

혐기성 소화를 이용한 노무라입깃 해파리로부터 바이오 가스 생산

김지윤 · 이성목 · 김종훈 · 이재화*

신라대학교 의생명과학대 생명공학과

Bio-gas Production from *Nemopilema nomurai* Using Anaerobic Digestion

Ji-Youn Kim, Sung-Mok Lee, Jong-Hun Kim, and Jae-Hwa Lee*

Department of Bioscience and Biotechnology, College of Medical and Life Science, Silla University, Busan 617-736, Korea

Abstract The recent bloom of a very large jellyfish *Nemopilema nomurai* has caused a danger to sea fishery and sea bathers. Presently, *Nemopilema nomurai* is thrown away through a separator system in the sea. The objective of this work was to produce bio-gas from *Nemopilema nomurai* by using anaerobic digestion. The bio-gas includes the hydrogen or the methane gases. It relates that *Nemopilema nomurai* is effectually changed into the renewable energy. When the jellyfish biomass was used as an organic carbon source the bio-gases were evolved. The aim of this study was to determine the optimal conditions for hydrogen and methane gases production according to the substrate concentrations of *Nemopilema nomurai*, optimal culture condition and the sludge-pretreatment without pH control. The optimal culture condition was found to be 35°C and the heat-treatments of jellyfish was done at 120°C for 30 min. The production rate of hydrogen and methane gas were found to be 8.8 mL/L/h, 37.2 mL/L/h from 1.5 g of dry *Nemopilema nomurai*.

Keywords: *Nemopilema nomurai*, anaerobic, sludge, Hydrogen, Methane

서 론

화석연료로 인한 온실가스 배출은 산업사회로 전환된 이후 급격히 증가하였으며, 이에 따른 지구온난화의 징후 또한 빈번하고 다양한 형태로 나타나고 있는 것이 현실이다 [1]. 그러나 현재 세계 에너지 수요의 약 80%를 차지하고 있는 화석연료는 그 매장량이 한정적이며, 연소시 발생하는 이산화탄소는 지구 온난화와 기후변화를 일으키는 주요 원인으로 지목되고 있어 이로 인한 대책 마련을 위해 화석연료의 사용량을 줄이려는 논의가 국제적으로 이루어지고 있다.

이에 따라 화석연료를 대체할 수 있는 연료의 개발이 시급한 상황이며 이러한 문제를 해결할 수 있는 에너지로 유기성 폐자원으로부터 미생물을 이용하여 생산할 수 있는 수소 및

메탄 등과 같은 바이오가스에 대한 관심이 고조되고 있다 [2]. 혐기성 발효를 이용한 수소생산 방법의 가장 큰 장점은 유기성 폐자원에서 쉽게 얻을 수 있는 녹말이나 글루코오스 등 탄수화물을 분해하여 수소를 생산할 수 있기 때문에 친환경적이라는 것이다. 이러한 슬러지의 혐기성 소화는 다양한 균주의 혼합배양을 통해 폐기물의 감량, 안정 및 무해화에 효과적이며, 특히 신재생에너지에 대한 경제적, 사회적 수요가 증가함에 따라 메탄가스 등과 같은 에너지를 회수하여 이용할 수 있다는 장점이 있어 부각되고 있는 처리 방안이다 [3,4].

바이오매스는 식물과 미생물의 광합성에 의해 생성되는 식물체, 균체, 동물체를 포함하는 생물 유기체를 말한다. 즉, 재생 가능한 식물로부터 생성된 유기물을 말하며 이 중에는 에너지 작물, 식품, 사료 등 부산물 및 농산물, 동물 분뇨, 산업쓰레기, 도시쓰레기 중의 유기성폐기물을 포함한다 [5].

전세계는 식물이나 미생물 등 바이오매스의 생산 및 확보에 박차를 가하고 있으나, 우리나라의 육상에서는 대량의 바이오매스를 획득하기 어려운 조건으로 우리나라의 실정에

*Corresponding author

Tel: +82-51-999-5831, Fax: +82-51-999-5636

e-mail: jhalee@silla.ac.kr

맞는 신재생에너지로 전환시킬 수 있는 방법을 개발하는 것이 무엇보다도 중요한 과제이다 [6].

