

## 고정화 혐기성 미생물에 의한 연속적인 수소 생산

<sup>1,2</sup>김 정 옥 · † <sup>1</sup>김 용 환 · <sup>1</sup>류 정 용 · <sup>1</sup>송 봉 근 · <sup>2</sup>김 인 호  
<sup>1</sup>한국화학연구원 응용화학연구부, <sup>2</sup>충남대학교 화학공학과  
(접수 : 2003. 2. 14., 게재승인 : 2003. 4. 25.)

## Continuous Hydrogen Gas Production by Immobilized Anaerobic Microorganisms

Jeong Ok Kim<sup>1,2</sup>, Yong Hwan Kim<sup>† 1</sup>, Jeong Yong Ryu<sup>1</sup>, Bong Keun Song<sup>1</sup>, and In Ho Kim<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology (KRICT), Daejeon 305-600, Korea  
<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea  
(Received : 2003. 2. 14., Accepted : 2003. 4. 25.)

Hydrogen producing acidogenic microorganisms were self-immobilized using organic-inorganic hybrid polymer within 5 minutes. During the continuous treatment of synthetic wastewater at a hydraulic retention time of 20 hours, at 37°C, pH 5.0, the self-immobilized granules were maintained in a stirred tank reactor. The black colored granules gradually became milky. Image analysis showed that the mean diameter of the milky colored granules ranged from 1.5 to 2.0 mm. The maximum bio-gas production rate was 380 ml/L/hr and the concentration of H<sub>2</sub> was around 50%, while no methane was detected. Granular ECP was extracted and its content was measured to elucidate the role of the organic-inorganic hybrid polymer. Further increases of granule concentration are expected to increase the hydrogen production rate.

**Key Words** : PVA, hydrogen gas, granule, ECP, organic-inorganic hybrid polymer

### 서 론

수소에너지는 연료로서의 우수한 특성과 함께, 1970년대 '에너지 위기'를 겪으면서 화석에너지를 대체할 에너지로서의 관심과 석유에 비해 중량당 발열가능한 에너지가 3배 정도로 높고 이산화탄소, NO<sub>x</sub>를 배출하지 않는다는 점 때문에 그 중요성이 부각되기 시작하였다. 기존의 수소 생산 방법은 나프타 열분해나 물의 전기분해와 같이 고갈위험에 처한 화석 연료를 사용한 방법이 대부분이었고 지구 온난화물질인 이산화탄소 배출요소도 갖추고 있었다는 점에서 환경문제를 해소할 수 있는 환경친화적공정의 개발이 요구되고 있다(1).

혐기성 공정 단계에서 유기물질은 최종 생산물인 메탄가스로 전환된다. 이러한 혐기성 발효공정은 산생성단계와 메탄 생성 단계로 다시 구별되는데 각 단계는 여러 미생물들간의 상호작용과 최적의 pH조건에서 이루어지며, 산생성단계의 생성물이 VFA(Volatile Fatty Acids)와 수소가스를 들 수 있다.

수소발생에 영향을 미치는 인자로는 환경적인 요인(2), pH(3, 4), 체류시간(5)이 있는 것으로 알려져 있다. 수소 생산

균은 낮은 pH에서 활성이 저해되므로 pH 4이하의 낮은 pH는 미생물의 성장을 저해하여 수소 발생을 저해하는 원인이 될 수 있고(4), CSTR(Continuous Stirred Tank Reactor)에서 박테리아의 성장속도는 HRT(Hydraulic Retention Time)에 반비례하는 것으로 연구된바 있기 때문에 HRT는 수소 생산에서 pH와 같이 중요한 인자이다(5).

최근에는 90년대에 와서 *Enterobacter aerogens* (4), *Clostridium butyricum* (6), *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08 (7)와 같은 미생물에 유기물질을 에너지원으로 이용, 광합성 박테리아와 혐기성 박테리아와 같은 순양종을 이용하여 탄수화물로부터 수소가스로의 전환이 보고 되었다. 그러나 순양종의 배양없이도 혼합균주로부터 pH제어(3, 4), HRT조절(5), 실험초기에 메탄 박테리아를 사멸시키는 방법(1)으로 수소 생산을 할 수 있다는 연구결과가 발표되고 있다.

안정적으로 수소 생산을 하기 위해서는 수소 생산 미생물을 반응기내에 고농도로 유지하는 것이 필수적이다. 선행 연구에서의 슬러지의 초기 주입 농도를 유지하고 슬러지의 유실을 감소시키는 방안으로 본 연구에서는 친수성재질의 담체를 이용하여 생물막을 형성시키는 방법과, 유무기 복합 고분자를 이용하여 혐기성 미생물을 granule로 형성시켜 수소 생산 미생물을 고농도로 유지하고자 하였으며 두 방법의 수소 생산능을 비교하였다.

