

Peptostreptococcus productus를 이용한 산업체 부생가스로부터 아세테이트 생산

†강 환 구 · 전 희 진
한남대학교 공과대학 화학공학과
(접수 : 2000. 4. 7., 게재승인 : 2000. 4. 22.)

Production of Acetate from Waste Gas using *Peptostreptococcus productus*

Whankoo Kang†, and Heejin Chun
Department of Chemical Engineering, Hannam University, Taejon 306-791, Korea
(Received : 2000. 4. 7., Accepted : 2000. 4. 22.)

The anaerobic bacterium *P. productus* was known to produce acetate from CO, CO₂ and H₂. In this research the acetate formation from waste gas was studied. For this research, kinetic parameter study on CO conversion were carried out. From this study maximum CO conversion rate of 39.3 mmol/L · hr · O.D and Km of 0.578 atm were obtained. Also the effect of CO refreshment, N source, initial pH and culture temperature on acetate formation were studied. Acetate formation in 5L lab scale fermenter was tested and specific acetate production rate of 0.48 g/L-hr-O.D. was obtained and the acetate concentration was 21g/L.

Key Words : *P. productus*, CO conversion, acetate

서 론

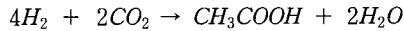
산업공정에서 발생하는 폐가스(waste gas)는 매우 많은 양의 일산화탄소, 이산화탄소, 수소, 황, 질소 산화물들을 포함하고 있다. 이들중 일산화탄소, 수소는 유용한 에너지원임에도 그냥 버려지고 있어 경제적인 손실이 될 뿐아니라 대기 환경에도 악영향을 미치고 있다. 특히 제철소에서 발생하는 COG(코오크스로 가스), BFG(고로가스), LDG(전로가스), carbon black 제조시 발생하는 폐가스등은 일산화탄소와 이산화탄소를 다량 함유하는데 이렇게 발행하는 폐가스의 양은 포항, 광양제철소에서만 1년에 $3 \times 10^{10} \text{m}^3$ 에 이르며 이들 중 BFG 와 CDG경우에는 폐가스중 CO의 구성 비율이 각각 20%와 70% 로서 매우 높은 편이다.(1) 이들 국가 기간 산업인 제철소의 부생가스 경우 재활용 실적이 부진하여 극히 일부만 회수되고 나머지는 모두 폐기되고 있는 실정이다. 특히 제철소 부생가스중 BFG나 LDG중 20~70%를 차지하는 일

산화탄소는 에너지원으로 활용될 수 있는 귀중한 자원임에도 불구하고 회수나 재활용이 거의 되지 않고 버려지는 실정이다. 그러므로 미생물을 이용해서 유용한 물질로의 bioconversion방법이 개발될 필요가 있다고 생각되어진다.

여러종류의 bacteria에 의해 CO로부터 아세테이트가 생성된다고 보고되어 있다. Dr. Kerby등에 의해 *Acetobacterium woodii*(3)가, Dr. Barik등에 의해 *Peptostreptococcus productus*(4)가 CO로부터 아세테이트를 직접 생산한다고 보고하고 있으며 최근에는 *Clostridium thermoaceticum*과 *Eubacterium limosum*도 CO로부터 acetate를 만든다고 Dr. Bryant와 Dr. Wood에 의해 보고되었다.(2) 또한 여러종류의 bacteria들이 H₂와 CO₂를 이용하여 acetate를 생산 할 수 있다고 보고되는 바 *P. productus*, *Acetobacterium sp.*, *A. woodii*, *Acetoanaerobium noterae*등이 H₂와 CO₂로부터 acetate를 만들며 *C. acidurici*균주도 glycine decarboxylase pathway를 통하여 CO₂로부터 acetate를 만드는 것으로 알려진다. 특히 *P. productus*와 *A. woodii*등의 bacteria는 CO뿐만 아니라 H₂와 CO₂로부터 acetate를 만드는 것으로 조사되며 *P. productus*는 CO에 대한 높은 내성과 CO전환율이 매우 높은 것으로 알려진다. *P. productus* 또는 *A. woodii* 등에 의하여 일산화탄소, 또는 이산화탄소와 수소로부터 아세테이트가 생성되는 반응식은 다

†Corresponding Author : Department of Chemical Engineering,
Hannam University, Taejon 306-791, Korea
Tel : 042-629-7932, Fax : 042-623-9489
E-mail : wkang@eve.hannam.ac.kr

음과 같다(2,3,4,5).



본 연구에서는 *P. productus*를 이용하여 CO로부터 아세테이트 전환방법의 최적화 연구를 수행하였다. 이를 위하여 *P. productus* 균주를 이용하여 폐가스로부터 아세테이트를 생성하는 경우에 있어서 일산화탄소 소비속도에 대한 Michaelis-Menten kinetic에 의한 parameter study 및 일산화탄소의 최적 농도, 그리고 배지 및 최적 배양조건 등을 조사하였고 이를 이용한 발효기내에서의 고농도 아세테이트 생성실험을 수행하였다.