노무라입깃 해파리는 대형 해파리의 한 종류로 독성을 가지고 있으며, 동중국해를 비롯하여 황해, 동해와 남해에 서식한다. 몸의 90% 이상이 수분으로 어망해파리 중 가장 대형 종으로 큰 것은 갖의 직경이 1 m에 달하며, 길이는 5 m 이상인 것도 있다. 수분을 포함한 한 마리의 최대 무게는 200 kg에 달하여 해파리의 무게 때문에 어구가 손상을 입기도 한다 [7,8]. 이러한 유해 해파리들은 기후변화, 해양 연안 환경오염, 남획에 의한 어족 자원 고갈 등 해양생태계의 급격한 변동과 더불어 급격히 증가하고 있다 [8,9]. 지난해 우리나라 주변 연안 해역에서는 노무라입깃 해파리가 대량 출현해 어업에 막대한 피해를 주었다. 해파리가 대량 출현하면 무엇보다도 임해 산업이 가장 큰 피해를 입게 된다. 원자력 발전소의 경우 취수구를 막아 발전을 중단 시키는 경우도 있으며, 어업 정지망이나 트롤 등에 해파리가 대부분이라서, 어류는 거의 잡히지 않거나 잡힌 어류도 해파리에 의해 신선도가 떨어져 상품 가치를 잃게 된다 [10,11].

현재 전 세계적으로 화석연료를 대체하기 위한 해양자원의 탐색 및 연구가 진행되고 있으며, 이러한 생체 고분자 물질인 바이오매스의 효율적인 가수분해 및 연료물질로의 전환을 위해 혐기성 소화슬러지를 이용한 혼합배양이 주로 이용되고 있다. 따라서 유기물인 해파리 또한 이러한 처리 방법을 이용하여 유용한 바이오 에너지인 수소 및 메탄가스를 생산할 수 있을 것으로 기대된다.

혐기성 소화는 국내외적으로 하수슬러지의 처리를 위해 이용되고 있으며 [12], 하수슬러지의 효율적인 처리 또는 가용화를 위하여 효소 첨가, 열처리, 오존, 기계적 방법 또는 초음파 등 다양한 연구들이 진행되고 있다 [13]. 해양바이오매스인 해조류를 이용한 바이오가스 생산에 있어서 하수슬러지의 전처리 및 균집에 대해 연구되었다 [14,15]. 본 연구에서는 최근 들어 해양 환경에 큰 문제점으로 부각되고 있는 노무라입깃 해파리를 이용하여 유용한 바이오매스를 생산하기 위한 전처리 공정 최적화, 온도, pH 등 배양에 영향을 미치는 물리화학적 요인을 분석하여 온도 및 시간에 따른 가스 발생율을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 방법

실험재료

본 연구에서 사용된 균주는 부산시 남부하수처리장 혐기성 하수처리 공정 중 획득한 슬러지를 원심분리기에서 3,000 rpm으로 10 min 동안 원심분리 시켜서 상등액에 20% glycerol을 첨가하여, -70°C 에서 냉동 보관 하였다. 바이오가스 생산을 위한 기질로는 냉동 보관된 노무라입깃 해파리를 이용하였다. 해파리는 해양에서 채취하여 바로 냉동한 것을

후드믹서 (HMF-1100, HANIL)를 사용하여 입자크기가 고르게 될 때까지 파쇄한 후 사용하였다.

실험방법

300 mL flask에서 해파리 분쇄물을 건조중량 기준으로 0.9 g, 1.5 g, 3.0 g을 각각 넣고 distilled water (D.W)를 첨가하여 working volume을 100 mL에서 배양하였다. pH는 배양 전 과정에서 인위적으로 조절 하지 않았으며, 120°C 에서 30 min 동안 고압 멸균하여 실온에서 냉각 후, 슬러지 1.0 mL을 배양균주로 주입하였다. 혐기성 조건을 형성하기 위하여 N_2 가스를 10분 동안 주입하여 배양액 내 산소를 충분히 제거한 다음 실리콘 마개로 밀봉하였다. 가스 생산량은 12시간 간격으로 수행 하였으며, 수소, 메탄 생산 실험은 35°C , 150 rpm으로 일정하게 유지된 진탕배양기 (shaking incubator)에서 진행하였다. 실험결과 건조중량 1.5 g의 해파리가 수소 및 메탄 생산에 있어서 효율이 가장 높았으며, 따라서 해파리 1.5 g을 기준으로 하여 배양 온도에 따른 수소, 메탄 생산 최적화 실험을 진행하였다.

