

## 돈분의 2 단계 혐기발효시 산생성 단계에서의 유기물 부하율과 체류시간에 따른 휘발성지방산의 생산량<sup>†</sup>

김범석 · 이상락 · 맹원재

건국대학교 축산대학 영양자원전공

## Effect of Organic Loading Rate and Hydraulic Retention Time on the Volatile Fatty Acid Production in 2-Step Anaerobic Fermentation System of Swine Wastes

Kim B. S., Lee S. R. and Maeng W. J.

Department of Feed and Nutritional Science, College of Animal Husbandry

Kon-Kuk University, 143-701 Seoul Korea

### Summary

It is known that the anaerobic fermentation of organic matter (OM) is divided into 2 phases, acidogenic phase in which OM is digested into volatile fatty acid (VFA), and methanogenic phase where the produced VFA is converted to CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>. In a natural fermenting procedure, these 2 phases occur at the same time. However the total production of end products (methane) may be limited if these 2 phases occur at the same time. This is believed to be due to the difference in growth rate, substrate-utilizing efficiency and favorable environment for each microbes (acidogens and methanogens), involved in each phase. It is therefore suggested for the maximum recycling of organic waste (such as animal waste) through providing 2 different steps in fermenting procedure, acidogenic phase and methanogenic phase, in each case the activity of involved microbes can be maintained at the maximum level. The results obtained from these experiments are summarised as follows:

The loading rates of swine waste were made through 2.5, 5 and 10 gVS/ℓ/d to identify its acidogenic fermenting character in this study. The VFA yield was maximized at 10 gVS/ℓ/d of loading rate.

On the basis of this study was executed to identify the optimum HRT of 1, 2 and 4 days at 10 gVS/ℓ/d of loading rate in acidogenic phase. The maximum VFA yield was obtained at 1 days of HRT.

**(Key words:** Anaerobic fermentation, Methane, Volatile fatty acid, Loading rate, Hydraulic retention time)

---

<sup>†</sup> 본 연구는 건국대학교의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

## 서 론

혐기발효는 섬유소를 포함한 탄수화물과 같은 유기성 물질을 휘발성지방산 (volatile fatty acid; VFA)으로 전환시키는 산 생성단계와 휘발성지방산을 메탄 (CH<sub>4</sub>)과 이산화탄소 (CO<sub>2</sub>)로 전환시키는 메탄 생성단계로 나눌 수 있다 (Hungate, 1966). 이들 단계는 일반적인 상황하에서는 동일 반응계내에서 연속적으로 진행되는 데, 서로 다른 미생물군이 관여하고 있어서 길항작용으로 인한 최종 생물가스 생성량은 기질이 가지는 잠재력보다 높지 않을 것이다. 이의 가장 큰 원인은 산 생성 미생물과 메탄 생성 미생물은 생리적으로 성장율과 기질의 이용성이 다르며, 환경의 변화에 대한 적응력이 다른 데 있다. 산 생성 미생물은 메탄 생성 미생물에 비하여 성장속도도 빠르고, pH의 변화에도 안정화되어 있다 (Archer와 Krisop, 1991; Ghosh와 Klass, 1978; Speece, 1983).

이들 상호간에는 매우 복잡한 관계가 유지되고 있으며, 혐기발효에 영향을 미치는 주요 요인으로는 기질의 종류와 농도, 발효조의 온도, 그리고 체류시간 (hydraulic retention time; HRT) 등이 있다. 이들은 상호 밀접하게 관련되어 있으며, 지금까지의 혐기 발효에 관한 연구 결과는 발효온도(Pos 등, 1985), 발효조내 체류시간 (Hill, 1982), 발효 내용물의 교반정도 및 교반간격 (Gabriel, 1994), 부하량 (loading rate) 및 부하간격 (loading interval), 분뇨의 특성 (fresh 또는 dry) 등에 따라 실험결과에 영향을 미치는 것으로 보고되어져 있다 (맹 등 1993, 맹 1992, 맹 1994).

