

생물학적 수소생산 공정

신종환 · 박태현[†]

서울대학교 화학생물공학부
151-742 서울시 관악구 신림동 산56-1
(2005년 12월 20일 접수, 2006년 2월 6일 채택)

Biological Hydrogen Production Processes

Jong-Hwan Shin and Tai Hyun Park[†]

School of Chemical and Biological Engineering, Seoul National University, San 56-1, Shilim-dong, Gwanak-gu, Seoul 151-742, Korea
(Received 20 December 2005; accepted 6 February 2006)

요 약

생물학적 수소생산 공정은 다른 열화학적 공정이나 전기화학적 공정에 비하여 환경친화적이며 에너지를 덜 소모하는 공정이다. 생물학적 수소생산 공정은 크게 두 가지로 구별할 수 있는데, 광합성에 의한 수소생산과 혐기발효에 의한 수소생산이 그것이다. 광합성에 의한 수소생산 공정은 주로 물로부터 수소를 생산하고 동시에 공기 중의 이산화탄소도 저감하는 특징을 가지고 있으며, 혐기발효에 의한 수소생산 공정은 유기 탄소원을 섭취하는 박테리아에 의한 발효를 통해 이루어지는 공정이다. 본 논문에서는 생물학적 수소생산 공정에 대한 그간의 연구들에 대하여 살펴 보았다.

Abstract – Biological hydrogen production processes are more environment-friendly and less energy intensive than thermochemical and electrochemical processes. The biological process can be divided into two categories: photosynthetic hydrogen production and hydrogen production by dark fermentation. Photosynthetic process produces hydrogen mainly from water and reduces CO₂ simultaneously. Dark fermentation is a dark and anaerobic process that produces hydrogen by fermentative bacteria from organic carbon. The article presents a survey of biological hydrogen production processes.

Key words: Biological Hydrogen Production, Photosynthetic Hydrogen Production, Dark Fermentation

1. 서 론

오늘날 우리는 에너지 부족과 환경오염이라는 두 가지 위기에 직면해 있다. 세계의 에너지 수요는 대부분 화석연료에 의존하고 있으며 이로 인한 화석연료의 편재화와 고갈로 인해 여러 가지 정치·경제·사회적 문제들을 야기하고 있다. 또한, 화석연료의 사용으로 배출되는 배기가스는 지구 온난화 및 환경오염 문제들을 야기하고 있다. 이런 현실에서 여러 국가는 이 위기를 해결하기 위해 대체에너지를 개발하기 위한 연구에 몰두하고 있다. 이러한 문제점에 대한 해결책의 하나로써 수소에너지에 대한 관심이 고조되고 있다. 수소에너지는 태양광, 태양열, 석탄, 석유 등과 같은 1차 에너지를 변환시켜 얻을 수 있는 2차 에너지에 해당하며, 단위질량당 에너지 함량이 매우 높고(Table 1) 연소부산물로서 주로 물을 발생시키므로 어떤 다른 에너지원 보다 더욱 환경친화적인 청정에너지라고 할 수 있다[1, 2]. 또한, 수소에너지는 연료전지의 개발에 힘입어 더욱 그 필요성이 증대되고 있으며 군사/우주개발용뿐만 아니라 민간/상업용으로 주목받고 있다.

현재 수소는 96% 이상이 화석연료로부터 제조되고 있으나, 이 또한 매장량의 한계와 환경오염 물질 배출로 인해 궁극적인 제조 방법이라고 할 수는 없다. 따라서 더욱 더 환경 친화적인 태양광, 수력, 풍력, 미생물과 같은 청정기술을 이용하여 수소를 제조하는 방

Table 1 Comparison of energy per unit mass

Fuel	Energy per unit mass (MJ/kg)
H ₂ gas	120
H ₂ liquid	120
Coal (anthracite)	15~19
Coal (sub-bituminous)	27~30
Natural gas	33~50
Petrol	40~43
Oil	42~45
Diesel	42.8
Bio-diesel	37
Ethanol	21
Charcoal	30
Agricultural residue	10~17

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: thpark@plaza.snu.ac.kr

법이 연구되고 있다. 특히 최근에는 미생물을 이용하여 물이나 유기성 폐자원으로부터 수소를 제조하는 생물학적 수소 생산 방법에 대한 관심이 점점 증가하고 있다. 생물학적인 수소 생산 방법은 화학공학적 수소생산방법에 비해 상온·상압 조건에서 조업이 이루어지기 때문에 덜 에너지 집약적이며, 물이나 바이오 매스, 유기성 폐자원 등과 같은 재생 가능한 연료로부터 수소생산이 이루어지기 때문에 이론적으로는 무한정 수소생산이 가능하다. 또한, 생물학적 수소 생산 방법은 유기성 폐자원 처리, 이산화탄소 저감 등 환경처리 기술과 결합하여 환경오염 감소와 대체 에너지 생산이라는 두 가지 장점을 가지고 있는 기술이다. 따라서 현재 상용화되어 있는 화학공학적 방법에 의한 수소 제조 보다는 궁극적으로 위와 같은 장점을 갖는 생물공학적인 방법에 의한 바이오 수소 제조로 전환될 것으로 기대된다. 이 논문에서는 최근에 집중 연구되고 있는 생물학적 수소생산 방법의 종류 및 그와 관련된 미생물 그리고 현재 연구현황에 관하여 기술하였다. 또한, 이 논문에서는 보다 실용화에 한 발짝 더 다가선 혐기발효 공정에 관해 심도 있게 다루고자 한다.

2. 생물학적 수소 생산 공정

미생물에 의한 수소생산 연구는 1800년대부터 시작되었으나 기초 연구에 국한되었고 수소에너지와 관련하여 연구가 시작된 것은 1970년대부터이다. 즉, 에너지 위기의 시대에 그 대안으로 수소에

너지를 연구하기 시작한 것이다. 생물학적 수소 생산은 주로 미생물을 이용한 방법으로서, 미생물의 특성에 따라 크게 두 가지로 분류할 수 있다[3]. 하나는 빛을 이용하는 광합성(photosynthesis) 미생물에 의한 수소 생산 방법이고[4-6], 다른 하나는 빛을 이용하지 않는 미생물에 의한 혐기발효 방법이다[7-9]. Fig. 1은 다양한 미생물에 의한 수소생산 방법을 미생물의 특성에 따라 분류한 그림이다. 광합성을 이용한 수소생산 방법에 관여하는 미생물은 크게 green algae, cyanobacteria(blue green algae), photosynthetic bacteria로 구분할 수 있으며, 혐기발효에 관여하는 미생물은 fermentative bacteria가 있다[3, 10]. 이들 미생물은 자신이 가지고 있는 효소를 이용하여 수소를 생산하며[3], 수소 생산에 관여하는 효소로서 hydrogenase (H_2ase), nitrogenase(N_2ase), formate hydrogen-lyase(FHL) 등이 알려졌다[11-16].

