

폐활성 슬러지로부터 생물학적 수소 생산을 위한 최적 조건 연구

김동건^{*,**} · 이윤지^{*,**} · 유명진^{**} · 박대원^{***} · 김미선^{****} · 상병인^{†*}

*한국과학기술연구원 유해물질연구센터 · **서울시립대학교 환경공학과

서울산업대학교 에너지환경대학원 · *한국에너지기술연구원 바이오매스연구센터

(2005년 9월 6일 접수, 2006년 3월 9일 채택)

Investigation of the Optimum Operational Condition of Bio-Hydrogen Production from Waste Activated Sludge

Dong-Kun Kim^{*,**} · Yun-Jie Lee^{*,**} · Myong-Jin Yu^{**} · Dae-Won Pak^{***} · Mi-Sun Kim^{****} · Byoung-In Sang^{†*}

**Hazardous Substances Research Center, Korea Institute Science and Technology*

***Department of Environmental Engineering, University of Seoul*

****The Graduate School of Energy & Environment, Seoul National University of Technology*

*****Biomass Research Center, Korea Institute of Energy Research*

ABSTRACT : Waste activated sludge(WAS) collected from domestic wastewater treatment plant is biomass that contains large quantities of organic matter. However, relevant literature show that the bio-hydrogen yield using WAS was too low. In this study, the effect of pre-treatment of WAS on hydrogen yield was investigated. Pretreatment includes acid and alkali treatments, grinding, heating, ozone and ultrasound methods. After pretreatment organic matters of WAS were solubilized and soluble chemical oxygen demand(SCOD) was increased by 14.6 times. Batch experiments were conducted to investigate the effects of pre-treatment methods and buffer solution, hydrogen partial pressure, and sodium ion on hydrogen production from WAS by using heated anaerobic mixed cultures. Experimental results showed that addition of buffer solution, efficient pre-treatment method with alkali solution, and gas sparging condition markedly increased the hydrogen yield to 0.52 mmol H₂/g-DS.

Key Words : Waste Activated Sludge, Bio-Hydrogen Production, Heated Anaerobic Mixed, Cultures Pretreatment Method

요약 : 도시 하수처리장에서 수집되는 폐활성 슬러지는 유기성 물질을 다량 함유하고 있는 바이오매스이다. 하지만, 대부분의 연구 결과 폐활성 슬러지를 이용한 생물학적 수소생산율은 매우 낮다고 보고되고 있다. 본 연구에서는 폐활성 슬러지를 산, 알칼리 처리, 기계적 처리, 열처리, 오존 처리, 초음파 처리 등의 전처리에 대한 효과를 살펴보았다. 전처리 실험결과, 폐활성 슬러지 내의 유기물질들은 가용화되었으며 SCOD_c값으로 약 14.6배의 증가를 보였다. 열처리된 혐기성 슬러지를 이용하여 폐활성 슬러지로부터 최적의 생물학적 수소생산율을 위한 실험은 전처리 방법에 대한 효과 및 완충용액의 효과, 수소분압, 그리고 염소이온의 농도 등에 대하여 회분식 조건에서 살펴보았다. 실험결과 효과적인 전처리 방법 및 완충용액의 첨가, gas sparging 등의 방법에 의한 낮은 수소분압인 경우에 수소생산율이 0.52 mmol H₂/g-DS(Dried Solids)로 크게 증가함을 확인하였다.

주제어 : 폐활성 슬러지, 생물학적 수소생산, 열처리된 혐기성 슬러지, 전처리 방법

1. 서론

최근 도시하수처리장을 운전하는데 있어 직면하게 되는 가장 큰 문제 중 하나는 폐활성 슬러지의 처리 및 처분이며, 이에 대한 비용은 하수처리장 전체 운전비용의 약 50% 이상을 차지하고 있는 것으로 보고되고 있다.¹⁾ 국내의 경우 폐활성 슬러지의 최종처분은 대부분 육상매립과 해양배출 방법에 의존하였으나, 현재 육상 매립이 전면적으로 금지되어 있는 상황이며, 아울러 런던협약 이후 국제적으로 금지되기 시작한

