

축산분뇨에서 분리한 세균의 동정 및 효소학적 특성

김진선¹ · 정호선¹ · 이준석¹ · 최미영^{2,4} · 서승엽^{3,4} · 이현환^{1,4*}

¹한국의국어대학교 생명공학과, ²선문대학교 생물학과, ³공주대학교 생물학과,
⁴공주대학교 자원 재활용 신소재 연구센터(RRC/NMR)

축산 분뇨의 퇴비화에 관련되는 세균들을 분리하고 이들이 생산하는 효소들 중 퇴비화에 관련되는 것으로 사료되는 amylase, cellulase, protease 및 lipase의 특성을 연구하였다. 발효 중에 있는 축산 분뇨로부터 24주의 균주를 분리하여 이중 protease, cellulase, amylase, 그리고 lipase의 활성을 모두 가진 6개의 균주들을 선별하였다. 분리한 6개의 균주들을 동정해본 결과 *Corynebacterium varibilis*, *Bacillus* spp., *Pseudomonas spinosa*, *Acetobacter calcoaceticus* 및 *Athrobacter cummingsii* 등으로 밝혀졌다. 이들이 분비하는 효소들의 특징은 중성에서 알칼리성에 이르는 광범위한 pH에서 효소들이 높은 활성을 보였으며, cellulase를 제외한 대부분의 효소들의 최대 활성 온도가 60°C 정도였으나 cellulase의 경우 37°C가 최적 활성 온도였다. 이는 발효가 진행되어 축산 분뇨에 고온의 열이 발생할 때, 이 환경 하에서 유기물을 분해함으로써 발효과정을 원활히 진행시키는 것으로 생각된다. 다만 cellulase 생산 세균의 경우 축산 분뇨의 초기 발효시에 관여하여 균주의 성장 및 유기물의 분해에 관여하는 것으로 사료된다. 이와같은 결과는 축산분뇨 발효 초기와 발효후기의 온도가 상승된 환경에서 작용하는 세균의 군종이 다름을 암시하고 있다.

Key words □ amylase, cellulase, lipase, livestock manure, protease

지난 십년간 축산물 소비의 증가에 따라 발생하는 많은 양의 축산 분뇨에 의한 수질 및 환경오염은 심각한 사회문제로 제기되고 있다(1-4,7,10). 이 축산 분뇨의 처리는 분뇨 내에 포함된 유기물의 성분과 미생물들에 의해 형성되는 주위 환경에 의해 영향을 받는다(6). 실제로 1996년에 측정된 자료에 의하면 매년 43,000천톤에 달하는 많은 양의 가축 분뇨가 배출되고 있으며 축산 농가가 이를 수집하여 운반, 처리하기까지는 많은 시간과 노동력 그리고 막대한 비용이 소요된다(8,9,18). 따라서 이런 축산 분뇨로 인한 환경오염 및 기타 제반 문제들을 해결할 수 있는 축산 분뇨의 처리 방법이 고려되어야 하는데 여러 가지 처리 방법 중 국토의 면적이 협소한 우리나라에 가장 직접적이고 확실한 수단으로 여겨지는 것이 축산 분뇨의 자원화, 퇴비화 방안이다. 축산 분뇨의 적절한 처리 방법이 강구되지 않으면 수분, 악취, 해충 등이 증가하여 혐오성과 오염 물질의 특성이 강해져 자연 환경 및 가축들에게 악영향을 미치지만 이 가축 분뇨를 자원으로 활용하는 방안을 찾으면 환경 오염을 줄일 수 있을 뿐 아니라 좋은 비료 자원으로 사용할 수 있는 일석이조의 효과가 있다(13,17,19,20).

축산 분뇨에는 각종 다양한 유기물 및 무기물을 포함하고 있어서(5,21) 퇴비화하여 토양에 환원할 경우 토양을 비옥하게 하고 생산량을 증대시킬 수 있는 좋은 비료 자원이 될 수 있다.

