

음폐수 이용 혐기성 소화의 내부 pH 조절에 따른 바이오가스 전환율 비교 및 미생물 군집도 분석

Influence of Performance and Microbial Community by Internal pH Control on Anaerobic Digestion of Food Waste Leachate

윤여명[†] · 조시경 · 정다영 · 이은진 · 허관용* · 신동혁* · 이창규** · 신항식
Yeo-Myeong Yun[†] · Si-Kyung Cho · Da-Young Jeong · Eun-Jin Lee
Kwan-Yong Huh* · Dong-Hyuk Shin* · Chang-Kyu Lee** · Hang-Sik Shin

한국과학기술원 건설 및 환경공학과 · *(주)안나비니테즈 · **한국건설기술연구원 수자원 · 환경연구본부

Department of Civil and Environmental Engineering, KAIST · *Annabini TEZ Corp.,

**Environmental Engineering Research Division, Korea Institute of Construction Technology

(2013년 7월 18일 접수, 2013년 8월 23일 채택)

Abstract : In this study, the performance and microbial community of anaerobic digestion fed by food waste leachate at low organic loading rate were investigated with and without internal pH control. Experimental results show that similar biogas yield was achieved in both reactors regardless of increase in pH, the concentrations of free ammonia and volatile fatty acids in case of without internal pH controlled one. The results of a methanogenic community analysis by Polymerase Chain Reaction and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis revealed that the apparent preponderance of *Methanosarcina* sp. could be one of reasons for the maintenance of reactor stability.

Key Words : Anaerobic Digestion, Food Waste Leachate, pH, Free Ammonia, PCR-DGGE

요약 : 본 연구에서는 음폐수를 이용 낮은 유기물 부하율에서 소화조 내부 pH 조절 유무에 따른 소화조 운전의 바이오가스 발생량 및 미생물 군집도 변화에 대한 비교 분석했다. 그 결과, 내부 pH를 조절하지 않은 반응조는 pH, Free ammonia, Volatile fatty acid의 증가에 의한 반응조 안정성이 떨어짐에도 불구하고 내부 pH 조절 반응조와 비슷한 바이오가스 전환율을 보였다. 이는 미생물 군집도 분석 결과에 따르면 외부환경에 대한 내성이 강한 *Methanosarcina* sp.의 우점에 의해 반응조의 안정성을 유지할 수 있었던 것으로 나타났다.

주제어 : 혐기성소화, 음폐수, pH, Free Ammonia, PCR-DGGE

1. 서론

최근 환경오염이 국제적인 이슈로 부각됨에 따라 선진국 들을 중심으로 다양한 환경오염 방지 국제협약 및 규정을 제정하고 있다. 2006년에는 “런던협약 96의정서” 발효에 의 해 우리나라도 2013부터 음폐수 등의 유기성 폐기물에 대하 여 해양배출이 전면 금지됨에 따라 안정된 육상처리 체계 확립이 필요하다.¹⁾

국내 음폐수는 거의 전량이 음식물 자원화 시설에서 발생되며 현재까지 하수 연계 처리를 제외하고는 안정된 육상처 리 체계가 마련되어 있지 않아 음폐수 육상처리의 전환체계 구축이 시급한 실정이다. 또한 화석연료 사용으로 인한 온실가스 발생을 저감시키고, 화석연료 대체에너지로서 유기 성 폐기물 혐기성 소화 등 신·재생에너지를 생산하는 방 법이 모색되고 있다. 이러한 측면에서 음폐수 이용 혐기성 소화는 국내·외 유기성 폐기물 관리 추세를 반영한 적절 한 육상처리 대안이 될 수 있으며, 환경문제를 해결하는 동 시에 화석연료 대체에너지를 생산하여 국내 온실가스 감축 에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.²⁾

유기성 폐기물을 이용한 혐기성 소화조 운전은 유기성 폐기물을 기질로 하여 가수분해와 산발효 및 메탄발효를 통해 최종 메탄을 생산하기까지 각각의 단계에 작용하는 다양한 미생물의 활성도 극대화를 위한 미생물학적 메커니즘을 고려한 적절한 제어를 통해 안정적이고 지속적인 운전이 필 요하다. 그러나 유기성 폐기물의 미생물 분해 과정에서 생산 되는 Ammonia, Sulfate, Light metal ions, Heavy metals, 기 타 중간 생산물 등에 의한 다양한 미생물학적 저해현상과 이에 따른 낮은 메탄가스 전환율과 불안정한 운전에 의한 운전 실패와 저해작용에 대한 연구가 보고되고 있다.³⁻⁵⁾

특히 혐기성소화 미생물의 주요 저해물질로 알려져 있는 Ammonia는 유기성 폐기물에 단백질 및 그 외 다양한 유기 질소 형태가 미생물에 의해 분해되면서 일부는 미생물의 합 성에 사용되지만 그 외는 Ammonia로 존재한다. Ammonia는 Ammonium ion (NH₄⁺)와 FA (Free ammonia) 형태로 구분되며 Ammonium ion는 미생물 효소의 활성도 감소에 영 향을 준다고 알려져 있으나 그 정도는 크지 않은 것으로 알 려져 있다. 반면 FA는 전기적 중성 형태로 Ammonium ion 보다 미생물의 세포막 내부 침투가 쉽다. 침투된 FA는 세포

[†] Corresponding author E-mail: ymyun@kaist.ac.kr Tel: 042-350-3653 Fax: 042-350-3610

내부 proton 균형을 파괴를 일으킴에 따라 proton 균형을 위한 세포 내부 에너지 소모를 통한 직접적이고 치명적인 미생물 활성도 감소를 유도한다고 보고되고 있다.^{3,6)}