따라서, 수소 생산 미생물에 의한 수소생산 조건 최적화 연구와 함께 그 효소에 관한 연구들이 진행되고 있다. 그러나 이들 효소에 관하여 충분한 연구가 되어 있지는 않은 실정이다. 그러므로 앞으로는 미생물을 통한 수소생산뿐 아니라, 수소생산에 직접 관여하는 효소들을 미생물로부터 분리하여 효소 반응공정 최적화를 통해 수소생산성을 높이려는 보다 심도 있는 연구가 필요할 것으로 생각된다. 일부 효소들은 산소에 매우 민감하기 때문에 현재 그 문제를 해결하기 위한 노력이 진행 중이다. 다음으로, 각 특성별 미생물에 의한 수소생산 방법에 관하여 기술하고자 한다.

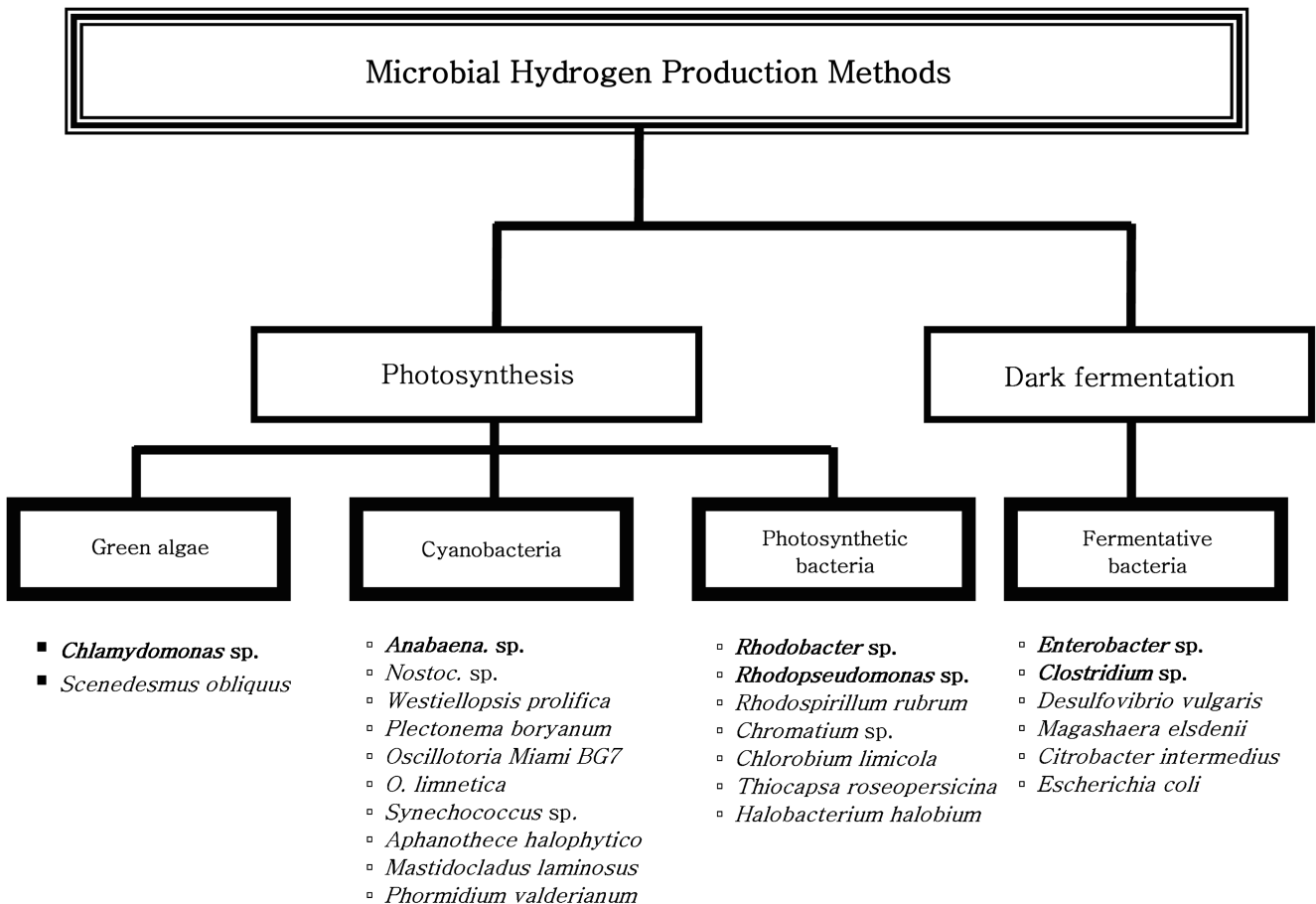


Fig. 1. Biological hydrogen production methods by various microorganisms.

3. 광합성 미생물에 의한 수소 생산

지구상에 풍부하게 존재하고 있는 물과 태양빛을 사용하여 수소를 생산한다면 가장 이상적인 방법일 것이다. 광합성 미생물 중에는 태양빛을 이용하여 물로부터 수소를 생산하는 것이 있다. 이는 지구상에 무한히 존재하는 물과 태양빛을 이용하여 에너지를 생산한다는 의미에서 중요한 가치를 지니고 있다. 이들 미생물은 환경 오염의 원인이 되는 이산화탄소를 수소생산 과정 중에 탄소원으로 사용하므로, 이산화탄소 제거와 수소에너지 생산이라는 일석이조의 효과를 가진다. 이와 관련된 미생물로서 Green algae와 Cyanobacteria가 있으며 각기 다른 메커니즘에 따라 수소를 생산한다. 이들 미생물은 매우 이상적인 시스템을 갖추고 있으나 수소생산성이 낮아 실용적인 측면에서는 아직 갈 길이 멀다는 문제점을 가지고 있다. 이러한 공정에서 해결해야 할 가장 큰 문제점은 광합성에 의해 발생하는 산소가 수소생산에 관여하는 효소의 활성을 떨어뜨리는 것이다. 따라서 이 산소를 제거하는 방법에 관한 연구가 여러 방면에서 진행되고 있다. 또한, 이와 관련하여 산소에 덜 민감한 효소를 개발하기 위해 분자생물학적 연구가 시도되고 있다. 이런 문제들이 해결된다면 수소 생산성이 높아져 실용화에 한 걸음 더 다가갈 것으로 생각된다. 이와 비교하여 수소 생산성이 비교적 높은 광합성 미생물로서, photosynthetic bacteria가 있다. 이 박테리아는 비록 물로부터 수소를 생산하지는 않고 유기탄소원을 공급해 주어야 하지만, 태양 광을 이용한다는 관점에서는 이 범주에 속하게 된다.