이런 퇴비화 과정에 있어서 미생물학적 특징의 변화와 퇴비화 정도는 매우 깊이 연관되어 있다(11). Morel 등(14)은 전체 미생물의 양과 미생물 활성에 의해 변하는 생화학적 요소의 측정, 그리고 생분해성 성분의 측정을 통해 분뇨의 퇴비화 정도를 판단하는 방법을 제시했다. 그러나 이러한 연구성과에도 불구하고 축산 분뇨를 효율적으로 처리할 수 있는 연구성과의 실질적 응용은 상대적으로 미흡하다고 할 수 있다(4). 그러므로 축산 분뇨에 의한 환경 오염의 방지와 좋은 비료 자원으로 재활용하기 위해 축산 분뇨의 퇴비화를 효율적으로 할 수 있는 신규 복합 미생물 처리제의 개발과 연구가 다각도로 검토되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 축산 분뇨의 효율적 처리 및 자원화를 위한 미생물 균주를 개발하기 위해 퇴비화 과정의 축산분뇨로부터 축산 분뇨의 성분을 이용할 수 있는 균주를 screening하여 동정하고 이들이 분비하는 효소들의 생화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 배지

충남 연기군의 축사(연기 비료주식 회사)에서 가축(소, 돼지, 닭)의 분변이 섞여 서로 다른 단계의 퇴비화 과정에 있는 5군데에서 시료를 수집하여 유기물 분해 세균의 분리 실험에 사용하였다. 균주의 분리는, 시료를 PBS (phosphate buffered saline)에 녹인 후 1 시간 동안 상온에서 방치한 후 nutrient agar (NA) 배지(0.5% peptone, 0.5% NaCl, 0.2% Yeast extract, 0.1% Beef extract, 1.5% agar)에 도말하여 37°C에서 하룻밤 배양하였다. 나

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-31-330-4280, Fax: +82-31-333-1696
E-mail: hyunelee@san.hufs.ac.kr

타난 colony 중 현미경하에서 형태가 다른 것들을 분리하였다. 그리고 이들을 각각 NA-starch (0.8%), NA-skim milk (1%), NA-tricaprylin (1%), NA-carboxy-methyl cellulose (1%) 배지에 옮긴 후 배양하여 나타나는 colony 주위의 환 (halo)을 관찰한 후 amylase, protease, lipase, cellulase의 활성을 모두 가지고 있는 6개의 균주들을 분리하여 이들이 생산하는 효소들의 특성을 분석하는데 사용하였다. 분리된 이들 6 균주의 성장곡선을 알아보기 위하여 nutrient broth에 접종 한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 또한 균체 성장과 효소의 생산량과의 관계를 분석하기 위하여 nutrient broth에서 12시간 배양한 후 측정하고자 하는 효소에 따라 1% starch, 1% carboxymethyl cellulose, 1% skim milk가 포함된 최소배지 (0.1 % K_2HPO_4 , 0.02% $MgSO_4$, 0.1 % NaCl, 0.1% Yeast extract)에 옮겨서 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 중 6시간 간격으로 배양액을 수확한 후 얻어진 상등액을 효소액으로 사용하여 효소의 활성을 측정하였다. 다만 lipase의 경우는 기질을 첨가하지 않은 최소배지에서 상기와 같이 배양한 후 배양시간에 따른 활성을 측정하였다.

균주의 동정

분리한 6개의 균주를 Biolog 사의 Microlog system 4.0을 이용하여 GN (gram negative) plate와 GP (gram positive) plate에 균주를 도말하여 37°C에서 배양 후 4~6 시간과 16~24 시간에서 각각 동정하였다.

Amylase 및 cellulase 활성 측정

Amylase 및 cellulase 활성 측정은 Ito 등의 방법(11)을 변형하여 사용하였다(15,16). 간단히 언급하면 amylase 활성 측정을 위해 각 균주를 상기와 같이 배양하고 이로부터 수확된 상등액 0.5 ml을 4 mM $CaCl_2$ 와 0.8% starch 로 구성된 기질 용액 0.5 ml과 혼합하여 37°C 항온수조에서 1시간 반응시킨 후 DNS (dinitrosalicylic acid) reagent를 첨가해 발색시켜 640 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 pH 별 완충용액은 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6.0-7.0), 50 mM Tris-HCl (pH 8.0-9.0), 50 mM sodium carbonate buffer (pH 9.0-10.0)을 사용하였다. Cellulase 활성측정은 기질 용액으로서 0.5 ml의 1% carboxymethyl cellulose를 사용하였으며 기타 반응조건은 amylase와 동일하였다. Amylase 1 unit는 1분 동안 glucose 1 μ mol에 상응하는 생산물을 생성하는 효소의 양으로 하였으며 cellulase 1 unit는 1분 동안 glucose 1 μ mol에 상응하는 생산물을 생성하는 효소의 양으로 정의하였다.

