

# 음식물류 폐기물의 혐기성 수소 발효 시 열처리에 따른 성능 및 미생물 특성 평가

이채영<sup>†</sup> · 최재민

수원대학교 토목공학과·하천환경기술연구소

## Performance and Microbial Characteristics of Bio-hydrogen Production from Food Waste with Thermal Pre-treatment

CHAEYOUNG LEE<sup>†</sup>, JAEMIN CHOI

Dept. of Civil Eng., The University of Suwon, San 2-2, Wau-ri, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, Korea  
Institute River Environmental Technology, San 2-2, Wau-ri, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, Korea

**Abstract** >> This study was conducted to investigate the effect of thermal pre-treatment on bio-hydrogen from food waste. Two continuous reactors operated and VFAs(volatile fatty acids) production and microbial communities were analyzed. The average hydrogen yield was 0.50 and 0.33mol H<sub>2</sub>/mol hexose<sub>added</sub> in thermally treated food added reactor(R1) and control(R2), respectively. Butyrate concentration was similarly 7,500mg/L in both reactors, but two times higher lactate concentration was observed in R2(3,800mg/L). The results of FISH(fluorescence in situ hybridization) showed that the relative microorganism to hydrogen producing bacteria was 78 and 27% in R1 and R2, respectively.

**Key words** : Anaerobic hydrogen fermentation(혐기성 수소 발효), Food waste(음식물류 폐기물), Fluorescence in situ hybridization analysis(형광 원위치 부합법), Volatile fatty acids(휘발성 지방산), Thermal pre-treatment(열전처리)

### 1. 서 론

수소 에너지는 유가 상승, 화석 연료의 고갈, 환경 문제의 대두로 인해 산·재생에너지의 관심이 증대됨에 따라 미래의 에너지로 주목받고 있다<sup>1)</sup>. 신·재생 에너지 중 수소는 122kJ/g으로 열량이 높은 장점을 가지고 있으며 연소 시 부산물이 물만 존재하는 친환경적인 미래의 에너지이다<sup>1)</sup>.

생물학적으로 수소를 생산하는 방법은 크게 광 발효와 혐기성 발효로 구분할 수 있다<sup>2)</sup>. 광 발효는 빛 에너지를 필요로 하며 수소 전환율은 혐기성 발효에 비해 상대적으로 높다. 그러나 긴 사슬 지방산(long chain fatty acid, LCFA)과 같이 복잡한 구조의 유기물은 분해가 어렵다. 혐기성 발효의 경우 광 발효에 비해 수소 전환율은 낮으나 빛 에너지가 필요 없어 투입 에너지가 적고 복잡한 구조의 유기물을 직접 기질로 이용이 가능하다<sup>3)</sup>. 또한, 혐기성 수소 발효 시 발생하는 유출수를 이용하여 미생물 연료 전지(microbial fuel cell, MFC) 및 메탄 발효와 연계하여

<sup>†</sup> Corresponding author : chaeyoung@suwon.ac.kr

[ 접수일 : 2013.11.29 수정일 : 2014.2.19 게재확정일 : 2014.2.28 ]

Copyright © 2014 KHNES

추가적으로 에너지 회수가 가능하다<sup>3)</sup>. 따라서 음식물과 같은 복잡한 구조의 유기성 폐기물을 이용한 수소에너지 생산 시 혐기성 발효 적용이 유리하다.

