

고온·호기법에 의한 중화요리잔반의 처리 과정에서의 중·고온균의 분리 및 특성

양재경 · 서용기¹ · 최경민 · 박응로 · 황 기¹ · 이성택

한국과학기술원 생물과학과, ¹계명대학교 식품가공학과

Isolation and Characteristics of Mesophilic or Thermophilic Bacteria from the Treating Process of Chinese Restaurant Wastes Using Thermophilic Oxic Process. Jae-Kyung Yang, Yong-Ki Seo¹, Kyung-Min Choi, Eung-Roh Park, Key Whang¹ and Sung-Taik Lee. Department of Biological Science, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Taejon 305-701, Korea, ¹Department of food Science and Technology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea – The studies of isolation and physiological characteristics of mesophilic or thermophilic bacteria from thermophilic oxic process (TOP) treating Chinese restaurant wastes were conducted. Chinese restaurant wastes were consist of moisture; 75.8%, solids; 24.2% and ash; 0.49%. The volatile solid was about 99% of total dry solids. In wastes used in this experiment, there was content of crude protein; 4.47%, crude lipid; 3.56%, free sugar; 0.4%, crude starch; 10.34% and crude fiber 3.14%, respectively. And then it has about 4,970 kcal/kg-dry solid of Chinese restaurant wastes. From TOP treating the chinese restaurant wastes, 37 strains of mesophilic or thermophilic bacteria were primarily isolated using medium used for the isolation and among them 6 strains of thermophilic and 7 strains of mesophilic bacteria were selected by testing the activities of amylase, cellulase, protease and lipase. TB-1, TB-9 as thermophilic bacteria and MB-15-1, 15-2, MB23 as mesophilic bacteria having strong enzyme activity were selected among isolated strains. All selected strains reduced nitrate to nitrite and they utilized glucose, manose, manitol, and maltose as carbon source. From these MB15-2 was identified as *Bacillus cereus*, TB1; *Bacillus licheniformis* and TB9; *Bacillus schlegelii*.

산업의 발달과 생활수준의 향상으로 에너지의 소비와 발생되는 폐기물량이 날로 증가되어 가고 있는 실정이다. '95년 우리 나라에서 발생한 폐기물은 약 47,774톤으로 써 이중 생활폐기물은 36,192톤으로 총폐기물의 76%에 이른다. 또한 도시에서 발생하는 유기성 폐기물로는 당밀폐수, 양조폐액, 수산가공폐기물, 축산 가공폐기물, 그리고 음식물 찌꺼기 등을 들 수 있으며, 농촌에서는 음식물쓰레기와 축산분뇨 등으로 악취의 유발과 수계의 부영양화를 촉진하는 물질이 대부분이다(1). 이와 같이 다양하게 발생하는 오염물질의 처리와 처분을 위한 공정은 오염물질의 수만큼 새롭게 개발되고 있는 실정이지만, '94년도 국내 폐기물의 처리는 매립 81.1%, 소각 3.5%, 재활용 15.4%로 대부분 매립에 의존하고 있고, 지금까지 개발된 방법들은 처리효율과 경제성 측면에서 실용화하기 어려웠다(2, 3).

한편, 고온·호기 공정이 고농도 유기성 폐기물처리를 위한 방법으로 주목을 받고 있다(4). 이 방법은 유기물을 생물학적으로 완전히 산화함으로써 이산화탄소로 전환하는 동시에 유기물이 미생물에 의해 산화될 때 발생하는 에너지를 이용하여 투입된 수분이 완전히 증발된다.

또한 고온·호기 공정 중에서 유기물 분해에 기여하고 있는 호열성 미생물은 내생호흡속도가 빨라 잉여오니의 발생이 극히 작아서 배수와 잉여오니에 의한 2차적 환경오염 부하가 적은 것이다(4-7).

이러한 장점 때문에 고온·호기공정은 제안폐수, 소주폐액, 농축 오니, 혐기성 소화액, 식품가공 폐기물, 축산폐기물 음식물 잔반 등의 고농도 유기성 폐수, 폐기물의 처리에 널리 이용되고 있으나(4-6, 8), 이들의 분해에 기여하고 있는 미생물에 대한 연구는 매우 부진한 상태이다. 고온·호기 공정에 의해 고농도 유기성 폐기물을 처리할 때 미생물의 특성을 이해하고, 이를 공정의 설계에 반영한다면 보다 효과적인 처리 방법이 될 것이다(9-12). 따라서 본 연구에서는 중화요리점에서 발생하는 고농도 유기성 폐기물인 잔반을 수거하여 혐기성 소화-고온·호기 공정 중 고온·호기 공정에 의해 처리되는 과정에서 유기물분해에 관여하는 미생물을 분리하고 형태, 생리학적 특성을 고찰하였다. 여기에서 혐기성 소화-고온·호기 공정은 고온·호기 공정에서 미생물에 의해 유기물이 분해될 때 발생하는 열에너지를 고온·혐기성 소화에 재이용하려는 목적으로 고안된 것이다.

재료 및 방법

실험장치

*Corresponding author

Tel. 82-42-869-5617, Fax. 82-42-869-5617

E-mail: KATION Chollian net.

