

## 남조류 *Synechocystis* PCC 6803을 이용한 생물전기화학적 물분해 전기 생산

김민진\*, 오유관\*, 김미선\*†

\*한국에너지기술연구원 바이오에너지연구센터

## Electricity Generation Using Cyanobacteria *Synechocystis* PCC 6803 in Photosynthetic Bio-Electrochemical Fuel Cell

MINJIN KIM\*, YOUNGWAN OH\*, MISUN KIM\*†

\*Bioenergy Research Center, Korea Institute of Energy Research,  
71-2 Jang-dong Yuseong-gu Daejeon 304-343, Korea

### ABSTRACT

Cyanobacteria *Synechocystis* PCC 6803 or the extracted thylakoid membrane from this strain was applied to photosynthetic bio-electrochemical fuel cell(PBEFC) for the production of hydrogen under the illumination of 48Klux using halogen lamp. PBEFC was composed of anode, cathode and membrane between them. Electrode material was carbon paper while electron mediator and receptor were added phenazine methosulfate(PMS) and potassium ferricyanide respectively. When water and 50 mM tricine buffer and 300 μM PMS were added to the anode under the light condition, PBEFC produced the current density  $4.4 \times 10^{-5}$  mA/cm<sup>2</sup>,  $1.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup> and  $2.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup>, respectively. And the addition of the thylakoid membrane to the system increased current density to  $1.3 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>. Two times increase of the thylakoid membrane into the anode doubled the current density to  $2.6 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>. But the current density was not increased proportionally to the amount of thylakoid membrane increased. The system was unstable to measure the electricity output due to the foam production in the anode. Addition of triton X-100 and tween 80 stabilized the system to measure the electricity output but the current density was not increased higher than  $8.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup> and  $2.3 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>. When the thylakoid membrane was substituted to *Synechocystis* PCC 6803 cells of four-day culture which has chlorophyll contents 20.5 μg /mL, maximum current density was  $1.3 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup> with 1 kΩ resistance.

**KEY WORDS :** *Synechocystis* PCC 6803(광합성 세균), Cyanobacteria(남조류), Photosynthetic bio-electrochemical fuel cell(광합성비생물연료전지), Thylakoid membrane(틸라코이드 막), Electricity(전기)

† Corresponding author : bmmkskim@kier.re.kr

## 1. 서 론

산업 혁명 이후 에너지로 쓰인 화석연료는 매장량에 한계가 있으며 재생이 되지 않고, 또한 지구의 환경오염을 야기했기 때문에 인류는 신·재생에너지와 대체에너지 개발에 관한 관심을 가지고 있으며 많은 연구가 진행되고 있다.

특히 태양 에너지는 지구상 모든 생명체의 에너지원이며, 대체 에너지로 활용하기 위해서 집중적으로 연구되고 있다. 녹색식물, 녹조류, 남조류 등이 태양 에너지, 물, 이산화탄소를 이용하여 광합성작용을 한다. 이중에서도 빛 전환 효율이 식물과 유사한 남조류는 빛 에너지를 받아서 물로부터 발생한 전자가 광합성 기작을 따라서 이동하기 때문에 *Anabaena variabilis*, *synechococcus* sp, *Synechocystis* sp 와 같은 남조류의 연구가 활발하게 이루어지고 있다<sup>1-4)</sup>.

광합성 미생물 연료 전지(photosynthetic bio-electrochemical fuel cell, PBEFC)는 미생물의 광합성 작용중의 전자 이동을 외부로 유도하기 위하여 고안한 시스템이다. PBEFC는 이전에 광 전기화학전지 (photosynthetic electrochemical cell, PEC)라는 명칭으로 초기 개발 되었다<sup>5)</sup>. PBEFC 시스템은 양이온 교환 막 (proton exchange membrane, PEM)에 의해 음극부와 양극부로 나뉘어져 있고 외부회로를 통해 전자가 이동된다. 음극부에는 광합성기구가 포함 되어있는 시료를 적용시킨다. PBEFC 시스템은 빛이 존재하면 (1) 틸라코아이드 막 안에 있는 광합성 기구를 통해  $H_2O$ 로부터 유래된 전자가 이동되며 동시에  $O_2$ 와 수소이온이 발생 한다. (2) 산화·환원 매개체가 전자와 수소이온을 틸라코아이드 막으로부터 음극으로 이동 시킨다. (3) 음극의 전자는 외부 회로를 통해 양극으로 전달되고 수소이온은 양이온 교환 막을 통해 양극부로 이동한다. (4) 양극부에서는 전자 수용체인 Fe(III)가 Fe(II)로 환원되고 물이 생성 된다<sup>6)</sup>.