음식물류 폐기물은 국내의 경우 2009년을 기준으로 일일 발생량이 13,701톤이다. 2005년부터 직매립이 금지되었으며 2013년 1월을 기점으로 해양배출이 금지되었다<sup>4)</sup>. 음식물류 폐기물의 직매립 및 해양배출이 금지됨에 따라 효율적인 에너지화 방안에 대한 관심이 증대되고 있다<sup>4)</sup>. 음식물류 폐기물을 이용한 소각의 경우 수분함량이 높고 발열량이 낮으며 사료화, 퇴비화 시 높은 염도, 영양분의 불균형 등이 문제점으로 지적되고 있다<sup>5)</sup>. 음식물류 폐기물을 이용한 혐기 소화의 경우 부피 감량이 우수하며 안정화와 동시에 바이오가스 생산이 가능한 장점을 가지고 있다<sup>5)</sup>. 또한 음식물류 폐기물은 탄수화물이 풍부하여 혐기성 수소 발효 시 기질로서도 활용이 가능하다<sup>6)</sup>. 그러나 음식물류 폐기물의 구성성분이 복잡하고 발생원에 따라 매우 불규칙적으로 나타난다. 따라서 기질의 균질화, 에너지 회수 향상을 위해 기질의 전처리, 적정 pH 유지 등이 필요하다<sup>7)</sup>.

Kim과 Shin(2008)는 음식물류 폐기물을 기질로 이용하였으며 6 M의 KOH를 pH 12.5까지 상승시켜 알칼리 전처리를 수행하였다. 그 결과 전처리를 수행하지 않은 기질에 비해 수소 전환율이 0.77mol H<sub>2</sub>/mol hexose<sub>added</sub> 높게 나타났다<sup>7)</sup>. Lee와 Park(2010)은 음식물류 폐기물의 최적 열처리 온도 도출하기 위해 열처리 시간은 20분으로 고정하였으며 열처리 온도는 60 ~ 150°C를 이용하였다. 그 결과에 따르면 90과 150°C에서 각각 53.5 및 55.1%로 가용화 효율이 크게 상승한 것으로 보고되었다<sup>5)</sup>. Lee 등(2011)은 70°C에서 60분간 열처리된 음식물류 폐기물을 이용하여 연속 혐기성 수소 발효 시 초기 성능에 대한 효과를 평가하였다. 그 결과 비전처리된 기질에서는 0.36mol H<sub>2</sub>/mol hexose의 수소 전환율이 나타났으며, 열처리된 기질의 경우 0.61mol H<sub>2</sub>/mol hexose<sub>added</sub>로 70%

향상되었다<sup>3)</sup>. Shin 등(2004)은 음식물류 폐기물을 이용하여 혐기성 수소 발효 시 적정 pH에 관한 연구를 수행하였다. pH는 4.5 ~ 6.5 범위로 선정하였으며 고온 및 중온 조건에서의 수소 전환율을 평가하였다. 그 결과에 따르면 고온 및 중온 혐기성 수소 발효 시 pH 4.5에서 가장 높은 수소 전환율을 보였으나 지체기는 가장 길게 나타났다<sup>8)</sup>. Kim과 Lee(2011)는 음식물류 폐기물을 기질로 이용하였으며 운전 pH 4.7 ~ 5.3 범위에서 열처리 시간에 따른 수소 발효 성능을 평가하였다. 그 결과에 따르면 pH 5.3에서 수소 전환율이 가장 높게 나타났으며 음식물류 폐기물의 열처리 조건은 70°C에서 60분이 최적으로 보고되었다<sup>9)</sup>. Kim 등(2011)은 운전 pH는 5.0으로 고정하였으며 식중 시 초기 pH의 변화에 따른 수소 전환율을 평가하였다. 그 결과 초기 pH 8.0에서 수소 발효 시 프로피온산 생성 미생물의 억제 효과가 나타났으며 수소 전환율이 가장 높게 나타났다<sup>10)</sup>.