온도별 실험은 25°C , 35°C , 45°C 에서 12시간 간격으로 발생된 수소, 메탄 함량 측정을 수행하였으며, 300 mL flask에서 해파리 1.5 g을 기질로 첨가하여 working volume을 100 mL에서 배양하였다. pH는 배양 전 과정에서 인위적으로 조절 하지 않았다. 멸균 및 해파리 전처리를 위해 120°C , 30 min 고압멸균한 후 실온에서 냉각하였으며, 슬러지 1.0 mL을 균체로서 주입하였다. 혐기성 조건을 위하여 N_2 가스 주입을 10분 간 실시하여 산소를 제거 한 후 실리콘 마개로 밀봉하였다. 가스 생산량은 12시간 간격으로 측정하여 배양 108시간까지 생성되는 부피총량을 측정하였다. 이 때 flask 내부 압력을 압력계 (Electrochemical Sensor, Model no. C9557, Comark Inc., Britain)를 이용하여 PSI (pounds per square inch) 단위로 측정하였다. 측정된 압력과 플라스크 내의 총 부피에서 배양액 부피를 뺀 플라스크 나머지 부피를 이용하여 생성된 총 가스의 양을 보정하여 주었다.

실험장치 및 분석방법

해파리 건조 중량 측정

실험에 사용된 노무라입깃 해파리의 건조중량 측정을 하기위해 후드 믹서 (HMF-1100)로 입자크기가 고르게 될 때 까지 파쇄한 후, 파쇄한 해파리 분쇄물을 각각 3 g, 5 g, 10 g 식을 취하여 60°C 건조기에서 24 h 동안 건조하여 해파리 건조중량을 측정하였다.

총 바이오가스 생산량 측정

배양 후 12시간 간격으로 배양액이 들어 있는 300 mL flask의 압력 (PSI)을 측정하고, 배양 후 발생된 총 가스 생산량의 함량을 측정하기 구하기 위해 테들러 백 (1 Liter)에 가스를 포집하였다. 포집된 가스를 H_2 (XP-3140 일본 COSMOS사 제조), CH_4 (XP-3134 일본 COSMOS사 제조)

기기를 이용하여 가스 농도 (volume %)를 측정 하였다. 생성된 총 바이오가스 생산량을 계산하기 위해 측정된 flask의 내압 (PSI)을 atm 값으로 변환하기 위하여 다음 식을 사용하였다.

[계산식]

$$PV = P'V' \quad 1(\text{현재기압}) \times x(\text{총 가스 생산량}) = \text{atm} (\text{플라스크 내부 기압}) \times \text{플라스크 공간부분 (플라스크 나머지 부피)}$$

이 계산식을 사용하여 total gas 값으로 수소, 메탄 생산의 수율을 구하였다. 수율은 (수소, 메탄 생산량 (g/L)/첨가한 해파리 (g/L)) × 100으로 계산하였다.

결과 및 고찰

해파리 첨가량에 따른 수소, 메탄 생산

본 연구에서는 노무라입깃 해파리로부터 혐기성 소화공정에 의한 수소 및 메탄 생산 가능성에 대하여 고찰하였으며, 또한 수소, 메탄 생산성을 향상시키기 위한 전처리 조건을 확립하고자 하였다.

습중량 기준으로 3 g, 5 g, 10 g을 각각 취하여 건조하였다. 건조한 결과 3 g, 5 g, 10 g의 건조되지 않은 해파리의 건조 중량은 각각 약 0.9 g, 1.5 g, 3.0 g인 것으로 확인되었다. 따라서 해파리 습중량 1 g당 해파리 건조 중량은 약 0.3 g인 것으로 확인되었다.