FA에 의한 반응조 내부 미생물의 저해현상은 유기물 부하량 증가와 연관된다. 혐기성 소화 과정에서 유기물 부하율의 증가는 유기성 폐기물 처리 및 에너지 생산 등의 경제적 측면에서 중요하다. 그러나 급격한 유기물 부하량의 증가는 과도한 산발효에 의해 pH 감소와 메탄균의 저해작용에 따른 운전 실패를 초래할 수 있다. 반면에 내부 미생물의 적응을 고려한 적절한 유기물 부하량의 증가는 산발효와 메탄발효의 적절한 균형을 유지함에 따라 내부 pH의 지속적 유지가 가능하다. 그러나 반응조 운전이 장기화 됨에 따라 높은 유기물 부하율은 내부 BA (bicarbonate alkalinity)와 pH의 상승과 FA의 상승을 유도하고 이에 따라 반응조 내부 혐기성 미생물의 활성도 감소에 의한 연계처리수질 악화, 바이오가스 발생량 감소 등의 반응조 안정성 유지에 부정적 영향을 주는 것으로 알려져 있다.³⁾ 그러므로 지속적 운전을 위한 낮은 유기물 부하율 혐기성 소화운전 방법의 접근이 요구된다.

반응조 내부의 FA 제거를 위한 직접적 방법은 ammonia stripping, chemical precipitation 등이 대표적이다.³⁾ 그러나 반응조의 복잡성 및 경제적 측면에서 고려했을 때 적용이 불가능하다. 반면에 FA 농도를 고려한 적정 pH의 유지 방법의 적용이 좀더 현실적이다.⁷⁻⁹⁾ 적정 pH 유지를 위한 방법은 외부 산을 주입하는 방법과 반응조 내부를 희석하는 방법이 대표적이나 외부 산의 주입 방법은 값 비싼 화학약품의 사용에 의한 경제성이 떨어지므로 지속적인 약품주입은 현실적으로 불가능하다.¹⁰⁾ 그러므로 반응조 내부의 적절한 희석을 통한 pH 조절이 좀더 경제적이고 현실적인 방법인 대안으로 볼 수 있다.

따라서 본 연구에서는 낮은 유기물 부하율에서 희석을 통

한 소화조 내부 pH 조절 유무에 따른 소화조 운전의 안정성과 바이오가스 발생 비교를 수행했으며 PCR-DGGE (Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis)를 통해 Archaea 미생물 군집도 변화에 대한 분석을 수행했다.

2. 실험계획 및 실험 방법

2.1. 기질 및 식종 슬러지

혐기성 반응조의 기질로 사용되는 음폐수는 D시 음식물 자원화 시설에서 채취하여 반응조에 주입하기 앞서 1×1 mm sieve를 이용하여 고형물 제거를 했다. 미생물 식종을 위한 슬러지는 D시 하수처리장 소화조 유출수를 채취하여 24시간 동안 중력 농축하여 TS 2%로 조절한 후 반응조에 식종했다. 기질 및 식종 슬러지의 정보는 Table 1과 같다.

Table 1. Characteristics of feedstock and seed sludge

	Food waste leachate	Seed sludge
pH	4.5±0.3	7.2±0.1
TS (%)	12.1±0.2	2.5±0.21
VS (%)	10.7±1.0	1.7±0.13
VS/TS (%)	88±1.3	67±2
TCOD (g/L)	149±4.5	-
SCOD (g/L)	83±0.8	-
T-N (mg/L)	3,770±300	851±50
T-P (mg/L)	880±180	336±36
Total ammonia (mg/L)	896±65	384±48
VFA (mg COD/L)	12,320±480	123±38
Bicarbonate alkalinity (mg/L as CaCO ₃)	-	2,121±133

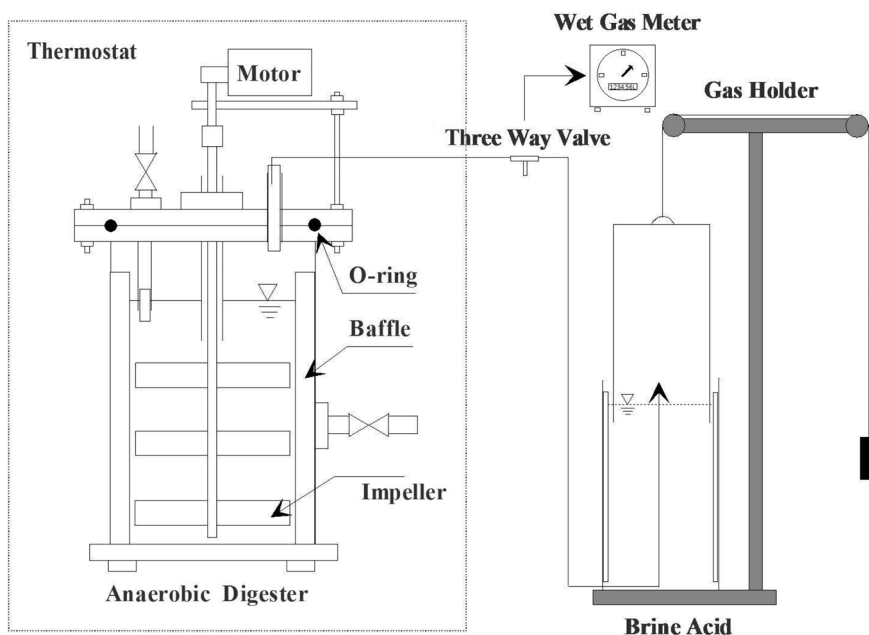


Fig. 1. Configurations of anaerobic reactor and gas collector.

