

## 다양한 배양조건에 따른 *Rhodobacter sphaeroides* KD131의 광발효 수소생산

손한나<sup>\*,\*\*</sup>, 김동훈<sup>\*</sup>, 이원태<sup>\*\*\*</sup>, 이영하<sup>\*\*†</sup>, 김미선<sup>\*†</sup>

\*한국에너지기술연구원 폐자원연구센터, \*\*충남대학교 분자미생물학 및 생명공학과,

\*\*\*한국건설기술연구원 건설환경연구실

## Photo-Fermentative Hydrogen Production by *Rhodobacter Sphaeroides* KD131 under Various Culture Conditions

HANNA SON<sup>\*,\*\*</sup>, DONGHOON KIM<sup>\*</sup>, WONTAE LEE<sup>\*\*\*</sup>, YOUNGHA RHEE<sup>\*\*†</sup>, MISUN KIM<sup>\*†</sup>

\*Wastes Energy Research Center, Korea Institute of Energy Research,  
102 Gajeong-ro Yuseong-gu Daejeon 305-343, Korea

\*\*Department of Microbiology and Molecular Biology, Chungnam National University,  
Daejeon 305-764, Korea

\*\*\*Construction and Environment Research Division, Korea Institute of Construction Technology,  
283 Goyangdaero, Ilsanseo-Gu, Goyang, Kyonggi 411-712, Korea

### ABSTRACT

Purple non-sulfur (PNS) bacterium *Rhodobacter sphaeroides* KD131 was studied with the aim of achieving maximum hydrogen production using various carbon and nitrogen sources at different pH conditions. Cells grew well and produced hydrogen using (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or glutamate as a nitrogen source in combination with a carbon substrate, succinate or malate. During 48h of photo-heterotrophic fermentation under 110W/m<sup>2</sup> illumination using a halogen lamp at 30°C, 67% of 30mM succinate added was degraded and the hydrogen yield was estimated as 3.29mol H<sub>2</sub>/mol-succinate. However, less than 30% of formate was consumed and hydrogen was not produced due to a lack of genes coding for the formate-hydrogen lyase complex of strain KD131. Initial cell concentrations of more than 0.6g dry cell weight/L-culture broth were not favorable for hydrogen evolution by cell aggregation, thus leading to substrate and light unavailability. In a modified Sistrom's medium containing 30mM succinate with a carbon to nitrogen ratio of 12.85 (w/w), glutamate produced 1.40-fold more hydrogen compared to ammonium sulfate during the first 48h. However, ammonium sulfate was 1.78-fold more effective for extended cultivation of 96h. An initial pH range from 6.0 to 9.0 influenced cell growth and hydrogen production, and maintenance of pH 7.5 during photo-fermentation led to the increased hydrogen yield.

**KEY WORDS** : Biohydrogen(생물학적 수소), *Rhodobacter sphaeroides* KD131, Photo-fermentation(광발효), PNS bacteria(홍색 비유황 세균)

<sup>†</sup>Corresponding author : yhrhee@cnu.ac.kr,  
bmmskim@kier.re.kr

[ 접수일 : 2011.5.31 수정일 : 2011.7.29 게재확정일 : 2011.8.1 ]

## 1. 서 론

화학공업의 원료 물질과 에너지원의 대부분을 화석 연료에 의존하는 현대 산업 구조는 지구온난화와 에너지 위기를 불러왔다. 이에 따라 대체에너지원에 대한 연구가 1970년대 이후부터 본격적으로 진행되기 시작하였으며, 특히 수소는 가장 각광받고 있는 에너지원 중의 하나이다. 현재까지 상용화된 수소제조 기술은 석유나 천연가스 수증기 개질 반응에 의하여 제조되거나, 원유 정제공정 및 제철소 부산가스로부터 주로 얻어지고 있다. 그러나 화석연료의 부존성 및 편재성에 의한 국가간의 긴장과 지구 환경 오염 등의 심각한 문제 때문에 장차 궁극적인 수소제조 기술은 태양광, 수력, 풍력, 미생물과 같은 청정기술을 이용하여 물이나 폐자원을 활용하는 환경 친화적인 기술로 수소를 제조해야 할 것으로 전망되고 있다.