Key words: Chinese restaurant wastes, Mesophilic bacteria, Thermophilic bacteria, Thermophilic oxic process

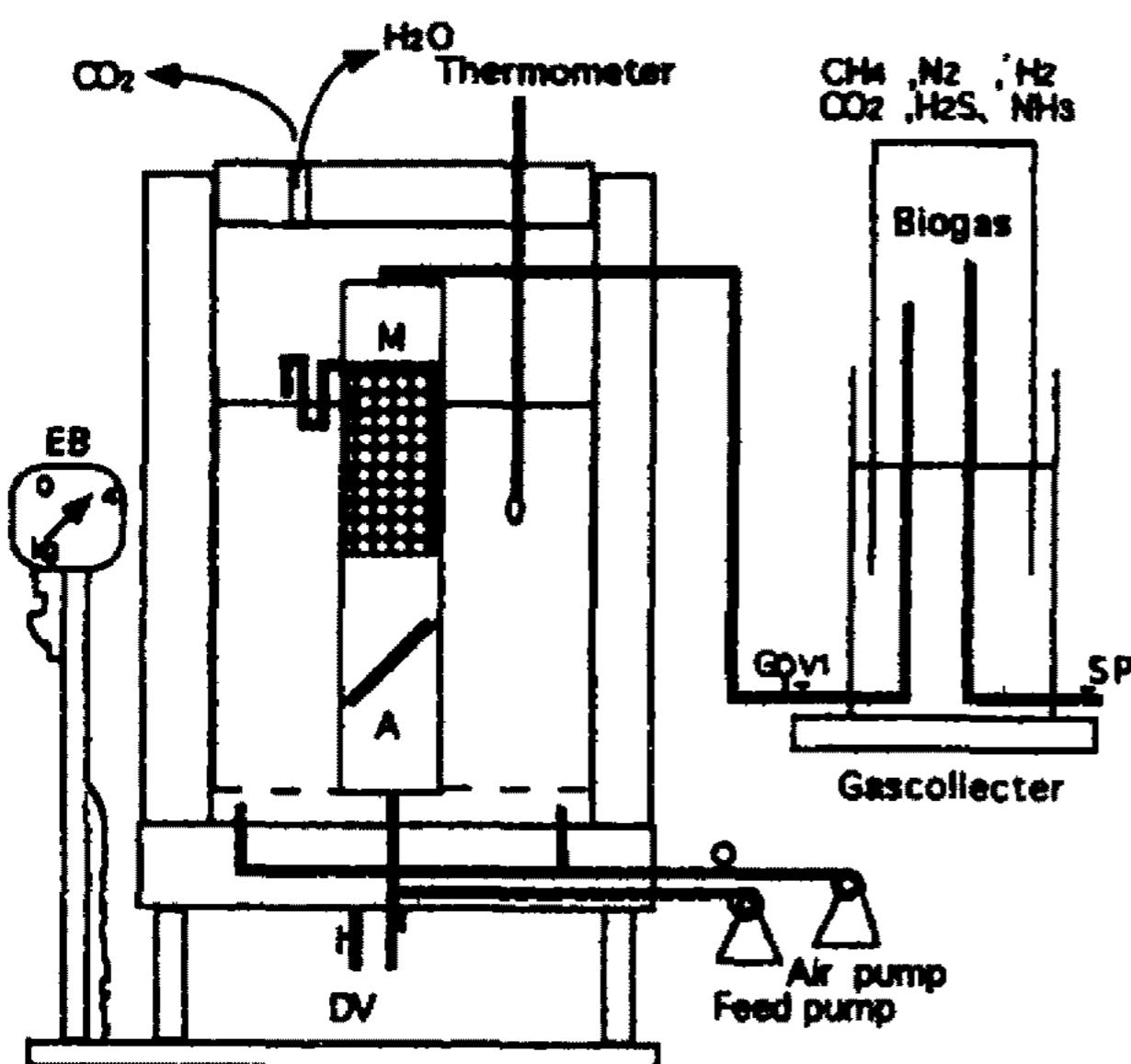


Fig. 1. Schematic diagram of anaerobic digestion thermophilic oxic process.

M; methanogenic phase, A; acidogenic phase, G; gage, V; valve, SP; sampling pot, EB; electronic balance, DV; drain valve.

Fig. 1에 본 연구에서 이용된 실험장치를 나타내었다 (8). 반응조는 크게 고온·호기 반응조(Thermophilic Oxic Process; TOP)와 협기성 소화조(Anaerobic Digestion tank; ADT)로 구성되며, TOP가 ADT를 둘러싼 형태로 되어 있다. TOP은 지름 430 mm, 높이 700 mm, 유효부피 60 l, 두께 10 mm인 아크릴수지 제품의 원통형 구조로 되어 있으며, 반응조의 하부에는 공기의 분산을 돋기 위해 약 5 mm의 구멍을 뚫어 만든 아크릴 판을 설치하였다. 여기에 압축공기를 이용하여 하부로부터 실험 조건에 따라 통기하였다. 또한 반응조의 외부에는 단열재(아티론)를 약 30 mm의 두께로 단열하여 미생물의 활동에 의해 발생하는 열에너지의 손실을 억제하였다. 이러한 TOP 실험장치 안에 지름 90 mm, 높이 570 mm, 유효부피 3.63 l인 원형 아크릴수지로 만들어진 협기성 소화조를 삽입한 형태이다. 유기산 축적으로 인한 메탄 생성균의 활성에 대한 직접적 저해현상의 방지를 위해 협기성 소화조의 하부로부터 약 200 mm 높이에 이중 아

크릴 경계판을 설치하였다. 상부에는 지름이 약 10 mm의 라텍스튜브를 길이 약 10 mm정도로 절단하여 일부 채움으로서 협기성 소화조의 미생물의 밀도를 높이도록 구성하였다. 또한 각 연결부위마다 바셀린으로 도포한 뒤 볼트와 너트로 조여 밀착시킴으로서 외부의 공기와 완전히 차단하여 협기성 상태가 양호하게 유지되도록 하였다.

수거해온 음식물 쓰레기를 균일하게 혼합한후 183 Kg · m⁻³의 용량부하 조건으로 TOP에 투입을 하였다. 통기 속도는 250 l/m³ · min로 일률적으로 조정하였으며 교반은 하루에 1회 행하였다. 실험 기간중 중량의 변화, 온도, 함수율, 이산화탄소의 농도변화, pH 등이 음식물 쓰레기의 음식물 쓰레기의 처리특성을 평가하기 위하여 상시적으로 측정하였다.

