

ORIGINAL ARTICLE

암모니아 부하에 따른 프로피온산 중온 혐기성 소화 미생물 군집 변동 조사

Le Thi Nhu Trang · 이준엽^{1)*}

부경대학교 지구환경시스템과학부(환경공학전공), ¹⁾부경대학교 환경공학과

Effect of Ammonia Load on Microbial Communities in Mesophilic Anaerobic Digestion of Propionic Acid

Le Thi Nhu Trang, Joonyeob Lee^{1)*}

Division of Earth Environmental System Science (Major of Environmental Engineering), Pukyong National University, Busan 48513, Korea

¹⁾Department of Environmental Engineering, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Abstract

The present study investigated the effect of ammonia load on microbial communities in mesophilic anaerobic digestion of propionic acid. A laboratory-scale continuous anaerobic digester treating propionic acid as a sole organic substrate was operated under non-inhibitory condition and inhibitory conditions with ammonia (1.5 g and 3.5 g ammonia-N/L, respectively), and bacterial and archaeal communities in the steady states of each ammonia condition were analyzed using high-throughput sequencing. Thirteen bacterial families were detected as abundant bacterial groups in mesophilic anaerobic digestion of propionic acid. Increase in ammonia concentration resulted in significant shifts in microbial community structures. *Syntrophobacter*, *Pelotomaculum*, and *Thermovigra* were determined as the dominant groups of (potential) propionate oxidizing bacteria in the non-inhibitory condition, whereas *Cryptanaerobacter* and *Aminobacterium* were the dominant groups of (potential) propionate oxidizing bacteria in the ammonia-inhibitory condition. *Methanoculleus* and *Methanosaeta* were the dominant methanogens. Acetate-oxidation coupled with hydrogenotrophic methanogenesis might be enhanced with increases in the relative abundances of *Methanoculleus* and *Tepidanaerobacter acetatoxydans* under the ammonia-inhibitory condition. The results of the present study could be a valuable reference for microbial management of anaerobic digestion systems that are exposed to ammonia inhibition and propionic acid accumulation.

Key words : Anaerobic digestion, Propionic acid, Ammonia, Microbial communities, Methanogens

1. 서론

혐기성 소화공정은 미생물에 기반한 생물학적 유기성 폐기물 처리기술로 유기성 오염물질처리와 동시에 에너

지원인 메탄가스 생산을 달성할 수 있어 지속 가능한 처리방법으로 세계적으로 각광 받고 있다. 최근 국내외에서 음식물류폐기물 등의 고농도 유기성폐기물의 혐기성 소화를 통한 처리 및 에너지화의 연구 및 산업화가 활발히

Received 28 October, 2021; Revised 2 December, 2021;

Accepted 2 December, 2021

*Corresponding author: Joonyeob Lee, Department of Environmental Engineering, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Phone : +82-51-629-6525

E-mail : Leejy@pknu.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© 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.

진행되고 있으며, 이에 따라 공정 최적화 및 안정적 운영 기술 개발연구도 활발히 수행되고 있다(Lee et al., 2018).

혐기성 소화는 통성 혐기성 및 절대 혐기성 미생물에 의해 고분자의 유기성 물질이 최종적으로 메탄, 이산화탄소 및 부산물로 전환되는 생화학적 반응이다. 유기산은 탄소원 2~6개의 짧은사슬지방산들을 통칭하는 표현으로, 혐기성 소화에서 메탄균의 직/간접 기질이 되는 중요 중간물질이다. 그 중 프로피온산은 표준조건에서 열역학적으로 분해가 용이하지 않으며, 수소분자 농도가 낮은 조건($< 10^4$)에서 분해가 가능하여 수소이용성 미생물과 프로피온산 분해미생물 간의 긴밀한 공생관계가 요구된다(Fukuzaki et al., 1990).

한편 혐기성 소화 공정에서 프로피온산축적은 소화조 내 총 프로피온산 생성속도와 총 프로피온산 소모속도 간의 불균형에서 유래되며, 프로피온산축적이 진행될수록 pH 감소와 함께 메탄생성균 및 프로피온산 분해균의 생장에 추가적인 저해를 주어 공정 불안정화를 가속시키고, 최악의 경우 공정 실패로 귀결될 수 있다(Ahring et al., 1995). 실규모 소화조의 경우, 실패한 소화조를 회복 또는 재식종 후 재시작하는 경우 대략 수개월 이상의 시간이 소요되므로 이에 따른 경제적 손실이 큰 것으로 보고되고 있다(Williams et al., 2013). 따라서 혐기성 소화 공정의 안정적 공정운영을 위한 제반기술 개발 및 관련 기초연구가 필요한 실정이다.