Protease 활성 측정

Protease의 활성 측정은 Yanagida 등의 방법(20)을 변형하여 사용하였다. 배양액 0.5 ml을 skim milk를 1% 되게 각각의 pH에 맞는 완충용액에 녹인 기질 용액 0.5 ml과 섞은 후 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 280 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Protease 1 unit는 흡광도를 측정하였을 때 흡광도를 0.1 증가하게 하는 효소의 양으로 정의하였다.

Lipase 활성 측정

Lipase의 활성은 Lesuisse 등(12)의 방법을 변형하여 사용하였다. 배양액 0.5 ml을 50 mM Tris-HCl (pH 7.0 혹은 8.0) 완충용액에 *p*-nitrophenyl butyrate가 1% 되게 녹인 기질 용액 0.5 ml 과 섞은 다음 37°C에서 10분간 반응시킨 뒤 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 lipase 1 unit는 1분 동안 *p*-nitrophenol 1 μ mol에 상응하는 생산물을 생성하는 효소의 양으로 하였다.

결 과

균주의 분리와 동정

균주들의 분리는 일차적으로 시료를 PBS에 녹여 1시간 동안 상온에서 방치한 후 대부분의 균주들이 자랄 수 있는 NA 배지에서 배양하여 나타난 균주들 중에서 서로 다른 형태의 colony를 형성한 24개의 균주를 분리하였다(Table 1). 이 균주들 중 amylose, cellulose, 단백질 등 축산 분뇨 발효시에 균체 성장에 필요할 것으로 사료되는 유기물을 분해할 수 있는 균주들을 선별하기 위해 starch (0.8%), carboxymethyl cellulose (1%), skim milk (1%), tricaprylin (1%)이 포함된 NA 고체 배지에서 균주들의 기질 분해 여부를 알아보았다. 그 결과 분리한 24개의 균주 중 18개의 균주가 한 가지 이상의 유기물을 분해하는 것으로 나타났다. 이 중 1, 6, 7, 10, 13, 17번의 6개의 균주는 4가지 기질을 모두 분해하는 것으로 나타났다.

Biolog 사의 Microlog system 4.0을 이용하여 각 균주들을 동정한 결과 1번 균주는 *Corynebacterium varibilis*로, 6번 균주와 10번 균주는 *Bacillus* spp.로, 7번 균주는 *Pseudomonas spinosa*로, 13번 균주는 *Acetobacter calcoaceticus*로, 그리고 17번 균주는 *Athrobacter cummingsii*로 밝혀졌다.

균체 성장에 따른 효소 활성도 측정

4가지 유기물을 모두 분해할 수 있는 효소를 생산하는 6개의 균주들을 분리하여 성장과 그에 따른 효소의 활성도를 알아보았다(Fig. 1). 접종 후 9~12시간 후에 분리된 균주 중 7번 균주를 제외한 대부분의 균주는 stationary phase로 접어들었으며 21시간 후에는 death phase로 접어들었다(Fig. 1A). Fig. 1B는 분리된 균주의 성장에 따른 cellulase의 생성경향을 나타낸다. 그 결과 분리된 균주의 cellulase 활성이 early stationary phase (접종 후 9~12시간)에서 최대가 되는 것으로 보아 균체 성장과 cellulase의 생산은 서로 연관되어 있는 것(growth-associated)으로 생각된다. Amylase, protease와 lipase의 생성과 균체 성장간의 상관관계를 조사하였을 때도 같은 결과를 얻었다(data not shown). 이와 같은 결과는 퇴비화가 진행중인 축산분뇨에서 퇴비화의 초기에 이들 세균들이 주어진 유기물을 분해하고 이를 이용하여 성장하면서 효소들을 과량 생산하여 퇴비화를 진행한다는 것을 시사한다. 그러나 실제로 축사에서 진행되는 축산 분뇨의 발효과정에서 시간의 경과에 따른 효소의 생산량 증가를 검증하여야 할 것으로 사료된다.