따라서 본 연구에서는 혐기성 수소 발효 시 최적으로 보고된 초기 및 운전 pH, 기질의 열처리 시간을 활용하여 음식물류 폐기물의 연속 혐기성 수소 발효에 대한 영향을 평가하였다. 또한, 형광 원위치 부합법(fluorescence in situ hybridization, FISH) 분석을 통해 연속 혐기성 수소 발효 시 열처리에 따른 수소 생성 미생물의 거동을 평가하고자 하였다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2.1 식중 미생물 및 기질

#### 2.1.1 식중 미생물

식중 미생물은 S시에 위치한 하수처리장 혐기성 소화조에서 유출되는 소화슬러지를 사용하였다. 휘발성 고형물(volatile solids, VS), pH와 알칼리도는 각각 19.6g/L, 6.9 및 2.2g/L as CaCO<sub>3</sub>로 나타났다. 채수한 소화슬러지는 식중 미생물로 이용하기 위해

10mm 체를 이용하여 불순물을 제거하였다. 또한, 수소 전환율을 증가시키고 수소소비 미생물 및 수소와 무관한 미생물의 성장을 억제하기 위해 90°C에서 20분간 열처리를 수행 후 사용하였다<sup>10)</sup>.

### 2.1.2 기질

본 연구에서 사용된 기질은 합성음식물류 폐기물을 이용하였다. 합성음식물류 폐기물은 국내 공동 주택에서 발생하는 비율 (중량비)에 따라 곡류 30%, 야채 및 채소류 38%, 과일류 27%, 및 육류 5%로 구성하였다. 상기된 조건에 따라 구성된 합성 음식물류 폐기물은 가정용 분쇄기를 이용하여 분쇄하였다. 기질의 농도는 분쇄된 음식물류 폐기물을 희석하여 탄수화물을 기준으로 30g COD/L로 고정하였다.

## 2.2 실험장치 및 운전조건

연속 혐기성 수소 반응조는 총 용량 5L(유효 용량: 3L)인 혐기성 연속 회분식 반응조(anaerobic sequencing batch reactor, ASBR)를 이용하였다. R1 반응조는 70°C에서 60분간 열처리된 음식물류 폐기물을 기질로 이용하였으며 R2 반응조는 비전처리된 기질로 이용하였다<sup>3)</sup>. 식중은 반응조 유효용량의 30%를 식중 미생물, 나머지 부분을 기질로 채웠으며 N<sub>2</sub> 가스를 이용하여 혐기성 상태로 치환하였다. 식중 후 수소 전환율이 0.2mol H<sub>2</sub>/mol hexose일 때 연속 운전으로 전환하였다<sup>11)</sup>. 초기 pH는 젖산과 프로피온산 생성균의 활성을 억제하기 위해 2N KOH를 이용하여 8.0으로 고정하였으며 운전 pH는 2N KOH 및 3N HCl을 이용하여 5.3으로 유지하였다. 교반 강도, 배양 온도 및 수리학적 체류시간(hydraulic retention time, HRT)은 각각 120rpm, 중온(35°C) 및 48시간으로 유지하였다.

## 2.3 분석 방법

바이오 가스 발생량은 water displacement method

를 이용하여 총 용량 40L의 가스포집장치로 측정하였으며 온도와 증기압을 표준상태로 전환하여 산정하였다. 수소 가스 함량은 gas-tight syringe로 가스포집장치로부터 0.2mL를 채취한 후, 열전도검출기(thermal conductivity detector, TCD)가 장착된 가스 크로마토그래피(gas chromatography, Gow Mac series 580, USA)를 이용하여 측정하였다. Column은 molecular sieve 5A(80/100mesh)를 충전제로 사용한 1.8m × 3.2mm stainless steel column을 이용하였다. Column, injector와 detector의 온도는 50, 80 및 90°C로 유지하였으며 운반기체는 30mL/min의 고순도 질소(99.999%)를 이용하였다. 소화 슬러지의 VS와 알칼리도는 Standard Methods에 따라 실험을 수행하였다<sup>12)</sup>. pH는 Orion 8102BNUWP ROSS Ultra® pH 전극(Thermo scientific, USA)을 이용하여 측정하였다. 기질의 탄수화물은 phenol-sulfuric acid method를 이용하였으며 포도당을 이용하여 검량선을 작성하였다<sup>13)</sup>. 휘발성 지방산(volatile fatty acids, VFAs)은 HPLC (YL9100, 영린기기, 한국)를 이용하여 분석하였다. Column은 fast acid column(BIO-RAD, 100mm × 7.8mm)을 사용하였으며 운반 용매는 0.005M의 황산 용액을 이용하였다.

