

매개체를 사용하지 않는 미생물연료전지 Mediator-less Microbial Fuel Cell

김 병 홍, 김 형 주, 현 문 식, 박 형 수, 김 미 아, 김 광 태

B.H. Kim, H.J. Kim, M.S. Hyun, H.S. Park, M.A. Kim, and K.T. Kim

한국과학기술연구원 수질환경연구센터

미생물이 이용할 수 있는 전자공여체를 연료로, 미생물의 연료가 산화되는 전자전달계로부터 전자를 미생물 외부의 전극으로 전달하여 전기를 생산하는 장치를 미생물연료전지라 한다 (Allen and Bennetto, 1993; Zhang and Halme, 1995). 일반적인 미생물 연료전지는 주로 호기성 세균 (e.g. *E.coli*, *Proteus vulgaris* 등)과 cyanobacteria 등이 이용되었다 (Bennetto *et al.*, 1985; Yagishita *et al.*, 1998). 알려진 바와 같이 대부분의 미생물은 절연성이 높은 세포 외 구조를 가지고 있으며, 전자전달 반응은 대부분 세포의 원형질막에서 이루어지기 때문에 미생물 내부의 전자 전달을 외부로 유도하기는 어렵다. 따라서 생물 연료전지에서 미생물의 전자 전달계로부터 전극으로 전달하기 위해서는 electrochemical mediator (전자전달 매개체)를 필수적으로 사용하여 왔다 (Tanaka *et al.*, 1983). 여기서 electrochemical mediator는 미생물 전자전달시스템에 접근, 산화되어 있는 상태의 mediator 자체가 환원된 후 미생물 외부로 나온 후 전극의 표면에서 다시 산화되어 전극에 전자를 공급하는 역할을 한다. 일반적인 매개체로는 미생물의 전자전달계에서 환원될 수 있으며, 전극 표면에서 산화될 수 있을 뿐 아니라 산화형과 환원형 모두 미생물의 막을 투과할 수 있는 양친매성 물질 (e.g. 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, NHQ)이 이용된다 (Tayhas *et al.*, 1994). 생물연료전지는 화학 연료전지와 더불어 우주선에서 발생하는 폐기물을 효율적으로 처리하기 위하여 1960년대에 미국 NASA에서 집중적으로 연구되었으나 상대적으로 화학연료전지에 비하여 전력 생산 능력이 낮고 출력형태가 불안정하였다 (Tayhas *et al.*, 1994). 이후 생물연료전지는 여러 연구를 통하여 보다 효율적인 형태로 발전해 왔다. 1993년 Allen 과 Bennetto (1993)는 포도당을 연료로 하고 미생물 (*Proteus vulgaris*: 435 mg in dry weight)을 biocatalyst로 이용하여 매개체를 첨가하면 0.4 mA의 전류를 5일 이상 안정적으로 생산하는 20 ml 용량의 생물연료전지를 제작하였다. 그러나 가질의 미생물에 의한 산화 시 발생하는 전자를 연속적으로 전극에 전달하여 전력으로 전환시키기 위해서는 위에서 언급한 electrochemical mediator의 첨가가 필수적이었다. 이 매개체들은 대체적으로 난분해성 물질로 2차 오염의 원인이 될 수 있으며, 장기적으로 사용

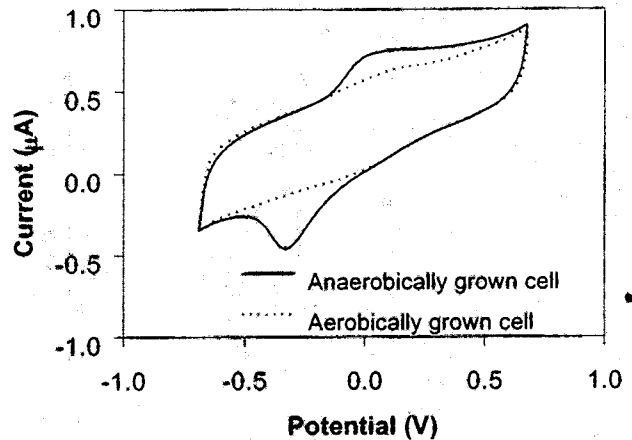


Fig. 1. Cyclic voltammograms of *Shewanella putrefaciens* IR-1 cultivated aerobically and anaerobically.

