



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학석사 학위논문

**Effect of physico-chemical treatment on bio-  
methane production from marine alginate**



2014년 2월

부경대학교 대학원

화학공학과

이 성 찬

# Effect of physico-chemical treatment on bio-methane production from marine alginate

2014 년 2 월



---

(주심) 공학박사 임준혁

---

(위원) 공학박사 우희철

---

(위원) 공학박사 송민경

# 목 차

<b>List of Tables</b> .....	iii
<b>List of Figures</b> .....	iv
<b>1. 서론</b> .....	1
<b>2. 연구배경</b> .....	3
2.1. 해조류 .....	3
2.2. 바이오연료 .....	6
2.3. 혐기성소화 .....	8
2.4. 가수분해 전처리 .....	10
2.5. 혐기성소화 공정변수 .....	13
2.5.1. 온도, pH 및 영양소 .....	13
2.5.2. 저해제 .....	14
<b>3. 실험방법</b> .....	16
3.1. 원료 .....	16
3.2. 미생물 .....	16
3.3. 실험계획 .....	17
3.3.1. 수열처리.....	17
3.3.2. 알칼리 & 산 처리.....	18
3.4. 혐기성 공정 운전 .....	22
3.5. 분석방법 .....	26
<b>4. 결과 및 논의</b> .....	28

4.1. 원료성상 분석 .....	28
4.2. 전처리 결과 (GPC 분석).....	32
4.2.1. 수열, 알칼리 및 산 전처리 .....	32
4.2.2. 고찰 .....	32
4.3. 혐기성 발효를 통한 휘발성유기산(VFAs) 생산.....	37
4.3.1. 수열처리.....	37
4.3.2. 알칼리 및 산 처리.....	37
4.3.3. 고찰.....	37
4.4. 혐기성 소화공정을 통한 바이오메탄 생산.....	43
4.4.1. 수열처리.....	43
4.4.2. 알칼리 및 산 처리.....	43
4.4.3. 고찰.....	44
4.5. 재현성 및 다시마 적용 실험 .....	54
4.5.1. 다시마 및 알지네이트 혐기성 소화공정.....	54
4.5.2. 고찰.....	55
5. 결론.....	62
6. 참고문헌.....	64

## List of Tables

<b>Table 1.</b> Composition of seaweed .....	4
<b>Table 2.</b> Hydrolytic pretreatment condition of alginate .....	20
<b>Table 3.</b> Experimental condition of VFAs production from alginate in anaerobic fermentation .....	24
<b>Table 4.</b> Experimental condition of CH <sub>4</sub> production from alginate in anaerobic digestion .....	25
<b>Table 5.</b> Analytical methods.....	27
<b>Table 6.</b> COD concentration of alginate under various pretreatment condition	31
<b>Table 7.</b> TOC conversion in VFAs production of alginate in anaerobic fermentation .....	42
<b>Table 8.</b> TOC and COD conversion in CH <sub>4</sub> production of alginate in anaerobic digestion .....	50
<b>Table 9.</b> Experimental design of reproducibility test .....	56
<b>Table 10.</b> TOC and COD conversion in VFAs production of alginate and <i>S. japonica</i> anaerobic fermentation.....	58
<b>Table 11.</b> TOC and COD conversion in CH <sub>4</sub> production of alginate and <i>S. japonica</i> in anaerobic digestion.....	61

## List of Figures

<b>Figure 1.</b> Principle of anaerobic digestion .....	12
<b>Figure 2.</b> Hydrolytic pretreatment procedures of alginate .....	19
<b>Figure 3.</b> Procedure for anaerobic fermentation of alginate .....	21
<b>Figure 4.</b> Photograph of shaking incubator and anaerobic reactor .....	23
<b>Figure 5.</b> Photograph of autoclave reactor for hydrolytic pretreatment of alginate.	23
<b>Figure 6.</b> Organic acid production in hydrothermal pretreatment of alginate ...	29
<b>Figure 7.</b> Organic acid production in acid and alkali pretreatment of alginate..	30
<b>Figure 8.</b> Molecular weight of alginate in hydrothermal pretreatment .....	34
<b>Figure 9.</b> Molecular weight of alginate in alkali pretreatment.....	35
<b>Figure 10.</b> Molecular weight of alginate in acid pretreatment.....	36
<b>Figure 11.</b> Total VFAs production of alginate with hydrothermal pretreatment .	40
<b>Figure 12.</b> Total VFAs production of alginate with alkali and acid pretreatment...	41
<b>Figure 13.</b> CH <sub>4</sub> production of alginate with hydrothermal pretreatment .....	46
<b>Figure 14.</b> CH <sub>4</sub> production of alginate with alkali and acid pretreatment .....	47
<b>Figure 15.</b> Biogas composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 10th day .....	48
<b>Figure 16.</b> Biogas composition of alginate with alkali and acid pretreatment at 10th day .....	49
<b>Figure 17.</b> VFAs composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 200 °C for 15 min.....	51

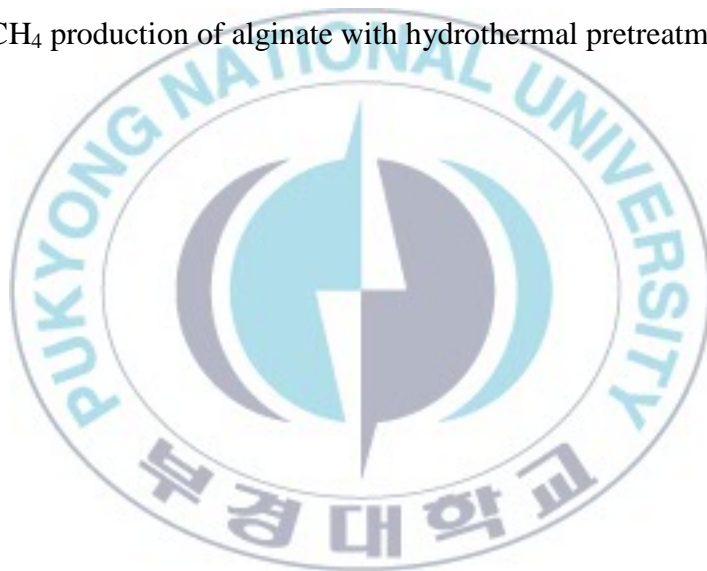
**Figure 18.** VFAs composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 140 °C for 30 min ..... 52

**Figure 19.** VFA composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 9th day ..... 53

**Figure 20.** Total VFAs production of alginate and *S. japonica* with hydrothermal pretreatment ..... 57

**Figure 21.** CH<sub>4</sub> production of *S. japonica* with hydrothermal pretreatment ..... 59

**Figure 22.** CH<sub>4</sub> production of alginate with hydrothermal pretreatment ..... 60





# **Effect of physico-chemical treatment on bio-methane production from marine alginate**

**Seong Chan Lee**

Department of Chemical Engineering in Pukyong National University

## **Abstract**

Marine macroalgae are receiving increasing attention as attractive renewable resources for biofuels production with many advantages over biomass from terrestrial biomass. Among the macroalgae, massive brown algae are primarily composed of polysaccharides such as alginate, fucoidan, mannitol, and trace cellulose. The main polysaccharide, alginate, accounts for up to 40% dry wt. in brown algae as a principal material of the cell wall [1, 2]. A high yield of organic acids can be theoretically available by simple decomposition of alginate and maintaining its carboxyl group structures [3, 4]. However fermentative production of organic acids and biomethane from alginate are still challenge due to its low solubility in water. Therefore, the objective of this research was to evaluate the effect of various pretreatments (i.e., hydrothermal, alkali and acid) on bio-methane production from alginate in two-phase anaerobic process.

Batch tests were performed with various pretreatments of alginate; hydrothermal (reaction temperature: 130 to 300°C, reaction time: 5, 15, and 30 min), alkali (solvent: NaOH, reaction Temp.: 80 to 120°C, and reaction time: 15 to 60 min), and acid (solvent: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, reaction Temp.: 120°C, and reaction time: 15 min). After the pretreatments, the pretreated solutions were used to produce

volatile fatty acids (VFAs) which are main intermediates for biomethane production in two-phase anaerobic process. The average molecular weight (M.W.) of pretreated samples was analyzed by gel permeation chromatography (GPC). A high performance liquid chromatography was used to quantify VFAs (C2 to C6) and bioalcohols production. The CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, and H<sub>2</sub> were analyzed by gas chromatograph.

In results, the average M.W. of pretreated alginate from hydrothermal, acid, and alkali were the range of 430,000 to 1,200, 2,100 to 1,800, and 270,000 to 2,700 Da, respectively. After pretreatment, fermentative VFAs production was performed using the hydrothermal, acid, and alkali pretreated solutions. The maximum VFAs yield of 91±5.7% was observed in hydrothermal pretreatment (i.e., 200°C for 15 min) and major components of VFAs were iso-valerate (47.0±4.2%) and iso-butyrate (46.6±0.6%). It suggested that hydrothermal pretreatment could effectively hydrolyze the high molecules of alginate into smaller molecules for VFAs production. The maximum yield of 50.8±1.3% CH<sub>4</sub> was also observed in hydrothermal conditions at 140°C for 30 min rather than acid and alkali treatments. During the VFAs production, the maximum VFAs yield was detected at 200°C for 15 min however the maximum yield of biomethane was observed at 140°C for 30 min. This was caused that the individual VFAs composition of each hydrothermal condition distinguished. The acetate composition of two conditions (140°C for 30 min and 200°C for 15 min) were 74.0±3.9% and 3.4±1.3%, respectively. Consequently, the hydrothermal pretreatment of 140°C for 30 min showed the best performance of biomethane production among the various pretreatment methods. Therefore, the further study of this research would be analyzed major inhibitors from hydrothermal treatment for improvement of biomethane process efficiency.



## 1. 서론

20세기 산업혁명을 시작으로 화석연료 사용이 급증함에 따라 2차례의 오일 피크가 발생했고 그로 인한 유가 상승으로 화석연료를 대체 할 수 있는 에너지원 개발에 관심이 집중 되었다. 그러나 20세기 후반에 들어서는 에너지 고갈문제뿐만 아니라 화석연료의 과도한 사용에 따른 온실가스 과다배출로 이상기후가 발생해 생태계 파괴를 야기하고 있다[5-7].

이런 에너지 고갈과 환경오염문제가 심각하게 대두되고 있는 지금, 바이오 매스는 재생이 가능하고 환경오염물질의 배출이 적어 친환경적인 대체에너지원으로 주목 받고 있다. 특히, 해조류는 제3세대 바이오 매스로써 다른 곡물계(1세대 바이오 매스) 및 목질계 바이오 매스(2세대 바이오 매스)보다 이산화탄소 흡수 능력이 뛰어나며, 생산주기가 짧고 생산성이 뛰어나 지속 가능한 바이오 매스 원료 확보가 용이하고, 바다에서 재배가 가능하기 때문에 식량작물이나 산림처럼 육지에서 성장이 가능한 것과 비교해서 효율적이다 [8].

더욱이 해조류에는 탄수화물의 함량이 높고 목질계처럼 리그닌의 함량이 없어 바이오 연료 전환과 분해하기도 비교적 쉽다. 하지만 해조류에 탄수화물의 구성성분 중에 알지네이트 성분이, 해조류에 최대 40 % 함유하고 있다. 이 성분은 생 분해 하기 상당히 어렵기 때문에 이 물질의 분해가 잘 이뤄지는 공정을 찾는다면 에너지 전환 효율이 높아질 것으로 판단된다.

메탄을 효과적으로 생산 하기 위해 산 생성공정과 메탄 생성공정을 나누어 실험을 진행하였다. 메탄 생성 균은 산 생성균 보다 민감하기 때문에 성장조건을 정확하게 조절 해야 된다. 그리고 산 생성균과 메탄 생성균은 서로 경

쟁관계에 있기 때문에 효율적인 메탄 생성을 위해서는 서로 분리 해서 공정을 진행시키는 것이 용이하다[9].

바이오 메탄은 공정을 거치고 나면 실제로 이용할 수 있는 바이오매스 및 바이오 메탄과 화석연료에 기반한 가스와의 근본적인 차이가 없기 때문에, 바이오 메탄은 기존의 천연가스 인프라에 공급될 수 있고 기존의 기술 장치를 이용할 수 있다는 장점이 있다. 이는 주거, 산업 또는 운송 영역에 기존의 시스템을 전환함으로 실질적인 추가 자원의 투자 없이도 친환경 바이오 메탄을 에너지화 할 수 있기 때문에 바이오 가스 및 바이오 메탄을 통합함으로 재정적인 부담을 최소화 할 수 있다.

메탄은 다른 재생 에너지보다 적용에 있어서 보다 유연성이 있으며 기존의 천연가스 망에 직접 공급할 수 있어서 에너지 및 비용 측면에서 효율적인 운송이 가능하다. 전기생산, 열 공급 및 운송에 있어서 다양하고 유연한 바이오 메탄의 적용 스펙트럼은 폭넓은 잠재 고객을 창출한다. 바이오 메탄은 소규모로 분산되어 있거나 크게 중앙에 위치한 열병합 플랜트에서 전기 및 열 생산에 이용할 수 있고, 고효율 난방 시스템과 가스차량의 재생 에너지원으로 사용할 수 있다. 에너지원으로서 바이오 메탄의 활용은 지속 가능한 에너지 공급으로 향하는 결정적인 단계에 해당한다[1,10].

본 연구에서는 갈조류인 다시마의 주성분이면서 난 분해성 당인 알지네이트로부터 가수분해 효율을 증대시키기 위하여 물리적 수열처리와 화학적 산-알칼리 처리를 거친 알지네이트를 기질로 하여 바이오메탄 생산 효율을 증대시키고자 한다. 전처리는 고분자인 알지네이트를 단분자로 분해 하기 위한 공정이고, 단시간에 수행할 수 있는 장점이 있다. 혐기성 소화공정에서 가수분해 공정이 율속단계로 이미 알려져 있으므로, 이 단계를 단축시킨다면 바이오 가스 생성 효율이 증가 할 것으로 보인다. 전처리 방법으로 수열처리,

산 및 알칼리 처리를 수행하였다.

## 2. 연구배경

### 2.1. 해조류

해조류는 녹조류, 홍조류 그리고 갈조류 세가지로 구분이 가능하다. 갈조류는 조류 중 가장 발달된 체제를 갖고 있으며, 단세포나 군체인 것은 거의 없고 대부분이 성상체 또는 막대기, 나뭇가지 모양 등의 형태로 나누어진다. 작은 것은 육안으로 겨우 보이는 정도 이지만, 큰 것은 10m 가까이 되는 것도 있다. 녹조류는 녹색의 조류로 단세포, 다세포, 미세포성, 다핵체 등 여러 가지가 있다. 홍조류는 모두 분홍색이나 암홍색 색소체를 가지며, 광합성 작용에 의해 홍조 녹말을 만든다. 대부분 부드러운 것이 많으나, 산호말류처럼 세포벽 사이에 탄산칼슘이 축적되어 돌처럼 딱딱하게 된 무리도 있다.

갈조류는 리그닌 함량이 없고 셀룰로오스의 함량이 낮아서, 육지 식물과 비교해서 생 분해가 쉬운 장점을 갖고 있다. 해조류의 생산량은 지속적으로 증가하고 있다. 통계청에 따르면, 2010년에 연간 해조류의 생산량은 1,600만톤이다. 그 중에 650만톤이 갈조류, 860만톤이 홍조류 그리고 10만톤이 녹조류로 생산되었다. 갈조류는 생산성과 CO<sub>2</sub> 흡수능력이 뛰어나고 에너지 및 시약의 원료로 매우 잠재능력이 높다[11].

**Table 1.** Composition of seaweed [12]

<b>Components</b>	<b>Brown algae</b>	<b>Red algae</b>	<b>Green algae</b>
Water <sup>1)</sup>	79-90%	70-80%	70-85%
Minerals <sup>2)</sup>	30-50%	25-35%	10-25%
Carbohydrates	30-50% <sup>3)</sup>	30-60% <sup>4)</sup>	25-50% <sup>5)</sup>
Protein	7-15%	7-15%	10-15%
Lipids	2-5%	1-5%	1-5%
Cellulose	2-10%	2-10%	20-40%

1) Of fresh weight

2) Of dry weight

3) Mainly alginate and fucose-containing polysaccharides

4) Sulphated poly galactans and xylans, resp. dominate

5) Cellulose and starch are the main components



알지네이트는  $\alpha$ -L-guluronic acid 와  $\beta$ -D-mannuronic acid의 결합으로 이루어진 고분자 탄수화물이다. 알지네이트는 갈조류 건조중량에 40%를 차지한다. 알지네이트는 물과 혼합되었을 때 고무같이 점성이 높아진다. 그리고 알지네이트는 세포벽의 구성성분이고, 단분자 사이에 glycosidic 결합을 하고 있고 carboxyl 그룹을 갖고 있어 분해하기가 어렵다.

알지네이트는 1957년까지는  $\beta$ -D-mannuronic acid 만으로 되어 있다고 생각하였으나, 최근에 와서  $\alpha$ -L-guluronic acid 도 알긴산의 구성성분인 것이 밝혀졌다. 구조는  $\alpha$ -L-guluronic acid 와  $\beta$ -D-mannuronic acid 의  $\beta$ -1, 4 결합으로 수백 개가 연결된 것이다. 또, 분자 중에는  $\beta$ -D-mannuronic acid, 또는  $\alpha$ -L-guluronic acid 이 길게 결합된 곳이 있다. M/G 비율( $\beta$ -D-mannuronic acid 과  $\alpha$ -L-guluronic acid 의 존재량 비)은 해조의 종류에 따라 다르다. 낮은 M/G 비율은 단단하고 부서지기 쉬운 겔을 형성하고 MG 비율이 높은 경우에는 보다 탄성적인 겔을 형성한다. 알긴산은 조류의 주요 구성성분으로 주로 갈조류에 존재하고 건조중량의 약 40%에 달하는 것도 있다고 알려져 있다. 알긴산은  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D-mannosyluronic acid 와  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-L-gulosyluronic acid 잔기로 구성된 선상의 glycuronan polymer 로써 화학식은  $(C_6H_8O)_n$  이며 대표적인 분자량은 20,000~200,000 Da 정도이다. 알긴산 3% 수분산액의 pH 는 대략 1.5~3.5 정도이며 수분함량은 약 7.013% 정도이다.

알칼리에 잘 녹아 점성이 있는 액체가 되고, 에탄올이나 기타 유기용매에는 매우 소량 녹거나 거의 녹지 않는다. 알긴산은 물에 swelling 되는 특성은 있으나 녹지는 않는다. 흡습능력이 우수하여 자체 중량의 200-300 배의 물을 흡수할 수 있다.



