Journal of the Korea Organic Resources Recycling Association, 25(1), pp.57-65 (2017)
ISSN 1225-6498 eISSN 2508-3015 https://doi.org/10.17137/korrae.2017.25.1.57

Original paper

저품위 석탄을 충전한 칼럼실험에서의 바이오가스 생산에 관한 연구

윤석표, 임학상†, 윤여명*
세명대학교 바이오환경공학과
하와이대학교 농업산림자원관리학과*

A Study on Biogas Production from Low Rank Coal in a Column Experiment

Seok-Pyo Yoon, Hak-Sang Lim†, Yeo-Myeong Yun*
Department of Biological and Environmental Engineering, Semyung University
Renewable Energy and Water Research Laboratory, College of Agriculture, Forestry and Natural Resource Management, University of Hawaii at Hilo*

(Received: Feb. 1, 2017 / Revised: Feb. 28, 2017 / Accepted: Feb. 28, 2017)

ABSTRACT: In a column experiment with low rank coal, rice straw was additionally supplied to induce methane gas generation by microorganisms in the state of supplying microorganisms and nutrients, and long-term biogas production characteristics were observed. When the weight ratio of the rice straw to coal was 0.04 or less, there was no significant gas generation. At 0.08, the biogas was generated for about 90 days. However, the methane gas generation was only 5% compared with the vial test result at optimum condition. Therefore, in order to produce biogas in the coal deposit *in situ*, a reactor that operates at COD concentration of 2000 mg/L or more at a ratio of 1:3 or more of rice straw to coal should be installed on the ground or under the ground. Liquid from the column filled with coal and rice straw and a liquid from vial containing rice straw were analyzed by microbial community analysis using pyrosequencing method, and compared the dominant microbial species among the two samples. In terms of the uniformity and diversity of the bacteria, the coal-filled column showed various species distribution, which has shown to be a disadvantageous microbial distribution to methane production.

Keywords: Low rank coal, biogas, rice straw, column experiment, pyrosequencing

초 록: 저급탄을 충전한 칼럼실험에서 미생물과 영양물질을 공급한 상태에서 미생물에 의한 메탄가스 발생을 유도하기 위하여 볏짚을 추가로 공급하여 장기간 바이오 가스 발생 특성을 관찰하였다. 충전한 석탄 대비 볏짚의 무게비가 0.04 이하에서는 유의미한 가스의 발생이 없었으며, 0.08에서는 약 90일간 바이오 가스가 발생되었으나, 최적 조건에서의 vial 실험 결과와 비교하면 투입한 볏짚 무게당 바이오 가스의 발생량이 5 % 수준에 불과하였다. 따라서 원위치에서 석탄을 채굴하지 않은 상태에서 바이오 가스를 생산하기 위해서는 볏짚 : 석탄의 비율이 1:3 이상의 조건에서 분해액의 COD 농도가 2000 mg/L 이상이 되도록 운전하는 반응조를 지상 혹은 지중에 설치할 필요가 있다. 또한 석탄과 볏짚을 충전한 칼럼실험 후의 지중수는 볏짚만을 투입한 vial 내 용액

† Corresponding Author (e-mail: hslim@semyung.ac.kr)

과 함께 파이로시퀀싱 방법으로 미생물 군집 분석을 실시하여 두 시료 간의 우점하는 미생물 종을 비교하였다. Bacteria의 균일도와 다양성 측면에서 석탄 충전탑이 보다 다양한 종분포를 이루고 있으며, 이는 결과적으로 메탄 생성에는 불리한 미생물 분포임을 나타낸다.

주제어: 저품위 석탄, 바이오 가스, 볏짚, 칼럼실험, 파이로시퀀싱

1. 서 론

저급탄(Low Rank Coal)은 고급탄(High Rank Coal)의 매장량과 유사할 정도로 높으나[1] 아직 많은 개발이 이루어지지 않았다. 이는 회분함량이 높고, 30% 이상의 높은 수분함량을 가지고 있으며, 발열량이 낮기 때문에 발전 효율이 낮고, 수분의 흡탈착에 의한 자연발화 위험성이 높아 저장 및 이송이 어려운 단점이 존재하기 때문이다. 이러한 단점을 극복하기 위한 방안의 하나로 저급탄을 채굴하지 않은 매장상태의 석탄층 속에서 미생물과 영양물질을 공급하여 석탄의 분해에 의하여 바이오 가스를 생산하는 방안을 고려할 수 있다[2].

