

# 돈분을 이용한 혐기발효시 최대의 메탄생성을 위한 2단계 제어의 효과<sup>†</sup>

김범석 · 이상락 · 맹원재

건국대학교 축산대학 영양자원전공

## The Effect of 2-Step Control of Anaerobic Fermentation for Maxium Methane Production 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

For the recycling of swine waste takes 2 different steps in fermenting procedure, acidogenic reactor and methanogenic reactor, the activity of involved microbes can be maintained at the maximum level.

This study showed applying 2 separate steps in anaerobic fermentation has improved fermenting efficiency over the conventional 1 step fermentation.

Accordingly, the results are coincident with the hypothesis in which 2 steps acidogenic and methanogenic reactor fermentation is more efficient than conventional (1 step) fermentation that makes poisonous materials be obviate and abate. And the results also get the effective performance in the production of methane gas.

(Key words: Anaerobic fermentation, 2-Step fermentation, Methane)

### 서 론

혐기 발효조내의 미생물은 주로 유기물을 분해시켜 유기산을 생성하는 미생물과 휘발성지방산, H<sub>2</sub>와 CO<sub>2</sub> 등을 이용하여 메탄을 생성하는 미생물로 이루어져 있고, 또한 이들 상호간에는 매우 복잡한 관계가 유지되고 있으며, 어

떠한 특정 미생물의 최종 대사산물은 다른 종류의 미생물 성장을 위한 기질로 이용되기도 하며 성장을 저해시키는 작용을 하기도 한다고 하였다 (Hungate, 1966, Archer와 Krisop, 1991). 즉, 혐기 발효 시스템은 발효 과정중의 중간대사물질 (H<sub>2</sub>와 휘발성지방산)에 의해 저해를 받을 수 있으며, 이들의 과도한 농도는 feedback

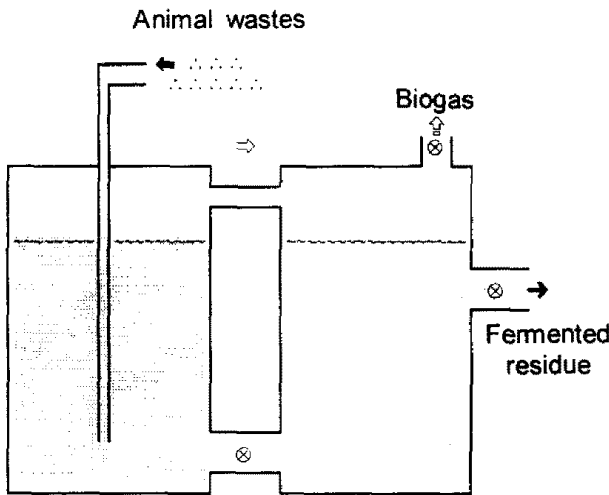
<sup>†</sup> 본 연구는 한국학술진흥재단의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

inhibition을 유발시킨다고 하였다 (Barnes와 Fitzgerald, 1987).

이와 같은 문제점을 해소하기 위하여 메탄 생성단계와 산 생성단계를 분리할 필요가 있다고 하였으며 (Ghosh와 Klass, 1978; Pipyn 등,

1979; Cohen 등, 1980), 이러한 2단계 발효의 장점은 1차 발효 과정에서 독성물질들을 제거하거나 감소시킬 수 있으며, 따라서 메탄 생성미생물의 활성을 높여줄 수 있을 것이다.

따라서 돈분의 혐기 발효시 이들을 산 생성 반응조와 메탄 생성반응조로 나누어 발효를 유도한다면 통합 운용시 보다는 분리하여 운용하는 것이 1차 발효과정중에 독성 물질들을 제거하거나 감소시킬 수 있기 때문에 메탄 생성미생물의 활성을 높여줄 수 있다고 하는 가설과도 부합되는 결과라고 할 수 있으며, 목적인 메탄을 생산하는데 있어서 가장 이상적인 발효 성적을 얻을 수 있을 것이라는 가설하에 다음과 같은 발효시스템을 설계하여 운용하였다 (Fig. 1).