분자량에 따라 그 점도가 다르며 대략 0.2% 수분산액은 20 cps, 2.0% 수분산액의 경우는 2,000 cps 정도의 점도를 가진다. 알긴산 수분산액의 점도는 온도가 상승함에 따라 감소하는 경향을 보이는데 대개 온도가 1℃ 상승할 때마다 점도는 2.5%씩 감소하는 것이 일반적이다[12].

## 2.2. 바이오연료

바이오 연료는 바이오매스로부터 확보할 수 있는 연료로 화석연료와는 다른 신재생 에너지다. 바이오 연료는 종종 바이오알코올과 바이오디젤을 지칭하는 말로도 사용되지만 보통은 식물, 해조류에서 동물 배설까지 자연 상태의 모든 부산물에서 얻을 수 있는 에너지를 뜻한다. 아직까지 바이오 연료의 활용 범위는 제한적이다. 화석연료와 같은 높은 에너지 효율을 기대하기 어렵기 때문이다. 바이오 연료의 제작 과정 및 획득 가격이 기존 화석연료에 비해 높다는 단점도 있다. 이러한 이유로 바이오 연료에 대한 수요는 그리 높지 않은 편이다. 오히려 산업화 속도가 더디거나 화석연료를 구하기 쉽지 않은 후진국에서 난방과 취사용으로 제한적으로 사용되고 있을 뿐이다.

그러나 바이오 연료의 연소 과정에서 발생하는 이산화탄소가 기존 화석연료에 비해 낮아서 대기 내 이산화탄소 농도 증가에도 별다른 영향을 끼치지 않는다. 오히려 바이오 연료의 이산화탄소를 소모한다는 긍정적인 측면도 있다. 교토의정서와 같이 지구 온난화 방지를 위한 국제규제를 해결 할 수 있는 대안으로도 긍정적인 평가를 받고 있다.

대체에너지 개발은 과거에도 존재해왔다. 그러나 주로 에탄올과 같은 1 세대 바이오연료는 기존의 화석연료보다 비용이 높고 제작과정이 복잡하다는 문제도 있었다.

현재 개발되고 있는 제 2 세대 바이오연료들은 처리방법, 원료 등을 바꾸어 제 1 세대 바이오연료의 문제점을 하나씩 해결하고 있는 상황이다.

전문가들이 손꼽는 바이오연료의 가장 큰 장점은 바로 화석에너지는 갖고 있지 못한 장점 즉, 안정적인 공급, 이산화탄소 배출량 저감, 경제성 등이다. 언젠가는 고갈될 수 밖에 없는 화석연료에 비해 바이오 연료는 이론상 무한대의 공급이 가능하며 식량자원과의 연계성이 낮고 황무지 등을 활용할 수 있다는 장점이 있다.

해조류의 경우에는 생산성이 가장 높고 같은 연료를 생산하기 위한 토지를 많이 필요로 하지 않는다. 실제 대두는 1 헥타르당 560 리터를 생산 할 수 있지만 해조류는 1 헥타르당 무려 94,000 리터나 생산이 가능하다. 현재 개발되고 있는 바이오 연료는 기존 내연기관 및 화석연료를 사용하는 엔진과 호환이 가능하도록 개발되고 있다.

바이오연료의 대표적인 예로는 메탄올, 바이오에탄올, 바이오디젤, 바이오가스, 기타 고형 연료 등을 들 수 있다. 이들 모두는 저력 생산이나 수송수단의 연료로 쓰일 수 있지만, 현재까지는 바이오에탄올과 바이오디젤이 수송용 연료를 중심으로 상업화가 가장 활발하다. 바이오에탄올은 현재 옥수수 전분을 주 원료로 하여 미생물과 효소를 이용한 생물학적 공정으로 생산되고 있으며, 가솔린 대체 연료 혹은 첨가제, 연료전지의 연료로 사용되고 있다. 에탄올은 기본적으로 당 화합물로부터 만들어지므로 전분 이외의 탄수화물로도 생산이 가능하다. 이러한 바이오매스 원료로는 자연계에 가장 풍부한 물질중의 하나인 셀룰로오스가 대표적이다. 셀룰로오스는 나무, 풀 등 식물체의 기본적인 구성 성분으로 포도당 등 당류의 중합체로 이루어진 물질이다.

바이오디젤은 기존의 디젤엔진의 구조 변화 없이 그대로 디젤유를 대신할 수 있다는 특징이 있다. 실제 디젤 엔진은 1985 년 Rudolf Diesel 에 의하여

처음 개발 되었을 당시 땅콩 오일로 작동한 바 있어 다양한 식물성 오일을 연료로 사용할 수 있다.

해조류에는 탄수화물성분이 많아 발효공정을 거쳐 바이오 에탄올 및 부탄올 생산이 가능하고, 휘발성 유기산인 VFAs(volatile fatty acids) C2~C6 유기산 생성이 가능하다. 그 휘발성 유기산을 에스테르화 반응을 하면 혼합 알코올 생산이 가능해 연료 첨가제로 사용된다. 그리고 각 유기산으로부터 시약제조도 가능하다. 혐기성 발효 중에 생산되는 기체 산물 중에 바이오수소도 생산 가능하다. 마지막으로 혐기성 소화공정까지 거치면 바이오 메탄이 생성된다.

### 2.3 혐기성소화

혐기성 처리공정은 여러 종류의 미생물이 관여 하여하고 있으며 각 미생물들에 의해 고유의 오염물질 분해반응이 진행되게 된다. 유기물 분해 외에도 생물 반응의 특유의 미생물의 증식 및 사멸과정에 따른 세포질을 구성하고 있는 단백질, 지질, 탄수화물이 다시 혐기성 분해되는 과정을 거치게 된다. 일반적인 혐기성 처리공정에서 일어나는 일련의 반응은, 가수분해단계 (Hydrolysis), 산 생성단계 (Acidogenesis), 초산 생성단계 (Acetogenesis) 마지막으로 메탄 생성단계 (Methanogenesis)이다.

가수분해 단계에서는 탄수화물, 지방, 단백질 등 불용성 유기물이 미생물이 방출하는 외분비효소 (extracellular enzyme)에 의해 가용성 유기물로 분해된다. 일반적으로 미생물은 용해 가능한 형태의 유기물질만을 섭취할 수 있기 때문에, 불용성 상태의 오염물질이 잘게 쪼개어지고 가수분해를 통해 용해되는 과정을 생물학적 처리에 있어서 첫 단계로 삼는다. 이러한 가수분해

단계는 미생물의 외분비 효소에 의해 작용되며, 그 반응속도는 반응기 내부의 기질의 농도, 미생물의 체류시간, pH 등과 같은 요소들에 의해 영향을 받는다. 또한 반응기 내부의 특정물질은 새로이 합성된 미생물량도 포함된다. 가수분해의 역학적 거동에 관련된 대부분의 연구들은 반응기에서 셀룰로오스의 무게가 초기 셀룰로오스의 활동성에 관련되어 왔다. 그러나 매우 복잡한 거동을 보이는 단계이기 때문에 여러 가지 가정에 의해 유도된 Michaelis-Menten kinetics에 의해 의존하여 관련 반응을 설명한다.

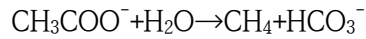
산 생성단계에서는 유기산균 (Acid producing bacteria)이 유기물질을 분해시켜 유기산과 알코올을 생성한다. 초산 생성 미생물들은 일반적으로 대상 물질이 propionate, butyrate, iso-butyrate, valerate, iso-valerate 등과 같이 분자량이 높은 휘발산의 경우라 할지라도 초산을 생성할 수 있다. 혐기성 미생물은 발효과정에서 유기물로부터 미생물의 대사과정 중의 다른 중간생성 유기물로의 전자이동에 의한, 즉 전자의 산화-환원 반응으로부터 주요 에너지를 얻는다. 물론 당이 발효과정에서 가장 일반적인 기질로서 사용되지만, 일부 다른 미생물은 지방산이나 아미노산과 같은 물질들을 이용하기도 한다[1]. 그러므로 발효는 유기물질들이 서로 전자를 주고받는 활동에 의한 미생물 거동이라고 볼 수 있다.

초산 생성단계에서는 산 생성단계에서 생긴 아세트산을 제외한 물질들은 초산 생성균에 의해 초산으로 변화되어 다음 단계에서 분해 된다.

메탄생성단계에서는 메탄 생성균의 기질(substrates)로 초산, 포름산, 수소, 메탄올, 메틸아민 등이 사용되며, 이들이 메탄 생성균에 의해  $\text{CH}_4$ 와  $\text{CO}_2$ 로 최종 전환된다. 메탄 생산성은 초산으로부터 약 72% 생성되며, 나머지 약 28%는 수소와 이산화탄소가 반응하여 생성된다. [1]

$\text{CH}_4$ 의 약 70% 정도가 acetate의 혐기성 소화에 의해서 생성되며, 그 반응은

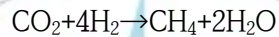
다음과 같다.



Acetic acid의 methanogenic 분해에 관한 역학적 거동은 다음과 같다 [10].

Acetate가 가해질수록 methanogenic 속도가 급속히 증가하고, 시간에 따른 지수적(exponential) 반응속도 증가는 methanogenic 미생물의 지수적 성장을 반영한다. 그리고 CH<sub>4</sub>의 생성속도는 대략 일정하고 마지막으로 CH<sub>4</sub>의 생성속도의 급속한 감소는 acetate의 고갈과 연관이 있다.

Methanogenesis 단계에서 H<sub>2</sub>의 반응은 pH에 대하여 의존적이며, 다음과 같이 반응이 진행된다.



한편, H<sub>2</sub>와 CO<sub>2</sub>를 이용한 메탄의 생성은 sulfate에 의하여 반응속도가 저해된다고 보고 되고 있다. 이는 sulfate-reducing bacteria에 의해 소비되는 H<sub>2</sub>의 속도가 메탄생성에 사용되는 속도보다 5배정도 빠른 데서 기인한다[8]. 즉 H<sub>2</sub>가 다량 존재할 때는 그 영향이 없다고 할 수 있으나, H<sub>2</sub>의 농도가 rate-limiting 이 되는 경우, 서로 경쟁상태에 놓이게 되므로 결과적으로 CH<sub>4</sub>의 생산 속도에 있어서 부정적 요인으로 작용하는 것이다. 그러나 acetate에 의한 메탄 생성이 H<sub>2</sub>에 의한 반응보다 sulfate에 의한 영향을 더 크게 받는다. 이는 acetate가 황산화 미생물에 의한 sulfate 환원반응의 가장 주요한 전자 수여체로서 작용하기 때문이다[13].

## 2.4 가수분해 전처리

혐기성반응에서 전처리는 율속단계인 가수분해에서 걸리는 시간을 단축시켜주는 역할을 하고 크게 열처리, 화학적 처리 그리고 기계적 처리로 나눌



수 있다. 열처리는 수열처리가 대표적이고, 화학적 처리는 산 이나 알칼리 시약을 사용해서 처리해준다. 마지막으로 기계적 처리는 초음파, 불 밀 같이 물리적인 힘을 이용해서 처리해준다.

기계적 전처리 목적은 입자크기를 감소키는 것이다. 입자 크기의 감소는 비 표면적의 증가를 가져오고 그리고 셀룰로오스 중합도를 줄이는 것이다. 이와 같은 입자크기의 감소는 목질 셀룰로오스의 가수분해 수율을 5~25% 높이게 되고 발효시간을 23~59% 줄이게 된다.

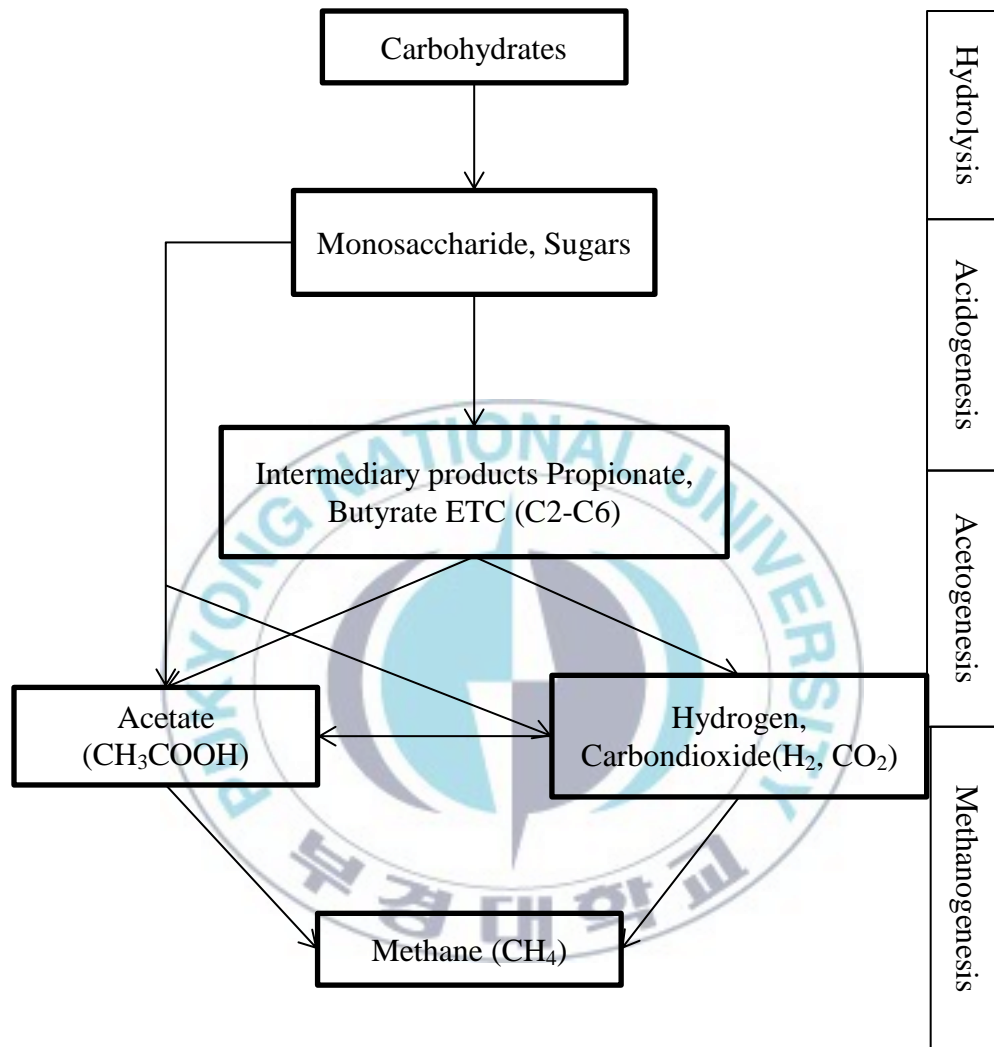
열적전처리에서 스팀전처리/스팀폭로는 기질을 가용화시켜 효소가수분해에 보다 쉽게 접근케 하고 이에 더해서 저항성 물질을 제거한다. 액체열수는 스팀대신에 액체열수를 이용된 것으로 이의 목적은 스팀전처리와 유사하다. 저항성 물질을 막기 위해서는 전처리 기간 중에 pH 4~7로 유지해야 된다 [14,15].

화학적 전처리에서 산 전처리는 실온에서 기질을 산에 의한 전처리를 하게 되면 기질을 가용화하고 이에 미생물들이 기질에 보다 쉽게 접촉하게 한다. 고분자 물질을 전처리 하게 되면 산성분위기에서 monomer, furfural, HMF(5-Hydroxymethyl furfural) 및 기타 휘발성 물질을 생산한다[16].

알칼리 전처리는 1차 반응은 용매화와 비누화이다. 이는 바이오매스를 팽창시켜 효소와 박테리아에 보다 쉽게 접촉하게 한다.

산화 전처리는 산화 물질의 첨가로 구성된 전처리이다. 과산화수소 또는 과초산을 물에 있는 바이오매스에 첨가한다. 목질계의 경우 해미 셀룰로오스와 리그닌을 제거하여 셀룰로오스의 접근을 증진 하는 것이다.

암모니아 및 이산화탄소 결합 전처리는 산 전처, 알칼리 전처리, 알칼리성 산화처리와 결합한 열병합 전처리 및 암모니아와 이산화탄소 처리가 있다 [17-12].



**Fig. 1.** Principle of anaerobic digestion [18].

## 2.5. 혐기성소화 공정변수

### 2.5.1. 온도, pH 및 영양소

고온성 혐기 미생물이 그리 많지 않기 때문에 혐기성 미생물 반응기에는 일반적으로 중온성(25~45°C) 미생물이 사용된다. 혐기성미생물의 최적 성장온도는 35°C 이상으로 알려져 있다[19].

혐기성 분해 과정에서 enzyme-mediated 미생물 반응은 주로 온도의 영향에 지배적이다. 때문에 25°C 보다 낮은 온도에서는 분해율이 급격히 감소된다(Hobson PN, 1982). 이러한 이유로 비록 다양한 미생물 종이 존재한다 하더라도 25~45°C 에서는 분해율이 점차 증가하게 된다. 온도가 45°C 를 초과하는 경우, 중온성 미생물이 성장 한계점에 도달하면서 분해율이 급속히 감소하게 된다. 한편 고온성 미생물을 이용한 반응(약 55°C)는 중온성 소화에 비해 반응조 내에서 체류시간이 짧고 효율이 좋으며 병원균을 쉽게 죽일 수 있는 장점이 있다. 그러나 중온성 소화에 비해 온도변화에 민감한 단점이 있다.

일반적으로 pH 6.5~pH 7.5정도가 적절하며, pH가 5.0보다 낮거나 8.5보다 높았을 경우에는, 아주 적은 양의 *Acetovater spp.*를 제외하고는 미생물의 성장이 저해 받게 된다. pH와 온도와의 관계를 살펴보면 미생물의 성장 온도가 높아질수록 적정 pH 또한 높아진다[12]. 결국 pH의 제어가 미생물의 적정 성장과 분해율을 결정하는 기초가 될 수 있다.

Bacteria는 성장 및 활동에 있어 여러 영양소(C, N, O, H, P, S등)을 필요로 하는데, 가장 중요한 것은 질소와 인이다. 보통 C/N 비율 (BOD/NH-N)은 20 : 1 또는 30 : 1이 좋다. 유기물에 대해 질소가 적으면 발생가스 중에 탄산가스가 많이 된다. 또한 질소가 많으면 메탄가스 생성량이 많아지나, 암모니



아의 축적에 따른 pH의 저하로 메탄 생성이 저하된다.

## 2.5.2. 저해제

혐기성 반응기의 불안정성은 일반적으로 반응기 내의 VFA 농도가 급속히 증가하는 것을 보고 판단 가능하다. Acetate는 가장 적은 독성물질로 알려져 있다. 그러나 propionate는 억제제의 중요한 영향으로 간주 된다.

