

CO₂ 고부가화를 위한 로도박터 스페로이데스를 활용한 미생물 전기합성 최적화 연구

김희수^{1),2)} · 정휘종^{1),2)} · 김단비³⁾ · 이상민⁴⁾ · 이지예⁵⁾ · 이진석⁶⁾ · 문명훈⁶⁾ · 고창현^{7)*} · 이수연^{6)*}

Optimization of Microbial Electrosynthesis Using *Rhodobacter sphaeroides* for CO₂ Upcycling

Hui Su Kim^{1),2)} · Hwi Jong Jung^{1),2)} · Danbee Kim³⁾ · Sangmin Lee⁴⁾ · Jiye Lee⁵⁾ · Jin-Suk Lee⁶⁾ · Myoungsoon Moon⁶⁾ · Chang Hyun Ko^{7)*} · Soo Youn Lee^{6)*}

Received 1 November 2023 Revised 21 November 2023 Accepted 4 December 2023 Published online 15 December 2023

ABSTRACT Emitted CO₂ is an attractive material for microbial electrochemical CO₂ reduction. Microbial electrochemical CO₂ reduction (i.e., microbial electrosynthesis, MES) using biocatalysts has advantages compared to conventional CO₂ reduction using electrocatalysts. However, MES has several challenges, including electrode performance, biocatalysts, and reactor optimization. In this study, an MES system was investigated for optimizing reactor types, counter electrode materials, and CO₂-converting microorganisms to achieve effective CO₂ upcycling. In autotrophic cultivation (supplementation of CO₂ and H₂), CO₂ consumption of *Rhodobacter sphaeroides* was observed to be four times higher than that with heterotrophic cultivation (supplementation of succinic acid). The bacterial growth in an MES reactor with a single-chambered shape was two times higher than that with a double chamber (H-type MES reactor). Moreover, a single-chambered MES reactor equipped with titanium mesh as the counter electrode (anode) showed markedly increased current density in the graphite felt as a working electrode (cathode) compared to that with a graphite felt counter electrode (anode). These results demonstrate that the optimized conditions of a single chamber and titanium mesh for the counter electrode have a positive effect on microbial electrochemical CO₂ reduction.

Key words Microbial electrochemical, CO₂ reduction (이산화탄소 환원), *Rhodobacter sphaeroides*, Carbon upcycling

1) Research student, Gwangju Clean Energy Research Center, Korea Institute of Energy Research

2) Ph.D. Candidate, Department of Chemical engineering, Chonnam National University

3) Post-doctoral Researcher, Gwangju Clean Energy Research Center, Korea Institute of Energy Research

4) Professor, Department of Bio-Environmental Chemistry, Chungnam National University

5) Researcher, Gwangju Clean Energy Research Center, Korea Institute of Energy Research

6) Principal Researcher, Gwangju Clean Energy Research Center, Korea Institute of Energy Research

7) Professor, Department of Chemical Engineering, Chonnam National University

*Co-corresponding author: chko@jnu.ac.kr (CHK)

Tel: +82-62-530-1873 Fax: +82-60-530-1889

syl@kier.re.kr (SYL)

Tel: +82-62-717-2436 Fax: +82-60-717-2453

Nomenclature

MES : microbial electrosynthesis

OD : optical density

CO₂RR : electrochemical CO₂ reduction reaction

1. 서론

산업화 이후 화석연료 사용량의 증가는 온실가스 배출로 인한 지구온난화를 초래하였고, 이로 인한 기후변화, 환경 파괴 등의 피해가 심각해지고 있다. 따라서 온실가스의 주요인인 이산화탄소(CO₂)를 저감하기 위한 탄소·포집·저장·