Reactor	Acidogenic	Methanogenic
Optimum pH	below 6.5	7.0~7.6
Substrate	Polymers (Carbohydrates etc.)	VFAs, CO <sub>2</sub> , H <sup>+</sup>

Fig. 1. Schematic diagram of a control concept for the two-step anaerobic fermentation.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 설계

2단계 혐기 발효조를 제어 운용하기 위하여 Table 1과 같이 실험 설계를 하였으며, 각 발효 단계간 연계성을 최대화하기 위하여 설계되었다.

Table 1. Operational conditions for one- or two-step anaerobic reactors

Item	One-step reactor		Two-step reactor	
	Acidogenic + Methanogenic		Acidogenic	Methanogenic
Operational conditions				
Substrate	Swine waste		Swine waste	Effluent from Acidogenic reactor
Reactor volume (ℓ)	1.2		0.2	1.2
Temperature (°C)	39		39	39
Loading rate (gVS/ℓ/day)	5.24		5.24	
Loading amount (mℓ/ℓ/day)	100		100	100
Hydraulic retention time (day)	12		2	10

### 2. 발효 기질

발효용 기질은 충청북도 충주시 소재 건국대

학교 부속농장에서 채취한 신선한 돈분을 냉장 상태로 실험실로 운반하여 알맞은 크기로 나눈 후, -20°C에서 냉동 보관하였다가 필요할 때

일정량을 냉장하에서 녹인 후, 1.0 mm의 pore size를 가지는 polyethylene제 망사형 체를 이용하여 이물질 등을 제거하고 입자도를 고르게 한 후, 희석수를 이용하여 설정부하율에 맞도록 희석하여 사용하였다. 발효기질인 돈분의 일반적인 화학적 조성은 다음과 같다 (Table 2).

Table 2. Characteristics of substrate of swine waste collected from Chungju Farm

Item	Content
Biochemical oxygen demand (mg/l)	25,050 ± 42.0
Total solids (%)	16.85 ± 0.23
Ash (%)	3.87 ± 0.11
Volatile solids (%)	12.98 ± 0.23
Total nitrogen (mg/l)	3,121 ± 0.02
pH	6.97

### 3. 발효조 운용방법

2단계 혐기 발효를 위한 산 생성 반응조를 유지하기 위하여 HiPAFs 내용물 (Table 3)을 1ℓ 용량의 혐기 발효조를 이용하여 실용량 200ml로서 부하율을 5.24gVS/ℓ/일, 체류시간 2일로 하여 39℃ 항온조 (SamWoo Co., Korea)에서 배양한 것을 산 생성 반응조로 하였다 (Table 4). 메탄 생성 반응조는 온도와 혐기 상태가 완전하게 조절되는 3ℓ-digester 1기 (MBF-250, EYELA Co., Japan)를 사용하여 실용량 1ℓ로서 부하원료는 산 생성 반응조에서 발효된 혼합물을 기질로 하여 체류시간을 10일로 배양한 것을 메탄 생성 반응조로 유지 배양하였다.

대조구로서 산 생성단계와 메탄 생성단계가 공존하는 단일반응조를 온도와 혐기 상태가 완전하게 조절되는 3ℓ-digester 1기를 사용하여 실용량 1.2ℓ로서 부하원료는 돈분을 기질로 하여, 체류시간 12일로 배양하였다.

Table 3. Operational conditions and effluent characteristics of effluent from a pilot-scale anaerobic fermenter of HiPAFS<sup>1</sup>

Item	Content
Operational conditions	
Fermentation temperature (°C)	39
Loading rate (kg VS/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.