3-1. Green algae

Green algae는 광합성 메커니즘(photosystem I, II)에 의해 물로부터 양성자와 전자를 공급받아 수소를 생산하는 직접 물 분해(direct biophotolysis) 방법을 이용하고 있다[10, 17]. 즉, algae 내에 있는 엽록체에서 가시광선을 받고 이 빛 에너지에 의해서 물이 분해되어 산소, 양성자(H^+), 전자(e^-)를 발생한다. 빛 에너지는 물에서 발생한 전자를 고준위의 에너지로 만들고 ferredoxin(Fd)과 같은 몇 단계의 전자 전달 경로를 거쳐 최종적으로 수소생산 효소로 전달된다. 이 효소는 촉매 작용을 하여 양성자와 전자를 통해 수소를 발생시킨다. Fig. 2는 이와 같은 직접 물 분해에 의한 수소생산 공정을 알기 쉽

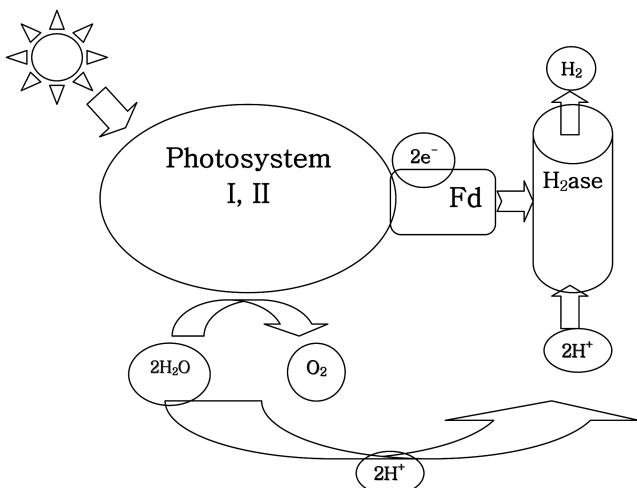


Fig. 2. Direct biophotolysis of water by *Green algae*.

게 나타낸 그림이다[18]. Fig. 2에서 나타낸 바와 같이 이러한 직접 물 분해 공정에 관련된 중요한 효소는 hydrogenase이며 이 효소는 산소에 매우 민감한 단점을 가지고 있다. 이는 앞에서 언급한 바와 같이 광합성 과정에서 발생하는 산소가 hydrogenase의 활성에 영향을 주어 수소생산을 저해시킨다. 따라서 이러한 단점을 보완하기 위해 최근에는 황이 없는 배지에서 *Chlamydomonas reinhardtii*를 배양하는 공정이 개발되었으며, 이는 광합성과정에서 발생하는 산소를 점차 감소시켜 혐기상태로 변화시키는 기술이다[19]. 이 밖에도 낮과 밤의 주기를 최적화하여 수소를 증가시키는 연구가 보고되었으며[20], 유전자 조작을 통해 산소 민감성이 감소한 hydrogenase를 갖은 균주를 개발함으로써 수소생산성이 향상된 결과가 보고되었다[21].

3-2. Cyanobacteria

Cyanobacteria(blue green algae)는 광합성에 의해 물을 분해하여 산소를 발생하고, 동시에 공기 중의 이산화탄소를 고정하여 고분자 저장물질(cell material)로 균체 내에 합성한 후 혐기발효 또는 광합성 발효에 의해 수소를 생산하는 간접 물 분해(indirect biophotolysis) 방법을 사용한다(Fig. 3) [10, 18, 22]. 이러한 수소생산 공정의 핵심 효소는 질소 고정화 효소인 nitrogenase로써 이는 산소와 질소가 없는 조건에서 수소를 생산한다. 그러나 nitrogenase는 수소를 생산하는데 ATP를 이용하기 때문에 hydrogenase에 비해 덜 효율적이다. 또한, 이러한 공정에서는 수소를 소비하는 효소인 uptake hydrogenase가 존재하기 때문에 수소생산량이 낮아진다. 따라서, 이러한 문제점을 해결하기 위해 Cyanobacteria의 일종인 *Anabaena* PCC 7120으로부터 uptake hydrogenase의 기능을 없앤 AMC 414(a Hup minus mutant)의 배양이 연구되어 대기 상에서도 수소를 생산할 수 있었고, 기체를 대기에서 Ar으로 치환함으로써 수소 생산성을 향상시키는 연구도 보고되었다. 이와 같은 방법을 이용하여 옥외배양에서 최대 수소 생산 14.9 ml H_2 /h/를 얻었다[23]. 또한, *Anabaena* PCC 7120에서 $\Delta hupL$ (uptake hydrogenase 결여), $\Delta hoxH$ (bidirectional hydrogenase 결여)와 $\Delta hupL/\Delta hoxH$ (2개의 유전자 결여) 등의 다양한 hydrogenase mutant들을 제작 함으로써 수소 생산 능력을 향상시키는 연구도 수행되었다. $\Delta hupL$ 과 $\Delta hupL/\Delta hoxH$ 의 경우가 야생형보다 최적 조건에서 4~7배 수소 생산 속도가 높았다[23]. 이 밖에 질산염 제약조건과 빛, 산소가 없는 상태에서 *Gloeocapsa alpicola*에 관한 연구가 보고되었다[25]. 이러한 유전자 조작 및 배양조건에 의한 수소생산 향

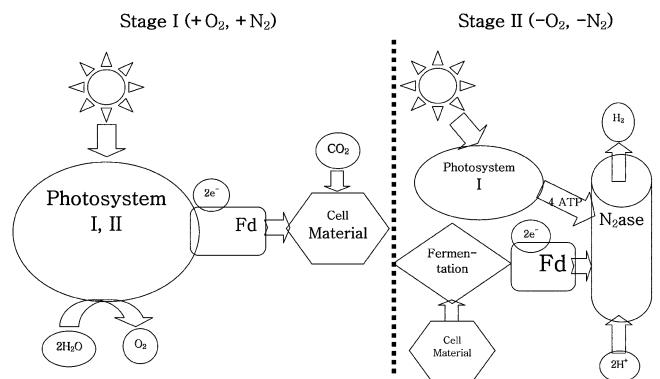


Fig. 3. Indirect biophotolysis of water by *Cyanobacteria*.