† Corresponding Author : Korea Research Institute of Chemical Technology (KRICT), Daejeon 305-600, Korea  
Tel : +82-42-860-7644, Fax : +82-42-860-7649  
Email : metalkim@kRICT.re.kr

## 재료 및 실험 방법

### 혐기성 발효조

본 연구에 필요한 혼합균주는 D시 하수 처리장의 하수 소화 슬러지를 이용하였으며, 소화 슬러지의 고형물 농도는 42,750 mg/L 정도이고 ash 함량은 20%에 달하였다. 20 g/L 농도의 글루코오스를 주 탄소원으로 하여 COD:N:P = 100:2.5:0.5 로 유지한 유기합성폐수를 슬러지: 기질 = 1: 3으로 주입하여 혼합균주를 배양하였으며 Table 1에 자세한 합성폐수의 조성을 표시하였다. 친수성 재질의 PVA(Poly Vinyl Alcohol)담체는 반응기용량의 20%로 충전시켜 운전하였으며 담체의 상세특성은 Table 2에 표시하였다. 두개의 반응조는 2L용량의 Pyrex재질로 운전하였으며 37±1℃로 항온 유지하였다. 메탄발생 박테리아의 최적 pH는 6.5~7.5로 알려져 있으므로 슬러지 내의 메탄발생 박테리아의 활성을 감소시키기 위하여 정량펌프(Masterflex, USA)를 이용하여 1N NaOH를 간헐적으로 투입하여 pH 5.0~5.5 정도로 반응기 내부의 pH를 유지하였다.

Table 1. Composition of synthetic wastewater

Constituent	Concentration(g/L)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.44
NaCl	1.8
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4.7
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.09
CaCl <sub>2</sub>	0.09
Cystein · HCl	0.5
NaHCO <sub>3</sub>	4
Glucose	20

Table 2. Characteristics of media

Parameters	Specifications
Type	PVA, moving type
Producer	Samsung Engineering, Inc.
Dimension	0.7×0.7×0.7 cm(Average)
Density	0.168 gr/cm <sup>3</sup>
Specific surface area	4.5721 m <sup>2</sup> /gr(as BET)
Contact angle at deionized water(θ)	0.0

### 담체의 특징

담체의 재질은 PVA(Poly Vinyl Alcohol)이고 PVA로 선택한 이유는 PVA가 고흡수성 재질이며 미생물에 친화적이고 친수성이 있어 빠른 흡수력을 보였으며 일단 고정화된 미생물의 탈리현상이 관찰되지 않았기 때문이다.

### 입상화 슬러지 과정

슬러지의 입상화 과정은 다음과 같다. 슬러지 자체는 약 -26mV의 전하를 가지며 슬러지에 전기적인 중화과정을 유도하고자 분자량이 매우 큰 양이온성 선형 및 비선형 고분자(폴리비닐알콜계, 폴리아크릴아마이드계, 폴리아민계, 폴리에틸렌이민계, 변성전분계, 변성셀룰로오스계, 변성키토산계, 플루란계, 주글란계 등)을 하수소화 슬러지를 건조중량대비 0.5~1.0%가 되도록 교반과 동시에 투입한다. 하지만 이런 잔류양이온 말단기는 세포의 활성에 악영향을 줄 수 있으므로

여기에 음이온을 가진 무기물(알루미늄, 실리카, 벤토나이트 등)을 슬러지 건조중량당 0.01~1.0%가 되도록 교반과 동시에 투입하는 방법으로 입상화 슬러지를 5분만에 자체 제작하였다. 제작의 대략적인 과정은 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1(a)는 filamentous microorganism과 flock forming microorganism 등 여러 미생물들이 혼합되어 있는 슬러지 상태를 나타내며 Fig. 1(b)는 혼합된 슬러지에 양이온성 고분자를 투입하고 교반과정을 거친 슬러지에 나노크기의 음이온성 고분자를 투입한 다음 Fig. 1(c) 과정을 거쳐 입자상의 슬러지를 제작하였다.