미생물의 배양배지

유기물의 투입 시기로부터 초기의 투입된 중량, 함수율, 온도 상승과 강화 그리고 이산화탄소의 발생이 투입전과 같아질 때를 1회전으로 간주하였다. 고온·호기성 반응조가 정상적인 상태로 운전되고 있을 때 1회전의 반응 시간 동안 온도 변화에 따라 주기적으로 혼합물을 채취하여 미생물의 분리 및 변화를 관찰하였다. 분리는 먼저 5g의 혼합물을 채취하여 95 ml의 멸균식염수(0.85% NaCl)에 넣고 초음파기를 이용하여 40W에서 30초 동안 균일하게 분산 혼탁시켰다. 그 후 멸균수에 단계적으로 희석한 후 평판배지에 도말하였다. 평판배지는 일반세균용(Soybean-casein digest medium), 방선균(Actinomycete isolation agar medium) 그리고 균류용(Potatodextrose)의 3종류를 사용하였으며(Table 1), pH는 균류용 배지가 5.6으로 조절된 것을 제외한 방선균 및 일반세균은 7.3으로 조정되었다(9). 중온성과 고온성 미생물의 계수를 위한 배양 온도는 각각 30°C 와 55°C로 조절하였다.

미생물의 형태학적 관찰

미생물의 형태학적 특성을 관찰하기 위해 광학현미경 및 주사현미경(SEM)을 이용하였다. 여기에서 주사현미

Table 1. Compositions of media for isolation of micro-organisms from TOP

Soybean-casein digest medium (g/l)	Potato-dextrose medium (g/l)	Actinomycete isolation medium (g/l)	
Trypticase peptone	17	Potato Infusion	200
Phyton peptone	3	Dextrose	20
Glucose	2.5	Agar	15
NaCl	5		
K ₂ HPO ₄	2.5		
Agar	15		
pH 7.3±0.2 at 25°C		pH 8.1±0.2 at 25°C	
		pH 5.6±0.2 at 25°C	

Note: Soybean-casein digest medium was used for isolation of bacteria. Potato-dextrose medium was used for isolation of molds. Actinomycete isolation medium was used for isolation of actinomycetes.

경에 의한 관찰을 위한 시료의 전 처리는 먼저, pH 7.2, 0.1 M calcium carolyate 완충액으로 두번정도 세척하고, 0.1 M calcium carolyate 완충액에 2.5% 농도로 녹인 glutaraldehyde용액으로 pH 4에서 72시간 동안 고정하였다. 그후 시료를 물과 에탄올 혼합액(50~100%)에서 각각 45분 동안 단계적인 탈수과정을 거치고 100% 에탄올에서 16시간 처리했다. 그 다음 액체 CO₂를 이용하여 임계점 건조후 탄소로 코팅한 다음, Jeol JSM-T300 주사현미경으로 20 Kv에서 촬영하였다(5).

미생물의 균주 선별 및 동정

미생물의 균주 선별은 한천 평판 배지에 도말하여 30 °C 및 55°C의 온도에서 고온성 세균은 24시간, 중온성 세균은 48시간, 방선균과 곰팡이는 고온성과 중온성에 관계없이 7일간 배양하였다. 배양된 미생물중 amylase, cellulase, protease, lipase 등의 효소활성이 높고, 우점종을 이루는 균주들을 선별하였다. 일차적으로 선별된 균체는 최종 선별을 위해 사면 배지에 옮겨 4°C에서 보관하였으며, 2차 선별은 일차적으로 분리된 균주를 각 효소의 활성을 측정하여 상대적으로 효소 활성이 높은 균주를 선별하였다. 이렇게 분리된 균주의 동정은 Bergey's manual of determinative bacteriology(13)에 의한 방법에 따라 실시하였다.

중화요리 잔반의 특성

중화요리 잔반 시료의 수분 함량 측정은 상압가열 건조법을 이용하였다. 시료를 일정량 취하여 건조기에서 105°C로 2시간 건조한 후 desiccator속에서 방냉시켜 0.1 mg까지 정확히 측정하여 감소된 중량을 수분으로 함량을 구하였다.

회분함량 및 조지방 함량, 조단백질함량, 환원당, 및 조첨유의 함량 분석은 AOAC 방법에 따라 수행하였다(14).

효소활성 측정

1차적으로 분리 준주들로 부터 유기물 분해 능력이 우수한 균주들을 선별하기 위해 각균주의 amylase, protease, lipase 그리고 cellulase활성도를 측정하였다(10).

Amylase 활성측정 1%의 soluble starch 또는 raw starch를 첨가한 nutrient agar 배지를 효소 활성 측정용 배지로 사용하였으며, 측정방법은 지름이 17 cm인 멸균된 petri dish에 배지를 부어 굳히고 배지 표면을 풍건한 후, 내경이 7 mm인 stainless steel cylinder를 올려놓고, 분리균주를 LB 배지에 18시간 배양한 배양액 20 μl를 cylinder내로 주입한 다음 50°C에서 일정시간 배양하고, I2-KI용액을 분무하여 형성된 clear zone의 지름을 측정하였다. Raw starch에 대해서는 배양 후 생긴 clear zone의 지름을 직접 측정하였다.

Protease 활성측정 1%의 skim milk를 첨가한 nutrient agar 배지를 효소활성 측정용 배지로 사용하였으며, skim milk가 분해되어 생긴 clear zone의 지름을 측정하였다.

Lipase 활성측정 LB 배지에 0.5%의 tributyrin을 첨가한 배지를 사용하였으며, tributyrin이 분해되어 생긴 clear zone의 지름을 측정하였다.

