). 따라서 NAD(P)⁺를 전기화학적으로 NAD(P)H로 환원시키기 위해서는 매개체를 이용하는 것이 일반적이다. 산화·환원 전위가 NAD(P)⁺보다 낮은 methyl viologen(MV)이나 benzyl viologen(BV)이 가장 널리 이용되는 매개체들이다(Kim and Kim 1988, Sugimura 등, 1990).

여기서 이용되는 매개체는 전극표면에서 쉽게 환원되며, 다시 NAD(P)⁺ 등 전자전달체를 환원시킬 수 있어야 한다. 전극에서 환원되는 전자매개체를 이용하여 NAD(P)⁺를 환원시키기 위해 ferredoxin : NAD(P)⁺ oxidoreducfase(FNOR)라는 효소가 이용된다.

FNOR은 발효 경로에서 수소를 생산하는 세균이나 광합성세균에서 작용하는 효소이다. 전기화학적으로 NAD(P)⁺를 NAD(P)H로 환원시키는 방법이 확립되며 NAD(P)H를 필요로 하는 여러 종류의 bioconversion 공정에서 이용할 수 있을 것이다. 여기서 몇 가지 예를 들어 보기로 한다.

6. 전기화학적 방법에 의한 효소의 환원 반응

Alcohol dehydrogenase(ADH)는 acetaldehyde를 ethanol로 환원시키며 이 때 필요한 환원력은 NADH 형태로 공급되어야 한다.



전기화학적 장치의 음극반응기에 효모 ADH, *Clostridium acetobutylicum* cell free extract 그리고 MV를 첨가하고 전압을 걸면 acetaldehyde가 ethanol로 환원된다(Kim and Kim, 1988).

Malic enzyme(ME)는 능금산을 피브루산으로 탈탄산시키는 반응과 그 역반응을 촉매하는 효소로 NAD⁺ 혹은 NADP⁻를 전자전달체로 이용한다. CO₂로 포화시킨 tris 완충액에 MV, ME 그리고 ferredoxin : NAD(P) oxidoreductase를 첨가하여 전기화학장치의 음극에 넣고 전압을 걸면 pyruvic acid가 malic acid로 합성된다(Sugimura 등, 1990).

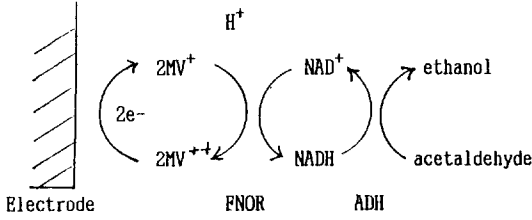
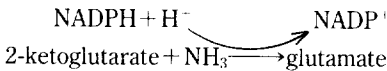


Fig. 1. Bioelectrochemical reduction of acetaldehyde
 MV: Methyl viologen, FNOR: Ferredoxin:
 NAD oxidoreductase, ADH: alcohol dehydrogenase.

7. 미생물균체를 이용하는 전기화학적 생물전환

지금까지 산화·환원효소의 작용을 통한 생물전환 반응에서 필요한 환원력이나 산화력을 전기화학적으로 공급하는 방법을 간단히 살펴보았다. 균체를 생물 촉매로 이용하는 산화·환원 형태의 생물전환 반응에서도 전기화학을 응용할 수 있다.

발효법에 의한 글루탐산 생산은 잘 알려진 공정이다. 글루탐산은 glutamate dehydrogenase의 작용으로 2-ketoglutarate와 암모니아로부터 생산된다. 이때 NADPH 형태의 환원력이 필요하다.



Glutamate 발효를 전기화학장치의 음극에서 행한 결과 환원력이 충분한 조건에서 glutamate 생산이 30% 정도 증가하였다는 보고가 있다(Hongo and Iwahara, 1979). 이 때 전극에서 환원되어 세포안으로 전자를 수송할 수 있는 매개체 neutral red (NR)가 이용되었다.

