

저온 저장의 역할과 원리: 우분의 메탄 배출과 미생물 군집

임성원^a, 오세은^b, 홍두기^c, 김동훈^{d†}

Role and Principle of Lowering Storage Temperature : Methane Emission and Microbial Community of Cattle Manure

Seongwon Im^a, Sae-Eun Oh^b, Do-giy Hong^c, Dong-Hoon Kim^{d†}

(Received: Jun. 14, 2019 / Revised: Jun. 23, 2019 / Accepted: Jun. 23, 2019)

ABSTRACT: Livestock manure is a significant source for greenhouse gas (GHG) emission, and a huge amount of GHG emission is generated during its storage. In the present work, lowering temperature was attempted to mitigate methane (CH₄) emission from cattle manure (CM) with high solid content. CM was stored for 60 d at 15-35°C (5°C interval). CH₄ emission reached 63.6±3.6 kg CO₂ eq./ton CM at 35°C, which was reduced to 51.6±1.8, 24.1±4.4, 14.9±0.5, and 3.7±0.1 kg CO₂ eq./ton CM at 30, 25, 20, and 15°C, respectively. After storage, 30% of COD reduction was observed in the CM stored at 35°C, while the COD removal decreased to only 6% at 15°C. It was found that only 3-11% of COD removal was done by anaerobic process, while the rest of COD removal was done by aerobic biological process. *Methanobrevibacter* and *Methanolobus* were found to be the dominant species in the CM, and the dominance of *Methanolobus psychrophilus* increased at lower storage temperature. Specific methanogenic activity test results showed that the inhibition by low temperature was temporal.

Keywords: Cattle manure, Storage temperature, Methane emission, Specific methanogenic activity, microbial community

초 록: 가축분뇨 유래 온실가스 배출량은 상당하며, 특히 저장 기간 중에 메탄을 포함한 상당량의 온실가스가 배출된다. 본 연구에서는 고형물 농도가 높은 우분의 저장 시 메탄 배출량 저감을 위해 낮은 온도 저장의 영향을 살펴보았다. 우분이 60일 저장되는 동안 배출된 최대 메탄의 양은 35°C 조건에서 63.6±3.6 kg CO₂ eq./ton CM으로 나타났으며 저장온도가 30, 25, 20, 15°C로 낮아질수록 각각 51.6±1.8, 24.1±4.4, 14.9±0.5, 3.7±0.1 kg CO₂ eq./ton CM으로 감소하였다. 우분을 35°C에서 저장하는 동안 30%의 COD가 감소하였지만 15°C에서는 단 6%의 COD만이 감소되어 우분 내 유기물의 손실은 저장온도가 높을수록 증가하였다. 제거된 COD의 3~10%만이 메탄으로 전환이 되었으며 대부분은 호기 분해에 의해 진행된 것으로 사료된다. 우분의 주요 우점종으로는 *Methanobrevibacter*과 *Methanolobus*이 발견되었고 저장온도가 낮아질수록 저온 메탄생성균인 *Methanolobus psychrophilus*의 우점율(48%, 15°C)이 증가하였다. 수소를 이용한 SMA 실험 결과, 25, 15°C에서 저장한 메탄생성균의 지체기간은 10~11일, 최대 메탄생성속도는 22 mL/g VSS/d으로 35°C에 저장한 경우(1일, 12~17 mL/g VSS/d)보다 지체기간은 증가하였지만 메탄생성속도는 높은 것으로 나타났다. 이런 결과로 미루어보아 저온저장은 메탄생성균에게 일시적인 저해는 줄 수 있지만, 적절한 조건이 주어지면 그 활성도는 다시 회복될 수 있음을 알 수 있었다.

주제어: 우분, 저장온도, 메탄 배출, 메탄생성균 활성도, 미생물 군집

^a 인하대학교 사회인프라공학과 박사과정(Ph.D. course, Department of Civil Engineering, Inha University)

^b 한밭대학교 건설환경공학과 정교수(Professor, Department of Civil and Environmental Engineering, Hanbat University)

^c (주)성지환경건설 기업 대표(Representative company, Seongji Environment Company)

^d 인하대학교 사회인프라공학과 부교수(Associate professor, Department of Civil Engineering, Inha University)

† Corresponding author(e-mail: dhkim77@inha.ac.kr)

1. 서론

축산업 분야의 온실가스 배출량은 수송 분야와 상응할 정도로 많은 양이 배출되고 있으며, 주로 가축의 장내발효와 분뇨에서 기인하는 것으로 알려져 있다¹⁾. 이 중 전체 배출량의 30-50%가 가축분뇨에서 기인하고 있으며, 가축분뇨의 저장과 처리 과정에서 메탄(CH_4)과 아산화질소(N_2O)로 구성된 온실가스를 방출한다²⁾. 가축분뇨는 주로 퇴비화, 액비화, 공공처리, 혐기성소화를 통해 처리가 되며 이 과정 중에 배출되는 온실가스양에 대해서는 세계적으로 표준화 관련 연구가 진행된 반면, 저장 기간에 발생하는 배출량에 대한 연구는 상대적으로 미비한 편이다^{3,4)}. 특히 우리나라의 경우, 가축분뇨가 처리 플랜트로 이송 전 1-6개월 저장되는데, 이 때 발생하는 온실가스에 대한 연구는 전무한 상황이다.