해양배출에 대한 규제가 점차적으로 강화되는 것으로 예상된다. 이러한 현실을 감안할 때 이제는 폐활성 슬러지를 폐기물로 간주하기 보다는 자원으로 재이용이 가능한 상품으로 인식하고, 슬러지 자원화와 더불어 효과적인 감량화를 위한 처리·처분기술의 개발이 시급한 실정이다. 최근에 폐활성 슬러지의 감량화 및 자원화를 위하여 다양한 전처리 기술과 재이용 방법이 제안되고 있으며, 폐활성 슬러지는 유기물을 다량 함유하고 있어 외국에서는 폐기물이 아닌 자원으로 인식하여 “biosolids”로 칭하기도 한다.²⁾

수소는 청정하고, 재생가능하며, 122 KJ/g의 높은 에너지 효율로 인하여 기존의 주요 에너지원인 화석 연료를 대체할 수 있는 에너지로서 그 중요성이 인식되고 있다. 또한 지구

† Corresponding author

E-mail: biosang@kist.re.kr

Tel: 02-958-6751

Fax: 02-958-6858

온난화와 여러 가지 환경문제를 근본적으로 해결할 수 있는 청정에너지로 각광받고 있다. 최근 수소 생산은 화석연료, 바이오메스, 그리고 화학적 또는 생물학적 공정을 통해 생산할 수 있는데, 그중에서 생물학적 수소생산 공정은 폐기물의 감량화와 함께 에너지의 생산이라는 점에서 매우 경제적이면서 이상적인 방법이라 할 수 있다.³⁾ 이러한 생물학적 수소생산 공정에 대한 인자로는 사용되는 기질의 종류 및 농도, pH, 온도, 수소의 분압, 바이오가스의 순환, 수리학적 체류시간(HRT) 등의 여러 인자와 관련이 있으며, 이러한 인자들을 적절히 조절함으로써 최대 수소생산율을 얻을 수 있다.^{4~7)} 특히 혐기성 반응 경로에서 발생한 수소가 메탄 생성 반응을 통하여 빠르게 다시 소모되기 때문에 메탄생성 반응을 막는 것이 매우 중요한데, 이러한 방법으로 짧은 고형물 체류시간(SRT) 또는 약산 생성을 통한 pH조절과 높은 유기물 부하에 의하여 메탄 생성 반응을 막을 수 있다고 보고되었다.⁸⁾

최근 Huang(2000)⁹⁾과 Wang(2003a, b)^{10,11)} 등은 폐활성 슬러지와 같은 고형 폐기물을 이용하여 생물학적 수소생산에 관한 연구를 진행 중에 있으나, 전처리, 환경에 의한 오염 등으로 메탄가스의 생성, 낮은 수소생산율 등 여러 가지 문제점이 있다고 보고 하였다.¹²⁾

따라서 본 연구에서는 최근 휘발성 유기물을 40% 이상 함유한 유기성 오염물의 적매립이 전면 금지되고, 해양투기 또한 전 세계적으로 금지되어 있어 새로운 처리방안 수립이 시급한 폐활성 슬러지를 대상으로 폐기물의 처리 방안 확립과 동시에 새로운 대체에너지인 수소를 생물학적으로 생산하기 위하여 회분식 실험을 통하여 최적의 생물학적 수소생산 조건을 도출하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 기질로 사용된 폐활성 슬러지의 제조

실험에 사용된 폐활성 슬러지는 J 하수처리장 2차 침전지의 반송슬러지를 이용하였으며, 필요에 따라 임의로 채취하여 사용하였다. 또한 실험에 사용된 폐활성 슬러지의 농도는 샘플링 후 1일 동안 증력 농축을 실시한 후, 원심분리기를 이용하여 슬러지의 농도를 조절하였으며, 슬러지의 성상은 다음 Table 1과 같다.

2.2. 폐활성 슬러지의 전처리 방법

(1) 산, 알칼리 처리 : 산처리의 경우 pH를 2로, 알칼리 처리인 경우에는 pH 12로 5 N HCl과 5 N KOH를 이용하여 각각 조절한 후 상온에서 12 h 교반하여 사용하였다.

(2) Grinding : 흙이 파져있는 삼각 플라스크에 glass bead를 10% 정도 채운 후 300rpm, 35℃로 고정된 shaking incubator에서 12 h 강하게 교반하여 파쇄되도록 하였다.