Cellulase 활성측정 기질로서 0.5%의 CM-cellulose를 함유하고 있는 배지를 사용하였으며, 0.1% congo red 용액을 가하고 30분간 유지시킨 후 1M NaCl 용액으로 15분간 세척했을 때 생긴 clear zone의 지름을 측정하였다.

결과 및 고찰

중화요리 잔반의 물리화학적 특성

Table 2는 중화요리점에서 배출되는 중화요리잔반의 물리·화학적 특성을 나타낸 결과이다. 혐기성 소화조에 에너지를 전달할 고농도 유기성 폐기물은 한국과학기술원(KAIST) 부근의 Y 중국 음식점에서 발생하는 음식물쓰레기를 수거하여 이용하였다. 일반적으로 중국 음식점의 폐기물은 면류와 삶은 야채 그리고 오징어를 비롯한 해산물 등으로 이루어져 있으며, 함수율은 74.7%였다. 고형물은 25.3%이며 이 중에서 휘발성 고형물은 98% 이상으로 유기성 폐기물임을 알 수 있다. 고형물중의 총질소(T-N)는 약 2.2%, 총탄소(T-C)는 약 36.6%였으며 C/N비는 약 16.3이었다. 그리고 P는 약 1.0%, K는 약 5.0%, Ca는 약 3.1%, Mg는 약 1.4%, 그리고 Na는 약 1.6%를 포함하고 있었다. 또한 이들 고형물은 단위 중량당 약 4,970 kcal/kg-dry solid의 발열량을 가지고 있었다. 취해온 시료는 성분적 특성이 변질되는 것을 방지하기 위하여 5°C이하의 저온 저장실에 보관 사용하였으며 사용시에는 고온·호기 프로세스(이하 TOP)에서 온도의 영향을 최대한 억제하기 위하여 실온과 같아질 때 투입하였다.

Table 2. Characteristics of Chinese restaurant wastes

Compositions	Contents(%)
Water contents	74.7
Total solids (TS)	25.3
Volatile solid (VS)	98.0
TN	2.2
TC	36.6
C/N	16.3
P	1.0
K	5.0
Ca	3.1
Mg	1.4
Na	1.6
Calorie (kcal/kg-ds)	4,970

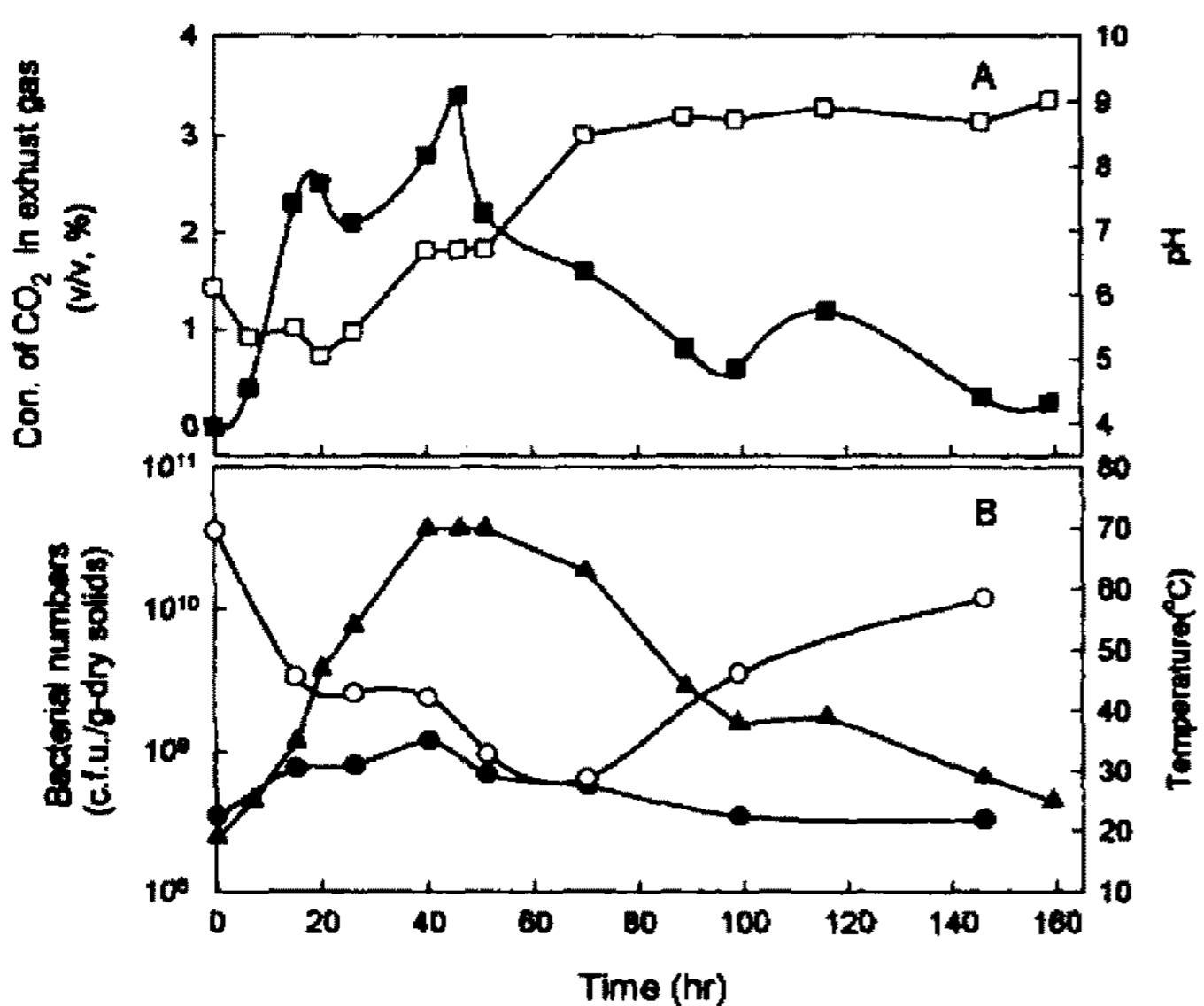


Fig. 2. Time course of colony forming unit, temperature, CO_2 concentrations and pH in the part of TOP in ADTOP under operational conditions; $250 \text{ l} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{min}^{-1}$ of the aeration rate, $30.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ of the volumetric load.
 -●- ; Thermophilic bacteria, -○- ; Mesophilic bacteria, -▲- ; Temperature, -■- ; Carbon dioxide, -□- ; pH.