해파리 건조 중량에 따른 수소, 메탄의 생산량을 각각 Fig. 1(a)와 Fig. 1(b)에 나타내었다. 각각의 건조중량 1 g당 총 수소 생산량은 각각 90 mL/L, 155 mL/L, 114 mL/L으로 확인되었으며, 해파리 0.9 g, 3.0 g 사용한 것에 비하여 1.5 g에서 수소 생산 수율이 20~40% 정도 높은 것으로 확인되었다. 메탄의 생산량은 0.9 g, 1.5 g, 3.0 g에서 각각 925 mL/L, 1471 mL/L, 2053 mL/L로 수소에 비해 생산량이 최대 약 11배 정도 많았다. 건조중량 당 메탄 생성량은 0.9 g (1028 mL/L)에서 가장 높았으며, 1.5 g (981 mL/L)에서는 수율의 감소가 적었으나 3.0 g (684 mL/L)에서는 수율이 급격히 감소했다. 총 바이오가스의 생산량은 108 h 경과 후에 해파리 1.5 g에서 가장 높았으며, 이때 수소와 메탄의 생산량은 각각 233 mL/L, 1471 mL/L 이었다. 해파리 1 g당 수소, 메탄 수율이 1.5 g에서 가장 높게 나왔으므로 총 바이오가스 생산량이 가장 높은 1.5 g을 이용하여 실험을 진행하였다.

해파리 전처리

바이오가스 생산을 위한 해파리의 전처리로 120°C, 30 min

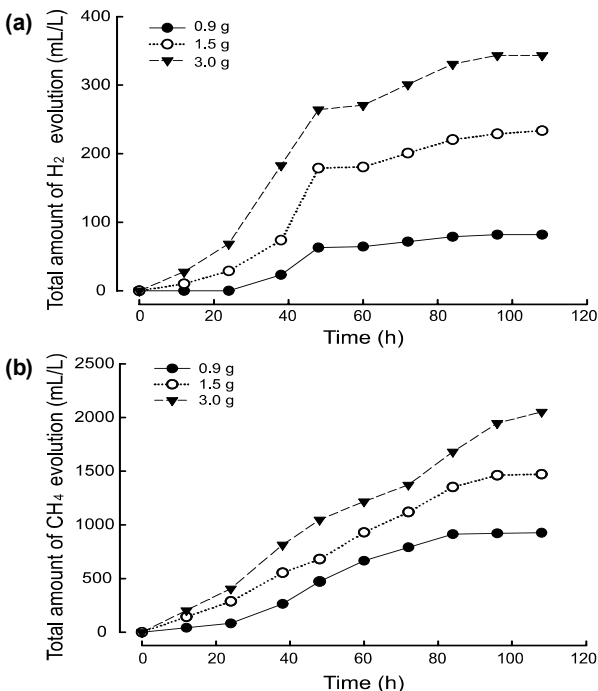


Fig. 1. The substrate concentrations of *Nemopilema nomurai* organic matter due to the change of biogas production. Effect of substrate concentration on hydrogen and methane gases yield. Symbols: 0.9 g (●), 1.5 g (○), 3 g (▼).

실험에 사용되는 해파리의 건조 중량을 확인하기 위해 해파리를 건조 오븐을 이용하여 균일하게 분쇄된 해파리를

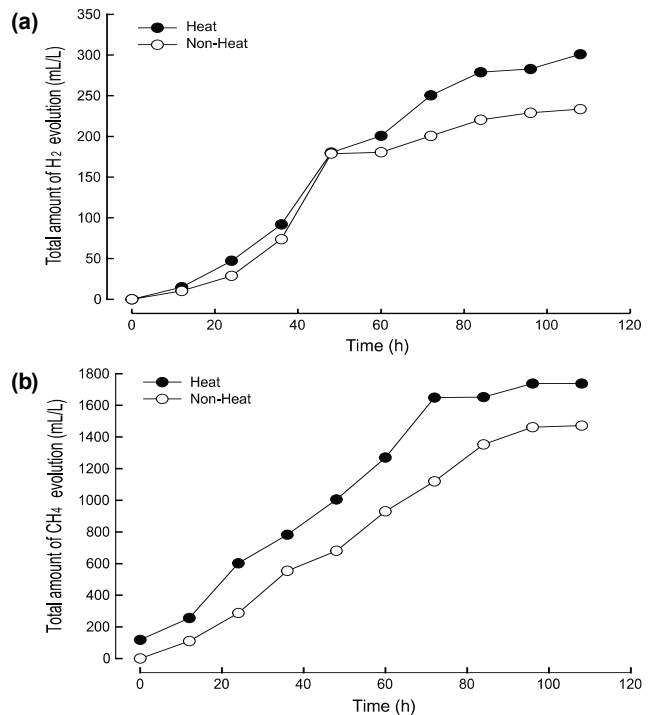


Fig. 2. The effect of substrate heat-treatment conditions on hydrogen and methane gases production in batch experiments. (Thermal treatments at 120°C for 30 min). Symbols: Heat (●), Non-heat (○).