음식물류폐기물과 같은 고농도 유기성폐기물은 생화학적 메탄함량이 높아 혐기성 소화 공정에 적용하기 매력적인 물질이나, 이를 바이오가스화 하는 혐기성 소화 공정에서는 소화조 내 암모니아 농도가 높고, 그 변동이 커 유기산 특히 프로피온산축적을 유발하고, 이는 공정 효율 감소, 불안정성 및 공정 실패로 귀결될 수 있다(Lee et al., 2018). 또한 무기저해물질 중 암모니아의 변동에 따라 혐기성 소화조의 공정효율 및 안정성 뿐만 아니라 혐기성 소화 생태계를 구성하는 혐기성 미생물 군집이 크게 변하는 것으로 보고되었으나, 아직 혐기성 소화조에서 발견되는 유기산 분해 혐기성 미생물 중 다수는 아직 그 특성과 역할이 규명되지 않은 경우가 많은 것으로 보고된다(Cho et al., 2013; Narihiro et al., 2015; Lee et al., 2017; Lee et al., 2018). 그러므로, 어떤 미생물이 프로피온산 분해 미생물인지에 대한 조사 연구가 선행되

어야 하며, 또한 앞서 언급된 암모니아와 같은 저해 인자들의 농도 변이에 따라, 어떤 프로피온산 분해 균주가 활성을 띠고 저해를 받는지에 대한 기초연구가 필요하다.

암모니아 저해와 프로피온산축적에 따른 공정 불안정화 상황을 사전에 예방하고 안정적 공정운영을 위한 공학적 솔루션을 제공하기 위해서는 암모니아 농도 차이에 따른 프로피온산 분해 우수 미생물 군집에 대한 기초 조사 연구가 필요하나, 관련 기초연구는 제한적으로 보고되고 있다. 특히 실공정에 바로 적용시킬 수 있는 연속식 공정에서의 프로피온산 분해에 대한 암모니아의 영향 연구는 매우 제한적으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서는 프로피온산을 단독 유기성 기질로 투입하여 처리하는 연속식 혐기성 소화 반응기 실험을 통해 암모니아 농도에 따른 혐기성 프로피온산 분해 미생물 군집에 관한 조사 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

본 연구에서는 높은 종 다양성의 접종원을 확보하기 위해 음식물류폐기물 및 하수슬러지 통합 바이오가스화 실규모 혐기성 소화조에서 시료를 채취하여 접종원으로 활용하였다. 투입 기질은 프로피온산을 단독 유기물질로 한 프로피온산 농도 10 g COD/L의 합성폐수를 혐기성 배지 문헌에 기초하여 준비하였다(Angelidaki et al., 2009). 1 L의 합성폐수 당 구성물질은 다음과 같다. 8.7 g sodium propionate (Sigma-Aldrich), 0.4 g KH_2PO_4 (Sigma-Aldrich), 0.05 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.1 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.1 g NaCl (Sigma-Aldrich), 2 mg $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.05 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.05 mg H_3BO_3 (Sigma-Aldrich), 0.05 g ZnCl_2 (Sigma-Aldrich), 0.038 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.05 mg $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.05 mg AlCl_3 (Sigma-Aldrich), 0.05 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.092 mg $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.5 mg EDTA (Sigma-Aldrich), 0.1 mg $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.04 mg $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), 0.02 mg biotin (Sigma-Aldrich), 0.02 mg folic acid (Sigma-Aldrich), 0.1 mg pyridoxine acid

Table 1. High-throughput sequencing results

Type	Sample	Total valid sequence reads	Total OTUs
Bacterial 16S rRNA gene	1.5 g TAN/L	31,495	114
	3.5 g TAN/L	33,074	
Archaeal 16S rRNA gene	1.5 g TAN/L	39,747	18
	3.5 g TAN/L	37,803	

(Sigma-Aldrich), 0.05 mg riboflavin (Sigma-Aldrich), 0.05 mg thiamine hydrochloride (Sigma-Aldrich), 0.05 mg nicotinic acid (Sigma-Aldrich), 0.05 mg p-aminobenzoic acid (Sigma-Aldrich), 0.001 mg cyanocobalamin (Sigma-Aldrich), 0.05 mg lipoic acid (Sigma-Aldrich), 0.05 mg DL-pantothenic acid (Sigma-Aldrich), 1.3 g NaHCO₃ (Sigma-Aldrich), 0.25 g Na₂S·9H₂O (Sigma-Aldrich), 0.19 g L-Cysteine hydrochloride (Sigma-Aldrich), 975 mL deionized water. Deionized water는 Direct-Q 정수시스템 (Millipore)에서 채수하여 사용하였다.