중화요리 잔반 처리과정중 온도, pH, CO_2 농도 및 미생물 수의 변화

TOP에 의해 중화요리 잔반이 분해되는 동안 중온성 및 고온성 미생물수의 변화와 CO_2 농도, 온도, 그리고 pH의 변화를 Fig. 2에 나타냈다. 중화요리 잔반의 투입량을 $30.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, 공기의 공급속도를 $250 \text{ l} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{min}^{-1}$ 으로 조절하고, 교반은 하루 1회 손으로 골고루 섞어 주면서 검토하였다.

중량과 온도의 하강으로 본 완전 처리기간은 약 160시간(6.7일)이었다. 고온·호기조에서 유기물의 분해 상황은 온도 상승정도와 이산화탄소의 발생농도로 판단할 수 있다. 온도는 운전개시후 10시간 정도에서 40°C 이상으로 상승하여 20시간 후에는 약 60°C 를 나타내었다. 40시간 후에는 70°C 이상의 높은 온도를 나타내었으며, 80시간 까지 50°C 이상을 유지함으로서 미생물에 의한 잔반의 분해가 활발하게 진행되고 있음을 나타내고 있다. 그러나 잔반의 투입 100시간 후부터는 온도가 40°C 로 하강하였으며, 160시간 후에는 30°C 이하로 외부 공기와 같은 온도까지 하강하였다. 이에 따라 이산화탄소의 농도도 많은 폭으로 변화하였다.

Fig. 2의 A는 TOP에 의해 중화요리 잔반이 처리되는 동안의 CO_2 발생농도와 pH 변화를 나타내고 있다. 유기물 투여 후 20시간까지 CO_2 발생농도가 온도상승과 더불어 2.5%로 급격히 증가하였으며 20시간을 넘어서며 소폭의 감소추세를 보이다가 다시 증가를 하여 온도가 70°C 에 달했을 때 CO_2 발생농도는 3.5%를 나타내었다. 50시간 후 CO_2 발생농도는 온도감소와 함께 서서히 감소

를 하였다. 투입 120시간 후 온도가 40°C 로 약간 증가하는 것이 관찰되었는데, 이때의 CO_2 농도는 1.5%로 상승하였다가 감소하였다. 따라서 CO_2 농도는 온도와 같은 양상으로 변화하였으며, 중온·고온의 온도에 따라 2개의 최대점을 확실히 나타내었다. 이러한 결과는 고온·호기조에서 유기물 분해에 기여하는 중온균과 고온균이 활성을 갖는 온도범위가 서로 다르다고 하는 것을 나타낸다(15).

Fig. 2의 B는 TOP에 의해 중화요리 잔반이 처리되는 동안의 중온균과 고온균의 군수 변화를 나타내고 있다. 결과에서 알 수 있듯이 실험초기에 중온균은 3.6×10^{10} C.F.U/g-dry solid였으나 온도의 상승과 함께 감소하여 약 50°C 에서는 2.6×10^9 C.F.U/g-dry solid로, 온도가 70°C 로 증가하였을 때는 9.6×10^8 C.F.U/g-dry solid까지 감소하였다. 반면 고온균의 경우는 실험초기에 3.4×10^8 C.F.U/g-dry solid였으나 온도가 증가함에 따라 증가하여 50°C 에서는 8.0×10^8 C.F.U/g-dry solid로, 70°C 에서는 1.2×10^9 C.F.U/g-dry solid까지 증가하였다. 또한 잔반투입후 약 80시간 후에는 온도와 이산화탄소의 발생농도가 모두 감소하는 경향이었으며 이에 따라 온도의 증가에 따라 감소하였던 중온균은 다시 증가하는 경향이 뚜렷히 나타났다. 그리고, 본 연구에서는 중온균의 군체수보다 고온균의 군체수가 대체적으로 낮게 나타났다. 잔반이 TOP에 의해 처리되는 동안 pH의 변화도 관찰하였는데 투입 직후 20시간까지는 감소하여 약 5.5를 나타냈고, 40시간 이후에는 급격히 증가하여 7.0으로 중성을 나타내었다. 이는 더욱 증가하여 80시간 이후에는 pH가 약 9.0을 나타내고 160시간의 반응이 끝나는 시간까지 변화가 거의 없었다.

여기에서 초기에 pH의 감소는 잔반의 분해에 따른 유기산 생성으로 인한 것이며 40시간 이후에는 단백질 등의 분해와 유기산의 완전산화로 유기물이 CO_2 로 전환하여 전체적 C/N비가 낮아졌기 때문으로 사료된다. 이러한 실험 결과를 종합하여 볼 때 잔반이 TOP에 의해 분해될 때는 초기에 amlyase, protease, lipase 등 비교적 고분자에 관여하는 중온균에 의해 유기산이 형성되고, 고온균에 의해 완전히 CO_2 로 분해되고 후속단계에서 다시 중온균이 분해하기 어려운 물질의 분해에 관여하기 때문으로 사료된다. 또한 중온균은 고온균에 비교하여 군수의 변화가 심하였는데 이는 중온균의 성장이 온도변화에 민감하게 영향을 받았기 때문으로 사료된다(9).