태양광과 미생물을 이용하여 수소를 생산할 수 있는 기술은 화석연료를 이용한 수소생산 기술의 단점을 보완할 수 있는 것으로서 수소생산 기작은 기질의 종류 및 미생물 고유의 효소계, 광원의 유무에 의해 달라진다. 수소를 생산하는 미생물에는 광합성 세균, 조류, 혐기성세균, 고세균 등으로 구분되며 이 연구에서 주목하는 미생물은 광합성세균이다<sup>1)</sup>. 광합성 세균은 다시 홍색 비유황세균(purple non-sulfur bacteria), 홍색유황세균(purple sulfur bacteria), 녹색유황세균(green sulfur bacteria)로 나뉘지며, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, *Rhodospirillum*<sup>2,3)</sup>과 같은 광중속(photo-heterotrophic) 세균은 혐기적 환경에서 발효를 수행한다. 현재 실험기물을 포함하는 다양한 기질을 이용하여 *R. sphaeroides* O.U.001<sup>4)</sup>, *R. sphaeroides* RV<sup>5)</sup>, *R. sphaeroides* ZX-5, *R. sphaeroides* NRLLB-1727, *R. sphaeroides* SCJ, *R. sphaeroides* SH2C, *R. sphaeroides* DSZM-158 등의 수소생산 연구가 활발히 진행되고 있으며, 본 실험에서 이용된 균주는 *R. sphaeroides* KD131이다.

수소생산은 다양한 운전 인자 및 기질 조건에 의해 영향을 받는다고 보고되고 있으며<sup>6)</sup>, 기존 연구에서 탄소원의 종류와 농도별로 수소생산을 최적

화 하였으며, 이를 참고로 본 연구에서는 초기 균체 농도, 탄소원, 질소원, 기질 농도, 초기 pH 및 운전 pH 조절이 *R. sphaeroides* KD131의 수소생산에 미치는 영향에 대하여 연구했다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 균주 및 배양

광합성 균주인 *R. sphaeroides* KD131은 대부분 해안에서 분리되었다<sup>7)</sup>. 배지는 4mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.3mM L-aspartic acid, 30mM succinic acid (pH 7)가 함유된 modified Sistrom's media<sup>8)</sup>를 이용하였다. 150mL serum bottle에 50~70mL의 배양액을 넣어주고 균을 접종 시킨 후, 고무마개와 알루미늄 캡을 씌워 Ar 가스로 치환하였다. 할로젠 램프를 이용해 110W/m<sup>2</sup>세기의 빛을 주면서 30°C에서 24시간 동안 배양했으며, magnetic stirrer를 이용하여 80~100rpm으로 교반해주었다. 빛의 이용 효율을 높이기 위하여 배양기 후면에 거울을 배치하였고, 바닥에는 알루미늄 판을 설치하였다. 상부에는 팬을 달아 램프와 stirrer에서 발생되어 배양기에 전달되는 열을 최소화하였다.

### 2.2 실험 조건 및 분석 방법

균체 농도 실험에서 초기 균체의 농도는 660nm 파장에서의 흡광도 0.1, 0.5, 1.0, 2.0(각각 0.04, 0.27, 0.56, 1.14g dcw/L)에 해당하는 값으로 조정하였고, 30mM malate와 8mM glutamate가 함유된 배지를 사용했다. 초기 pH의 영향 실험에서는 같은 조성의 배지를 이용하였으며 각각 초기 pH를 6, 7, 8, 9로 맞춰준 후 수소생산과 균체 성장을 관찰하였다. 다양한 탄소원의 영향 실험에서는 malate(4탄당), succinate(4탄당), formate(1탄당)를 사용하였고, 질소원으로는 8mM glutamate를 사용하였다. 기존의 연구결과를 바탕으로 초기 균체 농도는 0.56g dcw/L, 초기 pH는 7로 각각 조정하였다. Malate와 succinate는 30, 60mM, formate는 30, 60, 120, 240mM의 농도로 넣어주

었다. 다양한 질소원 실험에서 각각  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 초기 농도를 2, 4, 8, 16, 32mM로, glutamate는 4, 8, 16, 32, 64mM로 하였으며, 탄소원으로는 30mM succinate를 사용했다. pH 조절에 따른 수소생산과 균체 성장 실험에서는 30mM succinate, 8mM glutamate의 modified Siström's media를 사용했다. pH는 6~9 사이에서 0.5단위로 맞춰 주었고 2M HCl 또는 NaOH를 사용하여 각각의 pH 값을 조정해주었다.