### 4. 분석항목 및 분석방법

시간별 가스 발생량을 측정하기 위해 적분식 가스미터 (wet-gas meter; GM50, Sanryo Co., Japan)와 가스 포집장치를 이용하여 총 발효가스 발생량을 구하였으며, 발효 가스중의 메탄가스 및 이산화탄소 성분은 TCD (thermal conductivity detector)가 부착된 가스 크로마토그래피 (GC-6000 series, Carlo-Erba Co., Italy)을 이용하여 구한 후, 생성된 생물가스의 양을 계산하였다.

그 밖의 혐기 발효조내의 발효 성상을 측정하기 위하여 배양하는 동안 일정량의 시료를 채취하여 발효 유출물의 pH는 pH 미터 (HM-10P, TOA Electronics Ltd., USA)을 이용하여 측정하였고, 화학적 분석을 위하여 -20℃에서 냉동 보관한 후, 분석 하루전에 냉장 보관하여 해동시킨 후 각종 분석에 이용하였다.

화학적 성분중 건물, 단백질, 지방, 섬유소, 회분 등의 일반성분은 AOAC (1993)법에 의하여 분석하였고, 암모니아 질소는 비색계 (Spec-

tronic 21, Bausch & Lomb Co., USA)을 이용하여 Chaney와 Marbach의 방법으로 (1962), 휘발성지방산은 가스 크로마토그래피 (Hewlatpackard 5890A (FID), Hewlatpackard Co, USA)을 이용하여 Erwin 등 (1961)의 방법으로 분석하였으며, 발효 유출물의 BOD<sub>5</sub>는 검압식 (6 Bottle Manometric apparatus, Model 2173 B, Hach Co. USA)방법에 의하여 BOD 항온기 (Dong yang Co., Korea)을 이용하여 측정하였다 (미국 수질 표준검사법, 1971).

또한 발효 잔류물의 고형물중의 총 에너지를 분석하기 위하여 칼로리미터 (Adiabatic calorimeter; Parr instrument company, USA)을 이용하여 열량을 측정하였다.

## 5. 통계 처리

2단계 혐기 발효조에 있어 각 발효 단계간 연계성을 최대화 하고자 단일 혐기 발효조 (acidogenic + methanogenic)와 2단계 혐기 발효조 (acidogenic reactor, methanogenic reactor)를 설정하여 배양하였으며, 각 발효조간의 통계적 유의성은 SAS package의 GLM Procedure (SAS ver. 6.04, SAS Institute, 1989)를 이용하여 t-Test에 의하여 검정하였다 (Steel과 Torrie, 1980).

## 결과 및 고찰

산 생성 반응조 및 메탄 생성 반응조에서 도출된 최적 발효조건을 바탕으로 2단계 혐기 발효조 (AMR; acidogenic + methanogenic)와 산 생성 발효조 (AR; acidogenic), 메탄 생성발효조 (MR; methanogenic reactor)를 연결한 새로운 시스템을 완성시켰으며, 각 발효 단계간 연계성을 최대화하여 lab-scale의 발효조를 제작, 운용한 결과는 각각 Table 4, 5와 같고, 또한 부하율을 5.24gVS/ℓ/일로 AMR, AR 및 MR의 체류시

간을 각각 12일과 2, 10일로 하여 혐기 발효시켜 다음과 같은 결과를 얻었다 (Table 4).

pH는 각각 7.10, 6.33 및 7.15로 각 처리구별 산 생성단계와 메탄 생성단계를 적절하게 유지한 것으로 보여진다.

이는 대부분의 메탄 생성 미생물은 pH가 6.7~7.4 범위에서 최대 활력을 유지하지만 그 중에서도 최적 pH 조건은 7.0~7.2 사이이며, pH 6.0에 가까워질수록 활력은 저하된다는 것과 반면에 산 생성 미생물은 비교적 낮은 pH에서 유기산을 생산해 내는 경향이 있다 (McCarty, 1964).