*Clostridium acetobutylicum*은 당을 발효하여 acetone, butanol, ethanol 등의 산물을 생산한다. 이 중 butanol이 가장 중요한 산물로 다른 산물의 생산을 줄이고 butanol의 수율을 증가시키고자 많은 연구가 진행되고 있다. 정상적인 *C. acetobutylicum*의 발효에서 butanol/acetone의 비율이 2 정도이나 MV를 전자매개체로 이용하여 이 세균을 전기화학 장치에서 배양한 결과 butanol/acetone 비율이 3.3 정도로 증가하였다(Kim and Kim 1988).

Acetone과 butanol은 동일한 전구물질인 acetoa-

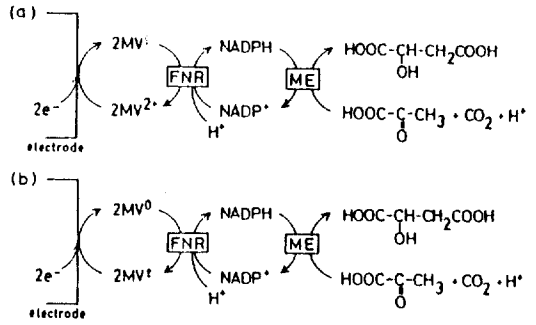


Fig. 2. Schematic representation of electrochemical fixation of CO₂ in pyruvic acid by using malic enzyme (ME) as an electrocatalyst.

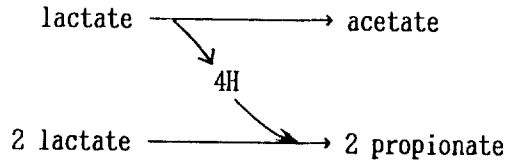


Fig. 3. Balance of electron metabolism in propionate fermentation.

cetyl-CoA로부터 생산된다. Acetoacetyl-CoA가 butanol로 생산되기 위해서는 8개의 전자를 필요로 하지만 acetone으로 대사될 때는 전자를 소비하지 않는다. 따라서 과량의 환원력을 공급하면 acetoacetyl-CoA를 acetone으로 대사하지 않고 butanol로 환원시킨다.

*Propionibacterium frendenreichii*는 락트산을 발효하여 아세트산과 프로피온산을 생산한다(그림 3).

이 세균을 전기화학장치의 음극에서 배양한 결과 정상적인 발효에서 보다 훨씬 많은 프로피온산이 생산되었다(Emde and Schink, 1990). 즉 대조구의 프로피온산/아세트산 비율이 2.7 정도인 것이 전기화학 장치의 음극에서는 10배 이상 증가하여 26.7로 나타났다.

이러한 사실로부터 적절한 전자매개체를 이용하면 미생물균체를 촉매로 이용하는 생물전환공정에서 필요한 환원력이나 산화력을 전기화학적으로 공급할 수 있음을 알 수 있다.

8. 생물화학적 석유탈환

석유 중의 유황성분은 연소로 산화유황으로 되어

대기 중에서 수증기와 작용하여 산성비의 주원인이 되는 오염원이다. 석유 중의 유황을 물에 용해되는 물질이나 기체상태로 전환시키면 석유로부터 쉽게 분리시키는 탈황공정으로 이용할 수 있다. 석유 중의 유기유황을 생물학적 전환기술을 이용하여 생물탈황공정을 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

생물학적인 석유탈황법 중에서 황산염 환원세균인 *Desulfovibrio*속 세균을 이용하는 방법은 환원과정으로 환원력의 공급이 필요하다(Kim 등, 1990b). 중온균인 *Desulfovibrio desulfuricans*를 이용하는 전기화학적 석유탈황으로 원유중의 유황을 H₂S로 환원시킬 수 있으며(Kim 등, 1990a, 1990c), 고온균인 *Desulfovibrio thermophilus*를 이용하면 bunker C 유를 탈황할 수 있다(김 등, 1990).