가축분뇨의 저장 중 발생하는 주요 온실가스는 메탄이며, 가축의 장내에서 유래된 혐기성 미생물과 저장조의 깊은 수심에 따른 공기와의 제한된 접촉 조건이 유기물의 혐기성소화를 유발시켜 발생하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. 혐기성소화는 일반적으로 가수분해, 산생성, 메탄생성 단계를 통해 유기물을 메탄과 이산화탄소로 전환하는 생물학적 분해과정으로서 가축분뇨의 처리 방법으로 활용되어 신재생에너지원을 생산하는 기술이기도 하나, 가축분뇨의 저장 과정 중에는 온실가스를 배출하는 역할을 한다^{6,7)}. 이러한 저장 과정 중 발생하는 메탄량은 가축의 종류, 환경에 따라 다양하나 돈분과 우분의 경우 2-37 kg CO_2 /ton TS 발생시키는 것으로 알려져 있다⁷⁻⁹⁾.

저장 과정 중 배출하는 메탄을 줄이기 위해 가장 많이 연구되고 있는 기술은 진한 황산을 첨가하는 것이다. 이 기술은 원래 가축분뇨 내 암모니아의 손실을 최소화하여 높은 품질의 액비를 생산하기 위해 개발되었다¹⁰⁾. 황산 첨가로 인해 가축분뇨의 pH(6.0-6.5)가 낮아지게 되면 가축분뇨 내 총암모니아 중 free ammonia의 분포가 감소하게 되고 결과적으로 대기 중으로 휘발되는 질소량을 줄일 수 있게 된다. 이러한 방법은 가축분뇨 내에 서식하고 있는 메탄생성균의 활성을 저해할 수 있으므로 메탄 배출 저감도 가능하다¹¹⁾. 그러나 황산 첨가 방법은 2차 환경오염

문제 및 사용자와 동물의 건강을 위협할 수 있고 산 첨가제와 가축분뇨의 혼합 문제로 인해 고형물 함량이 높은 우분(cattle manure, CM)에는 적용이 힘들다는 단점을 가지고 있다. 특히, 국내 우분 배출량은 전체 가축분뇨 발생량의 36%나 차지하고 있으며 발생된 우분은 축산 농가에서 3-8개월간 저장되기 때문에 저장 시 온실가스 배출을 줄일 수 있는 우분 저장기술 개발이 필요하다.

저온 저장은 우분에서 배출되는 메탄을 줄이기 위한 효과적인 방법이 될 수 있다. 메탄생성균은 주로 중온에서 높은 활성도를 보이지만 낮은 온도에서는 활성도가 크게 떨어지는 특성이 있다¹²⁾. 기존 보고에 따르면, 1 L 젖소 분뇨를 10°C에서 270일 저장하는 동안 280 mL의 메탄이 배출되었으나 15°C에서는 메탄 배출량이 330 mL로 증가하였으며 소와 돼지 슬러리의 경우에도 저장온도를 15°C에서 20°C로, 20°C에서 25°C로 증가시키면 메탄 배출량이 각각 81%와 77% 증가하는 것으로 나타났다^{9,13)}. 하지만 저장온도가 우분에서 배출되는 온실가스양에 미치는 영향에 관한 기존의 연구는 대부분 수분함량(>95%)이 높은 슬러리 형태의 우분을 이용하였으므로 고형물 함량이 높은 우분(TS>25%)에서 배출되는 메탄에 대한 온도 영향을 조사하는 연구가 필요하다.

본 연구의 목적은 저장온도가 우분의 장기간 저장 시 발생하는 메탄에 미치는 영향을 조사하고 그 기작에 관한 이해도를 증진시키는 것이다. 계절별 실제 우분의 저장온도를 고려하여 우분의 저장온도는 35-15°C(5°C 간격)로 결정하였으며 60일 동안 저장하였다. 저장 실험이 진행되는 동안 가스 배출량 및 성상은 주기적으로 분석하였으며, 신선한 우분과 60일간 저장한 우분을 채집하여 성분분석을 진행하였다. NGS(next generation sequencing) 방법을 활용하여 저장온도가 미치는 우분 내 미생물의 군집 변화를 조사하였고 SMA(specific methanogenic activity) 실험을 통해 우분 내 메탄생성균의 활성도 평가를 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 우분의 성상 및 저장 방법

본 연구에 사용한 우분은 톱밥을 깔짚으로 활용한 논산시 소재 200 두 규모의 한우농장에서 확보하였으며, 운반하는 동안 우분의 성상 변화를 최소화하기 위해 냉장 저장하였다. 우분의 성상은 Table 1에 나타냈으며 일반적인 톱밥한우분의 성상과 큰 차이를 보이지 않았다¹⁴⁾.

우분 저장 실험은 총 용량 1.4 L의 원통형 아크릴 저장조(D60 × H500 mm)를 이용하여 수행하였다. 0.5 kg의 우분을 저장조로 옮기고 우분에서 발생하는 가스가 저장조 밖으로 새지 않도록 저장조를 밀봉한 후, 35±1, 30±1, 25±1, 20±1, 15±1°C의 온도에서 60일 동안 저장하였다. 발생한 바이오가스 발생량 및 성상은 주 2회 분석하였으며 실제 우분의 저장환경을 모사하고자 가스 분석 이후 저장조의 head space를 펌프(유량 0.5 L/min, 시간 5 min)를 이용하여 신선한 공기로 치환해주었다.