동안 고압 멸균 하였으며 고압 멸균 하지 않은 것의 비교 차이를 Fig. 2에 나타냈다. 고압 멸균을 한 해파리에서 108 h 기준으로 보았을 때 수소가 300 mL/L 생산되었고, 이때, 메탄은 1737 mL/L의 높은 생산성을 보였다. 고압멸균을 하지 않은 경우 수소를 233 mL/L 생산하였고 메탄을 1471 mL/L 생산 하였다. 이는 멸균하지 않은 것에 비해 전체 가스 생산량이 약 20% 정도 증가한 것으로 나타났다. 이러한 생산량의 증가는 고압멸균에 의해 해파리 세포 및 구조를 파괴하고 세포 내 물질을 가용화함으로써 수소, 메탄 생산 균주가 이용 가능한 기질의 전환을 용이하게 하였기 때문인 것으로 사료된다. 이 조건에서 고압 멸균하는 경우와 고압 멸균을 하지 않은 경우를 비교하여 단위시간당 바이오가스의 발생량 및 열처리에 의해 효과적으로 바이오가스의 생산량이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 그러나 고온의 열처리는 대량은 에너지를 필요로 하기 때문에 에너지 수율에 있어서는 오히려 비열처리가 더 효율적일 것으로 보인다.

배양온도에 따른 수소, 메탄 생성

배양온도에 따른 수소 및 메탄 생성을 확인하기 위해 25°C, 35°C 및 45°C의 온도에서 각각 실험 하였다. 배양 108 h을 기준으로 45°C 경우에 수소 24 mL/L 및 메탄 178 mL/L를 생산하였고 이는 35°C 조건에서 비교하면 수소 300 mL/L, 메탄 1737 mL/L로 대략 10배 정도로 높은 생산량의 차이가 있었다 (Fig. 3). 따라서 해파리를 이용한 바이오 가스 생산에는 25°C나, 45°C 보다는 35°C에서 배양하는 것이 최적 배양온도인 것으로 확인되었으며, 이러한 배양 온도는 슬러지를 채취해 온 남부하수처리장의 혐기성 소화조 운전온도와 동일하다. 슬러지와 같은 혼합배양에서는 여러 균주들이 복잡한 협력관계를 유지하여 서로 영향을 미치게 된다. 해파리를 이용한 수소, 메탄 생성에 있어서도 유기물을 분해하는 균주와 이를 이용하여 유용한 물질을 생산하는 균주의 공생관계를 필요로 한다. 따라서 고온에서 급격한 생산량의 감소는 이러한 공생균주 중 일부의 활성이 저해되었기 때문인 것으로 보인다. 사용된 슬러지 균주는 대체로 저온보다는 고온에서 수소, 메탄 생산이 급격히 감소하는

것으로 확인되었다. 참고로 다른 바이오매스와의 수소생산량을 비교해 본 결과 해양 바이오매스인 다시마를 이용한 논문 (Table 1)의 수소의 생산량을 비교했을 때, 단위 시간당 수소의 최대 생산 속도는 다시마 70.0 mL/L/h, 비열처리 해파리에서 8.8 mL/L/h로 해파리를 이용하였을 때 생산속도가 12.6% 이하로 생산 속도가 매우 낮았다. 그러나 바이오매스의 건조중량당 생산량은 각각 28.0 mL/g dry algae, 20.0 mL/g dry algae로 다시마의 약 71.4%로 나타났다. 해파리를 이용한 수소 생산은 다시마에 비해 수율이 낮았으나 해양 폐기물의 재활용에 있어서는 유용한 대안이 될 것으로 보인다.