2.2. 연구방법

연속식 혐기성 소화 반응기 실험은 250 mL 반응조에서 180 mL의 유효체적으로 30일의 Hydraulic Retention Time (HRT) 조건에서 운영하였으며, 운영온도는 일반적인 중온소화 조건인 37도를 적용하였다. 초기 암모니아 농도는 메탄생성균에 대해 비저해 농도조건으로 알려진 1.5 g total ammonia nitrogen (TAN)/L로 설정하여 소화조 운영을 시작하였고, 안정단계에 다다른 이후 저해 농도조건인 3.5 g TAN/L로 증량하여 운영하였다 (Chen et al., 2008). 암모니아 농도는 적정량의 NH₄Cl (Sigma-Aldrich) 투입을 통해 조절해주었다. 암모니아 농도에 따른 프로피온산 분해 혐기성 균주 군집구조를 조사하기 위해 연속식 프로피온산 혐기성 소화 반응기를 운영하였고, 각 암모니아 농도조건(1.5 g TAN/L, 3.5 g TAN/L)에서 정상 운영상태 조건에 도달한 후 혐기성 소화 반응기의 시료를 채취하여 전체 genomic DNA를 상용키트를 활용하여 추출하였다. DNA 시료의 박테리아, 고세균 각각의 16S rRNA gene을 Polymerase Chain Reaction (PCR)를 통해 증폭시킨 후, 차세대염기서열분석법(next generation sequencing) 플랫폼을 활용하여

박테리아와 고세균 각각의 미생물 군집구조 분석을 수행하였다. 확보한 염기서열들은 97% similarity cutoff 기준에 따라 operational taxonomic units (OTUs)으로 그룹핑하였다.

시료의 미생물 종 다양성 분포는 생태계 연구에서 활용되는 미생물 종 다양성 지수인 richness, evenness, 그리고 Shannon diversity를 계산하여 평가하였다 (Spellerberg and Fedor, 2003). Richness는 시료 내 미생물 종의 수를 의미한다. Evenness는 시료 내 미생물 종들의 상대적인 우점도 분포를 의미한다. Shannon diversity는 종의 수와 상대적 우점도 분포를 함께 고려한 종 다양성 지수로 다양한 미생물 상태계의 종 다양성을 정량화하여 평가하기 위해 사용된다. 본 연구에서는 세균과 고세균의 종 다양성 지수의 경우 전체 OTUs 중 0.1% 이상 상대정량값을 띠는 OTUs를 유의미한 OTUs로 고려하여, 이를 기반으로 계산하였다. 시료의 미생물 군집 구성 정보를 분석하기 위해 Silva database와 NCBI database를 활용하여 각 OTUs의 taxonomic analysis를 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 차세대염기서열분석 결과

본 연구에서는 암모니아 농도에 따른 프로피온산을 분해하고 바이오가스화 하는 미생물 군집에 관한 조사 연구를 수행하고자 두 가지 암모니아 농도조건(1.5 g TAN/L, 3.5 g TAN/L)에서 연속식 혐기성 소화 반응기를 운영하였고, 각 조건에서 정상상태 시 시료를 채취하여 세균과 고세균 각각에 대한 차세대염기서열분석을 수행하였다. 세균의 분석결과, 64,569개의 유효한 16S rRNA gene 서열을 확보하였고, 이는 114개의 OTUs로 그룹핑 되었다(Table 1). 고세균의 분석결과, 77,550개의