2.2. 미생물 군집 분석

저장온도에 따른 우분 내 미생물의 군집변화를 관찰하기 위해 신선한 우분과 35, 25, 15°C에서 60일 동안 저장한 우분을 채취한 후 전문분석기관(Macrogen, Seoul, South Korea)에 의뢰하여 NGS방법을 이용하여 미생물 군집분석을 진행하였다. 샘플의 DNA는 Powersoil® DNA Isolation Kit(Cat, No, 12888, MOBIO)를 사용하여 추출하였고 Illumina 16S MNetagenomic Sequencing Library protocols에 따라 실험을 진행하였다. DNA의 양과 질은 PicoGreen과 Nanodrop을 이용하여 측정하였으며 Archaea primers (16S amplicon PCR forward primer:5' TCGTCGGCAGCGTCAGATG

TGTATAAGAGACAG-ATTAGATACCCSBGTAGTCC and 16S amplicon PCR reverse primer:5' GTCTCGTG GGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGCCATGC ACCWCCTCT)를 이용하여 16s rRNA genes를 증폭하였다. Input gDNA는 Archaea primers로 증폭되었고 이 후의 subsequent limited-cycle amplification 단계는 multiplexing indices와 Illumina sequencing adapters를 추가하기 위해 수행하였다. 최종 생산물은 PicoGreen을 사용하여 표준화 및 풀링을 하였으며, 라이브러리의 크기는 LabChip GX HT DNA High Sensitivity Kit (PerkinElmer, Massachusetts, USA)를 사용하여 검증하였다. 제조사의 지침에 따라 MiSeq™ platform (Illumina, San Diego, USA)을 사용하여 시퀀싱을 수행하였다. Identification of operational taxonomic units (OTRs), taxonomic assignment, community comparison, statistical analysis은 pyrosequencing으로부터 생성된 서열을 갖는 software MOTHUR을 사용하여 얻었다. 그 후, 염기서열은 NCBI BLAST 데이터베이스(www.ncbi.nlm.nih.gov)의 BLAST 프로그램을 이용하여 GenBank에 등록되어 있는 미생물과 비교하였고, 가장 높은 유사도를 가진 미생물을 선택하였다.

2.3. Specific methanogenic activity (SMA)

다양한 온도에서 저장한 우분 내 메탄생성균의 활성도 변화를 알아보기 위해, 260 mL 용량의 병(운전용량 100 mL)을 사용하여 회분식 실험을 수행하였다. 35, 25, 15°C에서 60일 동안 저장한 우분을 식중균으로 사용하였으며 초기 미생물 농도는 5 g VSS/L가 되도록 각 병에 주입하였고 주요 기질로 245 mL의 H₂/CO₂ 혼합가스(혼합비율=80:20)를 공급하였다. Mineral salts로 NH₄Cl, KH₂PO₄, FeCl₂ · 4H₂O를 COD:N:P:Fe 비율이 100:5:1:0.33가 되도록 첨가하였고, 추가로 NaHCO₃ 1,000 mg/L,

Table 1. Properties of Cattle Manures Before and After 60 d of Storage at the Temperatures Between 15 to 35°C

Parameter	Unit	Fresh Cattle manure	Storage temperature (°C)				
			35	30	25	20	15
TS	%	30.8±0.8	22.9±0.1	25.2±0.3	26.3±0.2	27.2±0.3	28.6±0.3
VS	%	24.0±0.9	16.8±0.1	18.7±0.2	19.9±0.2	20.8±0.2	21.9±0.2
TCOD	g COD/L	388.3±2.6	272.2±4.6	310.9±7.5	335.8±9.5	340.0±8.9	364.7±5.3
SCOD	g COD/L	41.3±1.0	33.3±0.2	37.5±2.0	34.4±0.9	41.3±1.4	43.6±2.1

MgCl₂ · 6H₂O 100 mg/L, CaCl₂ · 2H₂O 75 mg/L, Na₂MoO₄ · 4H₂O 0.01 mg/L, H₃BO₃ 0.05 mg/L, MnCl₂ · 4H₂O 0.5 mg/L, ZnCl₂ 0.05 mg/L, CuCl₂ 0.03 mg/L, NiCl₂ · 6H₂O 0.05 mg/L, CoCl₂ · 2H₂O 0.5 mg/L, Na₂SeO₃ 0.05 mg/L 를 첨가하여 배양액을 구성하였다¹⁵⁾. 초기 pH는 3 M HCl과 3 M KOH를 이용하여 7.8±0.1로 조정하였고 고 무마개와 알루미늄 마개를 이용하여 병을 밀봉하였다. 병의 내부는 질소가스(순도 99.999%)로 치환하여 혐기 상태가 유지되도록 하였고 모든 실험은 진탕 배양기에서 35±1°C, 120 rpm으로 배양하였으며 각 조건 별 두 개의 병을 배양하였다. 바이오가스 발생이 멈출 때까지 가스 측정을 진행하였으며 지체시간(λ), 최대 메탄 발생속도(R)는 modified Gompertz model(식 (1))을 이용하여 도출하였다.

$$M(t) = M_0 \times \exp - \exp \left[\frac{R_0 \times e}{M_0} \times (\lambda_0 - t) + 1 \right] \quad (1)$$