석탄을 채굴하지 않고 매장상태에서 바이오가스를 얻는 아이디어는 실제 석탄층에서 메탄가스가 발생하고 있고, 실험실에서의 vial 연구에서도 메탄 생성량이 보고되고 있으나[3-10], 본 연구진의 선행연구 연구에 의하면 수 kg의 석탄을 충전하고 1년 이상 관찰한 칼럼 실험에서 미생물과 영양물질을 공급하여도 메탄가스는 발생하지 않았다. 이는 석탄에서 미생물이 가용한 충분한 농도의 기질을 얻기 어렵거나, 미생물에 저해 작용을 일으키는 물질이 석탄에서 용해되어 나오는 것으로 추정된다. 이를 극복하기 위해 *Yoon et al.*은 vial 규모의 실험에서 외부탄소원으로 볏짚을 첨가하였을 때 저등급 석탄의 분해가 촉진되는 것을 확인하였으며, 이때 볏짚대 갈탄의 비율이 1:3 이상이 되고, 지중수에서의 COD 농도가 2000 mg/L 이상이 될 때 석탄층에서의 메탄 발생이 원활하게 이루어짐을 보고하였다[11].

본 연구에서는 저등급 석탄을 충전한 칼럼층에 볏짚을 탄소원으로 일정량을 공급한 경우의 석탄층에서의 메탄 발생 특성을 장기간 관찰하였다. 아울러 볏짚을 첨가하여 장기간 운전한 석탄층의 지중수와 최적의 영양물질과 미생물 공급 상태에서 볏짚 만 넣고 vial에서 혐기성으로 분해한 경우의 수용액 속의 미생물 종 분포를 파이로시퀀싱 기법으로 비교하였다. 이를 통해 저등급 석탄을 채굴하지 않고 원지반층에서 미생물에 의한 바이오가스를 생산하기 위한 방안을 제시하고자 하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 칼럼 충전실험

혐기성 미생물이 이용할 영양물질은 Shelton & Tiedje(1984)의 방법에 따라 영양배지를 조제하였으며[12], 식종 미생물은 맥주공장에서 발생한 granular type의 소화슬러지를 사용하였다. 실험에 사용한 저급탄과 볏짚의 물리적 성상은 Table 1과 같다. 선행연구 결과에 기초하여 스테인리스 스틸로 제작한 칼럼에 저품위 석탄을 충전하고, 1단계에서는 석탄 충전층과 볏짚 충전층을 별개의 반응조로 해서 매일 1시간동안 1 공극 부피 (pore volume)에 해당하는 1.2 L의 영양물질이 포함된 수용액을 정량펌프로 순환시켰으며, 이때 석탄과 볏짚의 비율은 무게비로 1:0.02로 하였다. 운전 결과 메탄 생성이 미미하여, 2단계에서는 2개의 칼럼 중 한 개는 이전과 유사하게 운전하되 석탄과 볏짚의 무게비를 1:0.04로 하였으며(Column 2), 다른 1개는 석탄층 위에 직접 볏짚을 넣되 석탄과 볏짚의 무게비를 1:0.08로 하였다(Column 1). 석탄을 충전한 칼럼은 내경 13.7 cm, 높이 32.3 cm의 스테인리스 재질로 만들었으며(총 부피 4.8 L), 석탄은 전체 높이의 절반 정도를 충전하여 상부는 발생한 바이오가스를 저장하는 공간으로 활용하였다. 볏짚을 충전한 칼럼은 내경 13.7 cm, 높이 8.5 cm의 스테인리스 재질로

Table 1. Physico-chemical properties of lignite and rice straw

Parameter	Lignite	Rice straw
Moisture content (as received)	31.33 %	8.37 %
Ash (as received)	4.20 %	10.91 %
Volatile matter (as received)	27.29 %	64.79 %
Fixed carbon (as received)	37.18 %	15.93 %
Carbon (dry)	58.24 %	37.17 %
Hydrogen (dry)	4.07 %	5.92 %
Oxygen (dry)	35.00 %	49.71 %
Nitrogen (dry)	1.13 %	1.13 %
Sulfur (dry)	1.56 %	2.65 %
Calorific value [kcal/kg] (as received)	4925	3801

만들었으며(총 부피 1.2 L), 직렬형태로 2단으로 연결하여 실제 볏짚이 충전된 부피는 2.4 L였다. 석탄충전 칼럼과 볏짚충전 칼럼은 실리콘 튜브로 연결하고, 내부에 채워진 영양물질이 포함된 수용액은 매일 한 차례 정량펌프로 1시간 동안 600 mL를 순환시켰다(Table 2, Fig. 2).