## 2.4 미생물 분석

FISH 분석은 식중 직후, 0.2mol H<sub>2</sub>/mol hexose 도달 시, 연속 운전 전환 12시간 및 204시간 경과 시 시료를 이용하였다. 채취한 시료는 4% paraformaldehyde 용액과 1:3 비율로 혼합하여 고정한 후 4°C에서 3시간 동안 정치하였다. 상기된 방법을 3회 반복 수행 후 에탄올과 인산염 완충 식염수(phosphate buffered saline, PBS, pH 7.2)를 1:1로 혼합한 용액으로 희석하였다. 고정이 완료된 시료는 에탄올을 이용하여 탈수하였으며 Table 1에 제시된 probe와 부합 완충용액을 1:8 비율로 혼합한 용액과 함께 46°C에서 3시간 반응시켰다. 반응 후 세척 완충용액으로 씻어내고 4

**Table 1** Probes applied for FISH analysis

Probe	Sequence(5'-3')	dye	Target
EUB 388 I	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	FAM	Eubacteria
EUB 388 II	GCAGCCACCCGTAGGTGT	FAM	Eubacteria
EUB 388 III	GCTGCCACCCGTAGGTGT	FAM	Eubacteria
P932	GATYYGCGATTACTAGYAACTC	CY3	<i>Clostridium sp.</i> Cluster I & XI
Chis 150	TTATGCGGTATTAATCTYCCTTT	CY5	<i>Clostridium sp.</i> Cluster I & II

**Table 2** Quantity analysis method using FISH images

	Eubacteria			
	Clostridium sp.			Other eubacteria
	Cluster I	Cluster II	Cluster XI	
Color in FISH images	Turquoise	Red	Blue	Green
Relative ratio calculation	$\frac{P \cap C}{E}$	$\frac{[C - (P \cap C)]}{E}$	$\frac{[P - (P \cap C)]}{E}$	$\frac{[E - P - C + (P \cap C)]}{E}$

8°C에서 20분간

\*P∩C: P932 및 Chis 150 probe에 의해 착색

P: P932 probe에 의해 착색

C: Chis 150 probe에 의해 착색

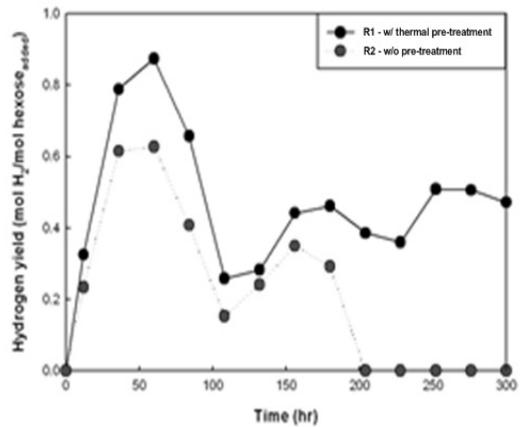
E: EUB338 I, II 및 XI probe에 의해 착색

유지하였으며 마지막으로 초순수를 이용하여 세척하였다. 시료의 관찰은 공초점 현미경(confocal laser scanning microscope, CLSM, LSM700, Carl Zeiss, Germany)를 이용하였다. 공초점 현미경을 통해 관찰된 FISH image를 이용하여 Table 2에 제시된 식을 통해 정량분석을 수행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 수소 전환율

Fig. 1은 R1과 R2의 수소 전환율을 제시하였다. R1과 R2는 각각 식종 후 7 및 9시간에 연속 운전으로 전환하였다. Lee 등(2011)의 연구 결과에 따르면 음식물류 폐기물 열처리 시 연속 운전 전환 시기는