Acetate 또는 n-butyric acid의 급속한 농도의 증가는 methanogens에 대한 inhibition 보다는 일시적 충격을 야기한다고 보고되었다. Propionate는 *bacterocides*의 경우에 butyrate보다 저해성이 강하다고 알려져 있지만, *peptostreptococcus*의 경우엔 그 반대의 결과가 나왔다. Methanogenic 개체수를 살펴보면 3000 mg/L 이상의 propionate의 경우엔, 비록 이러한 영향이 극복된다 하더라도, 저해성을 띤다고 말할 수 있다. 한편, *methanobacterium formicum*은 1,000mg/L와 5,000mg/L 사이의 propionate에 의해 저해성을 띠지만, 10,000 mg/L acetate와 butyrate 에서는 모두 견디는 것으로 보고 되었다. 어떤 시스템이건 고농도 VFAs에 의한 과부하가 발생하면, VFAs 자체와, 분해가 안되고 남아있는 alcohol에 의해 저해성이 나타난다[20,21-15,16].

유기화학물질로는 chloroform, phenol, benzene, pentachlorophenol, tyrosine, 지질, 무인합성세제, raurine acid formal dehyde, 고분자 응집제, 탄닌산, 유기염소화합물이 있고 대부분의 독성 유기물은 미생물을 죽이는 효과가 아닌 미생물의 활성을 정체시키는 효과를 지니며, 일부 독성 물질은 순응기간을 거치면 미생물의 기질로 사용될 수 있다. 독성 유기물의 영향은 반응조 운영 방법의 변화, 침전, stripping, 희석 등의 방법으로 제거될 수 있다. 무기화학 물질로는 시안이 있다. 시안은 메탄균의 발육저해제로 알려져 있다[22].

양이온에 의한 독성을 저하시키는 방법으로는 희석 또는 길항작용이 적용될 수 있다. 길항작용의 대표적인 예는  $\text{Na}^+$  와  $\text{K}^+$ 이다. 예를 들어  $\text{Na}^+$ 의 농도가 7,000 mg/L이 되면 혐기성처리의 효율이 급격히 감소하게 되지만, 300 mg/L의  $\text{K}^+$ 를 첨가하는 경우 소화효율이 저하는 약 80 % 감소하며, 여기에 다시 150 mg/L의  $\text{Ca}^{2+}$ 를 첨가하면 독성은 완전히 제거된다. 그러나,  $\text{Ca}^{2+}$  만을 첨가하는 경우에는  $\text{Na}^+$ 의 독성제거에 아무런 효과도 없다고 한다. 길항작용을 위해서는 염소의 염으로 첨가하는 것이 가장 좋다고 알려져 있다. 그러나 길항작용의 효과가 없는 경우에는 희석을 통해 염분의 농도를 낮추는 것이 최선의 방안이다 [23,24].



### 3. 실험방법

#### 3.1. 원료

다시마의 주성분인 알지네이트를 가수분해 단계에서 걸리는 시간을 단축시키기 위해서 수열처리, 산, 알칼리 전처리 하였다. 이 세 가지 전처리는 다양한 온도 및 반응시간 조건에서 진행하였고 젤 투과 크로마토그래피 (Gel permeation Chromatography, GPC)를 이용하여 분자량을 분석하였다. GPC 분석은 다공성 젤을 컬럼에 충전시켜 분자량 차이에 의해 물질을 분리하는 분석방법이다. 일반적으로 분자량이 큰 물질은 젤 내 기공을 통과하지 못하고 배출되므로 체류 시간이 짧고, 분자량이 작은 물질은 젤 기공을 통과한 후 배출되므로 체류시간이 길어지는 것을 이용한 분석기기이다. 분석결과 전처리된 알지네이트의 평균분자량으로부터 분해도를 확인할 수 있었다[16].

#### 3.2. 미생물

혐기성 발효 공정에서는 알지네이트에 순응된 미생물을 사용하였고 운전부피는 2 L이고 HRT 2.5 day인 inoculum 장치에서 나온 반응액 800 ml를 원심분리기 RPM 3000, 시간 3 min 동안 상 분리를 하고 고형물만 채취하고 고형물에 남아있는 영양분 및 기질(알지네이트)을 제거하기 위해 증류수로 3회 세척 및 원심분리를 한 고형물을 사용하였다. 혐기성 소화공정에서는 부산시 수영구에 위치한 하수처리장 혐기성 소화조에서 채취한 슬러지를 사용하였고, 채취한 슬러지는 1,000  $\mu\text{m}$  크기의 sieve를 사용하여 큰 고형물을 분리한 슬러지를 사용하였다.

영양분은 혐기성 발효 공정에서는  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (2),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1.0),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.01),  $\text{NaCl}$  (0.001),  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.001),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.001),  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.0015) 그리고  $\text{FeCl}_2$  (0.00278) 을 적용 하였고(Park et al., 2009), 혐기성 발효공정에서는  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.270),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (1.120),  $\text{Na}_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (0.100),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (0.053),  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.100),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.075), 그리고  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.020) ASTM(2001) 을 사용하였다.

산 생성 단계와 메탄 생성단계를 나눈 2단 시스템을 적용한 이유는 고농도의 유기물을 적용 시 메탄생성에 유리한 공정이고, 산 생성 미생물과 메탄 생성 미생물은 서로 경쟁관계에 있기 때문에 상대적으로 약한 메탄 생성 균의 활성이 떨어지게 된다. 그러므로 두 균의 활성을 극대화 켜주기 위해서 2 단계로 나눠 실험을 진행하였다[25].

### 3.3. 실험계획

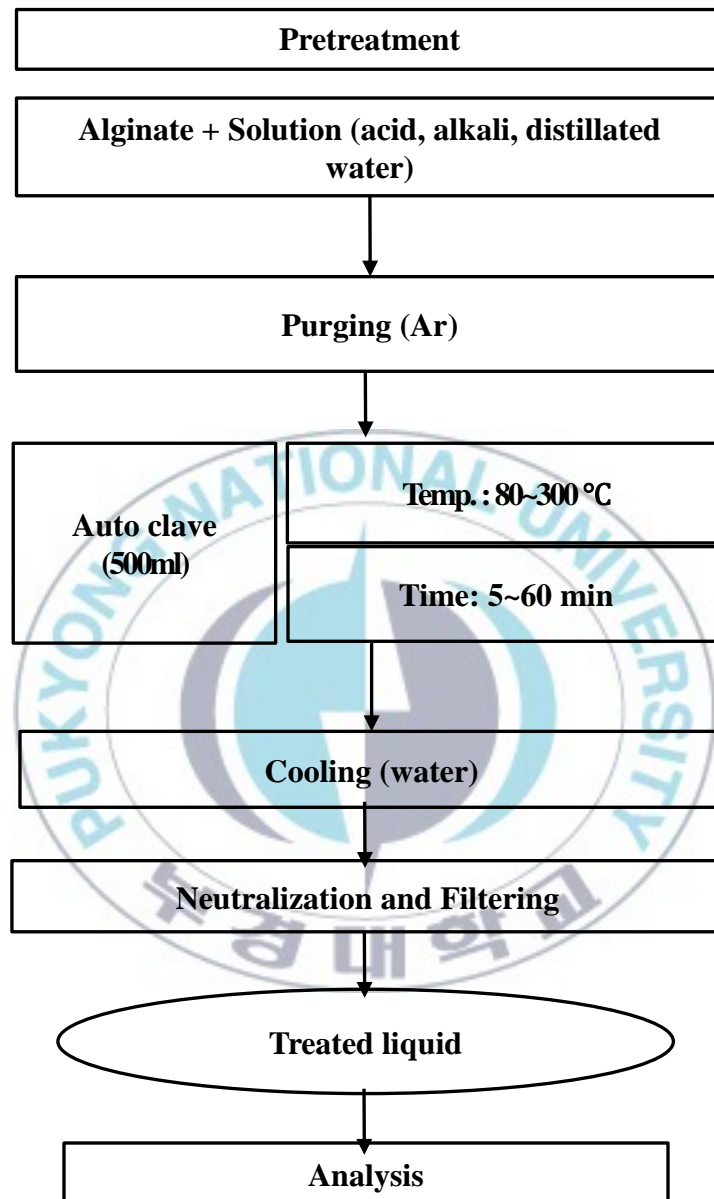
#### 3.3.1. 수열처리

수열 전처리 시료는 오토클레이브 반응기에 증류수 350 ml와 알지네이트 2wt% 를 혼합하고 130~300°C 에서 15~30 min 동안 수열반응을 한 뒤 회수하여 준비하였다. 수열처리는 셀룰로오스를 가수분해하기 위해 적용되는 방법으로 유해 화학물질을 사용하지 않고 고분자를 빠르게 저 분자화 시킬 수 있다[26,28]. 그리고 수열처리는 기질을 온도와 압력의 영향을 받아 순수한 물보다 높은 용해도를 갖게 해준다.

### 3.3.2. 알칼리 & 산 처리

알칼리 전처리에서는 NaOH 1wt% 용액에 알지네이트 2wt%를 혼합하여 오토클레이브 반응기로 온도 80~120°C, 반응시간 15~60 min 을 반응시켜 진행 하였다. 알칼리 처리는 주로 가성소다 및 석회를 주입하여 가수분해 효과를 촉진시켜주고, 산 전처리에서는 황산 2wt%에 알지네이트 2wt% 용액을 만들고 500 ml 오토클레이브에 350 ml 반응부피로 하여 진행하였고, 산 처리에서는 주로 염산, 황산을 주입하여 가수분해 효과를 촉진 시켜준다. 이러한 방법들은 기질의 용해도를 향상 시켜주는 역할도 한다. 알칼리 및 산 전처리 조건은 셀룰로오스 에서 당 추출율이 가장 높은 조건을 중심으로 설정을 하였다.



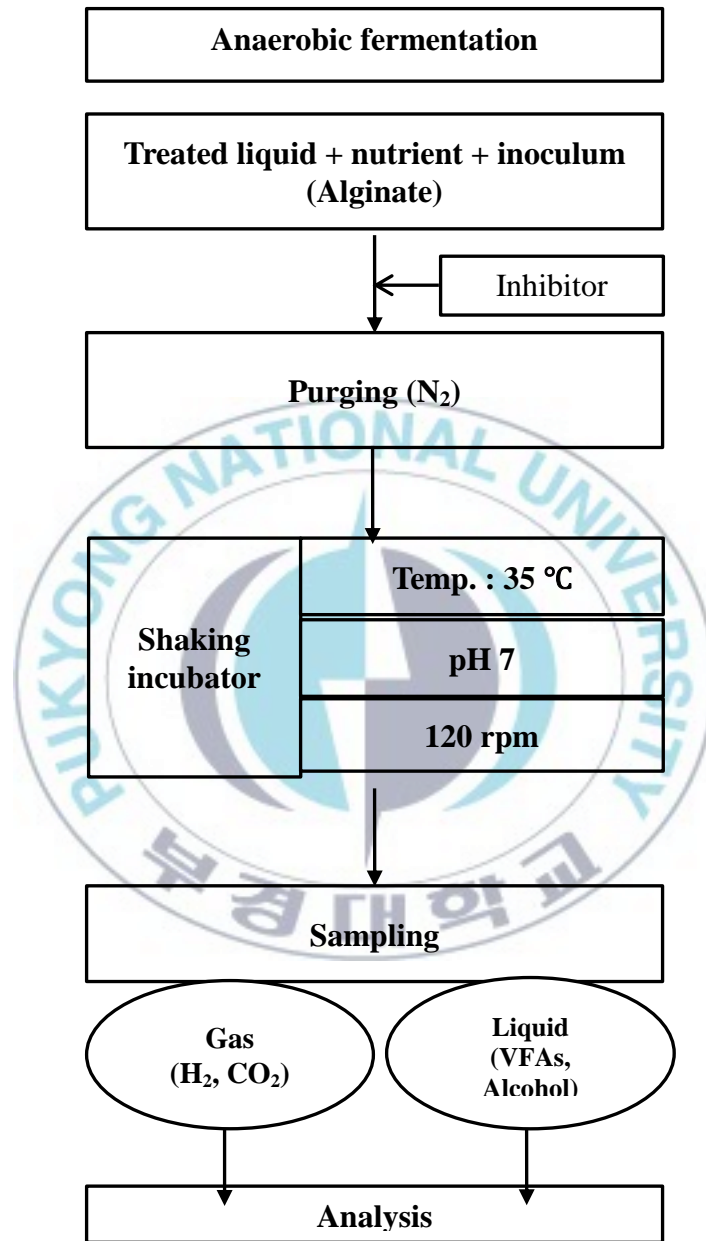


**Fig. 2.** Pretreatment procedure.

**Table 2.** Hydrolytic pretreatment condition of alginate

Pretreatment	No.	Condition	
		Temperature (°C)	Reaction Time (min)
Hydro-thermal	1	25	-
	2	130	15
	3	140	15
	4	140	30
	5	160	15
	6	180	15
	7	200	15
	8	300	15
Alkali (NaOH)	9	25	-
	10	80	15
	11	120	5
	12	120	15
	13	120	30
	14	120	60
Acid (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	15	25	-
	16	120	15





**Fig. 3.** Procedure for anaerobic fermentation of alginate.



### 3.4. 혐기성 공정 운전

혐기성 발효실험에서 회분식(batch) 형태의 반응기로 크기는 250 ml 크기의 유리병에 샘플 150 ml, 영양분 10 ml, 그리고 알지네이트에 순응된 접종원 10 ml를 넣고 운전부피를 200 ml로 증류수로 맞춰준다. 그리고 pH 조절을 위해 NaCl (5N), HCl (5N) 용액을 사용하였고, VFAs 효율을 증대시키기 위해서 메탄생성억제제인  $\text{CHI}_3$  용액을 사용하여 반응기내의 농도를 50 ppm으로 조절 하여 사용하였다[27,29]. 50 ppm은 산 생성량이 최대로 도달할 수 있는 농도이다. 그리고 액체와 가스 샘플링이 가능한 셉텀으로 막아주고  $\text{N}_2$  가스를 6분동안 purging하여 혐기 조건으로 조성해 주었다. 그리고 1 L 가스백을 달아주고 혐기성 발효 반응조건 pH 7, 35°C 그리고 120 rpm의 shaking incubator 로 반응을 진행하였다.

혐기성 소화 단계에서는 발효단계에서 반응액과 미생물을 분리하여 액체만 채취한 뒤 반응기 사이즈는 발효공정과 동일하고 접종원은 부산 수영하수처리장의 소화조에서 채취한 슬러지를 사용하였고 메탄 저해제(inhibitor) 사용을 제외하고는 발효공정 절차와 동일하게 수행하였다. 혐기성 발효 공정은 반응시간 20일동안 진행하였다.



**Fig. 4.** Photograph of shaking incubator and anaerobic reactor.



**Fig. 5.** Photograph of autoclave reactor for hydrolytic pretreatment of alginate.

**Table 3.** Experimental condition of VFA production from alginate in anaerobic fermentation

Item	Condition
Working volume (ml)	200
Temperature (°C)	35
Nutrients composition	Park et al. (g/L) $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ (2), $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (1.0), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.01), $\text{NaCl}$ (0.001), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.001), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.001), $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.0015) and $\text{FeCl}_2$ (0.00278)
Substrate conc. ( g-COD/L)	10
Buffer solution	HCl (5N), NaOH (5N)
Initial pH	7.0

**Table 4.** Experimental condition of CH<sub>4</sub> production from alginate in anaerobic digestion

Item	Condition
Working volume (ml)	200
Temperature (°C)	35
Nutrients composition	ASTM(2001) Reagents (g/L): KH <sub>4</sub> PO <sub>4</sub> (0.270), K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (1.120), Na <sub>2</sub> ·9H <sub>2</sub> O(0.100), NH <sub>4</sub> Cl(0.053), MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O(0.100), CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O(0.075), and FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O(0.020)
Substrate conc. ( g-COD/L)	4
Buffer solution	HCl (5N), NaOH (5N)
Initial pH	7.0

### 3.5. 분석방법

혐기성 반응 실험을 통해 생산된 바이오가스 분석은 메탄 ( $\text{CH}_4$ )과 이산화탄소 ( $\text{CO}_2$ )는 Porapak Q (SS, 2m \* 1/8" ) 컬럼이 장착된 가스 크로마토그래피 (GC/FID-methanizer, Model: HP-5890)를 사용하였고 carrier gas는 He을 흘려 주고 injector, oven, detector 의 온도는 각각 250°C, 35°C 그리고 200°C로 설정하였고 메탄화를 시켜주기 위한 Ni 촉매를 활성화 시키기 위해 반응조건인 280°C를 유지했다[30]. 가스 백 및 반응기 headspace에 가스를 5cc를 샘플링 하여 0.1 cc를 주입하여 분석을 진행하였다. 수소( $\text{H}_2$ )는 Molecular sieve 5A (SS, 10m, 45/60 mesh)가 장착된 가스 크로마토그래피 (GC/TCD, Model: HP-5890)를 이용하였고, carrier gas는  $\text{N}_2$ 를 사용하였다 injector의 온도는 100°C oven 온도는 80°C 그리고 detector의 온도는 200°C로 하여 분석을 진행하였다. 휘발성 유기산( $\text{C}_2\sim\text{C}_6$ )과 에탄올은 Aminex HPX-87H column (Agilent)과 UV-vis 검출기가 장착된 high performance liquid chromatography(HPLC, Shimadzu)를 이용하여 분석하였다. 총 유기탄소분석은 detector는 NDIR가 장착된 TOCs(Total Organic carbon analyzer) 장비를 이용하여 분석하였다. 화학적 산소 요구량 (chemical oxygen demand, COD) 분석은 Spectronic Genesys 5 장비를 이용하였고, 분석 파장은 600 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 총 고형물 (total solids), 휘발성 고형물(volatile solids), 강열잔류 고형물 (fixed solids)는 standard method (1999)에 따라 분석하였다.