Table 1. Composition of waste activated sludge

	pH	VSS/TSS (mg/L)	SCOD _{Cr} (mg/L)	Component(%)				
				C	H	O	N	S
Activated sludge	7.3	6,700/8,400	250	41	7	23	8	1

(3) 열처리 : 삼각 플라스크에 슬러지를 담고 교반과 가열을 실시한 후 끓기 시작한 시점을 기준으로 20분간 가열하였다.

(4) Ultrasound : ① Sonication(Model 200 sonic dismembrator, Dinattech Laboratories, Inc, USA)은 60 kHz로 고정된 후 cell beaker를 이용하여 실시하였다. 폐활성 슬러지는 500 mL 비이커에 채운 후, ultrasonic probe가 비이커 바닥에서 약 2 cm가 떨어지도록 하여 30분간 수행하였다.

(5) Ozone : 오존 발생기(Model G24, Pacific Ozone Technology, USA)를 이용하여 회분식 반응형태로 20.5 g O₃/h의 농도로 오존을 30분간 주입하였다.

2.3. 회분식 실험 방법

실험 방법은 총 용적이 1,250 mL인 갈색병에 폐활성 슬러지를 540 mL를 취하고, 완충용액 유·무에 대한 영향을 파악할 때는 완충용액 350 mL 또는 증류수 350 mL를, 그리고 식종 미생물로는 J 하수처리장의 혐기성 소화조에서 인출한 슬러지를 Hawkes(2002)¹³⁾와 Lay(2000)¹⁴⁾ 등이 제시한 방법을 이용하여 열에 약한 메탄생성균을 사멸시키고, 포자를 생성하는 수소 생산균만 남도록 100℃에서 20분간 가열한 후 110 mL 첨가하여 첨가한 용액의 총 부피가 1 L가 되도록 하였다. 혐기성 조건을 위하여 20분 이상 argon gas를 이용하여 탈기를 충분히 실시한 후 실리콘 마개로 밀봉하였다. 이때 head space는 250 mL이었다. 위와 같은 방법으로 준비된 각 시료는 35 ℃, 150 rpm으로 고정된 shaking incubator에서 배양하였다.

최적의 수소생산에 대하여 전처리 방법에 대한 영향 및 완충 용액의 영향(phosphate buffer solution 첨가 유·무), gas sparging의 영향(argon gas의 sparging 유·무), 기타 Cl⁻ 이온의 영향 등으로 나누어 실험하였다. 사용된 완충 용액은 phosphate buffer를 이용하였으며, K₂HPO₄와 KH₂PO₄를 각각 1 M로 조제한 후 초기 pH 5.5와 같도록 두 시약을 혼합하여 제조한 후 첨가하였다. gas sparging의 영향의 경우에는 일정한 주기로 샘플링을 실시한 후 head space내에 고농도의 수소분압이 잔존하지 않도록 argon gas를 이용하여 제거하였다. 본 실험의 경우에는 초기 pH를 5.5로 조절한 후 실험을 실시하였다.

2.4. 분석 및 결과해석

사용된 폐활성 슬러지의 분석은 Standard Method¹⁵⁾와 수질오염 공정 시험법¹⁶⁾에 준하여 실험하였다. 생산 가스량은 Owen(1979) 등이 제시한 방법에 따라 gas syringe를 이용하여 측정하였다.¹⁷⁾ 가스 분석은 GC(Hewlett Packard 5880A, USA)를 이용하였으며 칼럼은 Porapak Q(Supelco, Inc, 6ft*1/8in, SS, 80/100 mes)를 이용하였고, 분석조건은 오븐 50℃, 인젝터 80℃ 그리고 검출기의 온도를 110℃로 하였다.

회분식 수소생산에 대한 실험에서 가스 발생량을 모니터링 하는 것은 매우 중요하다. 또한 생물학적 공정에서 수소생산 미생물의 활성도는 수소생산량과 수소생산율을 이용하여 평가할 수 있다. 이러한 값은 Fig. 1과 같이 Modified Gompertz

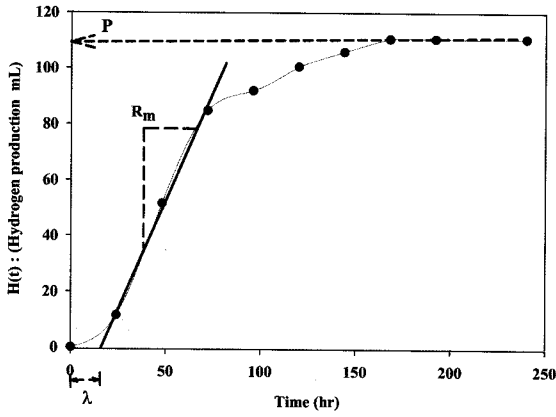


Fig. 1. Typical cumulative hydrogen production curve fitted by the Modified Gompertz equation.