재료 및 실험방법

사용균주 및 배양방법

본 연구에서 사용된 *Peptostreptococcus productus* ATCC 35244의 배양용 배지의 성분은 효모추출물(YE, 1 g/L), 펩톤(2 g/L), NH₄Cl 2.7 g/L, PFN mineral solution 50 ml/L(KH₂PO₄ 10 g/L, MgCl₂·6H₂O 6.6 g/L, NaCl 8 g/L, CaCl₂·2H₂O 1 g/L, NH₄Cl 8 g/L), PFN trace metal solution 1 ml/L(ZnSO₄·7H₂O 0.1 g/L, MnCl₂·4H₂O 0.1 g/L, H₃BO₃ 0.03 g/L, CoCl₂·6H₂O 0.2 g/L, CuCl₂·H₂O 0.01 g/L, NiCl₂·6H₂O 0.02 g/L, Na₂MoO₄·2H₂O 0.03 g/L, FeCl₂·4H₂O 1.5 g/L, Na₂SeO₃ 0.01 g/L), Vitamin solution 5 ml/L(Biotin 0.02 g/L, Folic acid 0.02 g/L, Pyridoxal HCl 0.01 g/L, Lipoic/Thioctic acid 0.06 g/L, Riboflavin 0.05 g/L, Thiamin HCl 0.05 g/L, Ca-D-Pantothenate 0.05 g/L, Cyanocobalamin 0.05 g/L, P-aminobenzoic acid 0.05 g/L, Nicotinic acid 0.05 g/L)의 조성이고 사용한 chemical은 모두 sigma사 제품이었다. 균체배양에는 Crimp seal이 있는 150 ml짜리 serum bottle이 이용되어지며 이 병에 30 ml의 배지와 1.5 ml의 seed culture를 넣고 나머지 공간은 원하는 양의 일산화탄소와 tracer로 약간의 질소를 원하는 압력으로 채워 실험하게 된다. 실험은 혐기성 조건에서 진행되는데 이를 위해 serum bottle에 배지를 채우고 질소가스로 purging 하면서 100℃에서 2~5분간 끓인 다음 상온에서 50℃까지 식힌 후 stopper를 이용하여 capping하고 이를 다시 멸균하여 사용하였다. 일산화탄소는 0.22μm filter를 통해 주입하며 serum bottle은 200 rpm 진탕배양기(vision 과학)에 넣어 37℃에서 배양하였다. 또한, 발효기에서의 실험은 배지가 준비된 발효기에 질소를 purging하고 이를 멸균한 후 용존산소 수준이 0으로 떨어질 때까지 다시 질소를 흘려준다. 그 후 원하는 일산화탄소농도를 gas flow meter, 압력계와 가스크로마토그래피를 이용하여 맞추어 준다. 이때 사용한 일산화탄소는 99.5%의 순도이었다.

분석방법

세포농도는 분광광도계(Milton roy. spectronic 21D) 660 nm에서 구한 흡광도로 나타내었다. 일산화탄소, 수소 그리고 질소 분석은 가스크로마토그래피(Donam, DS6200)에서 수행하였다. 사용된 칼럼은 길이 6 ft의 녹슬지 않은 stainless

steel이고 충전 물질은 Molecular sieve 13x(CRS) 이었으며 TCD detector를 이용하였다. 실험 조건은 주입부 60℃, 오븐 35℃ 그리고 검출부 100℃ 이었고 carrier gas로는 Ar gas를 30 ml/min로 흘려주었다. 아세테이트와 에탄올 분석에 사용된 충전물질은 HayeSep Q(CRS)이며 FID detector의 조건은 오븐 175℃, 주입부와 검출부는 225℃이었고 carrier gas는 He gas 50 ml/min를 사용하였다.

결과 및 고찰

CO 소비속도에 대한 kinetic model

CO 소비속도에 대한 kinetic model과 그에 따른 여러 가지 상수값을 계산하기 위한 실험을 수행하였는데 Figure 1에서는 CO의 농도에 따른 소비속도를 나타내었다. CO의 소비속도는 낮은 농도에서 선형적으로 증가하지만 농도가 높아짐에 따라 점차 최대치에 도달하는 경향을 보였고, 그 후 CO 농도증가에 따라 소비속도가 줄어드는 현상이 관측되었다. 이는 CO의 기체상분압이 0.8 atm 이상에서는 기질저해반응이 일어나는 것으로 보여지고 기질저해반응식을 적용하여 최적 CO농도와 저해상수를 구하였다. *P. productus*에 의한 최대 CO전환속도 등의 속도상수를 구하기 위해 다음의 Michaelis-Menten식이 적용되어졌다.

$$V = \frac{V_{max} \cdot S}{K_m + S}$$

여기서 V_{max}는 CO의 최대소비속도이고 K_m은 V=1/2V_{max}일 때의 CO 분압이고 S는 기체상의 CO분압 이다. 본 연구에서는 기상내의 초기 CO의 분압을 농도항으로 이용하였다. V_{max}와 K_m을 얻기 위해 낮은 CO 농도에 대해 1/V vs. 1/S를 도식(Lineweaver-Burke plot)하였으며 이 결과를 Figure 2에 나타내었다. 기울기 값 K_m/V_{max} 및 y-절편 값 1/V_{max}로부터