석탄을 충전한 칼럼에서 발생한 가스는 유리 시린지를 이용한 유량계를 이용하여 매일 가스 발생량을 측정하고, 가스의 농도는 Gas Chromatography (GC-6890N, Agilent technologies, USA) 열전도도 검출기로 분석하였다. 실험 종료 시점에서 석탄을 충전한 칼럼 속의 지중수를 배출시켜 pH와 COD를 측정하였다[13].

Table 2. Condition of column experiments

Item		Column 1	Column 2
Coal filled column	Total volume	4.8 L	4.8 L
	Coal filled volume	2.4 L	2.4 L
	Nutrient solution	1.2 L	1.2 L
	Sludge as inoculum	240 mL	240 mL
	Coal	1.5 kg	1.5 kg
	$NaHCO_3$	1.44 g	2.88 g
	Rice straw	120 g	–
Rice straw filled column	Volume	–	2.4 L
	Nutrient solution	–	1 L
	Rice straw	–	60 g
	Sludge as inoculum	–	360 mL
	Yeast extract	–	15 g

Fig. 1. Column experimental apparatus.

2.2. 미생물 군집 분석

칼럼 실험 중 메탄이 발생하는 시점에서 석탄 충전 칼럼에서 채취한 지중수(Lignite Column)와 볏짚만을 투입하고, 하수슬러지로 식종하여 메탄이 활발히 발생하는 시점에서 채취한 BMP 실험 Vial에서 채취한 시료(Rice Straw) 등 2종에 대하여 미생물 종 특성 분석을 의뢰하여 비교하였다. 시료는 0.45 ㎛ 시린지 필터(Hyundai Micro, Korea)로 여과한 후, 분석전문업체인 마크로젠에 위탁하여 파이로시퀀싱(Pyrosequencing) 방법을 시행하였다. 샘플 내부 DNA 추출은 Ultraclean Soil DNA Kit (Cat #12800-50; Mo Bio Laboratory Inc., West Carlsbad, CA)을 이용하였고, 추출된 DNA는 UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (Mo BioLaboratories)를 이용하여 정제하였다. 박테리아 분석에 27F (5' GAGTTTGATCMTGGCTCAG 3')와 800R (5' TACCAGGGTATCTAATCC 3')이 사용되었고, Archaea 분석에는 Arc8f (5' TTCCGGTTG ATCCYGCCGGA 3')와 Arc519r (5' TTACCGCGGC KGCTG 3') 16S universal primers가 각각 적용되었다. A Fast Start High Fidelity PCR System (Roche)을 이용 PCR을 진행했으며 조건은 다음과 같다: 94 ℃ for 3 min followed by 35 cycles of 94 ℃ for 15 s, 55 ℃ for 45 s and 72 ℃ for 1 min, and a final elongation step at 72 ℃ for 8 min.

454 pyrosequencing Genome Sequencer FLX Titanium (Life Sciences, Branford, CT)을 이용하여 sequencing을 수행했다. 생성된 염기서열은 MOTHUR 프로그램을 이용하여 FASTA 추출을 하였으며, 이를 NCBI BLAST database (www.ncbi.nlm.nih.gov)에서 최종데이터를 추출하였다[14].

3. 결과 및 고찰

3.1. 칼럼 충전 실험에 의한 메탄가스 발생

연구진의 선행 연구에 의하면 영양물질과 미생물을 공급하는 경우에도 석탄을 단독기질로 이용하는 경우 석탄농도가 0.6 %(6 g/L)이상이면 메탄가스 발생에 저해를 일으키는 것으로 확인되었다. 따라서 혐기성 미생물의 생체량을 유지할 수 있도록 외부탄소원을 공급하되, 너무 급격하게 분해되지 않으면서도, 비교적 저렴하게 확보할 수 있는 셀룰로즈와 리그닌을 주성분으로 하는 재료인 볏짚을 지상 혹은 지중에 설치한 혐기성 분해장치에서 유기산을 생성시킨 후, 최적 농도 상태에서 이를 지중의 석탄층에 공급함으로써 저품위 석탄에 의한 메탄가스 생성 저해현상을 극복하고, 원위치에서 메탄가스를 생산하고자 하였다.

석탄충전탑과 볏짚충전탑을 별도로 운영하면서 (석탄 : 볏짚 중량비 = 1:0.02) 정량펌프를 이용하여 지중수를 하루 1시간씩 순환시킨 경우, 최초에 식종슬러지를 투입한 후 약 1주일간 바이오가스가 발생하였으며 이후 더 이상 의미있는 가스 발생은 미미하였다. 따라서 이는 석탄 분해에 의한 가스생성이라기 보다는 식종슬러지의 자체 분해에 의해서 발생되는 가스로 보인다.

