

## 가축 분뇨를 이용한 미생물 연료전지의 특성 및 MEA 열화

김영숙\* · 추천호\* · 정재진 · 안명원 · 니일채\*\* · 이정훈\*\* · 박권필†

순천대학교 화학공학과  
540-742 전남 순천시 매곡동 315

\*(주)ETIS  
415-813 경기도 김포시 고천읍 풍곡리 431-1

\*\* (주)CNL Energy  
540-742 전남 순천시 매곡동 315  
(2013년 10월 23일 접수, 2013년 11월 19일 수정본 접수, 2013년 11월 24일 채택)

## Characteristics of Microbial Fuel Cells Using Livestock Waste and Degradation of MEA

Young-Sook Kim\*, Cheun-Ho Chu\*, Jae-Jin Jeong, Myung-Won Ahn, Il-Chai Na\*\*, Jeong-Hoon Lee\*\* and Kwon-Pil Park†

Department of Chemical Engineering, Suncheon National University, 315 Maegok-dong, Suncheon-si, chonnam 540-742, Korea

\*ETIS Co, 431-1 Punggok-ri, Gochon-eup, Gimpo-si, Gyeonggi 415-813, Korea

\*\*CNL Energy Co, 315 Maegok-dong, Suncheon-si, chonnam 540-742, Korea

(Received 23 October 2013; Received in revised form 19 November 2013; accepted 24 November 2013)

### 요 약

고분자전해질 연료전지용 MEA(Membrane and Electrode Assembly)와 가축분뇨를 이용해 미생물연료전지(MFC)를 구동하였다. 여러 균을 혼합해 MFC를 구동했을 때 개별적으로 구동했을 때보다 높은 개회로전위(OCV)를 나타냈다. 돼지분뇨, 소분뇨, 닭분뇨, 오리 분뇨 중 돼지 분뇨를 이용했을 때 제일 높은 OCV 540mV를 보였다. 그리고 돼지분뇨에서 최고 963mW/m<sup>2</sup>의 전력이 발생하였다. MFC 구동과정에서 MEA의 Na<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> 이온 및 불순물들에 의한 오염이 MFC의 낮은 성능의 한 원인을 확인하였다.

**Abstract** – Microbial fuel cells (MFC) were operated with livestock wastes and PEMFC (Proton Exchange Membrane Fuel Cells) MEA (Membrane and Electrode Assembly). OCV of MFC with mixtures of microbial was higher than that of MFC with single microbial. MFC using pig wastes showed highest OCV (540 mV) among cow waste, chicken waste and duck waste. And the power density of MFC using pig waste was 963 mW/m<sup>2</sup>. Contamination of MEA with Na<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> ion and impurities was the one cause for low performance of MFC during operation.

**Key words:** Microbial Fuel Cells, Livestock Wastes, MEA Degradation, Contamination

### 1. 서 론

미생물 연료전지는 고분자전해질 연료전지(PEMFC)와 모두 동일한데, 다른 점 하나는 anode에 수소를 공급하는 대신 미생물과 유기물을 공급하여 전기를 발생하는 에너지 변환장치이다. MFC는 미생물이 유기물을 분해하면서 전자와 프로톤을 생성해 PEMFC의 수소 역할을 하는 것이다. 미생물이 유기물을 산화시킬 때 발생하는 전자는 미생물세포막에 존재하는 일련의 전자전달계를 경유하면서 ATP 형태의 에너지를 생산하게 되고, 전자전달계를 빠져나온 전자

는 최종전자수용체(terminal electron acceptor, TEA)를 환원시키면서 대사 작용이 완성된다[1]. 일부 미생물은 전자를 체외에 존재하는 금속산화물 같은 최종전자수용체로 이동시킬 수 있다. 이런 미생물은 전자방출균(exoelectrogen)이라 하며, 이 미생물이 MFC에서 촉매로 사용된다. 이 과정에서 MFC는 오폐수 등의 유기물을 분해하면서 폐수처리도 하는 친환경 공정이라고 할 수 있다.

지금까지 국내외에서 하수종말처리장의 하수를 이용해 미생물연료전지를 가동하는 연구개발이 많이 진행되고 있다. 하수종말처리장 하수 뿐만 아니라 축산농가에서 발생하는 축산분뇨량도 많은데 이 축산 분뇨를 활용해 미생물 연료전지를 가동할 수 있다. 2010년 말 현재 국내에 19만여 축산 농가에서 소, 돼지 등을 1,323만두 사육하고 있다. 가축 분뇨 발생량은 106,597 m<sup>3</sup>/일이며, 이중 돼지 분뇨가 약 절반을 차지한다[2]. 앞으로는 가축분뇨를 퇴비 등으로 자원화 하도록 제도적으로 뒷받침하는 등 환경과 조화시키면서 지속

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: parkkp@sunchon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

가능한 축산업 및 자원 순환형 농업의 발전과 환경보전이라는 정책을 정부에서도 추진하고 있다.

본 연구에서는 소, 돼지, 닭, 오리 등 가축들의 분뇨를 이용해 MFC를 구동해 성능 및 특성을 비교 검토하였으며, 미생물을 분리·동정하였다. 그리고 미생물 연료전지(MFC)를 사용하는 과정에서 MFC의 MEA가 열화(degradation)되어 MFC 성능이 감소할 수 있는데 운전 조건에 따른 MEA 열화에 대해서 연구하였다.