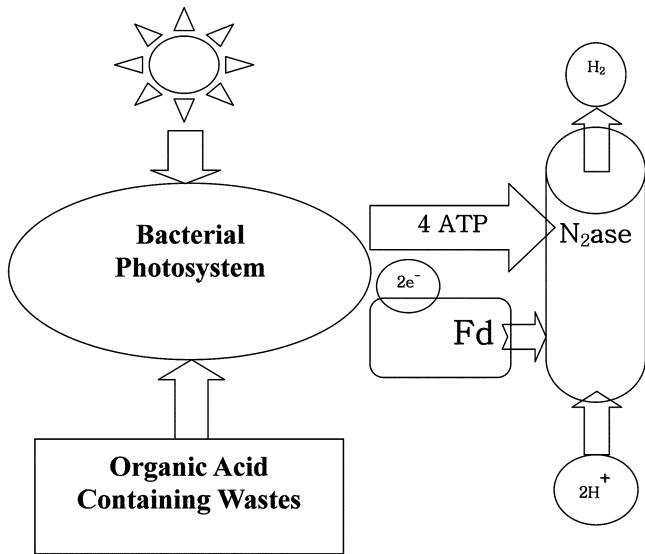


Fig. 4. Photodecomposition of organic compounds by photosynthetic bacteria.

상 외에도 미생물 성장 단계와 수소 생산 단계를 나누는 2단계 조업에 의한 수소 생산을 향상시키려는 연구가 수행 되었다[26].

3-3. Photosynthetic bacteria

Purple non-sulfur bacteria는 유기산으로부터 광합성 발효(photosynthetic fermentation)에 의해 수소를 생산한다(Fig. 4) [10, 18]. 즉, 광합성 박테리아는 조류 및 식물이 광합성계(photosystem, PS) I, II를 모두 이용하는 것과는 달리 PS I(bacterial photosystem)만을 이용하여 광합성 작용을 하고 수소를 발생한다. 다시 말해, bacterial photosystem에 존재하는 색소복합체인 반응 센터에 있는 클로로필과 카로티노이드 색소에서 빛 에너지를 흡수하여 반응 센터 복합체의 양면의 전위차로 전환하며, 이러한 전위차는 cyclic 전자 전달계를 생기게 하고 이것은 다시 ATP 등의 고 에너지 화합물을 만들게 된다. 이때 organic acid와 같은 기질이 공급하는 전자가 ferredoxin을 환원하며, 이 환원력과 ATP를 이용하여 nitrogenase가 질소원이 없는 조건에서 분자상의 수소를 발생한다. Fig. 4는 이러한 과정을 나타낸 그림이다[18]. 이러한 광합성 발효 공정의 최적화를 위해 *Rhodobacter sphaeroides* O.U. 001을 사용하여, 접종 균주의 나이에 관한 연구[27], 조사하는 빛에 관한 연구[28], 배양매지를 최적화 하는 연구[29] 등이 수행되었다. 이 밖에 수소 생산에 지해를 주는 산소를 제거하기 위한 연구 [30]와 세포 고정화를 통한 수소생산성 향상[31] 및 광배양기의 최적화에 관한 연구[32] 등이 보고되었다.

4. Dark fermentation

혐기발효에 의한 수소생산은 빛이 없는 혐기적 조건에서 유기물을 분해하여 수소를 생산하는 공정이다. 기존의 유기물 분해 공정(anaerobic treatment process)은 산성화(acidification)와 메탄생성(methane production) 공정으로 나눌 수 있다. 산성화 공정의 경우는 부산물로서 수소를 생성하며 이 수소는 여러 가지 산업적으로 응용 되었으며[33], 최근에는 연료전지를 위한 청정 에너지원으로

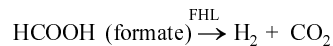
사용되고 있다[34]. 메탄생성 공정에서는 생성된 메탄이 전기 생산을 위한 연료로서 사용되고 있다[3]. 그러나 이러한 메탄보다는 수소가 더 연료전지에서 에너지로의 전환 효율이 좋기 때문에 앞의 두 공정 보다는 수소 생산량이 더 많은 수소생산 공정을 통해 유기물을 분해한 후 여기서 생산된 수소를 청정에너지로 사용하려는 연구가 진행되고 있다. 이러한 혐기발효에 의한 수소생산 공정은 광합성을 이용한 공정에 비해 (1) 높은 수소생산 속도 및 미생물 성장 속도, (2) 빛없이 수소생산 가능, (3) 폐수 자원 이용가능 등의 장점을 가지고 있다. 그러나 단점으로는 (1) 낮은 수소생산 수율(yield), (2) 발생 가스 중에 CO₂ 함유 등이 있다.

수소 생산을 위한 혐기발효에 관여하는 미생물은 fermentative bacteria로서 산소 노출에 매우 민감한 절대 혐기성 균주(strict anaerobe)와 산소에 덜 민감한 통성 혐기성 균주(facultative anaerobe)로 나눌 수 있다. 이들 혐기발효 균주를 이용한 수소생산은 sewage sludge 또는 토양으로부터 미생물을 분리하여 사용하는 순수배양(pure culture) 또는 복합배양(mixed culture)이 수행되고 있다. 최근에는 sewage sludge 또는 토양으로부터 여러 우수 균주들이 분리되어 수소 생산을 위한 최적조건 연구 및 균주 개량, 공정 개발 등에 이용되고 있다. 더욱 많은 연구를 통해 더욱 다양하고 우수한 균주들이 분리될 것으로 기대된다. 이와 더불어 고온성 미생물을 이용한 수소 생산 연구가 진행되고 있다. 고온성 미생물은 다른 미생물에 비해 수소 이외의 부산물이 적어서 이론적 수율에 가장 가까운 균주이다. 그러나 고온을 유지하여야 하고 주로 절대 혐기적 균주이기 때문에 그 공정이 매우 까다롭다. 앞으로 이런 공정상의 단점을 극복한다면 높은 수소생산성을 위한 좋은 연구분야가 될 것으로 기대된다.