활용(Carbon capture, storage and utilization, CCUS)에 관련된 많은 연구가 이뤄지고 있다.^[1] CO₂의 전기화학적 환원(Electrochemical CO₂ Reduction Reaction, CO₂RR) 기술은 전기 에너지와 전기촉매(Electrocatalyst)를 사용하여 CO₂를 부가가치 산물(CO, HCOOH, HCHO, CH₃OH, CH₄)로 전환시키는 기술이다. 그러나 CO₂는 C=O 결합을 가지면서 매우 안정적인 물질로, 이를 환원시키기 위해서는 상당한 에너지가 필요하다. 따라서 CO₂ 환원을 위한 전기촉매는 전환 효율, 선택성 향상, 촉매 수명 등 다양한 요인들을 고려하여 설계되어야 한다. 이러한 전기촉매를 활용한 CO₂ 유래의 전환 물질이 상대적으로 탄소 사슬 길이가 짧고, 저렴하다는 특징이 있다.^[2,3] 전기촉매를 이용한 CO₂RR과 달리, 미생물 전기합성(Microbial electrosynthesis, MES)은 전기활성 미생물(Electroactive microorganisms)을 생촉매(Biocatalyst)로 사용하여 전기에너지(e⁻)로 환원력을 공급하여 미생물 내 대사 전환을 통해 CO₂를 고부가가치 산물로 환원시킬 수 있는 친환경 기술이다. 전기활성(electroactive)의 종류에 따라 생산 가능한 산물이 짧은 길이의 탄소 사슬 물질(예, Acetate, Methane, Ethanol 등)부터 긴 길이의 탄소 사슬 물질(예, PHB, Carotenoids 등) 까지 다양하고, 이러한 특징으로 미생물 전기합성 시스템은 전환 효율, 산물 선택성, 비용 등에 이점을 가진다.^[4~6] 미생물 전기합성 시스템은 산화 챔버(Anode chamber)와 환원 챔버(Cathode chamber)로 나뉘며, 광합성을 모방하는 시스템으로 재생 가능한 전기에너지를 사용한다. 산화 챔버에서는 전극으로부터 물 분해를 통해 산소와 양성자(H⁺) 및 전자(e⁻)가 생산되며, 생산된 전자는 전자회로(Electric circuit)을 통해 환원 챔버의 환원 전극(Working electrode)으로 전달되고, 양성자는 양성자 교환막(Proton Exchange Membrane, PEM)을 통해 환원 챔버로 전달되어 환원력(Reducing power)으로써 환원 전극을 통해 미생물에 전달된다. 미생물은 전극으로부터 전달받은 환원력을 이용하여, 세포 내 고유의 대사 기작을 통해 CO₂를 부가가치 산물로 전환할 수 있다.^[7~11]

본 연구에서 사용된 전기활성 미생물인 *Rhodobacter sphaeroides*(*R. sphaeroides*)는 영양 조건(Heterotrophic) 및 비영양조건(Autotrophic), 혐기조건, 호기조건 등 다양한 환경에서 생장이 가능하다. 또한, Calvin-Benson-

Basham(CBB) 회로, TCA 회로 및 Pentose phosphate 경로를 포함한 대사 기작의 다양성 및 활용 가능 기질의 다양성을 가져 CO₂를 다양한 고부가가치 산물로 전환이 가능하다.^[12,13] 미생물 전기합성 기술은 CO₂를 부가가치 산물로 전환시킬 수 있어 친환경적 탄소 저감형 기술로 최근 큰 관심을 받고 있지만, 미생물의 배양 조건(온도, pH 등)에 맞춘 운영 및 생물전기화학 시스템의 영향 요인(전극 종류, 분리막, 반응기 형태, 인가전압, 전자 매개체 등)에 시스템 운영 효율이 영향을 받으며, 이로 인해 CO₂의 전환 효율 및 scale-up 등의 실용화에 여러 문제점을 갖는다.^[14] 이러한 문제점을 해결하기 위해 본 연구에서는 CO₂ 전환 효율을 증가시키기 위한 *R. sphaeroides* 배양 조건과 물질전달(Mass transfer) 및 전류밀도(Current density)향상을 위한 반응기 형태 및 상대전극(Counter electrode) 재료 개선을 통한 작업전극의 전류밀도 개선을 통해 효율적인 미생물전기합성 시스템 운영 가능성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 균주 및 배양 조건