시 전극에 접촉되어 효율을 떨어뜨리는 수도 있고, 고가이며, 미생물에 대한 독성이 있는 방향족 화합물이기 때문에 지금까지 연구된 미생물연료전지는 미생물의 활성 측정 (Pachett *et al.*, 1997) 등 특수한 목적으로 사용될 수 있다는 보고 이외에는 산업화된 예를 찾아 볼 수 없다. 특이한 예로서 sulfide가 전극에서 sulfate로 산화되는 성질을 이용하여 황산염환원세균을 이용하는 미생물연료전지도 연구되었으나 (Haberman and Pommer, 1991) sulfide의 전극에 대한 부식성 때문에 현재 연구가 중단된 것으로 알려지고 있다.

최근 불용성의 제2철 화합물을 전자수용체로 이용하여 혐기적 호흡으로 성장하는 많은 종류의 세균이 분리되고 있다 (Bowman, 1997; Caccavo *et al.*, 1994; 1996; Greene *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 1997; Lonergan *et al.*, 1996; Lovley, 1993; Nealson and Saffarini, 1994; Slobodkin *et al.*, 1997). 이들은 불용성의 전자수용체를 세포 안으로 운반하는 대신 전자를 세포 밖으로 전달하기 위해 세포 표면에 cytochrome을 보유하고 있다 (Myers and Myers, 1992; Seeliger *et al.*, 1998). 철 환원 세균의 일종인 *Shewanella putrefaciens*는 혐기적인 조건에서 배양 시 cyclic voltammetry에서 전기화학적으로 활성을 나타내며 (Fig. 1, Kim *et al.*, 1999a), 연료전지에서 lactate를 산화하면서 elec-

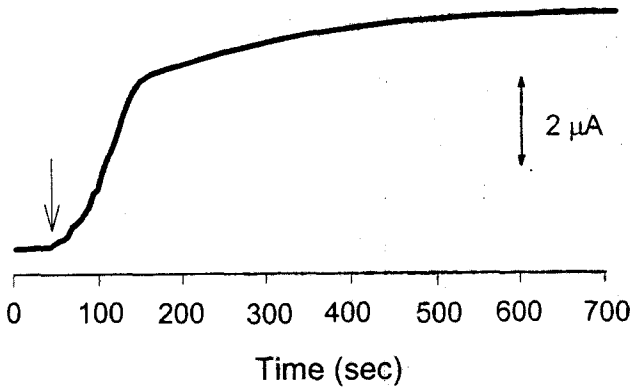


Fig. 2. Current output from a microbial fuel cell with *Shewanella putrefaciens* IR-1 as the catalyst.

trochemical mediator 없이 직접 전기를 발생시키는 것이 확인 되었으며 발생 전류량은 첨가된 기질의 농도에 비례함이 나타 났으며 이와 같은 특성을 갖는 미생물을 사용하면 연속적인 전 력 생산이 가능한 무매개체 생물연료전지 (mediator-less micro- bial fuel cell)의 구성이 가능한 것으로 확인되었다 (Fig. 2, Kim *et al.*, 1999b). 이 세균은 이용할 수 있는 기질이 lactate, pyru- vate 등으로 한정되어 있기 때문에 폐수의 처리 등 다양한 응 용범위를 가진 mediator-less microbial fuel cell을 개발하기 위 해서는 폐수중의 다양한 유기물을 발전의 연료로 사용하면서 이 를 궁극적으로 완전히 제거하는 기질 이용성이 넓고 전기화학 활성이 있는 미생물 균을 확보하여야 하는 것이 필수적인 것으 로 나타났다.