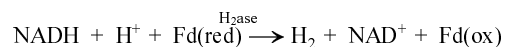
미생물을 이용하여 혐기발효를 통해 수소를 생산하는 방법에는 pyruvate 분해 metabolism에 따라 다음과 같은 두 가지로 나눌 수 있다[3].

1. Pyruvate: formate lyase (PFL) system:
 $(\text{Pyruvate} + \text{CoA}) \rightarrow \text{acetyl-CoA} + \text{formate}$
2. Pyruvate: ferredoxin oxido reductase (PFOR) system:
 $\text{Pyruvate} + \text{CoA} + 2\text{Fd(ox)} \rightarrow \text{acetyl-CoA} + \text{CO}_2 + 2\text{Fd(red)}$

*Enterobacteria*와 같은 통성 혐기성 미생물은 주로 PFL system에 의해 pyruvate로부터 formate가 생성된 후 FHL에 의해 수소와 이산화탄소로 분해된다.



이에 반해 *Clostridia*와 같은 절대 혐기성 미생물은 위에서 설명된 pyruvate 분해 metabolism 중 PFOR system에 의해 환원된 상태의 ferredoxin을 얻고 이로부터 전자를 전달받아 glycolysis 과정 중 생성된 NADH를 hydrogenase가 reoxidation시켜 수소를 생산한다.



두 가지 pathway 중 전자는 formate pathway이며, 후자는 NADH pathway이다[16, 35].

이러한 혐기발효 연구의 주된 목표는 수소 생산성 증대 및 수율(yield)의 향상이다. 수율 향상을 위해서는 이론적인 수율인 glucose

1 mol 당 12 mol의 수소를 생산하는 것을 목표로 연구가 진행되고 있다. 그러나 열역학적인 관점에서 glucose 발효를 통해 acetate가 주된 metabolite라 가정 할 때 이론적인 수소 생산량은 4 mol이다[3]. 이러한 이론적인 4 mol의 수소도 여러 가지 metabolite(lactic acid, succinic acid, butyric acid, ethanol, butanediol, etc)가 생산되는 방향으로 진행되는 metabolic flux에 의해 더 낮은 수율을 나타낸다. 또한, 이들 대사산물들은 다시 metabolic pattern에 영향을 준다. 따라서 수소의 생산 수율을 높이기 위해서는 각 미생물의 metabolic pattern에 대한 연구도 필요하다. 대사산물은 배지의 조성, pH, 온도 등에 영향을 받기 때문에 이들 조건에 따른 metabolic pattern 연구가 선행되어야 할 것이며 생성된 대사산물의 농도에 의한 영향도 함께 연구되어야 할 것이다. 이 밖에 배양기 내의 수소 분압은 미생물의 성장 pattern에 영향을 주어 미생물 성장과 수소 생산을 저해하기 때문에 수율이 더 낮아 진다[36]. 이는 생산물 저해를 나타내며 이는 절대 혐기성 균주일수록 더 큰 영향을 나타낸다. 따라서 생산물 저해를 줄이기 위해 배양기 내의 수소를 제거하는 방법에 관한 연구가 필요하다. 이는 공정 개발을 통한 고농도 배양 시 더 큰 문제를 야기할 것으로 예상되기 때문에 반드시 해결해야 할 문제이다. 이 밖에 수율을 향상시키기 위해서 배양조건 최적화, 대사공학, 분자생물학적 방법 등을 이용하는 연구가 수행되고 있다. 다음은 각각의 fermentative bacteria에 대해 어떤 연구가 진행되고 있는지를 살펴 보고자 한다.

4-1. Strict anaerobe

절대 혐기성 균주에 의한 수소생산 연구는 주로 *Clostridium* sp.를 이용하고 있다. 이러한 공정에서는 산소에 매우 민감하기 때문에 외부 산소와의 접촉을 최소화하는 것이 중요하다. 따라서 이를 위해 배지 내에 환원제를 넣어준다. 절대 혐기성 균주를 이용한 수소생산 공정에 관여하는 핵심 효소는 hydrogenase이다. 이 효소는 산소에 매우 민감하기 때문에 산소와의 접촉이 없는 절대 혐기적 조건에서만 수소를 생산한다. 이 공정에 의한 수소생산 수율은 통성 혐기성 균주에 의한 것보다 일반적으로 더 높아서 이론적 수율에 더 가깝다. 그러므로 sewage sludge 또는 토양으로부터 우수 균주를 분리하거나 기존에 알려진 균주를 통해 수소생산 향상을 위한 연구가 진행되고 있다[8, 37, 38]. 가장 최근에 분리된 *Clostridium butyricum* CGS5는 pH 5.5와 20 g COD/l의 조건에서 2.91 mol H₂/mol sucrose의 최대 수율을 얻었으며 pH 5.5와 20 g COD/l의 조건에서는 209 ml/h의 최대수소생산속도(volumetric H₂ production rate)를 나타낸 결과를 보고하였다[38]. 이 밖에 *C. acetobutylicum*[39]은 1.97 mol H₂/mol glucose의 수율을 보고하였고 *C. thermolacticum*은 1.5 mol H₂/mol glucose의 수율과 2.58 mmol/h의 H₂ productivity를 보고하였다[40]. 또한, 더 높고 지속적인 수소생산을 위해 연속 배양이나 세포 고정화를 통해 수소생산량 향상을 보고하고 있다. 이와 함께 세포 내 효소의 특성에 대한 이해가 중요하기 때문에, 효소를 세포 밖으로 분리하여 효소특성을 파악하려는 연구가 진행 중이다.