기존의 *Synechocystis* PCC 6803을 이용한 전기

생산 연구는  $CO_2$ ,  $N_2$  가스 종류 변화<sup>2)</sup>, glucose의 농도 변화에 따른 전기 생성<sup>4)</sup>, gas flow rate 변화<sup>5)</sup>와 같은 외부적 요인 변화를 적용하거나 *Synechocystis* PCC 6803의 광시스템(photosystem) I, II의 유전자<sup>8-9)</sup>가 연구 되어왔으나 본 연구에서는 광합성 기작에 관련된 광시스템을 본 균주로부터 추출하여 음극에 적용 하여 외부적 요인 변화를 제공한 것이 아닌 미생물 유기체, 전자 전달체, 전자 수용체의 최소한 조건만을 사용하여 전기 생산의 변화를 연구 하였다.

## 2. 실험 재료 및 방법

### 2.1 균주 및 배양방법

한국기초과학기술연구원에서 분양 받은 광합성 세균인 남조류 *Synechocystis* PCC 6803을 사용하였다.

배양에 사용된 기본 배지는 BG-11((/L)  $NaNO_3$  1.5 g,  $K_2HPO_4$  15.26 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  30 g,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  18 g, Citric acid 6 g, ferric ammonium citriate 6 g,  $Na_2CO_3$  20 g,  $H_3BO_3$  2.86 g,  $MnCl_2$  1.81 g,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  0.222 g,  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  0.39 g,  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  0.079 g,  $Co(NO_3)_2$  0.494 g이고 10 mM 포도당을 탄소원으로 첨가하였다. 고체 배양은 앞에 언급한 배지에 1.5 % agar(bacto<sup>TM</sup> agar, Difco)를 첨가하여 평판 배지를 만든 후 접종하였다. 액체 배양은 100 ml 배지에 초기 균체농도가 730 nm에서 흡광도 0.5~0.6 되게 한 후 100 rpm으로 28 °C에서 진탕배양하였다. 광원으로는 형광등 600~700 lux를 조사하였다.

### 2.2 클로로필 측정

*Synechocystis* PCC 6803 배양액 1.5 ml을 10 분 동안 13,000 rpm에서 원심분리 (eppendorf. centrifuge 5415D)한 후 남은 균체에 95 % 알코올 1.5 ml 을 넣고 1 분간 13,000 rpm에서 원심분리하였다. 클로로필 양은 상등액을 UV-VIS

spectrophotometer (Shimadzu UV-1601)로 파장 649 nm와 665 nm에서 각각 측정하여 퀼로로필 양으로 계산식을 사용하여 환산하였다<sup>7)</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Total chlorophyll } (\mu\text{g/ml}) & \\ = 6.10(A_{665}) + 20.04(A_{649}) & \end{aligned} \quad (1)$$

### 2.3 틸라코이드 막 추출

배양한 *Synechocystis* PCC 6803을 4,000 rpm에서 20분간 원심분리 (Supra 22K, Hanil Co., Korea)한 후 1 mM aminocaproic acid가 포함되어 있는 25 mM Tris/HCl buffer(pH 7.5)에 혼탁하였다. 세포막에 있는 틸라코이드 막을 추출하기 위해서 균체 양과 glass beads 양은 농밀하게 BEAD BEATER(Bio Products P.O. Box 772)에 첨가 후 glass beads(0.1mm in diameter)를 넣고 4 °C에서 2 분간 세포를 파쇄하였다. 5,300 rpm에서 1 분간 원심분리를 하여 glass beads 및 파쇄되지 않은 균체는 모아서 다시 위 과정을 3번 반복 했다. 상동액을 다시 13,600 rpm에서 10 분간 원심분리를 한 후에 상동액을 실험에 적용 했다<sup>8)</sup>. 실험에 사용된 모든 시약은 sigma - aldrich에서 구입했다.