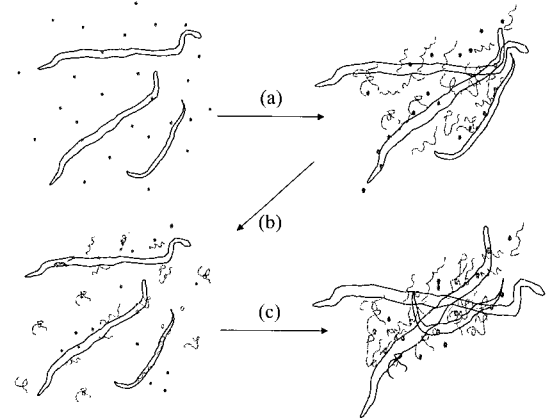


Figure 1. Granulation procedure; a: Initial floc is formed by the addition of cationic polymer to mixed microorganisms, b: Formed floc is disintegrated by shear force, which is imposed by mixer. At this step, large portion of adsorbed cationic polymer remains still on the surface of microorganisms, c: The addition of colloidal silica induces reflocculation of disintegrated flocs. Colloidal silica penetrates into floc and neutralizes excess positive charge of cationic polymer, which results in the formation of compact floc.

### 혐기성 수소 생산 실험 장치 및 분석방법

HRT 조절은 유출수의 글루코오스의 분해효율이 90% 이상으로 일정하게 유지되는지를 관찰한 후 단계적으로 감소하였다. 연속식 반응기의 운전은 가스 발생이 나타난 후부터 시작하였으며 유출수의 샘플은 48 hr 간격으로 채취하여 pH, VFAs, CODcr, MLSS(Mixed Liquor Suspended Solids), 잔존 glucose 등을 측정하였다. pH 측정은 portable pH meter (pH/ISE/DO/ORP/conductivity/temp. meter, Orion, Model 520A)를 사용하였으며 생성된 VFAs는 0.2 μm filter를 통과한 샘플을 organic acid analysis column이 장착된 HPLC(High Pressure Liquid Chromatography, Shodex RI-71, Japan)를 사용하여 분석하였다. CODcr, MLSS분석은 standard method에 따랐으며 잔존 glucose의 분석은 효소를 이용한 비색법 (Glucose assay kit, Sigma, USA)으로 측정하였다. Biogas 발생량은 water displacement method를 통해 측정하였고, 가스의 조성은 TCD(Thermal Conductivity Detector)와 HayesepQ 컬럼(80/100 mesh)이 장착된 GC(Gas Chromatography, DS 6200)을 이용하여 분석하였다. 운전조건으로 온도는 oven 25℃, detector 120℃, injector 90℃로 유지하였으며 carrier gas로 사용된 아르곤 가스의 유속은 30 ml/min이었다.

미생물간 플러크 형성에 영향을 미친 것으로 알려진 granule

의 EPS(Extracellular polymeric substances)분석은 일주일 간격으로 채취된 graule를 autoclave 121°C에서 30분 동안 유지한 후 상층부는 3123 × g에서 30분 동안 원심분리한 후 탄수화물과 단백질을 분석하였다(8).

담체에 부착된 미생물은 동결건조 후 단면을 절단하여 JEOL JSM-840A모델의 SEM(Scanning Electron Microscope, Netherland) 장비를 이용하여 분석하였고, granule단면은 동결박편기(MICROM, Germany)를 이용하여 절단 후 CLSM(Confocal Laser Scanning Microscope, Bio-Rad, UK)을 이용하여 200 배율로 관찰하였다. 혐기성 수소 생산 반응기의 구조는 Fig. 2와 같으며, 교반속도는 60 rpm으로 유지하였다. 연속적인 기질 주입을 위하여 반응기 유출부에 U-tube를 설치하였다.

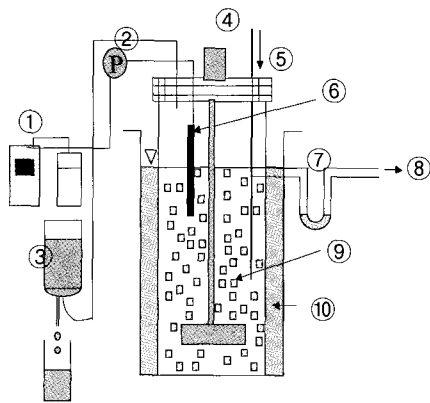


Figure 2. Schematic diagram of anaerobic digestion reactor; ①: pH controller, ②: pump, ③: KOH(11.2%), ④: magnetic drive, ⑤: influent, ⑥: pH probe, ⑦: U tube, ⑧: effluent, ⑨: porous media or granule, ⑩: water jacket.