2.2. 연속반응조 형태 및 운전방법

Lab-scale CSTR 반응조(Total volume of 45 L; Working volume of 35 L)는 Fig. 1과 같이 내부직경 340 mm, 높이 510 mm의 원통형으로 이루어졌으며 가스 저장조는 40 L의 바이오가스를 저장할 수 있도록 제작했다. 내부 교반은 모터에 의한 기계적 방법, 회전축에는 3쌍의 임펠러가 부착되었으며 반응조 내의 완전혼합을 위하여 반응조 내벽 측면에 일정한 크기의 baffle을 90° 간격으로 설치하였다. 완전혼합을 위해 임펠러 회전축 주변에서 공기의 유입과 발생된 바이오 가스의 유출을 방지하기 위하여 water sealing을 하는 방법이 이용되었다. 반응조는 약 35°C를 유지할 수 있는 항온실에서 음폐수 주입 주기를 24시간으로 한 반연속식 기질 주입 방법을 적용했다. 유입 음폐수는 하부를 통해 유입되었고, 유출수는 소화조 1/2 위치에서 채취할 수 있도록 하였으며, 생산 가스는 반응조 상단에 만들어진 유출구를 통해 습식 가스 저장조에서 포화식염수(NaCl 포화 용액 + 1 N H₂SO₄)로 채워진 조건 하에서 포집할 수 있도록 하였다.

운전 초기 전처리된 식종 슬러지를 소화조 2개조에 각각 주입했다. 반응조에 미생물 식종 후 약 5일간 기질 유입을 하지 않음으로써 미생물의 순응시간을 고려했고 슬러지 내부에 포함된 VFA의 농도가 0에 가까운 농도까지 감소되었을 때 반응조 R1, R2의 성공적인 Start-up을 위해 매우 낮은 유기물 부하율 수준인 0.35 kg VS/m³/d에서 기질 주입을 시작했다. 이때 바이오가스 전환율이 이론적인 가스 전환율(0.91 m³/kg VS_{removed}) 기준 80% 이상(0.72 m³/kg VS_{removed}) 수준과 유출 SCOD의 농도가 일정하게 유지된 상태를 정상상태의 진입으로 판단하고 단계적으로 유기물 부하율을 증가시키는 방식을 적용했다. 이후에는 단계적으로 유기물 부하율을 각각의 목표지점인 1.4 kg VS/m³/d에 도달할 때까지 상승시켰다. 실험 25 day를 기점으로 운전 종료 200일까지 반응조 R1은 희석을 하는 방법으로 내부 pH를 7.2~7.4 범위로 유지시켰다. 반면에 R2는 반응조 내부 희석을 하지 않았다.

2.3. 내부 pH 조절

반응조 내부 pH 분석을 위한 별도의 pH측정기를 설치하지 않았으며 분석은 매일 소화 유출수 샘플링 이후 30분 이내에 완료했다. R1의 반응조 내부 pH(7.2~7.4)의 조절을 위한 희석 방식은 미생물 유실 방지를 고려한 TS 범위를(2.0~2.1%) 동시에 유지하기 위해 아래와 같은 방식을 적용했다.

- 1) 내부 pH와 TS가 각각 7.4와 2.1%와 4,000 mg/L as CaCO₃을 초과한 경우, 반응조에서 4 L를 빼내고 동량의 증류수를 반응조에 채우는 방법을 적용했다.
- 2) TS는 2.0~2.1%으로 유지되고 있으나 pH가 7.4를 초과할 경우, 반응조에서 4 L를 유출하여 원심분리를 통해 고액분리와 상정수를 증류수로 교체하고 슬러지와 잘 섞은 후 반응조에 재 주입하는 방식을 적용했다.

2.4. 분석항목 및 방법

가스 발생량을 측정하기 위하여 Wet gas meter를 사용하고 메탄 용량 분석은 1.8 m × 2 mm Stainless steel column with Porapak Q (80/100 mesh) TCD column과 헬륨기체(Carrier gas)를 이용하는 Gow Mac GC (Gas chromatography, series 580) 이용하여 분석하였다.

VFA의 측정은 시료를 0.45 μm로 filtering한 후 UV (210 mm) HPLC (Spectra Physics사의 Spectra system P2000)을 이용하여 측정하였고, 이때 사용된 column은 300 m × 7.8 mm Aminex HPX-97H를 사용하고, 운반 용매는 0.6 mL/min의 유속에서 0.005 M sulfuric acid를 이용하였다.

COD는 Dischromate reflux method를 적용하였고 TN (Total nitrogen), TAN (Total ammonia), Alkalinity, pH, TS, VS 농도는 Standard methods 이용하여 분석했다.¹¹⁾

FA의 계산은 다음과 같은 식을 이용해 산정했다.¹²⁾

$$\frac{[FA]}{[TAN]} = \left(1 + \frac{10^{-pH}}{10^{-(0.09018 + (2729.92/T))}} \right)^{-1} \quad (1)$$

where [FA] is the free ammonia concentration (mg/L), [TAN] is the total ammonia nitrogen concentration (mg/L), and T is the temperature (K).

2.5. 미생물 분석

미생물 군집 분석을 위해 Ultraclean Soil DNA Kit (Cat# 12800-50; Mo Bio Laboratory Inc., USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA template에서 16 S rDNA 증폭을 위해 서로 다른 2개의 primer sets을 사용하여 PCR을 실시하였다. 1차 PCR은 PRA46f (5'-YTA AGC CAT GCR AGT-3')와 PREA1100r (5'-YGG GTC TCG CTC GTT RCC-3')을 사용했으며 DGGE를 위한 2차 PCR은 PARCH340f (5'-CCC TAC GGG GYG CAS CAG CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGC GGC GCA CGG GGG G -3')와 PARCH519r (5'-TTA CCG CGG CKG CTG -3')를 각각 사용했다. DNA 증폭을 위한 PCR 기기(automated thermal cycler, MWG-Bio TECH, Germany)의 온도조건은 92°C에서 2 min 동안 denaturation 한 후, 55°C에서 30 sec annealing, 30 cycles 반복 수행한 후, 마지막으로 72°C에서 7 min final extension을 수행하였다. PCR 혼합액은 25 ul pre-mix, 2 ul primer, 1 ul DNA template, 20 ul water로 총 50 ul로 이루어졌다.