## 2. 실험

### 2-1. 미생물연료전지

미생물 연료전지는 2실(two chamber) 구조로 구성하였다. MFC 구성 요소는 PEMFC에 사용되는 요소들을 그대로 사용하였다. 즉 전극과 고분자 막은 Gore Fuel Cell Tech.사의 5720 MEA(전극 면적 25 cm<sup>2</sup>)를 사용했으며 anode쪽에 GDL(Gas Diffusion Layer)대신 카본펠트를 MEA와 접촉시켰다. cathode에는 GDL를 사용해 공기 공급이 원활하게 하였다. MEA, GDL, 카본펠트, 가스켓을 그래파이트 분리판 사이에 넣고 분리판 밖에는 집전판과 엔드플레이트를 차례로 조립해 100토크 압력으로 셀을 체결하였다. 펌프에 의해 배양액은 저장탱크에서 셀로 30 ml/min으로 순환되고, 저장탱크에 질소를 유입해 혐기조건을 만들었다. 전기 생산이 가능한 균의 대량증식을 위해 멸균한 nutrient broth에 가축 분뇨를 접종하여 shaking incubator에서 30 °C로 2일 동안 증식시킨 후 미생물 연료전지를 구동하였다. 저장탱크는 35 °C 항온조에서, cell은 hot plate에서 35 °C로 온도를 제어하였다. Electronic Loader(ESL-300Z)로 OCV를 측정하였고, Potentiostat(Solatron, SI 1287)로 일정 전압에서 전류가 정상상태에 도달했을 때 전류 값을 읽어 I-V 분극곡선과 전류-전력 곡선을 구했다.

### 2-2. 전기 생산 미생물의 분리 동정

미생물연료전지 작동 후 반응에 이용되었던 anode의 일부를 멸균된 증류수에 첨가하고 3분 동안 볼텍스 믹서로 혼합 후에 생물막을 anode 표면으로부터 분리하였다. 균 분리액 0.1 ml를 nutrient agar에 접종하고 30 °C에서 2일 배양 후 생성된 콜로니들을 순수 분리하였다.

Anode로부터 분리된 균들의 게놈 DNA가 분리되었고 증폭을 위해 universal 16S rRNA primer가 사용되었다. PCR 반응에는 다음의 물질들이 첨가되었다. 10 ng 순수 분리된 게놈 DNA, primers 27F(E. coli numbering 8~27, 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 1492R(E. coli numbering 1492~1510, 5'-GGYTACCTTGTTACGACTT-3', dNTPs; 반응 buffer, Taq polymerase. PCR 반응은 30 cycles 진행되었으며 반응조건은 다음과 같다. Pre-denaturation은 94 °C, 5 min, Denaturation은 94 °C, 30 sec, Annealing은 55 °C, 30 sec, Elongation은 72 °C, 40 sec, Post-elongation은 72 °C, 10 min 동안 반응시켰다. 증폭된 16S ribosomal rRNA 유전자들은 복제되고 sequence되었다. 16S rRNA의 유사도는 online EzTaxon-e server의 관련된 미생물들의 sequence와 비교되었다[3].

### 2-3. 미생물 SEM 분석

각 미생물들은 NB에 접종하여 30 °C에서 2일 동안 진탕배양한 후 12,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 침전된 세포를 사용하였다. 세포들은 0.5% glutaraldehyde와 0.5% paraformaldehyde 혼

합액에 고정하여 overnight한 후 0.1 M PBS로 세척하는 과정을 3번 반복하였다. 이 균들은 50, 70, 80, 95, 100% 에탄올로 10분씩 처리하였는데 각 과정을 2번씩 반복하였다. 이 과정 후에 에탄올:Isoamyl acetate(IAA)=75:25 혼합액, 에탄올:IAA=50:50 혼합액, 에탄올:IAA=25:75 혼합액에 각각 15분씩 처리하고 마지막에는 IAA 100%로 처리하였다. 최종적으로 수분을 완전히 제거하기 위해 Critical Point Dryer로 건조하였다. 미생물의 SEM 분석은 FE-SEM(Hitachi S-4800, KBSI Suncheon center)을 이용하였으며 beam voltage는 10 kV였다.

### 2-4. MEA 평가

MEA의 성능 및 특성은 I-V 분극곡선, 수소투과도, 전기화학적 표면적(Electrochemical surface area, ECSA), 막 저항 및 부하전달 저항(charge transfer resistance) 측정에 의했다. 수소투과도는 Potentiostat(Solatron, SI 1287)를 이용한 LSV(Linear sweep voltammetry) 방법으로 수소투과 전류(Hydrogen crossover current)를 측정해 비교하였다. LSV는 anode와 cathode에 각각 수소(40 ml/min)와 질소(200 ml/min)를 공급하고, 셀 온도 70 °C, 상대습도 100%에서 scan rate 1 mV/sec로 0~0.5 V 범위에서 전압을 변화시키면서 전류를 측정하였다.

ECSA는 Potentiostat를 이용한 Cyclo voltammetry(CV)로 측정하였다. CV는 anode와 cathode에 각각 수소(40ml/min)와 질소(200 ml/min)를 공급하고, 셀 온도 70 °C, 상대습도 100%에서 scan rate 30 mV/sec로 전압을 변화시키면서 전류를 측정하는데, 16cycle 후 측정값을 택했다.

막 저항 및 부하전달 저항은 Impedance Analyser(Solatron, SI 1287)를 이용해 측정하였다. 임피던스 측정은 anode와 cathode에 각각 수소(93 ml/min)와 공기(296 ml/min)를 공급하고, 셀 온도 70 °C, 상대습도 100%, DC current 1A, AC amplitude 100 mA, Frequency 10,000~0.1 Hz 범위에서 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 전기 발생 균들 OCV 비교 실험

MFC에 효과가 있는 미생물로 알려진 균들을 미생물자원센터로부터 분양받아 동일한 조건에서 배양해 OCV 변화를 비교하였다. 실험한 미생물들은 *Aeromonas hydrophila* subsp. *anaerogenes*(No. 12487), *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila*(No. 2358), *Shewanella putrefaciens*(No. 12458), *Enterobacter cloacae*(No. 1685), *Enterobacter cloacae* subsp. *cloacae*(No. 2361)이었다.