pH는 pH meter(TOA, HM-30R)로 실온에서 측정하였고, 균체의 농도는 UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1601)로 파장 660nm에서 흡광도를 측정하였다. 암모니아 이온의 농도는 HS-NH<sub>3</sub>(N)-L와 HS-NH<sub>3</sub>(N)-H(Humas Co.)를 사용하여 측정했다. 유기산 분석은 0.01M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이동상으로 하여 flow rate 0.6ml/min으로 용출하였으며, Aminex HPX-B7H를 장착한 HPLC(Shimadzu LC-10AT)를 사용하여 30℃에서 UV detector를 이용해 파장 210nm에서 측정하였다. 수소함량은 gas chromatography(Shimadzu 14-B)로 분석하였다. Molecular sieve 5A(Supelco Inc.)를 충전물질로 사용하였고, thermal conductivity detector(TCD)로 분석하였다. 수소가스 정량을 위한 GC조건은 column 온도 80℃, injector 온도 100℃, detector 온도 120℃이다. Carrier gas는 아르곤으로 flow rate 60ml/min을 유지하였다.

### 3. 결론

#### 3.1 초기 균체 농도의 영향

초기 균체 농도 0.04, 0.27, 0.56, 1.14g dcw/L로 실험했을 때, 시간에 따른 수소생산량을 Table 1에 나타냈다. 초기 0.56, 1.14g dcw/L 일 경우, 배양 후 2~2.5시간에 수소가 생산되기 시작되는 반면, 초기 균체 농도가 낮을 때에는 수소생산이 배양 후 7시간까지 지연됐다. 광합성 배양 33~48시간 내에 수소 생산량은 최대에 이르렀다. 결과적으로 초기 균체 농도 0.56g dcw/L 까지는 초기

Table 1 Effect of initial cell concentrations of *R. sphaeroides* KD131 on photo-fermentative hydrogen production

Initial cell conc. (g dcw/L)	Accumulated H <sub>2</sub> (mL/L-medium)		
	24h	48h	96h
0.04	329	339	340
0.27	557	632	640
0.56	1,040	1,188	1,222
1.14	1,024	1,160	1,150

균체 농도가 증가할수록 누적 수소 생산량은 비례하며 증가하였지만, 1.14g dcw/L 와 0.56g dcw/L 의 수소생산량은 차이가 거의 없었다. 그 이유는 초기 균체농도를 1.14g dcw/L 이상으로 증가시켰을 때, 균체 뭉침 현상이 일어나 균 스스로 그림자를 만들어 광저해(photo-inhibition)가 나타나고, 이에 따라 빛과 기질의 이용성을 저하시켜 수소 생산을 감소시키기 때문이다. 이로 인해 균체의 높은 농도는 오히려 수소생산에 적절하지 못하며, 초기 균체 농도는 0.56g dcw/L 일 때 수소생산에 효율적이었다. 이와 비슷한 결과는 기존에 보고된바 있으며<sup>45)</sup>, 이후의 실험에서는 초기 균체 농도를 0.56g dcw/L로 조정하여 실험을 진행하였다.

#### 3.2 초기 pH의 영향

초기 pH가 수소생산과 균체 성장에 미치는 영향을 알아보기 위해 초기 pH를 6, 7, 8, 9로 조정하여 실험하였다. 초기 pH 7조건에서 120시간 동안 1,044mL H<sub>2</sub>/L-broth로 가장 높은 수소 발생량을 보였으며, 이 결과를 Fig. 1에 나타냈다. 수소생산량은 초기 pH 7>6>8>9 순으로 높았고, 초기 pH 7일 경우 다른 pH와 비교하여 2~3배 높은 수소 생산량을 보였다. 배양액의 알칼리화 현상은 수소생산 조건에 적합하지 않으며 배양액 pH가 8 이상으로 높아지면 nitrogenase 생산성이 저해되고, uptake hydrogenase는 활성화되기 때문에, 알칼리 조건은 수소생산을 저해할 수 있다고 보고되고 있다<sup>9)</sup>.