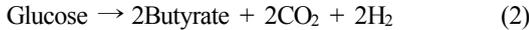
**Fig. 1** Hydrogen at R1 and R2

6시간으로 본 연구와 유사하게 나타났다<sup>3)</sup>. R1 및 R2의 최대 수소 전환율은 연속 운전 전환 시기를 기점으로 60시간 경과 후 나타났으며 각각 0.87 및 0.63 mol H<sub>2</sub>/mol hexose<sub>added</sub>로 나타났다. 60시간부터 108시간 까지 R1과 R2의 수소 전환율은 감소하였다. R1의 경우 156시간 경과 후부터 안정적인 수소 전환율이 나타났으나 R2의 경우 204시간 경과 후 수소가 발생하지 않았다. R1 및 R2의 평균 수소 전환율은 각각 0.50 및 0.33mol H<sub>2</sub>/mol hexose<sub>added</sub>로 나타

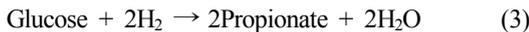
나 열처리에 의해 51.5%가 상승하였다. Lee와 Park (2010)의 연구 결과에 따르면 60°C에서 20분간 열처리된 음식물류 폐기물을 기질로 이용할 경우 수소 전환율이 3.6% 증가 된 것에 비해 70°C에서 20분간 열처리 할 경우 55.6%가 상승하였다. 또한, 70°C에서 60분간 열처리 할 경우 수소 전환율은 68.6%로 나타났다<sup>5)</sup>. 회분식 실험임을 감안하면 본 연구와 유사하게 나타난 것으로 판단된다.

### 3.2 VFAs의 농도 변화

Fig. 2 및 3은 각각 R1과 R2의 VFAs 농도 변화를 제시하였다. 식 (1)과 (2)에는 혐기성 수소 발효 시 포도당을 기질로 이용할 경우 이론적인 수소 발생량을 제시하였다.



초산과 낙산이 생성될 경우 이론적 수소 발생량은 각각 4 및 2mol이다. 프로피온산의 경우 식 (3)과 같이 수소 2mol을 소모 후 생성된다<sup>11)</sup>. 또한, 젖산은 포도당 분해 시 식 (4)에 제시된 것과 같이 수소 생성 없이 2mol이 생성되며 식 (5)와 같이 초산과 프로피온산으로 분해된다.



대표적인 수소 생성 미생물인 *Clostridium sp.*은 식 (2) - (4)에 제시된 물질 대사 경로를 주로 이용한다. 그러나 이론적 수소 발생량이 높은 식 (1)과 같은