따라서 2단계로 석탄 충전량 대비 볏짚 투입비율을 1:0.08로 더 높이고, 석탄과 볏짚을 분리하지 않고, 석탄층 표면에 직접 볏짚을 투입하여 볏짚의 분해에서 발생하는 유기산이 바로 석탄층에 접촉하도록 운전하였다. 이 경우 약 90일 동안 바이오가스가 발생하였다(Fig. 2). 누적 바이오가스 생산량은 1,252 mL였으며, GC 분석결과 메탄가스 발생량은 생성된 바이오가스의 11.5%에 해당하는 143 mL이었다. 이는 최적조건의 vial 실험(BMP 실험; 석탄이 12 g, 볏짚 첨가량을 3~6 g 첨가한 경우; 석탄: 볏짚 중량비 = 1:0.25~1:0.5)[11]과 비교하면 볏짚 첨가량 기준 바이오 가스 발생량은 5 % 수준에 불과하였다. 즉, vial 실험에 비하여 칼럼실험에서는 석탄 대비 볏짚의 첨가비율이 1/3~1/6 수준으로 낮았는데, 상대적으로 낮은 볏짚 비율과 볏짚이 미생물에 의해 분해되기에 충분한 접촉이 되지 않은 이유로 메탄가스의 발생이 낮았던 것으로 추정된다.

석탄충전 칼럼에서 메탄가스의 발생이 종료된 후 지중수를 분석한 결과는 Table 2와 같다. 분석 결과에 의하면 COD 농도가 메탄 생성을 위한 최소 농도인 2000 mg/L[11]에 미치지 못하였다. Column 2가 Column 1 보다 COD 농도가 높았으며, 낮은 pH

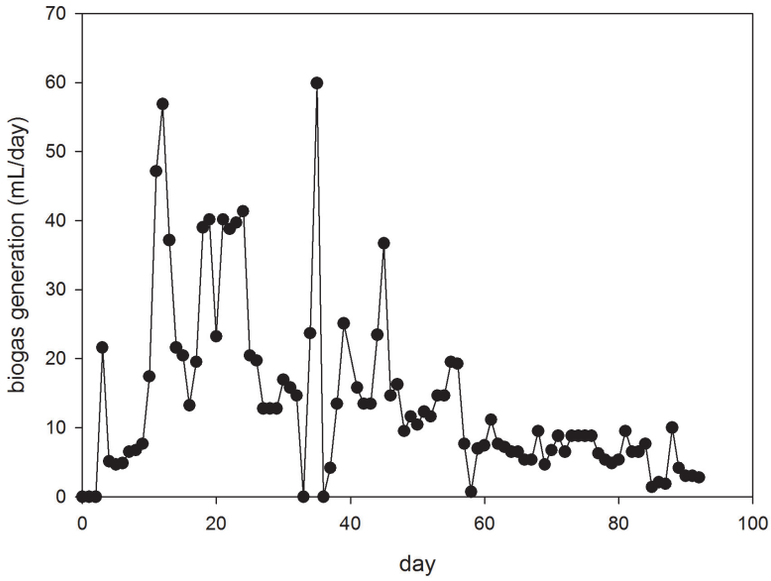


Fig. 2. Biogas generation in a coal-filled column containing rice straw

Table 2. Analysis of leachate concentration of coal-filled column

Parameter	Column 1	Column 2	
		Coal filled column	Rice straw filled column
pH	6.6	6.5	5.8
COD (mg/L)	669	872	1455

는 볏짚의 분해로 유기산이 생성된 것에 기인하는 것으로 추정된다.

3.2. 파이로시퀀싱 방법을 이용한 미생물 군집 분석

파이로시퀀싱을 이용한 미생물 군집 분석에 의하면 볏짚을 첨가한 석탄 충전탑(Lignite Column)과 볏짚에 하수슬러지 만을 식종한 시료(Rice Straw) 간에는 명확한 미생물 군집도의 차이를 보였다.