Equation(식 (1))을 이용하여 수소생산 잠재성과 최대 수소 생산율을 구할 수 있다.¹⁸⁾

$$H(t) = P \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_m e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

- 여기서, H(t)는 누적된 수소량(mL)
- P는 수소생산 잠재량(mL)
- R_m은 최대 수소 생산율(mL/h)
- e는 2.71828
- λ는 lag-phase 시간(h)
- t는 시간(h)

3. 결과 및 고찰

3.1. 전처리 방법에 따른 가용화 정도

산(pH 2) 및 알카리 처리(pH 12), 기계적 분쇄(Grinding), 열처리(Heating), 오존처리, 초음파처리 등과 같은 여러 가지 전처리 방법으로 슬러지를 처리한 후 전처리 정도에 대한 평가를 전처리 전·후의 SCOD_{Cr} 및 VSS를 분석하여 다음 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다. 전처리를 하지 않은 폐활성 슬러지의 상등수 SCOD_{Cr} 값은 250 mg/L(SCOD₀), VSS의 농도는 6,680 mg/L이었으며, 전처리를 한 경우(SCOD_i) SCOD_{Cr} 각각에 대한 증가율은 알카리 처리가 초기 SCOD₀ 값의 약 14.6배, 산과 grind 병합처리가 12.7배, grind가 11.7배 순서로 높은 가용화를 보였다. 이러한 결과는 유기성 고형물의 값이라 할 수 있는 VSS의 값으로도 유사한 가용화 경향을 확인할 수 있었다. 전처리를 하지 않은 VSS₀ 값과 전처리 후의 VSS_i 값의 분율을 살펴보면, SCOD_{Cr}의 증가율이 낮은 전처리 방법일수록 VSS의 변화는 거의 없었으며 알카리 처리의 경우 약 30%의 고형물이 제거되어 효율적인 가용화(solubilization)가 이루어 졌음을 확인하였다.

따라서 알카리 처리가 가장 효과적인 가용화 방법이며, 고형물이 가용화됨으로써 SCOD_{Cr}의 증가 및 VSS 감소로 나타남을 확인하였다.

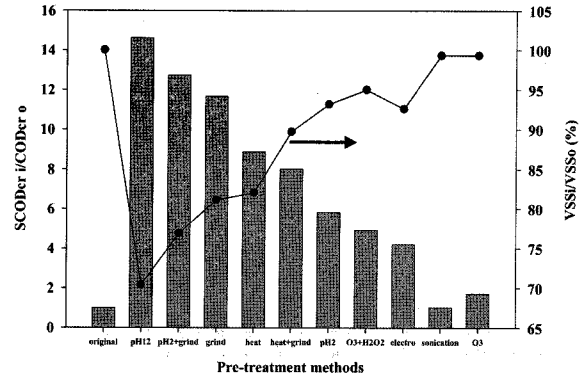
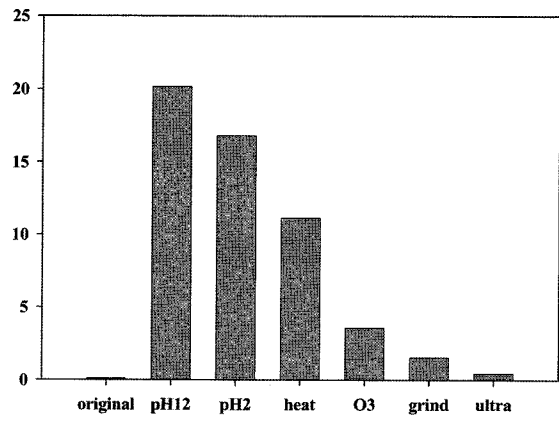