정상적인 조건하에서는 메탄 생성 미생물이 생산하는 bicarbonate에 의해 pH의 완충효과가 있지만 반대의 조건에서는 발효조내의 buffering capacity는 균형이 깨어져 심하면 methane의 생성이 중지될 수도 있다고 하였으나 (Gabriel, 1994), 본 연구결과 그러한 결과는 나타나지 않았다.

pH가 5.8 이하로 낮아지는 조건에서 휘발성 지방산이 메탄 생성 미생물에 저해작용을 일으킨다고 알려져 있으나 (Van Velsen과 Lettinga, 1979) 본 실험에서는 이러한 결과는 나타나지 않았다.

pH의 변화는 메탄 생성 미생물에 있어서 산 생성 미생물보다 더욱 나쁘게 작용을 하며 발효조내 휘발성지방산의 생산이 많아지게 되는 것은 발효조의 성능을 더욱 떨어뜨릴 수 있다고 보고하였으나 2단계로 분리할 경우 이러한 결과는 방지되어질 수 있으나 산 생성 반응조의 유출물을 메탄 생성조에 기질로서 공급할 경우 pH의 변화에 주의를 기울여야 할 것으로 사료된다.

또한 암모니아 농도는 AMR, AR 및 MR에서 각각 61.3, 43.3 및 65.9 mg/ℓ 로 MR 조건에서 가장 높았고, 총 휘발성지방산의 농도는 각각 545.0, 1,382.8 및 448.1mg/ℓ 로 AR에서 가장 높

았으며, 이 중 acetate의 농도는 각각 482.1과 827.0, 354.4mg/ℓ 으로 AR에서 생성된 acetate는 MR에서 이용된 것으로 보이며, AR에서 propionate 농도도 266.7mg/ℓ 로 나타났다. 휘발성 지방산은 혐기 발효 과정중의 중간대사물질이기도 하지만 pH가 중성에 가까울 경우 acetate와 butyrate 등의 유기산은 메탄 생성 미생물에 저해작용을 일으킬 수 있으며, propionate는 산 생성 미생물과 메탄 생성 미생물에 저해를 가져올 수 있다고 하였으나 (Van Soest, 1982), 본 연구에서는 methane 생성에 저해가 될 정도는 아닌 것으로 보여진다.

질소의 농도는 각각 1,902.5, 1,275.4 및 1,979.9 mg/ℓ 으로서 최종적으로 단일 발효조와 메탄 생성 발효조에서는 차이가 없었으나, 산 생성 발효조에서는 감소하였다. 이는 혐기 발효를 거칠 경우 혐기 미생물의 증식으로 인하여 혐기성

미생물체가 함유하고 있는 질소와 생성된 암모니아 질소로 인하여 총 질소의 함량이 증가하는 것으로 그 원인이 있는 것으로 생각된다. 이는 Stern 등 (1979)이 미생물 단백질 합성에 영향을 미치는 요인으로는 단백질의 용해도, 용해된 탄수화물의 형태와 이용성, 암모니아 함량 등이라고 했던 것 처럼 발효과정중 충분한 영양분의 공급에 있었던 것으로 보인다. 이러한 결과는 혐기성 발효조에 있어서 유입수 (influent)와 sludge, 유출수 (effluent)의 영양분 조성을 비교하였을 때 암모니아성 질소와 같은 영양원은 effluent와 sludge에 많이 농축되어 있다고 한 결과와도 부합되었다 (맹 등, 1993).

AMR, AR 및 MR에서의 VS 농도는 각각 3.11, 5.45 및 3.41%를 나타냈다. 또한 BOD의 농도는 각각 7,250, 18,000 및 8,500mg/ℓ 으로 투입된 돈분의 초기 BOD가 25,050mg/ℓ 임을

Table 4. Fermentation characteristics of swine waste at a one- and two-step anaerobic fermentation system