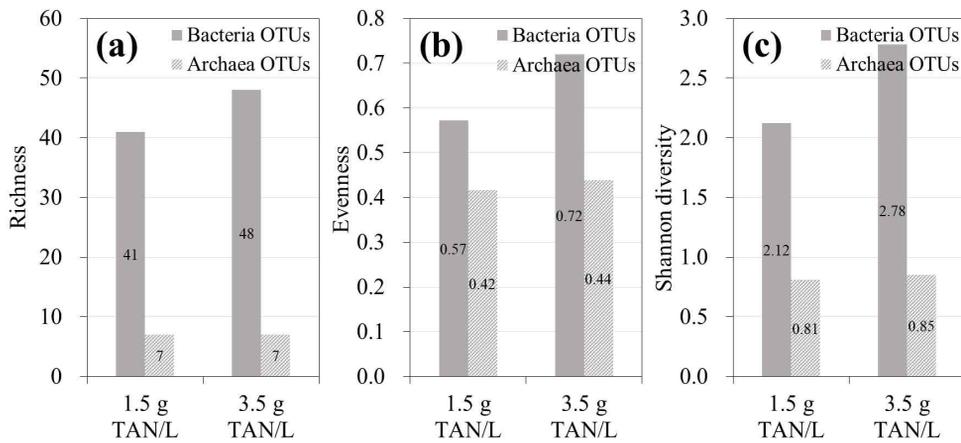


Fig. 1. Microbial diversity of the propionate-fed anaerobic digester in different ammonia conditions (1.5 g TAN/L and 3.5 g TAN/L): (a) richness, (b) evenness, (c) Shannon diversity.

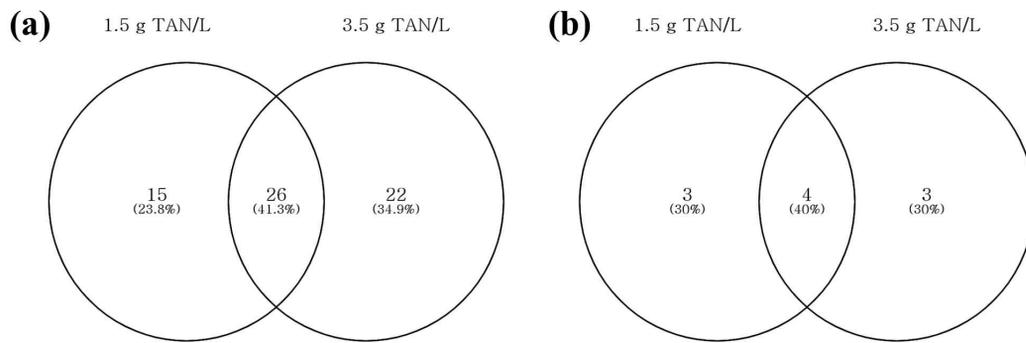


Fig. 2. Venn diagram for (a) bacteria communities and (b) archaea communities of the propionate-fed anaerobic digester in different ammonia conditions (1.5 g TAN/L and 3.5 g TAN/L).

유효한 16S rRNA gene 서열을 확보하였고, 이는 18개의 OTUs로 그룹핑 되었다. Rarefaction curve를 통해 해당 결과가 대상 시료의 미생물 종 다양성을 표현하는데 충분한 수준임을 확인하였다.

3.2. 암모니아 부하에 따른 프로피온산 혐기성 소화 공정 미생물 종 다양성 분석

시료의 미생물 군집구조 특성은 미생물 종 다양성 분포와 미생물 종류로 평가할 수 있다. 본 연구에서는 미생물 종 다양성 분포를 비교 평가하기 위해 richness, evenness, 그리고 Shannon diversity를 계산하여 평가하였다 (Fig. 1). 세균의 경우, 암모니아 저해조건인 3.5

g TAN/L의 시료에서 richness, evenness 및 Shannon diversity 수치가 모두 유의미하게 높은 것으로 확인되었다 (각 17%, 26%, 31% 높음). 고세균의 경우, 동일하거나 암모니아 저해조건에서 5% 내외로 높은 것으로 나타났다. 각 암모니아 조건에서만 발견되는 미생물 종과 보편적으로 발견되는 core 미생물 종을 조사하기 위해 상대우점도가 0.1% 이상으로 판별된 OTUs를 대상으로 벤 다이어그램을 활용하여 비교하였다 (Fig. 2). 벤 다이어그램 결과를 통해 Core 미생물 종의 40~41%가량 차지하며, 나머지는 각 암모니아 조건에서만 관측된 결과를 미루어 볼 때, 암모니아 조건에 따라 프로피온산 혐기성 소화에 관여하는 세균과 고세균이 유의미하게 달라짐을