9. 생물전기화학적 전환기술의 전망

생물전기화학적 물질 전환 기술에서 환원력을 공급하기 위해서는 적절한 전자매개체를 이용하여야 한다. 지금까지 가장 일반적으로 이용되고 있는 전자매개체는 methyl viologen으로 이는 발암성이 있는 고가의 물질로 산업적 활용에 여러가지 제약이 있다. 따라서 경제성이 있는 생물전기화학적 생물전환 기술을 개발하기 위해서도 전극물질로부터 생물이 이용할 수 있는 전자전달체로 전자를 이전시킬 수 있는 효과적인 방법을 찾아야 할 것이다. Kulys 등(1980)과 Krysinski and Tien(1988)은 전기전도성이 있는 유기고분자물질 즉 organic metal을 전극물질을 이용하면 cytochrome, quinone 등 천연 전달체를 전기화학적으로 환원시킬 수 있다고 보고하였다.

Organic metal은 모두 생물에 유독한 것으로 알려져 있다. 이 이유는 잘 알려져 있지 않으나 organic metal이 hydrophobic interaction으로 세포막에 함입하여 막전위차를 소실시키기 때문으로 추측된다. 따라서 organic metal로 처리한 균체를 전극에 고정화하면 전극으로부터 세포로 전자를 공급하거나 세포로부터 전자를 전극으로 뺄 수 있게 된다.

이러한 방법이 확립되면 1) 생물 전환 기술에 전기화학에너지를 응용할 수 있을 뿐 아니라 2) 산화·환원 효소를 이용하는 biosensor의 개발이

가능하며 3) 미생물에 의한 유기물의 산화반응을 이용하는 연료전지의 개발도 가능해질 것으로 판단된다.

특히 생물원료전지의 개발은 폐수를 에너지원으로 하는 전기생산이 가능하므로 산업적 파급효과가 지대할 것으로 기대된다.

참고문헌

1. 김해영, 김대성, 김병홍(1990) 한국미생물학회지, **18**, 31-34.
2. 윤세익, 박선영, 김명곤, 김강현(1989) 한국미생물공학회지, **4**(31), 229-234).
3. Allen, P.M. and W.R. Bowen (1985) *Trends Biotechnol.*, **3**(6), 145-149.
4. Emde, R. and B. Schink (1990) *Appl Environ Microbiol.*, **56**(9), 2771-2776.
5. Fassouane, A., J.M. Laval, J. Moiroux and C. Baurdillon (1990). *Biotechnol Bioeng.*, **35**, 935-939.
6. Higgins, I.J. and H.A.O. Hill (1985) *Essays Biochem.*, **21**, 119-145.
7. Hongo, M. and M. Iwahara (1979) *Agric Biol Chem.*, **43**(10), 2075-2081.
8. Ikemi, M.N. Koizumi and Y. Ishimatsu (1990) *Biotechnol Bioeng.*, **26**, 149-154.
9. Kim, T.S. and B.H. Kim (1988) *Biotechnol Lett.*, **10**, 123-128.
10. Kim, T.S. and H.Y. Kim and B.H. Kim (1990a) *Biotechnol Lett.*, **12**, 757-760.
11. Kim, H.Y. and T.S. Kim and B.H. Kim (1990b) *Biotechnol Lett.*, **12**, 761-764.
12. Kim, H.Y. and T.S. Kim and B.H. Kim (1990b) *Biotechnol Lett.*, **12**, 761-764.
13. Kim, B.H. and T.S. Kim and H.Y. Kim (1990c) *U.S. Patent* **4**, 954, 229.
14. Krysinski, P. and H.T. Tien (1988) *Bioelectrochem Bioenerget.*, **19**, 227-233.
15. Kulys, J.J., A.S. Samalius and G.J.S. Svirmickas (1980) *FEBS Lett.*, **114**(1), 7-10.
16. Matsue, T., H. Yamada, H.C. Chang and I. Uchida (1990) *Bioelectrochem Bioenerget* **24**, 247-354.
17. Sugimura, K.S. Kuwabata and H. Yomeyama (1990) *Bioelectrochem Bioenerget.*, **24**, 241-247.