**Table 5.** Analytical methods

Item	Equipment		Column
CO <sub>2</sub> CH <sub>4</sub>	GC (Gas Chromatography)	FID (methanizer)	Porapak Q(SS, Teflon, 2m * 1/8")
H <sub>2</sub>		TCD	Molecular sieve 5A(SS, 10m, 45/60 mesh)
TOC	TOCs (Total Organic carbon analyzer)	NDIR	—
C <sub>2</sub> ~C <sub>6</sub> acids, ethanol	HPLC	UV	Aminex HPX-87H



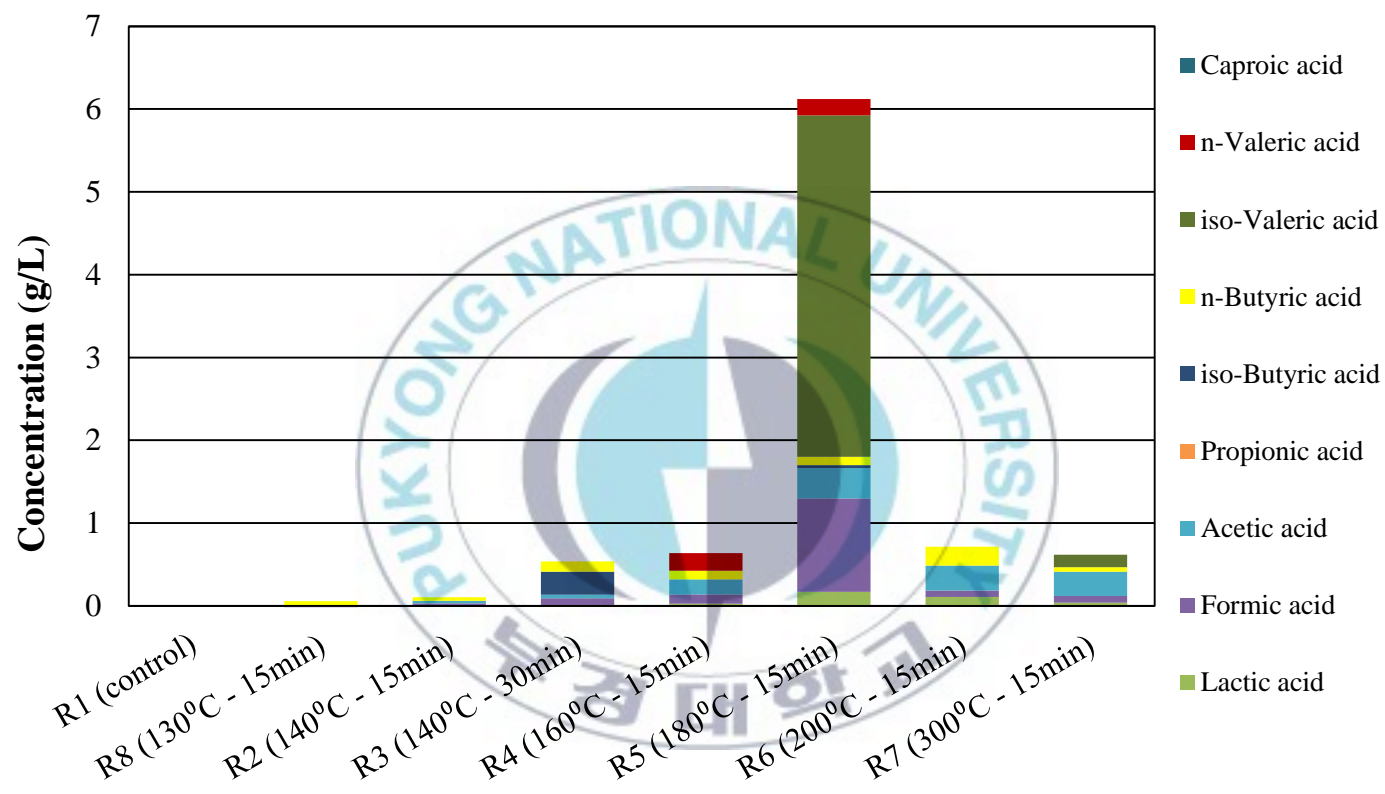
## 4. 결과 및 논의

### 4.1. 원료성상 분석

알지네이트 전처리 원료의 초기 COD, VFAs 및 alcohols 분석 결과 수열처리 셋의 경우에는 COD 값의 범위가 150,000~180,000 mg/L 의 범위를 보였고 알칼리 및 산 처리에서도 320,000~400,000 mg/L 범위의 COD 값을 나타내었다. 수열처리에서는 용매로서 물 이외에는 넣지 않았지만 산 및 알칼리 전처리에서는 황산과 수산화나트륨의 첨가로 화학적으로 산화될 수 있는 물질의 량이 증가한 것으로 보인다.

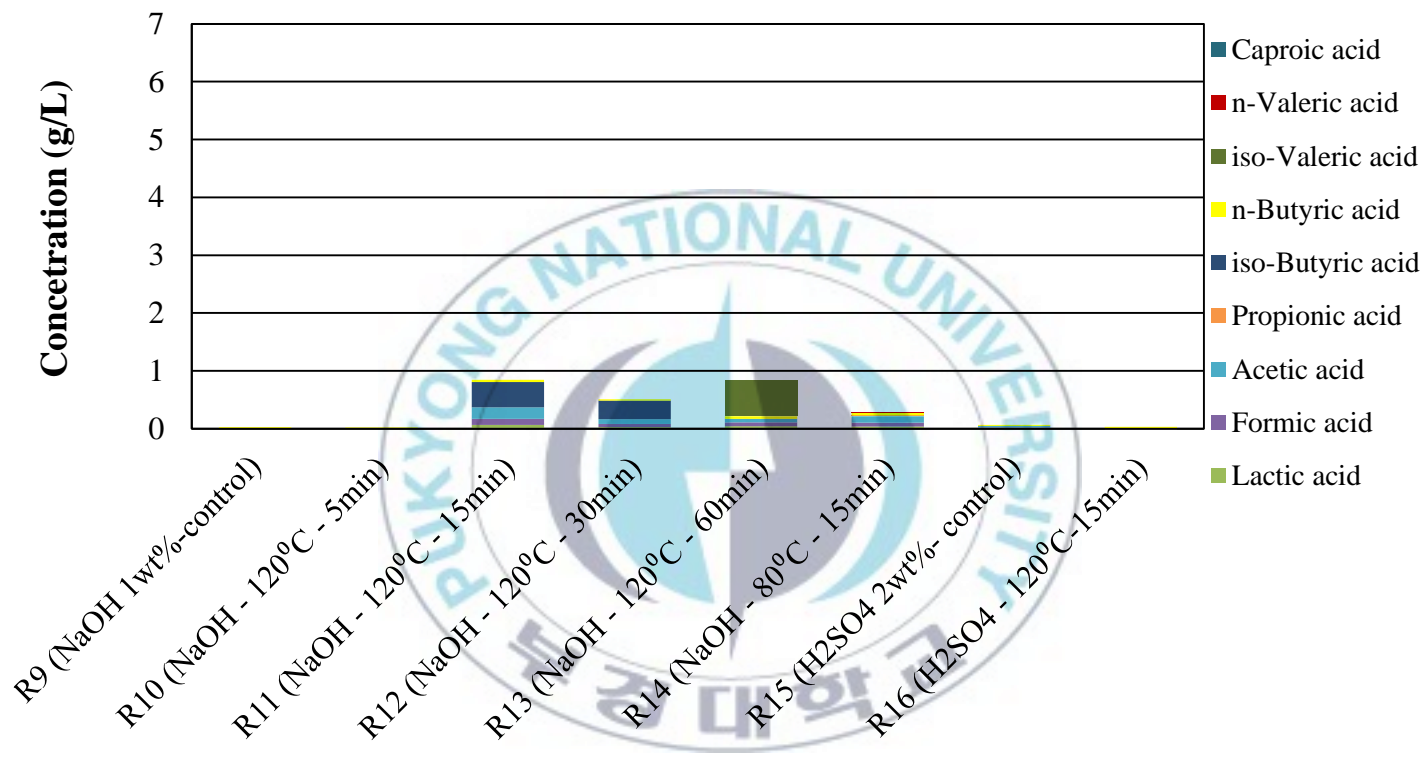
전처리 결과 휘발성 유기산의 생성량은 수열처리 180°C, 15 min 조건에서 약 6.02 g/L 로 가장 높은 값을 보였고 그 이외의 조건에서는 0.2~0.8 g/L 의 산 생성량을 보였다. 주로 생성된 유기산의 종류는 iso-butyric, iso-valeric acid가 생성되었다.

산 및 알칼리 전처리에서는 0.2~0.8 g/L 유기산이 생성 되었고, 산 처리에서는 0.2 g/L 로 가장 낮은 유기산이 생성 되었다. 알코올은 두 전처리에서는 생성되지 않았다.



**Fig. 6.** Organic acid production in hydrothermal pretreatment of alginate.





**Fig. 7.** Organic acid production in acid and alkali pretreatment of alginate.

**Table 6.** COD concentration of alginate under various pretreatment conditions

Pretreatment	Reactor	Pretreatment Condition		mg (TCOD)/L
		Temp. (°C)	Time (min)	
Hydro-thermal	1	25	-	18,750
	2	130	15	14,884
	3	140	15	15,625
	4	140	30	14,583
	5	160	15	11,458
	6	180	15	17,187
	7	200	15	12,500
	8	300	15	14,844
Alkali	9	25	-	32,039
	10	120	5	32,039
	11	80	15	32,039
	12	120	15	33,253
	13	120	30	33,010
	14	120	60	33,981
Acid	15	25	-	43,690
	16	120	15	27,185

## 4.2. 전처리 결과 (GPC 분석)

### 4.2.1. 수열, 알칼리 및 산 전처리

수열처리에서는 원시료 알지네이트의 분자량은 400,000 Da으로 나왔고 알지네이트가 분해되기 시작하는 온도인 130°C부터 최대 300°C까지 반응 시킨 결과 50,000 Da에서 2,000 Da까지의 분자량 범위를 나타내는 것을 확인하였다.

산처리에서는 100~160°C 범위의 온도에서 진행을 한 결과 6000~1800 Da 으로 대부분 저 분자화가 진행되었다. 가수분해 정도를 저 분자화가 된 정도에 따라 판단을 하였는데 실험을 진행한 모든 조건에서 비슷한 분자량이 나왔다. 그래서 그 중에 25°C, 120°C 조건만 선택하여 반응을 진행하였다.

알칼리 전처리는 80~120°C 범위의 온도와 5~60 min 시간에서 진행을 하였다. 그 결과 120°C, 5 min 에서 분자량 160,000 Da 부터 20°C, 60 min 조건에서 2,000 Da까지 세 가지 전처리 방법 중에 가장 고른 분자량 분포를 나타내었다.

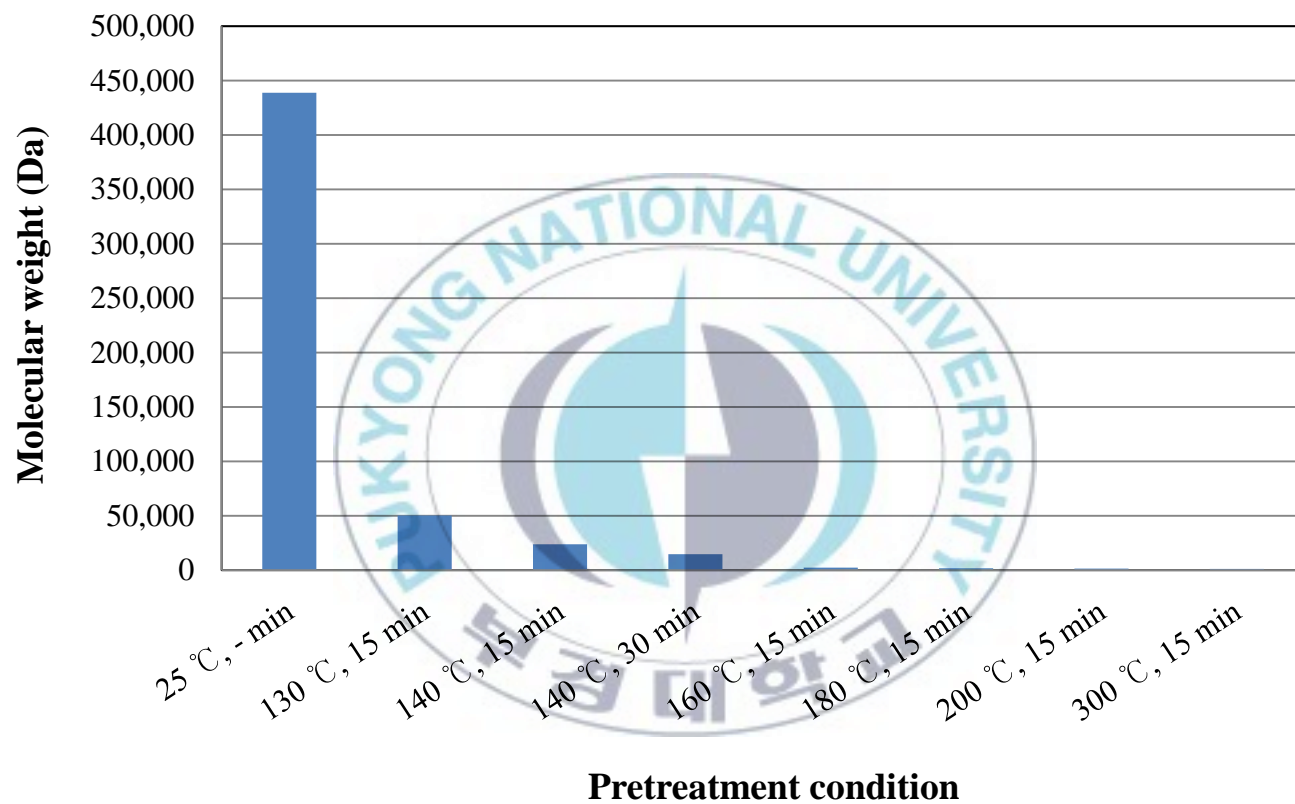
### 4.2.2. 고찰

알지네이트는 120°C 이하에서는 분해가 되지 않는다고 알려져 있다. 그 이상의 전처리 결과 400,000 Da 에서 50,000 Da 최대 2,000 Da까지 분해되는 것으로 보아 온도에 대한 효과가 크다는 것을 확인하였다. 가수분해된 정도에 따라 혐기성 소화 반응의 경향성을 확인하고자 하였지만, 반응기 운전부피가 커서 온도조절이 쉽지 않았다. 승온속도 또한 목표온도에 도달하기 위

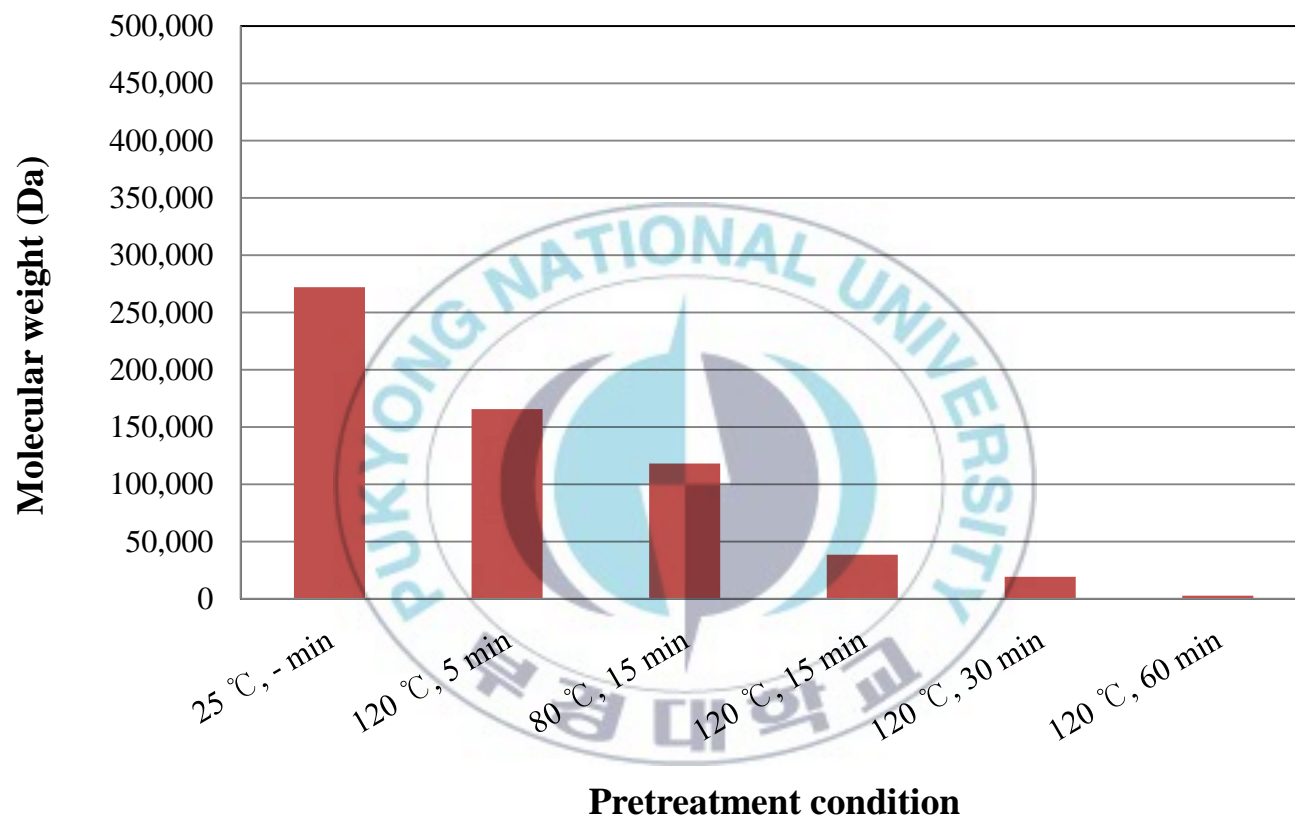
한 시간이 20분~30분이 소요되었다. 그래서 실제반응시간보다 알지네이트 가수분해가 더 진행 된 것으로 보인다.

알칼리 전처리에서는 260,000~2,000 Da으로 세 가지 전처리 중에 가장 다양하고 고른 분포를 보였다. 알칼리 전처리 조건은 셀룰로오스 당 추출효율이 가장 좋다고 알려진 것을 기준으로 범위를 설정하였다[29,31]. 알칼리 전처리는 NaOH의 가수분해의 원활한 진행으로 도움을 줌으로써 수열처리보다 반응온도 80~120℃으로 온도에 대한 조건 범위가 낮아 온도 조절에 걸리는 시간이 적어 실제 분해되는 시간의 단축으로 분자량 분포가 고른 것으로 보인다.