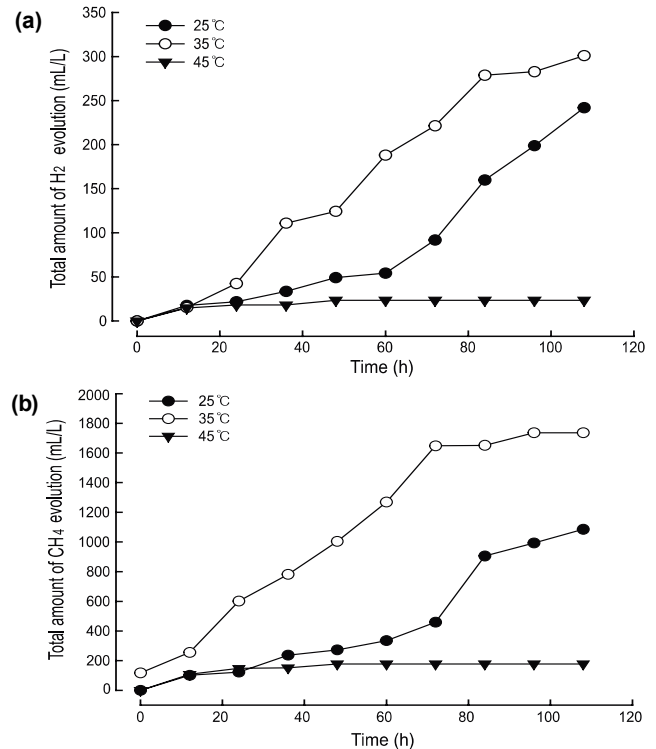


Fig. 3. Hydrogen and methane gases production for *Nemopilema nomurai* in batch cultures. Effect of culture temperature on hydrogen and methane gases are shown. Symbols: 25°C (●), 35°C (○), 45°C (▼).

Table 1. Comparison of hydrogen production data obtained in this study with other reports [18-22]

Feedstock	Inoculum	Culture type	Temperature (°C)	Maximum H ₂ production rate (mL H ₂ /L/h)	Reference
<i>Nemopilema nomurai</i>	A domestic sewage treatment plant	batch	35	8.8	this study
<i>L. japonica</i>	Heat-treated sludge from a domestic sewage treatment plant	batch	35	70.0	[18]
Household solid waste	Unknown culture from biogas plant	continuous	37	67.1	[19]
Brewery waste	Heat-treated compost from a cattle dung composting facility	continuous	37	111.7	[20]
Garbage amended with shredded paper waste	The thermophilic microflora that had been enriched from excess activated sludge compost	continuous	60	225.0	[21]
Food waste	Anaerobic digestion sludge	continuous	35	113.8	[22]

배양온도에 따른 pH 변화

배양 온도 및 시간에 따른 배지 내의 pH 변화를 조사하였다. pH 변화는 pH meter를 이용하여 측정하였다. 배양 온도 25°C, 35°C 및 45°C에서 배양액의 pH 변화를 측정 결과 25°C와 35°C에서는 초기 pH가 7.5에서 배양 완료 후 3.8까지 감소하는 경향을 볼 수 있었고, 45°C는 pH 7.5에서 5.4로 감소하였으며, 38~108 h에서 대부분 pH가 감소됨을 알 수 있었다 (Fig. 4). 수소, 메탄이 높게 생성된 25°C, 35°C에서 pH 변화가 크게 나타난 것으로 보였다. 이러한 결과로 보아 pH의 감소가 클 때 수소 가스와 메탄가스의 발생량이 많은 것을 알 수 있었다. 수소, 메탄 같은 가스의 생물학적 생산은 propionic acid, butyric acid 및 acetic acid와 같은 유기산의 생성에서 시작된다. 혐기성 발효과정에서 유기산의 변화는 수소생성과 연관성이 있으며, butyrate의 농도가 높아진다고 보고된 바 있다 [16,17]. 따라서 노무라잎깃 해파리를 이용한 수소, 메탄 생산에서의 급격한 pH 변화 또한 이러한 다양한 유기산을 생성하는 균주의 해파리 분해물 대사 및 유기산 생성작용이 활발하게 이루어졌기 때문인 것으로 보인다.