4-2. Facultative anaerobe

통성 혐기성 균주에 의한 수소생산 연구는 주로 *Enterobacter* sp.를 이용하여 수행되고 있다. 통성 혐기성 균주의 장점은 산소에 덜 민감하여 배지 내에 고가의 환원제를 넣어 줄 필요가 없는 등 공정이 비교적 단순하여 scale-up시 손쉽다는 점을 들 수 있으며 단점으

로는 절대 혐기성 균주에 비해 수소 생산 수율이 낮다는 점을 들 수 있다. 그러나 수율은 낮지만 높은 수소생산속도와 공정의 단순함으로 인해 수소생산을 위해 널리 사용되고 있다[9, 16, 35, 41, 42]. 이러한 통성 혐기성 균주는 앞서 말한 바와 같이 PFL system에 의해 formate를 만들고 FHL에 의해 수소와 이산화탄소가 생성된다. 이와 함께 glycolysis과정에 생성된 NADH를 reoxidation하여 수소를 생산하는 NADH pathway 또한 존재한다고 알려졌다[10, 35]. *Enterobacter cloacae* IIT-BT은, 2.2 mol H₂/mol glucose의 수율과 35.62 mmol H₂/h의 수소생산속도가 보고 되었다[43]. 이 밖에 *Enterobacter aerogens* E82005는 Ar gas purging을 통해 1.58 mol H₂/mol molasses의 향상된 수율이 보고 되었으며[35] *Enterobacter aerogens* HU-101은 0.56 mol H₂/mol glucose의 수율 그리고 그것의 mutant인 AY-2를 통해 1.17 mol H₂/mol glucose의 수율 향상이 보고 되었다[44]. 또한, 연속배양과 세포고정화 연속배양에 의해 지속적인 수소생산을 얻는 연구들이 수행되고 있다[45, 46].

4-3. Thermophilic bacteria

고온성 미생물을 이용한 수소 생산에 대한 연구는, 수소가 원하지 않는 발효부산물로 여겨졌기 때문에[47, 48] 지금까지 많이 진행되지 않았다. *Pyrococcus furiosus*[49], *Pyrococcus abyssi* ST549[47], *Thermotoga maritime*[48], *Acetothermus paucivorans*[50], *Acetomicrobium flavidum*[51] 등이 수소를 생성할 수 있는 균주로 알려졌으나 수소생산 효율에 대한 연구는 최근 들어서 활발히 진행되고 있다. 수소생산자로서의 고온성 미생물을 고려해 볼 때, 흥미롭게도 고온성 미생물은 중온성 통성 혐기성 균주나 절대 혐기성 균주에 비해 수소생산 수율이 월등히 높다[52]. 이론적으로 발효를 통해 1 mol hexose 당 4 mol hydrogen을 얻을 수 있는데, *Thermotoga maritime*의 경우는 최대 이론값인 4 mol hydrogen/mol glucose를 얻을 수 있다고 보고된 바가 있다[48]. *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*와 *Thermotoga elfii*의 경우에, 이 균주들은 양론적으로 1 mol hexose당 3.3 mol hydrogen의 수율을 나타내어 이론적인 수소 생산 수율의 83%의 값을 달성했다[53]. 또한, maximal hydrogen production rate 이 각각 8.4 mmol/h와 4.5 mmol/h의 우수한 값을 나타내었다. 또한, 일본의 Tamotsu는 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1로부터 연속배양을 통해 59.6 mmol/g/h의 수소 생산성을 달성하였다[54].

5. 결 론

수소는 더 이상 미래의 에너지가 아니다. 수소는 화석연료를 대체하는 에너지로서 매우 높은 효율과 환경 친화적이기 때문에 실용화가 눈앞에 와 있다. 그 중 생물학적 수소생산은 기타 화학공학적 방법에 의한 수소생산보다 더욱 환경친화적이며 이산화탄소 저감, 유기성 폐자원 처리 등의 장점을 가지고 있기 때문에 더욱 주목받고 있다. 현재 생물학적 수소 생산 방법은 아직 해결해야 할 문제들이 있지만, 급속한 진전이 이루어지고 있다.

광합성 미생물에 의한 수소 생산은 물과 태양광으로부터 수소를 생산하는 이상적인 시스템으로 광합성에 의해 생성된 산소가 수소를 생산하는 효소를 저해하는 문제만 해결된다면 더 많은 수소 생산량을 얻어 실용화될 것으로 기대된다. 이는 분자생물학적인 방법으로 해결이 가능할 것으로 생각된다.

한국, 일본과 같은 유기성 폐자원이 풍부한 국가에서 주목하고 있

는 혐기발효 기술의 실용화를 위해서는 수소 생산 수율을 향상시켜야 한다. 혐기발효 기술은 수소생산과 함께 전 세계적으로 문제가 되고 있는 유기성 폐자원을 처리할 수 있다는 큰 장점을 가지고 있다. 이러한 엄청난 양의 유기성 폐자원을 모두 에너지로 전환한다면 에너지 소비량의 30% 가량을 충당할 수 있다. 혐기발효 공정이 실용화되기 위한 가장 큰 걸림돌은 낮은 수소 생산 수율이다. 따라서 수소의 생산성과 수율을 높이는 것이 혐기발효 연구의 핵심이라 할 것이다. 수율을 향상시키기 위한 방안으로 수소 생산을 위한 배양 조건 최적화, 변이주(mutant) 개발, 유전자 조작(genetic operations), 대사공학(metabolic engineering) 등이 적용되고 있다. 이들 방법에 의해 점차 수율의 향상이 이루어지고 있으며 지속적인 수소 생산을 위한 공정 개발도 함께 수행되고 있다.

수소에너지의 제조와 함께 수소에너지 사회로 전환하기 위해서는 수소의 저장수송을 위한 기술 개발이 필요할 것이며 이를 실제 이용하기 위한 연료전지의 개발과 함께 수소를 안전한 에너지원의 하나로 인식하는 사회적 인식의 변화가 필요하다.