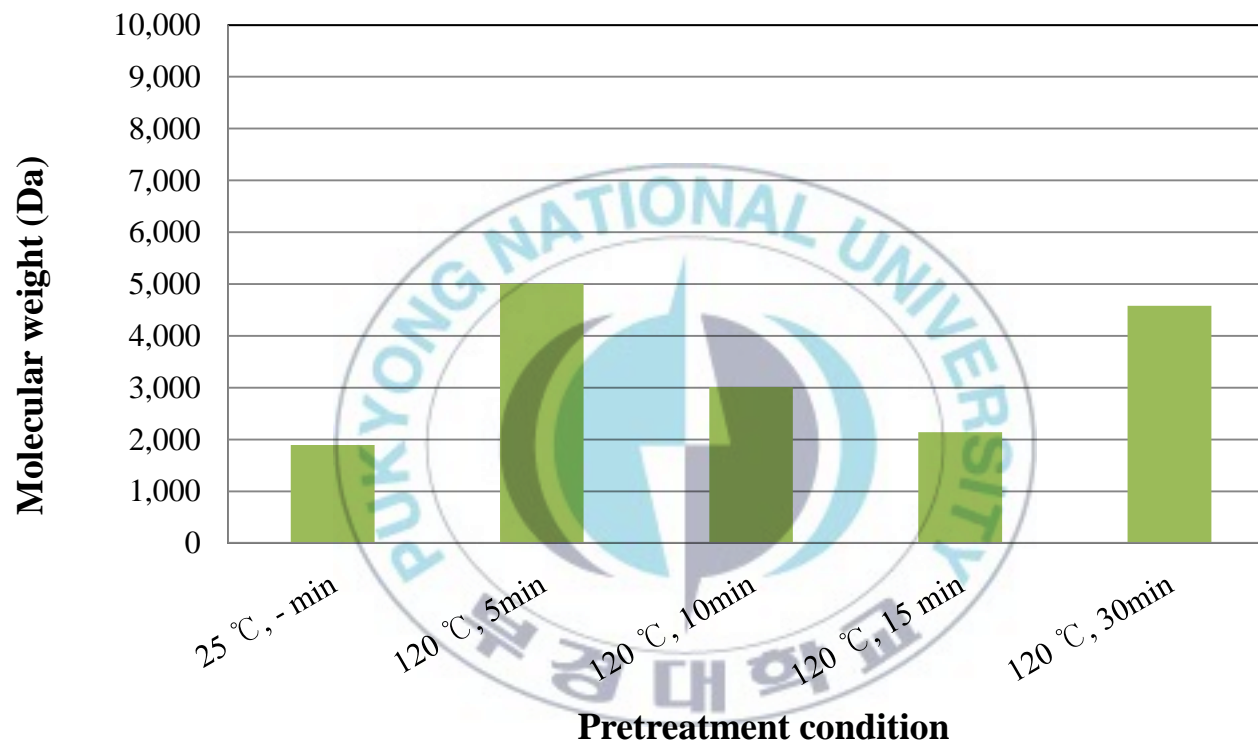
산 전처리 결과 모든 조건에서 분자량이 약 2,000 Da으로 상온에서도 분해가 대부분 된 것으로 확인 되었다. 상온에서는 알지네이트의 용해도가 낮아 대부분의 알지네이트를 용해시키지 못하고 덩어리로 남았지만, 일부 용해된 알지네이트의 분자량은 2,000 Da으로 나타났고 열처리와 병합 했을 때도 역시 1,000~2,000 Da으로 분해되었다. 산 처리는 강산 자체의 분해효율이 다른 용매보다 높아 낮은 온도에서도 대부분 다 분해를 시켰다.



**Fig. 8.** Molecular weight of alginate in hydrothermal pretreatment.



**Fig. 9.** Molecular weight of alginate in hydrothermal pretreatment.



**Fig. 10.** Molecular weight of alginate in acid pretreatment.



### 4.3. 혐기성 발효를 통한 휘발성유기산(VFAs) 생산

#### 4.3.1. 수열처리

수열처리에서는 200°C, 15 min 에서 8.1±0.5 g/L로 가장 높은 VFAs 생산성을 보였고, 25°C, 15 min(control set) 조건에서는 3.9±0.1 g/L 의 값을 나타냈다. 상온에서부터 140°C 의 조건에서 VFAs 생성량은 3.9~4.1 g/L로 비슷하게 나오기는 하지만 상온부터 200°C까지의 범위에서는 점차적으로 휘발성 유기산의 생산성이 증가였다. 그러나 그 이상의 온도인 300°C, 15 min 에서는 VFAs 생성량이 1.6±0.1 g/L로 떨어졌다.

#### 4.3.2. 알칼리 및 산 처리

산 및 알칼리 전처리에서는 상온에서의 전처리 조건에서 VFAs 생산성이 열처리와 같이 전처리한 조건보다 높은 것을 확인하였다. 산 전처리의 경우 상온조건에서 3.4±0.0 g/L의 VFAs 생산성을 나타냈고, 알칼리 전처리에서도 역시 상온에서 2.0±0.1 g/L 가장 높은 VFAs 생산성을 나타내었다. 하지만 수열처리 200°C, 15 min 조건에서 생성된 8.1±0.5 g/L보다는 저조한 것을 확인하였다.

#### 4.3.3. 고찰

수열처리의 경우 온도가 증가할수록 알지네이트 분자량이 감소하고 그에 따라 VFAs 전환율 또한 15.6±0.5%에서 최대 91.0±5.7%까지 증가하였고, 300°C

로 올라 갔을 때는  $23.8 \pm 5.3\%$ 로 급격히 감소하는 것을 확인하였다.  $200^\circ\text{C}$  이하의 범위에서는 전처리로부터 저 분자화 된 정도에 따라 산 생성량이 및 전환율이 증가하지만, 그 이상의 온도에서는 산 생성량이 급격하게 감소하였다. 이 결과로부터  $200^\circ\text{C}$  이상의 온도에서는 산 생성 미생물의 활동성을 저해하는 물질이 전처리로부터 생성되는 것으로 사료된다.

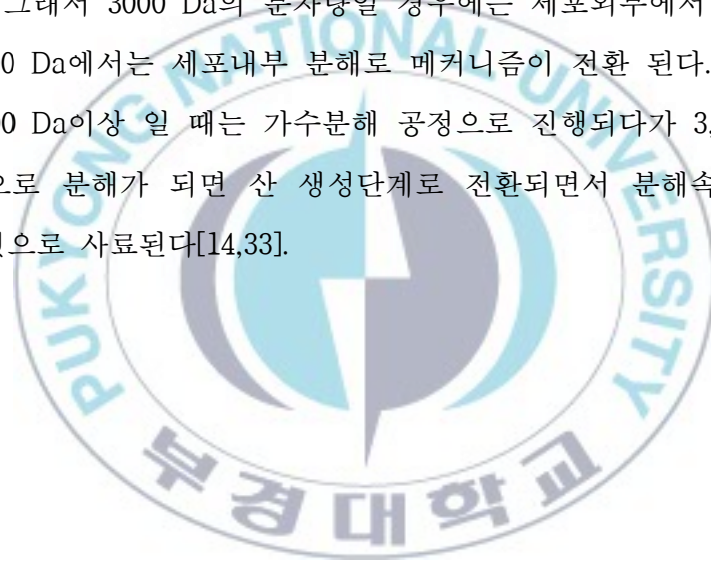
알칼리 및 산 처리에서는 상온에서 전처리한 셋이 가장 높은 전환율로 각각  $19.7 \pm 0.8\%$ ,  $53.8 \pm 0.4\%$ 로 나타났다. 그리고 온도를 가한 경우에는  $7.6 \sim 23.6\%$ 로 저조하게 나왔고 증류수에서 상온으로 처리했을 때 전환율인  $15.6 \pm 0.5\%$ 와 비교했을 때 전처리 효과가 없는 것으로 판단된다. 여기에서 산 처리보다 알칼리 처리가 저조하게 나타난 것은 전처리 시 중화과정에서 산 처리 경우에는  $\text{CaCO}_3$ 를 사용하여  $\text{SO}_4$ 를 양금으로 제거하였지만, 알칼리 처리에서는  $\text{HCl}$ 로 중화를 하여 전처리액 안에 알지네이트 이외에  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  같은 이온들이 상당히 존재한다.  $\text{Na}^+$ 의 농도가  $7,000 \text{ mg/L}$ 이 되면 혐기성처리의 효율이 급격히 감소하게 되는데, 알지네이트에 포함된  $\text{Na}^+$ 과 알칼리 전처리에서 사용된  $\text{NaOH}$  그리고 영양분에 포함된  $\text{Na}^+$  과량 존재하여 미생물에 대한 억제제로 작용된 것으로 사료된다[19].

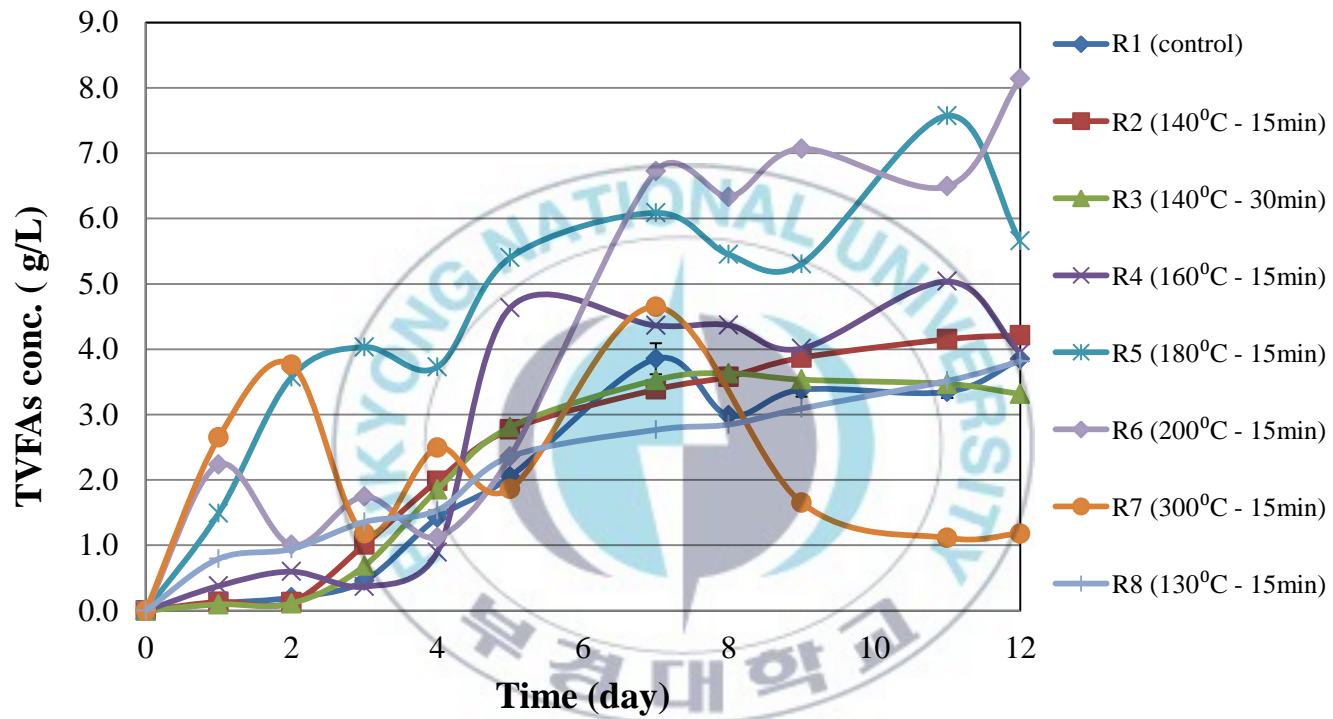
VFAs 조성을 보면 상온에서부터  $140^\circ\text{C}$  범위의 전처리 조건에서는 acetic acid가  $74.0 \pm 3.9\%$ 로 주성분으로 확인 되었고  $160^\circ\text{C}$  이상의 조건에서는 iso-valeric 과 iso-butyric acid가 각각  $47.0 \pm 4.2\%$ ,  $46.6 \pm 0.6\%$ 로 주성분으로 나타났다. 전처리 온도 조건이 고온으로 갈수록 저 분자화 되는 분자량은 감소하지만, VFAs 생산 경향을 보면  $160^\circ\text{C}$  이상의 온도 범위에서는 분자량이 작은 acetic acid 보다 iso-butyric 과 iso-valeric acid의 생산성이 높아지는 것은  $160^\circ\text{C}$  이상의 전처리 조건에서는 그 이하의 전처리 조건에서보다 더 다양한 전처리 부산물이 생성되는 것으로 보인다.  $140^\circ\text{C}$  이하의 조건에서는 iso 형태보다는 chain 형태의 유기산

이 대부분 생성 되었다. 가수분해가 진행됨에 따라 고분자 알지네이트가 점점 분자량이 작은 알제네이트로 분해되면서 가온, 가압 상태에서 다양한 형태의 알지네이트 저 분자화가 진행된 것으로 보인다.

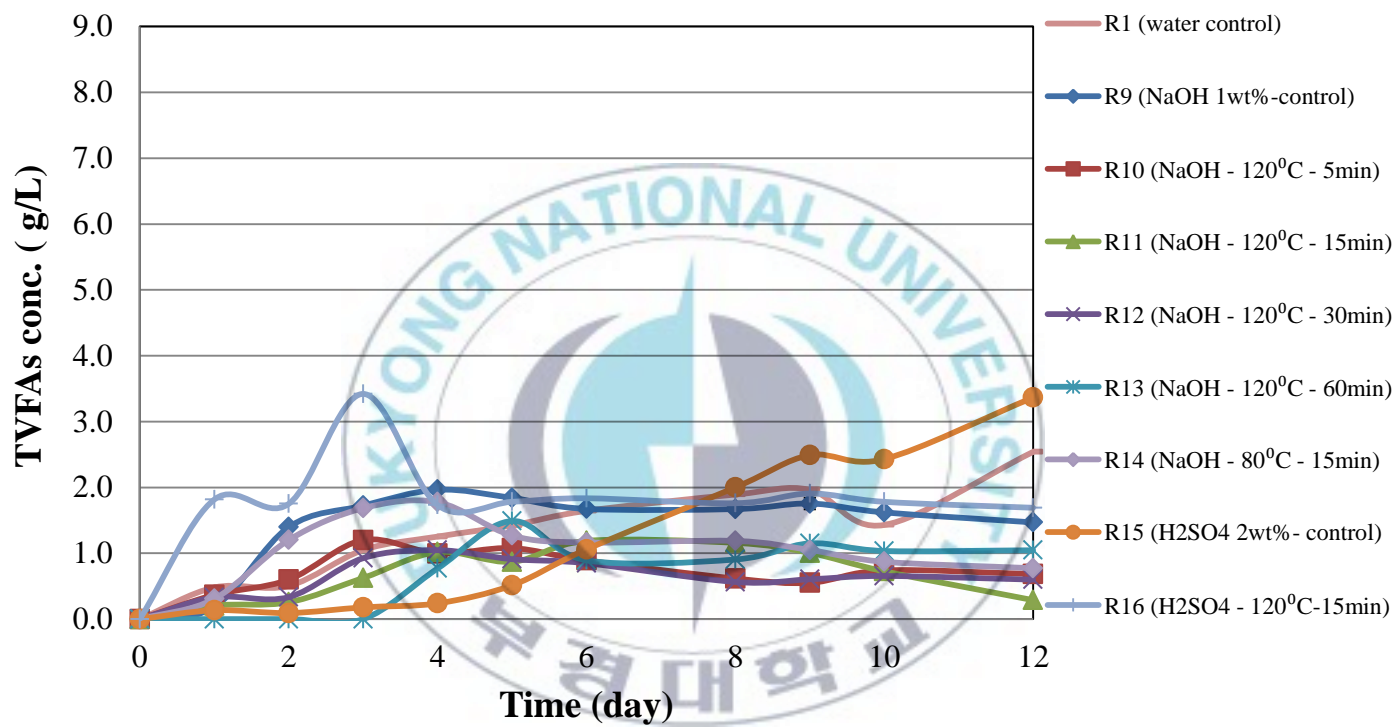
산 생성단계에서는 수열처리 25~200℃ 까지 저 분자화 될수록 산 생성량이 증가하였다. 고분자의 분자량이 40,000 Da 이하이면 미생물에 의한 높은 분해 효율을 보인다.

그리고 3,000 Da이하의 분자량일 때는 가수분해단계에서 산 생성 단계로 전환 된다. 그래서 3000 Da의 분자량일 경우에는 세포외부에서 분해가 진행되지만 3,000 Da에서는 세포내부 분해로 메커니즘이 전환 된다. 다시 말해, 분자량 3,000 Da이상 일 때는 가수분해 공정으로 진행되다가 3,000 Da 이하의 분자량으로 분해가 되면 산 생성단계로 전환되면서 분해속도의 차이가 나타나는 것으로 사료된다[14,33].





**Fig. 11.** Total VFAs production of alginate with hydrothermal pretreatment.



**Fig. 12.** Total VFAs production of alginate with alkali and acid pretreatment.

**Table 7.** TOC conversion in VFAs production of alginate in anaerobic fermentation

		Pretreatment Condition		Molecular weight (Da)	TOC (g/L)		Production VFAs		Conversion (%)
		Temp. (°C)	Time (min)		Initial	final	g/L	mol-C/L	
Hydrothermal	1	25	-	438,940	10.78	10.01	3.85	0.14	15.6±0.2
	2	130	15	50,224	6.01	4.52	3.52	0.12	24.9±0.7
	3	140	15	23,840	5.16	3.92	4.21	0.15	35.5±0.2
	4	140	30	14,697	4.94	4.28	3.35	0.12	29.4±2.7
	5	160	15	2,372	4.89	4.68	4.63	0.23	55.9±3.9
	6	180	15	1,948	5.51	5.45	6.09	0.30	65.0±1.9
	7	200	15	1,554	4.47	3.37	7.07	0.34	91.0±0.8
	8	300	15	1,162	4.43	3.98	1.65	0.09	23.8±0.8
Alkali	9	25	-	272,151	4.43	4.27	1.99	0.07	19.7±0.8
	10	120	5	117,979	4.58	3.82	1.20	0.05	12.2±1.8
	11	80	15	38,427	3.80	3.08	0.75	0.03	8.5±0.6
	12	120	15	19,035	5.27	3.35	0.84	0.03	7.7±0.7
	13	120	30	2,765	6.02	3.56	0.87	0.04	7.6±1.0
	14	120	60	165,557	4.18	2.65	1.76	0.06	17.8±0.6
Acid	15	25	-	1,892	2.63	1.92	3.37	0.12	53.8±0.4
	16	120	15	2,140	4.04	3.86	1.91	0.08	23.6±1.3



## 4.4. 혐기성 소화공정을 통한 바이오메탄 생산

### 4.4.1. 수열처리

VFAs 농도가 가장 높은 수열처리 200℃, 15 min 조건에서 메탄생성 공정을 통한 메탄 생성량이 약 10 ml 생성되었다. 수열처리 140℃, 30 min에서 가장 높은 바이오가스 생성량인 약 63 ml 생성되었다. 수열처리 25~140℃ 온도범위에서는 온도증가에 따라 메탄가스 생성량이  $25.4 \pm 0.9$  ml에서  $63.9 \pm 1.8$  ml로 증가하였다. 160℃ 이상의 조건에서는 가스의 생성량이 약 0~17 ml이다. 상온에서의 메탄생성과 비교했을 때 130~140℃ 범위에서는 전처리 효과가 50~100% 있고, 160~180℃ 범위에서는 30~60% 감소하였다. 그리고 200℃와 300℃ 조건에서는 거의 메탄생성이 없었다.