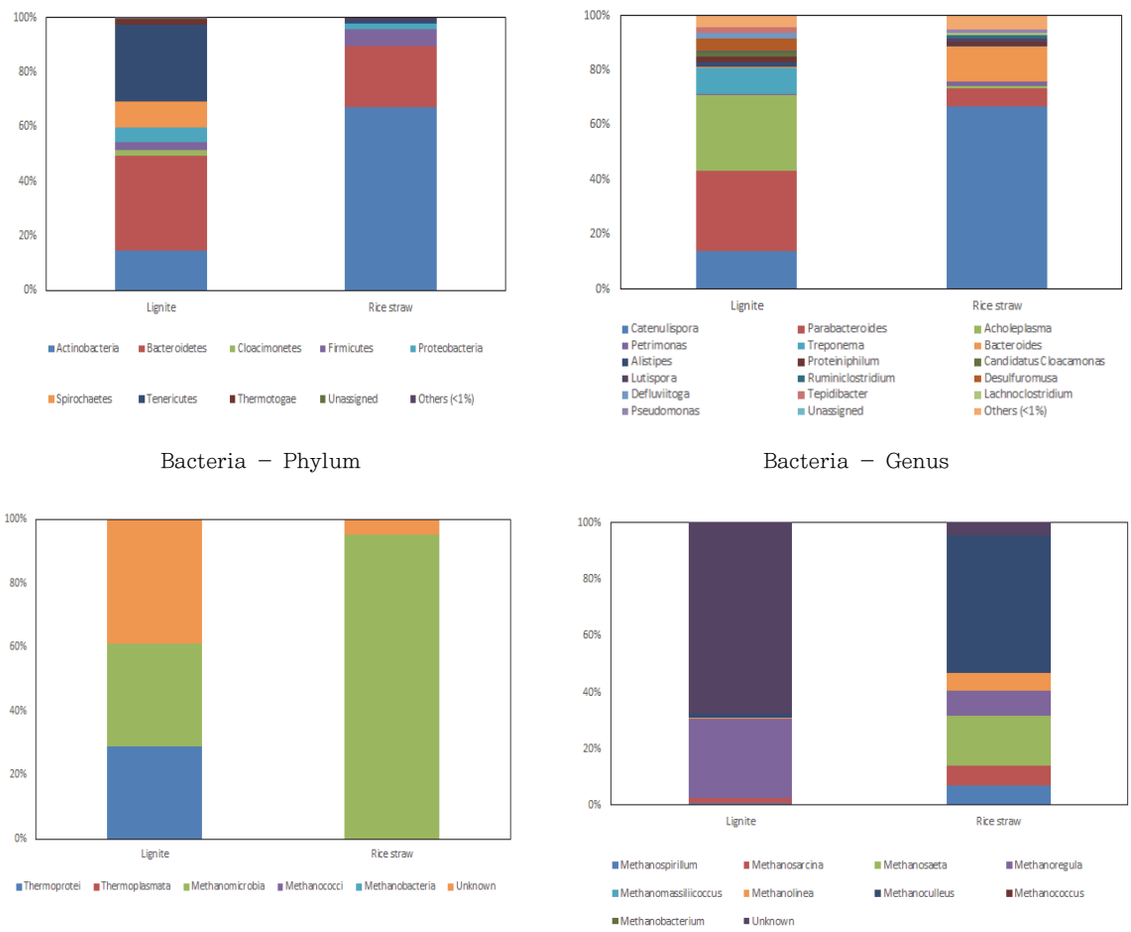
Bacteria의 Operational taxonomic units (OTUs)의 경우, Lignite Column이 Rice Straw에 비하여 다소 높은 수치를 보였다. 또한 Shannon, Simpson index 결과에 따르면 Lignite Column의 미생물 균일도 (evenness)와 다양성(diversity)이 모두 Rice Straw에 비하여 증가된 것으로 나타났다. 이는 Rice Straw의 경우 메탄 생성 위주의 미생물 군집을 나타내는 반면, 석탄 충전탑의 경우 보다 다양한 종 분포를 이루고 있으며, 이는 결과적으로 메탄 생성에는 불리한 미생물 분포를 나타냄을 알 수 있다.

반응조 내부 미생물 군집의 다양성 평가에 따른 미생물 군집도 정량화 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 미생물 분석 결과는 phylum-class-order-family-genus level에서 수준 별로 분석하였는데 Unknown의 비중이 최대 0.92%이어서 미생물 군집 정확성이 유효하다고 판단된다.

Phylum 수준의 분석 결과, Lignite Column의 경우 *Bacteroidetes*가 34.8%, *Tenericutes*가 28.2 %, *Actinobacteria*가 14.8 %를 나타낸 반면, Rice

Table 3. Comparison of diversity of microbial communities

Group	Sample Name	OTUs	Chao1	Shannon	Simpson	Goods Coverage
Bacteria	Lignite column	71	92	3.8391	0.8724	0.9904
	Rice Straw	63	71	2.3722	0.5414	0.9956
Archaea	Lignite column	34	34	3.1305	0.8337	0.9998
	Rice Straw	15	15	2.2966	0.6925	0.9997



Bacteria – Phylum

Bacteria – Genus

Archaea – Class

Archaea – Genus

Fig. 3. Comparison of microbial community

Straw는 *Actinobacteria*가 67.1 %, *Bacteroidetes*가 22.5 %로 분포에 있어서 큰 차이를 보였다.