Item	One-step Fermentation system	Two-step Fermentation system	
		Acidogenic reactor	Methanogenic reactor
pH	7.10 <sup>b</sup>	6.33 <sup>c</sup>	7.15 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> -N (mg/ℓ)	61.3 ± 2.85 <sup>b</sup>	43.3 ± 2.86 <sup>c</sup>	65.9 ± 1.73 <sup>a</sup>
VFAs (mg/ℓ)			
Total	545.0 <sup>b</sup>	1,382.8 <sup>a</sup>	448.1 <sup>c</sup>
Acetic acid	482.1 <sup>b</sup>	827.0 <sup>a</sup>	354.4 <sup>c</sup>
Propionic acid	32.9 <sup>b</sup>	266.7 <sup>a</sup>	29.3 <sup>b</sup>
iso-Butyric acid	21.1 <sup>c</sup>	50.1 <sup>a</sup>	27.3 <sup>b</sup>
Butyric acid	5.1 <sup>c</sup>	63.4 <sup>a</sup>	24.6 <sup>b</sup>
iso-Valeric acid	2.5 <sup>c</sup>	79.0 <sup>a</sup>	11.9 <sup>b</sup>
Valeric acid	1.2 <sup>b</sup>	96.5 <sup>a</sup>	0.7 <sup>b</sup>
Total nitrogen (mg/ℓ)	1,902.5 <sup>a</sup>	1,275.4 <sup>b</sup>	1,979.9 <sup>a</sup>
Volatile solid concentration (%)	3.11 ± 0.12 <sup>b</sup>	5.45 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.41 ± 0.37 <sup>b</sup>
BOD <sub>5</sub> (mg/ℓ)	7,250 <sup>b</sup>	18,000 <sup>a</sup>	8,500 <sup>b</sup>
Gross energy of digesta solid (cal/g)	3,874 <sup>a</sup>	3,429 <sup>b</sup>	3,121 <sup>c</sup>

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

감안하면 각각 71, 28, 66%의 BOD 제거율을 보이는 것으로 나타났으며, 발효조내의 고형물중의 총 에너지 함량은 각각 3,874.3, 3,429.3 및 3,120.9mg/ℓ 이었다. 이와 같이 2단계로 발효시킬 경우 에너지 함량이 줄어든 결과는 발효조내의 유기물이 분해되어 휘발성지방산이 생성되고 이를 이용하여 메탄으로 전환되어지는 것으로 결과적으로 혐기 발효가 끝난 유출물의 BOD 농도를 낮추는데 기여를 한 것으로 판단된다.

AMR, AR 및 MR에서의 생물가스 생산량은 각각 525, 11 및 587ml/일로써 AR과 MR을 합쳐서 계산했을 때 598ml/일로 AMR에 비하여 약 13.9% 생산량이 증가하였다.

혐기 발효시 발생하는 생물가스의 일반적인 조성은 200ℓ 의 lab-scale 발효조 (교반, 가열식, 돈분 3.2kg OM/일, 35℃)를 이용하여 일일 170~180ℓ 의 생물가스를 생산한 Haga (1979)의 경

우 메탄이 약 62%, CO<sub>2</sub>는 38% 그리고 0.1% 이하의 H<sub>2</sub>S와 H<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>로 구성되어 있다고 하였으며 (Haga 등, 1979; Smith 등, 1979), 또 다른 lab-scale 발효조 실험에서 생물가스의 생성은 체류시간을 증가시킬수록 그리고 유입되는 휘발성고형분의 농도를 높일수록 증가하였다고 알려져 있으며, 이 때 가스 생성은 0.25~0.37m<sup>3</sup>/kg·VS 이었고, 가스중의 메탄 성분은 59% 이었다고 하였다 (Webb와 Hawkes, 1985).

본 실험에서의 메탄의 농도는 각각 77.85, 64.10 및 79.89%로서 위의 결과보다는 높았으나 다른 연구자들이 보고한 농도 (60~80%)와 큰 차이가 없는 것으로 나타났다 (Sahm, 1984).