Table 1. Identification and production of enzymes by the isolated microorganisms

Strains ^a	Enzyme produced by isolated strains ^c				Strain identification ^b
	Amylase	Protease	Cellulase	Lipase	
1	+	+	+	+	<i>Corynebacterium varibilis</i>
2	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	
4	-	-	-	+	
5	-	-	-	-	<i>Bacillus spp.</i>
6	+	+	+	+	
7	+	+	+	+	
8	-	-	-	-	<i>Pseudomonas spinosa</i>
9	-	-	-	-	
10	+	+	+	+	<i>Bacillus spp.</i>
11	-	-	-	+	
12	-	-	-	+	
13	+	+	+	+	
14	+	-	-	-	<i>Acetobacter calcoaceticus</i>
15	-	-	-	+	
16	-	-	+	+	
17	+	+	+	+	<i>Athrobacter cummingsii</i>
18	-	-	-	-	
19	+	+	-	+	
20	-	+	-	-	
21	-	-	+	-	1-1
1-3	-	-	-	+	
1-4	-	+	+	+	

^aThe numbers indicate the strains isolated from the livestock manure.
^bStrains producing all the four enzymes were identified and characterized.
^c+ and - indicate the production and nonproduction of enzyme, respectively.

온도와 pH가 효소들의 활성에 미치는 영향

분리한 6개의 균주들의 amylase 활성(Fig. 2), cellulase 활성(Fig. 3), protease 활성(Fig. 4)과 lipase 활성(Fig. 5)을 측정하였다. 그 결과 amylase 의 경우 1번과 7번 균주를 제외하고 pH 6.0~pH 8.0 사이의 넓은 pH 범위에서 높은 활성을 나타내었다(Fig. 2A). 가장 높은 활성을 보인 pH 6.0에서의 amylase는 37~60°C 사이의 넓은 온도 범위에서 비교적 고른 활성을 보였다(Fig. 2B). 따라서 분리된 6개의 균주가 생산한 amylase는 퇴비화의 초기 단계에서보다 퇴비화가 진행되어 가면서 온도가 상승할 때 그 분해능력이 올라감을 예측할 수 있다.