따라서 본 연구는 돈분의 2단계 혐기 발효시 최대 메탄가스 생성을 위한 산 생성단계에서의 유기물 부하율과 체류시간을 조절하여 주므로써 휘발성지방산의 생산량을 제어하고 이들 결

과를 토대로 메탄 생성 미생물의 활력을 최대화 시키는데 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 1. 발효기질

산 생성 반응조에서의 최대 VFA를 생산하기 위한 부하율과 체류시간에 따른 영향을 규명하기 위하여 사용된 발효기질은 경기도 파주군 광탄면 소재 (주) 진영에서 채취한 신선한 돈분을 실험실로 운반하여 -20℃에서 냉동 보관하였다가 필요할 때 일정량을 상온에서 녹인 후, 1.0 mm pore size의 polyethylene제 망사형 체를 이용하여 이물질을 제거하였으며, 희석수를 이용, 설정 부하율에 맞도록 희석하여 사용하였다. 기질의 일반적인 화학적 조성은 다음과 같다 (Table 1).

Table 1. Characteristics of substrate of swine waste collected from Jinyoung Farm

Item	Content
Total solids (%)	26.46
Ash (%)	6.44
Volatile solids (%)	20.02
Total nitrogen (mg/ℓ)	2,706
pH	6.03

### 2. 발효조의 운영 및 가스 포집장치

최대 휘발성지방산 생산을 위한 유기물 부하율의 설정을 위한 실험설계는 3처리 3반복으로서, 산 생성반응을 유도하기 위하여 건국대학교 축산대학 사료영양학과에서 보유하고 있는 고효율 혐기 발효시스템 (High Performance Automated Anaerobic Fermentation System;

HiPAFs, 맹, 1992)에 돈사 발생폐액 (경기도 파주군 광탄면 소재 (주) 진영)을 2.72kgVS/m<sup>3</sup>/일의 부하율과 15일의 체류시간(HRT)을 조건으로 혐기 발효시킨 유출물을 사용하여, 15ℓ 혐기 발효조를 이용, 39℃로 조정된 항온조에서 부하율을 3.9 gVS/ℓ/일, HRT을 4일로 하여 14일간 pH 6.8 이하를 유지한 혐기 발효액을 39℃ 항온조 (McCoy Co., Korea)에 1ℓ 용 PVC 재질의 소형 발효조 12기에 500ml씩 옮긴 후, 처리 부하율을 2.5 및 5, 10 g VS/ℓ/일로 하여 4일간 각 처리 부하율에 적응시킨 후, 5일째부터 3일간 분석용 시료를 채취하였으며, 마지막 3일째 시간별로 (0, 3, 6, 9, 12, 24 시간) 시료를 채취하였다.

또한 체류시간에 따른 실험조건으로, 부하율을 10gVS/ℓ/일, HRT을 4일로 하여 1ℓ 용 PVC 재질의 소형 발효조 12기에 배양하여 체류시간 (HRT)을 1 및 2, 4 일로 하여 4일간 실험조건에 적응배양 5일째부터 3일간 분석용 시료를 채취하였으며, 마지막 3일째 시간별 (0, 3, 6, 9, 12, 24시간) 시료를 채취하였다.

Table 2. Operational conditions and effluent characteristics of effluent from a pilot-scale anaerobic fermenter of HiPAFS<sup>1</sup>

Item	Content
Operational conditions	
Fermentation temperature (℃)	39
Loading rate (kgVS/m <sup>3</sup> /day)	2.72
Hydraulic retention time (day)	15
Effluent characteristics	
Total solids (%)	3.25
Volatile solids (%)	2.30
pH	7.65
Total nitrogen (mg/ℓ)	1,377

<sup>1</sup> A High Performance Anaerobic Fermentation System (HiPAFS) established at Kon-Kuk university operated with the substrate of swine waste.

가스 포집장치는 수상치환 방식으로 길이 50cm 내경 6.26cm와 7.0cm의 원통형 아크릴 2개를 이용하여 제작하였으며, 포집장치 내부에는 포화 식염수를 1.5ℓ씩 채워 가스가 유입된 양만큼 안에 실린더가 밀려 올라가 안쪽 원통의 한쪽 면에는 부착한 눈금을 통해 발생량을 읽어, 생성되는 가스의 양 (cm)에 따라 높아지는 내부 실린더의 높이 (h)의 원기둥 부피를 측정하는 방법 (Gas volume =  $\pi r^2 h$ )을 이용하여 총 발생된 가스의 양을 구하였다.

### 3. 분석항목 및 분석방법

처리 부하율 및 체류시간에 따른 산 생성 반응조의 발효성상을 측정하기 위하여 발효가스와 발효유출물을 다음과 같이 채취하였다.