Rhodobacter sphaeroides KCTC1434 균주는 Korean Collection for Type Culture(KCTC)에서 구매하였다. *R. sphaeroides* 는 숙신산 배지(Sistrom's medium)에서 활성화하였다. 배지 성분은 KH₂PO₄(2.72 g/L), NH₄Cl(1.95 g/L), Succinic acid(4.0 g/L), glutamic acid(0.1 g/L), aspartic acid(0.04 g/L), NaCl(0.5 g/L), nitriloacetic acid(0.2 g/L), MgSO₄·7H₂O(0.3 g/L), CaCl₂·2H₂O(33.4 mg/L), FeSO₄·7H₂O(2 mg/L), (NH₄)₆Mo₇O₂₄(2 mg/L), 100 μL의 trace element solution, 100 μL의 vitamin solution으로 구성되어 있다. Trace element solution (TES) 및 Vitamin solution은 10,000배 농축하여 사용하였다. Trace element solution(TES)의 조성 성분은 EDTA(1.765 mg/L), ZnSO₄·7H₂O(10.95 mg/L), FeSO₄·7H₂O(5.0 mg/L), MnSO₄·4H₂O(1.54 mg/L), CuSO₄·5H₂O(0.392 mg/L), Co(NO₃)₂·6H₂O(0.248 mg/L), H₃BO₃(0.114 mg/L)이며, vitamin solution의 조성 성분은 Nicotinic Acid(1.0 mg/L), Thiamin HCl(0.5 mg/L), Biotin(0.010 mg/L) 이

다. 최종 배양 배지는 KOH(20 g/L)을 사용하여 pH를 7.0로 맞춘 후 사용하였다.

2.2 CO₂ 소모가 우수한 *R. sphaeroides* 선별을 위한 배양 조건 조사

영양조건 배양은 앞서 언급한 숙신산 배지 20 mL에 *R. sphaeroides* 200 μL을 접종하여 2일 배양하였다. 비영양 조건 배양은 앞서 언급한 숙신산 배지에서 숙신산을 제외하고, 탄소원 및 환원력을 공급하기 위해 가스를 CO₂:H₂:Ar(5%:60%:35%, v/v/v)의 조성으로 혼합하여 공급하였다. 일정 기간 배양한 후, 균주를 초기 흡광도 0.1이 되도록 세럼 바틀(Serum bottle)에 접종하였다. 배양 조건 및 환원력 유무에 따른 CO₂ 소모량을 조사하기 위해 각 배양 조건의 가스 조성은 CO₂:H₂:Ar(5%:60%:35%, v/v/v), CO₂:Ar(5%:95%, v/v)로 공급하여 배양을 진행하였다.

2.3 미생물 전기 합성 반응기 및 배양 조건

본 연구에서 반응기 형태에 따른 균주 성장을 조사하기 위해 두 종류의 반응기를 이용하여 배양하였다. 250 mL Duran bottle을 토대로 제작한 유리 반응기로 구성된 H-형태의 이실형 미생물 전기합성 반응 시스템 및 단일형 미생물 전기 합성 반응 시스템을 사용하였다(Fig. 1 참조). 이실형 미생물 전기합성 반응 시스템은 양성자 교환막(Proton exchange membrane, PEM; 40mm X 40mm, Nafion 117; DuPont Ltd., USA)과 고정 집게로 연결하였다. 두 종류의 반응기는 혐기 조건을 유지하기 위해 blue rubber 및 silicon stopper를 이용하여 모든 구멍을 밀봉하였다.

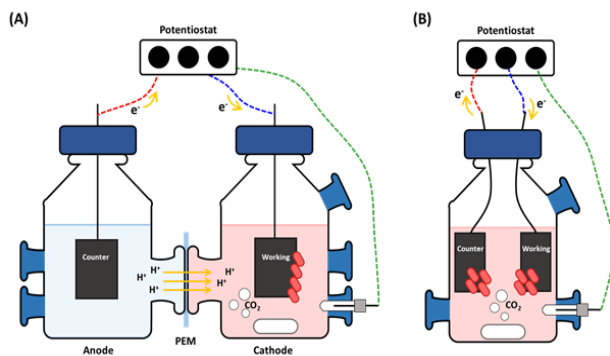


Fig. 1. Configuration of MES reactor system: (A) Double chamber MES; and (B) single chamber MES