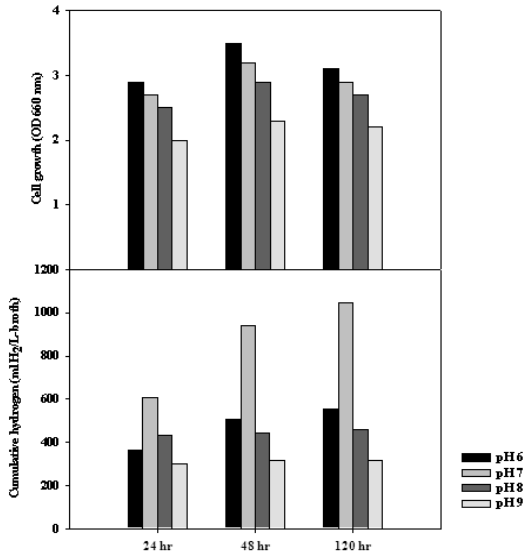


Fig. 1 Effect of initial pH on cell growth and hydrogen production

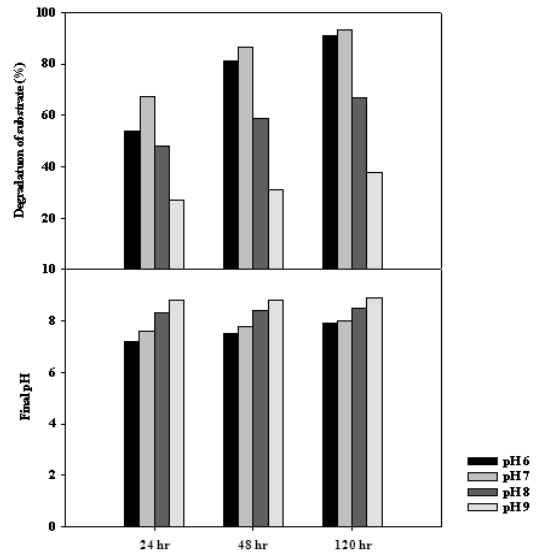


Fig. 2 Effect of initial pH on degradation of substrate and final pH

본 실험 결과는 Sasikala의 연구결과와 일치하지만<sup>4)</sup>, Zabut의 *R. sphaeroides* ZX-5의 연구결과, 초기 pH 6~9 까지 범위에서 수소생산량은 크게 차이하지 않는다는 보고도 있다<sup>10)</sup>.

균체농도는 배양 48시간 후에 가장 높은 값을 보였으며, pH 6>7>8>9 순으로 높았고, pH 6일 때 1.68g dcw/L로 가장 높은 값을 나타냈다. Fig. 2에 기질분해율과 final pH를 나타냈으며, 배양 120시간 후, 초기 pH 6~7일 때 90%이상의 malate가 분해되었는데 반해 초기 pH 9는 1/3의 분해율을 보였다.

### 3.3 탄소원, 질소원, pH조절 영향

*R. sphaeroides* KD131을 acetate, glycerol, lactate,

starch, sucrose, malate의 비교실험을 기존에 연구하여 보고하였으며, 이 중 malate가 가장 높은 수소생산효율을 보여주는 결과를 얻었다<sup>11)</sup>.

본 실험에서는 탄소원으로 malate, succinate, formate를 비교하여 Table 2에 나타냈다. Succinate는 PNS bacteria가 수소를 생산할 때 이용하는 탄소원으로 널리 보고되고 있으며, Formate는 혐기발효 후에 생성되어 나오는 기질로, 광발효에 이용될 수 있다고 보고되고 있다<sup>12)</sup>. 하지만 *R. sphaeroides*의 formate 분해에 대해서는 보고된 바가 없다.