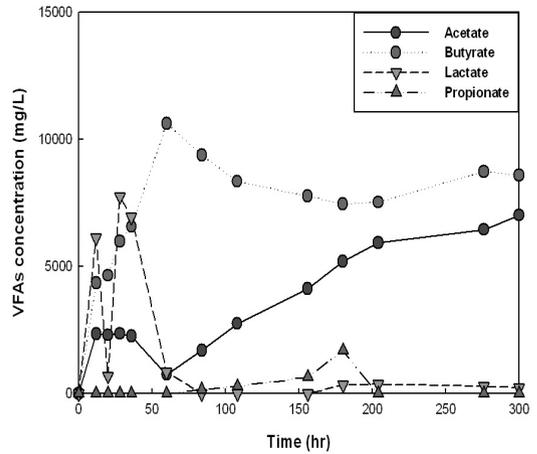


Fig. 2 VFAs concentration at R1

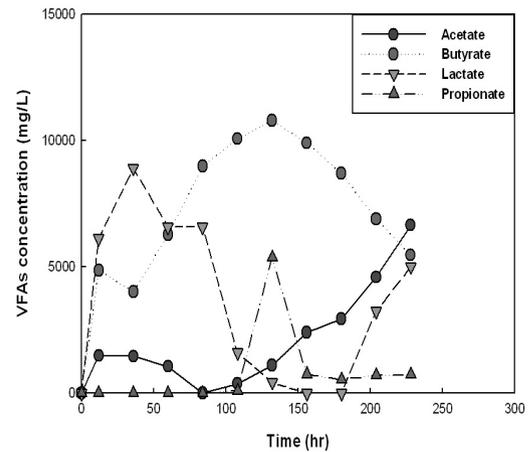


Fig. 3 VFAs concentration at R2

물질 대사 경로는 세포 내 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타이드 (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)의 축적으로 인해 발견되기 어려운 것으로 보고되었다<sup>10)</sup>. 따라서 혐기성 수소 발효 시 발생하는 대부분의 초산은 젖산으로부터 생성된 것이며 안정적인 수소 발효를 위해서는 초산 생성 반응보다는 낙산 생성 반응이 유리한 것으로 판단된다.

연속 운전 전환 84시간 경과 시 R1과 R2에서 프로피온산이 생성되었으며 그로 인해 수소 전환율이 낮아진 것으로 판단된다. R1의 경우 평균 젖산의 농도가 1,964.2mg/L 나타난 것에 비해 R2는 2.0배 높

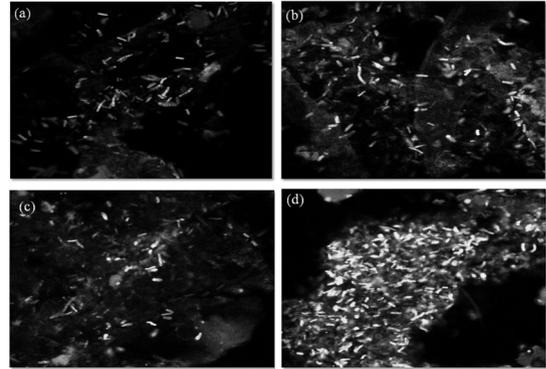
은 3,847.2mg/L로 나타났다. R1과 R2의 낙산 농도는 각각 7,499.4 및 7,597.6mg/L로 유사하게 나타났으나 R2의 초산, 젖산, 및 프로피온산이 높게 나타났다.

이와 같은 결과를 토대로 R1과 R2의 낙산 생성에 따른 수소 발생량은 유사하나 R1에 비해 R2가 프로피온산 생성에 따른 수소 소모량이 많은 것으로 판단된다. 또한, R2의 경우 낙산의 농도는 감소하나 초산 및 젖산의 농도가 증가하는 것으로 보아 수소 생성 미생물보다 수소 생성과 무관한 미생물(젖산 및 초산 생성 미생물)이 우점화 된 것으로 판단된다.

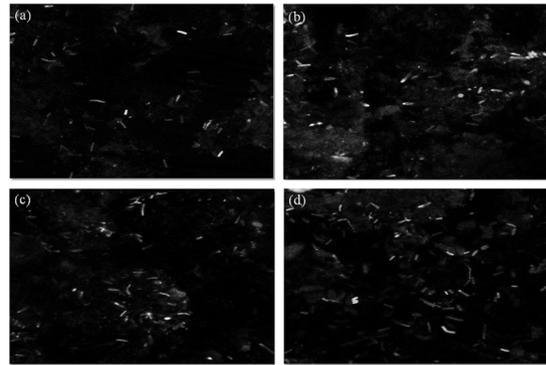
### 3.3 FISH 분석 결과

Fig. 4와 5에는 R1 및 R2의 식종 직후, 0.2mol H<sub>2</sub>/mol hexose 도달 시, 연속 운전 전환 12시간 및 204시간 경과 시 FISH 분석 결과를 제시하였으며 Table 3에는 연속 운전 전환 204시간 경과 시 FISH image를 이용한 정량 분석 결과를 제시하였다.