2.4 반응기 형태에 따른 미생물 전기합성 시스템 성장 조사

이실형 및 단일형 미생물 전기합성 반응 시스템의 환원 및 산화 전극은 graphite felt(세로 50 mm, 가로 40 mm, thickness of 3-mm, Fuel Cell Store, TX, USA)를 사용하였다. 전압 인가를 위해 산화 및 환원 전극에 티타늄 와이어(직경 5 mm)로 연결하였다. 기준 전극으로 3M NaCl 이 포화된 Ag/AgCl 전극(RE-4, BASI, USA)을 환원전극 반응기 및 단일형 미생물 전기합성 반응 시스템에 설치하였다. 각 반응기(각 250 mL)의 작용부피(Working volume)은 200 mL로 동일하였고, 숙신산이 제거된 영양배지를 공급하였다. CO₂ 공급을 위해 MFC(Mass flow controller)를 이용하여 CO₂:Ar(5%:95%, v/v) 조성으로 혼합하여 30 분 공급하였다. 전압은 전위가변기(Potentiostat; WMPG-1000, Wonatech, Korea)를 사용하여 -0.6V(vs Ag/AgCl 전극)로 인가하여, CO₂를 환원시키기 위해 필요한 환원력을 공급하였다. 환원 반응기 및 단일형 반응기는 원활한 영양분 혼합을 위해 자석교반기(IKA color squid, IKA, Germany)와 마그네틱 바로 100 rpm에서 교반하였으며, 산화 전극 반응기는 별도로 교반하지 않았다. 모든 생물전기화학 반응 실험은 28~30°C로 온도를 유지하여 진행하였다.

2.5 산화전극 재질에 따른 미생물 전기합성 시스템의 미생물 성장 조사

단일형 미생물전기합성 시스템은 앞서 언급한 배지와 균주를 사용하였으며, 산화전극은 Graphite felt(세로 50 mm, 가로 40 mm, thickness of 3-mm, Fuel Cell Store, TX, USA)와 Titanium mesh(세로 70 mm, 가로 10 mm)를 사용하여 비교하였다.

2.6 분석 방법

균체 성장 분석을 위해 1~2일 간격으로 환원 전극 반응기 및 단일형 반응기의 샘플링포트를 통해 시료를 1 mL 일회용 멸균주사기로 채취하였다. 균체 농도는 UV-vis 분광광도계(UV-vis spectrophotometer; Eppendorf)를 사용하여 660 nm 파장에서 흡광도(Optical density, OD660 nm)를 측정하였다. 가스 소모량 분석을 위해 배양 전 후로