일반적으로 유기성 폐기물을 퇴비화하는 과정에서는 초기 단계에 중온성 미생물에 의해 슬러지의 분해로 열이 발생되고, 열이 축적되면 혼합물의 온도가 상승하며, 동시에 고온성 세균의 밀도가 증가한다는 연구보고가 있다(17-19). 또한 퇴비화 과정과 비슷한 TOP의 경우에도 곰팡이와 방선균은 고온에서 발견되지 않아 유기물 분해

Table 3. Polymer degradation activities of bacterial isolates from the TOP system treating Chinese restaurant wastes

Enzyme activities		Amylase	Cellulase	Protease	Lipase
Strains					
Thermophilic Bacteria	TB1	++	+	++	++
	TB2	+	-	-	-
	TB4	-	+	++	+
	TB5	+	-	-	+
	TB8	+	-	-	+
	TB9	++	+	+	++
Mesophilic Bacteria	MB4	+	-	-	+
	MB10	+	+	-	-
	MB11	-	-	+	+
	MB15-1	++	++	++	+
	MB15-2	++	++	+	+
	MB18	=	-	-	+
	MB23	++	++	++	++

Note: - (no activity), + (low activity), ++ (high activity).

에 기여하는 정도가 적다고 보고되고 있으나(9), 투입되는 유기성 폐기물의 성분이 유분이 다량 포함되고 있는 경우에 대한 연구에서는 고온성 방선균의 유기물 분해에 대한 활성이 보고되고 있다(17-19). 한편 본 연구에서도 고온성 곰팡이는 발견되지 않았는데, 이는 고온성 곰팡이의 생육 특성상 최적 성장 온도가 45~50°C를 감안할 때 고온·호기에서는 50~70°C로 높은 온도를 유지하고 있고 습도 또한 60°C 이상으로 아주 높게 유지되므로 고온성 곰팡이의 성장을 억제하는 것으로 사료된다.

분리 균주의 생리, 형태학적 특징

중화요리 잔반을 고온·호기 프로세스를 이용 처리하는 과정에서 잔반의 주성분을 분해하는 미생물을 세균용, 방선균용, 곰팡이류용의 각 분리용 배지를 이용하였다. 중온균의 분리를 위해 30°C, 고온균의 분리를 위해서는 55°C의 배양온도에서 배양한 후 1차로 37종을 분리하였다. 이중 amylase, cellulase, protease, lipase의 활성이 우수한 고온균 세균 6종, 중온균 7종의 총 13종을 2차로 선별하였다. 2차 선별 균주의 효소활성을 Table 3과 같으며, 이들 중 TB1, TB9의 고온 균은 amylase, cellulase, protease, lipase의 활성을 강하게 나타냈으며, TB4는 cellulase, protease, lipase의 활성이 강하였다. 또한 중온균 중 전효소에 대한 활성을 강하게 나타낸 균주는 MB-15-1, MB 15-2, MB 23이었다.

Table 4에는 2차적으로 선별된 고온균 5주와 중온균 7주의 형태학적, 생리학적 특징을 나타내었다. 선별된 모든 고온 균주는 간균의 형태를 보였으며, Gram 양성, 포자를 형성하고 카탈라제 양성 반응을 보였다. 또한 중온 균주의 경우도 MB4와 MB18는 구균의 형태를 지닌 것을 제외하고 MB10, MB11, MB15-1, MB15-2 MB23은 간균

Table 4. Morphological and physiological characteristics of bacterial isolates from the TOP system treating Chinese restaurant wastes