본 연구의 구동 조건에서 *Aeromonas hydrophila* subsp. *anaerogenes* 균이 제일 높은 98 mV의 OCV를 보였다(Fig. 1). 5종의 미생물을 모두 합해 MFC를 구동했을 때 최고 175 mV의 OCV를 나타내서 미생물 한 종류씩 각각 MFC를 운전했을 때보다 모두 합해서 운전했을 때 상승효과가 있음을 확인했다[4]. 보통 혼합 배양된 MFC는 잘 구동되는데, 유용한 복합 혼합배양은 매우 다양한 기질의 이용을 가능하게 하기 때문이다. 이것은 MFC가 단일 배양한 경우와 비교해서 훨씬 넓은 범위의 기질특이성을 가진다는 것을 의미한다[4].

### 3-2. 축산 분뇨 균에 의한 MFC 구동

4종류의 가축 분뇨를 이용해 MFC를 구동하면서 OCV 변화를 측

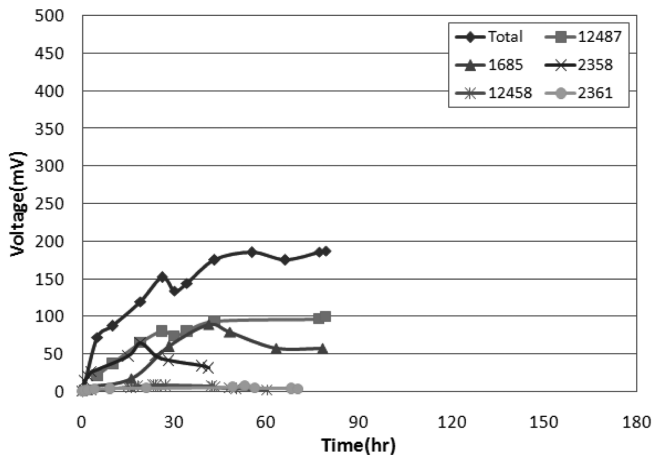


Fig. 1. Comparison of OCVs from microbial fuel cells with various microorganisms.

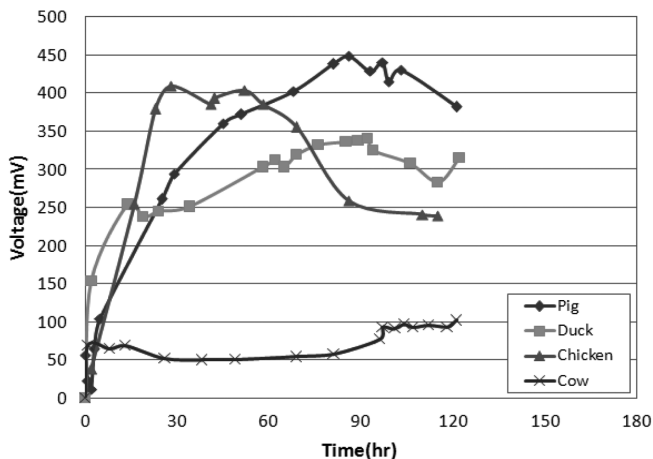


Fig. 2. Comparison of OCVs from microbial fuel cells using various livestock wastes.

정한 결과를 Fig. 2에 나타냈다. OCV가 높은 돼지, 닭, 오리 분뇨 MFC에서는 최대 전압에 도달하는 시간이 50~100시간 사이이다. 이와 같은 경향은 다른 대부분의 연구에서도 볼 수 있는데, OCV가 최대까지 도달하는데 필요한 시간은 50시간 이상이였다[5].

Potentiostat로 일정 전압에서 전류를 측정해 I-V 곡선과 I-P 곡선을

Fig. 3에 작성하였다. 돼지 분뇨 MFC가 제일 높은 성능을 보여 0.3 V에서 최고 963( $\text{mW}/\text{m}^2$ ) 출력 밀도를 나타냈다. 같은 돼지 분뇨를 이용한 Min 등[6]이 실험한 결과보다 높은 결과를 얻었다.

### 3-3. MFC 운전 후 MEA 열화

MFC 구동과정에서 MEA의 성능변화를 확인하기 위해서 돼지 분뇨를 이용해 MFC를 구동한 후의 MEA의 성능을 PEMFC 운전 조건에서 측정하였다. MFC 구동 후 배양액을 증류수로 교체하고 증류수를 24시간 순환해서 셀과 MEA를 세척하였다. 증류수 세척 후 MEA를 활성화하고, anode에는 수소를 cathode에는 공기를 공급하고, 상대습도 65%, 셀 온도 70 °C로 제어하면서 I-V 성능을 측정하였다. Fig. 4에 나타난 것처럼 MFC 구동 후 PEMFC 조건에서 MEA 성능이 많이 감소해 MFC 조건에서 MEA 성능과 비슷해졌다. OCV 감소는 초기 0.96 V에서 0.65 V로 32% 감소했지만 0.4 V에서 전류 값은 15,000  $\text{A}/\text{m}^2$ 에서 2.0  $\text{A}/\text{m}^2$ 로 감소해 초기 성능의 1/7,500이 되었다. MFC 구동 중 MEA 성능 감소가 MFC의 성능 감소에 영향을 줄 수 있다는 것이다. MFC를 구동한 후 MEA를 분석해 오염 물질의 함량을 Table 1에 나타냈다. 돼지 분뇨 구동 MFC는 Ca 이온의 함량이 제일 높고, 전체 오염물질 양은 MEA 무게의 3.4 wt%나 된다. 돼지 분뇨 중에 함유되어 있는 많은 불순물들이 전극과 막을 오염시켜 고분자막의 수소 이온전도도를 감소시키고 전극의 산소 환원 활성면적을 감소시켜 PEMFC 상에서 성능이 감소한 것으로 보인다. 고분자 막의 역할은 MFC에서도 수소이온 전달이고 cathode는 산소환원으로 동일하므로 PEMFC 상에서 막과 전극의 성능 저하는 MFC 막과 전극의 성능 저하와 같다. 예를 들어 미생물의 전자와 수소이온 발생 속도가 높아 0.4 V에서 2.0  $\text{A}/\text{m}^2$  이상의 전류가 발생하여도 오염된 MEA의 성능 저하로 인해 2.0  $\text{A}/\text{m}^2$  이상의 전류가 나올 수 없다는 것이다.