### 2.4 SDS-PAGE

50% acrylamide stock solution, 1.5M Tris/HCl buffer(pH 8.8), 10% ammonium persulfate, TEMED를 이용하여 50% acrylamide 분리 젤을 제조하였다. 1 시간 이상 분리 젤을 굳힌 후 그 위에 준비 젤을 만들었다. 준비 젤은 분리 젤과 동일하나 acrylamide 함량이 적고, 0.5M Tris/HCl buffer(pH6.8)를 사용하였다. 젤이 굳으면 4 °C에서 2 시간 이상 둔 후에 0.5M Tris/HCl buffer(pH6.8), 글리세롤, 10% SDS(w/v), 0.5% Bromophenol blue를 섞어 sample buffer를 만들고 β-mercaptoethanol을 첨가하였다. sample buffer와 틸라코이드 막 추출액을 섞어서 100 °C에서 3

분 끓인 후 젤에 주입 하였다. 준비 젤은 10분 동안 36 mA에서 분리 젤은 70분 동안 40 mA에서 power supply(power pac 1000, bio-rad)로 양극과 음극을 젤 고정판에 연결한 후 단백질을 분리하였다. 이후 단백질 확인을 위한 염색 시약은 Coomassie Brilliant Blue R-250 Staining solution (bio-rad, #161-0436)을 이용하였다.

### 2.5 Photosynthetic Bio-Electrochemical Fuel Cell (PBEFC) 시스템 구성 및 운전 조건

PBEFC 시스템은 아크릴 반응기로 제작되었으며 반응기는 두께가 각기 다른 외부 아크릴판 2개와 내부 아크릴판 4개로 이루어져 있다. 음극(anode)의 외부 아크릴판은 6.5×8×0.5 (가로×세로, 두께, cm)이고 양극(cathode)의 외부 아크릴판은 6.5×8×1 (가로×세로, 두께, cm)이다. 그 사이에 4개의 5×6×1 (가로×세로, 두께, cm) 내부 아크릴판을 넣었다.

내부 아크릴판은 직경 0.5 cm로 윗부분만 구멍이 뚫려 있으며 이곳에 septum (injection rubber plug, Shimadzu)을 끼워 가스라인과 전극을 고정하였다. 각각 따로 되어 있는 아크릴 판과 양이온 교환 막 사이에는 viton gasket을 끼우고 외부 아크릴의 모서리에 너트와 볼트를 끼워 고정하였다.

전극은 carbon paper(TGPH-090, E-Tek, USA)를 이용하였고 전극 크기는 2.5×2.3 (가로×세로, cm)로 하였다. 양극부와 음극부 사이에 수소 이온 전달을 할 수 있게 하는 양이온 교환 막(PEM)으로 Nafion 117(DuPont Co., USA)을 사용하였다. 실험 전 전극과 nafion 모두 전처리를 하였다. 반응기에 조립하지 않은 전극만의 전압 값은 0.5~0.6 mV이었다. 실험에 사용된 저항 값은 1 kΩ이다.

시스템 운전 시 시료가 음극부와 양극부에 각각 들어간 양은 총 15 ml이다. 할로겐 등(50w, philips)을 사용하여 48 Klux를 음극부에 비춰주었고 반응기내 내부 순환은 magnetic bar를 이용하였다. 한편 양극부는 불투명 테입을 부착하여 빛 차단을 하고 magnetic bar를 넣지 않았다.

운전 시에 음극부는 50 mM tricine, 50 mM NaCl, 4 mM MgCl<sub>2</sub>를 모두 넣은 50 mM tricine buffer(pH 8.0)과 300 μM phenazine methosulfate(PMS) 그리고 틸라코이드 막 또는 *Synechocystis* PCC 6803을 넣었다. 양극부는 20 mM potassium ferricyanide를 넣었다<sup>5)</sup>. 양극과 음극 모두 알곤 가스를 flow rate 20~25 ml/min로 유지 하였다. 음극에 들어간 whole cell과 틸라코이드 막 추출액은 완충액이 반응기에 들어가 있는 상태에서 주입 하였다. 이후, 소포제 실험에서는 tween 80과 triton X-100을 사용하였고 50mM tricine buffer(pH 8.0)에 1% (v/v)가 되도록 넣어 사용하였다<sup>10)</sup>.