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}$$

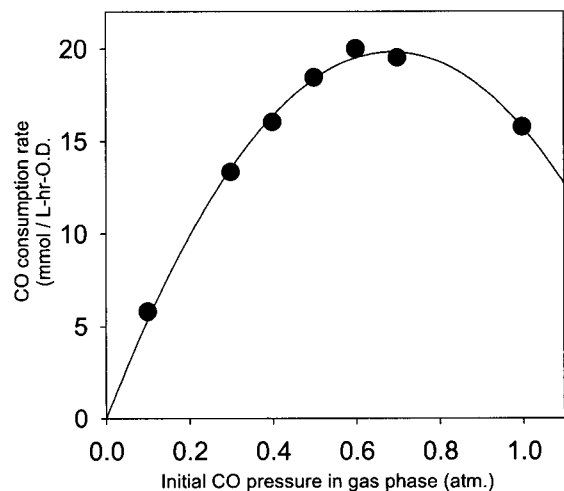


Figure 1. Effect of Carbon monoxide concentration on its consumption rate.

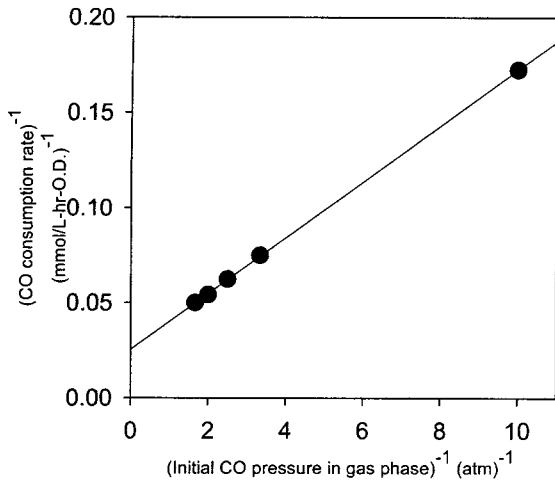


Figure 2. Double-reciprocal plot for low CO concentration.

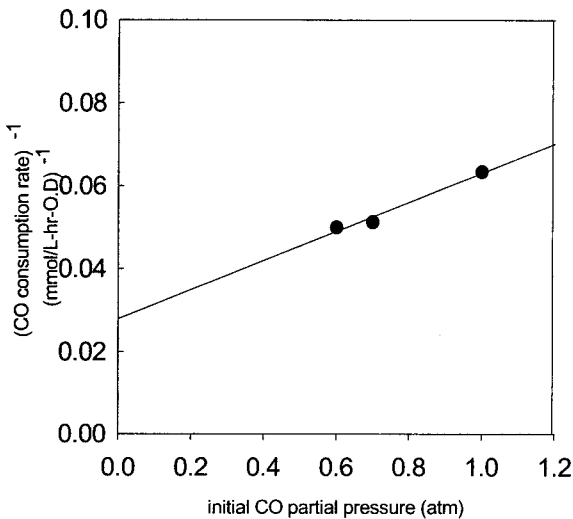


Figure 3. Inhibition parameter for high con. of CO.

V_{max} 와 K_m 은 각각 39.3 mmol/L-hr-O.D., 0.578 atm 임을 알 수 있었다. 또한 고농도 구간에서 CO의 저해상수를 구하기 위하여 다음의 기질저해반응식을 이용하였다.

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{K_{SI}} \cdot \frac{1}{V_{max}} \cdot S + \frac{1}{V_{max}}$$

1/V vs. S를 도시하였고 이를 Figure 3에 보였다. 기울기 값 ($1/K_{SI}$)($1/V_{max}$)로부터 K_{SI} 는 0.792 atm 임을 알았고 V_{max} 와 K_{SI} 값으로부터 다음식을 이용하여

$$S_{max} = \sqrt{K_{max} \cdot K_{SI}}$$

S_{max} (균주에 독성을 주지않는 기상내 CO의 최대농도)는 0.677 atm 이었다.

아세트에이트 생성에 미치는 CO refreshment의 영향

CO의 주입시기가 균체의 성장과 아세트에이트 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 초기 0.6 atm의 압력으로 주입된

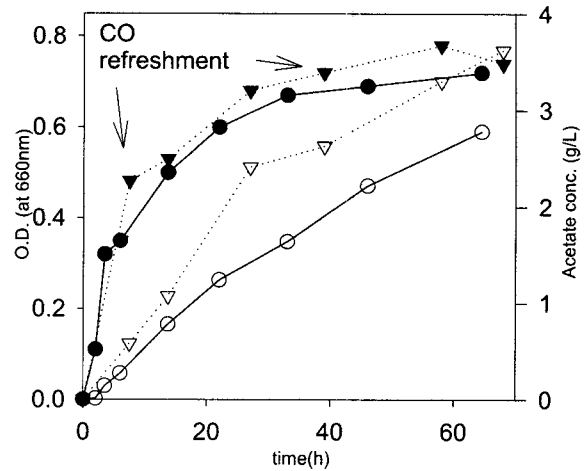


Figure 4. Effect of CO refreshment on cell growth and acetate production.