감 사

본 연구는 과학기술부의 지원으로 수행하는 21세기 프론티어 연구개발사업의 일환으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. Suzuki, Y., "On Hydrogen as Fuel Gas," *Int. J. Hydrogen Energy*, **7**(3), 227-230(1982).
2. Bockris, J. O. M., "The Economics of Hydrogen as a Fuel," *Int. J. Hydrogen Energy*, **6**(3), 223-241(1981).
3. Vijayaraghavan, K. and Soom, M. A. M., "Trends in Biological Hydrogen Production—a Review," *Int. J. Hydrogen Energy*, in press, available online at www.sciencedirect.com(2004).
4. Lichtl, R. R., Bazin, M. J. and Hall, D. O., "The Biotechnology of Hydrogen Production by Nostoc Flagelliforme Grown Under Chemostat Conditions," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **47**(6), 701-707 (1997).
5. Hansel, A. and Lindblad, P., "Towards Optimization of Cyanobacteria as Biotechnological Relevant Producers of Molecular Hydrogen a Clean and Renewable Energy Source," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **50**(2), 153-160(1998).
6. Matsunaga, T., Hatano, T., Yamada, A. and Matsumoto, M., "Microaerobic Hydrogen Production by Photosynthetic Bacteria in a Double-Phase Photobioreactor," *Biotechnol. Bioeng.*, **68**(6), 647-651 (2000).
7. Oh, Y.-K., Seol, E.-H., Lee, E. Y. and Park, S. H., "Fermentative Hydrogen Production by a New Chemoheterotrophic Bacterium *Rhodospseudomonas palustris* P4," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1373-1379(2002).
8. Fumiaki, T., Chang, J. D., Mizukami, N., Tatsuo, S. T. and Katsushige, H., "Continuous Hydrogen Production by *Clostridium* sp. Strain No. 2 from Cellulose Hydrolysate in an Aqueous Two-phase System," *J. Ferment. Bioeng.*, **82**(1), 80-83(1996).
9. Yokoi, H., Tokushige, T., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y., "Hydrogen Production by Immobilized Cells of Aciduric *Enterobacter aerogenes* strain HO-39," *J. Ferment. Bioeng.*, **83**(5),

- 481-484(1997).
10. Das, D. and Veziroglu, T.N., "Hydrogen Production by Biological Processes: a Survey of Literature," *Int. J. Hydrogen Energy*, **26**(1), 13-28(2001).
11. Vignais, M. V., Billoud, B. and Meyer, J., "Classification and Phylogeny of Hydrogenases," *FEMS Microbiol. Rev.*, **25**(4), 455-501(2001).
12. Adams, M. W., Mortenson, L. E. and Chen, J. S., "Hydrogenase," *Biochim. Biophys. Acta.*, **594**(2-3), 105-176(1980).
13. Appel, J. and Schulz, R., "Hydrogen Metabolism in Organisms with Oxygenic Photosynthesis: Hydrogenases as Important Regulatory Devices for a Proper Redox Poising," *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **47**(1), 1-11(1998).
14. Schulz, R., "Hydrogenases and Hydrogen Production in Eukaryotic Organisms and Cyanobacteria," *J. Mar. Biotechnol.*, **4**, 16-22 (1996).
15. Boichenko, V. A. and Homann, P., "Photosynthetic Hydrogen Production in Prokaryotes and Eukaryotes: Occurrence Mechanism and Functions," *Photosynthetica.*, **30**, 527-552(1994).
16. Gorman, J., "Hydrogen: the Next Generation," *Science News*(2002).
17. Melis, A., Zhang, L., Forestier, M., Ghirardi, M. L. and Seibert, M., "Sustained Photobiological Hydrogen gas Production Upon Reversible Inactivation of Oxygen Evolution in the Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*," *Plant Physiol.*, **122**(1), 127-135 (2000).
18. Hallenbeck, P. C. and Benemann, J. R., "Biological Hydrogen Production; Fundamentals and Limiting Processes," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1185-1193(2002).
19. Laurinavichene, T. V., Tolstygina, I. V., Galiulina, R. R., Ghirardi, M. L., Seibert, M. and Tsygankov, A. A., "Dilution Methods to Deplete *Chlamydomonas reinhardtii* Cultures of Sulfur for Subsequent Hydrogen Photoproduction," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1245-1249(2002).
20. Tsygankova, A., Kosourova, S., Seibert, M. and Ghirardi, M. L., "Hydrogen Photoproduction Under Continuous Illumination by Sulfur-Depleted, Synchronous *Chlamydomonas reinhardtii* Cultures," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1239-1244(2002).
21. Flynn, T., Ghirardi, M. L. and Seibert, M., "Accumulation of O₂-Tolerant Phenotypes in H₂-Producing Strains of *Chlamydomonas reinhardtii* by Sequential Applications of Chemical Mutagenesis and Selection," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1421-1430(2002).
22. Janssen, M. and Hoekema, S., "Biological Hydrogen Production, 2003," available from: www.ftns.wau.nl/prock/Research/Rene/Photobacteria.htm, accessed 7 April(2004).
23. Lindblad, P., Christensson, K., Lindberg, P., Fedorov, A., Pinto, F. and Tsygankov, A., "Photoproduction of Hydrogen by Wild-type *Anabaena* PCC 7120 and a Hydrogen Uptake Deficient Mutant: from Laboratory Experiments to Outdoor Culture," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1271-1281(2002).
24. Masukawa, H., Mochimaru, M. and Sakurai, H., "Disruption of Uptake Hydrogenase Gene, but not of Bidirectional Hydrogenase Gene, Leads to Enhanced Photobiological Hydrogen Production by the Nitrogen-Fixing Cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **58**(5), 618-624(2002).
25. Troshina, O., Serebryakova, L., Sheremetieva, M. and Lindblad, P., "Production of H₂ by the Unicellular Cyanobacterium *Gloeo-*