### 3. 실험결과 및 고찰

#### 3.1 배양중의 흡광도, 클로로필 양 변화

*Synechocystis* PCC 6803은 10 mM 포도당이 탄소원으로 첨가된 BG-11 합성배지에서 형광등을 이용한 600~700 lux 광도의 광합성 조건에서 균체가 성장 하였다. 2.5 ml 채취하여 균체 양과 클로로필 양을 24 시간마다 약 10 일간 측정하였다. 균체 양은 파장 730 nm에서 클로로필 양은 파장 649 nm와 665 nm에서 각각 측정 하여 (1)의 계산식에 의해 양을 계산하였다.

Fig. 1은 균체 양과 클로로필 양을 나타낸 그래프이다. *Synechocystis* PCC 6803은 본 실험 조건에서 유도기를 관찰할 수 없었다. 반면 대수성장기는 배양 7일 까지 지속 되었으며, 8일 부터는 지속 기의 후기이며, 이후 사멸기가 진행 되었다. 클로로필 양은 1일과 2일 사이 약 2배 증가 하였고 2일과 3일 사이 약 1.4배 증가 하면서 3일째까지 많은 증가를 하였으나 3일 이후 5일까지 0.74 μg/ml 만 증가 하고 5일 이후 양이 감소하였다. 본 논문에서는 세포가 가장 활발하게 증가된 4일과 5일의 세포를 이용하여 PBEFC 실험한 결과 이 시기가 클로로필 양도 가장 많았다.

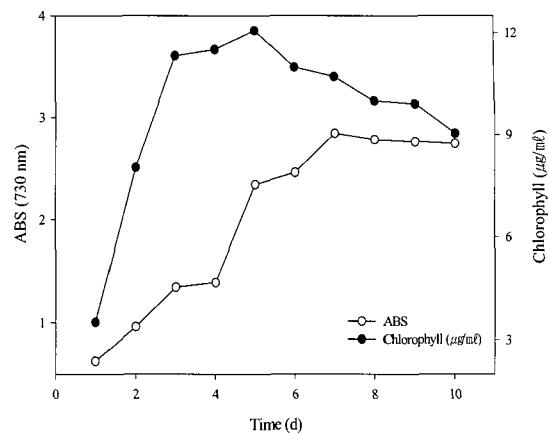


Fig. 1 Growth of *Synechocystis* PCC 6803 and Chlorophyll contents during photoincubation under illumination of 600~700 lux fluorescence lamp at 28°C

#### 3.2 틸라코이드 막 단백질

식물 및 남조류에 내재 되어 있는 광합성기구에 관련한 단백질은 크게 6개로 알려져 있다. 즉 reaction center protein(D1, D2), chlorophyll protein( CP47, CP43), water splitting protein 과 cytochrome b<sub>559</sub> 이다. 각 단백질의 크기는 D1(31 KDa), D2(32 KDa), CP47(47 KDa), CP43(43 KDa), water splitting protein과 cytochrome b<sub>559</sub> 는 13 KDa 으로 Ritter 등이 보고 하였다<sup>11)</sup>.

본 실험에서 사용된 *Synechocystis* PCC 6803에서 추출한 틸라코이드 막의 광합성 기구 관련 단백질은 Fig. 2에서와 같이 나타냈다.

Lane 1은 molecular weight standard (22~97.4 KDa, bio-rad, #161-0304 )이고 lane 2가 *Synechocystis* PCC 6803에서 추출된 틸라코이드 막으로 Ritter 등<sup>11)</sup>이 확인한 *Synechocystis* PCC 6803 으로부터 분리된 단백질 6개가 모두 포함되어 있는 것으로 확인되었다. 22 KDa 이하의 여러 단백질이 모여 있는 부분은 water splitting protein과 cytochrome b<sub>559</sub>으로 추측되고, 분자량 15 KDa~18 KDa은 광 수확 복합체인 피코빌리좀(phycobilisome)으로 여겨진다<sup>11)</sup>.