수열처리에서 바이오가스 조성은 혐기성 소화공정 10일 시점에서 조성을 나타내었다. 상온에서 140℃까지 메탄 조성은 60~80% 차지하였고, 160~300℃의 범위에서는 5~50%의 조성을 나타냈다. 온도가 증가할수록 메탄조성은 감소하는 경향을 보였다. 160℃ 이상의 범위에서는 이산화탄소가 50~90%으로 주성분으로 나타났다.

### 4.4.2. 알칼리 및 산 처리

강산 및 강알칼리 상온 조건에서 메탄 생성량이 각각  $36.9 \pm 1.0$  ml,  $40.7 \pm 1.0$  ml로 가장 높고, 열을 가한 조건에서는 메탄 생성량이 1~15 ml 값을 나타내었다. 상온에서 물과 용해시킨 셋과 비교했을 때 산 및 알칼리 처리한



조건에서는 상온에서 메탄 생성량이 30~40% 증가 하였고 나머지 셋에서는 메탄생성을 억제하는 효과를 나타내었다.

산 및 알칼리 전처리에서는 상온에서 전처리한 조건에서 메탄조성이 75~80%로 가장 높았고, 가운데 준 셋의 메탄 조성은 10~68% 값을 보였다.

메탄 가스의 조성은 가운데 해준 알칼리 80°C, 15 min 조건에서는 메탄 조성이 68%를 보였다. 120°C 조건의 메탄조성과 비교했을 때 15~50%까지 차이를 보였다.

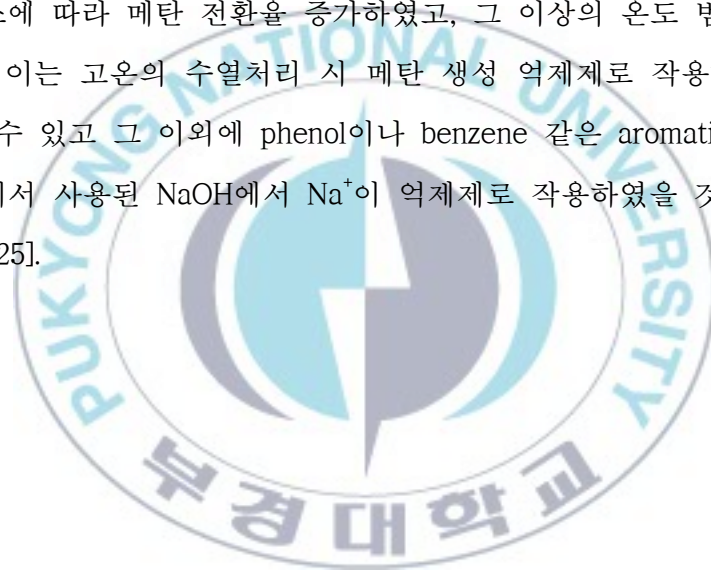
#### 4.4.3. 고찰

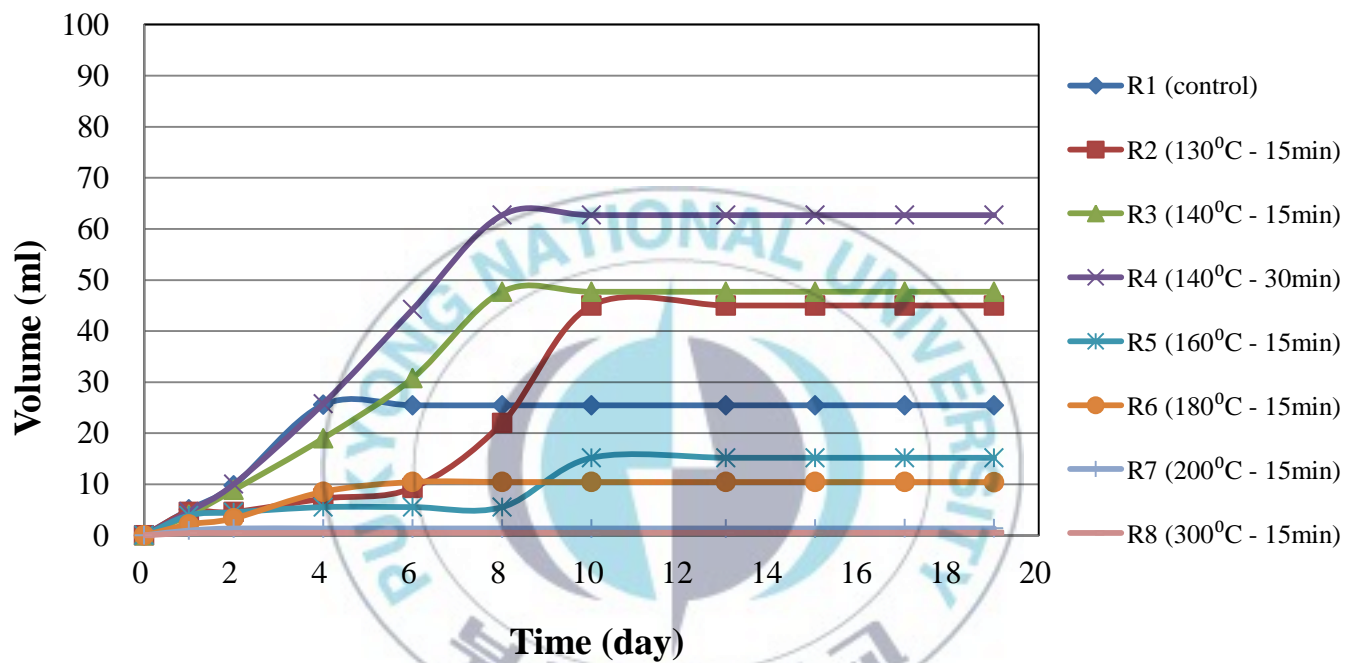
최대 바이오메탄 전환율 전처리 조건은 수열처리 140°C 30 min 에서  $50.8 \pm 1.3\%$ 로 가장 높은 값을 보였고 최대 VFAs 생산 조건인 200°C, 15 min 에서  $1.1 \pm 0.3\%$ 로 저조한 것을 확인하였다. VFAs 조성을 보면 상온에서부터 140°C 범위의 전처리 조건에서는 Acetic acid가 70~80%로 주성분으로 확인 되었고 160°C 이상의 조건에서는 iso-valeric 과 iso-butyric acid가 50~70%로 주성분으로 나타났다. 그러므로 메탄 생성균이 바로 메탄으로 전환할 수 있는 기질인 Acetic acid의 조성이 높은 것이 최대 VFAs 생산량보다 유리한 것으로 사료된다.

메탄생성공정에서는 수열처리 140°C, 30 min 반응조건에서 메탄 전환율이 50.8%로 가장 높은 값을 보였다. 산 처리 및 알칼리 처리 샘플에서는 상온 (25°C)에서 처리 시 메탄 전환율이 각각  $29.3 \pm 0.7$ ,  $32.8 \pm 0.7\%$ 로 가장 높은 전환율을 보였다. 메탄 생성단계에서는 전처리 분해도가 증가할수록 수열처리에서는 상온에서 140°C 까지 적용 되었고, 160~300°C 에서 온도가 증가할수록 급격히 감소하여 0.4~8.9%로 감소하였다.

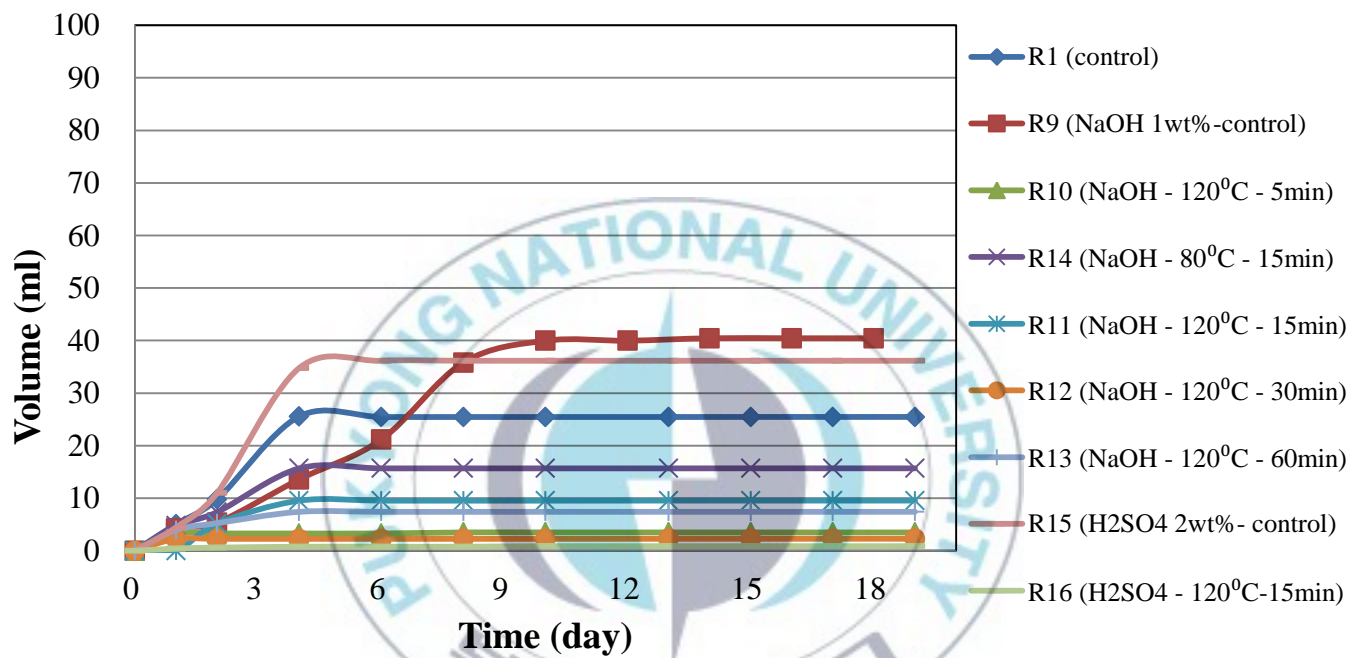
알칼리 처리와 산 처리에는 분해도와는 상관없이 상온에서만 전처리 효과가 나타났고 화학적 처리와 열적 처리를 같이 진행한 셋에서는 0.8~13.3%로 효과가 미비한 것으로 나타났다. 그리고 메탄 조성 또한 가온을 해준 경우 12% 메탄 조성의 차이를 나타낸 것으로 보아 메탄생성에 있어서 가온을 해주는 것은 메탄 생성균에 부정적인 영향으로 작용되는 것으로 보인다.

일반적으로 가수분해에 의한 저 분자화가 빠를수록 산 생성량이 증가하고 이를 메탄으로 전환되는 량 또한 증가할 것으로 예상했지만, 25~140℃에서 분자량 감소에 따라 메탄 전환을 증가하였고, 그 이상의 온도 범위에서는 감소하였다. 이는 고온의 수열처리 시 메탄 생성 억제제로 작용하는 furfural이 생성될 수 있고 그 이외에 phenol이나 benzene 같은 aromatic 물질, 그리고 전처리에서 사용된 NaOH에서 Na<sup>+</sup>이 억제제로 작용하였을 것으로 사료된다[15,19,24,25].

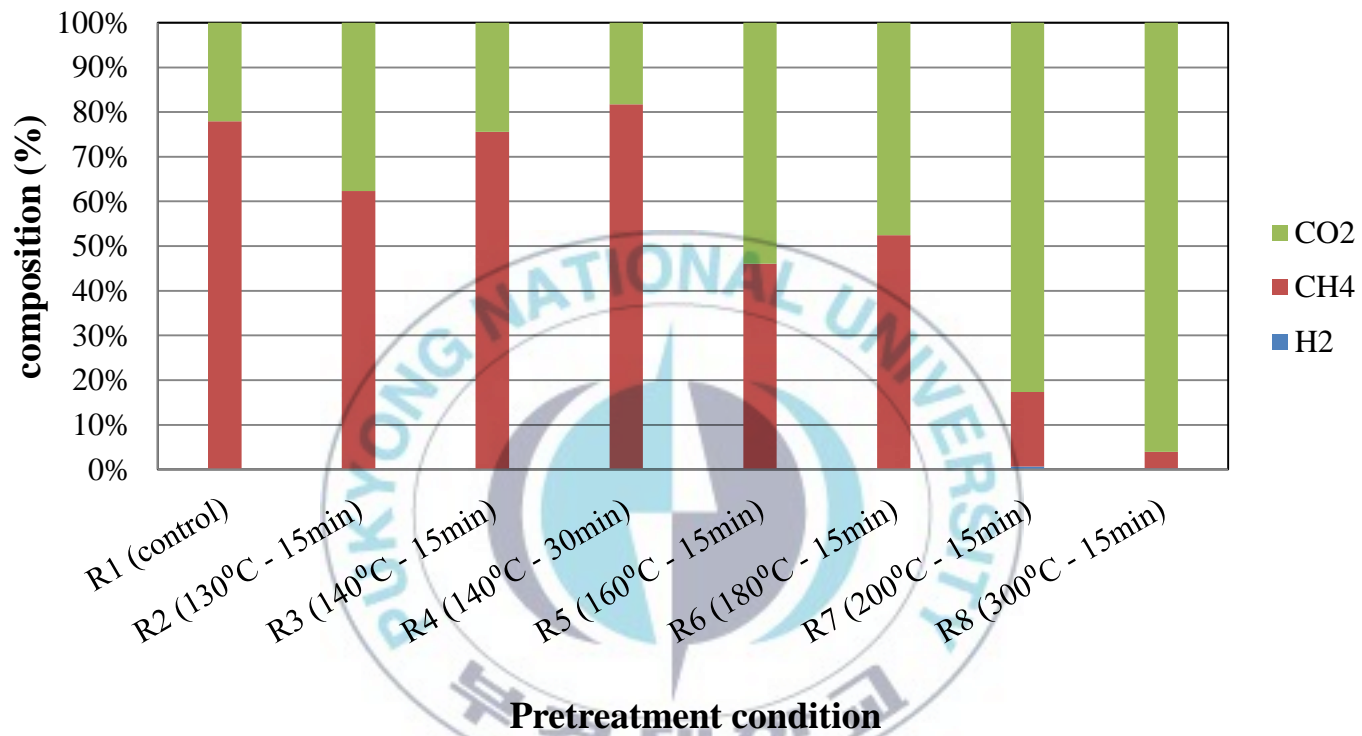




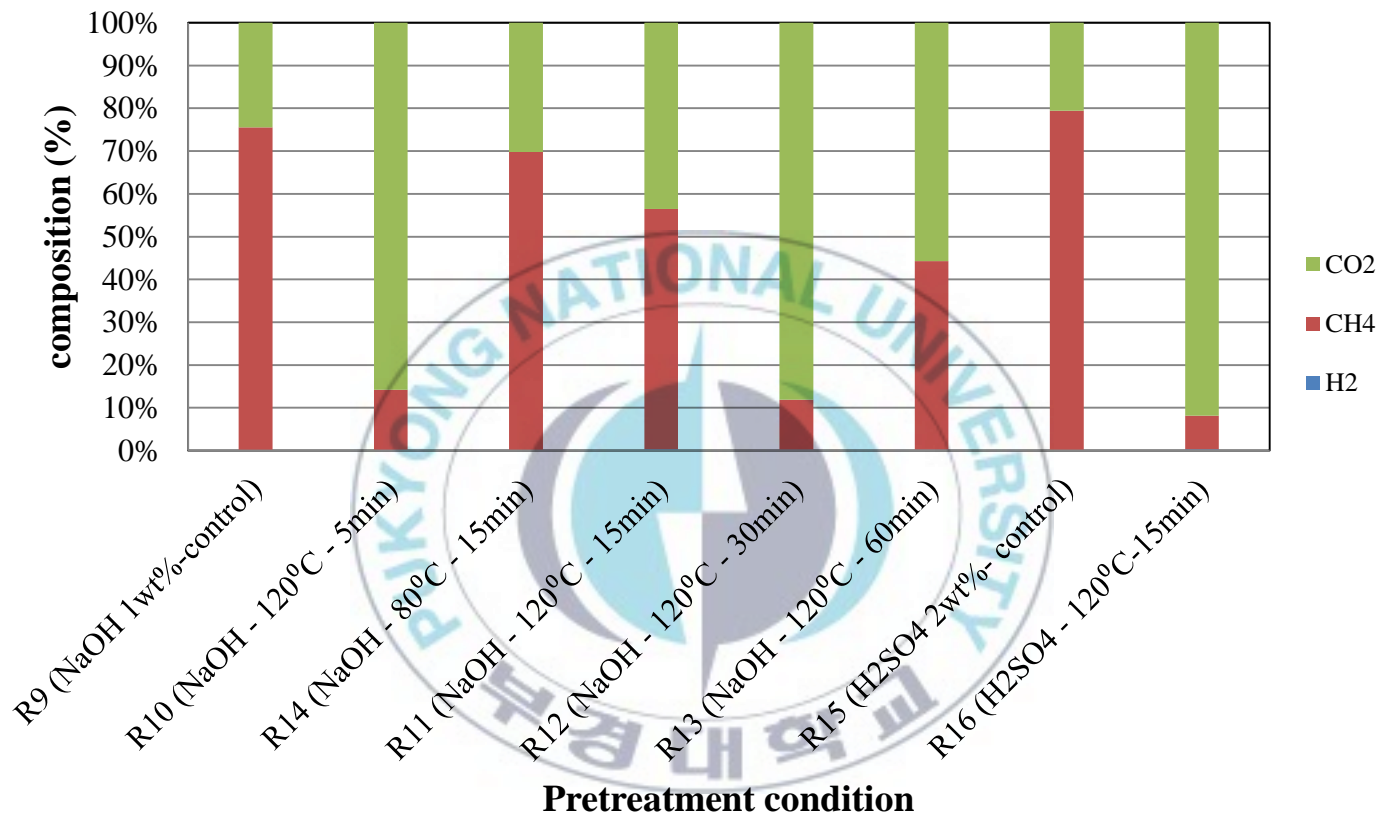
**Fig. 13.** CH<sub>4</sub> production of alginate with hydrothermal pretreatment.