발효상태의 판단지표로서 매 시간 발생하는 생물가스를 측정하고자 적분식 가스미터(wet-gas meter; GM50, Sanryo Co., Japan)를 통과시켜 측정하였으며, 생성된 가스를 투명 아크릴로 제작한 가스 포집장치(자체 제작)를 이용하여 회수하였다.

발효 성상을 측정하기 위하여 배양 후 유출물중의 일정량을 시료로서 채취하여, 발효 유출물의 pH는 pH meter (HM-10P, TOA Electronics Ltd., USA)을 이용하여 측정하였고, 화학적 분석을 위하여 -20℃에서 냉동 보관한 후, 분석 하루전에 냉장보관하여 해동시킨 후 각종 분석에 이용하였다.

화학적 성분중 건물, 단백질, 지방, 섬유소, 회분 등의 일반성분은 AOAC (1993)법에 의하여 분석하였고, 암모니아 질소는 비색계 (Spectronic 21, Bausch & Lomb Co., USA)을 이용하여 Chaney와 Marbach의 방법으로 (1962), 휘발성지방산은 가스 크로마토그래피 (Hewlatpackard 5890A (FID), Hewlatpackard Co, USA)을 이

용하여 Erwin 등 (1961)의 방법으로 분석하였다.

#### 4. 통계 처리

산 생성 반응조에서 부하율과 체류시간에 따른 휘발성지방산의 최대 생산 요인을 평가하였으며 각 처리구간의 통계적 유의성은 SAS package의 General Liner Model (GLM) Procedure (SAS ver. 6.04, SAS Institute, 1989)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다 (Steel과 Torrie, 1980).

#### 결과 및 고찰

돈분의 혐기발효중 최대 VFA를 생산하기 위한 최적 산 생성 반응조를 유지하기 위하여 발효조에 유기물 부하량을 각각 2.5와 5 및 10 gVS/ℓ/일로 부하하였을 때의 결과는 다음과 같다.

부하량이 2.5, 5 및 10 gVS/ℓ/일의 수준으로 증가함에 따라 pH는 각각 6.77, 6.70 및 6.64로서 부하율이 증가함에 따라 pH는 낮아지는 경향을 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).

발효조내의 암모니아 질소 농도는 각각 31.23, 35.23, 55.80 mg/ℓ로서 부하율이 10 gVS/ℓ/일 일 때 가장 높은 것으로 나타났으며 ( $P < 0.05$ ), 시간별 변화는 처리구 공히 6시간대까지는 증가하다가 감소하였으나 9시간대에 급격히 증가하였다가 다시 감소하여 일정한 수준을 유지하는 것으로 나타났다. 총 휘발성지방산의 농도에 있어서도 각각 1,685, 2,585 및 3,738 mg/ℓ로서 유기물 부하량의 증가에 따라 많아지는 경향이였으며 ( $P < 0.05$ ), 이는 부하율이 증가함에 따라 휘발성지방산의 생성이 증가한 것에 기인한다고 보아진다. 그리고 시간별

변화를 살펴볼 때 6시간대까지는 점차 증가하다가 9시간대까지 급격히 감소하였다가 일정한 수준을 유지하는 것으로 나타났다. 유기물 분해도는 각각 38.41과 51.06, 61.29%로 부하량이 증가함에 분해율이 증가하였다 ( $P < 0.05$ ).