여기서, $M(t)$ =실험을 통해 측정된 누적 메탄 발생량 (mL), t =배양기간 (d), M_0 =최대 메탄 잠재량 (mL), R_0 =최대 메탄 발생속도 (mL/d), λ_0 =지체기간 (d), $e = 2.71828$ 를 나타낸다. 지체기간이 두 개인 실험의 경우 다음의 식 (2)를 이용하였다.

$$M(t) = M_1 \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_1 \times e}{M_1} \times (\lambda_1 - t) + 1 \right] \right\} + M_2 \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_2 \times e}{M_2} \times (\lambda_2 - t) + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

여기서, M_1 =최대 메탄 잠재량 (mL), R_1 =최대 메탄 발생속도 (mL/d), λ_1 =지체기간 (d)는 첫 번째 메탄생산 구간의 결과이며 M_2 , R_2 , λ_2 는 두 번째 메탄생산 구간의 결과를 의미한다¹⁶⁾.

2.4. 분석 방법 및 온실가스 배출량 계산 방법

우분의 pH, TCOD, SCOD, TS, VS, TSS, VSS는 Standard Methods에 따라 분석하였다. 바이오가스 발생량은 pressure-lock glass syringe를 이용하여 측정하였고, 메탄과 이산화탄소 분압은 열전도도 검출기 (thermal conductivity detector, TCD)가 장착된 Gas

Chromatography (Series 580, GowMac Instrument Co., USA)에 운반가스로 질소(99.999%)를 사용하여 분석하였다. 운반가스의 유량은 30 mL/min이고 injector, column, detect의 온도는 각각 70, 50, 80°C로 조절하였다.

온실가스 배출량(CH₄ 기준) 계산은 식 (3)과 같다¹³⁾.

$$GHG_{storage} = \frac{M_1 \times GWP_{CH_4}}{W_{CM}} \times 10^3 \quad (3)$$

여기서, $GHG_{storage}$ =온실가스 발생량 (kg CO₂ eq./ton TS(total solid)), M_1 =누적 메탄 배출량 (kg CH₄), GWP_{CH_4} =CH₄의 지구온난화지수 (21 kg CO₂/kg CH₄), W_{CM} =우분 첨가량(kg)을 의미한다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 메탄 배출 및 우분의 성상 변화

우분을 다양한 온도 조건에서 60일 저장하는 동안 배출한 메탄량은 Fig. 1과 같으며 상대적으로 낮은 온도에서 우분을 저장할수록 메탄 배출량이 감소되는 것으로 나타났다. 35°C에서 저장한 우분으로부터 최대 메탄 배출량인 63.6±3.6 kg CO₂ eq./ton CM을 얻을 수 있었으며, 저장온도가 30, 25, 20, 15°C

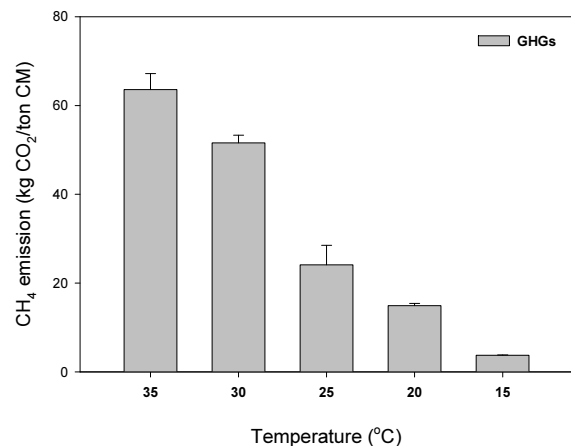


Fig. 1. CH₄ emission from cattle manure stored at different storage temperatures for 60 d.

로 낮아질수록 그 값이 각각 51.6 ± 1.8 , 24.1 ± 4.4 , 14.9 ± 0.5 , 3.7 ± 0.1 kg CO₂ eq./ton CM으로 감소하였다. 이러한 결과는 우분을 저장하는 동안 배출하는 메탄량은 온도의 영향을 크게 받는다는 기존의 문헌과 유사하였다. 예를 들어, 우분을 20°C 온도에서 60일간 저장할 경우 우분 1톤당 약 30 kg CO₂ eq.의 메탄이 배출되었으나 10°C에서 우분을 저장하면 메탄 배출량이 절반으로 감소함을 보였고 다른 문헌에서는 상대적으로 기온이 높은 여름철에 우분을 저장하면 겨울(약 18 kg CO₂ eq./ton CM, 80일 저장)에 비해 메탄 배출량이 약 1.6배 증가한다는 결과를 발표하였다^{7,9)}.