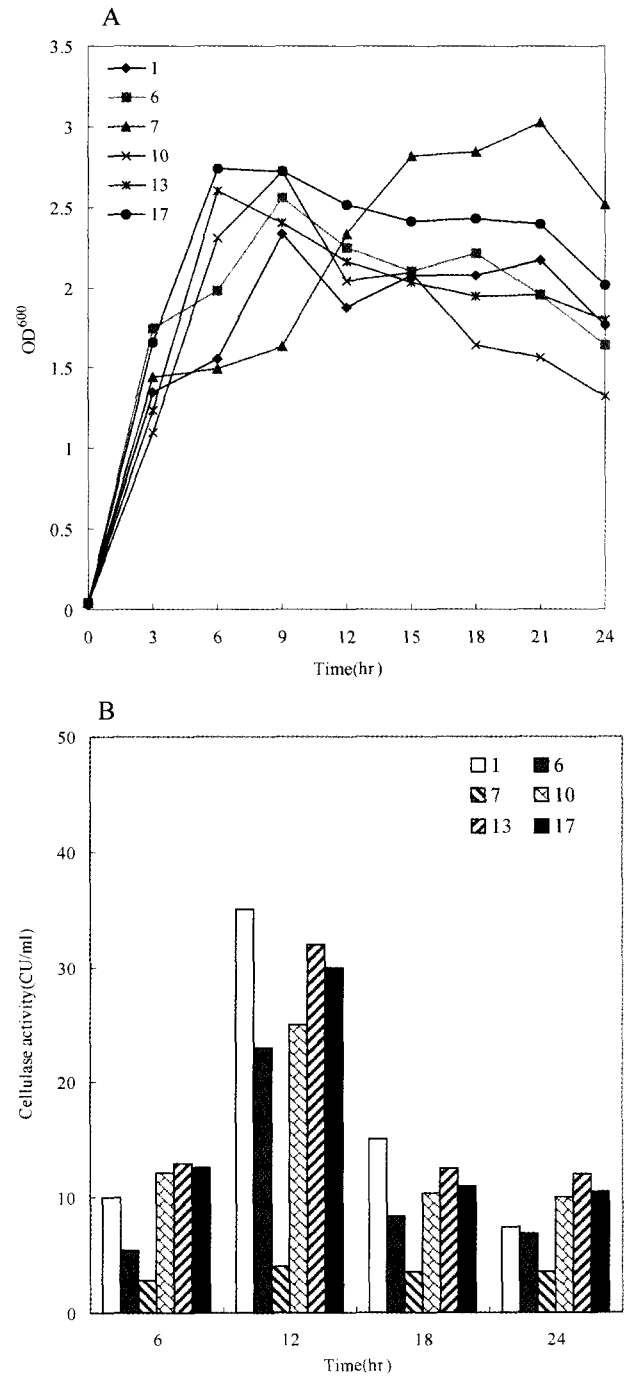


Fig. 1. Time course of growth of the isolated bacteria A) and the representative pattern of cellulase activities associated with the growth of cells (B). Cells were grown at 37°C in a nutrient broth (pH 7.0).

Cellulase 활성은 7번 균주를 제외하고 pH 6.0~8.0 사이에서 높은 활성을 보였다(Fig. 3A). 그리고 pH 7.0 에서 온도의 변화에 대한 cellulase 활성을 측정된 결과 37°C에서 가장 높은 활성을 보였으나 이보다 낮은 온도에서나 또는 온도가 올라감에 따라 오히려 활성이 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3B). 이것으로 보아 cellulase는 퇴비화의 초기 단계에서 역할을 수행함으로써