배양 48시간 후 malate와 succinate가 포함된 배지에서 formate의 배지에서보다 균체성장이 각각 1.93, 1.55배 높게 나타났다. Formate 배지에서 낮은 균체농도와 기질 분해율을 보였고, pH가

Table 2. Effect of various carbon sources on hydrogen production related parameters after 48h photo-fermentation of *R. sphaeroides* KD131

Substrate	Total H <sub>2</sub> (mL/L-broth)	Final pH	Cell conc. (g dcw/L)	Substrate degradation(%)	H <sub>2</sub> yield mol H <sub>2</sub> /mol-substrate
Malate(30mM)	1,098.60	8.02	2.80	83.20	1.97
Succinate(30mM)	1,482.00	8.15	2.25	67.00	3.29
Formate(120mM)	21.80	8.88	1.45	12.12	-

Table 3. Effect of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(a) and glutamate(b) on photo-fermentative H<sub>2</sub> production by *R. sphaeroides* KD131 in presence of 30 mM succinate

(a) (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc. (mM)	H <sub>2</sub> production(H <sub>2</sub> L/L-broth)				NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N(mg/L)			
	12h	24h	48h	96h	12h	24h	48h	96h
0	0.36	0.53	1.21	2.49	0.0	0.0	0.0	0.0
2	0.04	0.30	1.16	2.39	1.9	0.0	0.0	0.0
4	0.00	0.04	0.80	2.02	10.0	0.0	0.0	0.0
8	0.00	0.00	0.00	0.05	125.0	86.0	53.0	20.0
16	0.00	0.00	0.00	0.00	316.0	296.0	242.0	247.0
32	0.00	0.00	0.00	0.00	776.0	728.0	709.0	716.0

(b) glutamat

glutamate conc. (mM)	H <sub>2</sub> production(H <sub>2</sub> L/L-broth)				NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N(mg/L)			
	12h	24h	48h	96h	12h	24h	48h	96h
0	0.36	0.53	1.21	2.49	0	0	0	0
4	0.70	0.98	1.62	1.95	0.9	2.3	6.7	6.5
8	0.76	1.02	1.16	1.19	1.3	2.4	6.8	10.0
16	0.60	0.67	0.63	0.64	1.6	2.2	6.0	12.0
32	0.03	0.02	0.00	0.00	2.4	4.0	8.2	14.5
64	0.02	0.02	0.00	0.00	3.6	4.1	7.8	14.3

증가하였으며, 수소생산량은 미비하였다.

30mM의 malate 배지에서 균체농도는 광배양 48시간 후, 2.80g dcw/L인 높은 농도로 나타났다. 그러나 높은 균체농도는 빛의 투과율을 떨어뜨리기 때문에 수소를 생성하는데 우호적이지 않은 조건이다. 이에 따라 비교적 낮은 균체농도인 succinate 배지는 수소를 생산하기 유리한 조건이었으며, 배양 48시간 후에 수소생산량은 malate 배지와 비교해 볼 때 succinate 배지에서 1.35배 높았다.

*R. sphaeroides* KD131의 수소생성을 매개하는 효소인 nitrogenase는 질소원이 풍부할 경우 균체의 성장과 질소고정을 수행하는 반면 질소원이 결핍된 경우 양성자를 환원시킴으로서 수소생성을 촉진시킨다<sup>13)</sup>. 질소원의 영향을 알아보기 위하여 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, glutamate가 포함된 배지를 이용했다.

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 초기 농도를 2, 4, 8, 16, 32mM로 설정하여 실험하였고, 광발효 동안 배양액에 남아있는

암모니아 이온의 농도와 수소생산량을 Table 3a에 나타냈다. 초기 농도 0, 2, 4mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서 배양 48시간 후에 각각 1.21, 1.16, 0.81L H<sub>2</sub>/L-broth의 수소가 생산되었다. 또한 초기 농도 8, 16, 32mM의 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서는 수소가 생산되지 않았다. 초기 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 농도가 높을수록 수소생산이 지연되었으며, 암모니아 이온이 제거된 이 후 부터 수소가 생성되었다. 2, 4mM의 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>이 주어졌을 때 각각 16, 24 시간에 수소생산이 생성되기 시작하였으며, 암모니아이온이 균체성장과 다른 대사활성에 모두 사용된 후 수소생산이 시작되기 때문임을 확인할 수 있었다. 결과적으로 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 초기 농도가 낮을수록 누적 수소 생산량이 높았으며, 이러한 질소원과 수소생산과의 상관관계는 다른 *R. sphaeroides*의 균주들에게서도 보고된 바 있다<sup>13)</sup>.