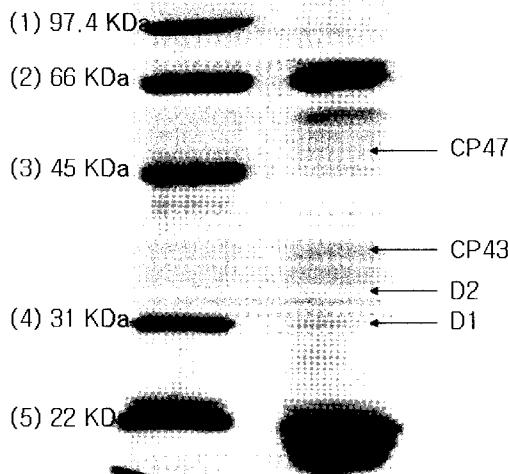


Fig. 2 SDS-PAGE protein of thylakoid membranes extract from *Synechocystis* PCC 6803 current output

### 3.3 틸라코이드 막 PBEFC 적용

추출된 틸라코이드 막을 확인하여 PBEFC 시스템에 적용을 시켰다. 양극부는 potassium ferricyanide로 고정하였고 이와 반대로 음극부는 각 시료들의 역할과 틸라코이드 막의 효과를 보기 위해 음극부에 물, tricine buffer(pH 8.0), 산화환원 매개체 역할인 PMS<sup>5)</sup>, 최종적으로 틸라코이드 막을 넣어 전기 생산 변화를 측정하였다(Fig. 3).

본 시스템에서 물과 tricine buffer(pH 8.0)의 각 전압(open circuit voltage, OCV)값은 334 mV, 388 mV 인 반면 저항 1 kΩ를 연결하면 전류밀도가  $4.4 \times 10^{-5}$  mA/cm<sup>2</sup>,  $1.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup> 으로 감소했다. 또한 같은 시스템에서 PMS는  $2.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup>로 거의 전류가 흐르지 않았다. 반면, *Synechocystis* PCC 6803 배양액 10 ml로부터 추출된 틸라코이드 막을 첨가하면 전류가 약 9배 증가 하였다.

Tricine buffer(pH 8.0)가 중류수 보다 전류가 더 높게 측정된 이유는 buffer가 전해질의 역할을 하였기 때문이라 생각 한다. 그리고 PMS를 음극부에 첨가 하였을 때 생성된 전류가 tricine buffer(pH 8.0)를 적용할 때보다 높은 전류를 생성하였는데 이와 같은 현상은 PMS가 산화·환원 매개체 역할을 했던 것으로 사료된다. 틸라코이드 막을 넣

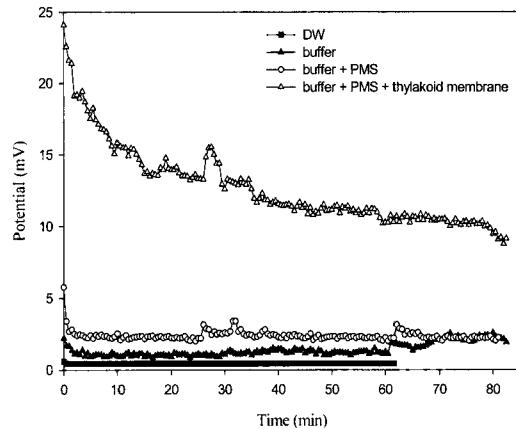


Fig. 3 Effect of buffer, mediator and chlorophyll of PBEFC system

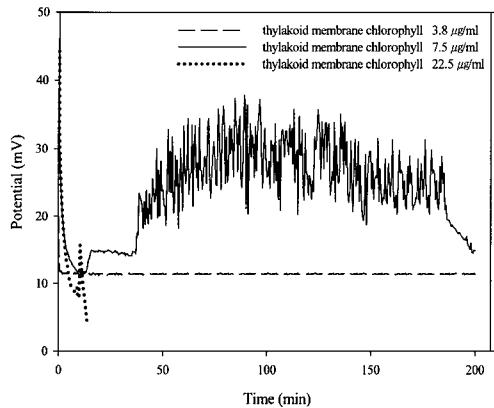
었을 때 높은 전류가 생성 된 것으로 보아 광합성 기구의 손상 없이 추출이 된 것으로 여겨진다.