●● : O.D. (control), ▼▼ : O.D. (regassing), ○○ : acetate conc. (control), ▽▽ : acetate conc. (regassing)

CO가 모두 소비되기 전에 새로운 CO로 바꾸어준 경우와 초기의 CO를 모두 소비한 시점에서 다시 CO를 채워준 경우를 비교하였다. 먼저 초기 주입되었던 CO가 모두 소비되기전 refreshment했을때의 영향을 조사하였고 그 결과를 Figure 4에 나타내었다. CO를 모두 소비한후 다시 주입한 경우 O.D. 0.7정도에서 아세트에이트를 약 2.8 g/L 생성한 반면 초기 주입된 CO의 약 40%가 소비된 후 새로운 CO gas로 바꾸어준 경우는 균체성장은 비슷하지만 아세트에이트생성은 약 30% 정도 증가하여 3.7 g/L를 생산하였다. 이는 serum bottle내의 CO가 소비됨에 따라 CO 분압이 낮아지고 이에 따라 기상에서 액상으로의 물질전달에 한계가 나타나기 때문으로 생각된다. 또한, 이 실험을 통하여 배양중 CO의 농도, 즉 bottle내의 분압이 CO의 아세트에이트로의 전환에 많은 영향을 주는 것을 알 수 있었다.(Table. 1) CO 분압이 낮아질수록 아세트에이트 생성속도 또한 낮아짐을 알 수 있다. 이는 CO의 기상에서의 분압이 CO 소비속도, 아세트에이트 생성속도와 비례함을 알 수 있는데 실험중 CO를 자주 주입해줌으로 기상내 CO 분압을 일정수준에서 유지하면 아세트에이트 생성속도가 빨라져서 짧은 시간에 더 많은 아세트에이트를 생성할 수 있을것으로 사료된다.

질소원이 균주성장 및 아세트에이트 생성에 미치는 영향

Figure 5에서는 배지중 질소원인 YP(효모추출물+펩톤)의 농도에 따른 아세트에이트 생산 정도를 알아보았다. 실험은 37°C, 300rpm의 진탕배양기에서 진행되었는데 그 결과 YP농도가 증가할수록 세포의 성장과 생성된 아세트에이트의 양이 증가하여 YP 3%의 경우 O.D. 1.14에서 약 6g/L의 아세트에이트를 생성함을 알 수 있었다. 그러나 아세트에이트 생성속도는 YP농도 2%와 3%에서 최대값이 0.11 g/L · hr · O.D로 비슷하였다. 이외에 효모추출물과 펩톤 각각의 경우에 대해 YP 1%를 대조구로 하여 실험한 결과 효모추출물보다는 펩톤의 영향이 더 큰 것으로 나타났다. 효모추출물과 펩톤 각 3%에서 O.D는 0.9정도로 비슷했지만 아세트에이트는 각각 4.8, 5.4 g/L를 생성하였다. 2%에서는 그 차이가 좀 있었는데 효모추출물

Table 1. The effect of partial pressure of CO in gas phase on specific acetate formation rate and specific CO consumption rate

P_{CO} (Partial pressure of CO in gas phase, atm)	sp. acetate formation rate (g acetate/L · hr · O.D)	sp. CO consumption rate (mmole/L · hr · O.D)
0.1	0.103	5.7
0.3	0.236	13.1
0.4	0.291	16.3
0.5	0.327	18.2
0.6	0.364	20.2
0.7	0.281	15.5

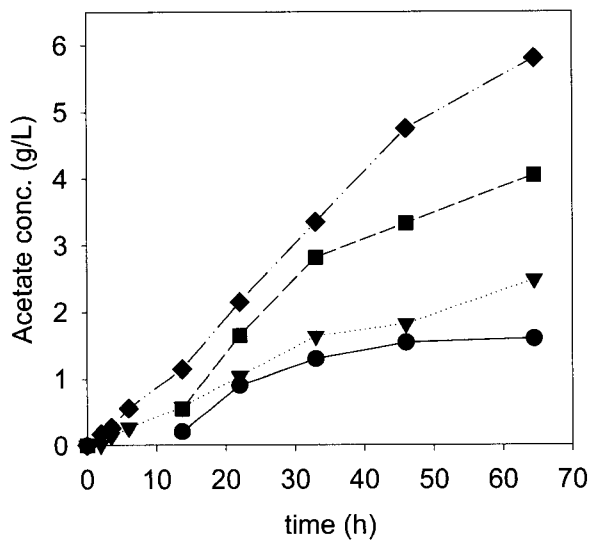


Figure 5. Effect of YP(YE & Peptone) concentration on acetate production.
 ●—● : YP 0.5%, ▼—▼ : YP 1%, ■—■ : YP 2%, ◆—◆ : YP 3%

의 경우 O.D. 0.75에서 약 3.7 g/L의 아세테이트를 생성한 반면 펩톤의 경우 O.D. 약 0.8에서 약 5.3 g/L를 생성하였다. 이 실험의 결과로서 펩톤이 2%정도에서도 아세테이트 생성을 최적화 할 수 있을 것으로 사려된다. 또한 효모추출물과 펩톤의 배지 단가가 높기 때문에 이를 해결하기 위해 질소원을 NH_4Cl 등의 암모늄형태의 성분으로 바꾸어주고 이를 이용해 아세테이트 생성을 최적화하는 실험이 현재 본 연구실에서 진행중이다.