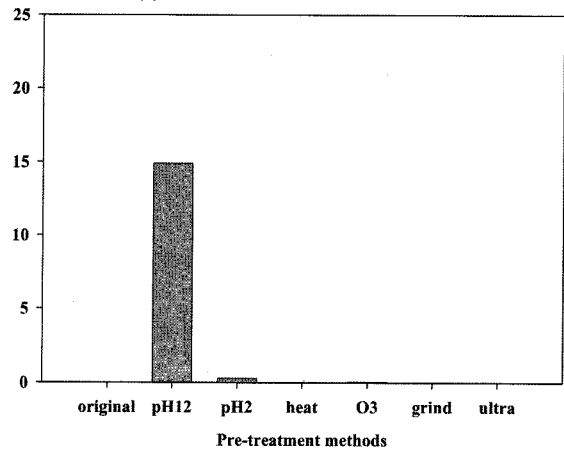
Fig. 2. Degree of pre-treatment conditions on SCOD_{Cr} and VSS. COD_{Cr} and VSS₀: Non-treatment, COD_{Cr} and VSS_i: After pre-treatment

3.2. 전처리 방법 및 완충용액에 따른 수소생산

다양한 방법으로 전처리된 슬러지를 대상으로 초기 pH 5.5에서 완충용액에 대한 영향을 파악하기 위한 실험 결과, Fig. 3(a)에서와 같이 전처리 방법에 따라 최대 수소발생량에 많은 차이를 보였다. 이러한 경향은 Fig. 2의 경향과 유사하게 가용화된 유기물의 농도가 높을수록 발생하는 수소의 양이 높아짐을 확인하였다. 즉 최적의 전처리 방법(알카리 처리)으



(a) Addition of buffer solution



(b) Non-buffer solution

Fig. 3. Effects of buffer solution on hydrogen production.

로 가용화된 유기물이 생물학적 수소생산의 유기물로 효과적으로 사용됨으로써 0.45 mmol H₂/g-dried solids의 높은 수소 발생율을 얻을 수 있었다. 또한 완충용액을 첨가하지 않은 결과인 Fig. 3(b)와 같이 알칼리 처리를 제외하고는 다른 전처리 방법에서는 최대 수소발생량의 값은 매우 적거나 전혀 발생하지 않았으며, 완충용액을 첨가한 경우인 (a)와 비교할 때 매우 적은 수소의 발생량을 보였다. 따라서 폐활성 슬러지를 기질로 이용한 생물학적 수소생산의 경우에는 적절한 전처리를 통한 유기물의 가용화가 매우 중요하며, 완충용액의 첨가를 통한 적정 pH의 유지는 다양한 조건에서의 수소 발생을 가능하게 하며 발생량의 증가도 가능하게 한다는 것을 확인하였다.

3.3. Gas sparging 에 대한 수소생산의 효과

생성된 수소 분압에 의한 수소 생산율의 변화를 살펴보기 위하여 각 샘플링 주기별로 argon gas를 이용하여 sparging을 한 경우와 하지 않은 경우로 나누어 실험을 실시하였다. 실험결과 Fig. 4(a)와 같이 sparging을 한 경우에는 생성된 수소에 의해 형성된 수소분압의 증가로 인하여 수소의 소모 반응이 일어나지 않고, 약 10일 동안 지속적인 수소의 생성이 일어났다.^{13,19)} 또한 최대 수소 발생량도 sparging을 하지 않은 경우와 많은 차이를 보였는데, 동일한 알칼리 전처리 조