DGGE는 40~60%의 변성제 농도 구배(변성제 농도 100%는 7 M Urea, 40% Formamide)를 가지는 7.5% Polyacrylamide Gel을 만든 후 실시하였다. 1X TAE buffer를 채운 DGGE 전기영동 기기(Bio-Rad D-code system, Hercules, CA, USA)에 PCR product 0.8% (wt/vol) agarose gel에 Loading한 후 65°C, 100 V, 20 min 동안 DNA 정렬시켰다. 그 다음 60°C, 70 V, 480 min으로 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 완

료되면 agarose gel을 ethidium bromide용액에 30 min 동안 착색을 시키고 UV transilluminator에서 DGGE 밴드 확인 후 원하는 band 부위를 잘라낸 뒤 30 μ L의 1X TAE Buffer 첨가하여 gel에서 DNA가 분리되도록 하였다. 분리된 DNA를 PARC340f와 PARC519r을 사용하여 3차 PCR을 재실시하고 이때 생성된 PCR product를 이용하여 sequence했다.

3. 결과 및 고찰

3.1. pH 조절에 의한 반응조 운전

Fig. 2는 반응조 내부 pH 조절 유무에 따른 주요 운전인자 변화를 보여준다. 전반적으로 운전 중에 반응조 희석에 따라 동시에 다양한 인자들의 조절이 가능한 것으로 나타났다. R1 반응조의 내부 pH는 운전 초반 7.0을 시작으로 증가를 보였고 운전 25일부터 내부 희석을 시작 이후부터 운전 종료 200일까지 목표 pH 범위 7.2~7.4를 유지했다. 이때 BA와 TAN은 약 3,300~4,000 mg/L as CaCO_3 , 600~800 mg/L 범위로 각각 유지되었다. 반면, R2 반응조의 내부 pH는 지속적으로 증가했고 운전 200일 이후에는 약 7.9~8.1까지 증가했으며 이때 BA와 TAN는 각각 9,000~10,000 mg/L as CaCO_3 , 1,700~1,900 mg/L까지 증가했다.

R1 반응조의 FA농도는 Fig. 2(d)에서 볼 수 있듯이 내부

희석을 통해 약 30 mg/L 이하로 지속적 운전이 가능했으나 R2 반응조의 내부 pH 상승과 BA, TAN의 연쇄적 증가에 의해 FA 증가가 뚜렷하게 나타났다. 150일 이후부터 약 180~210 mg/L의 농도를 유지했다.

본 실험 결과와 같이 pH의 증가에 따른 BA, TAN의 연쇄적 증가는 이미 많은 선행연구에서 보고가 되고 있으며 특히 pH의 증가는 ammonia inhibition과 관련 있는 FA의 증가와 관련이 있다.^{7,12,13} FA는 전기적 중성 형태로 Ammonium ion (NH_4^+)와 비교하여 상대적으로 미생물 세포막을 쉽게 통과할 수 있으며 미생물 내부의 pH의 증가를 유도한다. 이에 따라 세포 내부의 과도한 ATP의 소모 및 활성도를 감소시키는 Ammonia inhibition을 작용하고 최종적으로 바이오가스 생산의 감소를 초래하는 문제점이 발생하게 된다.¹³ 혐기성 미생물에 대한 FA의 독성 농도는 다양한 범위에서 발생한다고 알려져 있으며 이는 반응조의 온도와 기질의 종류, 미생물의 순응도 등의 다양한 운전조건에 의해서 보고되고 있다.¹³ 또한 FA에 대한 혐기성 미생물 종에 따라 독성 한계농도 범위도 다르다. 일단 FA의 독성이 시작되면 실제 Methanogenic microorganism은 상대적으로 Acidogenic microorganism보다 FA에 대한 내성이 떨어지므로 이들 간의 균형이 깨지면서 VFA의 축적으로 이어질 수 있다. 이와 관련하여 VFA와 바이오가스 전환율 변화에 대한 내용을 chapter 2에서 서술하였다.