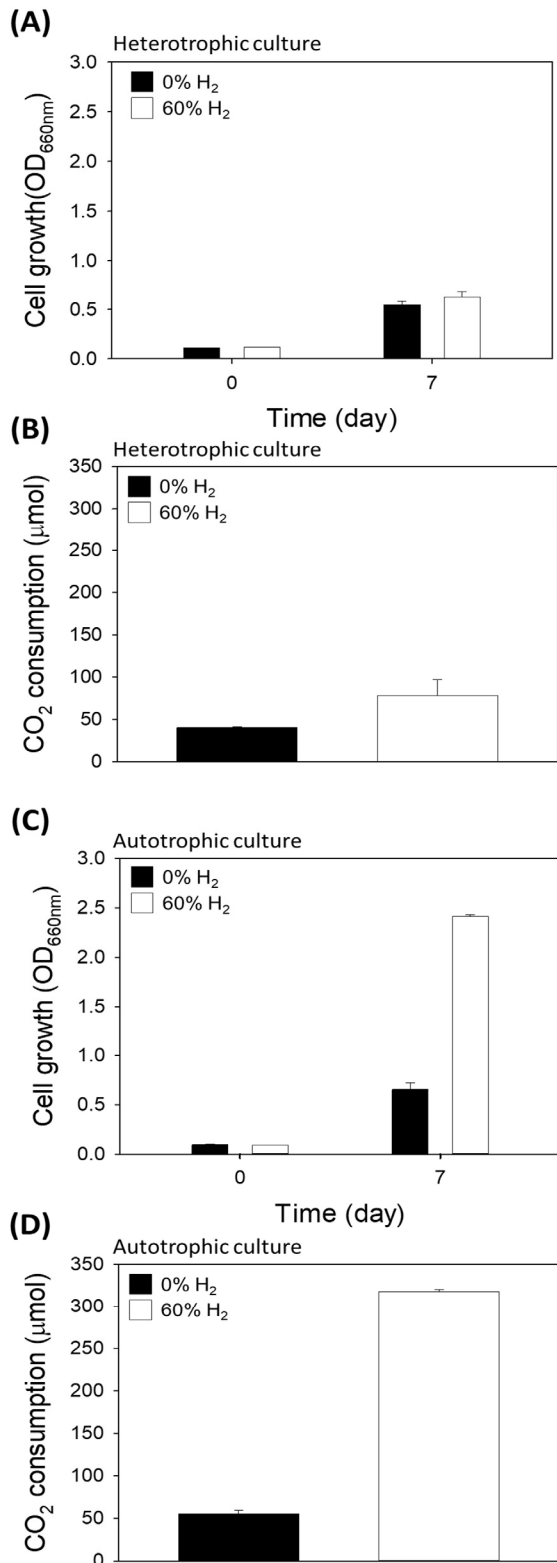


Fig. 2. Comparison of cell growth and CO₂ consumption in *R. sphaeroides* under different cultivation condition : (A, C) Bacterial growth; (B) CO₂ consumption of heterotrophic cultivation; and (D) CO₂ consumption of autotrophic cultivation

반응기의 헤드스페이스로부터 가스를 샘플링하여, porapak Q 컬럼(Agilent Technologies)이 장착된 가스 크로마토그래피(Gas chromatography-Thermal conductivity, GC-TCD, Agilent Technologies 7890B)를 사용하여 가스를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 배양 조건에 따른 *R. sphaeroides*의 CO₂ 소모

Fig. 2는 배양조건에 따른 *R. sphaeroides*의 성장 및 CO₂ 소모 결과를 나타낸 그래프이며, Table 1은 배양 조건에 따른 *R. sphaeroides*의 CO₂ 소모량을 보여준다. 영양조건에서 배양된 균주는 최종 배양 7일의 흡광도의 경우, 수소 유무에 따른 큰 차이를 보이지 않았으나, CO₂ 소모량은 40.53 μmol(-H₂), 78.53 μmol(+H₂)로 약 1.93배 차이를 보였다. 비영양조건에서 배양된 경우, 흡광도는 0.60(-H₂), 2.42(+H₂) 성장하였으며, CO₂ 소모량은 55.63 μmol(-H₂), 218.02 μmol(+H₂)로 측정되었다.

수소(H₂)가 있는 조건에서 배양된 균주는 CO₂ 소모량이 더 높았으며, 비영양조건에서 배양된 균주는 영양조건에서 배양된 균주에 비해 대략 4배 많은 CO₂를 소모하였다. 따라서 미생물 전기 합성 시스템의 CO₂ 전환 효율을 높이기 위해 비영양조건에서 배양된 균주를 선택하여 적용하였다.

3.2 미생물 전기합성 시스템 반응기 형태에 따른 균주 성장 확인

Fig. 1은 미생물 전기합성 시스템의 반응기 모식도를 보여주는 그림이며, Table 2는 반응기 형태에 따른 장·단점을 정리한 표이다. 단일형 반응기의 경우, 분리막이 없어

Table 1. CO₂ consumption of *R. sphaeroides* under different cultivation condition

Cultivation condition	Reducing Power (H ₂)	CO ₂ consumption (μmol)
Heterotrophic culture	-	40.53±0.83
	+	78.53±18.24
Autotrophic culture	-	55.63±4.36
	+	218.02±3.03

Table 2. Differences between the single- and double-chambered MES reactor

	Single chamber	Double chamber
Advantage	<ul style="list-style-type: none"> • Low cost • Efficiently mass transfer 	<ul style="list-style-type: none"> • Negligible crossover of anodic and cathodic reaction
Disadvantage	<ul style="list-style-type: none"> • Crossover of anode and cathodic reaction 	<ul style="list-style-type: none"> • Internal resistance caused by PEM