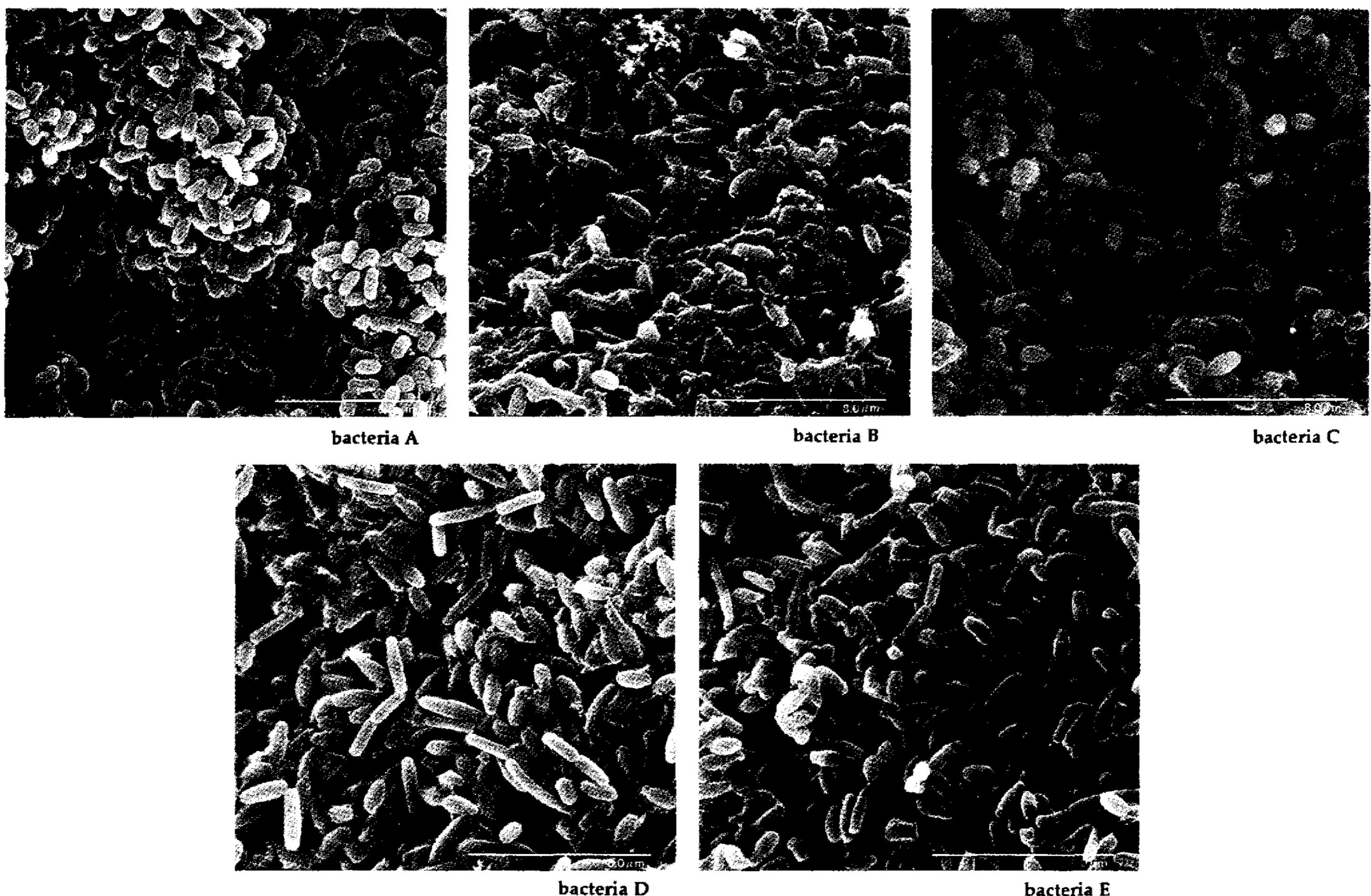
Characteristics		shape	gram stain	spore	catalase
Strains					
Thermophilic Bacteria	TB1	rod	+	+	+
	TB2	rod	+	+	-
	TB4	rod	+	+	+
	TB5	rod	+	+	+
	TB8	rod	+	+	+
	TB9	rod	+	+	+
Mesophilic Bacteria	MB4	cocci	+	-	+
	MB10	rod	+	+	+
	MB11	rod	+	-	+
	MB15-1	rod	+	+	+
	MB15-2	rod	+	+	+
	MB18	cocci	+	-	+
	MB23	rod	+	+	+

으로 이들 중온균 7종은 모두 Gram 양성이었다. 또한 MB4, MB11과 MB18은 포자를 형성하지 않았으며 MB10, MB15-1, MB15-2와 MB23은 포자를 형성하는 균이었다. 분리된 모든 중온균은 카탈라제 양성반응을 보였다.

2차 선별한 중·고온균 중에서 각 기질에 대한 고른 효소활성을 나타낸 균주를 3차 선발하여, 고온균으로 TB1, TB9를 중온균으로 MB15-1, MB15-2, MB23를 선

Table 5. Physiological characteristics of bacterial isolated from the TOP system treating Chineses restaurant wastes

Strains		MB 15-1	MB 5-2	MB23	TB1	TB9
Physiological characteristics						
Reduction of nitrates to nitrites	+	+	+	+	+	+
Indole production	-	-	-	-	-	-
Glucose acidification	-	-	-	+	-	-
Arginine dihydrolase	-	+	-	-	-	-
Urease	-	+	-	-	-	-
β-Glucosidase	+	+	+	+	+	+
Hydrolysis of gelatine	+	+	+	+	+	+
β-Galactosidase	+	+	+	+	+	+
Utilization of glucose	+	+	+	+	+	+
Utilization of arabinose	-	+	+	+	+	+
Utilization of mannose	+	+	+	+	+	+
Utilization of mannitol	+	+	+	+	+	+
Utilization of N-acetyl-glucosamine	+	+	+	+	+	+
Utilization of maltose	+	+	+	+	+	+
Utilization of gluconate	+	+	+	+	+	+
Utilization of caprate	-	-	-	-	-	-
Utilization of adipate	-	-	-	-	-	-
Utilization of malate	+	+	+	+	+	+
Utilization of citrate	-	+	-	-	-	-
Utilization of phenyl-acetate	-	-	-	-	-	-
Oxidase	+	+	-	-	-	+



Pic. 1. Scanning electronic microscope of isolated strains MB15-1, MB15-2, MB23, TB1 and TB9.
A; MB15-1, B; MB15-2, C; MB23, D; TB1, F; TB9.

별하였다. 이들 선별균주들을 주사현미경(SEM)으로 관찰한 결과 대체적으로 길이 약 1.5~2 μm , 지름은 약 0.7 μm 정도의 간균형태를 지니고 있었으며 고온균은 중온균보다 긴 간상형태 균으로 나타났다.

Table 5에는 최종 선별된 중온균 3종과 고온균 2종에 대한 탄소원 이용성과 질산염 환원성 등 생리학적 특성을 나타내었다. 최종 선별된 모든 균주가 질산을 아질산으로 환원하며, TB1을 제외한 MB15-1, MB15-2, MB23, TB9는 glucose를 발효하지 않으며, 탄소원으로 glucose, mannose, manitol, maltose, gluconate 등을 이용하였다. 이상과 같은 결과를 종합하여 다음과 같이 잠정적으로 동정하였다. 중온균, 고온균의 5균주는 *Bacillus* sp에 모두 속하였고, 중온균중 MB15-2는 *Bacillus cereus*, 고온균중 TB1은 *Bacillus licheniformis*, 그리고 TB9는 *Bacillus schlegelii*로 동정되었다.