각 저장온도별 우분의 성장변화는 Table 1에서 보는 바와 같으며 우분이 60일 저장되는 동안 우분 내 유기물의 농도는 감소하는 것으로 나타났다. 35°C에서 저장한 우분의 유기물 농도는 신선한 우분에 비해 VS농도와 TCOD농도가 약 30% 감소한 반면, 저장온도가 낮아질수록 우분 내 고형물 및 유기물 손실은 크게 낮아져 15°C 조건에서 우분을 저장할 경우 TS 6%, VS 8%, TCOD 6% 감소하였으며 SCOD는 7% 정도 증가하는 것으로 나타났다. 우분 내 유기물의 손실은 대기 중에 있는 산소를 이용하여 유기물을 이산화탄소로 전환하는 방법인 호기 분해와 유기물들을 CH₄와 같은 가스로 전환하는 혐기 분해로 크게 나눌 수 있다. 본 실험에서 사용한 우분이 저장되는 동안 배출하는 메탄량은 우분 유기물 손실량(COD 기준)의 3~10%로 나타났다. 예를 들어, 우분을 35°C에서 저장하는 경우 1 L의 우분에서 4.2 L의 메탄이 배출되었고 이는 12.1 g COD(1 g COD = 0.35 L CH₄)에 해당하며 우분이 저장되는 동안 COD 손실(116.0 g COD/L)의 10%에 해당하였다. 이러한

결과는 우분 내 유기물은 혐기 분해가 아니라 주로 호기 분해에 의해서 주로 손실이 일어나는 것으로 판단된다.

3.2. 미생물 군집 변화

우분 내 고세균 군집분석 결과를 보면 10개의 고세균(similarity >97%)에 속하는 18개의 OTU가 검출되었으며 *Methanobrevibacter*, *Methanobolus*, *Methanobacterium*이 주요 우점종으로 나타났다(Fig. 2, Table 2). 신선한 우분에서는 *Methanobrevibacter*과 *Methanobolus*의 우점율이 각각 65%, 31%으로 이 두 종의 합은 전체 고세균 군집의 96%를 차지하였는데 이런 결과는 우분에는 *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*과 같은 hydrogenotrophic methanogens 두 미생물의 속(genus)에서 분리된 종은 *Methanobrevibacter olleyae*, *Methanobrevibacter thaueri*, *Methanobolus psychrophilus*으로 주로 전자 공여체로 H₂ 또는 포름산을 사용하여 CO₂를 CH₄로 환원시킴으로써 에너지를 얻는 종으로 알려져 있다¹⁸⁾. *Methanobrevibacter* sp.는 주로 양과 소의 장속에서 쉽게 발견되는 종으로 신선한 우분에서의 점유율이 높았지만 60일 동안 저장한 우분에서의 점유율은 모든 저장온도에서 38~46%로 크게 감소하는 것으로 나타났다¹⁹⁾. *Methanobolus*의 경우, 35°C 조건에서는 우점율이 9%로 크게 감소한 반면, 25 및 15°C에서 각각 36와 48%으로 증가하여 15°C에서는 주요 우점종으로 나타났다. 이 미생물 속에는 18°C에서 최대 성장 및 메탄 발생속도를 가지고 있는 *Methanobolus psychrophilus* (similarity 99 %)이 발견되었다²⁰⁾. 이와 같은 저온 메탄생성균의 성장 및 물질대사 속도는 중온 메탄생성균에 비해 느린 것으로 알려져 있으며 이로 인해 중온 메탄생성균

Table 2. Archaeal Communities in Species Level Identification of the Dominant Sequences

Microorganism	Accession number	Similarity (%)
<i>Methanobolus psychrophilus</i>	NR_102921.1	99
<i>Methanobrevibacter olleyae</i>	NR_043024.1	99
<i>Methanobrevibacter thaueri</i>	NR_044787.1	98
<i>Methanoculleus horonobensis</i>	NR_112788.1	98
<i>Methanosarcina soligelidi</i>	NR_109423.1	99
<i>Methanosarcina barkeri</i>	NR_118371.1	97

과 비교하여 메탄생성속도가 느리다는 특징을 갖는다(저온 메탄생성균 31~89 mL CH₄/g VSS/d, 중온 메탄생성균 565~1,053 mL CH₄/g VSS/d²¹). 그러므로 저온 저장은 상대적으로 메탄생성속도가 느린 메탄생성균의 우점화 유도하여 우분으로부터 메탄 배출을 억제하는 것으로 판단되며, 비록 저장온도를 15°C까지 낮추더라도 메탄은 지속적으로 우분으로부터 배출된다는 알 수 있다. 35°C 조건에서는 가축 분뇨의 저장탱크, 퇴적물, 혐기성 소화조에서 쉽게 발견되는 중온 메탄생성균인 *Methanoculleus*와 *Methanosarcina*가 증가도 관찰되기도 하였다^{22,23}). 저장온도 변화에 따른 군집 변화가 메탄생성속도에 미치는 영향을 알아보기 위해 SMA 실험을 진행하였으며 저장한 우분에는 hydrogenotrophic methanogens 점유율이 높다는 점을 고려하여 수소와 이산화탄소 혼합가스를 기

질로 사용하였다.