초기 pH와 배양온도가 아세테이트 생성에 미치는 영향

*P. productus*를 이용해 아세테이트 생성을 최적화 하기 위하여 초기 pH가 균주 성장 및 아세테이트 생성에 미치는 영향을 살펴보았다. 이 실험의 결과를 Figure 6과 7에 보였는데 pH 4와 5에서는 균주가 성장하지 않았고 아세테이트도 거의 생성하지 않은 반면 pH 6, 7 그리고 8의 경우는 O.D. 약 0.7에서 3 g/L 아세테이트를 생성하여 거의 비슷한 양상을 보였다. 그러나 pH 8에서 다른 pH 조건과 달리 접종후 20시간 동안에 균주의 성장이 완료되고 아세테이트 생성도 빨랐다가 약 20시간 후부터는 균주는 더 이상 성장하지 않고 아세테이트 역시 생성속도가 점차 낮아지는 현상이 보여졌다. 이

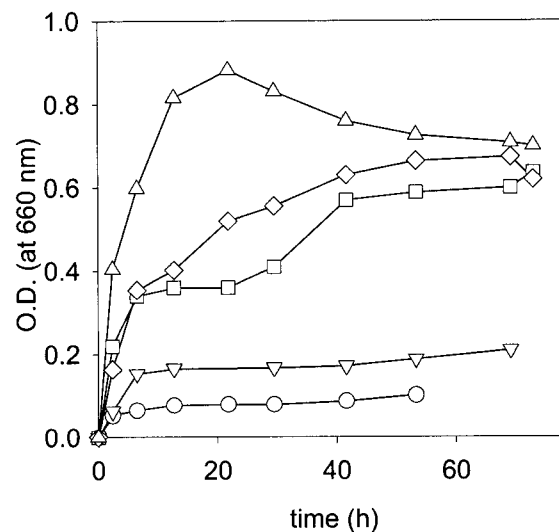


Figure 6. Effect of initial pH on cell growth.
 ○—○ : pH 4, ▽—▽ : pH 5, □—□ : pH 6, ◇—◇ : pH 7, △—△ : pH 8

는 pH 8에서 초기 급속한 균주성장으로 인하여 배지중 어떤 성분이 고갈되고 균주의 성장과 함께 생성된 아세테이트의 농도가 증가함으로 배지중 pH가 낮아져서 균주의 성장이 멈추고 아세테이트 생성속도가 느려진 것으로 보여진다. 이 실험의 결과 *P. productus*는 pH 6, 7 또는 8의 넓은 pH 범위에서 아세테이트 생성이 최적화 되어있는 것으로 나타났고 접종초기 pH는 8정도에서 시작하고 충분한 영양원이 존재한다면 아세테이트의 생성에 더 많은 도움이 될 것으로 생각되는 바 pH를 조절하면서 영양원을 필요시 첨가하는 실험이 발효기에서 진행되었다.

또한 *P. productus* ATCC 35244균주를 이용하여 아세테이트를 생성하기 위한 최적 배양온도를 조사하였다. 실험은 YP 1%, 미량의 nitrate, phosphate염과 vitamin이 포함된 배지를 이용하였고, 300rpm의 진탕배양기에서 각각 27°C, 30°C, 37°C의 조건으로 수행하였다. 이 결과가 Figure 8에 나타나 있는데 각 경우 균주의 성장은 O.D. 약 0.7정도로 비슷하였지만 아세테이트는 27°C에서 2.3 g/L, 30°C에서 2.6 g/L, 37°C에서 3.3 g/L를 생산함으로써 37°C에서 50% 이상 증가하여 최대 아세테이트 생성량을 보였다. 이로써 아세테이트를 생산하기 위한 *P. productus*의 최적 배양온도는 37°C임을 알 수 있었다.

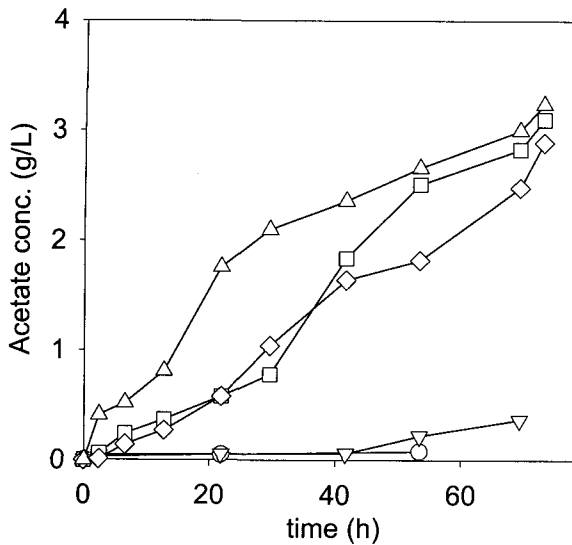


Figure 7. Effect of initial pH on acetate production

○—○ : pH 4, ▽—▽ : pH 5, □—□ : pH 6, ◇—◇ : pH 7, △—△ : pH 8

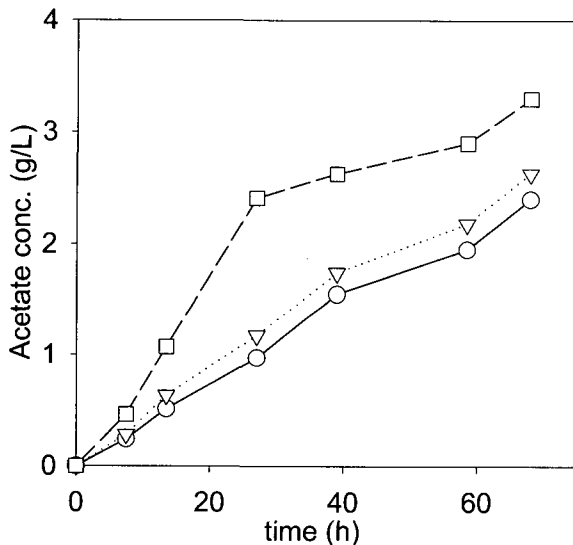


Figure 8. Effect of temperature on acetate production.