단가 절감이 가능하며, 이실형 반응기에 비해 물질전달에 효과적이다. 그러나 이실형 반응기에 비해 산화/환원전극 반응부가 분리된 형태가 아니기 때문에 미생물의 생장은 산화전극 반응에 영향을 받게 된다. 이실형 반응기의 경우, 분리막을 통해 산화/환원전극 반응부가 분리되어 미생물에 대한 산화전극 반응의 영향이 없어 최적화에 유리하지만, 분리막에 의해 발생하는 H⁺ 농도 구배로 인해 반응기 내부 저항이 발생할 수 있다는 단점을 가진다.^[15,16]

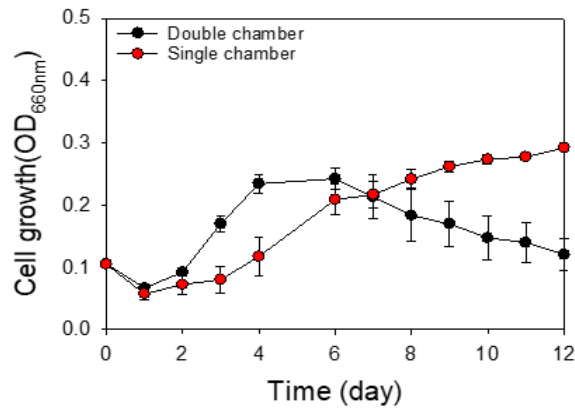


Fig. 3. Comparison of *R. sphaeroides* growth under the different types of MES reactor

Fig. 3은 배양기 형태에 따른 미생물 전기합성 운영 시 균주 성장량을 측정된 결과이다. 이실형 반응기의 경우, 배양 4일 차에 흡광도 0.25에 도달하였으며, 배양 6일차 이후로 균주 생장이 감소하는 경향을 확인하였다. 단일형 반응기의 경우, 배양 동안에 균주 성장량은 증가하는 경향을 보였으며, 배양 12일차에 흡광도 0.3에 도달하였다. 미생물 전기합성 운영 12일차에 이실형 반응기 대비 단일형 반응기의 경우 균주 성장량이 약 2배 향상된 것을 통해 단일형 반응기에서 균주 성장에 대한 긍정적인 효과를 확인할 수 있었다. 따라서 미생물 전기합성 시스템의 성능을 개선하기 위해 단일형 반응기를 선정하였다.

3.3 산화전극 재질에 따른 미생물 전기합성 시스템의 성능 확인

Fig. 4는 산화 전극 재질에 따른 미생물 전기 합성 시스템의 운영 효율을 확인한 그래프이다. Fig. 4 (A)는 전극 재질에 따른 균주 성장을 확인하였으며, 산화 전극이 Titanium mesh인 경우 균주의 성장량은 최대 흡광도 0.40까지 도달하였으며, Graphite felt의 경우, 균주 생장이 최대 흡광도 0.24로 1.67배 향상되었다. Fig. 4 (B)는 전류 밀도를 측정된 결과이다. 배양 시작 2일 후부터 12일 후까지의 전류 밀도를 확인하였을 때, 산화 전극이 Titanium mesh의 경우 전류 밀도가 $-24.07 \mu A/cm^2$ 였으며, Graphite felt의 경우 $-3.20 \mu A/cm^2$ 로 8배 더 향상된 전류 밀도를 보였다. Fig. 4 (C)는 산화 및 환원 전극 표면에 바이오필름을 형성한 *R. sphaeroides*의 양을 측정된 결과이다. 산화 및 환원 전극이 Graphite felt의 경우, 각각 33.5 mg, 38.25 mg 이었다. 산화 전극이 Titanium mesh인 경우, 균주가