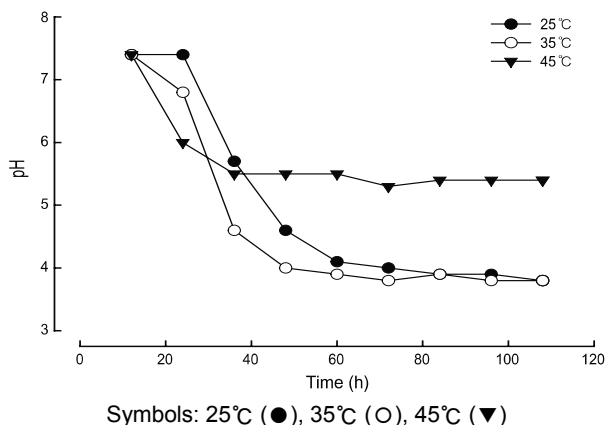


Fig. 4. Time courses of pH changes at 25°C, 35°C, 45°C.

결론

본 연구는 해양 생물인 노무라잎깃 해파리를 혐기소화 과정에 의한 바이오 가스 생산 가능성을 확인하고자 하였다. 노무라잎깃 해파리를 이용하여 수소 및 메탄가스 생산 실험 결과는 다음과 같이 요약할 수 있다. 노무라잎깃 해파리를 탄소원으로 사용하여 배양 온도, 기질 농도 및 전처리 조건으로 시간에 따른 수소 및 메탄 생산 최적화 실험을 진행하였다. (120°C에서 30 min 고압 멸균하여 식힌 후, 25°C, 35°C, 45°C) 각각 조건으로 하였다. 그 결과 고압 멸균, 혹은 열처리를 한 해파리에서 수소가스 300 mL/L (H_2 gas/l L), 메탄가스 1737 mL/L (CH_4 gas/l L)가 바이오가스 생산량 면이 가장 우수한 것으로 실험 결과를 보여주었다 (Fig. 2(a), (b)).

배양온도의 경우 35°C에서 수소, 메탄이 생산율이 높은 것으로 확인되었다. 이러한 온도 조건은 슬러지를 채취해 온 남부 하수처리장의 혐기성 소화조 운전온도와 동일하였으며, 사용된 슬러지 균주는 대체로 저온보다는 고온에 감소하는 것으로 확인되었다. 해파리 기질농도 1.5 g에서 단위 시간 당 수소의 최대 생산량은 8.8 mL/L/h, 메탄의 최대 생산량은 37.2 mL/L/h 인 것으로 나타났다. 해파리 기질농도로 각각 0.9 g, 3.0 g 사용한 것에 비하여 1.5 g에서 수소, 메탄 생산 수율이 높았다. 배양 온도 35°C에서 초기 pH의 경우 7.5 정도이었으나 배양시간이 경과할수록 pH가 낮아져서 108 h 경과 후에 3.8까지 떨어지는 것을 알 수 있었다. 이러한 pH의 급격한 변화는 유기산을 생성하는 균주의 해파리 분해물 대사 및 유기산 생성작용이 활발하게 이루어졌기 때문으로 보이며, 이로 인해 수소, 메탄가스 발생률이 또한 높아진 것으로 보인다. 실험결과 해파리에 포함된 유기물을 이용하여 효율적으로 수소, 메탄과 같은 연료로 사용가능한 바이오가스 생산을 확인할 수 있었다.