○—○ : 27°C, ▽—▽ : 30°C, □—□ : 37°C

CODH co-factor의 영향

CO의 대사과정에 관여하는 CODH(carbon monooxide dehydrogenase)의 활성화에 관여한다고 알려진 Zn, Ni등의 CODH co-factor의 농도가 균주의 성장 및 아세테이트의 생성에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험을 진행하였다. CODH는 균주가 CO를 에너지 또는 탄소원으로 이용할 때 직접적으로 관여하는 효소로서 이 효소의 활성화는 균주의 성장 및 대사산물로서 아세테이트의 생산에 많은 영향을 미칠 것으로 사려되어 CODH의 활성화에 영향을 미친다고 알려진 Ni, Zn등의 배지중 농도를 높여주는 방법으로 실험을 진행하였다. control로 쓰인 기본배지는 YP 1%, nitrate, phosphate염과 MgCl₂, NaCl, CaCl₂ 및 trace element(Ni, Zn 포함)와 미량의 vitamin들이었고 이 중 CODH co-factor인 Ni, Zn등이 포함되어 있는 trace element solution의 농도를 각각 control의 2배, 5배, 10배,

20배로 증가시켜 실험을 수행하였다. 이 실험의 결과가 Figure 9, 10에 보여지는데 각 경우의 균주성장은 trace element solution의 농도가 증가할수록 함께 증가하여 20배 첨가된 경우의 O.D.가 약 1.0으로 control의 O.D. 0.7에 비해서 약 30%정도 증가하였지만 아세테이트 생성량은 3.2~3.3 g/L로 큰 차이가 없었다. 이는 실험에 사용된 배지의 조건이 co-factor뿐만 아니라 다른 성분까지 함께 강화되어 CODH의 활성이 균주의 성장에 더 많은 영향을 준 것으로 생각되어지고 CODH의 활성화에 직접 관여한다고 알려진 Ni, Zn만을 대상으로 한 실험이 진행되어야 할 것으로 생각된다.

발효기를 이용한 고농도 아세테이트 생성 실험

serum bottle을 이용한 기본 배지 조건에서 아세테이트 생성량이 약 3~4 g/L에 머무는 것은 진탕배양기내에서의 교반속도의 한계, bottle 내에서의 기상과 액상의 접촉 표면적의 한계에 의한 물질전달의 한계때문으로 생각되어지는데 이의 해결을 위하여 5L 발효기(한국 발효기, KF-5L)에서 고농도 아세테이트 생성실험을 수행하였다. 배지는 YP 1%, nitrate, phosphate염과 MgCl₂, NaCl, CaCl₂ 및 trace element와 미량의 vitamin들이었고 5L 발효기 내에 배양액 부피는 2L, 500rpm, 37°C, pH는 6.0~7.0을 유지하면서 실험을 진행하였다. gas phase의 CO는 60%이었고 나머지는 질소(40%)를 이용하여 원하는 압력을 맞추었다. 또한 배양중 CO의 농도는 초기 주입량의 30%를 소비하기전 다시 충전하여 주었고 필요에 따라 질소원인 YP(총 2.5%)를 첨가해 주었다. 이 실험의 결과를 Figure 11에 도시하였다. 그림에서 보는바와 같이 균주성장의 경우 초반에 1.1까지 성장했을 때 YP 0.5%를 첨가해줌으로 약 60시간까지 이 수준을 유지하다가 0.5% YP를 다시 첨가해 주었을 때 약간의 성장을 더 보여 O.D. 약 1.4까지 성장하였다. 아세테이트의 경우 접종초기 낮은 생성속도로 생성되다가 60시간 이후 활발한 생성을 보여 약 21g/L를 생산하였다. 이때의 최대 아세테이트 생성속도는 0.48 g acetate/L · hr · O.D. 이었고 최대 CO 소비속도는 26.4 mmole CO/L · hr · O.D.이었다. 이 수치는 bottle의 경우 0.11 g acetate/L · hr · O.D.에 비하여 4배이상 증가한 값이고 생성량에 있어서도 약 4배가 증가하였는데 이는 발효기내에서의 물질전달 조건이 상당부분 개선되었기 때문이고 배지의 추가 공급에 의한 균주활성이 유지되었기 때문으로 생각된다. 이 실험을 통하여 CO로부터 아세테이트로의 전환경우에 있어서 물질전달문제가 해결되고 영양원의 결핍을 방지하면서 실험을 진행할 경우 수십 g/L의 아세테이트를 생성할 수 있을 것으로 보여진다.