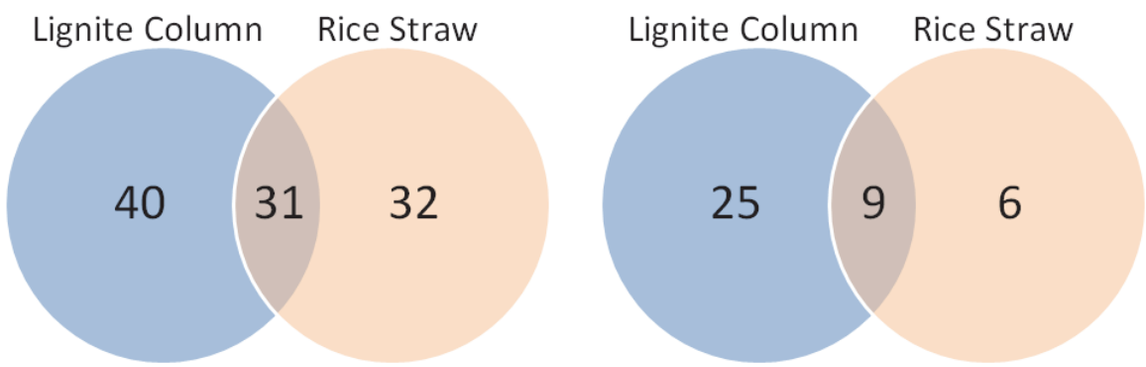
Genus 수준 군집도 분석에 따르면 Lignite Column의 경우 *Parabacteroides* 29.1 %, *Acholeplasma* 27.8 %, *Catenulispora* 14.1 %, *Treponema* 9.3 %, *Desulfuromusa* 4.5 %로 우점종을 차지한 반면, Rice Straw는 *Catenulispora*가 67.1 %로 우점종을 차지하였으며, 다음으로 *Bacteroides*가 12.7 %를 차지하였다.

*Acholeplasma*는 석탄분해에 관여하는 미생물로 보고되며[15,16], *Parabacteroides*는 cellulose 계통 당화 미생물로 알려져 있다[17]. SRB인 *Desulfuromusa*의 증가는 석탄에 황 성분이 존재함에 따라 이들 종의 활성이 높아진 것으로 추정된다. *Bacteroides*는 슬러지 및 음식물 혐기성 분해시 발견되는 종으로[18] Rice straw의 경우 슬러지를 식종하였으므로 이들 종이 잔류한 것으로 추정된다.

Archaea의 OTUs의 경우도, Lignite Column이 Rice Straw에 비하여 다소 높은 수치를 보였다.

미생물 분석 결과는 phylum–class–order–family–genus level에서 수준 별로 분석하였는데 Unknown의 비중이 Lignite Column의 경우 38.7 %, Rice Straw의 경우 4.3 %로 Lignite Column은 Unknown의 비중이 높은 편이었다.

Class 수준 군집도 분석에 따르면 Lignite Column의 경우 *Methanomicrobia*가 32.1 %, *Thermoprotei*가 29.0 %를 나타내었다. Rice Straw의 경우 *Methanomicrobia*가 95.2 %로 대다수를



(a) Bacteria Group (b) Archaea Group

Fig. 4. Comparison of microbial community by Venn diagram

차지하였다. Class 레벨에서 보면 Rice straw에 비하여 Lignite Column의 경우 *Methanomicrobia*의 감소를 보였다. 이는 결과적으로 Lignite Column의 경우 볏짚을 첨가하였음에도 불구하고 석탄을 이용하여 메탄을 생성하기에는 여전히 불리한 환경임을 보여주고 있다.

Genus 수준 군집도 분석에 따르면 Lignite Column의 경우 Unknown이 67.7 %로 가장 높아 2/3 이상이 알 수 없는 것으로 조사되었고, *Methanoregula*가 27.8 %로 다음을 나타내었다. Rice Straw의 경우 *Methanoculleus*가 48.6 %, *Methanosaeta*가 17.4 %, *Methanoregula*가 9.1 %, *Methanosarcina*가 7.2 %로 분석되었다.