3.3. Specific methanogenic activity

35, 25, 15°C에서 저장한 우분 내 서식하고 있는 메탄생성균을 이용하여 SMA 실험을 진행하였고 그 결과는 Table 3에 정리하였다. 높은 저장온도에서 가장 많은 메탄이 배출되었으므로 35°C 조건에서 메탄 발생속도가 가장 빠를 것이라 예상하였지만 25°C, 15°C에서의 SMA 결과보다 낮은 것으로 나타났다. 메탄생성을 위한 지체기간에 있어서는 35°C에서 저장한 우분 내 메탄생성균을 이용한 실험에서는 배양을 시작한지 1일 이후부터 메탄이 관찰되었으며, 다른 조건에서 저장한 메탄생성균의 경우 10일 이후부터 메탄생성이 시작되었다. 하지만, 메탄 발생과는 다르게 수소 소비는 Fig. 3에서 보는 바와

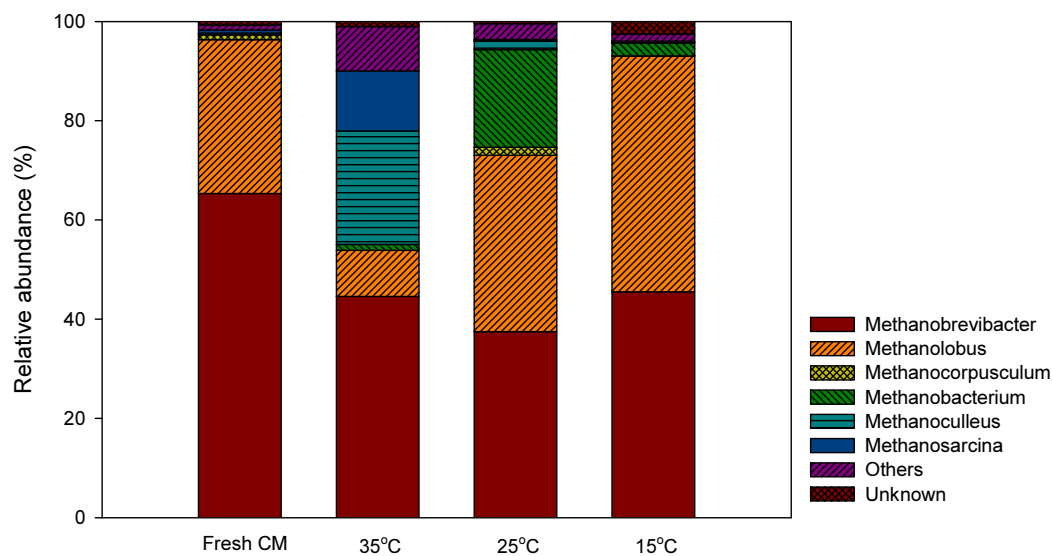


Fig. 2. Microbial community structure at genus level for archaea from fresh and stored cattle manure (storage temperature: 35, 25 and 15°C).

Table 3. Batch Anaerobic Digestion Performance with Cattle Manure Stored at 35, 25 and 15°C and H₂/CO₂, and Kinetic Results Obtained by Using the Modified Gompertz Equation.

Substrate	Storage temperature for cattle manure (°C)	CH ₄ production rate (mL/g VSS/d)	Lag period (d)
H ₂ :CO ₂ =80:20	35	17.5, 12.7*	1.15, 9.35*
	25	22.6	10.50
	15	21.8	11.00

* 2nd lag period

같이 모든 조건에서 6일 이내에 완료되어 큰 차이를 보이지 않았다. 혐기성 조건에서 존재하는 수소는 메탄생성균에 의해서 메탄으로 전환될 수 있을 뿐만 아니라 다양한 미생물에 의해 유기산과 같은 수용성 유기물로도 전환이 가능하므로 소화액 내의 SCOD 분석을 진행하였다. 11일 동안 메탄생성이 없었던 25, 15°C에서 저장한 메탄생성균을 이용한 경

우, 소화액의 SCOD 농도가 약 2.2 g COD/L까지 증가하였지만 공급한 수소 COD의 45%에 해당하는 메탄(22 mL)이 생성된 35°C에서 저장한 메탄생성균을 이용한 실험에서는 상대적으로 낮은 SCOD의 증가량을 보였다(Fig. 4). 위의 결과를 미루어보아, 공급한 수소의 대부분이 5일 이내에 특정 용해성 유기물로 먼저 전환된 다음 메탄생성이 시작되었음을

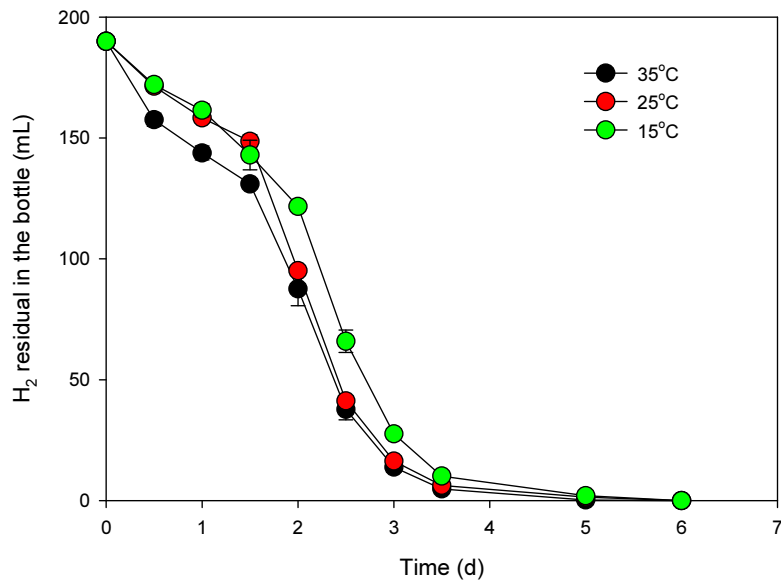


Fig. 3. The amount of H₂ residual in the headspace of the bottles.