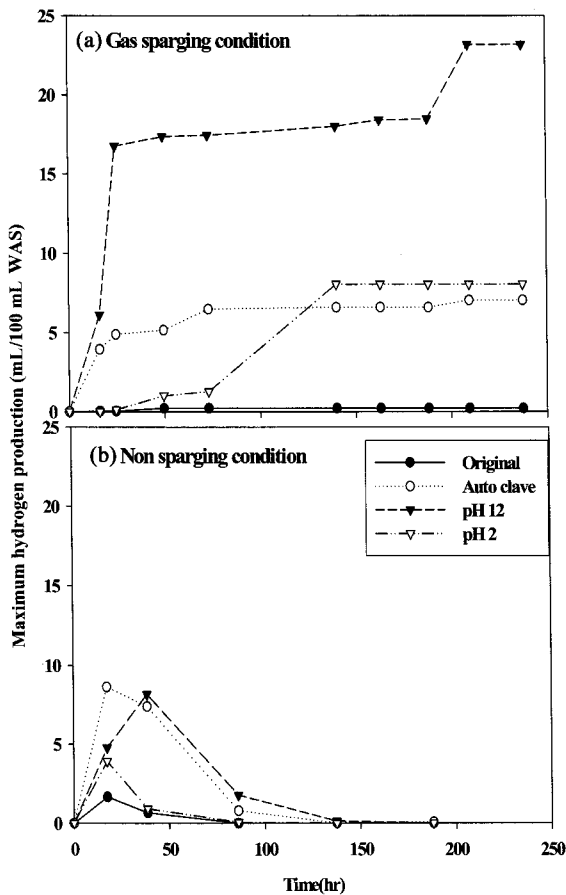


Fig. 4. The hydrogen production amount versus time plot under gas sparging and non-sparging condition.

건인 경우에 gas sparging을 한 경우와 안한 경우 각각 23.2 mL H₂/100 mL WAS(0.52 mmol H₂/g-DS)와 8.1 mL H₂/100 mL WAS(0.18 mmol H₂/g-DS)로 약 3배의 많은 차이를 보임을 확인하였다. 또한 사용된 기질 농도 및 발생 시간에 따른 수소 생산량을 나타내는 수소 생산율에 있어서도 0.68 mL H₂/100 mL WAS/hr(0.34 mL H₂/g VSS/hr), 0.33 mL/100 mL WAS/hr(0.17 mL H₂/g VSS/hr)로 약 2배의 수소생산 속도의 차이를 보임을 확인하였다.

따라서 생성된 수소에 의해 형성되는 수소의 분압을 효과적으로 제어함으로써 최대 수소 생산량 및 발생율의 증대를 도모할 수 있다.

3.4. 염소이온에 대한 수소생산의 효과

최근 유기성 폐기물의 주요 처리방안 이었던 매립과 해양 투기가 금지됨에 따라 음식물 쓰레기와 폐활성 슬러지를 대상으로 이러한 폐기물의 처리와 동시에 신 에너지인 수소생산이 가능한 생물학적 수소생산에 대한 연구가 진행되고 있다.²⁰⁾ 이러한 두 폐기물을 적절한 비율로 혼합하여 생물학적 수소생산을 할 경우, 서로 다른 성장들로 인하여 길항작용을 할 수 있으며, 특정 물질들로 인하여 방해작용을 일으킬 수도 있다. 따라서 국내 음식물에 높은 농도로 존재하는 염소이온(Cl⁻) 농도에 따른 수소 생산율에 대한 영향을 살펴보았다. 알칼리 조건에서 전처리된 슬러지를 pH가 5.5가 되도록 조절한 후 완충용액(pH 5.5) 및 염소 이온의 농도가 각각 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30 g/L가 되도록 주입한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 실험결과 주입된 염소이온의 농도가 증가할수록 수소 생산량 및 생산율의 저하를 확인할 수 있었으며, 특히 10~15 g/L에서는 1~2일간의 지체시간 후 수소의 생산이 이루어져 중간정도의 Inhibition을 확인하였다. 또한 20 g/L 이상의 염소이온의 농도에서는 전혀 수소생산이 이루어지지 않음으로써 강한 Inhibition 작용이 일어남을 확인하였다.

이러한 경향은 특히 수소 생산율(mL H₂/g VSS/hr)에 대한 값으로 살펴보면 다음 Fig. 6과 같이 더욱 뚜렷한 차이를 볼 수 있다. 주입된 염소이온의 농도가 1~15 g/L의 범위에서는 매우 급격한 수소 생산율의 저해를 나타내었으며, 15~30

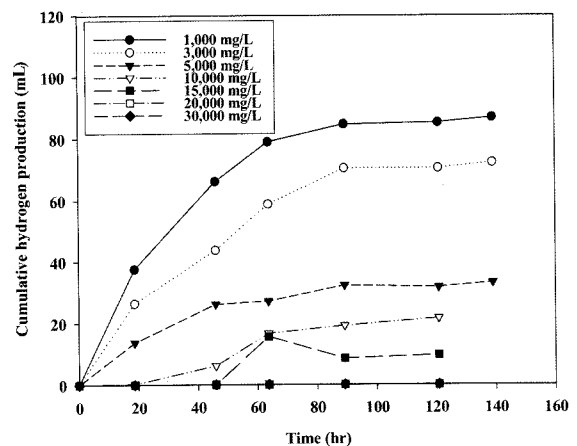


Fig. 5. Effect of Cl⁻ concentration on hydrogen production.