### 3.4 틸라코이드 막 양의 변화와 소포제[antifoamer]의 PBEFC 적용

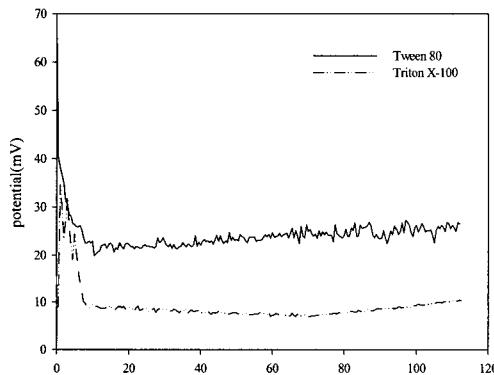
PBEFC 시스템의 구성요소 역할을 Fig. 3에서 확인 하였고 틸라코이드 막을 시스템에 적용 시킬 때 시스템에 주입한 양에 비례한 전류의 생성 확인을 위해 시료의 양을 달리하여 실험을 수행 하였다. Fig. 4(a)는 틸라코이드 막 양에 따른 전기 생산 차이를 나타낸 그래프이다.

*Synechocystis* PCC 6803 배양액 10 ml로 부터 추출된 클로로필 양  $3.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 틸라코이드 막을 시스템에 적용 하였을 때 전류밀도는  $1.1 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup> 이었다. 틸라코이드 막 첨가량을 약 2배 증가 시켜  $7.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 클로로필을 시스템에 적용 하였을 때 전류 밀도가  $2.6 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>로 증가 하였다. 틸라코이드 막 첨가량을 약 6배 증가시켜 시스템에 주입하였으나 과도한 거품발생으로 시스템이 불안정하여 실험 지속이 불가능 하였다.

거품방지 및 실험의 지속을 위해 소포제를 첨가 하였다. 소포제는 tween 80과 triton X-100의 두 종류를 사용하였고, 실험 결과는 Fig. 4(b)에 나타내었다. 소포제를 첨가하여 거품방지 및 안정적인



(a)



(b)

Fig. 4 Comparison of current output in the PBEFC using thylakoid membrane extracts from *Synechocystis* PCC 6803 (a) and effects of antiformers on the system stabilization with the load ( $1 \text{ K}\Omega$ ) under illumination of 48 Klux (b)

전기를 생산할 수 있었지만 이때 전류밀도는 각각  $8.4 \times 10^{-4} \text{ mA/cm}^2$  및  $2.3 \times 10^{-3} \text{ mA/cm}^2$  으로 감소 또는 증가 하지 않았다. Fig. 4의 결과로 보아 틸라코이드 막 양의 증가에 비례하여 많은 전류가 생성 되는 것은 아닌 것으로 사료된다.

### 3.5 균체의 PBEFC 적용

틸라코이드 막 양을 증가하여 시스템에 적용 시

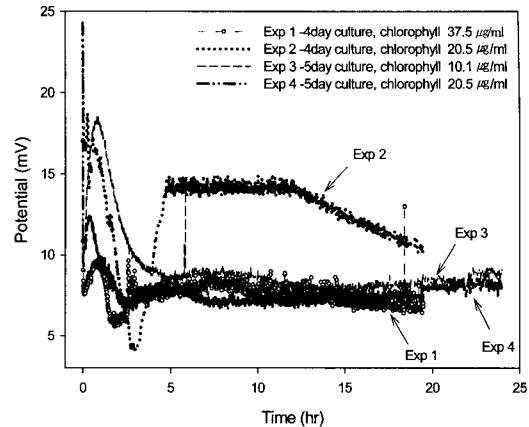


Fig. 5 Effect of *Synechocystis* PCC 6803 cell growth and chlorophyll concentration on current output of PBEFC with the load ( $1 \text{ K}\Omega$ ) under illumination of 48 Klux

킨 경우 거품발생의 어려움이 있었다. 이러한 문제 점의 해결방안으로 틸라코이드 막에 비해 구조적으로 안정적인 whole cell을 시스템에 적용 시켰다. 저항  $1 \text{ k}\Omega$ 을 연결하지 않은 상태에서 가장 높은 전압(open circuit voltage, OCV)값은 578 mV 이었지만 mV가 일정하게 유지 되지는 않았다(data not shown). 그 이유는 whole cell의 광합성을 통해 물 분해로부터 생성되는 산소와 그로인한 potassium ferricyanide의 산화에 의한 시스템내의 환경 변화에 의한 것으로 사료된다.