**Fig. 14.** CH<sub>4</sub> production of alginate with alkali and acid pretreatment.



**Fig. 15.** Biogas composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 10th day.

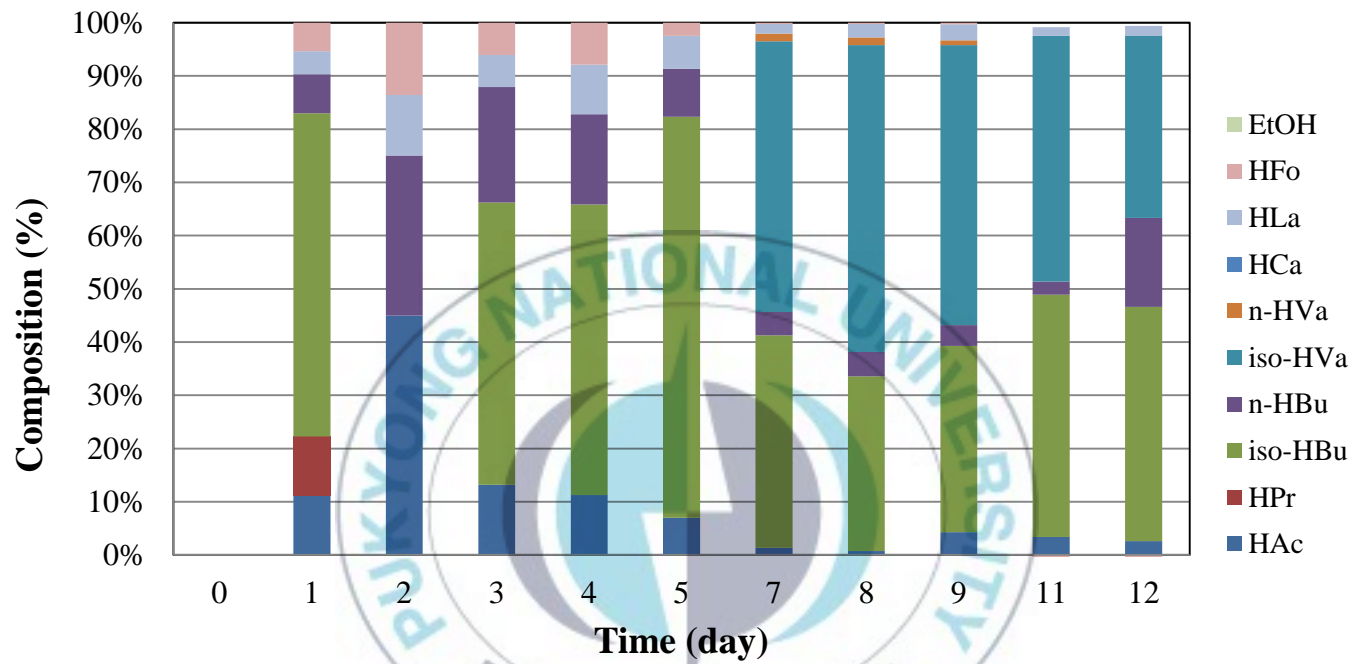


**Fig. 16.** Biogas composition of alginate with alkali and acid pretreatment at 10th day.

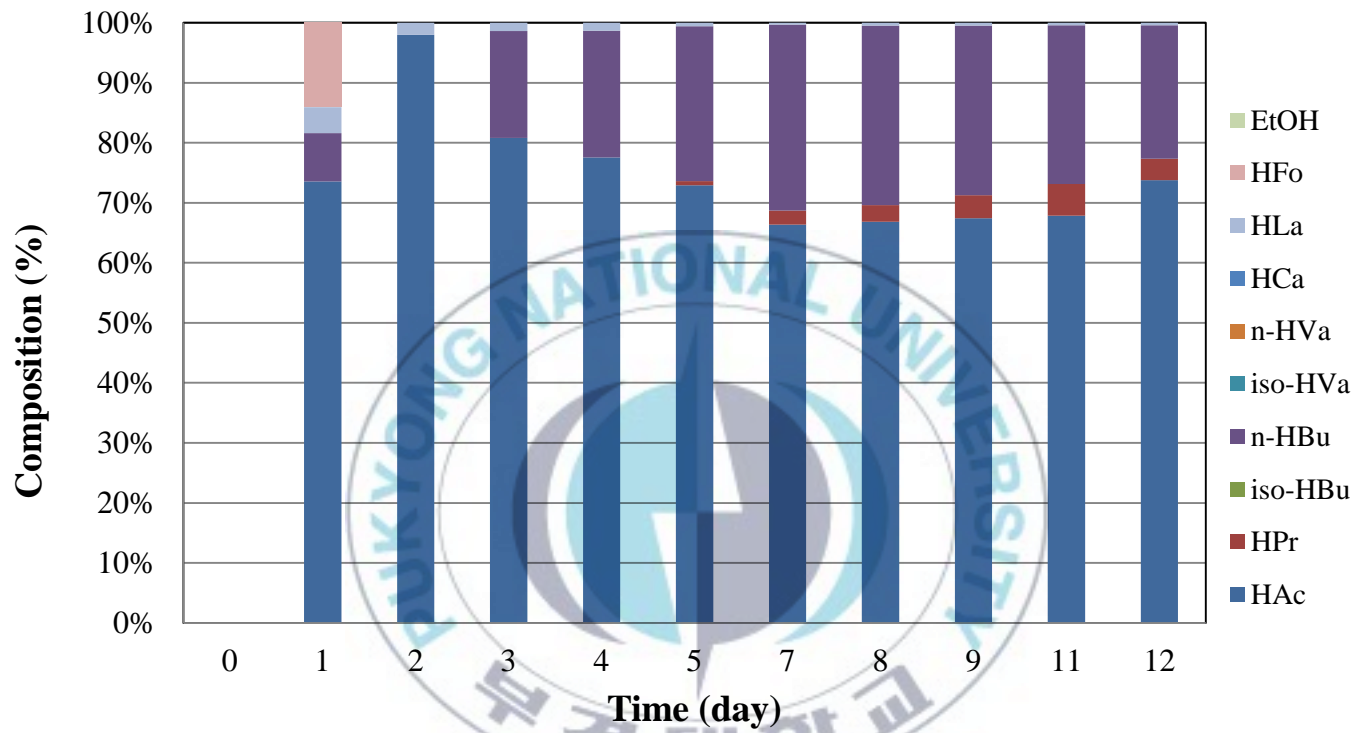
**Table 8.** TOC and COD conversion in CH<sub>4</sub> production of alginate in anaerobic digestion

		Pretreatment Condition		Molecular weight (Da)	Conc. (g/L)		Production CH <sub>4</sub>		Conversion (%)	
		Temp. (°C)	Time (min)		COD	TOC	ml	mol-C/L	COD	TOC
Hydrothermal	1	25	-	438,940	2.50	1.49	25.47	6.83E-03	20.6±0.8	6.6±0.3
	2	130	15	50,224	2.50	2.32	45.00	1.21E-02	36.5±0.3	7.5±0.3
	3	140	15	23,840	2.50	1.94	47.69	1.28E-02	38.6±1.2	9.5±0.3
	4	140	30	14,697	2.50	2.30	62.70	1.68E-02	50.8±1.2	10.5±0.0
	5	160	15	2,372	2.50	2.42	16.45	4.41E-03	13.3±0.2	2.6±0.1
	6	180	15	1,948	2.50	2.00	11.02	2.96E-03	8.9±0.3	2.1±0.0
	7	200	15	1,554	2.50	1.92	1.40	3.76E-04	1.1±0.0	0.3±0.0
	8	300	15	1,162	2.50	1.72	0.52	1.40E-04	0.4±0.0	0.1±0.0
Alkali	9	25	-	272,151	2.50	3.20	40.44	1.09E-02	32.8±0.1	4.9±0.1
	10	120	5	165,557	2.50	4.28	3.55	9.51E-04	2.9±0.3	0.3±0.0
	11	80	15	117,979	2.50	2.19	10.19	2.73E-03	8.3±0.1	1.8±0.1
	12	120	15	38,427	2.50	2.73	2.31	6.21E-04	1.9±0.2	0.3±0.0
	12	120	30	19,035	2.50	2.44	7.63	2.05E-03	6.2±0.4	1.2±0.0
	13	120	60	2,765	2.50	3.11	16.42	4.41E-03	13.3±0.7	2.0±0.1
Acid	15	25	-	1,892	2.50	1.35	36.16	9.70E-03	29.3±0.0	10.4±0.3
	16	120	15	2,140	2.50	0.80	0.93	2.51E-04	0.8±0.4	0.5±0.0

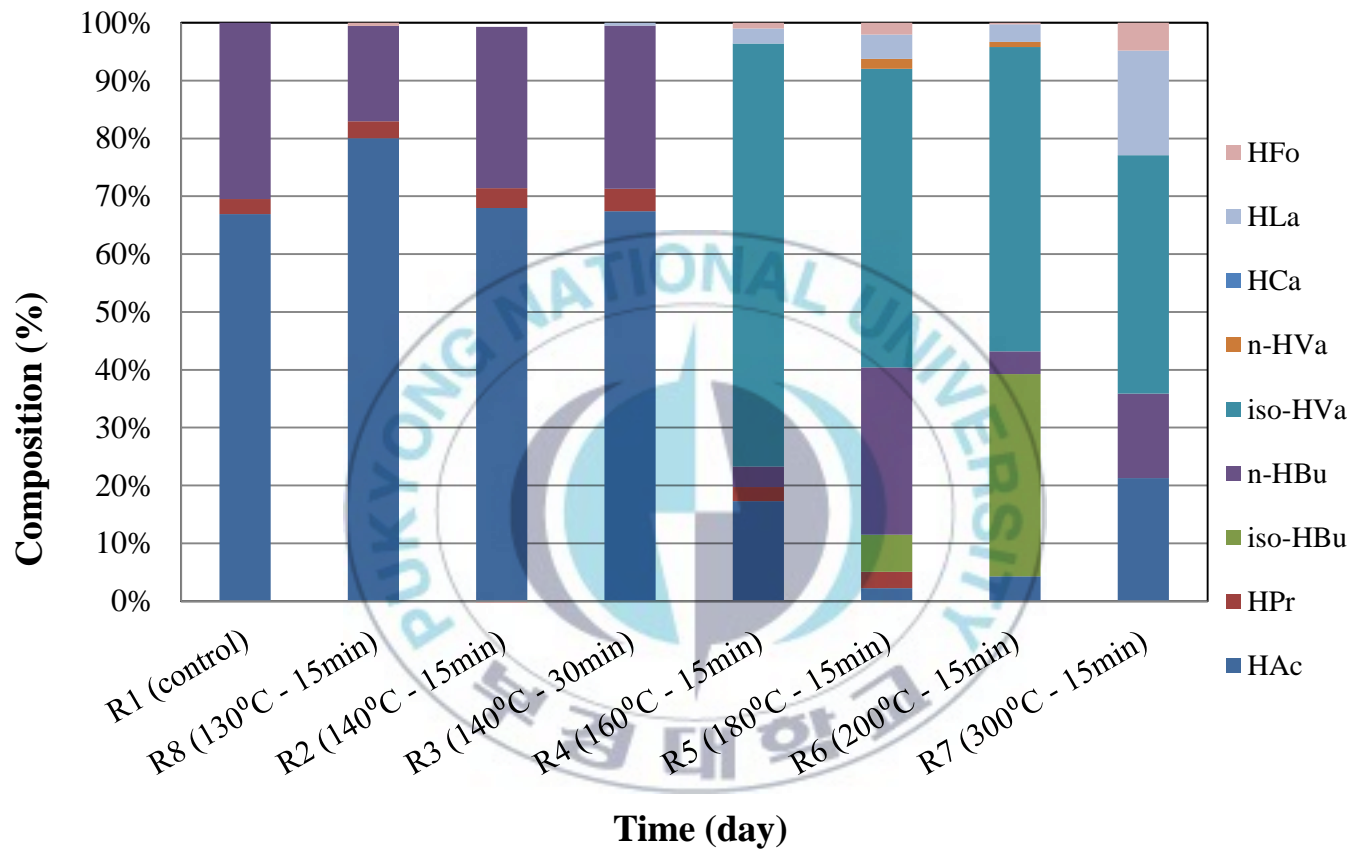




**Fig. 17.** VFAs composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 200 °C for 15min.



**Fig. 18.** VFAs composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 140 °C for 30 min.



**Fig. 19.** VFAs composition of alginate with hydrothermal pretreatment at 9th day.

## 4.5. 재현성 및 다시마 적용 실험

### 4.5.1. 다시마 및 알지네이트 혐기성 소화공정

재현성 확인을 위해 혐기성 발효공정에서 VFAs의 생산량이 가장 높았던 수열처리 200°C, 15 min 조건과 혐기성 소화공정에서 메탄 생성량이 가장 높았던 수열처리 140°C, 30 min 조건에서 재현성 실험을 진행하였다. 실험결과 다시마로 직접 혐기성공정을 진행시킨 VFAs 생성량이 알지네이트에서 생성된 량보다 약 20% 높은 값을 보였다. 그리고 혐기성 발효공정에서 재현성을 비교해본 결과 수열처리 140°C, 30 min 에서는 VFAs 전환율이 약 29.4±2.7%로 유사한 결과를 보였고, 수열처리 200°C, 15 min 에서는 91.0±0.8%, 63.5±1.1%로 비교적 큰 차이를 보였지만 전체적인 VFAs 조성은 iso-butyric, iso-valeric 이 주성분으로 유사한 결과를 보였다.

메탄 생성단계에서도 전 실험과 유사한 경향으로 수열처리 140°C, 30 min 과 200°C, 15 min 조건에서 각각 43.2±1.2%, 2.5±0.1%의 메탄 전환율을 보였다. 조성에서는 140°C, 30 min 조건에서는 메탄이 약 84%로 주성분으로 나타났고, 200°C, 15 min 조건에서는 메탄의 조성이 54%로 이산화탄소와 비슷한 생성량을 보였다. 이것은 전 실험에서 이산화탄소가 약 80%를 보인 결과와 비교해 차이가 있었다.

실제 다시마를 최대 VFAs 및 메탄 생성 조건을 적용해본 결과, 산 생성 단계에서는 수열처리 유무에 따라 산 생성 전환율이 각각 36.1±1.5, 37.8±0.5%로 비슷한 결과를 보였다. 메탄생성단계에서는 메탄 전환율이 전처리 하지 않은 것이 약 9.6~10.6% 높은 효율을 보였다.

1 단과 2 단 혐기성 소화공정을 비교했을 때 알지네이트의 경우 약 20 배 효율이 증가하였고, 다시마의 경우 약 1.5 배 증가하였다.

#### 4.5.2. 고찰

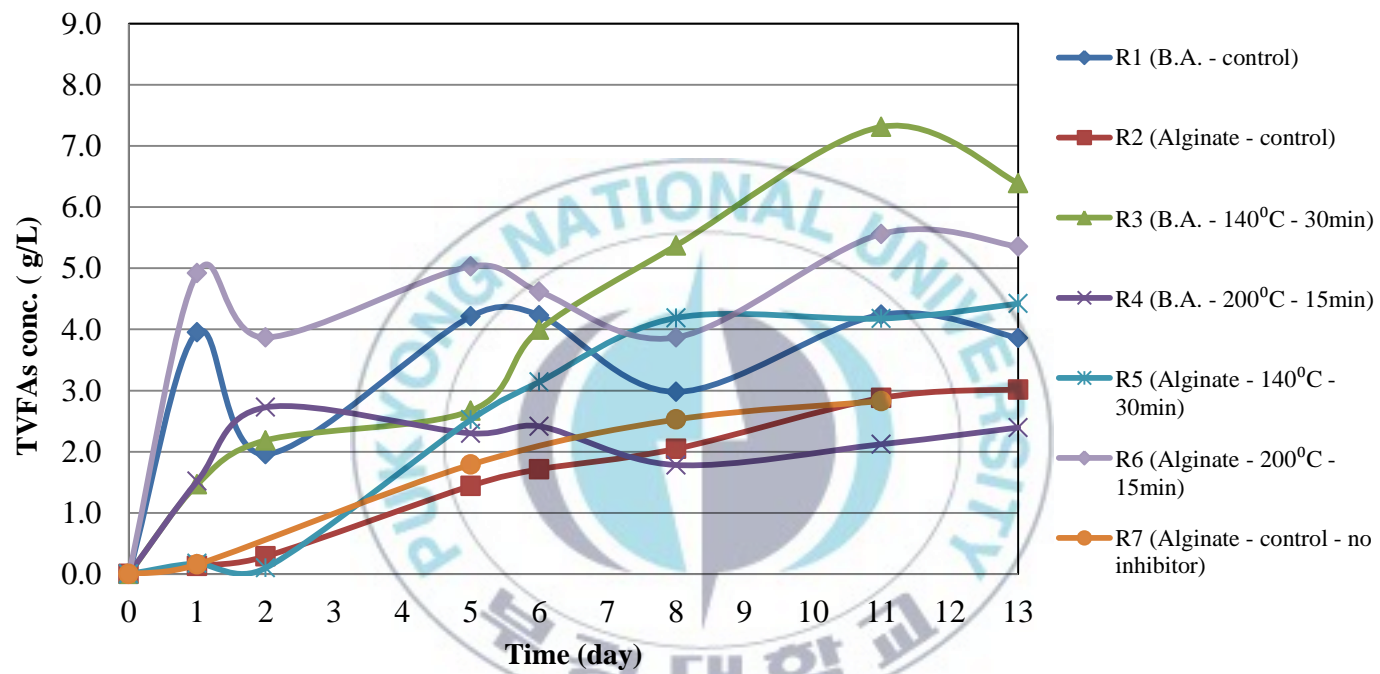
재현성 실험결과 유사성은 10% 이내로 나타났지만, 산 생성단계에서 200℃, 15 min 조건에서 최대 30% 의 차이를 보였다. 알지네이트의 경우 산 생성단계에서 200℃, 15 min 조건에서 64%의 산 전환율을 보였고 조성 또한 iso- 형태의 VFAs 가 주성분으로 나타났다. 메탄 생성단계에서는 140℃, 30 min 조건에서 43.2±1.2%의 전환율을 보였으며, 조성은 acetic acid 가 주성분으로 나타났다.

다시마의 경우 산 생성단계에서는 수열처리 유무에 따른 산 전환율을 비교했을 때, 오히려 수열처리 하지 않은 조건에서 37.8±0.5%의 전환율을 나타냈다. 이 결과로 다시마로부터 산 생성에 대한 수열처리 효과는 미비한 것으로 확인하였다. 메탄 생성단계에서도 역시 산 생성단계와 유사한 경향을 보였다. 오히려 전처리 안 한 조건에서 10% 더 높은 메탄 전환율을 보였다. 이 결과로 다시마에 대한 수열처리 효과는 없는 것으로 확인하였다.

2 단 혐기성 소화공정은 다시마 및 알지네이트에서 1 단 혐기성공정보다 높은 효율을 보였다. 다시마는 1.5 배, 알지네이트의 경우 20 배의 전환율의 증가를 확인하였다. 이 것으로 보아 2 단 고정은 다시마보다는 알지네이트에 적용하는 것이 보다 효율이 높은 것을 확인하였다.