이를 다시 메탄 생성량으로 환산하면 각각 408.71, 7.05 및 468.95ml/일로 AR과 MR의 총합량은 476ml/일로 16.46% 증가한 것으로 나타났다. 그리고 발생하는 가축분의 종류에 따른 메탄 생성율은 차이가 많은데, 돼지에서 가

Table 5. A comparison of fermentation performance between a one-step and a two-step anaerobic fermentation system with the substrate of swine waste

Item	One-step (A)	Two-step fermentation system			[(B + C) - A] / A × 100 (%)
		Acidogenic reactor (B)	Methanogenic reactor (C)	B + C	
Operational conditions					
Temp. (°C)	39	39	39	39	
Loading rate (gVS/ℓ/day)	5.4	5.4			
Performance					
HRT (day)	12	2	10	12	
Reactor volume (ml)	1,200	200	1,000	1,200	
Gas production rate (ml/d)	525	11	587	598	13.90
ml/gVSfed/ℓ	83.4	10.5	112	95.1	
Gas composition (%)					
CH <sub>4</sub> (%)	77.85	64.10	79.89		
CO <sub>2</sub> (%)	20.79	30.67	18.99		
CH <sub>4</sub> & CO <sub>2</sub> production rate					
CH <sub>4</sub> production (ml/day)	408.7	7.1	469.0	476	16.46
CO <sub>2</sub> production (ml/day)	109.2	3.4	111.5	115	

장 높고 (0.32~0.52), 가금 (0.24~0.39)과 육우 (0.17~0.33)가 중간이고, 유우 (0.10~0.24m<sup>3</sup>/kg · VS)에서 가장 낮았다고 하였다. 이는 분중의 유기물 농도에 따른 것으로 사료된다.

휘발성 고형물의 농도는 각각 3.11, 5.45 및 3.41%로서 발효 최종단계에서 큰 차이는 나지 않았으나 이를 분해율로 환산하면, 각각 76.04, 58.01 및 73.70%로서 나타났으며 이는 발효대상의 주 기질인 휘발성 고형물 (volatile solids; VS)의 분해율은 반추가축의 경우 40%, 돼지의 경우는 50% 정도라고 보고한 결과보다도 분해율이 높았다 (Smith 등, 1979).

가축분뇨의 재활용을 위한 혐기 발효과정을 산 생성단계와 메탄 생성단계로 나누어 메탄 생성에 영향을 미치는 요인을 연구한 결과 acidogenic + methanogenic reactor (AMR)와 acidogenic reactor (AR), methanogenic reactor (MR)를 연결한 새로운 시스템으로서 부하율을 5.24gVS/l/일로 AMR, AR 및 MR의 HRT를 각각 12, 2, 10일로 하여 lab-scale의 발효조를 제작, 운용한 결과 메탄의 생성량은 408.71, 7.05, 468.95ml/l/일로 AR과 MR의 통합량은 476 ml/l/일로써 16.46% 증가한 것으로 나타났다.

## 요 약

본 연구는 가축분뇨의 처리를 위한 방법의 일환으로 재활용을 위한 혐기 발효과정을 산 생성단계나 메탄 생성단계로 나누어 제어함에 있어서 각 단계별 최적 발효조건을 제어했을 때의 발효성상과 발효성적을 조사하여 분리제어의 효과를 검증하기 위하여 실시하였다.

그 결과 발효단계를 산 생성단계와 메탄 생성단계로 나누어 운용하였을 때가 분리하지 않고 운용하였을 경우에 비하여 메탄 생성효율에서 16.5%의 개선효과가 나타나 혐기 발효를 이

용하여 가축분뇨와 같은 유기성 폐기물로부터 메탄가스와 같은 재활용 물질을 회수하는 데는 발효단계를 2단계로 나누어 제어하는 것이 효과적인 것으로 나타났다.