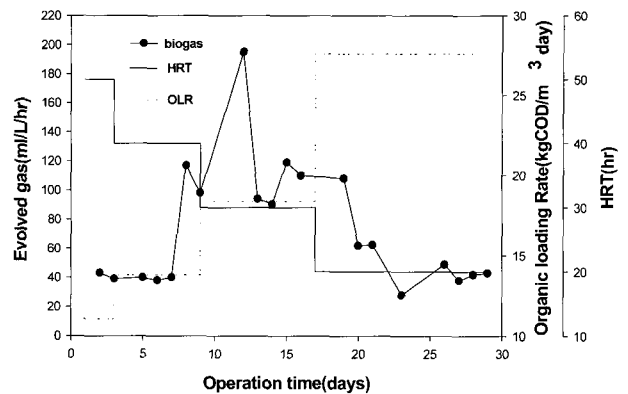
### 결과 및 고찰

#### pH 제어를 통한 친수성 재질의 담체를 이용한 반응조의 운전

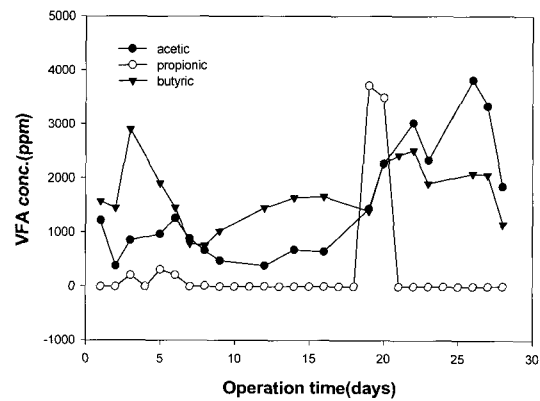
혐기성 공정에서 일정 pH제어를 통한 미생물 대사 경로의 조절로 매탄생성 박테리아의 활성을 저해시키고 고농도의 미생물이 유지된 상태로 연속적인 수소 생산 실험을 실시하였다. Fig. 3은 담체에 부착된 필름상의 수소 생산 미생물을 이용하여 30여일간 운전된 반응기의 HRT변화에 따른 가스 발생속도와, VFAs 농도의 변화, 수소와 이산화탄소가스의 조성 변화를 나타낸 그림이다. 연속식 운전은 가스 발생이 나타나기 시작하고 pH가 5.0±1로 유지되는 지점에서 시작하였으며 Fig. 3(a)에서의 HRT감소시점은 유출수내의 glucose의 전환율이 90%이상을 일정하게 유지되는 경우에 감소시켰다.

Fig. 3(a)에서 초기에는 가스 발생이 낮은 수치를 나타내고, 최대 200 ml/L/hr의 가스 발생량을 나타내는 시점을 지나면 점차 감소하는 양상을 나타낸다. 이는 담체의 부상과 담체내부에서 미생물과 기질간의 접촉의 문제와 담체 내부까지의

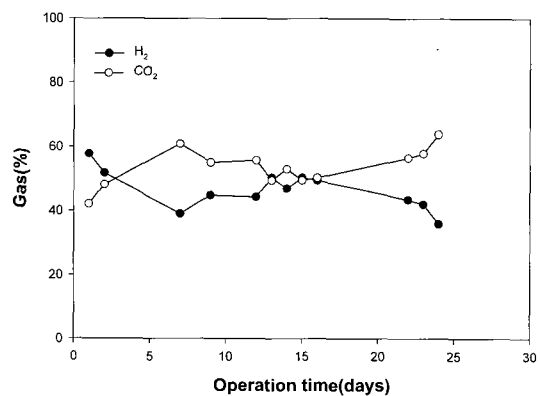
pH 조절의 어려움으로 원활한 pH제어가 이루어지지 않아 가스 발생량이 감소하였다고 판단된다.



(a)



(b)



(c)

Figure 3. Microbial metabolites in biofilm reactor containing PVA support; a: gas production rate throughout operation time, b: VFAs changes, c: gas composition changes.