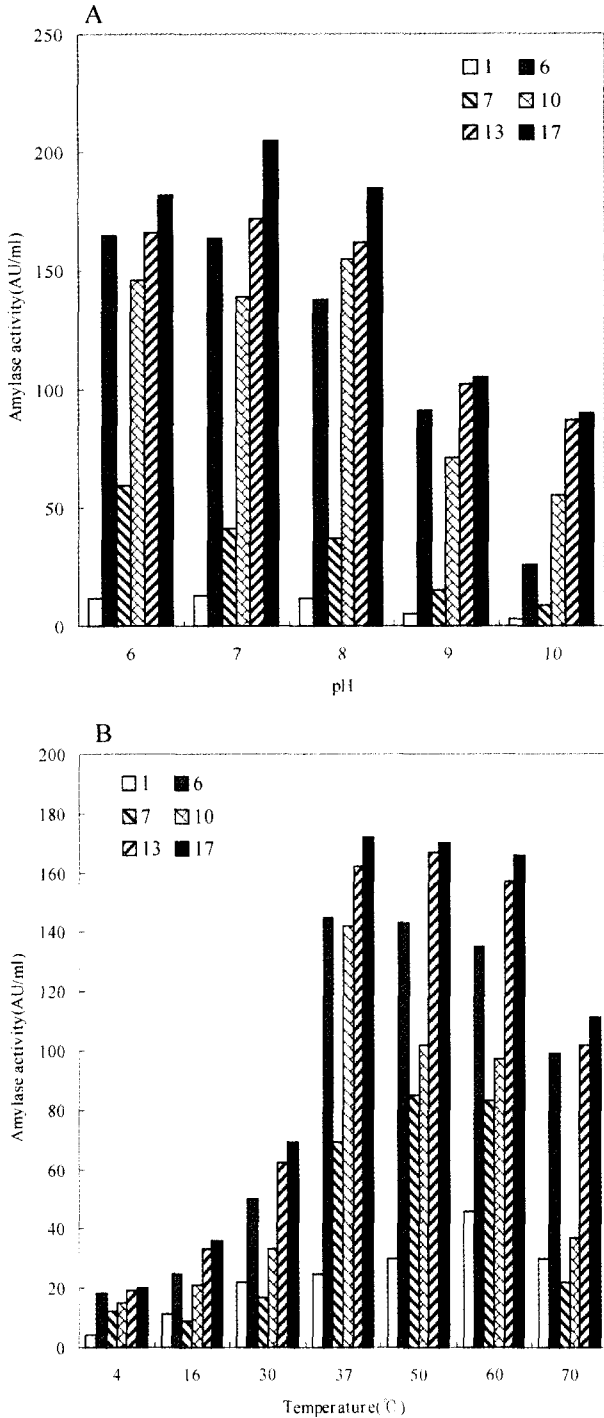


Fig. 2. Effect of pH (A) and temperature (B) on the amylase activities. To determine the effect of pH on the enzyme activities, reactions were performed at 37°C with various pH, and the effect of temperatures were determined at pH 6.0.

톱밥 등의 수분 조절제를 분해하여 균주의 초기 성장에 필요한 탄소원을 제공하는 것으로 생각된다. 이는 본 연구에 사용된 분리된 균주가 mesophile임이 밝혀졌고, 퇴비화가 진행됨에 따라

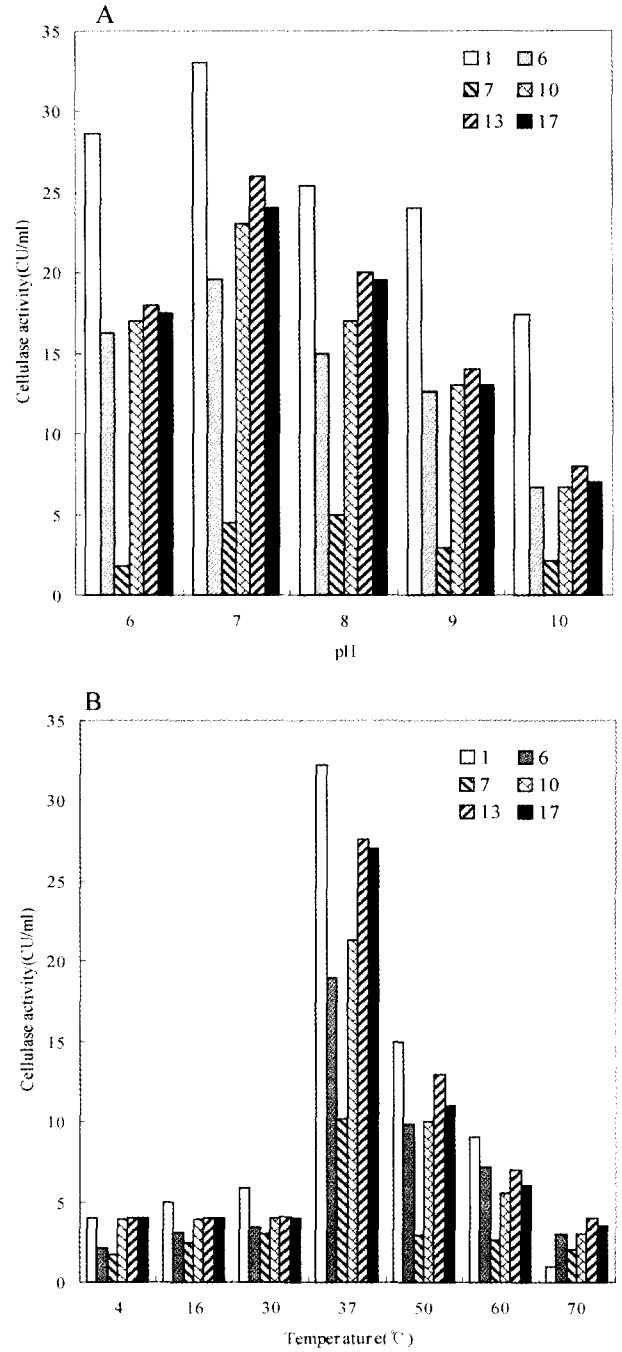


Fig. 3. Effect of pH (A) and temperature (B) on the cellulase activities. Enzyme activities were measured at 37°C to determine the effect of pH and at for the effect of temperature on the enzyme activity, reactions were performed at pH 7.0.

mesophile이 사라지고 고온성 균주가 나타나게 되어 균총에 변화가 생기게 됨을 강력히 시사한다. 이는 본 연구결과에서는 언급하지 않았으나 실제로 축산분뇨의 퇴비화가 많이 진행된 곳으로부터 채취한 시료로부터 분리한 균주들이 대부분 70°C 이상에서 자라는 고온성 균주였다는 사실과 일치한다 (data not shown).