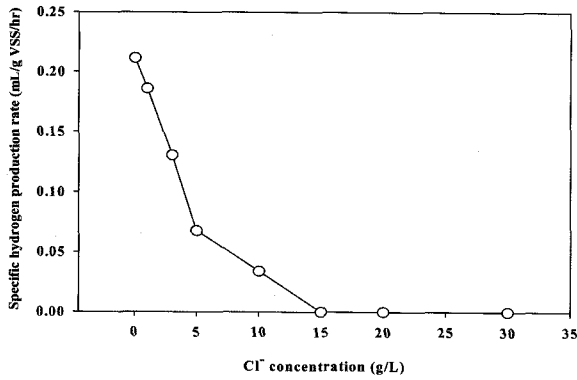


Fig. 6. Effect of Cl⁻ concentration on specific hydrogen production rate.

Table 2. Comparison of hydrogen production factor at various sodium concentration

Cl ⁻ Conc. (g/L)	P (mL)	H ₂ yield (mmol H ₂ /g-DS)	R (mL/hr)	λ (hr)
0	110.36	0.45	2.28	0
1	86.79	0.36	2.01	0
3	72.27	0.30	1.41	0
5	33.19	0.14	0.73	0
10	21.58	0.09	0.59	35.57
15	9.67	0.04	0.88	45.94
20	0.0029	-	-	-
30	0.0027	-	-	-

g/L 이상에는 전혀 수소의 발생이 이루어지지 않았다. 또한 Table 2에 염소이온에 따른 수소생산량과 Modified Gompertz Equation을 이용할 때의 주요 상수값을 정리하여 나타내었다.¹⁸⁾ 지체시간의 경우 0~5 g/L의 범위에서는 지체시간이 없이 바로 수소생산이 이루어진 반면, 10, 15 g/L에서는 각각 약 36시간과 46시간이었다.

따라서 생물학적 수소생산에 영향을 미치는 특정 이온 및 농도에 대한 고려가 반드시 필요하며, 특히 우리나라의 음식물과 같이 염분 농도가 높은 기질의 생물학적 수소생산의 경우에 염소 이온에 대한 영향을 고려하여야 할 것으로 예상된다.

4. 결론

1) 폐활성 슬러지를 지질로 이용한 생물학적 수소생산에서 전처리의 기술은 수소생산력의 증대와 반응속도를 단축시킬 수 있으므로 매우 중요하다. 다양한 전처리 실험결과, 전처리하지 않은 슬러지의 농도(SCOD₀)에 비하여 알칼리조건의 경우 약 14.6배, 기계적 전처리의 경우 약 11.7배 등으로 증가함으로써 수소 생산 미생물이 이용할 수 있는 효과적 전처리 방법임을 확인하였다. 나머지 전처리방법의 경우, 열처리가 약 8.9배, 산처리가 약 5.8배 그리고 오존처리와 초음파처리가 각각 약 1.7배와 1배의 가용화도를 보였다.

2) 전처리된 폐활성 슬러지를 유기원으로 하여 수소생산 효율을 평가한 결과 완충용액을 첨가한 경우 완충용액을 첨가하지 않은 경우에 비하여 다양한 전처리 조건에서 그리고 높은 수소 생산량을 나타냄으로써 pH조절에 따른 수소 생산이 중요한 변수임을 확인하였다. 또한 가용화 단계에서 용존 유기물의 농도 역시 수소생산에 많은 영향을 주는 것을 알 수 있었다.

3) 비활성 기체인 argon gas sparging의 영향을 살펴본 결과, 동일한 알칼리 전처리 조건인 경우에 gas sparging을 한 경우와 안한 경우 각각 23.2 mL H₂/100 mL WAS(0.52 mmol H₂/g-DS)와 8.1 mL H₂/100 mL WAS(0.18 mmol H₂/g-DS)로 약 3배의 많은 차이를 보임을 확인하였다. 또한 사용된 기질 농도 및 발생 시간에 따른 수소 생산량을 나타내는 수소 생산율에 있어서도 0.68 mL H₂/100 mL WAS/hr(0.34 mL H₂/g VSS/hr), 0.33 mL/100 mL WAS/hr(0.17 mL H₂/g VSS/hr)로 약 2배의 수소생산 속도의 차이를 보임을 확인하였다.