*Synechocystis* PCC 6803 whole cell의 시스템 적용 실험은 배양일과 클로로필 농도를 다르게 하였다. 시스템에 적용된 세포는 가장 활발한 균체 성장을 보인 배양 4일과 5일의 배양액을 적용 하였다. 클로로필 양은 10.1, 20.5, 37.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 조절하였다. Fig. 5는 미생물 균체의 배양일과 클로로필 농도에 따른 전류 생성 양의 변화를 나타낸 것이다. 클로로필 양과 배양 일을 달리하여 실험 한 결과 exp 1~exp 4의 전류 밀도는 각각  $7.5 \times 10^{-4} \text{ mA/cm}^2$ ,  $1.3 \times 10^{-3} \text{ mA/cm}^2$ ,  $8.4 \times 10^{-4} \text{ mA/cm}^2$ ,  $7.5 \times 10^{-4} \text{ mA/cm}^2$  이었다. 이중 exp 2가 가장 높은 전류 생성을 보였다.

*Synechocystis* PCC 6803으로 부터 추출된 틸라

코이드 막에 비해 whole cell이 구조적인 안정성을 갖고 있기 때문에 클로로필 양에 비례하여 전류 생성이 증가할 것으로 예상 하였다. 클로로필 양 증가에 따른 거품생성의 문제는 없었으나 클로로필 양에 비례하여 전류가 생성되지는 않았다. Exp 1의 경우 세포농도가 너무 높아 빛 투과도가 낮아 졌고 반응기 내부에 magnetic bar를 넣었으나 내부순환이 되지 않아 전류가 낮게 생성된 것이라 생각된다.

*Synechocystis* PCC 6803의 균체 양은 4일에서 5일 사이에 급격한 증가를 보인다는 것을 확인하였다(Fig. 1). 그래서 클로로필 양은 같고 배양 일만 4일과 5일로 각각 다르게 하여 시스템에 적용 시켰다. 그 결과 exp 2는  $1.3 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>, exp 4는  $7.5 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup>의 전류가 생성 되었다. PBEFC 시스템의 whole cell을 이용한 전류 생성의 최적 조건은 4일 배양, 20.5 µg/ml이며 클로로필 양, 배양 일 모두 전류 생성에 영향을 미친다는 사실도 확인하였다.

본 논문에서는 *Synechocystis* PCC 6803과 이 균주에서 추출한 틸라코이드 막을 이용하여 광조건 (48 Klux)에서 광합성미생물연료전지(photosynthetic bio-electrochemical fuel cell, PBEFC)로부터 물분해 전기를 생산하였다. 향후 *Synechocystis* PCC 6803을 이용하여 빛 유무에 따른 전기 생산의 차이를 확인하고 추출된 틸라코이드 막에 있는 광시스템(photosystem) I, II를 각각 분리하여 실험에 적용 할 것이다. 마지막으로 음극(anode)이 아닌 양극(cathode)을 달리 하여 hydrogenase를 이용해 수소생산 여부도 확인할 것이다.

#### 4. 결 론

- 균체의 대수성장기는 배양 7일까지 지속 되었다. 8일 부터는 사멸기가 진행 되었다. 클로로필 양은 3일째까지 증가 하는 양상을 보였으나 5일 이후 양이 감소하였다.
- 틸라코이드 막 역할 확인 실험에서 물, tricine

buffer(pH 8.0), PMS는 각각  $4.4 \times 10^{-5}$  mA/cm<sup>2</sup>,  $1.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup>,  $2.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup>로 거의 전류가 흐르지 않았으나 배양액 10 ml로부터 추출된 클로로필 양 3.8 µg/ml인 틸라코이드 막을 첨가하면 전류가 약 9배가 증가 하여  $1.3 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>의 전류를 생성 하였다.

- 클로로필 양 3.8 µg/ml인 틸라코이드 막을 시스템에 적용 하였을 때  $1.1 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>의 전류가 생성이 되었고 초기양의 약 2배 틸라코이드 막을 넣으면  $2.6 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>의 전류가 생성되었다.
- 약 6배의 틸라코이드 막을 시스템에 적용하면 많은 양의 거품이 생성되었다. 이때 소포제를 사용 하면 거품을 방지하고 안정적인 전기를 생산 할 수 있었다. 사용된 두 종류의 소포제는 triton X-100과 tween 80이며 각각  $8.4 \times 10^{-4}$  mA/cm<sup>2</sup>과  $2.3 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>의 전류를 생성하였다. 그러나 소포제를 첨가하지 않았을 때 보다 전류의 양이 감소하였다.
- Whole cell을 이용 한 실험은 클로로필 양과 배양일 모두 전류 생성에 영향을 준다는 사실을 확인하였다. 실험 결과  $1.3 \times 10^{-3}$  mA/cm<sup>2</sup>의 전류 생성을 보인 클로로필 양 20.5 µg/ml, 배양 4일이 가장 높은 전류가 생성 되었다.