이산화탄소와 수소로부터 아세테이트 생산

앞의 서론에서 언급한 것처럼 *P. productus*가 이산화탄소와 수소로부터 아세테이트를 만드는 것으로 확인되는데 이산화탄소와 수소를 이용한 균체성장 정도와 아세테이트 생성량을 조사하였다. Figure 12에 결과를 보였는데 130 ml gas phase에 30% 와 20% CO₂, 거기에 H₂를 각각 10%, 20% 주입한 경우를 비교하였는데 각 경우 모두 비슷하게 O.D. 0.5 정도에서 약 2g/L의 아세테이트를 생성하였다. 또한 Table. 2에서는 bottle을 이용한 실험시 CO 존재경우와 CO₂, H₂존재 경

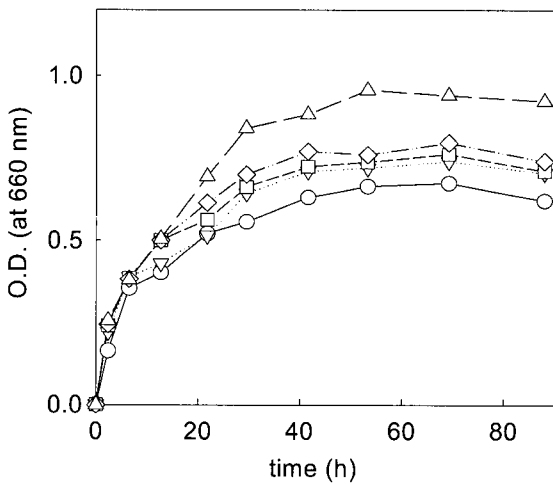


Figure 9. Effect of CODH co-factor conc. on cell growth.
 ○—○ : control, ▽—▽ : 2x trace metal, □—□ : 5x trace metal,
 ◇—◇ : 10x trace metal, △—△ : 20x trace metal

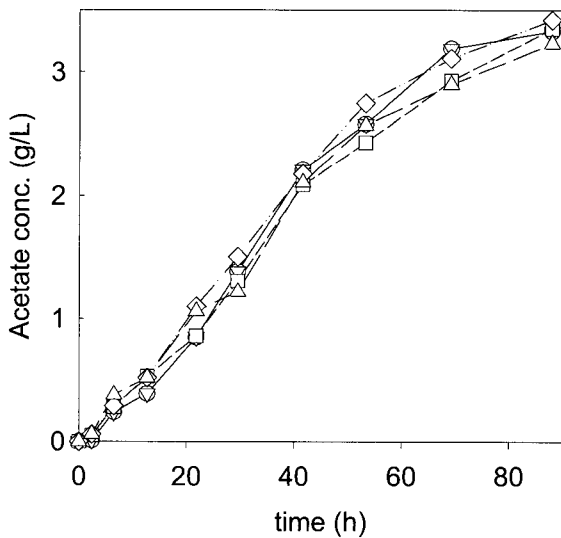


Figure 10. Effect of CODH co-facoceter on acetate production.
 ○—○ : control, ▽—▽ : 2x trace metal, □—□ : 5x trace metal,
 ◇—◇ : 10x trace metal, △—△ : 20x trace metal

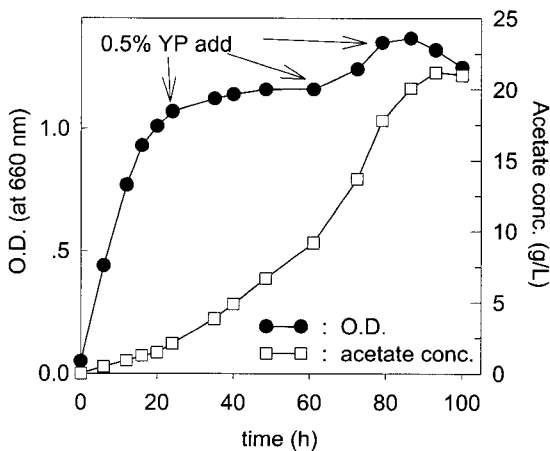


Figure 11. Acetate fermentation profile using *P. productus* in fermenter batch mode

* maximum Acetate formation rate = 0.48 g/L-hr-O.D.

* maximum CO conversion rate = 26.4 mmol/L-hr-O.D.

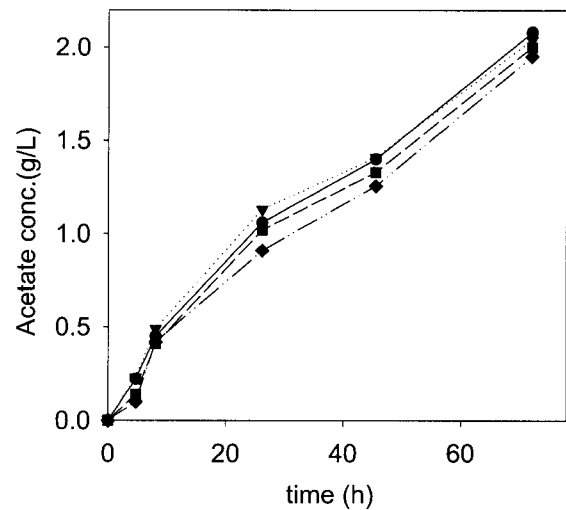


Figure 12. The production of acetate from CO₂ and H₂.
 ●—● : 20% CO₂ and 10% H₂, ▼—▼ : 20% CO₂ and 20% H₂,
 ■—■ : 30% CO₂ and 10% H₂, ◆—◆ : 30% CO₂ and 20% H₂