수소 가스와 함께 산형성 단계의 부산물인 VFAs의 농도 변화는 반응조의 상태를 나타내는 지표가 될 수 있다. 일부 논

문에서는 반응조 head space 내의 수소의 부분압 증가는 산형성 박테리아가 수소의 발생을 저해하고 많은 propionic acid의 축적으로 발효의 대사과정을 변환시킨다고 알려져 있다. 또한 propionic acid 박테리아는 본 실험에서 제어한 pH = 5 조건에서는 wash out되거나 전체적으로 활성이 없다고 알려져 있다(9). Fig. 3(a)에서와 같이 10일 후에 최대의 가스 발생량을 나타내고 이후 감소하는 것과 Fig. 3(b)의 그래프에서 20일경의 propionic acid가 축적되는 것은 propionic acid의 생성에 있어서 제한기질은 수소가스이고 따라서 수소가스의 생성은 propionic acid의 생성을 유발할 수 있다는 것으로 판단된다. 특히 propionic acid는 pH가 5.8이하에서는 associated form으로 존재하여 미생물에게 독성을 줄 수 있을 것으로 판단되며, propionic acid생성 균주는 수소생산 균주에 비하여 non-spore생성균주로써 외부환경이 불균일할 경우 높은 생장속도를 가질 수 있다고 생각된다. 또한 propionic acid의 축적을 저해하기위한 pH는 본 실험에서와 같이 5.0이 적절하다고 판단되며 head space 내의 수소의 부분압은 휘발성산 축적의 전환과정에 영향을 미친다고 생각된다.

산생성 미생물에 의한 수소생산은 acetic acid와 butyric acid가 생성될 때 여분의 전자를 받아서 발생되는 것은 식 1과 식 2로 설명되어지며 acetic acid와 butyric acid는 수소가스 발효에서의 주 발효산물로 알려져 있다(1). 글루코오스로부터 산생성은 초기에는 butyric acid의 축적이 우세하나 propionic acid가 축적된 후부터는 acetic acid의 축적이 우세한 경향을 나타내는 것은 반응조 내의 미생물 군집이 propionic acid의 축적 후 acetic acid생성 미생물군의 증가로 판단된다.

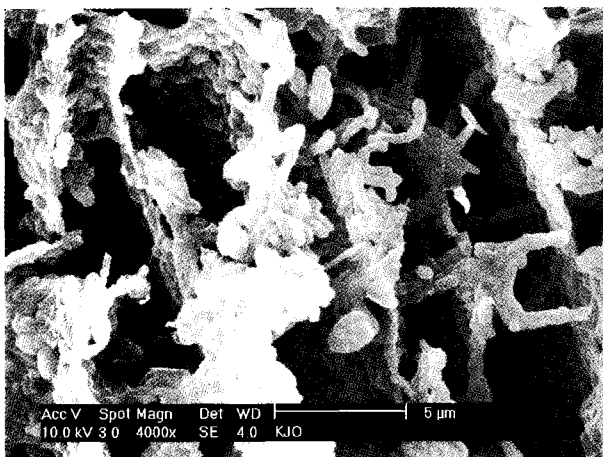
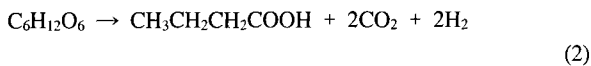
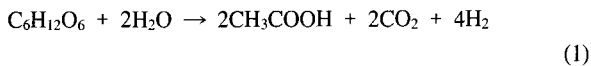


Figure 4. SEM of the hydrogen producing microorganism.

Fig. 3(c)에서는 운전기간동안 수소가스와 이산화탄소 가스는 일정한 조성을 나타내는 것을 알 수 있고, pH = 5.0제어를 통해 메탄생성 박테리아의 유실과 활성의 저하로 메탄가

스는 검출되지 않았다.

Fig. 4는 담체에 부착된 수소 생산 미생물의 형태를 SEM(Scanning Electron Microscopy)를 통해 배율 4,000배로 관찰한 그림이다. 이 미생물 군집은 산생성과 수소생산 환경하에서 적응된 미생물로 판단되며 전체적으로 실린더 모양의 세포군을 보이고 있다는 것을 알 수 있다.

**입상화 슬러지를 이용한 반응조의 운전**

혐기성과 호기성 슬러지는 미생물간 플러를 만들려는 경향이 있다. 이 입상화 기작은 충분히 규명되지 않았지만 플러 형성에는 미생물이 분비하는 체외고분자와 슬러지의 전하가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(10).