#### 후 기

이 연구(논문)는 교육과학기술부의 지원으로 수행하는 21세기 프론티어 연구 개발 사업(수소에너지사업단)의 일환으로 수행되었습니다.

#### 참 고 문 현

- S. Tsujimura, A. Wadano, K. Kano, T. Ikeda, "Photosynthetic BioelectroChemical Cell Utilizing Cyanobacteria and Water-Generating Oxidase", Enzyme and microbial Technology, Vol. 29, 2001, pp. 225-231.
- T. Yagishita, Takashi, Horigome, K. Tanaka, "Effects of Light, CO<sub>2</sub> and Inhibitors on the

- Current output of Biofuel Cells Containing the Photosynthetic Organism *Synechocystis* SP", J. Chem. Tech. Biotechnol, Vol. 56, 1993, pp. 393-399.
- 3) T. Yagishita, S. Sawayama, K. Tsukahara and T. Ogi, "Photosynthetic Bio-Fuel Cells Using Cyanobacteria", Renewable Energy, Vol. 9, 1996, pp. 958-961.
- 4) T. Yagishita, S. Sawayama, K. Tsukahara, and T. Ogi, "Effects of Glucose Addition and Light on Current Outputs in Photosynthetic Electrochemical Cells Using *Synechocystis* sp. PCC 6714", Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 88, No. 2, 1999, pp. 210-214.
- 5) K. Bang Lam, Eric A. Johnson, Mu Chiao, and Liwei Lin, "A MEMS Photosynthetic Electrochemical Cell Powered by Subcellular Plant Photosystems", Journal of microelectromechanical systems, Vol. 15, No. 5, 2006, pp. 1243-1250.
- 6) Mu Chiao, Kien B Lam and Liwei Lin, "Micromachined Microbial and Photosynthetic Fuel Cells", J. Micromech. Microeng, Vol. 16, 2006, pp. 2547-2553.
- 7) Elizabeth H. Harris, "The *Chlamydomonas* Sourcebook", Academic Press Inc., p. 608.
- 8) J. Komenda, L. Lupinkova, and J. Kopecky, "Absence of the *psbF* Gene Product Destabilizes Photosystem II Complex and Bicarbonate Binding on its Acceptor Side in *Synechocystis* PCC 6803", Eur. J. Biochem. Vol. 269, 2002, pp. 610-619.
- 9) K. Promnaraes, J. Komenda, L. Bumba, J. Nebesarova, Frantisek Vacha, and Martin Tichy, "Cyanobacterial Small Chlorophyll-binding Protein ScpD (HliB) is Located on the Periphery of Photosystem II in the Vicinity of *PsbH* and CP47 Subunits", Journal of Biological Chemistry, Vol. 281, No. 43, 2006, pp. 32705-32713.
- 10) Z. Nemeth, G. Racz, and K. Koczo, "Foam Control by Silicone Polyethers-Mechanisms of 'Cloud Point Antifoaming'", Journal Of Colloid And Interface Science, Vol. 207, 1998, pp. 386-394.
- 11) S. Ritter, J. Komenda, E. Setlikova, I. Setlik and W. Welte, "Immobilized Metal Affinity Chromatography for the Separation of Photosystems I and II From the Thermophilic Cyanobacterium *Synechococcus elongatus*", Journal of Chromatography, Vol. 625, 1992, pp. 21-31.
- 12) R. Bhardwaj, R. L. Pan and E. L. Gross, "Solar Energy Conversion by Chloroplast Photoelectrochemical Cells", Nature, Vol. 289, 1981, pp. 396-398.
- 13) 최은혜, 오유관, 김미선, "홍색 유황세균 *Thiocapsa reseopersicina*가 생산하는 수소생산 효소의 정제 : Ammonium sulfate 침전 및 열처리의 효과", 한국수소 및 신에너지학회 논문집, Vol. 17, No. 2, 2006, pp. 371-378.