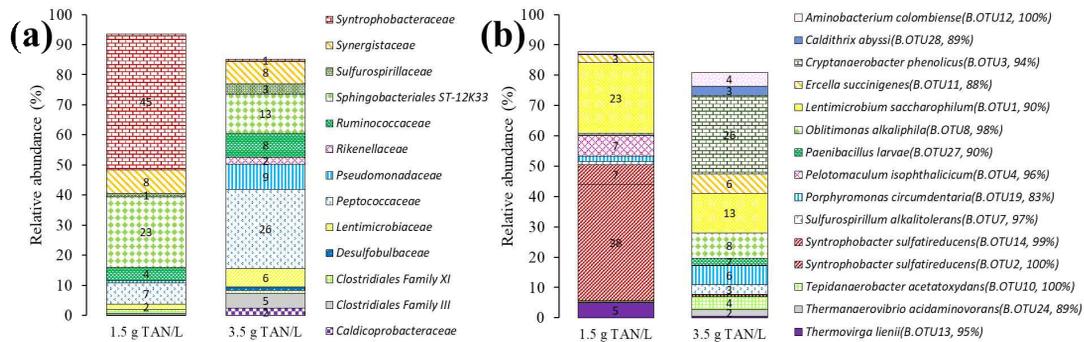


Fig. 3. Bacteria community structures of the propionate-fed anaerobic digester with different ammonia conditions (1.5 g TAN/L and 3.5 g TAN/L) in (a) family level and (b) OTUs level. For each OTU, the closest species matched by NCBI database was presented with identity value (%).

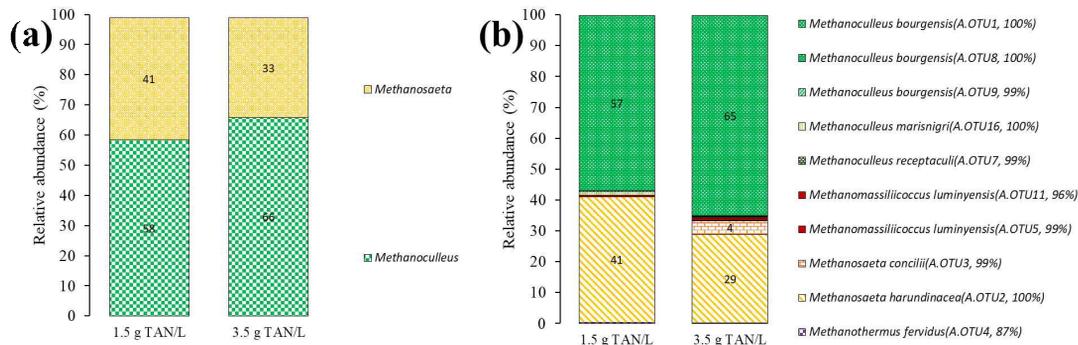


Fig. 4. Archaea community structures of the propionate-fed anaerobic digester with different ammonia conditions (1.5 g TAN/L and 3.5 g TAN/L) in (a) family level and (b) OTUs level. For each OTU, the closest species matched by NCBI database was presented with identity value (%).

확인할 수 있었다.

3.3. 암모니아 부하에 따른 프로피온산 혐기성 소화 공정 미생물 군집 구조 분석

차세대염기서열분석을 통해 확보한 114개의 세균 OTUs (B.OTUs)는 총 13종류의 세균 과(Bacteria family)에 속하는 것으로 판별되었다(Fig. 3a). 암모니아 비저해 조건인 1.5 g TAN/L에서는 Syntrophobacteraceae (상대우점도, 45%), Sphingobacteriales ST-12K33 (23%), Synergistaceae (8%), Peptococcaceae (7%), Ruminococcaceae (4%), Lentimicrobiaceae (2%)가 상대우점도 2% 이상의 우점 family로 판별되었으며, 총 세균 군집의 90% 차지하는 것으로 나타났다. 암모니아

저해 조건인 3.5 g TAN/L에서는 Peptococcaceae (26%), Sphingobacteriales ST-12K33 (13%), Pseudomonadaceae (9%), Synergistaceae (8%), Ruminococcaceae (8%), Lentimicrobiaceae (6%), Clostridiales Family III (5%), Sulfurospirillaceae (3%), Rikenellaceae (2%)가 상대우점도 2% 이상의 우점 family로 판별되었으며, 총 세균 군집의 82% 차지하는 것으로 나타났다. 본 결과를 통해 해당 family에 속한 세균들이 프로피온산 혐기성 소화 반응에 직/간접적으로 관여한 것으로 추정할 수 있다.