접수 : 2010년 7월 13일, 게재승인 : 2010년 12월 1일

REFERENCES

- Parawira, W., M. Murto, R. Zvauya, and B. Mattiasson (2004) Anaerobic batch digestion of solid potato waste alone and in combination with sugar beet leaves. *Renewable Energy* 29: 1811-1823.
- Mata-alvarez, J., S. Mace, and P. Llabres (2000) Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresour. Technol.* 74: 3-16.
- Kim, H. W., S. K. Han, and S. S. Hang (2003) The optimization of food waste addition as a co-substrate in anaerobic digestion of sewage sludge. *Waste Management Research* 21: 515-526.
- Wyman, C. E. and B. J. Goodman (1993) Biotechnology for production of fuels, chemicals, and materials from biomass. *Appl. Biochem. and Biotechnol.* 39: 1-59.
- Yasuda, T. (2004) On the unusual occurrence of the giant medusa *Nemopilema nomurai* in Japanese waters. *Nippon Suisan Gakkaishi* 70: 380-386.
- Park, J. I., H. C. Woo, and J. H. Lee (2008) Production of Bio-energy from Marine Algae: Status and Perspectives. *Korean Chem. Eng.* 46: 833-844.
- Kim, E. Y., S. H. Lee, J. S. Kim, W. D. Yoon, D. H. Lim, A. J. Hart, and W. C. Hodgson (2006) Cardiovascular effects of *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa: Rhizostomeae) jellyfish venom in rats. *Toxicology Letters* 167: 205-211.
- Kang, C., A. Munawir, M. Cha, E. T. Sohn, H. Lee, J. S. Kim, W. D. Yoon, D. Lim, and E. Kim (2009) Cytotoxicity

- and hemolytic activity of jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa: Rhizostomeae) venom. *Comparative biochemistry and physiology* 150: 85-90.
9. Uye, S.-I. (2008) Blooms of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai*: a threat to the fisheries sustainability of the East Asian Marginal Seas. *Plankton Benthos Res.* 3: 125-131.
 10. Uye, S. I., S. Ueno, J. Hiromi, K. Shiomi, T. Yasuda, N. Honda, Y. Matsushita, T. Watanabe, H. Iizumi, A. Kawabe, H. Miyake, H. Ishii, T. Inagaki, H. Nagai, M. Endo, and E. Okazaki (2005) Jellyfish blooms-ecology, biochemistry and food science for utilization. *Nippon Suisan Gakkaishi* 71: 968-994.
 11. Lee, J.-H., H.-W. Choi, J. H. Chae, D. S. Kim, and S.-B. Lee (2006) Performance Analysis of Intake Screens in Power Plants on Mass Impingement of Marine Organisms. *Ocean and Polar Research* 28: 385-393.
 12. Kim, J. S., C. H. Park, T. H. Kim, M. G. Lee, S. W. Kim, and J. W. Lee (2003) Effect of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion of waste activated sludge. *J. Biosci. Bioeng.* 95: 271-275.
 13. Mizuno, O., T. Ohara, M. Shinya, and T. Noike (2000) Characteristics of hydrogen production from bean curd manufacturing waste by anaerobic microflora. *Wat. Sci. Tech.* 42: 345-350.
 14. Lee, J. H., D. G. Lee, J. I. Park, and J. Y. Kim (2009) Bio-hydrogen production from a marine brown algae and its bacterial diversity. *Korean J. Chem. Eng.* 27: 187-192.
 15. Lin, C. Y. and R. C. Chang (1999) Hydrogen production during the anaerobic acidogenic conversion of glucose. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 74: 498-500.
 16. Yokoi, H., T. Tokushige, J. Hirose, S. Hayashi, and Y. Takasaki (1998) H₂ production from starch by a mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*. *Biotechnology Letters* 20: 143-147.
 17. Chen, C.-C., H.-P. Chen, J.-H. Wu, and C.-Y. Lin (2008) Fermentative hydrogen production at high sulfate concentration. *Int. J. Hydrogen Energy* 33: 1573-1578.
 18. Park, J. I., J. W. Lee, S. J. Sim, and J. H. Lee (2009) Production of Hydrogen from Marine Macro-algae Biomass Using Anaerobic Sewage Sludge Microflora. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 14: 307-315.
 19. Liu, D., D. Liu, R. J. Zeng, and I. Angelidaki (2006) Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. *Water Res.* 40: 2230-2236.
 20. Fan, K. S., N. R. Kan, and J. J. Lay (2006) Effect of hydraulic retention time on anaerobic hydrogenesis in CSTR. *Bioresour. Technol.* 97: 84-89.
 21. Ueno, Y. H., H. Fukui, and M. Goto (2007) Operation of a two-stage fermentation process producing hydrogen and methane from organic waste. *Environ, Sci. Technol.* 41: 1413-1419.
 22. Kim, S. H., S. K. Han, and S. S. Hang (2008) Optimization of continuous hydrogen fermentation of food waste as a function of solids retention time independent of hydraulic retention time. *Process Biochem.* 43: 213-218.