청록색(Cluster I)과 파랑색(Cluster XI)을 띠는 막대모양이 수소 생성 미생물을 의미한다. Fig. 3(a, b, c)과 4(a, b, c)에 제시된 바와 같이 R1의 수소 생성 미생물 비율이 높은 것으로 나타났으며 이로 인해 R2에 비해 R1의 연속 운전 전환 시기(0.2mol H<sub>2</sub>/mol hexose<sub>added</sub> 도달)가 2시간 빠르게 나타났다. 유기성 폐기물을 이용하여 혐기성 수소 발효 시 혼합미생물을 식종 미생물로 사용한 경우 발견되는 미생물은 *Clostridium butyricum*, *Clostridium pasteurianum*, *Clostridium acetobutyricum* 등이 있다<sup>11,14,15</sup>. 이러한 미생물들의 대부분은 Cluster I에 해당된다. Table 3에 제시된 바와 같이 R1의 수소 생성미생물(Cluster I + Cluster XI)은 전체 미생물 중 77.9%로 나타났으며 R2의 수소 생성물은 27.4%로 나타났다. Fig. 3(d), 4(d)과 Table 3에 제시된 것을 살펴보면 R2에 비해 R1이 총 미생물 중 수소 생성 미생물의 비율이 50.5% 높게 나타났다. R1 및 R2에서 낙산의 농도는 유사하



**Fig. 4** Results of FISH images at R1 (a) seeding, (b) switchover from batch to continuous operation, (c) switchover after 12hr, and (d) switchover after 204hr



**Fig. 5** Results of FISH images at R2 (a) seeding, (b) switchover from batch to continuous operation, (c) switchover after 12hr, and (d) switchover after 204hr

**Table 3** Quantity analysis using FISH images

	Eubacteria			
	<i>Clostridium sp.</i>			Other eubacteria
	Cluster I	Cluster II	Cluster XI	
R1	23.7	0.0	3.7	72.6
R2	72.4	0.0	5.5	22.1

게 나타났으나 R1에 비해 R2에서 초산, 젖산, 프로피온산이 높게 나타났다. FISH 분석 결과, R2의 수소 생성 미생물의 비율은 27.4%로 R1에 비해 낮게 나타났다. R2의 VFAs 농도 변화를 통해 총 미생물 중 수소 소모 미생물(프로피온산 생성 미생물), 수소와 무관한 미생물(젖산 및 초산 생성 미생물)이 우점화된

것으로 판단된다. 그에 반해 R1의 경우 수소 생성 미생물은 77.9%로 우점화 된 것으로 나타났으며 VFAs의 조성과의 비교 시 낙산이 생성되는 미생물(*Clostridium butyricum* 등)이 우점화 되어 안정적인 수소 발효가 진행 된 것으로 판단된다. 따라서 음식물류 폐기물을 이용한 혐기성 수소 발효 시 열처리를 통해 프로피온산, 젖산 및 초산 생성 미생물의 성장을 억제함으로써 판단되며 수소 생성 미생물(특히, 낙산 생성 미생물)의 우점화가 진행되어 안정적인 혐기성 수소 발효가 진행된 것으로 판단된다.

#### 4. 결 론

본 연구는 음식물류 폐기물을 이용하여 혐기성 수소 발효 시 열처리에 따른 수소 발생량, VFAs의 농도 및 미생물의 변화를 평가하였다. 그 결과는 다음과 같다.

- 1) R1 및 R2의 수소 전환율은 각각 0.50 및 0.33mol H<sub>2</sub>/mol hexose<sub>added</sub>로 나타났으며 열처리에 의해 51.5% 향상되었다.
- 2) R1과 R2의 낙산 농도는 각각 7,499.4 및 7597.6 mg/L로 유사하게 나타났으나 초산 및 젖산의 농도는 R2가 R1에 비해 높게 나타났다.
- 3) FISH 분석 결과 R1과 R2의 총 미생물 중 수소 생성 미생물의 비율은 각각 77.9 및 27.4%로 나타났다. FISH분석과 VFAs 농도 변화를 바탕으로 R1에서는 수소 생성 미생물이 우점화 된 것을 확인하였으며 R2에서는 수소 소모 미생물과 수소와 무관한 미생물이 수소 생성 미생물에 비해 우점화 된 것으로 나타났다.