MFC 구동에 의한 MEA의 성능저하를 임피던스로 Fig. 5처럼 분석하였다. MFC 구동에 의해 막 저항이 0.003  $\Omega\text{cm}^2$ 에서 0.5  $\Omega\text{cm}^2$ 로 166배 증가하였고 부하전달 저항(charge transfer resistance)은 0.042  $\Omega\text{cm}^2$ 에서 약 15  $\Omega\text{cm}^2$ 로 357배 증가했다. 막 저항의 증가가 전극의 부하전달 저항 증가보다 작지만 보통 막 오염에 의한 막 저항 증가는 크지 않기 때문에 I-V 성능 저하에 미친 막 오염의 영향이 전극 오염의 영향보다 작다고 할 수 없다.

MFC 구동과정에서 전극 활성면적 변화를 확인하기 위해 측정된 CV 그래프를 Fig. 6에 나타냈다. 초기 CV와 MFC 구동 후 CV를

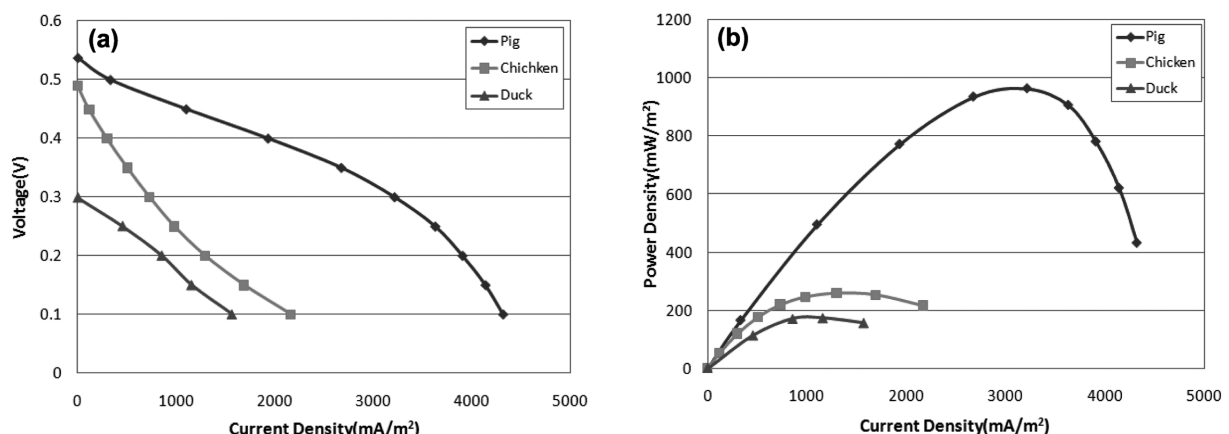


Fig. 3. Performances of microbial fuel cells using livestock wastes (a) I-V curves, (b) Power densities.

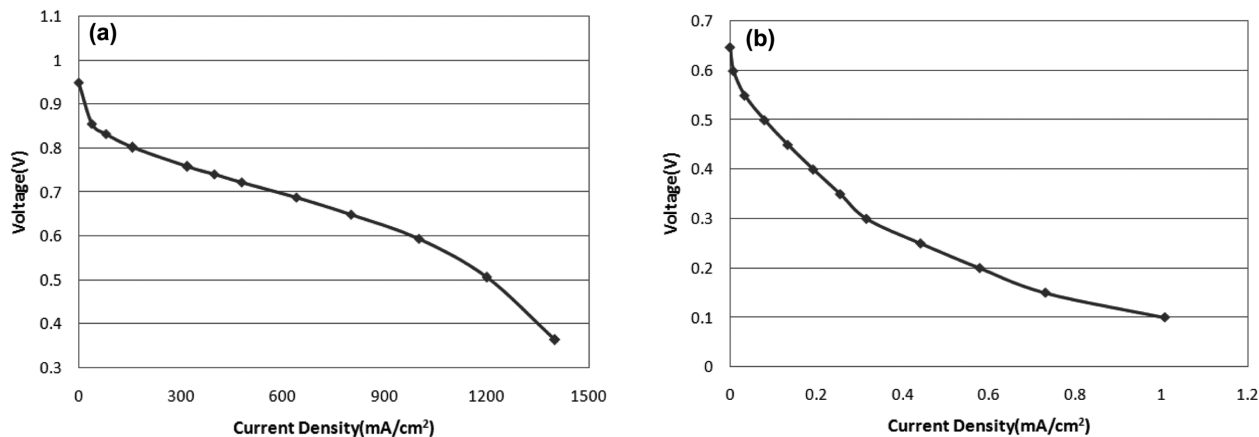


Fig. 4. Comparison of I-V curves of MEA at PEMFC operation condition (a) before MFC operation, (b) after MFC operation.