Nielsen 등(1997)은 생활 하수 처리장의 오니에서 Fe(III) 환 원세균이 높은 농도로 발견된다고 보고하였다. Fig. 3의 구조를 갖는 연료전지의 anode에 전분가공 공장 폐수와 같은 공장의 대수처리장 오니를 넣고 cathode에 공기를 공급한 결과 open circuit potential이 약 0.7 volt로 측정되었다. 여기에 1 kΩ의 저항으로 anode와 cathode를 연결하였을 때 약 0.1 mA의 전 류를 얻을 수 있었다. 전류가 더 이상 발생하지 않을 때 anode 중의 폐수를 일부 제거하고 새로운 폐수로 채워주면 전류가 다 시 발생하는 것으로 나타났다. 이러한 방법으로 미생물연료전지 를 약 4주 운전한 결과 최고 0.2 mA의 전류가 발생하였으며, 유기물 산화속도가 거의 일정하였다 (Fig. 4). 이때 사용한 폐 수의 화학적 산소 요구량 (COD)이 약 1,500 ppm이었으며, 전 류의 발생이 낮을 때는 COD가 100ppm이하로 분석되었다. 이 러한 결과로부터 연료전지를 이용하여 폐수 중의 유기물을 전 자 공여체로 이용하는 전기 화학적으로 활성이 있는 미생물을 농화배양할 수 있다는 것을 알 수 있었다. Anode compartm ent에 여러 종류의 미생물 대사 저해제를 첨가하며 이에 따르는 전 류량의 변화를 관찰 결과, 연료전지에서 유기물의 제거율과 전 류 발생량이 영향을 받는 것으로 보아 유기물 제거와 전류 발 생이 미생물 작용인 것으로 판단된다. 또한 약 6개월 간 semi-

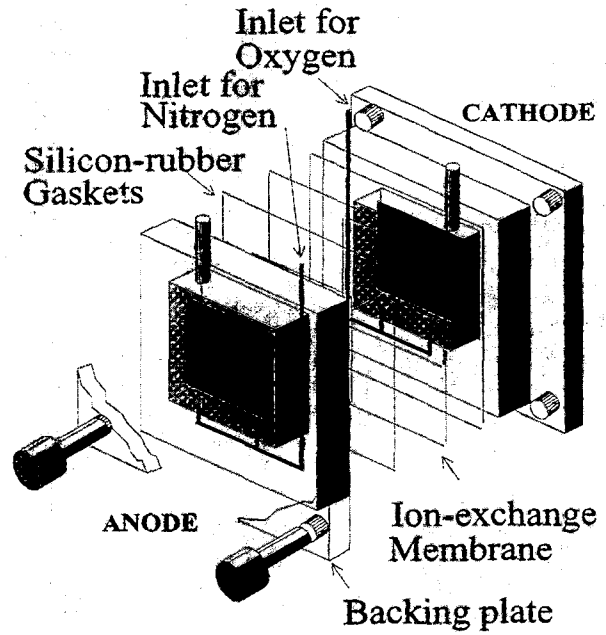


Fig. 3. Schematic diagram of the microbial fuel cell used in the study.

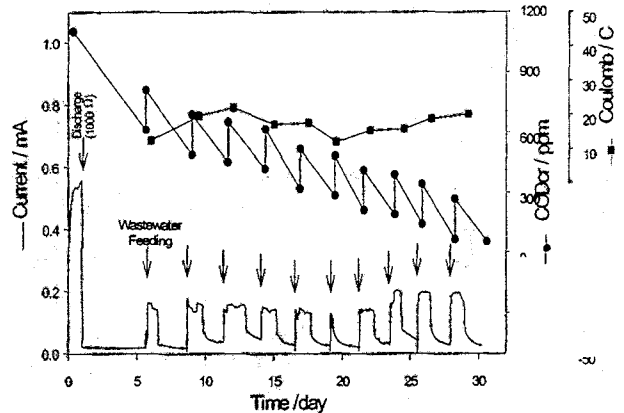


Fig. 4. Changes in current and chemical oxygen demand in the microbial fuel cell.