요 약

고온·호기법에 의해 중화요리 잔반처리 과정에서 미생물상의 변화와 amylase, cellulase, protease 그리고

lipase의 효소 활성이 강한 중온균 및 고온균을 분리하고 생리적 특성에 대하여 검토하였다. 본 연구에서 사용한 중화요리 잔반은 75.8%의 수분과 24.2%의 유기성 고형물 그리고 0.49%의 회분으로 구성되어 있으며 단위중량 당 약 4,970 kcal/kg-ds의 열량을 가지고 있으므로 중화요리 잔반이 고농도 유기성 폐기물임이 입증되었다. 183 kg · m⁻³의 잔반 투입량과 250 l · m⁻³ min⁻¹의 통기속도의 조건하에서 약 6.7일 경과후에 투입수분의 완전증발과 투입중량의 완전감소를 나타내었다. 이때 최대온도는 70°C, 최대 CO₂ 농도는 2.5%로 온도의 증가에 따라서 CO₂의 농도도 상승하였으며 중온균과 고온균의 활성온도 범위는 CO₂의 발생농도에서도 명확히 구분되었다. TOP에서 우점종을 이루면서 각 기질에 대해 고른 활성을 지닌 고온균 TB1, TB9과, 중온균 MB15-1, MB15-2, MB23을 선별하였으며, 이들은 모두 질산염을 아질산염으로 환원하고, 탄소원으로서 glucose, mannose, manitol, maltose을 자화시키는 특성을 가졌다. 따라서 중온균, 고온균의 5균주는 모두 *Bacillus*속에 속하였고, 중온균중 MB15-2는 *Bacillus cereus*, 고온균중 TB1은 *Bacillus licheniformis*, 그리고 TB9는 *Bacillus schlegelii*로 동

정되었다.

감사의 말

본연구는 1996년 한국학술진흥재단의 Post Doc. 선정 과제에 대한 연구에 의해 이루어졌으며, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. 신관호. 1996. 음식물 쓰레기 줄이기 종합대책: 음식물 쓰레기 관리 및 처리. 음식물 및 유기성 폐기물의 퇴비화 처리 기술 심포지움. 유기성 폐자원학회, 국립환경연구원 주관, 169-178.
2. 이연, 주우홍, 서정윤. 1994. 가정용 소형 퇴비화 용기에 의한 부엌 쓰레기의 분산식 퇴비화. 한국환경농학회지 **13**: 338~345.
3. 양재경, 이성택, 이기영, 한상욱. 1997. 고농도 유기성 폐기물의 자원화 체제 구축에 관한 연구. 한국환경정책학회지 (submitted).
4. 양재경, 박용로, 최경민, 이성택, 모리타다히로. 1996. 고온 호기법에 의한 협기성 소화슬러지의 처리에 있어서 유기성 폐기물의 혼합 효과. 한국폐기물학회지 **13**: 259-267.
5. 양재경, 최경민, 박용로, 이성택, 모리타다히로. 1997. 고형물 가용화 촉진제로 아황산염을 이용한 2상 협기성 소화조에서 폐식용유가 소화효율에 미치는 영향. 대한환경공학회지. **19**: 233-244.
6. Yang, J. K., Osuge, K., Hirasa, O. and Mori, T. 1992. Biological removal of dissolved sulfide by a biofilter composed of hollow fiber membrane and oxidizing bacteria. *Jap. J. Water Treat. Biol.* **28**: 1-6.
7. Nakasaki, K., Shoda, M. and Kubota, H. 1985. Change in microbial numbers during thermophilic composting of sewage sludge with reference to CO₂ evolution rate. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**: 37-41.
8. 양재경, 서용기, 최경민, 박용로, 황기, 이성택. 1997. 협기성 소화 고온 호기법에 의한 잔반처리와 생성열의 이용. 한국폐기물학회지. (submitted).
9. 조경숙. 1995. 고농도 유기성 폐수 처리를 위한 고온 호기법에서의 미생물상 특성. 한국환경공학회지. **17**: 1199-1209.
10. 최민호, 조성은, 유정목, 정윤진, 박연희. 1995. 음식물 쓰레기의 호기성 분해를 위한 고온균의 분리 및 생육 특성. 유기성폐기물자원화학회지. **3**: 21-34.
11. 최민호, 정윤진, 박연희. 1996. 종균 첨가가 음식물 쓰레기 퇴비화 미생물에 미치는 영향. 유기성폐기물자원화학회지. **4**: 1-11.
12. Jacob, S., Theodore, C. J. and James, D. M. 1973. Population changes in enteric bacteria and other microorganisms during aerobic thermophilic windrow composting. *Applid. Microbiol.* **26**: 969-974.
13. James, T. Staley etal. 1989. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wikins, Co. New York.
14. A.O.A.C. 1980. Official Methods of Analysis. Association of official Analytical chemists, Washington. D.C. 13th ed.
15. Hujita, K. 1994. Composting. *The Japan society of waste management experts.* **5**: 50-70.
16. Cho, K. S., Liu, B. G., Agari, Y., Sumicuchi, K., Takaki, M. and Mori, T. 1983. Function of thermophilic bacteria for the complete treatment of organic wastes in thermophilic oxic process. *Microorganisms in activated sludge and biofilm process.* in paris. september: 27-28, 435-438.
17. Bae, Y. J. 1991. Ph. D. thesis "study on microorganism for composting process", Tokyo University press.
18. Kanaxawa, S. 1986. Changes in the organic components during the aging process of compost and its valuation. *Japan journal of water pollution research.* **9**: 10-17.
19. Phae, C. G., Jung, M. J. and Kim, H. K. 1996. A study on degradation characteristics of organic materials by mesophilic and thermophilic microorganisms in composting. *Manuscript of Seoul national polytechnic univ.* **4**: 104-122.

(Received 11 August 1997)