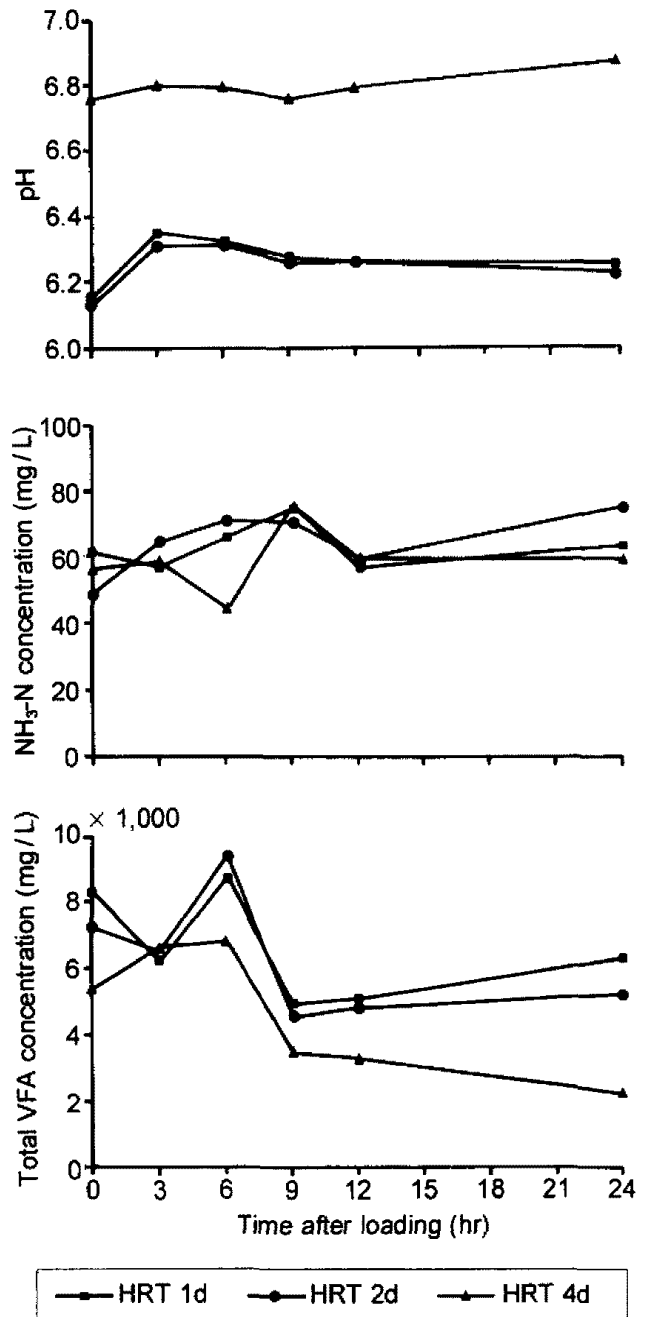


Fig. 1. Changes in pH, NH<sub>3</sub>-N and total volatile fatty acids concentration at a acidogenic phase of anaerobic fermentation of swine waste in a day.

Table 3. Effect of loading rate on the fermentation characteristics at a acidogenic phase of anaerobic fermentation of swine waste

Item	Loading rate (gVS/ℓ/d)		
	2.5	5	10
pH	6.77 ± 0.01 <sup>a</sup>	6.70 ± 0.00 <sup>b</sup>	6.64 ± 0.01 <sup>c</sup>
NH <sub>3</sub> -N (mg/ℓ)	31.23 ± 0.55 <sup>c</sup>	35.23 ± 0.88 <sup>b</sup>	55.80 ± 2.90 <sup>a</sup>
VFAs (mg/ℓ)			
Total	1,685 <sup>c</sup>	2,585 <sup>b</sup>	3,738 <sup>a</sup>
Acetic acid	319 <sup>c</sup>	467 <sup>b</sup>	822 <sup>a</sup>
Propionic acid	807 <sup>c</sup>	1,224 <sup>b</sup>	1,379 <sup>a</sup>
iso-Butyric acid	142 <sup>c</sup>	218 <sup>b</sup>	336 <sup>a</sup>
Butyric acid	3 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	22 <sup>a</sup>
iso-Valeric acid	308 <sup>c</sup>	523 <sup>b</sup>	834 <sup>a</sup>
Valeric acid	104 <sup>c</sup>	144 <sup>b</sup>	342 <sup>a</sup>
Volatile solid reduction rate (%)	38.41 ± 4.63 <sup>b</sup>	51.06 ± 2.62 <sup>ab</sup>	61.29 ± 6.72 <sup>a</sup>

<sup>abcd</sup> Mean with different superscripts in the same row are significantly different (P < 0.05).

산 생성 반응조에서의 휘발성지방산의 최대 생산을 위한 부하율 실험결과를 토대로 최대 VFA 생산을 위하여 부하율을 10 gVS/ℓ/일로 유지하였을 때, HRT가 1과 2, 4일로 증가함에 따라 pH는 각각 6.09, 6.19 및 6.64로서 체류

시간이 빨라짐에 따라 pH는 낮아지는 경향이 었다 (P < 0.05) (Table 4). 시간별 변화는 부하 후 pH가 증가하다가 3~4시간 사이에 pH가 최고에 달하였다가 점차 낮아지는 경향을 나타내 었다 (Fig. 2).