Table 1. Contents of impurities from MEA of MFC after operation with livestock wastes

MEA	Ca	Cu	K	Mg	Na	Ni	P
Pig	16,295	5.7	8,880	7,564	650	1.4	432
Duck	31,227	11.6	3,508	7,998	393	3.1	513
Cow	16,849	1.0	17,280	3,368	2,577	1.4	95.0

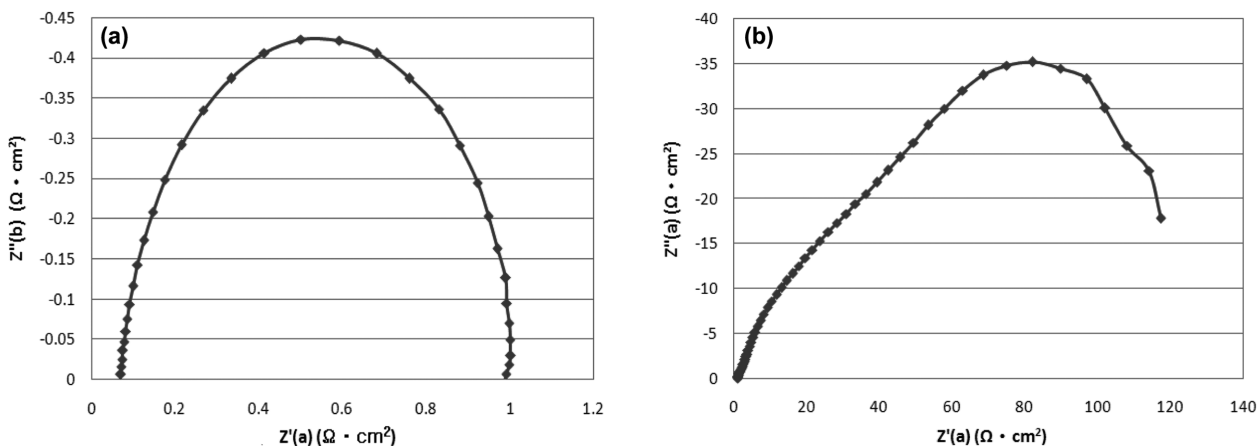


Fig. 5. Comparison of impedance curves of MEA at PEMFC operation condition (a) before MFC operation, (b) after MFC operation.

전체적으로 비교하면 MFC 구동 후 CV 전체 면적이 감소해 전체적으로 활성 면적이 감소했음을 보이고 있고, MFC 구동 후 CV가 수평이 되지 않고 대각선으로 기울어져 short 현상이 있음을 나타냈다. 미네랄과 금속 이온들에 의한 막 오염에 의해 short 현상 가능성이 높다. Fig. 6에서 초기 MEA의 CV는 전극 활성면적을 나타내는 0.2 V 위부분의 면적이 넓는데 MFC 구동 후에는 이 면적 즉 산소환원 활성면적(electrochemical surface area)이 급감해서 임피던스의 부하전달 저항이 증가했음을 확인할 수 있다.

MFC 구동과정에서 막 열화 정도를 파악하기 위해 LSV(Linear Sweep Voltammetry)에 의해 수소투과 전류를 측정 한 그래프를 Fig. 7에 나타냈다. Fig. 7에 보인 것처럼 MFC 구동 후 수소투과 전류가 처음보다 감소했다. 수소투과 전류가 감소한 것은 투과한 수소 양이 감소한 것이 아니라 전극 열화에 의해 전극 활성 면적이 감소한 효과 때문이다[7]. 즉 anode에서 수소가 막을 투과해 cathode Pt 촉매 상에 도달 후 산화하면서 수소투과전류가 발생하는데 Pt 촉매 활

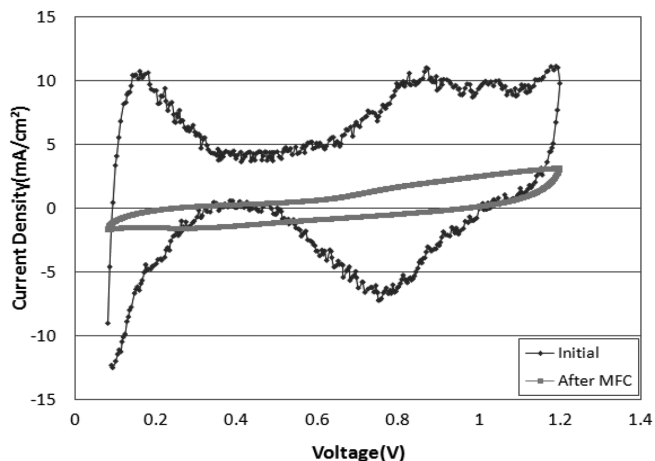


Fig. 6. Comparison of cyclo-voltammetry curves of MEA at PEMFC operation condition.

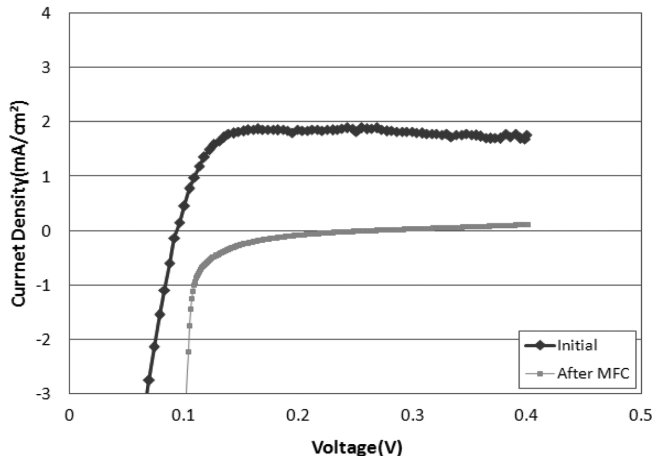


Fig. 7. Comparison of linear sweep voltammetry curves of MEA at PEMFC operation condition.