continuous하게 운전한 미생물연료전지의 anode 전극의 일부를 취하여 scanning electron microscope로 관찰하여 Fig. 5 결과 를 얻었다. 전극으로 사용한 graphite felt의 표면 자체에는 아 무런 particle이 관찰되지 않았으나, 연료전지에 사용한 전극 물 질의 표면에는 많은 particle이 관찰되었다. 길이 약 2μm의 particle은 전형적인 간균으로 판단되며, 0.2μm 크기의 particle은 일반적인 세균으로 보기에 는 그 크기가 너무 적다. John 등 (1999)의 연구에 따르면 저영양 생태계에서 0.2μm 이하 크기 의 세균이 있는 것으로 보고되고 있다. 따라서 전극표면에 부착 된 작은 particle이 저 영양 상태에 의해 변형된 세균인지를 밝 히기 위해 scanning confocal laser microscopy, transmission electron microscopy 등의 방법으로 연구를 계속 중이다. 또한

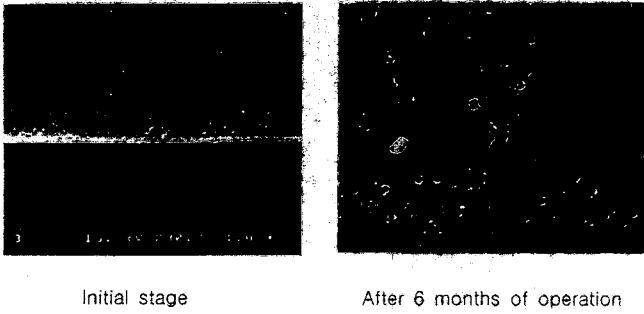


Fig. 5. Scanning electron micrograph of the electrode collected from the anode compartment of the microbial fuel cell.

미생물 연료전지에 농화배양된 미생물의 특성을 조사하기 위해 여러 종류의 전자공여체와 전자수용체를 이용하여 미생물을 분리하고 있다. 분리군 중 1 종은 철 환원력이 없으나 전기화학 활성을 보유하는 것으로 밝혀졌다. 이러한 결과는 미생물의 전기 화학적 활성이 불용성의 제2철 화합물을 전자수용체로 이용하는 성질과는 직접적인 관계가 없을 수도 있다는 것을 뜻하기 때문에 이에 대한 보다 구체적인 연구가 진행중이다.

농화 배양한 미생물연료전지에서 발생하는 전류는 공급하는 유기물의 농도와 직접적으로 비례하는 관계를 보였다 (Fig. 6). 이러한 성질을 이용하여 매개체를 사용하지 않는 미생물연료전지를 생물학적 산소 요구량 (BOD), 독성 물질등 수질 오염 측정용 biosensor로 이용할 수 있으며 이미 실용화 단계에 이르고 있다.

이상의 결과로 보면 이미 영국 일본 등지에서 개발되거나 개발중인 전자전달체를 사용한 생물 연료전지에 비교하였을 경우 전력생산의 측면에서 우수하거나 동등한 값을 나타내었으며 외국의 경우 연구의 목적이 주로 전력생산에 그 목적을 둔 것에 비하여 본 연구는 전력생산과 동시에 환경적 측면을 고려한 세계최초의 무매개체 생물연료전지로서 생활 폐수 등을 전자전달