Table 4. Effect of hydraulic retention time on the fermentation characteristics at a acidogenic phase of anaerobic fermentation of swine waste

Item	Hydraulic retention time (d)		
	1	2	4
pH	6.09 ± 0.00 <sup>c</sup>	6.19 ± 0.00 <sup>b</sup>	6.64 ± 0.01 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> -N (mg/ℓ)	63.18 ± 3.73 <sup>a</sup>	62.70 ± 1.94 <sup>a</sup>	55.80 ± 2.90 <sup>b</sup>
VFAs (mg/ℓ)			
Total	6,094 <sup>a</sup>	5,237 <sup>b</sup>	3,738 <sup>c</sup>
Acetic acid	2,967 <sup>a</sup>	2,322 <sup>a</sup>	822 <sup>b</sup>
Propionic acid	1,495 <sup>a</sup>	1,392 <sup>b</sup>	1,379 <sup>b</sup>
iso-Butyric acid	286 <sup>b</sup>	340 <sup>a</sup>	336 <sup>a</sup>
Butyric acid	117 <sup>a</sup>	111 <sup>a</sup>	22 <sup>b</sup>
iso-Valeric acid	691 <sup>b</sup>	695 <sup>b</sup>	834 <sup>a</sup>
Valeric acid	535 <sup>a</sup>	375 <sup>b</sup>	342 <sup>b</sup>
Volatile solid reduction rate (%)	42.95 ± 0.92 <sup>c</sup>	49.51 ± 2.37 <sup>b</sup>	61.29 ± 6.72 <sup>a</sup>

<sup>abcd</sup> Mean with different superscripts in the same row are significantly different (P < 0.05).