Table 2 CO 존재시와 CO₂, H₂ 존재시의 아세테이트 생성속도 비교

	CO	CO ₂ , H ₂
sp. acetate formation rate (g acetate/L · hr · O.D)	0.11	0.1

우에 있어서 최대 아세테이트 생성속도를 비교하였다. 표에서 보여주듯이 두 경우에 각각 0.11, 0.1 g acetate/L · hr · O.D로서 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 이로서 *P. productus*가 CO₂와 H₂를 이용하여 CO만 존재할 경우와 비슷한 속도로 아세테이트를 생성함을 확인하였고 산업체 부생가스중 대부분을 차지하고 있는 CO, CO₂, H₂를 동시에 이용할 경우 많은 양의 아세테이트를 생성할 수 있을 것으로 기대된다.

이상의 연구를 통하여 CO를 이용한 CSTR 실험시 pH조절과 배양중 질소원등 배지의 추가 공급, 그리고 CO retention time, rpm등의 mass transfer에 영향을 주는 요인들을 적절히 조절할 경우 생물학적 아세테이트 생성공정은 경제적으로 충분한 가치가 있을 것으로 기대되어진다.

요 약

본 연구에서는 *P. productus*를 이용하여 체계적인 CO로부터 아세테이트 전환방법 최적화 연구를 수행하였다. 먼저 CO 소비속도에 대한 kinetic model과 그에 따른 여러 가지 상수 값을 계산하여 V_{max}와 K_m은 각각 39.3 mmol/L-hr-O.D., 0.578 atm임을 알 수 있었으며 또한 고농도 구간에서 CO의 저해상수 K_{Si}는 0.792 atm이었고 S_{max}는 0.677 atm 이었다. 질소원인 YP의 농도에 따른 아세테이트 생산 정도는 YP농도가 증가할수록 세포의 성장과 생성된 아세테이트의 양이 증가하여 YP 3%의 경우 O.D. 1.14에서 약 6g/L의 아세테이트를 생성함을 알 수 있었다. 그러나 아세테이트 생성속도는 YP농도 2%와 3%에서 최대값이 0.11 g/L · hr · O.D로 비슷하였다. *P. productus*를 이용해 아세테이트 생성을 최적화 하기 위한 초기 pH실험의 결과 pH 6, 7 그리고 8의 경우는 O.D. 약

0.7에서 3 g/L 아세테이트를 생성하여 거의 비슷한 양상을 보였다. 또한 *P. productus*의 아세테이트 생성 최적 온도는 37°C임을 확인하였다. 기상과 액상의 접촉 표면적의 한계에 의한 물질전달문제의 해결을 위하여 5L 발효기에서 고농도 아세테이트 생성실험을 수행하였다. 균주성장의 경우 O.D. 약 1.4까지 성장하였다. 아세테이트의 경우 접종초기 낮은 생성속도로 생성되다가 60시간 이후 활발한 생성을 보여 약 21g/L를 생산하였다. 이때의 최대 아세테이트 생성속도는 0.48 g acetate/L · hr · O.D. 이었고 최대 CO 소비속도는 26.4 mmole CO/L · hr · O.D.이었다. 이 수치는 bottle의 경우 0.11 g acetate/L · hr · O.D.에 비하여 4배이상 증가한 값이고 생성량에 있어서도 약 4배가 증가하였다. *P. productus*가 이산화탄소와 수소로부터 아세테이트를 만드는 것으로 확인되는데 이산화탄소와 수소를 이용한 균주성장 정도와 아세테이트 생성량을 확인하는 실험을 수행하였다. 30% 와 20% CO₂, 거기에 H₂를 각각 10%, 20% 주입한 경우를 비교하였는데 각 경우 모두 비슷하게 O.D. 0.5 정도에서 약 2g/L의 아세테이트를 생성하였다. 이상의 연구를 통하여 CO를 이용한 CSTR 실험시 pH조절과 배양중 질소원등 배지의 추가 공급, 그리고 CO 머무름 시간, 교반속도의 물질전달에 영향을 주는 요인

들을 적절히 조절할 경우 생물학적 아세테이트 생성공정은 경제적으로 충분한 가치가 있을 것으로 기대되어진다.

감 사

본 연구는 1998년도 대체에너지 기술개발사업(산업자원부)에 의하여 연구되었으며 이에 감사의 말씀을 드립니다.

REFERENCES

1. J. K. Sung(1997), The Korean Journal of energy and Resource technique, **14**, 918-925.
2. Lorowitz, W. H, Bryant, H. p. (1984), Appl. Environ. Microbiol., **47**, 961-968.
3. Kerby, R. W., Zeikus, J. G. (1983), J. Bacteriol., **155**, 1208-1213.
4. Barik, S., R. E. Corder, Abstr. (1986), Amer. Soc. Microbiol., Annual Meeting, Washington, D. C. Paper No. **024**, 265- 271.
5. Balch, W. E., S. Schoberth (1977), Int'l. J. Syst. Bacteriology, **27**, 355-361.