Genus 레벨에서도 Lignite Column에서 *Methanosarcina*와 *Methanosaeta*의 감소는 Class 레벨의 결과와 일맥상통한 결과를 보이고 있다. 즉, 전체적으로 메탄생성 미생물의 감소를 확인할 수 있었다. 상대적인 종 분포에서 *Methanoregula*의 증가가 보이는데, 이는 기존 석탄분해 연구에서 자주 발견되는 메탄균으로 알려졌으며, 이들이 석탄에서의 메탄 생성에 기여하는 것으로 유추된다[19,20].

미생물의 군집도 변화는 Fig. 4의 벤다이어그램 결과에서도 확인할 수 있다. Bacteria Group에서 두 샘플간 공통적으로 분포하고 있는 bacteria OTUs 그룹은 31개, archaea OTUs 그룹은 9개이며, 오직 Lignite column에만 분포하는 bacteria OTUs는 40개, archaea OTUs는 25개로 나타났다. 반면에 오직 Rice straw에만 분포하는 bacteria OTUs는 32개, archaea OTUs는 6개로 나타났다.

4. 결 론

1. 칼럼에 석탄을 충전하고 미생물과 영양물질을 공급하여 장기간 운전한 결과 석탄 대비 볏짚의 중량비가 0.04이하에서는 메탄가스의 생산이 미미하였으며, 석탄 대비 볏짚의 중량비가 0.08인 경우에는 약 90일 동안 바이오가스가 발생하였다. 하지만, 이 경우에도 최적조건의 vial 실험 결과와 비교했을 때 볏짚 첨가량을 기준으로 한 바이오 가스 발생량은 5 % 수준에 불과하였다. 이는 본 연구의 칼럼 실험이 최적 조건의 vial 실험시 사용한 석탄 대비 볏짚의 첨가율과 비교할 때 1/3~1/6 수준으로 낮은데 기인하는 것으로 판단된다. 따라서 석탄층에서 메탄가스의 생산을 유도하기 위해서는 충분한 탄소원의 공급이 필요하며, 볏짚을 이용하는 경우 볏짚이 차지하는 부피를 고려할 때 지상 혹은 지중에 볏짚을 분해시켜 유기산을 생성시키는 반응조를 설치하고, COD 기준으로 2000 mg/L 이상이 되는 분해액을 석탄층에 공급하는 것이 효과적일 것으로 판단된다. 이때 석탄을 분해시키는 미생물의 개체수를 증식시키기 위해 유기산 생성 반응조에는 저급탄을 첨가시키되, 볏짚과 석탄의 중량비는 1:3 이상이 되어야 한다.

2. 파이로시퀀싱을 이용한 미생물 군집 분석에 의하면 볏짚을 첨가한 석탄 충전탑과 볏짚에 하수

슬러지 만을 식종한 시료 간에는 명확한 미생물 군집도의 차이를 보였다. Bacteria의 균일도와 다양성 측면에서 석탄 충전탑이 보다 다양한 종분포를 이루고 있으며, 이는 결과적으로 메탄 생성에는 불리한 미생물 분포임을 나타내고 있음을 보여주었다. Genus 수준 군집도 분석에 따르면 Lignite Column의 경우 *Parabacteroides* 29.1 %, *Acholeplasma* 27.8 %, *Catenulispora* 14.1 %, *Treponema* 9.3 %, *Desulfuromusa* 4.5 %로 우점종을 차지한 반면, Rice Straw는 *Catenulispora*가 67.1 %로 우점종을 차지하였으며, 다음으로 *Bacteroides*가 12.7 %를 차지하였다. Archaea의 경우 Genus 수준 군집도 분석에 따르면 Lignite Column의 경우 Unknown이 67.7 %로 가장 높아 2/3 이상이 알 수 없는 것으로 조사되었고, *Methanoregula*가 27.8 %로 다음을 나타내었다. Rice Straw의 경우 *Methanoculleus*가 48.6 %, *Methanosaeta*가 17.4 %, *Methanoregula*가 9.1 %, *Methanosarcina*가 7.2 %로 분석되었다. Lignite Column에서 *Methanosarcina*와 *Methanosaeta*의 감소를 통해 메탄생성 미생물의 감소를 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 2013년도 산업통상자원부의 재원으로 한국에너지기술평가원(KETEP)의 지원을 받아 수행한 연구 과제입니다. (No. 20132020000170)