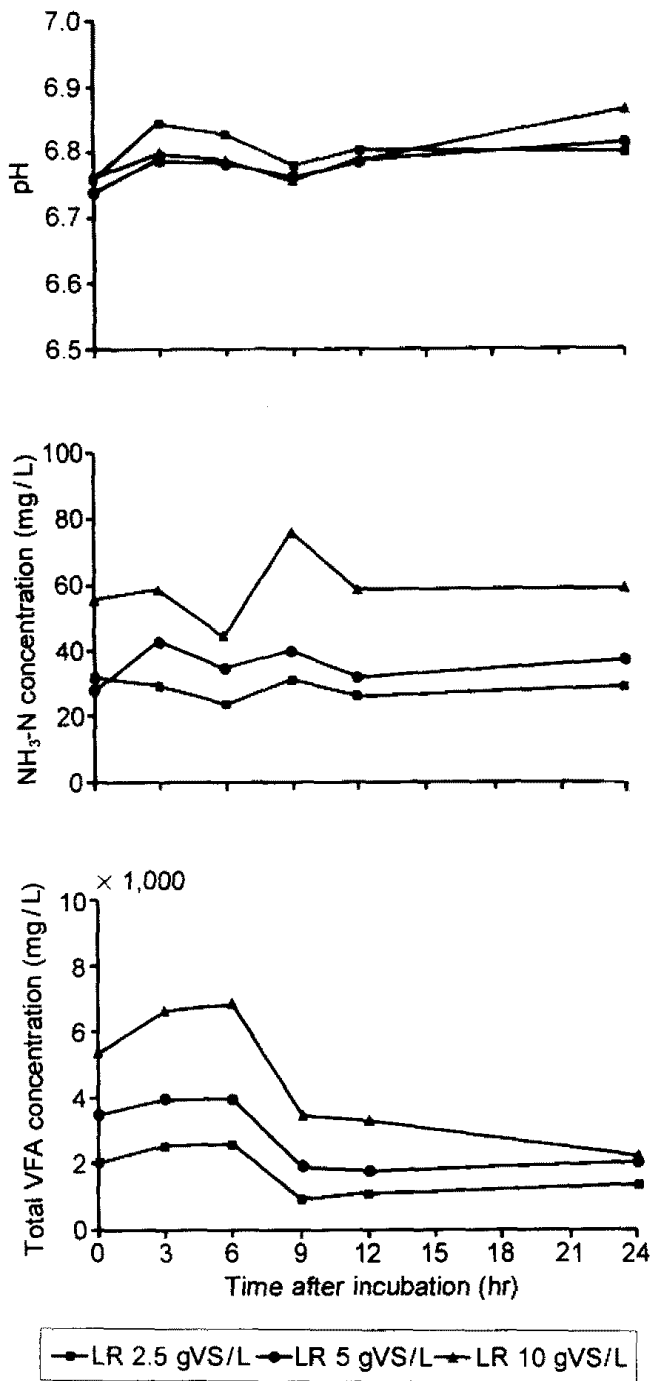


Fig. 2. Changes in pH, NH<sub>3</sub>-N and total volatile fatty acids concentration at a acidogenic phase of anaerobic fermentation of swine waste with various loading rate.

암모니아질소 농도는 각각 63.18, 62.70 및 55.80 mg/l로서 체류시간이 빨라지므로써 높아졌으며 ( $P < 0.05$ ), 이는 유기물의 공급이 증

가되는 것에 기인한 것으로 보인다. 시간별 암모니아 농도는 부하 후 약간 감소하다가 3~6 시간 사이에 증가한 후 감소하였다가 일정수준을 유지하는 것으로 나타났다.

총 휘발성지방산은 각각 6094, 5237 및 3738 mg/l로서 체류시간이 빨라짐에 따라 유의적으로 증가하였으며 ( $P < 0.05$ ), 이중 acetate의 농도는 체류시간이 1일인 처리구에서 가장 높았으나, propionate는 체류시간에 따라 크게 차이가 나지 않았으며, butyrate와 valerate는 체류시간이 빨라짐에 따라 증가하였으며, 측쇄지방산인 iso-butyrate 및 iso-valerate의 경우에 있어서는 오히려 체류시간이 빨라짐에 따라 약간 감소하였다.

휘발성지방산의 시간별 농도는 암모니아 농도와 마찬가지로 부하 후 감소하다가 6시간대에 최고의 농도를 나타내다가 급격히 감소한 후 일정수준을 유지하는 것으로 나타났다.

총 유기물 분해도는 각각 42.95, 49.51 및 61.29%로 체류시간이 4일 일 때 유기물의 분해도가 가장 높았다 ( $P < 0.05$ ).

본 실험에서 목표로 한 산 생성 반응을 유도하면서 최대 휘발성지방산 생산을 위한 체류시간은 1일로 유지하여 주는 것이 산 생성 미생물의 활성을 최대화 하는데 유리할 것으로 판단된다 (Table 4).

그러나 pilot-scale의 시스템을 구축하는데 있어서 산 생성 반응을 유지하고 휘발성지방산의 생성을 최대화 하는 데는 체류시간을 좀 더 빨리 하여주는 것이 유리하리라 생각된다.

가축분뇨의 재활용을 위한 혐기 발효과정을 산 생성단계와 메탄 생성단계로 각각 나누어 메탄 생성에 영향을 미치는 요인을 연구한 결과 산 생성 반응조에서의 최대의 휘발성지방산 생성이 메탄 생성에 있어 중요한 관점이 되며, 특히 이 중 아세트산의 농도가 메탄으로 전환

되는 중요한 부분으로서 작용한다.

또한 돈분의 혐기 발효중 최대 휘발성지방산을 생산하기 위한 최적 산 생성 반응조를 유지하기 위한 부하율이 산 생성단계에 미치는 영향을 규명하기 위하여 돈분의 부하율을 각각 2.5, 5 및 10 gVS/ℓ/일을 설정하여 실험하였으며, 이 때 pH 7.0 이하를 유지하였으며, 적절한 휘발성지방산의 최대 생산은 부하율이 10 gVS/ℓ/일 때 적합한 것으로 나타났다.

이상의 결과를 토대로 최대의 휘발성지방산 생산을 위하여 부하율을 10 gVS/ℓ/일로 유지하였을 때 체류시간이 1과 2, 4일로 하여 실험한 결과, 본 실험에서 목표로 한 산 생성단계를 유도하면서 최대 휘발성지방산 생산을 위한 체류시간은 1일로 유지하여 주는 것이 산 생성 미생물의 활성을 최대화 하는데 유리할 것으로 판단된다.