Glutamate를 사용했을 때 초기 농도를 4, 8, 16, 32, 64mM로 설정하여 실험하였고, 배양액에 존재하는 암모니아 이온의 농도와 누적수소생산량을 Table

Table 4 Photo-fermentation profiles of *R. sphaeroides* KD131 using 4mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or 8mM glutamate as the nitrogen source in presence of 30mM succinate

N source	Cell growth (g dcw/L-broth)			Accumulated H <sub>2</sub> production (mL H <sub>2</sub> /L-broth)			NH <sub>4</sub> -N(mg/L)			pH		
	Time(h)	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (4mM)	1.65	1.85	1.88	44	807	1,532	0	0	0	8.9	7.7	7.6
glutamate(8mM)	2.19	2.63	2.61	999	1,135	1,147	2.43	6.84	14.82	7.8	8.5	8.4

3b에 나타냈다. 그 결과 glutamate 0, 4, 8, 16mM 일 때 120시간에 각각 2.65, 1.93, 1.20, 0.60L H<sub>2</sub>/L-broth의 수소를 생산했고, 32, 64mM일 때에는 수소 생산이 저해되는 현상이 나타났다. 이는 광발효 동안 glutamate가 deamination되어 암모니아 이온이 증가함에 따라 nitrogenase의 활성이 저해되기 때문이다. 또한 질소원으로 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 또는 glutamate를 첨가하지 않았을 때 수소생산이 가장 좋았지만, 균체 성장이 좋지 않았다. 따라서 이후의 실험은 수소 생산과 균체 성장이 적절한 8mM glutamate 또는 4mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용했다.

질소원의 영향을 자세히 고찰하기 위하여 동일한 C/N 비에 맞춰 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4mM과 glutamate 8mM을 비교하여 Table 4에 나타냈다.

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 함유한 배지와 비교했을 때 glutamate는 균체 농도가 1.4배 높았으며, 48시간에 균체 농

도가 최고에 달했다. 또한 배양 48시간까지 수소생산 속도가 증가하였으며, 수소생산량이 1.4배 높았다. 그러나 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가한 배지에서 24시간 이후부터 수소생산량이 증가하기 시작하였으며, 96시간 후에 glutamate와 비교했을 때 수소생산량이 1.78배 높았다.

*R. sphaeroides* KD131의 수소생산과 균체성장 에 대한 pH 조절 효과를 알아보기 위해 pH 6~9로 pH를 조절해 주며 실험하였으며, 이 결과를 Fig. 3에 나타냈다. pH 6~7.5 일 때 비교적 균체농도가 높았으며, pH 6으로 맞춰주었을 때 48시간에 1.68g dcw/L로 가장 높은 균체성장을 보였다. pH를 증가 시킬수록 균체성장이 줄어들었으며, pH 9로 조정했을 때에는 48시간에 0.95g dcw/L의 낮은 균체성장을 보여 pH와 균체성장은 반비례하는 경향을 나타냈다. 결과적으로 pH 7.5로 조정했을 때 수소는 1,929mL H<sub>2</sub>/L-broth(3.65mol H<sub>2</sub>/mol succinate)가 생성되어 주어진 조건 중 가장 높은 수소생산을 보였다. 이는 초기 pH를 7로 맞춰주고 pH를 따로 조정하지 않은 실험을 하였을 때(1407mL H<sub>2</sub>/L-broth)보다 1.2배 높아진 결과를 보였다.

#### 4. 결 론

- 1) 초기 균체 농도는 약 0.6g dcw/L일 때, 균체가 묻히는 현상이 없으며, 수소생산량이 가장 높았다.
- 2) 초기 pH 6.0~6.5가 균체성장에 적합하였으며, pH 7~8.5 일 경우 수소생산량이 최적이었다.
- 3) 질소원의 비교에서 배양 48시간 후 glutamate에서의 1.4배 수소생성이 높았지만, 배양 96시간 후에는 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>가 1.78배 높은 수소를 생산했다.