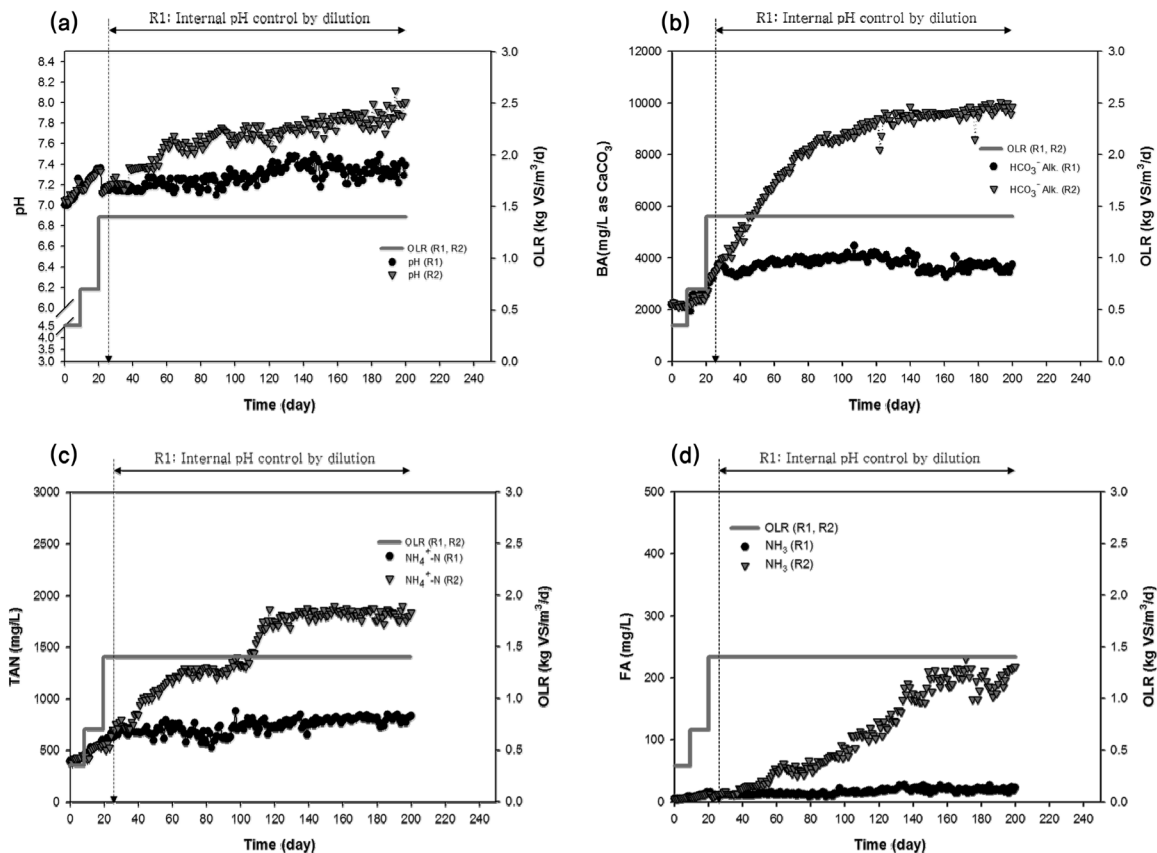


Fig. 2. (a) pH, (b) BA (Bicarbonate alkalinity), (c) TAN (Total ammonia), (d) FA (Free ammonia) on anaerobic digestion from food waste leachate with and without internal pH control.

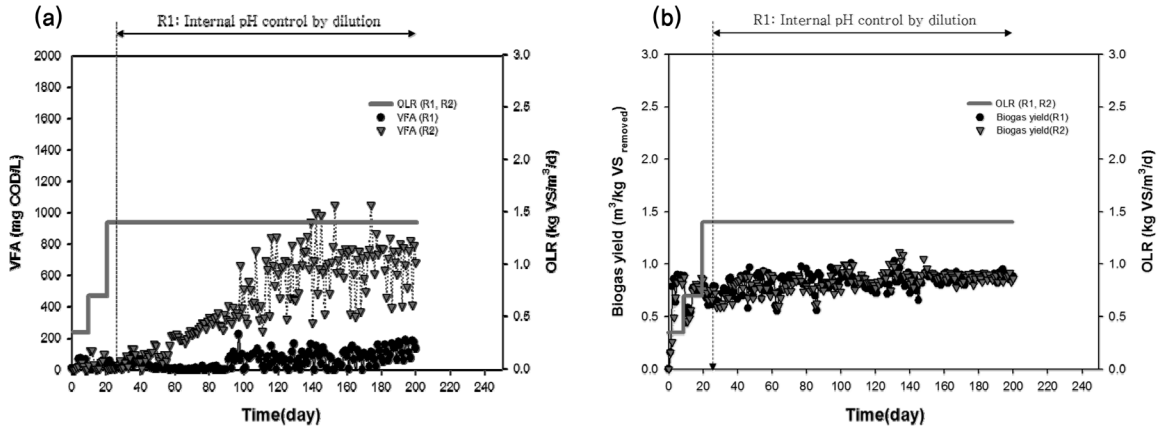


Fig. 3. VFA concentration and biogas yield on anaerobic digestion from food waste leachate with and without internal pH control.

3.2. VFA, 바이오가스 전환율

반응조 내부 VFA 농도변화는 Fig. 3과 같다. R1 반응조는 pH 조절을 통해 미생물에 발생할 수 있는 운전종료 200일 까지 VFA의 농도가 50~120 mg COD/L로 매우 안정적인 상태를 유지할 수 있었다. 그러나 R2 반응조는 운전 60일 이후부터 서서히 증가하기 시작하여 100일 이후부터는 400~1,050 mg COD/L까지 증가했다. 이는 반응조 내부의 pH, BA, FA의 상호 연계적인 증가에 의한 반응조의 안정성이 떨어졌으며 이에 따른 바이오가스 전환율의 차이를 비교했다.

반응조의 운전 초반과 비교하여 소화조의 운전기간이 지속됨에 따라 안정적인 바이오가스 전환율을 유지하는 것으로 나타났으며 R1과 R2의 내부 pH 조절과 무관하게 바이오 가스 전환율은 약 0.82~0.88 m³/kg VS_{removed}과 0.85~0.90 m³/kg VS_{removed}으로 각각 이론적 전환율 대비 89~90% 범위를 유지했다.

즉, R2반응조의 pH와 FA의 증가에 의한 VFA 농도의 증가는 Ammonia inhibition에 의해 미생물의 저해작용이 발생한 것으로 판단되나 그럼에도 불구하고 장시간 운전 기간 동안 반응조의 바이오가스 전환율의 감소가 없는 것으로 나타났다. 이는 장기간 낮은 유기물부하로 장기간 운전함에 따라 미생물의 순응작용(Acclimation)과 내부 환경에 맞는 미생물의 군집도 변화에 의한 것으로 사료된다.¹⁴⁾ 이에 따라 PCR-DGGE 분석을 통해 Methanogenic microorganism 군집도 변화 분석을 진행했다.