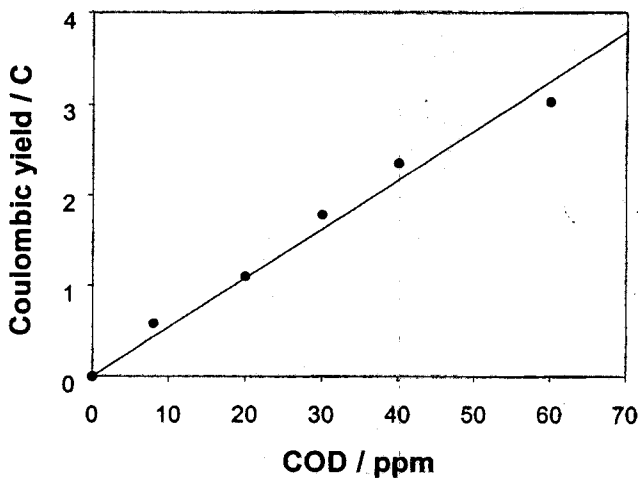


Fig. 6. Relationship between organic content supplied and the current output from the microbial fuel cell.

체 없이 사용할 경우 보다 유용한 발전 및 환경정화, 감시 시스템의 구성이 가능한 것으로 나타났다. 또한 미생물의 생육과 증식을 위하여 발생하는 에너지가 전극을 통해 소비되므로 생물연료전지로 폐수처리시 발생하는 활성 슬러지 (activated sludge)의 양을 일반적인 폐수처리시 발생하는 활성 슬러지량과 비교했을 때 현저하게 감소된 것으로 나타났다. 본 생물 연료전지 시스템의 거시적인 응용은 특수 산업폐수처리나 전력공급이 어려운 벽지의 보조전원으로서 가능하며 미시적인 응용으로는 특수 미생물의 생리학적 연구의 방법으로써 이용이 가능하다고 본다. 현재까지의 실험 결과를 토대로 본 연구실에서는 보다 다양하고 효과적인 생물연료전지 시스템 개발을 위하여 계속 실험중이다.

참고문헌

- Allen, R. M. and H. P. Bennetto. 1993. Microbial fuel-cells - Electricity production from carbohydrates. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 39:27-40.
- Bennetto, H. P., G. M. Delaney, J. R. Mason, S. D. Roller, J. L. Stirling, and C. F. Thurston. 1985. The sucrose fuel cell: Efficient biomass conversion using a microbial catalyst. *Biotechnol. Lett.* 7:699-704.
- Bowman, J. P., S. A. Mccammon, D. S. Nichols, J. H. Skerratt, S. M. Rea, P. D. Nichols, and T. A. Mcmeekin. 1997. *Shewanella gelidimarina* sp. nov. and *Shewanella frigidimarina* sp. nov., novel Antarctic species with the ability to produce eicosapentaenoic acid (20:5 omega 3) and grow anaerobically by dissimilatory Fe(III) reduction. *Int. J. System. Bacteriol.* 47:1040-1047.
- Caccavo, F., J. D. Coates, R. A. Rossellomora, W. Ludwig, K. H. Schleifer, D. R. Lovley, and M. J. Mcinerney. 1996. *Geovibrio ferrireducens*, a phylogenetically distinct dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium. *Arch. Microbiol.* 165:370-376.
- Caccavo, F., D. J. Lonergan, D. R. Lovley, M. Davis, J. F. Stolz, and M. J. Mcinerney. 1994. *Geobacter sulfurreducens* sp nov, a hydrogen- and acetate-oxidizing dissimilatory metal-reducing microorganism. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:3752-3759.
- Greene, A. C., B. K. C. Patel, and A. J. Sheehy. 1997. *Deferrisbacter thermophilus* gen nov, sp nov, a novel thermophilic manganese- and iron-reducing bacterium isolated from a petroleum reservoir. *Int. J. System. Bacteriol.* 47:505-509.
- Haberman, W. and E. H. Pommer. 1991. Biological fuel cells with sulphide storage capacity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 35:128-133.