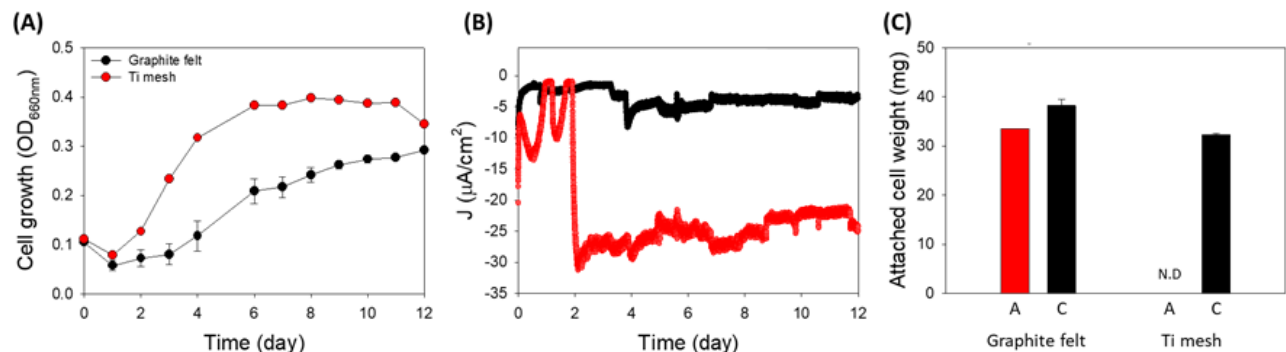


Fig. 4. The result of microbial electro-synthesis operation under the different types of counter electrodes: (A) Bacterial growth; (B) Current density; and (C) Attached cell weight of electrode. *N.D: not detected

전극에 부착하지 못하였으며, 환원 전극은 35.25 mg 으로 유사하였다. 이러한 결과를 통해, Titanium 소재의 산화 전극의 사용이 미생물 전기합성 시스템의 전류 밀도 향상과 안정적인 환원력 전달이 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

4. 결론

본 연구에서는 미생물 전기합성 시스템의 성능 향상을 위한 균주 배양, 반응기 형태, 산화전극 재질에 대해 최적화를 목적으로 실시하였다. 비영양조건에서 배양된 *R. sphaeroides*는 영양조건에서 배양된 균주에 비해 CO₂소모량이 약 4배 증가하였다. 단일형 반응기에서의 균주 생산량은 이실형 반응기에 비해 2배 높았으며, 꾸준히 미생물의 생장이 증가하는 경향을 보였다. 또한 산화 전극(상대 전극)이 Titanium mesh일 때, 환원 전류밀도가 안정적으로 유지 되었으며, 최대전류밀도는 8배 이상 증가하였다. 이러한 결과들은 단일형 반응기의 물질전달의 향상과 금속 재질의 산화 전극 사용이 미생물전기화학적 CO₂ 전환을 위한 환원력 전달에 긍정적인 효과를 나타낸다.

감사의 글

본 연구는 과학기술정보통신부 미생물제어 및 응용 원천 기술 개발사업(2022M3A9F3082335), 연구개발특구진흥재단 지역현안해결형 R&BD 지원사업(2021-DD-RD-0033-03-202) 및 환경산업기술원 야생생물 유래 친환경 신소재 및 공정 기술 개발사업(MOE 2021003240005)의 일환으로 수행되었습니다.