3.3. 미생물 군집도 분석(Microbial community analysis by PCR-DGGE)

Fig. 4, Table 2와 같이 운전 초기(=A) 및 200일 운전 이후 (R1 = B and R2 = C) 내부 미생물 분석 결과를 비교했다. 실험 결과에 의하면 운전 최초 메탄균 미생물은 주로 Hydrogenotrophic methanogen이 6종, Acetoclastic methanogen이 2종으로 Hydrogenotrophic methanogen이 우점하는 것으로 나타났으나 200일 운전 이후 Acetoclastic methanogen이 7종, Hydrogenotrophic methanogen이 3종으로 바뀔에 따라 200

일간의 연속 운전 동안 미생물 군집도가 변화한 것으로 나타났다. 이는 반응 초기에는 성장속도가 빠르고 주위환경 변화에 좀더 유연성을 지니며 H₂/CO₂와 Formate를 기질로 하는 Hydrogenotrophic methanogen이 발현한 것으로 나타나며 운전 200일 이후에는 반응조의 안정화를 통해 Acetate를 기질로 하는 Acetoclastic methanogen이 우점을 이루는 것으로 나타났다.²⁸⁾

한편 내부 희석에 의한 pH 조절 유무에 따른 R1과 R2의 미생물의 군집도 비교에 따르면 운전 200일 이후의 R1 반응조 내부에는 *Methanosaeta* sp. 3종, *Methanosarcina* sp. 2종으로 나타났다. 반면에 R2 반응조 내부에는 FA 농도 누적에 따라 *Methanosaeta* sp. 1종으로 감소한 반면, *Methano-*

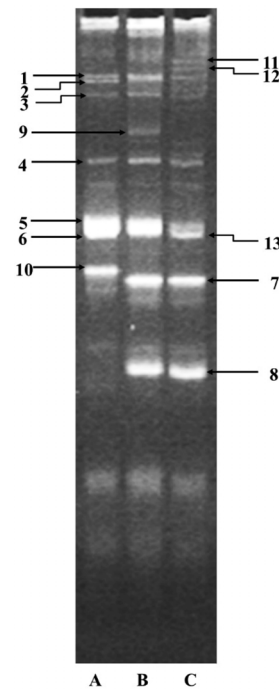
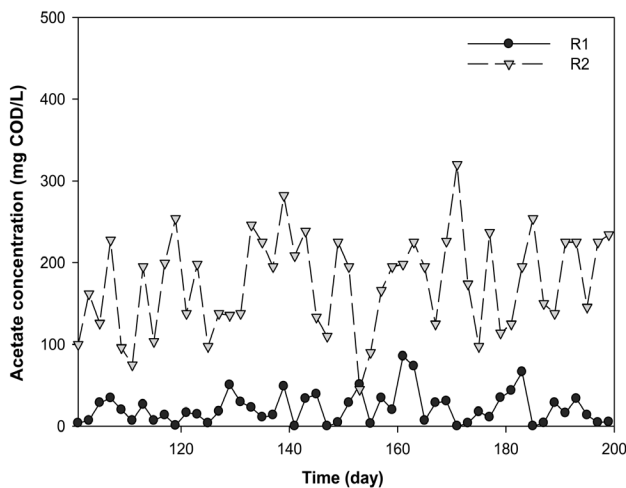


Fig. 4. DGGE profiles of the 16 S rDNA gene fragment during the continuous operation (A = Seed sludge; B = After 200 days operation with internal pH control; C = After 200 days operation without internal pH control).

Table 2. Affiliation of DGGE fragments determined by their 16 S rDNA sequence

Band	Affiliation	Groups	Accession number	Determined (bp)	Similarity (%)	Sample	Ref.
1	<i>Methanocaldococcus infernus</i> ME	Hydrogenotroph	NR_074258	225/225	100	ABC	14)
2	<i>Methanobrevibacter millerae</i>	Hydrogenotroph	NR_042785	168/168	100	A	15)
3	<i>Methanotorris formicicus</i>	Hydrogenotroph	NR_028646	217/228	95	ABC	16)
4	<i>Methanobrevibacter gottschalkii</i>	Hydrogenotroph	NR_044789	174/174	100	ABC	17)
5	<i>Methanosaeta concilii</i>	Acetoclastic	NR_028242	226/283	80	AB	18)
6	<i>Methanothermobacter defluvi</i> ADZ	Hydrogenotroph	NR_028248	205/223	92	A	19)
7	<i>Methanosaeta thermophila</i> PT	Acetoclastic	NR_028157	122/124	98	BC	20)
8	<i>Methanosarcina mazei</i>	Acetoclastic	NR_074221	283/283	100	BC	21)
9	<i>Methanosaeta harundinacea</i>	Acetoclastic	NR_043203	128/128	100	B	22)
10	<i>Methanosphaerula palustris</i>	Hydrogenotroph	NR_044790	156/168	93	A	23)
11	<i>Methanosarcina barkeri</i>	Acetoclastic	NR_074253	266/283	94	C	24)
12	<i>Methanosarcina semesiae</i> MD1	Acetoclastic	NR_028182	192/223	86	C	25)
13	<i>Methanosarcina lacustris</i>	Acetoclastic	NR_041876	283/283	100	ABC	26)

**Fig. 5.** Acetate concentration on anaerobic digestion from food waste leachate with and without internal pH control.

sarcina sp.는 4종으로 증가한 것으로 나타났다. 반응조 R1과 R2의 미생물 군집 변화는 내부 반응조 내부의 FA와 더불어 Acetate의 농도 분포와 관련성을 보인다.^{29,30)} Fig. 5와 같이 운전 100일 이후의 R2의 Acetate의 농도가 100~300 mg COD/L 이상을 유지함에 따라 Acetate 150 mg/L 이상에서 저해작용을 받을 수 있는 *Methanosaeta* sp.종이 감소했고 상대적으로 내성이 강한 *Methanosarcina* sp.가 우점을 한 것으로 추정된다.