이에 본 논문에서는 하수 소화슬러지에 전기적인 중화와 가교결합을 이용하여 granule형태를 만들기 위해 유무기 복합 고분자를 투입하는 방법으로 입상화 슬러지를 제조 하였다. 입상화 슬러지는 소화 슬러지에 비해 밀도가 높기 때문에 슬러지의 유실을 방지할 수 있었으며 안정적이고 지속적인 수소 발생을 관찰할 수 있었다. 운전기간동안 반응조의 색깔 변화가 나타났는데 15~20일 경과한 후에는 초기의 전형적인 혐기성인 검정색에서 회색으로 변화하였고 이후에도 유지되는 것도 관찰할 수 있었다. 이러한 색깔 변화는 수소 발생 조건 하에서 적응된 미생물의 특성으로 판단되며 적응된 미생물은 계속적으로 유지 성장하는 것으로 사료된다. 또한 sulfidogenic bacteria는 pH > 6.0부근에서 HS<sup>-</sup>이온이 어두운 색깔을 내는 금속과 결합 가능하지만 실험 pH 조건인 5.0에서는 H<sub>2</sub>S 결정상태로 존재하여 메탈이온과 결합이 불가능하여 회색의 반응조로 변화되었다고 판단된다(3). SRB(Sulfidogenic Reduction Bacteria)의 유실과 활성의 저하는 VFAs 중에 독성을 주는 특정 VFA의 고농도축적에 의한 것이라기보다는 VFAs의 축적에 의해 저하된 pH가 직접적인 원인이라고 하겠다.

Fig. 5는 입상화한 슬러지를 37 ± 1℃, 60 rpm으로 교반을 유지하였을 경우의 HRT변화에 따른 가스 발생속도, VFAs의 변화, 가스조성의 변화를 나타낸 그림이다.

Fig. 5(a)의 그림에서 담체에 부착된 수소 생산 미생물을 운전한 반응조의 경우보다 장시간 높은 가스 발생을 관찰할 수 있었다. 초기에는 산생성 시 중간생성물인 acetic acid, butyric acid의 축적으로 pH가 떨어지고 산생성의 pH로 유지가 되면서 나타나는 미생물들의 대사과정의 전환으로 가스 발생은 많지 않았다고 생각된다. 발효과정 중 글루코오스의 분해에 의한 수소 발생능은 butyric acid/acetic acid의 비로도 결정되어진다. C. butyricum의 경우 butyric acid가 축적될 때 더 많은 수소가스가 발생하는 것으로 알려져 있고 이 ratio값은 2이고 Butyribacterium methyotrophicum의 경우는 0.75 정도인 것으로 알려져 있다(11). 본 논문에서는 운전기간동안의 ratio값은 평균 3.42를 나타내었으며 이 ratio값이 클수록 수소 발생에 유리한 것으로 판단된다.

입상화 슬러지를 이용한 반응조에서 최대 수소 발생량은 28 kg COD/m<sup>3</sup> · day 부하에서 하루에 반응기 용량(L)당 4.4 L이었으며 PVA담체 결과에 비하여 약 2배 높은 수치였다. Fig. 5(b)는 VFAs의 변화를 나타내며 propionic acid의 축적은 거의 이루어지지 않았으며 주요 발효 산물은 butyric acid

이웃음을 관찰할 수 있다. Fig. 5(c)에서도 Fig. 3(c)에서와 마찬가지로 메탄발생은 없었다.