성면적이 감소하면서 산화반응을 못하고 지나간 수소가 있어 수소 투과 전류가 감소한 것이라 본다. 라디칼 발생에 의해 고분자막이 훼손되어 핀홀 등이 발생해 수소투과도 증가현상은 보이지 않고 LSV가 수평이 아니라 CV처럼 기울어져 short 현상이 있음을 나타내고 있다. short 현상이 있으면 anode에서 발생한 전자가 막을 통해 cathode에 직접 전달되므로 OCV 감소와 전류밀도가 감소하게 되고 이로 인해 전력밀도가 감소한다[8]. 전해질 막이 이온들에 오염되지 않는 구동 조건이 되게 하는 것이 MFC 성능 및 내구성 향상을 위해서 중요함을 확인하였다.

### 3-4. 축산분뇨균 분리 · 동정

미생물연료전지를 5일 구동한 후 anode막에 형성된 생물막에서 전기 생산에 관여했다고 생각되는 균을 분리했다(Table 2). 닭 분뇨로부터 6종의 미생물이 분리되었는데 이 중 2종의 *Brevibacillus* sp.의 유사도가 각 99.5%와 99.71%로 결정되어 *Brevibacillus agri* NRRL NRS-1219(T)(Genbank Accession No. D78454)와 *Brevibacillus parabrevis* IFO12334(T) (Genbank Accession No. D78463)로 판정하였다. 2종의 *Bacillus* sp.의 유사도는 각 99.31%와 99.46%로 결정되어 *Bacillus badius* ATCC14574(T) (Genbank Accession No. X77790)와 *Bacillus licheniformis* ATCC14580(T)(Genbank Accession No. AE017333)로 판정하였고, 1종의 *Kurthia*의 유사도는 99.79%이므로 *Kurthia gibsonii* NCIMB 9758(T)(Genbank Accession No. X70320)로, 1종의 *Brevibacterium*의 유사도는 99.93%로 *Brevibacterium luteolum* CF87(T)

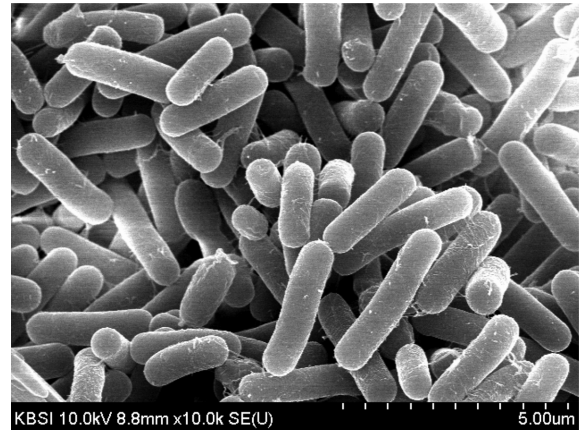


Fig. 8. SEM image of *Bacillus licheniformis* sp. separated from electrodes after MFC operation.

(Genbank Accession No. AJ488509)로 판정하였다. *Brevibacillus* sp.의 경우 단독으로 존재하는 경우에는 거의 전기를 생산하지 못하지만 다른 미생물이 생산한 electron shuttles(ESs)이 존재하는 경우에는 전기를 생산하는 것으로 알려져 있다. 특히 *Pseudomonas* sp.는 phenazine-1-carboxamide(PCN)과 biosurfactants(생물계면활성제)인 rhamnolipids와 같은 ESs를 분비하는 것으로 알려져 있고 *Brevibacillus* sp.가 이들과 함께 존재하는 경우에 전기 생산이 현저하게 증가했다고 보고되었다[9,10].

MFCs에 이용되는 대부분의 미생물들은 대부분 그람 음성균들이며 그람 양성균 중 *Clostridium butyricum* EG3, *Thermicola ferriacetica* Z-0001, *Bacillus subtilis* 3종만이 외부 매개체 없이 전기를 생산할 수 있는 것으로 알려져 있다[11]. *Bacillus subtilis*는 스스로 가용성의 매개체를 만들어 전자를 전달하는 것으로 알려져 있다. 닭 분뇨에서 분리된 *Bacillus licheniformis*는 Fig. 8 사진에 나타냈는데, 그람 양성균으로 cellulose와 hemi-cellulose를 분해하는 multi-enzyme complex를 분비하며[12] glucose, sucrose, fructose, bactopectone, yeast extract, non digestible proteins(난분해성 단백질)과 같은 다양한 질소원과 탄소원을 분해할 수 있는 효소를 분비한다고 보고되었다[13]. 따라서 *Bacillus licheniformis*는 미생물연료전지의 에너지원으로 좀 더 다양한 기질의 사용을 가능하게 할 것으로 생각된다. Wang 등[14]은 oligopeptides를 기질로 이용하는 MFC에 *Bacillus licheniformis*를 촉매원으로 사용하여 전기를 생산하였다. *Kurthia* sp.는 sulfonyleurea 제조제를 분해하는 효소활성이 있으며[15], *Brevibacterium*

Table 2. Microorganisms separated from MEA of MFC after operation with livestock wastes