즉, 이는 미생물의 형태학적 특성에 따라 FA와 Acetate 농도에 비교적 잘 견딜 수 있는 *Methanosarcina* sp.가 우점함에 따라 가스 전환율의 유지가 가능했던 것으로 사료된다.²⁹⁾ Cho³⁰⁾에 따르면 *Methanosarcina* sp.는 cluster 형태로 존재함에 따라 volume/surface가 높고 *Methanosaeta* sp.는 filamentous 형태로 volume/surface가 상대적으로 낮음에 따라 *Methanosarcina* sp.보다 외부 독성 물질에 취약하다고 보고되고 있다. 또한, *Methanosarcina* sp.는 상황에 따라 Acetoclastic & hydrogenotroph 형태로 생장이 가능한 측면이 오

직 Acetoclastic 형태의 *Methanosaeta* sp.과 비교하여 외부 환경에 내성이 큰 이유이며 본 연구 결과 중 R2 반응조의 pH 및 FA 증가에 따라 *Methanosaeta* sp.가 감소되고 *Methanosarcina* sp.이 증가된 이유와 관련이 깊다.

4. 결론

본 연구에서는 안정적 반응조 운영을 위해 낮은 유기물부하(1.4 kg/m³/d)에서 내부 희석을 통한 pH 조절 유무에 따른 운전인자 및 가스 전환율을 비교 분석을 수행했으며 그 결과는 다음과 같다.

1) R1 반응조는 운전 종료 200일까지 목표 pH 범위 7.2~7.4를 유지함에 따라 FA와 VFA는 각각 약 30 mg/L 이하, 50~120 mg COD/L로 지속적 조절이 가능했으나 R2 반응조의 내부 pH 상승과 BA, TAN의 연쇄적 증가에 의해 FA 180~210 mg/L, VFA 400~1,050 mg COD/L로 증가했다.

2) R2 반응조의 FA와 VFA 증가함에도 불구하고 R1과 대등한 바이오가스 전환율의 유지가 가능했다. 이는 R2 반응조 내부 FA 및 Acetate 농도에 취약한 *Methanosaeta* sp.의 감소와 상대적으로 내성이 강한 *Methanosarcina* sp.의 우점에 의한 것으로 판단된다. 비록 매우 낮은 유기물 부하율로 인해 본 연구 목적인 내부 pH 조절 유무에 따른 바이오가스 전환율의 차이를 결과를 얻을 수 없었으나 낮은 농도 범위 변화에 따른 반응조 내부 메탄균 군집 변화를 발견할 수 있었다.

3) 따라서 본 연구 결과를 바탕으로 향후 높은 유기물 부하율 조건에서 내부 pH 조절에 따른 지속적인 바이오가스 생산의 가능성 연구와 이에 따른 미생물 군집도 변화 분석이 요구된다.

사사

This work was supported by “Eco-innovation (EI)” of “Ministry of Environment (MEV) (405-112-029)”.