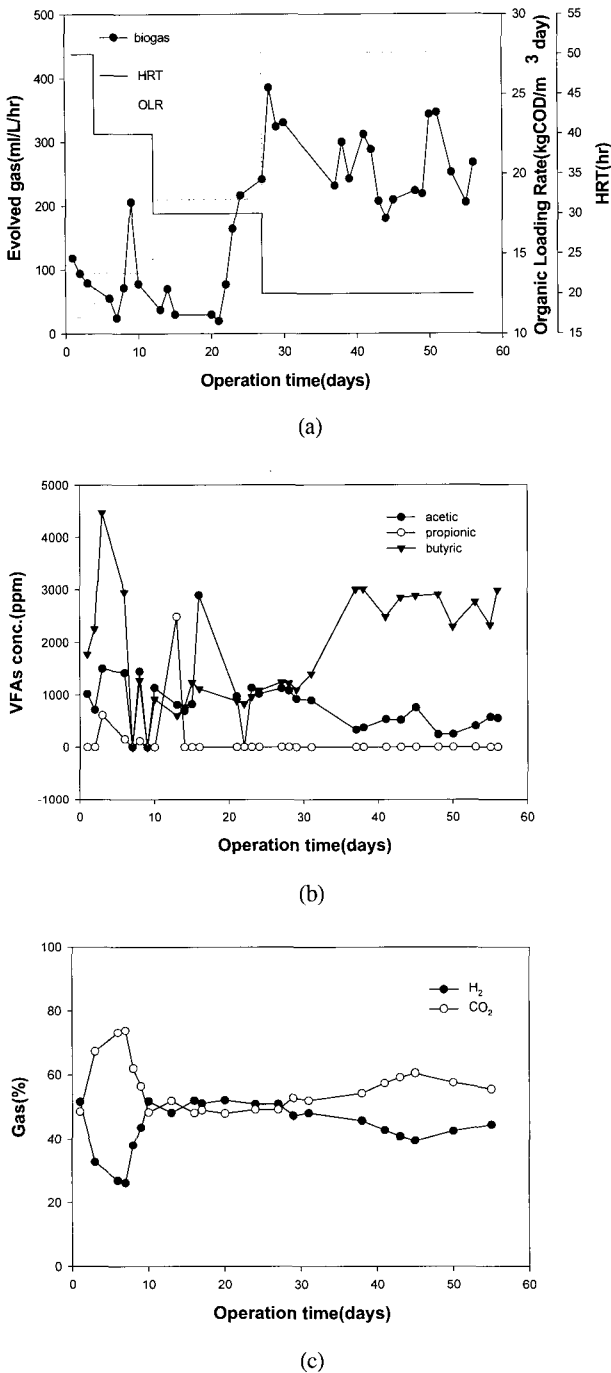


Figure 5. Microbial metabolites in bioreactor containing granulated support; a: gas production rate throughout operation time b: VFAs changes, c: gas composition changes.

**EPS와 그레놀의 안정성 및 수소생산과의 관계**

미생물이 분비하는 EPS(Extracellular Polymeric Substances)와 슬러지의 표면 음전하는 미생물을 성장유지시키는 중요한 역할을 한다. 이는 하수 소화 슬러지의 음전하를 이용하여 양전하물질을 투입하면 혐기성 소화 슬러지의 그레놀화를 촉

진할 수 있다는 것을 의미한다. EPS는 carbohydrate, protein, nucleic acid로 구성되어있다고 알려져 있으며, 혐기성 소화 슬러지의 경우에 nucleic acid의 양은 미미한 것으로 나타나 있다(11). 유기물 복합고분자로 제조된 입상화 슬러지로 충전할 경우 슬러지에 비해 밀도가 크기 때문에 침강속도가 빨라서 유실을 방지할 수 있었던 것으로 생각된다.

Table 3은 EPS 조성과 수소 생산과의 관계를 나타낸 표이다.

Table 3. Extracellularpolysaccharide composition and H<sub>2</sub> gas evolution rate of hydrogen producing microorganisms

Day	EPS(mg/gVSS)		% of EPS in ECP		H <sub>2</sub> rate (ml/L/hr)	H <sub>2</sub> (%)
	carbohydrate	protein	carbohydrate	protein		
15	77.7	17.9	81.3	18.7	30	50
22	49.6	12.2	80.3	19.7	77	50
29	77.2	16.3	82.6	17.4	324	47
37	15.5	9.4	62.2	37.8	231	50
43	7.3	9.5	43.7	56.3	207	41
50	23.1	9.2	71.5	28.5	343	50

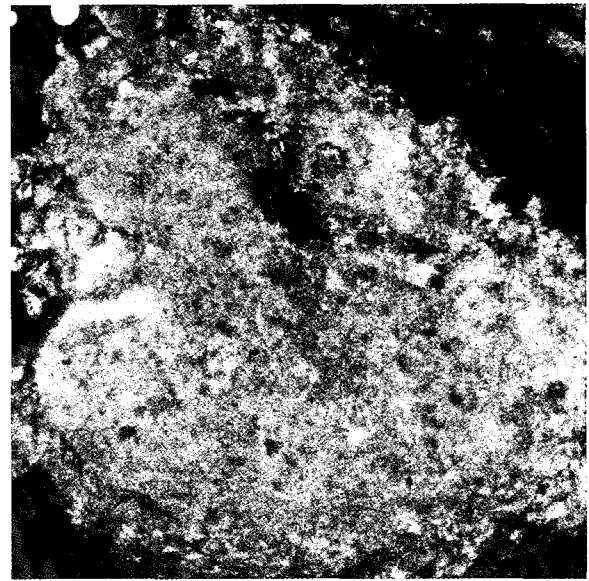


Figure 6. Single hydrogen-producing granule under confocal laser scanning microscope.