4) Cl⁻ 이온에 대한 영향을 살펴본 결과, 주입된 염소이온의 농도가 증가할수록 수소 생산량 및 생산율의 저하를 확인할 수 있었으며, 특히 10~15 g/L에서는 1~2일간의 지체시간 후 수소의 생산이 이루어져 중간정도의 Inhibition을 확인하였다. 또한 20 g/L 이상의 염소이온의 농도에서는 전혀 수소생산이 이루어지지 않음으로써 강한 Inhibition 작용이 일어남을 확인하였다.

사사

이 연구는 과학기술부의 지원으로 수행하는 21세기 프론티어 연구개발사업(수소에너지사업단)의 일환으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. 환경부, 하수도 통계(2004).
2. Task Force on Thermal Destruction, *Sludge incineration: Thermal destruction of residues*. Manual of practice Fd-19, Water Environment Federation, Alexandria, VA(1992).
3. Das, D., Veziroglu T. N., "Hydrogen production by biological processes: a survey of literature," *Int J. Hydrogen Energy*, **26**, 13~28(2001).
4. Elam, C. C., IEA Agreement on the production and utilization of hydrogen, Annual report(1996).
5. Haper, S. R. and Pohland, F. G., "Biotechnology report : Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment," *Biotech. & Bioeng.*, **28**, 585~602(1986).
6. Benemann, J. R., "Hydrogen biotechnology: progress and prospects," *Nature Biotechnology*, **14**, 1101~1103(1996).
7. Fan, Y., Li, C., Lay, J. J., Hou, H., and Zhang, G., "Optimization of initial substrate and pH levels for ger-

- mination of spring hydrogen-producing anaerobes in cow dung compost," *Bioresource. Technol.*, **91**, 189~193(2004).
8. Ghosh, S., Buoy, K., Dressel, L., Miller, T., Wilcox, G., and Loos, D., "Pilot and full scale two-phase anaerobic digestion of municipal sludge," *Water Environ. Res.*, **67**(2), 206~214(1995).
 9. Huang, C. H., Lin, H. Y., Tsai, Y. Y., and Hsie, Y. K., "The preliminary studies of hydrogen production from anaerobic digestion with substrate and cultivation," The 25th Wastewater Technology Conference, Yunlin, Taiwan (2000).
 10. Wang, C. C., Chang, C. W., Chu, C. P., Lee, D. J., Chang, B. V., Liao, L. S., and Tay, J. H., "Using filtrate of waste biosolids to effectively produce bio-hydrogen by anaerobic fermentation," *Water Res.*, **37**, 2789~2793 (2003a).
 11. Wang, C. C., Chang, C. W., Chu, C. P., Lee, D. J., Chang, B. V., and Liao, L. S., "Producing hydrogen from wastewater sludge by *Clostridium bifermentans*," *J. Biotechnol.*, **102**, 83~92(2003b).
 12. Cheng, S. S., Bai, M. D., Chang, S. M., Wu, K. L., and Chen, W. C., "Studies on the feasibility of hydrogen production hydrolyzed sludge by anaerobic microorganisms," The 25th Wastewater Technology Conference, Yunlin, Taiwan(2000).
 13. Hawkes, F., Dinsdale, R., Hawkes, D., and Hussy, I., "Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization," *Int. J. Hydrogen Energy*, **27** (11-12), 1339~1347(2002).
 14. Lay, J. J., "Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen," *Biotech. & Bioeng.*, **68**(3), 269~278(2000).
 15. APHA, AWWA and WPCF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th. ed., APHA, Washington, D.C.(1998).
 16. 환경부, 수질오염 공정시험법(1995).
 17. Owen, W. F., Stuckey, D. C., Healy, J. B., Maccarty, P. L., "Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity," *Water Res.*, **13**, 485~492 (1979).
 18. Lay, J. J., Lee, Y. J., and Noike, T., "Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solids waste," *Water Res.*, **33**(11), 2579~2586 (1999).
 19. Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L., and Noike, T., "Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging," *Bioresource. Technol.*, **73**, 59~65(2000).
 20. Kim, S. H., Han, S. K., and Shin, H. S., "Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge," *Int. J. Hydrogen Energy*, **29**, 1607~1616(2004).