고세균의 경우 총 18개의 고세균 OTUs (A.OTUs)를 확보하였고, 전체 고세균 군집의 99%가 고세균 속 (Archaea genus)인 *Methanoculleus*와 *Methanosaeta*에

속하는 것으로 판별되었다(Fig. 4a). 두 암모니아 조건에서 모두 수소이용성메탄균인 *Methanoculleus*가 가장 우점종으로 나타났으며, 특히 3.5 g TAN/L 조건에서 상대 우점도가 8%가량 더 증가한 65%로 나타났다. 이와 반대로 아세트산이용성메탄균인 *Methanosaeta*는 1.5 g TAN/L 조건에서는 41%의 상대우점도를, 3.5 g TAN/L 조건에서는 33%의 상대우점도를 나타냈다. 본 결과를 통해 프로피온산 혐기성 소화 공정에는 프로피온산 분해 산물인 수소분자와 아세트산을 활용하여 메탄을 생성하는 수소이용성메탄생성반응과 아세트산이용성메탄생성 반응의 적정 수준 공존이 필요한 것으로 관측되었으며, 특히 암모니아 저해조건에서는 수소이용성메탄생성반응이 상대적으로 더 큰 역할을 하는 것으로 추정된다. 해당 경향성은 수소이용성메탄균이 아세트산이용성메탄균 대비 암모니아 저해성이 높은 것으로 알려진 사전 연구결과와도 일치한다(Angelidaki and Ahring, 1993).

본 연구를 통해 프로피온산 분해에 관여된 세균 family 군집을 확인할 수 있었으나, 세균의 경우 같은 family에 속한다고 할지라도 표현형과 유전형의 특징이 크게 다를 수 있어 각 세균의 대사특성을 분석하기 위해서는 더 낮은 taxonomic level의 분석결과가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 확보한 114개의 OTUs를 NCBI 16s rRNA gene database에 매칭하여 염기서열이 가장 유사한 종에 대한 정보를 취합하여 정리하였다(Fig. 3b). 암모니아 비저해 조건인 1.5 g TAN/L 조건에서 가장 우점했던 Syntrophobacteraceae의 경우 모두 *Syntrophobacter sulfatireducens* (Identity: 99–100%)로 구성된 것으로 판명되었다. 문헌에 따르면 *Syntrophobacter sulfatireducens*는 중온 혐기성 프로피온산 산화 미생물로 보고되고 있어, 본 연구결과와 종합해 볼 때, *S. sulfatireducens*는 암모니아 비저해 조건에서 프로피온산 분해에 우점적인 역할을 수행 가능할 것으로 추정된다(Chen et al., 2005).

암모니아 저해조건인 3.5 g TAN/L 조건에서 가장 우점 세균으로 판별된 Peptococcaceae의 경우 1.5 g TAN/L 조건에서는 *Pelotomaculum isophthalicum* 유사 OTU (Identity: 96%)가 6.8% 상대우점도를 나타내며 우점하였고 3.5 g TAN/L 조건에서는 *Cryptanaerobacter phenolicus* 유사 OTU (94%)가 25.8%의 상대우점도를 나타내며 우점한 것으로 판별되었다. *Pelotomaculum*

에는 *P. propionicum*, *P. schinkii* 등 다양한 중온 프로피온산 산화 세균이 속해있는 것으로 보고되고 있다(Imachi et al., 2007). 최근 DNA-based stable isotope probing 기술을 이용한 프로피온산 산화균주 규명연구에 따르면 *Cryptanaerobacter phenolicus*의 경우 잠재적인 프로피온산 산화 세균의 특성을 가진 것으로 보고하고 있다(Wang et al., 2019). 본 연구 결과와 종합해볼 때, 암모니아 비저해 조건에서는 *Pelotomaculum*가, 암모니아 저해조건에서는 *Cryptanaerobacter*가 프로피온산 산화에 주요한 역할을 수행할 것으로 추정된다.

두 암모니아 조건에서 모두 8%의 상대우점도를 나타낸 Synergistacea의 경우 전체의 80%가 *Thermovigra lienii* 유사 OTU (Identity: 95%), *Aminobacterium colombiense* (100%), *Acetomicrobium Mobile* (98%)로 구성된 것으로 판별되었다. 1.5 g TAN/L 조건에서는 *Thermovigra lienii* 유사 OTU가 5.0% 상대우점도를 나타내며 우점한 반면 3.5 g TAN/L 조건에서는 *Aminobacterium colombiense*가 4.5% 상대우점도를 나타내며 우점하였다. 문헌에 따르면 *Thermovigra*과 *Aminobacterium*에 속하는 세균 종의 경우 현재까지 프로피온산 분해 기작을 가진 것으로 규명된 종은 없지만, 프로피온산 혐기성 소화 반응기에서 우점하는 것으로 여러 문헌에서 보고된 바 있으며, *Thermovigra*의 경우 잠재적인 아세트산 산화 균주로 보고된 바 있다(Lee et al., 2019; Singh et al., 2021). 이를 미루어 볼 때, 해당 세균 그룹은 프로피온산 산화 또는 아세트산 산화 대사가 가능한 strain을 포함하고 있을 잠재성이 있을 것으로 추정되며, 특히 *A. colombiense*의 경우 암모니아 저해 조건에서 경쟁 우위를 가진 세균으로 평가된다.