Granule은 일주일 간격으로 채취하였으며 EPS 물질중의 carbohydrate와 protein분석을 통해 EPS 함량이 높을수록 미생물간 점착력이 증가하고 granule 형태유지가 가능하고 고농도 미생물 유지가 가능하였기 때문에 수소 발생량이 높았다고 생각된다. 또한 낮은 EPS 함량은 granule을 약하게 하여 granule 해체의 원인이 된다고 보고된 바도 있다(11). Granule의 경우에는 stirring중에 일부 슬러지가 떨어져 나가기 때문에 UASB(Upflow Anaerobic Sludge Blanket)의 입상슬러지에 비해 size가 적었음을 확인할 수 있었다. EPS 함량이 적은 경우에는 수소가스의 농도는 낮았으며 반응기 운전 2주일간의 수소 발생량이 낮은 것은 수소 발생조건하에서 미생물간의 대사과정의 변환으로 적응되지 못한 미생물의 wash out이

이루어진 것으로 사료된다. 동결박편기를 이용하여 절단된 granule의 단면은 Fig. 6과 같다. 미생물이 응집된 granule 형태는 granule의 내부까지 물질전달문제와 내부 pH에 대해서는 추가적인 연구가 더 필요한 부분이다.

## 요 약

하수 소화 슬러지에 pH제어를 통해 메탄발생 박테리아의 활성을 저하시키는 방법으로 수소발생에 관한 실험을 실시하였다. 반응조는 2 L 운전용적으로 혐기상태로 운전하였으며 37±1℃로 항온 유지하였다. pH제어는 1N NaOH를 간헐적으로 주입하였으며 연속적인 운전조작은 가스발생이 나타난 후부터 시작하였다.

슬러지의 유실을 방지하는 방법으로 PVA계 친수성 재질의 담체를 사용한 결과 PVA담체는 혐기성 미생물의 성장 시 최적의 환경을 제공하고 기질과 미생물간의 물질전달이 우수한 담체임을 확인할 수 있었다. 한편 슬러지에 유기물 복합 고분자를 투입하는 방법으로 입상화 슬러지를 제조시켜 반응조에 투입하였을 때 밀도를 가진 슬러지는 고농도의 미생물유지가 가능하였다고 판단된다. 입상화 슬러지는 초기의 전형적인 혐기성색깔인 검정색에서 회색으로 변화하였으며 입경 분포는 1.5~2.0 mm 정도이었다. 최대 바이오가스 생산량은 380 ml/L/hr였으며 수소가스조성은 50%에 달하였다. 입상화 슬러지는 슬러지의 유실을 방지함으로써 고농도의 미생물 유지가 가능하다고 판단된다.

## 감 사

본 연구는 에너지관리공단과 삼성엔지니어링의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

1. Ueno, Y., T. Kawai, S. Sato, S. Otsuka, and M. Moritomo (1995), Biological production of hydrogen from cellulose by natural anaerobic microflora, *J. Ferm. Bioeng.* **79**, 395-397.
2. Fang, H. H. P., H. Liu, and T. Zhang (2002), Characteristics of a hydrogen-producing granular sludge, *J. Biotechnol. Bioeng.* **78**, 44-52.
3. Fang, H. H. P. and H. Liu (2002), Effect of pH and hydrogen production from glucose by a mixed culture, *Biores. Technol.* **82**, 87-93.
4. Tanisho, S., N. Kamiya, and K. Noriaki (1989), Hydrogen evolution of *Enterobacter aerogenes* depending on culture pH, *Biochim. Biophys. Acta* **973**, 1-6.
5. Fang, H. H. P. and H. Q. Yu (2000), Effect of HRT on mesophilic Acidogenesis of dairy wastewater, *J. Environ. Eng.* **126**, 1145-1148.
6. Andel, J. G. V., G. R. Zoutberg, P. M. Crabbendam, and A. M. Breure (1985), Glucose fermentation by *Clostridium butyricum* grown under a self generated gas atmosphere in chemostat culture, *Microbiol. Biotechnol.* **23**, 21-26.
7. Kumar, N. and D. Das (2000), Enhancement of hydrogen production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08, *Process Biochem.* **35**, 589-593.
8. Bhatti, Z. I., K. Furukawa, and M. Fujita (1995), Comparative composition and characteristics of methanogenic granular sludge treating industrial wastes under different condition, *J. Ferm. Bioeng.* **79**, 273-280.
9. Inanc, B., S. Matsui, and S. Ide (1996), Propionic acid accumulation and controlling factors in anaerobic treatment of carbohydrate effect of H<sub>2</sub> and pH, *Wat. Sci. Tech.* **34**, 317-325.
10. Jia, X. S., H. H. P. Fang, and H. Furumai (1996), Surface charge and extracellular polymer of sludge in the anaerobic degradation process, *Wat. Sci. Tech.* **34**, 309-316.
11. Chen, C. C., C. Lin, and M. C. Lin (2002), Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 224-228.