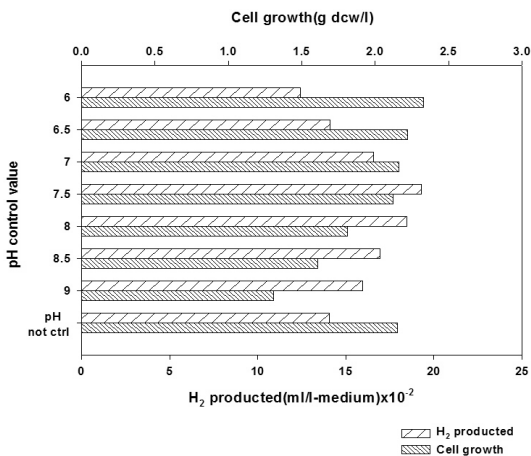


Fig. 3 Hydrogen production and cell growth of *R. sphaeroides* KD131 during a 48h photo-fermentation period at 110W/m<sup>2</sup>, 30°C with pH control

- 4) pH를 7.5로 조절해줄 경우, 초기 pH를 7로 맞춰 주고 추가적으로 조절하지 않을 때보다 수소생산량이 1.2배 높아졌다.

## 후 기

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

## 참 고 문 헌

- 1) 손한나, 김미선 “*Rhodobacter sphaeroides* KD131에 의한 유기산 광합성 발효 최적화” 한국수소 및 신에너지학회 논문집, 21권, 2호, 2010, pp. 136-142.
- 2) Redwood M. D, Paterson-Beedle M., Macaskie L. E. “Integrating dark and Light biohydrogen production strategies: towards the hydrogen economy” *Rev Environ Sci Biotechnol*, Vol. 8, No. 2, 2009, pp. 149-185.
- 3) Shi X.-Y., Yu H-Q. “Optimization of glutamate concentration and pH for H<sub>2</sub> production from using spent media of *Enterobacter cloacae* DM11. *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol. 68, No. 4, 2005, pp. 533-541.
- 4) SasikaLa K., Ramana C. V., Rao P. R. “Environmental regulation for optimal biomass yield and photoproduction of hydrogen by *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001” *Int J Hydrogen Energy*, Vol. 16, No. 9, 1991, pp. 597-601.
- 5) Argun H., Kargi F., Kapdan I. K. “Effects of the substrate and cell concentration on biohydrogen production from ground wheat by combined dark and photo fermentation” *Int J Hydrogen Energy*, Vol. 34, No. 15, 2009, pp. 6181-6188.
- 6) Koku H., Eroglu I., Gündüz U., Yücel M., Türker L. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. *Int J Hydrogen Energy*, Vol. 27, No. 11-12, 2002, pp. 1315-1329.
- 7) Lee I. H., Park J. Y., Kho D. H., Kim M. S., Lee J. K. “Reductive effect of H<sub>2</sub> uptake and poly-beta-hydroxybutyrate formation on nitrogenase-mediated H<sub>2</sub> accumulation of *Rhodobacter sphaeroides* according to Light intensity” *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol. 60, No. 1-2, 2002, pp. 147-153.
- 8) Sistro W. R. “A requirement for sodium in the growth of *Rhodospseudomonas sphaeroides*” *J Gen Microbiol*, Vol. 22, No. 3, 1960, pp. 778-785.
- 9) Gündüz U., Türkarşlan S., Yücel M., Türker L., Eroglu İ. “Hydrogen production by different strains of *R. sphaeroides*.” *Hydrogen energy progress XI. Proceedings of the 13th WHEC, Beijing - China*, Vol. 1, No. 2000, pp. 434-439.
- 10) Zabut B., EL-KahLout K., Yücel M., Gündüz U., Türker L., Eroglu İ. “Hydrogen gas production by combined systems of *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 and *Halobacterium salinarum* in a photo-bioreactor” *Int J Hydrogen Energy*, Vol. 31, No. 1, 2006, pp. 1553-1562.
- 11) Kim M. S, Baek J. S, Lee J. K. “Comparison of H<sub>2</sub> accumulation by *Rhodobacter sphaeroides* KD131 and its uptake hydrogenase and PHB synthase deficient mutant” *Int J Hydrogen Energy*, Vol. 31, No. 1, 2006, pp. 121-127.
- 12) Cselovszky J, Wolf G, Hammes WP, “Production of formate, acetate and succinate by anaerobic fermentation of *Lactobacillus pentosus* in the presence of citrate” *Appl Microbiol Biotechnol* Vol. 37, 1992, pp. 94-97.
- 13) Waligorska M, Seifert K, Gorecki K, Moritz M, Laniecki M, “Kinetic model of hydrogen generation by *Rhodobacter sphaeroides* in the presence of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ions” *J Appl Microbiol*, Vol. 107, 2009, pp. 1308-1318.