References

- [1] Yoro, K.O., and Daramola, M.O., 2020, "Chapter 1-CO₂ emission sources, greenhouse gases, and the global warming effect", Advances in carbon capture, Woodhead Publishing, UK, 3-28.
- [2] Al-Omari, A.A., Yamani, Z.H., and Nguyen, H.L., 2018, "Electrocatalytic CO₂ reduction: from homogeneous catalysts to heterogeneous-based reticular chemistry", Molecules, **23**(11), 2835.
- [3] Zhang, X., Zhang, Z., Li, H., Gao, R., Xiao, M., Zhu, J., Feng, M., and Chen, Z., 2022, "Insight into heterogeneous electrocatalyst design understanding for the reduction of carbon dioxide", Advanced Energy Materials, **12**(39), 2201461.
- [4] Rojas, M.D.P.A., Zaiat, M., Gonzalez, E.R., De Wever, H., and Pant, D., 2018, "Effect of the electric supply interruption on a microbial electrosynthesis system converting inorganic carbon into acetate", Bioresour. Technol., **266**, 203-210.
- [5] Nevin, K.P., Hensley, S.A., Franks, A.E., Summers, Z.M., Ou, J., Woodard, T.L., Snoeyenbos West, O.L., and Lovley, D.R., 2011, "Electrosynthesis of organic compounds from carbon dioxide is catalyzed by a diversity of acetogenic microorganisms", Appl. Environ. Microbiol., **77**(9), 2882-2886.
- [6] Mayer, F., Enzmann, F., Lopez, A.M., and Holtmann, D., 2019, "Performance of different methanogenic species for the microbial electrosynthesis of methane from carbon dioxide", Bioresour. Technol., **289**, 121706.
- [7] Lee, S.Y., Oh, Y.K., Lee, S., Fitriana, H.N., Moon, M., Kim, M.S. Lee, J., Min, K., Park, G.W., Lee, J.P., and Lee, J.S., 2021, "Recent developments and key barriers to microbial CO₂ electrobiorefinery", Bioresour. Technol., **320**(Part A), 124350.
- [8] Mock, J., Zheng, Y., Mueller, A.P., Ly, S., Tran, L., Segovia, S., Nagaraju, S., Köpke, M., Dürre, P., and Thauer, R.K., 2015, "Energy conservation associated with ethanol formation from H₂ and CO₂ in *Clostridium autoethanogenum* involving electron bifurcation", J. Bacteriol., **197**(18), 2965-2980.
- [9] Li, S., Kim, M., Kong, D.S., Min, K., Wu, G., Cui, M., Kim, C., Oh, Y.K., Kim, S., and Lee, S.Y., *et al.*, 2023, "Electron uptake from solid electrodes promotes the more efficient conversion of CO₂ to polyhydroxybutyrate by using *Rhodobacter sphaeroides*", J. Chem. Eng., **469**, 143785.
- [10] Lee, Y.R., Lee, S.Y., Lee, J., Kim, H.S., Lee, J.S., Lee, W.H., and Lee, S., 2022, "Modulation of antioxidant activity

- enhances photoautotrophic cell growth of *Rhodobacter sphaeroides* in microbial electrosynthesis”, *Energies*, **15**(3), 935.
- [11] Orsi, E., Beekwilder, J., Eggink, G., Kengen, S.W.M., and Weusthuis, R.A., 2021, “The transition of *Rhodobacter sphaeroides* into a microbial cell factory”, *Biotechnology and Bioengineering*, **118**(2), 531-541.
- [12] Dessi, P., Rovira-Alsina, L., Sánchez, C., Dinesh, G.K., Tong, W., Chatterjee, P., Tedesco, M., Farras, P., Hamelers, H.M.V., and Puig, S., 2021, “Microbial electrosynthesis: Towards sustainable biorefineries for production of green chemicals from CO₂ emissions”, *Biotechnol. Adv.*, **46**, 107675.
- [13] Fitriana, H.N., Lee, J., Lee, S., Moon, M., Lee, Y.R., Oh, Y.K., Park, M., Lee, J.S., Song, J., and Lee, S.Y., 2021, “Surface modification of a graphite felt cathode with amide-coupling enhances the electron uptake of *Rhodobacter sphaeroides*”, *Appl. Sci.*, **11**(16), 7585.
- [14] Liu, Z., Xue, X., Cai, W., Cui, K., Patil, S. A., and Guo, K., 2023, “Recent progress on microbial electrosynthesis reactor designs and strategies to enhance the reactor performance”, *Biochem. Eng. J.*, **190**, 108745.
- [15] Saravanan, N., and Karthikeyan, M., 2018, “Study of single chamber and double chamber efficiency and losses of wastewater treatment”, *International Research Journal of Engineering and Technology*, **5**(3), 1225-1230.
- [16] Wang, H., Du, H., Zeng, S., Pan, X., Cheng, H., Liu, L., and Luo, F., 2021, “Explore the difference between the single-chamber and dual-chamber microbial electrosynthesis for biogas production performance”, *Bioelectrochemistry*, **138**, 107726.