8. Jones, C. R., A. H. L. Chamberlain, and M. R. Adams. 1999. An investigation of the presence of ultramicrocells in natural mineral water. *Let. Appl. Microbiol.* 28:275-279.
9. Kim, B. H., H. J. Kim, M. S. Hyun and D. H. Park (1999a) Direct electrode reaction of Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9:127-131
10. Kim, H. J., M. S. Hyun, I. S. Chang and B. H. Kim (1999b) A microbial fuel cell type lactate biosensor using a metal-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9:365-367
11. Liu, S. V., J. Z. Zhou, C. L. Zhang, D. R. Cole, M. Gajdarziska-Josifovska, and T. J. Phelps. 1997. Thermophilic Fe(III)-reducing bacteria from the deep subsurface: The evolutionary implications. *Science* 277:1106-1109.(Abstr.)
12. Lonergan, D. J., H. L. Jenter, J. D. Coates, E. J. P. Phillips, T. M. Schmidt, and D. R. Lovley. 1996. Phylogenetic analysis of dissimilatory Fe(III)-reducing bacteria. *J. Bacteriol.* 178:2402-2408.
13. Lovley, D. R. 1993. Dissimilatory metal reduction. *Annu. Rev. Microbiol.* 47:263-290.
14. Myers, C. R. and J. M. Myers. 1992. Localization of cytochromes to the outer membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. *J. Bacteriol.* 174:3429-3438.
15. Nealson, K. H. and D. A. Saffarini. 1994. Iron and manganese in anaerobic respiration: Environmental significance, physiology, and regulation. *Annu. Rev. Microbiol.* 48:311-343.
16. Nielsen, P. H., B. Frolund, S. Spring, and F. Caccavo. 1997. Microbial Fe(III) reduction in activated sludge. *Systematic & Applied Microbiology.* 20:645-651.
17. Park, D. H., B. H. Kim, B. Moore, H. A. O. Hill, M. K. Song, and H. W. Rhee. 1997. Electrode reaction of *Desulfovibrio desulfuricans* modified with organic conductive compounds. *Biotechnol. Tech.* 11:145-148.
18. Patchett, R. A., A. F. Kelly, and R. G. Kroll. 1997. Use of a microbial fuel cell for the rapid enumeration of bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 26:26-31.(Abstr.)
19. Seeliger, S., R. Cordruwisch, and B. Schink. 1998. A periplasmic and extracellular c-type cytochrome of *Geobacter sulfurreducens* acts as a ferric iron reductase and as an electron carrier to other acceptors or to partner bacteria. *J. Bacteriol.* 180:3686-3691.
20. Slobodkin, A., A. L. Reysenbach, N. Strutz, M. Dreier, and J. Wiegel. 1997. *Thermoterrabacterium ferrireducens* gen nov, sp nov, a thermophilic anaerobic dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium from a continental hot spring. *Int. J. System. Bacteriol.* 47:541-547.
21. Tanaka, K., C. A. Vega, and R. Tamamushi. 1983. Thionine and ferric chelate compounds as coupled mediators in microbial fuel cells. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 11:289-297.
22. Tayhas, G., R. Palmore, and M. Whitesides. 1994. Microbial and enzymatic biofuel cells, p. 271-290. In M. E. Himmel, J. O. Baker and R. P. Overend (ed.), *Enzymatic conversion of biomass for fuels production*. American chemical society, Washington, D. C.
23. Yagishita, T., S. Sawayama, K. I. Tsukahara, and T. Ogi. 1998. Performance of photosynthetic electrochemical cells using immobilized *Anabaena variabilis* M3 in discharge/culture cycles. *J. Ferment. Bioeng.* 85:546-549.
24. Zhang, X. C. and A. Halme. 1995. Modelling of a microbial fuel cell process. *Biotechnol. Lett.* 17:809-814.



김 병 흥

1964-1971년 경북대학교 농과대학
농화학과 (농학사)

1974-1977년 University College Cardiff
Department of Micro-
biology (PhD)

1977년-현재 한국과학기술연구원
책임연구원

1982년-1984년 University of Wisconsin -
Madison
Department of Bacteriology
(연구원)