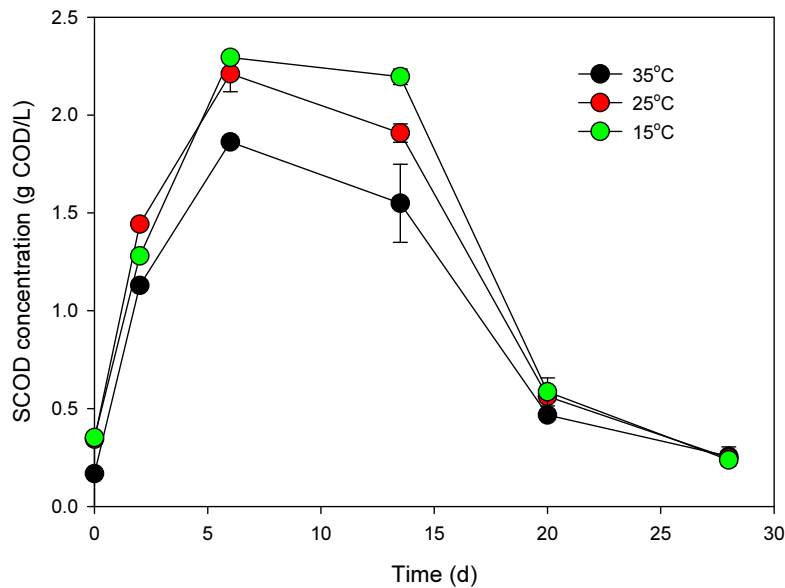


Fig. 4. The variation of SCOD concentration in CH₄ fermentative broth in H₂/CO₂ fed tests during operation.

의미하고 35°C에서 저장한 메탄생성균을 포함한 병에서만 hydrogenotrophic methanogenesis가 진행되었다는 것을 알 수 있었다. 그러므로 저온 저장은 우분 내 hydrogenotrophic methanogens의 활성도를 어느 정도 억제할 수 있지만 다시 적절한 온도에서 배양할 경우 이전의 연구결과들과 유사하게 메탄생성 속도가 다시 회복할 수 있는 것으로 나타났다^{3,9,13}.

4. 결론

저장온도가 톱밥과 혼합된 우분에서 배출되는 메탄에 미치는 영향 및 그 메커니즘에 관한 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 우분을 35~15°C에서 60일 저장한 결과, 35°C에서 가장 많은 양의 메탄 배출량(63.6±3.62 kg CO₂ eq./ton CM)을 얻을 수 있었으며 저장온도가 30, 25, 20, 15°C로 낮아질수록 메탄 배출량은 각각 19%, 62%, 77%, 94% 감소하였다. 또한, 우분이 저장되는 동안 유기물 손실도 온도가 높을수록 증가하였으며 15°C에서 유기물 손실이 가장 적은 것으로 나타났다.
2. *Methanobrevibacter* sp.과 *Methanlobus* sp.이 우분 내 주요 메탄생성균으로 검출되었으며 35, 25°C 조건에서는 *Methanobrevibacter olleyae*과 *Methanobrevibacter thaueri*이 우점종으로 발견되었지만 저장온도가 낮을수록 저온 메탄생성균인 *Methanlobus psychrophilus*(similarity 99%)의 점유율이 증가하여 15°C 조건에서는 우점종으로 발견되었다. 이러한 변화는 우분의 메탄 배출량이 저온에서 감소하는 하나의 원인으로 사료되고 15°C 온도에서도 메탄이 계속적으로 배출할 수 있음을 의미한다.
3. 수소를 기질로 하는 SMA 실험 결과, 35°C에서 저장한 우분 내 메탄생성균에 의해서만 수소의 메탄 전환이 직접적으로 일어났으며 공급한 수소의 대부분은 수용성 유기물질로 전환이 된 후 메탄으로 전환되었다. 저온 저장은 우분 내 hydrogenotrophic methanogens의 활성도를 일시적으로 저해할 수 있었지만 다시 중온 조건에서 저장이 될 경우 우분 내 메탄생성균의 활성도는 다시 회복되었다.
4. 상기 결과들을 바탕으로 우분의 메탄 배출 저감

과 유기물 손실 최소화를 위해서는 저온저장이 효과적이라는 것을 알 수 있지만, 국내 농가에서 배출되는 우분은 야적형태로 주로 저장되고 있으므로 특정 시설 없이는 적용하기는 어려울 것으로 판단된다. 하지만 상대적으로 평균기온이 높은 여름철에는 우분의 메탄 배출 및 유기물 손실이 클 것으로 예상되므로 겨울철에 비해 우분 수거 기간을 짧게 한다면 우분 저장 시 문제점을 개선할 수 있을 것으로 판단된다.