## 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. Barnes, D. and Fitzgerald, P. A. 1987. Anaerobic wastewater treatment processes, pp. 57-113. in Environmental Biotechnology, C. F. Forster, and D. J. A. Wase, Eds. Ellis Horwoodm Chichester, U.K.
4. Chaney, A. L. and Marbach, E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Biochem. 8:130-132.
5. Cohen, A., Breure, A. M., van An del, J. G. and van Deursen, A. 1980. Influence of phase separation on the anaerobic digestion of glucose. I. Maximum COD-turnover rate during continuous operation. Water Res. 14:1439-1448.
6. 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.
7. Gabriel, B. 1994. Wastewater microbiology. A John Wiley & Sons, Inc., NY.
8. Ghosh, S. and Klass, D. L. 1978. Two-phase anaerobic digestion. Proc. Biochem. 13:15-24.

9. Ghosh, S. J. R. Conrad, and Klass, D. L. 1975. Anaerobic acidogenesis of waste water sludge. *J. WPCF*. 47:30-45.
10. Giger, W. and Roberts, P. V. 1978. Characterization of persistent organic carbon, pp. 135-175, in: *Water pollution microbiology*, Vol. 2, R. Mitchell, Ed. Wiley, New York.
11. Gijzen, H. J., Zwart, K. B., Verhagen, F. J. M. and Vogels, G. D. 1988. High-rate two-phase process for the anaerobic degradation of cellulose, employing rumen microorganisms for an efficient acidogenesis. *Biotechnol. Bioeng.* 31:418-425.
12. Gijzen, H. J., Zwart, K. B., Teunissen, M. J. and Vogels, G. D. 1988. Anaerobic digestion of cellulose fraction of domestic refuse by means of rumen microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.* 32:749-755.
13. Haga, K., Tanaka, H. and Higaki, S. 1979. Methane production from animal wastes and its prospects in Japan. *Agricultural Wastes*. 1:45.
14. Hammer, M. J. 1986. *Water and wastewater technology*. Wiley, New York.
15. Hungate, R. E. 1966. *The rumen and its microbes*. academic Press. New York. N.Y.
16. Kisaakita, W. S., Pinder, K. L. and Lo, K. V. 1987. Acidogenic fermentation of lactose. *Biotechnology and Bioengineering* Vol. 30:88-95.
17. McCarty, P. L. 1964. Anaerobic treatment fundamentals-part two, environmental requirements and control. *Public Works*, 95, 123-126.
18. Pipyn, P., Verstrate, W. and Ombregt, J. P. 1979. A pilot scale anaerobic upflow reactor treating distillery wastewaters. *Biotechnol. Lett.* 1:495-500.
19. SAS/STAT User's guide. 1989. Version 6, Fourth Edition. Vol. I, II. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA.
20. Sahm, H. 1984. Anaerobic wastewater treatment. *Adv. Biochem. Eng. Biotech.* 29:84-115.
21. Smith, R. J., Hein, M. E. and Greiner, T. H. 1979. Experimental methane production from animal excreta in pilot-scale and farm-size units. *Journal of Animal Science*. 48(1):202-217.
22. Standard methods for the examination of water and waste water, 1971. 13th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
23. Steel, R. G. D., and Torrie, J. H. 1980. *Principles and procedures of statistics*. McGraw-Hill Book Co., New York, N.Y.
24. Stern, M. D. and Hoover, W. H. 1979. *J. Animal Sci.* 48:649.
25. Van Soest, P. J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant*. O & B books, Inc. 1215 NW Kline Place, Corvallis, Oregon 97330, USA.
26. Van Velsen, A. F. M. and Lettinga, G. 1979. Effect of feed composition on digester performance. In *Anaerobic digestion*. Applied Science. pp. 113-130
27. Webb, A. R. and Hawkes, F. R. 1985. Laboratory scale anaerobic digestion of poultry litter: Gas yield loading rate relationships. *Agricultural Wastes*. 13:31.
28. 맹원재, 이상락, 조남기, 김범석. 1993. 혐기적 소화법에 의한 고부하 가축폐기물의 처리 및 재활용 기술개발에 관한 연구. *농기 논문집 ('92 농업산학협동)*. 35:175-179.