#### 후 기

본 연구는 국토해양부가 출연하고 한국건설교통

기술평가원에서 위탁시행한 2009년도 성능·환경 복원기술(07도시재생04B)에 의한 도시재생 사업단의 지원으로 수행되었습니다.

#### References

1. J. M. Choi, "Optimization of hydrogen production from microalgae using anaerobic fermentation", Master dissertation, The Univ. of Suwon, 2012.
2. Y. H. Jo, B. H. Jo, and H. J. Cha, "Hydrogen production in biological way as alternative energy", J of Korea Organic Resource Recycling Association, Vol. 19, No. 1, 2011, pp. 57-63.
3. C. Y. Lee, S. W. Lee, and S. J. Hwang, "Effect of heat treatment on the start-up performance for anaerobic hydrogen fermentation of food waste", Trans. of the Korean Hydrogen and New Energy Society, Vol. 22, No. 6, 2011, pp. 765-771.
4. J. O. Kim, K. H. Cho, and C. H. Lee, "A study on food waste pretreatment for anaerobic digestion", J. of Korea Organic Resource Recycling Association, Vol. 11, No. 3, 2009, pp. 60-66.
5. C. Y. Lee, and I. G. Park, "Effect of heat treatment on biohydrogen production from food waste", J. of Korea Organic Resource Recycling Association, Vol. 18, No.1, 2010, pp. 81-88.
6. J. C. Lee, J. H. Kim, K. K. Choi, and D. W. Park, "Biological hydrogen production from mixed organic waste of food and activated sludge by pre-treatment", J. of Korean Society of Environmental Engineering, Vol. 29, No. 9, 2007, pp. 1044-1050.
7. S. H. Kim, and H. S. Shin, "Effects of base pretreatment on continuous enriched culture for hydrogen production from food waste", Int. J. of Hydrogen Energy, Vol. 33, No. 19, 2008, pp. 5266-5274.
8. H. S. Shin, J. H. Youn, and S. H. Kim, "Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis", Int. J. of Hydrogen

- Energy, Vol. 29, 2004, pp. 1355-1363.
9. S. H. Kim and C. Y. Lee, "Effects of pretreatment time and pH low set value on continuous mesophilic hydrogen fermentation of food waste", *J. of the Korean Society of Water and Wastewater*, Vol. 25, No. 3, 2011, pp. 343-348.
  10. D. H. Kim, S. H. Kim, K. W. Jung, M. S. Kim, and H. S. Shin, "Effect of initial pH independent of operational pH on hydrogen fermentation of food waste", *Bioresour. Technol.* Vol. 102, No. 18, 2011, pp. 8646-8652.
  11. D. H. Kim, S. H. Kim, I. B. Ko, C. Y. Lee, and H. S. Shin, "Start-up strategy for continuous fermentative hydrogen production: Early switchover from batch to continuous operation", *Int. J. of Hydrogen Energy*, Vol. 33, No. 5, 2008, pp. 1532-1541.
  12. APHA-AWWA-WEF, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 18th edition, American Public Health Assoc., Washington, D. C., USA, 1992.
  13. M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", *Analytical Chemistry*, Vol. 28, No. 3, 1956, pp. 350-356.
  14. S. H. Kim, S. K. Han, and H. S. Shin, "Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter", *Process Biochm.*, Vol. 41, 2006, pp. 199-207.
  15. C. Y. Lin, C. C. Chang, and C. H. Hung, "Fermentative hydrogen production from starch using natural mixed cultures", *Int. J. of Hydrogen Energy*, Vol. 33, 2008, pp. 2445-2453.