## 요 약

유기물의 혐기 발효과정은 크게 유기성분이 휘발성지방산으로 전환되는 산 생성단계와 생성된 휘발성지방산 등이 메탄가스와 이산화탄소로 전환되는 메탄 생성단계로 나눌 수 있다. 가축분뇨와 같은 유기성 폐기물로부터 혐기 발효를 이용하여 메탄가스 등의 재활용 물질을 회수하고자 할 경우 발효단계를 산 생성 반응조와 메탄 생성 반응조로 나누어 제어하여 산 생성 반응조에서 보다 많은 휘발성지방산을 생성시킴으로써 최종적으로 메탄 생성을 도울 수 있도록 하는데 본 연구의 목적이 있다.

산 생성 반응조에서 휘발성지방산 생성량이 최대가 되는 부하율을 결정하기 위하여 돈분의 부하율을 2.5, 5, 10 gVS/ℓ/일로 설정하였을 때의 발효성상을 조사하였다. 이 때의 휘발성 지방산 생성량은 10 gVS/ℓ/일로 부하하였을

때가 가장 높았으며, 부하율을 10 gVS/ℓ/일로 하였을 때의 산 생성 반응조에서 최대 휘발성지방산 생산에 요구되는 최적 체류시간을 설정하고자 체류시간을 1과 2, 4일로 설정하였을 때의 발효성상을 조사하였다. 이 때의 휘발성 지방산 생성량은 체류시간을 1일로 하였을 때가 가장 높았다.

## 인 용 문 헌

1. A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemist. 1993. Official method of analysis. 14th ed., Washington DC.
2. Archer, D. B. and Krisop, B. H. 1991. The microbiology and control of anaerobic digestion, pp. 43-91, in Anaerobic digestion: A Waste Treatment Technology, A Wheatly, Ed. Elsevier Applied Science, London, U.K.
3. Chaney, A. L. and Marbach, E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Biochem. 8:130-132.
4. David A. S., Dannis, H. and Rex, H. 1980. In: "Methane production from waste organic matter". CRC Press, Florida.
5. Erwin, W. S., Marco, J. and Emery, E. M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluids by gas chromatography. J. Dairy Sci. 44:1768-1771.
6. Gabriel, B. 1994. Wastewater microbiology. A John Wiley & Sons, Inc., NY.
7. Ghosh, S. and Klass, D. L. 1978. Two-phase anaerobic digestion. Proc. Biochem. 13:15-24.
8. Hill, D. T. 1982. Design of digestion systems for maximum methane production. Trans ASAE 25:226.
9. Hungate, R. E. 1966. The rumen and its

- microbes. academic Press. New York. N.Y.
10. McCarty, P. L. 1964. Anaerobic treatment fundamentals-part two, environmental requirements and control. Public Works, 95, 123-126.
  11. Pos, J., Eszes, R. and Pavlicil, V. 1985. Evaluation of two full-size mixed mesophilic digesters processing swine manure. In: Agricultural waste utilization and management. pp. 81-90. Proc. 5th Int. Symp. on Agricultural Wastes. Am. Soo. Agric. Eng., st. Joseph, MI.
  12. SAS/STAT User's guide. 1989. Version 6, Fourth Edition. Vol. I, II. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA.
  13. Speece, R. E. 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. Environ. Sci. Technol. 17:416A-427A.
  14. Standard methods for the examination of water and waste water, 1971. 13th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
  15. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill Book Co., New York, N.Y.
  16. Van Soest, P. J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. O & B books, Inc. 1215 NW Kline Place, Corvallis, Oregon 97330, USA.
  17. 맹원재, 이상락, 조남기, 김범석. 1993. 혐기적 소화법에 의한 고부하 가축폐기물의 처리 및 재활용 기술개발에 관한 연구. 농시 논문집 ('92 농업산학협동). 35:175-179.
  18. 맹원재. 1992. 가축 biomass의 효과적인 이용과 환경보존에 관한 연구. 건국대학교. 동물자원연구센터. 1차년도 연구보고서.
  19. 맹원재. 1993. 가축 biomass의 효과적인 이용과 환경보존에 관한 연구. 건국대학교. 동물자원연구센터. 2차년도 연구보고서.
  20. 맹원재. 1994. 가축 biomass의 효과적인 이용과 환경보존에 관한 연구. 건국대학교. 동물자원연구센터. 3차년도 연구보고서.