- capsa alpicola* CALU 743 During Fermentation," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1283-1289(2002).
26. Yoon, J. H., Sim, S. J., Kim, M. S. and Park, T. H., "High Cell Density Culture of *Anabaena variabilis* Using Repeated Injections of Carbon Dioxide for the Production of Hydrogen," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1265-1270(2002).
 27. Koku, H., Eroglu, I., Gündüz, U., Yücel, M. and Türker, L., "Kinetics of Biological Hydrogen Production by the Photosynthetic Bacterium *Rhodobacter sphaeroides* O.U. 001," *Int. J. Hydrogen Energy*, **28**(4), 381-388(2003).
 28. Ko, I. B. and Noike, T., "Use of Blue Optical Filters for Suppression of Growth of Algae in Hydrogen Producing Non-Axenic Cultures of *Rhodobacter sphaeroides* RV," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1297-1302(2002).
 29. Lee, C. M., Chen, P. C., Wang, C. C. and Tung, Y. C., "Photohydrogen Production Using Purple Nonsulfur Bacteria with Hydrogen Fermentation Reactor Effluent," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1309-1313(2002).
 30. Maness, P. C. and Weaver, P. F., "Hydrogen Production from a Carbonmonoxide Oxidation Pathway in *Rubrivivax Gelatinosus*," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1407-1411(2002).
 31. Singh, A., Pandey, K. D. and Dubey, R. S., "Enhanced Hydrogen Production by Coupled System of Halobacterium Halobium and Chloroplast after Entrapment Within Reverse Micelles," *Int. J. Hydrogen Energy*, **24**(8), 693-698(1999).
 32. Kondo, T., Arakawa, M., Wakayama, T. and Miyake, J., "Hydrogen Production by Combining two Types of Photosynthetic Bacteria with Different Characteristics," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1303-1308(2002).
 33. Kirk, R. E., Othmer, D. F., Grayson, M. and Eckroth, D., "Concise Encyclopedia of Chemical Technology XIII", NewYork, Wiley-Interscience, 838-893(1985).
 34. Hart, D., "Hydrogen Power: the Commercial Future of the Ultimate Fuel," London, Financial Times Energy Publishing(1997).
 35. Tanisho, N., Kuromoto, M. and Kadokura, N., "Effect of CO₂ Removal on Hydrogen Production by Fermentation," *Int. J. Hydrogen Energy*, **23**(7), 559-563(1998).
 36. Van Niel, E. W. J., Claassen, P. A. M. and Stams, A. J. M., "Substrate and Product Inhibition of Hydrogen Production by the Extreme Thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*," *Biotechnol. Bioeng.*, **81**(3), 255-262(2003).
 37. Heyndrickx, M., Vos, P. D. and Ley, J. D., "Fermentation Characteristics of *Clostridium pasteurianum* LMG 3285 Grown on Glucose and Mannitol," *J. Appl. Bacteriol.*, **70**, 52-58(1991).
 38. Chen, W.-M., Tseng, Z.-J., Lee, K.-S. and Chang, J.-S., "Fermentative hydrogen production with *clostridium butylicum* cgs5 isolated From Anaerobic Sewage Sludge," *Int. J. Hydrogen Energy*, in press, available online at www.sciencedirect.com(2004).
 39. Saint-Amans, S., Girbal, L., Andrade, J., Ahrens, K. and Soucaille, P., "Regulation of Carbon and Electron Flow in *Clostridium butyricum* VPI 3266 Grown on Glucose Glycerol Mixtures," *J. Bacteriol.*, **183**(5), 1748-1754(2001).
 40. Christophe, C., Nevenka, A., Jean-Paul, S., Paul, P., "Hydrogen Production by *Clostridium thermolacticum* During Continuous Fermentation of Lactose," *Int. J. Hydrogen Energy*, **29**(14), 1479-1485(2004).
 41. Rachman, M. A., Furutani, Y., Nakashimada, Y. and Kakizono, T. and Nishio, N., "Enhanced Hydrogen Production in Altered Mixed Acid Fermentation of Glucose by *Enterobacter aerogenes*," *J. Ferment. Bioeng.*, **83**(4), 358-363(1997).
 42. Yokoi, H., Ohkawara, T., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y., "Characteristics of Hydrogen Production by Aciduric *Enterobacter aerogenes* Strain HO-39," *J. Ferment. Bioeng.*, **80**(6), 571-574(1995).
 43. Kumar, N. and Das, D., "Enhancement of Hydrogen Production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08," *Process Biochem.*, **35**(6), 589-593(2000).
 44. Rachman, M. A., Furutani, Y., Nakashimada, Y., Kakizono, T. and Nishio, N., "Enhanced Hydrogen Production in Altered Mixed Acid Fermentation of Glucose by *Enterobacter aerogenes*," *J. Ferment. Bioeng.*, **83**(4), 358-363(1997).
 45. Kumar, N. and Das, D., "Continuous Hydrogen Production by Immobilized *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08 Using Lignocellulosic Materials as Solid Matrices," *Enzyme Microb. Technol.*, **29**(4-5), 280-287(2001).
 46. Palazzi, E., Fabiano, B. and Perego, P., "Process Development of Continuous Hydrogen Production by *Enterobacter aerogenes* in a Packed Column Reactor," *Bioprocess Eng.*, **22**, 205-213(2000).
 47. Godfroy, A., Raven, N. D. H. and Sharp, R. J., "Physiology and Continuous Culture of the Hyperthermophilic Deep-sea Vent Archaeon *Pyrococcus abyssi* ST549," *FEMS Microbiol. Lett.*, **186**(1), 127-132(2000).
 48. Schröder, C., Selig, M. and Schönheit, P., "Glucose Fermentation to Acetate, CO₂, and H₂ in the Anaerobic Hyperthermophilic Eubacterium *Thermotoga maritima*: Involvement of the Embden-Meyerhof Pathway," *Arch Microbiol.*, **161**(6), 460-470(1994).
 49. Fiala, G. and Stetter, K. O., "*Pyrococcus furiosus* sp. nov. Represents a Novel Genus of Marine Heterotrophic Archaeobacteria Growing Optimally at 100 °C," *Arch Microbiol.*, **145**(1), 56-61(1986).
 50. Dietrich, G., Weiss, N. and Winter, J., "*Acetothermus paucivorans*, gen. nov., sp. nov, a Strictly Anaerobic, Thermophilic Bacterium From Sewage Sludge, Fermenting Hexoses to Acetate, CO₂, and H₂," *Syst. Appl. Microbiol.*, **10**, 174-179(1988).
 51. Soutschek, B., Winter, J., Schindler, F. and Kandler, O., "*Acetomicrobium flavidum*, gen. nov., sp. nov., a Thermophilic, Anaerobic Bacterium from Sewage Sludge, Forming Acetate, CO₂, and H₂ From Glucose," *Syst. Appl. Microbiol.*, **5**, 377-390(1984).
 52. Reith, J. H., Wijffels, R. H. and Barten, H. (Ed.), *Bio-Methane & bio-Hydrogen: Status and Perspectives of Biological Methane and Hydrogen Production*, Dutch Biological Hydrogen Foundation, The Netherlands, 103-123(2003).
 53. Van Niel, E. W. J., Budde, M. A. W., De Haas, G. G., Van der Wal, F. J., Claassen, P. A. M. and Stams, A. J. M., "Distinctive Properties of High Hydrogen Producing Extreme Thermophiles, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga elfii*," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**(11-12), 1391-1398(2002).
 54. Kanai, T., Fukui, T., Atomi, H. and Imanaka, T., "Continuous Hydrogen Production by the Hyperthermophilic Archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1," 15th WHEC, June, Japan(2004).