KSEE

참고문헌

1. Behera, S. K., Park, J. M., Kim, K. H. and Park, H. S., “Methane production from food waste leachate in laboratory-scale simulated landfill,” *Waste Manage.*, **30**, 1502~1508 (2010).
2. Shin, H. S., Han, S. K., Song, Y. C. and Lee, C. Y., “Performance of UASB reactor treating leachate from acidogenic fermenter in the two-phase anaerobic digestion of food waste,” *Water Res.*, **35**, 3441~3447(2001).
3. Yenigün, O. and Demirel, B., “Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review,” *Proc. Biochem.*, **48**, 901~911 (2013).
4. Martín-González, L., Font, X. and Vicent, T., “Alkalinity ratios to identify process imbalances in anaerobic digesters treating source-sorted organic fraction of municipal wastes,” *Biochem. Eng. J.*, **76**, 1~5(2013).
5. Zhao, H., Li, J., Li, J., Yuan, X., Piao, R., Zhu, W., Li, H., Wang, X. and Cui, Z., “Organic loading rate shock impact on operation and microbial communities in different anaerobic fixed-bed reactors,” *Bioresour. Technol.*, **140**, 211~219 (2013).
6. Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J. and Jones, D. L., “Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources,” *Bioresour. Technol.*, **99**, 7928~7940(2008).
7. Wang, Q., Peng, L. and Su, H., “The effect of a buffer function on the semi-continuous anaerobic digestion,” *Bioresour. Technol.*, **139**, 43~49(2013).
8. Duan, N., Dong, B., Wu, B. and Dai, X., “High-solid anaerobic digestion of sewage sludge under mesophilic conditions: feasibility study,” *Bioresour. Technol.*, **104**, 150~156(2012).
9. Yun, Y. M., Jung, K. W., Kim, D. H., Oh, Y. K. and Shin, H. S., “Microalgal biomass as a feedstock for bio-hydrogen production,” *Int. J. Hydro. Energy*, **37**, 15533~15539(2012).
10. Bouallagui, H., Lahdheb, H., Ben, Romdan, E., Rachdi, B. and Hamdi, M., “Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co-substrates addition,” *J. Environ. Manage.*, **90**, 1844~1849(2009).
11. APHA, “Standard methods for the examination of water and wastewater,” 20th ed. USA American Public Health Association, Washington, DC.(1998).
12. Hansen, K. H., Angelidaki, I. and Ahring, B. K., “Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia,” *Water Res.*, **32**, 5~12(1998).
13. Wilson, C. A., Takács, I., Wett, B., Murthy, S. N. and Novak, J. T., “The kinetics of process dependent ammonia inhibition of methanogenesis from acetic acid,” *Water Res.*, **19**, 6247~6256(2012).
14. Chen, Y., Cheng, J. J. and Creamer, K. S., “Inhibition of anaerobic digestion process: A review,” *Bioresour. Technol.*, **99**, 4044~4064(2008).
15. Jeanthon, C., L'Haridon, S., Reysenbach, A. L., Vernet, M., Messner, P., Sleytr, U. B. and Prieur, D., “*Methanococcus infernus* sp. nov., a novel hyperthermophilic lithotrophic methanogen isolated from a deep-sea hydrothermal vent,” *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **48**, 913~919(1998).
16. Rea, S., Bowman, J. P., Popovski, S., Pimm, C. and Wright, A. D., “*Methanobrevibacter millerae* sp. nov. and *Methanobrevibacter olleyae* sp. nov., methanogens from the ovine and bovine rumen that can utilize formate for growth,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **57**, 450~456(2007).
17. Takai, K., Nealson, K. H. and Horikoshi, K., “*Methanoterris formicicus* sp. nov., a novel extremely thermophilic, methane-producing archaeon isolated from a black smoker chimney in the Central Indian Ridge,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **54**, 1095~1100(2004).
18. Miller, T. L. and Lin, C., “Description of *Methanobrevibacter gottschalkii* sp. nov., *Methanobrevibacter thaueri* sp. nov., *Methanobrevibacter woesei* sp. nov. and *Methanobrevibacter wolinii* sp. nov.,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **52**, 819~822 (2002).
19. Patel, G. B. and Sprott, G. D., “*Methanosaeeta concilii* gen. nov., sp. nov. (“*Methanothrix concilii*”) and *Methanosaeeta thermoacetophila* nom. rev., comb. nov.,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **40**, 79~82(1990).
20. Nakamura, K., Takahashi, A., Mori, C., Tamaki, H., Mochimaru, H., Nakamura, K., Takamizawa, K. and Kamagata, Y., “*Methanothermobacter tenebrarum* sp. nov., a hydrogenotrophic, thermophilic methanogen isolated from gas-associated formation water of a natural gas field,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **63**, 715~722(2013).
21. Kamagata, Y., Kawasaki, H., Oyaizu, H., Nakamura, K., Mikami, E., Endo, G. and Yamasato, K., “Characterization of three thermophilic strains of *Methanothrix* (“*Methanosaeeta*”) *thermocephala* sp. nov. and rejection of *Methanothrix* (“*Methanosaeeta*”) *thermoacetophila*,” *Int. J. syst. Bacterio.*, **42**, 463~468(1992).
22. Deppenmeier, U., Johann, A., Hartsch, T., Merkl, R., Schmitz, R. A., Martinez-Arias, R., Henne, A., Wiezer, A., Bäumer, S., Jacobi, C., Brüggemann, H., Lienard, T., Christmann, A., Bömeke, M., Steckel, S., Bhattacharyya, A., Lykidis, A., Overbeek, R., Klenk, H. P., Gunsalus, R. P., Fritz, H. J. and Gottschalk, G., “The genome of *Methanosarcina mazei*: evidence for lateral gene transfer between bacteria and archaea,” *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, **4**, 453~461(2002).
23. Ma, K., Liu, X. and Dong, X., “*Methanosaeeta harundinacea* sp. nov., a novel acetate-scavenging methanogen isolated from a UASB reactor,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **56**, 127~131(2006).
24. Cadillo-Quiroz, H., Yavitt, J. B. and Zinder, S. H., “*Methanosphaerula palustris* gen. nov., sp. nov., a hydrogenotrophic methanogen isolated from a minerotrophic fen peatland,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **59**, 928~935(2009).
25. Gonnerman, M. C., Benedict, M. N., Feist, A. M., Metcalf,

- W. W. and Price, N. D., "Genomically and biochemically accurate metabolic reconstruction of *Methanosarcina barkeri* Fusaro, iMG746," *Biotechnol. J.*, In press(2013).
26. Lyimo, T. J., Pol, A., Camp, H. J., Harhangi, H. R. and Vogels, G. D., "*Methanosarcina semesiae* sp. nov., a dimethylsulfide-utilizing methanogen from mangrove sediment," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **50**, 171~178(2000).
27. Simankova, M. V., Parshina, S. N., Tourova, T. P., Kolganova, T. V., Zehnder, A. J. and Nozhevnikova, A. N., "*Methanosarcina lacustris* sp. nov., a new psychrotolerant methanogenic archaeon from anoxic lake sediments," *Syst. Appl. Microbiol.*, **24**, 362~367(2001).
28. Demirel, B. and Scherer, P., "The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review," *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.*, **7**, 173~190(2008).
29. Boone, D. R., Whitman, W. B. and Rouviere, P., "Diversity and taxonomy of methanogens. In: Ferry JG (ed) Methanogenesis ecology, physiology, biochemistry & genetics," Chapman & Hall, New York, pp. 35~80(1993).
30. Cho, S. K., Im, W. T., Kim, D. H. Kim, M. H., Shin, H. S. and Oh, S. E., "Dry anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: Performance and methanogenic community analysis," *Bioresour. Technol.*, **131**, 210~217(2013).