1.5 g TAN/L 조건에서 1% 미만의 상대우점도를 나타내고, 3.5 g TAN/L 조건에서 5%가량의 우점도를 보이는 Clostridiales Family III의 경우 전체 우점도의 96%가량이 *Tepidanaerobacter acetatoxydans* (Identity: 98–100%)로 구성된 것으로 판별되었다. *Tepidanaerobacter acetatoxydans*는 중온 혐기성 소화조에서 발견되는 대표적인 아세트산 산화 세균으로 수소이용성 메탄균과 공생하는 것으로 보고되고 있다(Westerholm et al., 2011). *Methanoculleus bourgensis*가 암모니아 저해 조건에서 우점 수소이용성 메탄균인 본 연구결과와 함께 종합해볼 때(Fig. 4b), 암모니아 저해조건에서는 *T. acetatoxydans*와

*M. bourgnesis*가 공생하며 프로피온산 분해 산물인 아세트산을 메탄으로 전환하는데 상대적으로 높은 기여를 하는 것으로 추정된다.

4. 결론

본 연구에서는 프로피온산을 단독 유기물 기질로 한 연속식 혐기성 소화 반응에서 암모니아 부하농도의 차이에 따른 미생물 군집구조를 분석하였고, 암모니아 비저해조건(1.5 g TAN/L)과 암모니아 저해조건(3.5 g TAN/L)에서 프로피온산 분해 및 메탄생산에 관여하는 미생물 군집을 조사하였다.

1) 암모니아 저해조건에서 세균의 종 다양성 지수가 높게 나타났으며, 전체 미생물 종의 60% 가량이 각 암모니아 조건에서만 특이적으로 관측되었다.

2) 총 13종류의 세균 family 중, 암모니아 비저해조건에서는 Syntrophobacteraceae (상대우점도, 45%), Sphingobacteriales ST-12K33 (23%), Synergistaceae (8%), Peptococcaceae (7%), Ruminococcaceae (4%), Lentimicrobiaceae (2%)가 우점 군집으로, 암모니아 저해조건에서는 Peptococcaceae (26%), Sphingobacteriales ST-12K33(13%), Pseudomonadaceae(9%), Synergistaceae (8%), Ruminococcaceae (8%), Lentimicrobiaceae(6%), Clostridiales Family III (5%), Sulfurospirillaceae (3%), Rikenellaceae (2%)가 우점 군집으로 판별되어 증온 프로피온산 혐기성 소화 반응에 직/간접적으로 관여한 것으로 추정되며, 암모니아 조건에 따라 우점군집에 유의미한 차이가 있음을 확인하였다.

3) 종수준 세균 분석결과를 통해 암모니아 비저해조건에서는 *Syntrophobacter sulfatireducens*, *Pelotomaculum*, *Thermovigra*가 우점 (잠재적)프로피온산 산화균으로 확인되었다. 암모니아 저해조건에서는 *Cryptanaerobacter*, *Aminobacterium colombiense*가 우점 (잠재적)프로피온산 산화균으로, *Tepidanaerobacter acetatoxydans*가 우점 아세트산 산화균으로 확인되었다.

4) 메탄생성균의 경우 수소이용성 메탄균인 *Methanoculleus*와 아세트산이용성메탄균인 *Methanosaeta*가 함께 우점균으로 확인되었으며, 암모니아 저해조건에서 *Methanoculleus*의 상대 우점도가 유의미하게 높은 것으로 확인되었다.

본 연구결과는 음식물류폐기물 처리 혐기성 소화조 등 암모니아 저해 및 프로피온산축적으로 불안정한 공정 운영에 노출된 소화조의 최적 운영과 적정 미생물 생집종을 통한 소화조 회복전략 연구의 미생물 정보 기초자료로 활용 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 환경부의 폐자원에너지화 전문인력양성사업으로 지원되었습니다(YL-WE-21-002). 또한 이 성과는 2021년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구입니다(No. 2021R1C1C1009122). 또한 이 논문은 2020학년도 부경대학교의 지원을 받아 수행된 연구입니다(CD2020 0844).