	Name/Title	Accession No.	Pairwise Similarity (%)
Chicken Waste	C1 <i>Brevibacillusagri</i> NRRLNRS-1219(T)	D78454	99.50
	C2 <i>Brevibacillusparabrevis</i> IFO12334(T)	D78463	99.71
	C3 <i>Bacillusbadius</i> ATCC14574(T)	X77790	99.31
	C4 <i>Bacilluslicheniformis</i> ATCC14580(T)	AE017333	99.46
	C5 <i>Kurthiagibsonii</i> NCIMB9758(T)	X70320	99.79
	C6 <i>Brevibacteriumluteolum</i> CF87(T)	AJ488509	99.93
Pig Waste	P1 <i>Stenotrophomonasacidaminiphila</i> AMX19(T)	AF273080	100.00
	P2 <i>Lysinibacillusphaericus</i> C3-41	CP000817	100.00
	P3 <i>Bacillusaryabhatai</i> B8W22(T)	EF114313	100.00
	P4 <i>Ochrobactrumpseudintermedium</i> ,ADV31(T)	DQ365921	99.86

sp.는 amidase와 같은 단백질 효소를 가지고 있다[16]. anode 생물막의 다양한 미생물의 존재는 다양한 기질을 에너지원으로 사용하는 것을 가능하게 하며, 일부 미생물이 분비한 매개체가 매개체의 도움이 필요한 미생물에게 사용되어 전기 생산을 촉진시키는 결과를 가져왔기 때문에, 특별히 전기화학적 활성이 높다고 보고된 미생물은 존재하지 않았지만 비교적 높은 전력밀도를 나타냈다고 생각된다.

돼지분뇨로부터는 4종의 미생물이 분리되었는데 이 중 *Stenotrophomonas* sp., *Lysinibacillus* sp., *Bacillus* sp.의 유사도가 100%이므로 *Stenotrophomonas acidominiphila* AMX19(T)(Genbank Accession No. AF273080), *Lysinibacillus sphaericus* C3-41(Genbank Accession No. CP000817), *Bacillus aryabhattai* B8W2288(Genbank Accession No. EF114313)로 판정하였고, *Ochrobactrum* sp.와의 유사도가 99.86%로 결정되어 *Ochrobactrum psudintermedium* ADV31(T)(Genbank Accession No. DQ365921)로 판정하였다. *Stenotrophomonas acidaminiphila*는 그람 음성의 운동성 있는 간균으로 *Bacillus megaterium*, *Bacillus cibi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*와 함께 석유화학적 폐수의 (지방족과 방향족 탄화수소 화합물의 생분해 능력이 있다고 알려져 있으며[17], *Stenotrophomonas* sp.는 *Citrobacter* sp., *Pseudomonas* sp.과 함께 석유를 기질로 하는 연료전지의 촉매로 사용되어 석유를 분해하고 전기를 생산하였다[18]. *Lysinibacillus sphaericus*는 비교적 최근에 전기 생산을 위한 생물 촉매의 가능성이 있는 새로운 미생물로 알려졌다. 전기 생산을 위한 기질로 당보다는 단백질을 더 잘 이용하며 전극으로 전자전달을 촉진하는 전기화학적 화합물이 존재하는 것으로 알려져 있다. 도살장이나 고기 포장공장의 폐수와 같이 단백질성 물질을 많이 함유한 폐수의 친환경적인 처리와 함께 전기를 생산할 수 있는 가능성을 제시하였다[19]. Zuo, Lee. 등은 *Ochrobactrum anthropi* YZ-1을 촉매로 하는 미생물연료전지를 구동하였다[20,21]. 돼지분뇨에서 분리된 미생물들 중 *Stenotrophomonas acidaminiphila*와 *Lysinibacillus sphaericus*은 미생물연료전지에 적용해 전기를 발생했지만 다른 두 종은 적용 예가 아직 보고되지 않았다. 이들의 혼합 배양체는 다양한 기질의 이용, 매개체의 생산 및 이용과 같은 시너지 효과를 나타내서 이제까지 보고된 전력생산량 중 거의 최고의 결과를 얻었다.

#### 4. 결 론

PEMFC 용 MEA를 사용해 셀을 제작하고 가축분뇨를 기질로 균을 배양해 MFC를 구동한 결과를 다음과 같이 정리하였다.

여러 균을 혼합해 MFC를 구동하였을 때 단일 균으로 구동하였을 때보다 OCV가 높아져 혼합 배양에 의한 상승효과가 있음을 확인하였다. 돼지 분뇨, 소 분뇨, 닭 분뇨, 오리 분뇨 중의 균을 배양해 OCV를 측정할 결과, 돼지분뇨 > 닭 분뇨 > 오리 분뇨 > 소 분뇨 순으로 돼지 분뇨가 제일 높은 OCV를 나타냈다. 돼지 분뇨를 이용한 MFC에서 최고 963(mW/m<sup>2</sup>)의 높은 전력 밀도를 발생해 폐기물 처리와 동시에 전기에너지를 얻을 수 있음을 보였다. MFC 구동 후 전극에서 균을 분리해 동정하였는데 돼지 분뇨 구동 MFC에서는 4종의, 닭 분뇨 구동 MFC에서는 6종의 미생물을 분리하였다. 이 중 *Kurthiagibsonii*, *Brevibacterium luteolum*, *Bacillus aryabhattai*, *Ochrobactrum pseudintermedium* 4종의 균은 MFC에 사용된 보고가 없는 균이었다.