**Table 9.** Experimental design of reproducibility test

Reactor	1	2	3	4	5	6	7
Substrate	<i>S.japonica</i>	Alginate	<i>S.japonica</i>		Alginate		
Pretreatment	-		Hydrothermal			-	
Temperature (°C)	25		140	200	140	200	25
Reaction Time (min)	-	-	30	15	30	15	-
Nutrient	Reagents (g/L): NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> (20), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (10), MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (0.1), NaCl (0.01), Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O (0.01), CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (0.01), MnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (0.015) and FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O (0.0388)						
concentration (g-COD/L)	10 g-COD /L						
Working Vol. (ml)	200						
Molecular weight (Da)	350	438940	1207	560	23965	1709	438940

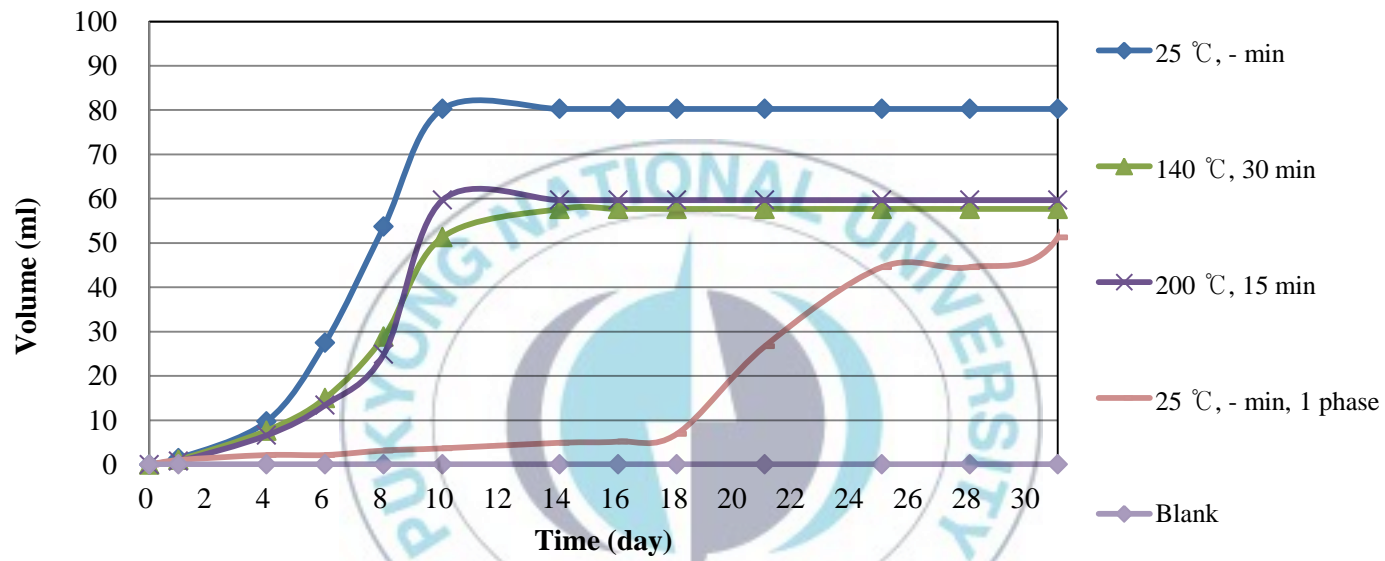


**Fig. 20.** Total VFAs production of algininate and *S. japonica* with hydrothermal pretreatment.

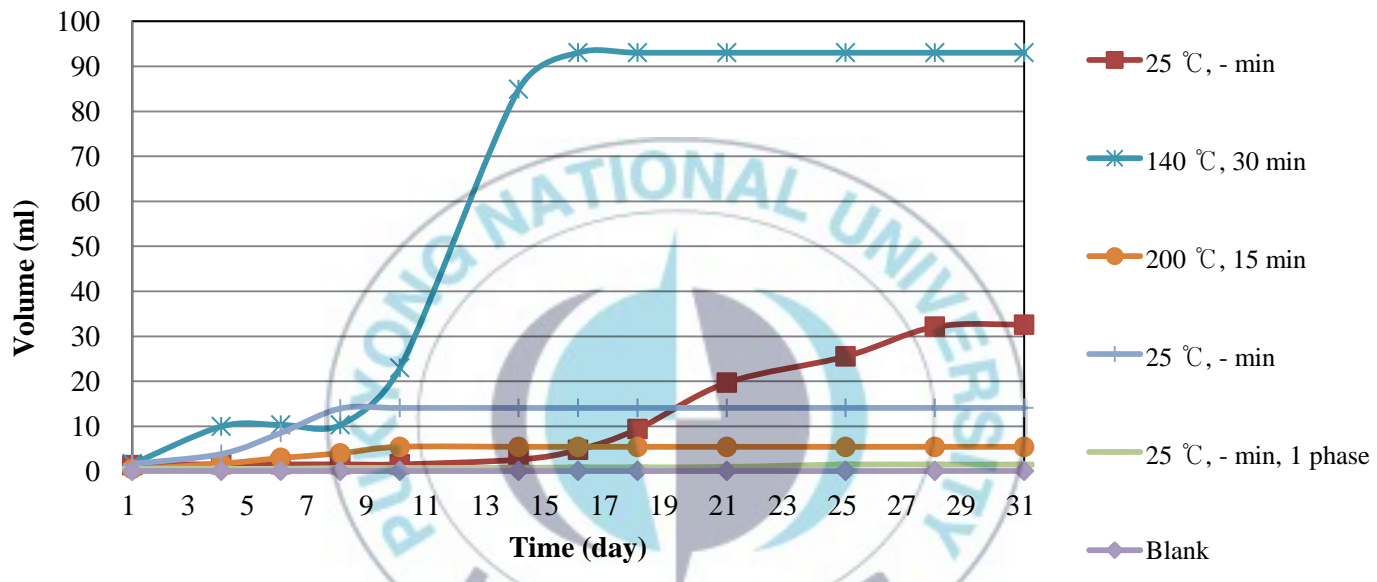


**Table 10.** TOC and COD conversion in VFAs production of alginate and *S. japonica* anaerobic fermentation

		Pretreatment Condition		Substrate	Initial TOC (g/L)	TOC (g/L)		Production VFAs		Conversion (%)
		Temp. (°C)	Time (min)			Initial	final	g/L	mol-C/L	
Hydrothermal	1	25	-	<i>S.Japonica</i>	4.95	4.95	3.37	4.24	0.16	37.8±0.5
	2	25	-	Alginate	7.01	7.01	4.64	2.88	0.11	18.2±0.8
	3	140	30	<i>S.Japonica</i>	5.12	5.12	4.28	3.10	0.13	29.5±1.1
	4	200	15	<i>S.Japonica</i>	4.24	4.24	3.39	2.12	0.13	36.1±1.5
	5	140	30	Alginate	6.63	6.63	4.37	4.18	0.16	29.0±0.2
	6	200	15	Alginate	4.79	4.79	4.22	5.56	0.25	63.5±1.1
	7	25	-	Alginate(No inhibitor)	7.19	7.19	6.25	2.57	0.09	15.2±0.4



**Fig. 21.** CH<sub>4</sub> production of *S. japonica* with hydrothermal pretreatment.



**Fig. 22.** CH<sub>4</sub> production of alginate with hydrothermal pretreatment.

**Table 11.** TOC and COD conversion in CH<sub>4</sub> production of alginate and *S. japonica* in anaerobic digestion

		Pretreatment Condition		Substrate	COD (g/L)	TOC (g/L)	Production CH <sub>4</sub>		Conversion (%)	
		Temp. (°C)	Time (min)				ml	mol-C/L	COD	TOC
2 phase	1	25	-	<i>S.Japonica</i>	4.00	2.17	80.26	2.15E-02	37.3±1.4	14.3±0.1
	2	25	-	Alginate	4.00	3.93	32.53	8.73E-03	15.1±0.6	3.2±0.0
	3	140	30	<i>S.Japonica</i>	4.00	2.92	57.59	1.55E-02	26.7±0.5	7.6±0.0
	4	200	15	<i>S.Japonica</i>	4.00	2.49	59.68	1.60E-02	27.7±1.1	9.2±0.0
	5	140	30	Alginate	4.00	2.77	93.03	2.50E-02	43.2±1.2	13.0±0.0
	6	200	15	Alginate	4.00	3.51	5.44	1.46E-03	2.5±0.1	0.6±0.0
	7	25	-	Alginate(No inhibitor)	4.00	3.57	14.10	3.78E-03	14.0±0.2	1.5±0.0
1 phase	8	25	-	<i>S.Japonica</i>	4.00	3.05	51.26	1.38E-02	23.8±0.5	6.5±0.0
	9	25	-	Alginate	4.00	4.31	1.50	4.04E-04	0.7±0.0	0.1±0.0
-	10	Blank			-	1.00	0.08	2.17E-05	0.0±0.1	0.0±0.0

## 5. 결론

수열처리 25~ 300°C 조건에서 온도가 증가할 수록 알지네이트의 분해도가 430,000 Da에서 1,200 Da으로 감소하였고, 알칼리 처리 25~ 120°C 범에서는 270,000 Da에서 2,700 Da으로 감소하였다. 그리고 산 처리 25~ 120°C 에서는 온도와는 상관없이 2,000 Da 으로 분해되었다. 대체로 온도가 증가 할수록 분해도는 증가하였고 수열처리 보다 산 및 알칼리 처리의 분해 효율이 높았다.

분해도에 따른 VFAs 생성은 반응온도 25~200°C 범위에서는 분해도가 증가할 수록 산 전환율이 91.0±0.8%까지 증가하지만 300°C 에서는 23.8±0.8%로 급격히 감소 하였다. 최대 산 전환율 조건은 수열처리 200°C, 15 min 에서 91.0±0.8% 이다. 산 및 알칼리 전처리에서는 분해도가 높아도 유기산으로 전환율은 최대 7.6~53.8%로 수열처리 산 전환율에 비해 낮게 나타났다.

메탄 생성단계에서는 VFAs량 보다는 Acetic acid의 조성이 높은 조건인 수열처리 140°C, 30 min 에서 가장 높은 50.8±1.2%의 값을 보였다. VFAs의 생성량이 높은 조건인 200°C, 15 min에서는 1.1±0.0%로 급격히 감소하였다.

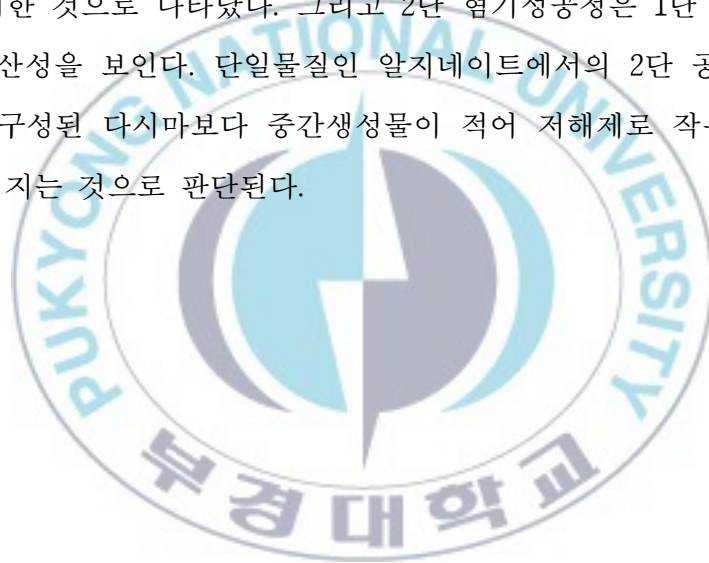
산 및 알칼리 전처리에서는 acetic acid의 조성이 높은 상온 (25°C, - min)의 전처리 조건에서 각각 29.3±0.0, 32.8±0.1%로 가장 높은 메탄 전환율을 보였다.

가스 조성은 수열처리 경우 25~140°C 범위의 조건에서는 메탄이 60~85%으로 주성분이 이었지만 그 이상의 온도 160~300°C 범위에서는 이산화탄소가 45~90% 로 주성분으로 나타났다.

세 가지 전처리 조건을 비교하면, 수열처리가 다른 산 및 알칼리 처리보다

산 생성 단계에서는 약 38~72% 효율이 높고, 메탄생성단계에서는 약 18~21% 효율이 높게 나타났다. 가수분해도가 높아 산 생성효율이 증가하더라도 메탄 생성균이 직접사용 가능한 acetic acid의 생성량이 낮으면 VFAs 량이 많더라도 메탄 전환효율은 낮다. 그러므로 VFAs 량보다 acetic acid의 조성에 대한 효과가 더 크다.

다시마에 수열처리를 적용해본 결과 원시료에서 산 생성단계 및 메탄 생성 단계에서 최대 전환율이 각각  $37.8\pm 0.5$ ,  $37.3\pm 1.4\%$ 를 보였고 수열처리에 대한 효과가 미비한 것으로 나타났다. 그리고 2단 혐기성공정은 1단 공정보다 1.5 배 높은 생산성을 보인다. 단일물질인 알지네이트에서의 2단 공정이 복합적인 물질로 구성된 다시마보다 중간생성물이 적어 저해제로 작용될 수 있는 물질도 적어지는 것으로 판단된다.



## 6. 참고문헌

1. Chang, H.N., et al., "Biomass-derived volatile fatty acid platform for fuels and chemicals". *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **15**(1), p. 1-10 (2010).
2. S. J. Horn, "Bioenergy from brown seaweeds", Norwegian University and Technology NTNU(2000)
3. J. Kim, C. Park, T. H. Kim, M. Lee, S. Kim, S. W. Kim, J. Lee, "Effects of various pretreatment for enhance anaerobic digestion with waste activated sludge", *Biosci. Bioeng*, **95**, 1-275(2003)
4. Z. Knezevic, D. S. Mavinic, B. C. Anderson, "Pilot scale evaluation of anaerobic codigestion of primary and pretreatment waste activated sludge", *Water Environ. Res.*, **67**, 835-841(1995)
5. Gujer W., Zehnder AJ., *Wat. Sci. Technol.* 15-127 (1983).
6. Kaspar HF., Wuhrmann K., *Appl. Envir. Microbiol.*, 36-1 (1978).
7. Lettinga G., de Zeeuw W., Ouborg E. *Wat. Res.* (15) 171-182 (1981).
8. Lehninger A., *Biochemistry.*, Worth Publishers Inc, New York, p 417-544 164 (1975).
9. Novak JT., Carlson DA., *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 42-1363 (1997)
10. Powell GE., Hilton MG., Archer DB. & Kirsop BH. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 33B-209 (1983).
11. K. Manivannan, G. Thirumaran, G. Karthikai Devi, A. Hemalatha, P. Anantharaman, "Biochemical Composition of Seaweeds from Mandapam Coastal Regions along Southeast Coast of India", *American-Eurasian Journal of Botany*, **1** (2), pp. 32-37 (2008)
12. K. A. Jung, S. R Lim, Y. Kim, J. M. Park, "Potential of macroalgae as feedstocks for biorefinery", *Bioresource Technol.* **135**, pp. 182-190 (2013)
13. P. N. Hobosn, B. G. SHAW, "The bacterial population of piggery waste anaerobic digesters", *Water Res.*, **8**, 507-516 (1974)



14. R. Arnaud, P. Dabin, J. Lemiare, S. A. Malaika, S. Choham, M. Coker, G. Scott, A. Fauve, A. Maaroufi, “Photooxidation and biodegradation of commercial photodegradable polyethylenes”, *Polymer Degradation and stability*, **46**, 211-224 (1994)
15. J. H. Park, J. J. Yoon, H. D. Park, D. J. Lim, S. H. Kim, “Anaerobic digestibility of algal bioethanol residue”, *Bioresource Technology*, **113**, 78-82 (2012)
16. T. M. Aida a, T. Yamagata, M. Watanabe, R. L. Smith Jr., “Depolymerization of sodium alginate under hydrothermal conditions”, *Carbohydrate Polymers*, **80**, pp.296–302 (2010)
17. A.T.W.M Hendriks, G. Zeema, “Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass”, *Bioresource Technol.*, **100**, pp.10-18(2009)
18. M. FUENTES, N. J. SCENNA, P. A. AGUIRRE, M.C. MUSSATI, “ANAEROBIC DIGESTION OF CARBOHYDRATE AND PROTEINBASED WASTEWATERS IN FLUIDIZED BED BIOREACTORS”, *Latin American Applied Research*, **37**, pp.235-242 (2007)
19. H. N. Gavala, B. K. Ahring, “Inhibition of anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonates”, *Biodegradation*, **13**, 201-209 (2002)
20. H. N. Gavala, B. K. Ahring, “Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonate”, *Biodegradation*, **13**, 201-209(2002)
21. I. W. Koster, A. Cramer, “Inhibition of Methanogenesis from Acetate in Granular Sludge by Long-Chain Fatty Acids”, *Applied and Environmental Microbiology.*, **53**, 403-409(1987)
22. Z. A. Kassam., L. Yerushalmi., S. Guito. *Water, Air, and Soil Pollution* **143**, 179-192 (2003).
23. C. S. Jones, S. P. Mayfield, “Algae biofuels: versatility for the future of bioenergy”, *Current Optional in Biotechnology*, **23**, 346-351 (2012)
24. G. Jard, D. Jackowiak, H. Carrere, J. P. Delgenes, M. Torrijos, J. P. Steyer, C. Dumas, “Batch and semi-continuous anaerobic digestion of *Palmaria palmata*:

- Comparison with *Saccharina latissima* and inhibition studies”, *Chem. Eng.*, **209**, pp.513-519 (2012)
25. K. W. Jung, D. H. Kim, H. S. Shin, “Fermentation hydrogen production from *Laminaria japonica* and optimization of thermal pretreatment conditions”, *Bioresource Technol.*, **102**, 2745-2750 (2011)
26. M. J. McInerney, M. P. Bryant, N. Plennig, “Anaerobic Bacterium that Degrades Fatty Acids in Syntrophic Association with Methanogens”, *Arch. Microbiol.*, **22**, 122-129 (1979)
27. C. A. Mazzarri, F. K. Agbogbo, M. T. Holtzapple, “Conversion of municipal solid waste to carboxylic acids using a mixed culture of mesophilic microorganisms”, *Bioresource Technol.*, **97**, pp. 47–56 (2006)
28. A. Klapwijk, H. Smit, A. Moore, “Denitrification of domestic wastewater in an Upflow sludge blanket reactor without carrier material for the biomass”, Ellis Horwood, Chichester, p205 (1981)
29. P. Kumar, D. M. Barrett, M. J. Delwiche, P. Stroeve, “Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **48**, 3713-3729 (2009).
30. F.P. Di Sanzo, “Determination of Oxygenates in Gasoline Range Hydrocarbons by Capillary Column Gas Chromatography: A User's Experience with an Oxygen-Specific Detector (OFID)”, *Oxford Journals Mathematics & Physical Sciences Journal of Chromatographic Science*, **28**, pp. 73-75 (1989)
31. S. Zhu, Y. Wu, J. Liao, Y. Zhang, “Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis”, *Process Biochemistry*, **40**, 3082-3086 (2005)
32. C. Woodward, P. S. Brewer, and F. Moatamed, “The intracellular degradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)”, *Journal of Biomedical Materials Research*, **19**, 437-444(1985)