REFERENCES

- Ahring, B. K., Sandberg, M., Angelidaki, I., 1995, Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors, *Appl. Microbiol. and Biotechnol.*, 43, 559-565.
- Angelidaki, I., Ahring, B. K., 1993, Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia, *Appl. Microbiol. and Biotechnol.*, 38, 560-564.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J., Kalyuzhnyi, S., Jenicke, P., van Lier, J. B., 2009, Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays, *Water Sci. and Technol.*, 59, 927-934.
- Carballa, M., Regueiro, L., Lema, J. M., 2015, Microbial management of anaerobic digestion: exploiting the microbiome-functionality nexus, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 33, 103-111.
- Chen, S., Liu, X., Dong, X., 2005, *Syntrophobacter sulfatireducens* sp. nov., a novel syntrophic, propionate-oxidizing bacterium isolated from UASB reactors, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55, 1319-1324.
- Chen, Y., Cheng, J. J., Creamer, K. S., 2008, Inhibition of anaerobic digestion process: A review, *Bioresour. Technol.*, 99, 4044-4064.
- Cho, K., Lee, J., Kim, W., Hwang, S., 2013, Behavior of methanogens during start-up of farm-scale anaerobic

- digester treating swine wastewater, *Process Biochem.*, 48, 1441-1445.
- Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M., Nagai, S., 1990, Inhibition of the Fermentation of Propionate to Methane by Hydrogen, Acetate, and Propionate, *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 719-723.
- Imachi, H., Sakai, S., Ohashi, A., Harada, H., Hanada, S., Kamagata, Y., Sekiguchi, Y., 2007, *Pelotomaculum propionicicum* sp. nov., an anaerobic, mesophilic, obligately syntrophic, propionate-oxidizing bacterium, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57, 1487-1492.
- Lee, J., Kim, E., Han, G., Tongco, J. V., Shin, S. G., Hwang, S., 2018, Microbial communities underpinning mesophilic anaerobic digesters treating food wastewater or sewage sludge: A full-scale study, *Bioresour. Technol.*, 259, 388-397.
- Lee, J., Koo, T., Yulisa, A., Hwang, S., 2019, Magnetite as an enhancer in methanogenic degradation of volatile fatty acids under ammonia-stressed condition, *J. Environ. Manage.*, 241, 418-426.
- Lee, J., Shin, S. G., Han, G., Koo, T., Hwang, S., 2017, Bacteria and archaea communities in full-scale thermophilic and mesophilic anaerobic digesters treating food wastewater: Key process parameters and microbial indicators of process instability, *Bioresour. Technol.*, 245, 689-697.
- Narihiro, T., Nobu, M. K., Kim, N. K., Kamagata, Y., Liu, W. T., 2015, The nexus of syntrophy-associated microbiota in anaerobic digestion revealed by long-term enrichment and community survey, *Environ. Microbiol.*, 17, 1707-1720.
- Singh, A., Schnürer, A., Westerholm, M., 2021, Enrichment and description of novel bacteria performing syntrophic propionate oxidation at high ammonia level, *Environ. Microbiol.*, 23, 1620-1637.
- Spellerberg, I. F., Fedor, P. J., 2003, A Tribute to Claude Shannon (1916 - 2001) and a plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the 'Shannon - Wiener' Index, *Glob. Ecol. Biogeogr.*, 12, 177-179.
- Wang, H. Z., Lv, X. M., Yi, Y., Zheng, D., Gou, M., Nie, Y., Hu, B., Nobu, M. K., Narihiro, T., Tang, Y. Q., 2019, Using DNA-based stable isotope probing to reveal novel propionate- and acetate-oxidizing bacteria in propionate-fed mesophilic anaerobic chemostats, *Sci. Rep.*, 9, 17396.
- Westerholm, M., Roos, S., Schnurer, A., 2011, *Tepidanaerobacter acetatoxydans* sp. nov., an anaerobic, syntrophic acetate-oxidizing bacterium isolated from two ammonium-enriched mesophilic methanogenic processes, *Syst. Appl. Microbiol.*, 34, 260-266.
- Williams, J., Williams, H., Dinsdale, R., Guwy, A., Esteves, S., 2013, Monitoring methanogenic population dynamics in a full-scale anaerobic digester to facilitate operational management, *Bioresour. Technol.*, 140, 234-242.
-
- Graduate student. Le Thi Nhu Trang
Division of Earth Environmental System Science (Major of Environmental Engineering), Pukyong National University
trangle05051996@gmail.com
 - Professor. Joon-Yeob Lee
Department of Environmental Engineering, Pukyong National University
Leejy@pknu.ac.kr