References

1. World Energy Resources, 2013 Survey, World Energy Council (2013).
2. Wang, F., Jeon, J.Y., Lim, H.S., Yoon, S.P., "Basic study on the in-situ biogenic methane generation from low grade coal bed", J. of KORRA, 23(4), pp. 11~20. (2015).
3. Jones, E.J.P., Voytek, M.A., Corum, M.D., Orem, W.H., "Simulation of methane generation from nonproductive coal by addition of nutrients or a microbial consortium", Applied and Environmental Microbiology, 76(21), pp. 7013~7022. (2010).
4. Jones, E.J.P., Voytek, M.A., Warwick, P.D., Corum, M.D., Cohn, A., Bunnell, J.E., Clark, A.C., Orem,W.H., "Bioassay for estimating the biogenic methane-generating potential of coal samples", International Journal of Coal Geology, 76, pp. 138~150. (2008).
5. Gallagher, L.K., Glossner, A.W., Landkamer, L.L., Figueroa, L.A., Mandernack, K.W., Marr, J.M., "The effect of coal oxidation on methane production and microbial community structure in Powder River Basin coal", International Journal of Coal Geology, 115, pp. 71~78. (2013).
6. Opara, A., Adams, D.J., Free, M.L. McLennan, J., and Hamilton, J., "Microbial production of methane and carbon dioxide from lignite, bituminous coal, and coal waste materials", Applied and Environmental Microbiology, 96-97, pp. 1~8. (2012).
7. Haider, R., Ghauri, M.A., SanFilipo, J.R,, Jones, E.J., Orem, W.H., Tatu, C.A., Akhtar, K., Akhtar, N., "Fungal degradation of coal as a pretreatment for methane production", Fuel, 104, pp. 717~725. (2013).
8. Krüger, M., Beckmann, S., Engelen, B., Thielemann T., Cramer, B., Schippers. A., Cypionka, H., "Microbial methane formation from hard coal and timber in an abandoned coal mine", Geomicrobiology Journal, 25, pp. 315~321. (2008).
9. Harris, S.H., Smith, R.L., and Barker, C.E., "Microbial and chemical factors influencing methane production in laboratory incubations of low-rank subsurface coals", International Journal of Coal Geology, 76, pp. 46~51. (2008).
10. Huang Z., Urynowicz, M.A., Colberg, P.J.S., "Bioassay of chemically treated subbituminous coal derivatives using Pseudomonas putida F1", International Journal of Coal Geology, 115, pp. 97~105. (2013).

11. Yoon, S.P., Jeon, J.Y., Lim, H.S., “Stimulation of biogenic methane generation from lignite through supplying an external substrate”, International Journal of Coal Geology, 162, pp. 39~44. (2016).
12. Shelton, D.R. and Tiedje, J.M., "General method for determining anaerobic biodegradation potential", Appl Environ Microbiol, 47(4), pp. 850~854. (1984).
13. APHA, AWWA, and WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. (1998).
14. Na, J.-G, Lee, M.-K, Yun, Y.-M, Moon, C, Kim, M.-S., Kim, D.-H., "Microbial community analysis of anaerobic granules in phenol-degrading UASB by next generation sequencing", Biochemical Engineering Journal, 112, pp. 241~248. (2016).
15. Green, M.S., Flanegan, K.C., Gilcrease, P.C., “Characterization of a methanogenic consortium enriched from a coalbed methane well in the Powder River Basin, U.S.A.”, International Journal of Coal Geology, 76, pp. 34~45. (2008).
16. Kryachko, Y., Dong, X., Sensen, C.W., Voordouw, G. "Compositions of microbial communities associated with oil and water in a mesothermic oil field", Antonie van Leeuwenhoek, 101, 493~506. (2012).
17. Meslé, M., Dromart, G., Haeseler, F., Oger, P.M., "Classes of organic molecules targeted by a methanogenic microbial consortium grown on sedimentary rocks of various maturities", Frontiers in Microbiology, 6, Article 589. (2015).
18. Yun, Y.M., Kim, D.H., Cho, S.K., Shin, H.S., Jung, K.W., Kim, H.W., "Mitigation of Ammonia Inhibition by Internal Dilution in High-Rate Anaerobic Digestion of Food Waste Leachate and Evidences of Microbial Community Response", Biotechnology and Bioengineering, 113(9), 1892~1901. (2016).
19. Gründger, F., Jiménez, N., Thielemann, T., Straaten, N., L ders, T., Richnow, H.-H., Krüger, M., "Microbial methane formation in deep aquifers of a coal-bearing sedimentary basin, Germany", Frontiers in Microbiology, 6, Article 200. (2015).
20. Wawrik, B., Mendivelso, M., Parisi, V.A., Suflita, J.M., Davidova, I.A., Marks, C.R., Nostrand, J.D.Van, Liang, Y., Zhou, J., Huizinga, B.J., Strąpoc´, D., Callaghan, A.V., "Field and laboratory studies on the bioconversion of coal to methane in the San Juan Basin", FEMS Microbiol Ecol, 81, pp. 26~42. (2012).