References

- 1 Gao, Z., Lin, Z., Yang, Y., Ma, W., Liao, W., Li, J., Cao, Y. and Roelcke, M., "Greenhouse gas emissions from the enteric fermentation and manure storage of dairy and beef cattle in China during 1961-2010", *Environ. Res.*, 135, pp. 111~119. (2014).
- 2 Dunkley, C.S. and Dunkley, K.D., "Review greenhouse gas emissions from livestock and poultry", *Agric. Food Anal. Bacteriol.*, 3(1), pp. 17~29. (2013).
- 3 Petersen, S.O., Dorno, N., Lindholst, S., Feilberg, A. and Eriksen, J., "Emissions of CH₄, N₂O, NH₃ and odorants from pig slurry during winter and summer storage", *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 95(1), pp. 103~113. (2013).
- 4 Sommer, S.G., Petersen, S.O. and Moller, H.B., "Algorithms for calculating methane and nitrous oxide emissions from manure management", *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 69(2), pp. 143~154. (2004).
- 5 Le Mer, J. and Roger, P., "Production, oxidation, emission and consumption of methane by soil: A review", *Eur. J. Soil Biol.*, 37(1), pp. 25~50. (2001).
- 6 Clemens, J., Trimbom, M., Weiland, P. and Amon, B., "Mitigation of greenhouse gas emissions by anaerobic digestion of cattle slurry", *Agr. Ecosyst. Environ.*, 112(2), pp. 171~177. (2006).
- 7 Amon, B., Amon, Th., Boxberger, J. and Alt, Ch., "Emissions of NH₃, N₂O and CH₄ from dairy cows housed in a farmyard manure tying stall (housing, manure storage, manure spreading)", *Nutr. Cycl.*

- Agroecosys., 60(103), pp. 103~113. (2001).
- 8 Shin, S.-R., Im, S., Mostafa, A., Lee, M.-K. Yun, Y.-M., Oh, S.-E. and Kim, D.-H., "Effects of pig slurry acidification on methane emissions during storage and subsequent biogas production", *Water Res.*, 152(1), pp. 234~240. (2019).
 - 9 Masse, D.I., Masse, L., Claveau, S., Benchaar, C. and Thomas, O., "Methane emissions from manure storages", *T. ASABE.*, 51(5), pp. 1775~1781. (2008).
 - 10 Eriksen, J., Sorensen, P. and Elsgaard, L., "The fate of sulfate in acidified pig slurry during storage and following application to cropped soil", *J. Environ. Qual.*, 37(1), pp. 280~286. (2008).
 - 11 Regueiro, I., Coutinho, J. and Fangueiro, D., "Alternatives to sulfuric acid for slurry acidification: impact on slurry composition and ammonia emissions during storage", *J. Clean. Prod.*, 131(10), pp. 296~307. (2016).
 - 12 Rennie, T.J., Gordon, R.J., Smith, W.N. and VanderZaag, A.C., "Liquid manure storage temperature is affected by storage design and management practices-A modelling assessment", *Agr. Ecosyst. Environ.*, 260(1), pp. 47~57. (2018).
 - 13 Elsgaard, L., Olsen, A.B. and Petersen, S.O., "Temperature response of methane production in liquid manures and co-digestates", *Sci. Total Environ.*, 539(1), pp. 78~84. (2016).
 - 14 Hwang, B.-S., Jo, I.-H. and Son, J.-H., "Effects of mixing ratios of cow manure and stall bedding on physico-chemical characteristics and earthworm (*Eisenia foetida*) survival", *Korean J. Organic agri.*, 22(1), pp. 183~195. (2014).
 - 15 Kim, D.-H., Han, S.-K., Kim, S.-H. and Shin, H.-S., "Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production", *Int. J. Hydrogen Energ.*, 31(15), pp. 2158~2169. (2006).
 - 16 Kim, D.-H., Kim, S.-H. and Shin, H.-S., "Hydrogen fermentation of food waste without inoculum addition", *Enzyme Microb. Tech.*, 45(3), pp. 181~187. (2009).
 - 17 Liu, C., Guo, T., Chen, Y., Meng, Q., Zhu, C. and Huang, H., "Physicochemical characteristics of stored cattle manure affect methane emissions by inducing divergence of methanogens that have different interactions with bacteria", *Agr. Ecosyst. Environ.*, 253(1), pp. 38~47. (2018).
 - 18 Rea S., Bowman, J.P., Popovski, S., Pimm, C. and Wright, A.G., "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. Microb.*, 57(3), pp. 450~456. (2007).
 - 19 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. Microb.*, 52(3), pp. 819~822. (2002).
 - 20 Zhang, G., Jiang, N., Liu, X. and Dong, X., "Methanogenesis from Methanol at Low Temperatures by a Novel Psychrophilic Methanogen, "Methanobus psychrophilus" sp. nov., Prevalent in Zoige Wetland of the Tibetan Plateau", *Appl. Environ. Microb.*, 74(19), pp. 6114~6120. (2008).
 - 21 Collins, G., Woods, A., McHugh, S., Carton, M.W. and O'Flaherty, V., "Microbial community structure and methanogenic activity during start-up of psychrophilic anaerobic digesters treating synthetic industrial wastewaters", *FEMS Microbiol. Ecol.*, 46(2), pp. 159~170. (2003).
 - 22 Shimizu, S., Ueno, A., Tamamura, S., Naganuma, T. and Kaneko, K., "Methanoculleus horonobensis sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from a deep diatomaceous shale formation", *Int. J. Syst. Evol. Microb.*, 63(11), pp. 4320~4323. (2013).
 - 23 Barret, M., Gagnon, N., Topp, E., Masse, L., Masse, D.I. and Talbot, G., "Physico-chemical characteristics and methanogen communities in swine and dairy manure storage tanks: spatio-temporal variations and impact on methanogenic activity", *Water Res.*, 47(2), pp. 737~746. (2013).