MFC 구동 후 MEA를 PEMFC 구동 조건에서 MEA 성능을 분석한 결과 막 저항이 166배, 부하 전달 저항이 357배 증가했다. 이와 같은 저항 증가는 기질 중 Na, Ca, K 이온들과 불순물들에 의한 막과 전극의 오염 때문으로, MEA의 오염이 MFC의 낮은 성능에 한 원인으로 작용함을 확인하였다.

#### References

1. Nester, E. W., Anderson, D. G., Roberts, C. E., Nerster, M. T., *Microbiology: A Human Perspective*, 7th ed., McGraw-Hill, New York, (2011).
2. Ministry of Environment, Environmental Statistics Yearbook, No. 25, Ministry of Environment(2012).
3. <http://eztaxon-e.ezbiocloud.net>.
4. Du, Z., Li, H. and Gu, T., "A State of the Art Review on Microbial Fuel Cells: A Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy," *Biotechnol. Adv.*, **25**, 464-482(2007).
5. Kim, J. R., Min, B. K. and Logan, B. E., "Evaluation of Procedures to Acclimate a Microbial Fuel Cell for Electricity Production," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **68**, 23-30(2005).
6. Min, B. K., Kim, J. R., Oh, S. E., Regan, J. M. and Logan, B. E., "Electricity Generation from Swine Wastewater Using Microbial Fuel Cells," *Water Res.*, **39**, 4961-4968(2005).
7. Lee, H., Kim, T. H., Sim, W. J., Kim, S. H., Ahn, B. K., Lim, T. W. and Park, K. P., "Pinhole Formation in PEMFC Membrane After Electrochemical Degradation and Wet/dry Cycling Test," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**, 487-491(2011).
8. Song, J. H., Kim, S. H., Ahn, B. K., Ko, J. J. and Park, K. P., "Effect of Electrode Degradation on the Membrane Degradation in PEMFC," *Korean Chem. Eng. Res. (HWAHAK KONGHAK)*, **51**(1), 68-72(2013).
9. Pham, T. H., Boon, N., Aelterman, P., Clauwaert, P., Vanhaecke, L., Verstraete, W. and Rabaey, K., "Metabolites Produced by *Pseudomonas* sp. Enable a Gram-positive Bacterium to Achieve Extracellular Electron Transfer," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **77**, 1119-1129(2008).
10. Watanabe, K., Manefield, M., Lee, M. and Kouzuma, A., "Electron Shuttles in Biotechnology," *Curr. Opin. Biotechnol.*, **20**, 633-642(2009).
11. Liu, M., Yuan, Y., Zhang, L. X., Zhuang, L., Zhou, S. G. and Niet, J. R., "Bioelectricity generation by a Gram-positive *Corynebacterium* sp. Strain MFC03 Under Alkaline Condition in Microbial Fuel Cells," *Bioresour. Technol.*, **101**, 1807-1811(2010).
12. Dyka, J. S., Sakkab, M., Sakkab, K. and Pletschke, B. I., "The Cellulolytic and Hemi-cellulolytic System of *Bacillus licheniformis* SVD1 and the Evidence for Production of a Large Multi-enzyme Complex," *Enzyme Microb. Technol.*, **45**, 372-378(2009).
13. Amutha, K. B. and Murugesan, A. G., "Biohydrogen Production Using Corn Stalk Employing *Bacillus licheniformis* MSU AGM 2 strain," *Renewable Energy*, **50**, 621-627(2013).
14. Wang, W., Wang, Z., Lin, X., Wang, Z. W. and Fu, F. F., "Simultaneous Analysis of Seven Oligopeptides in Microbial Fuel Cell by Micro-fluidic Chip with Reflux Injection Mode," *Talanta*, **100**, 338-343(2012).
15. Ruan, Z., Zhou, S., Jiang, S., Sund, L., Zhaie, Y., Wang, Y., Chen, C. and Zhao, B., "Isolation and Characterization of a Novel

- Cinosulfuron Degrading *Kurthia* Species from a Methanogenic Microbial Consortium,” *Bioresour. Technol.*, **147**, 477-483(2013).
16. Moreau<sup>1</sup>, J. L., Arnaud<sup>1</sup>, A. and Galzy<sup>1</sup>, P., “Optimization of Culture Conditions of *Brevibacterium* sp. for the Production of Amidase and Adipamidase,” *Microbiological Research*, **149**(1), 47-53(1994).
17. Cerqueira, V. S., Hollenbach, E. B., Maboni, F., Vainstein, M. H., Camargo, F. A. O., Carmo, M. D., Peralba, R. and Bento, F. M., “Biodegradation Potential of Oily Sludge by Pure and Mixed Bacterial Cultures,” *Bioresour. Technol.*, **102**, 11003-1010(2011).
18. Morrisa, J. M., Jin, S., Crimid, B. and Prudend, A., “Microbial Fuel Cell in Enhancing Anaerobic Biodegradation of Diesel,” *Chem. Eng. J.*, **146**, 161-167(2009).
19. Nandy, A., et al., “Utilization of Proteinaceous Materials for Power Generation in a Mediatorless Microbial Fuel Cell by a New Electrogenic Bacteria *Lysinibacillus sphaericus* VA5,” *Enzyme Microb. Technol.*, **53**, 339-344(2013).
20. Zuo, Y., Xing, D., Regan, J. M. and Logan, B. E., “Isolation of the Exoelectrogenic Bacterium *Ochrobactrum Anthropi* YZ-1 by Using a U-tube Microbial Fuel Cell,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 3130-3137( 2008).
21. Lee, D. J., Show, K. Y. and Wang, A., “Unconventional Approaches to Isolation and Enrichment of Functional Microbial Consortium - A Review,” *Bioresour. Technol.*, **136**, 697-706(2013).