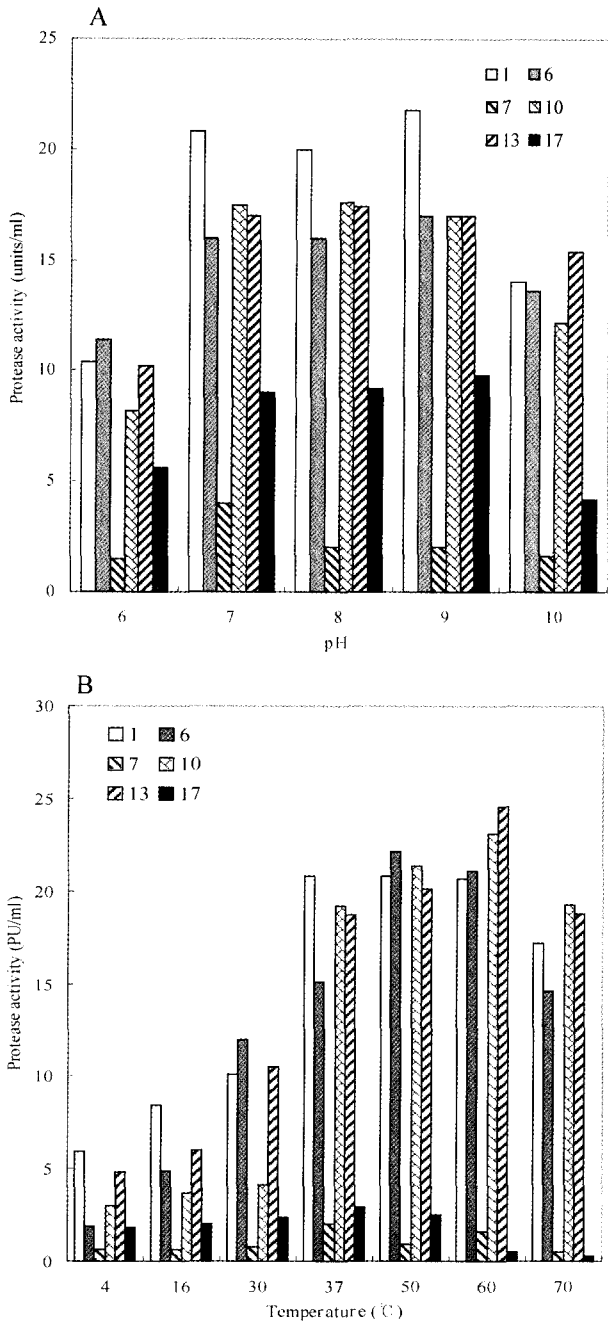


Fig. 4. Effect of pH (A) and temperature (B) on the protease activities. Enzyme activities were measured at 37°C to determine the effect of pH and at pH 7.0, the effect of temperature was measured.

각각의 균주들의 protease의 활성을 측정한 결과 pH 7.0~pH 9.0 사이에서 높은 활성을 보였다. 특히 1, 10번과 13번 균주의 활성이 다른 균주들보다 상대적으로 높은 반면 7번 균주는 활성이 거의 없었다. 이들 균주 중 1번 균주는 약 알칼리성 pH에서 고른 활성을 보였고, 10번과 13번 균주는 비교적 높은 알칼리성 pH에서 고른 활성을 보였다(Fig. 4A). pH 7.0에서의 protease의 활성은 37~70°C 사이의 넓은 범위에서 높게 나타났다(Fig. 4B).

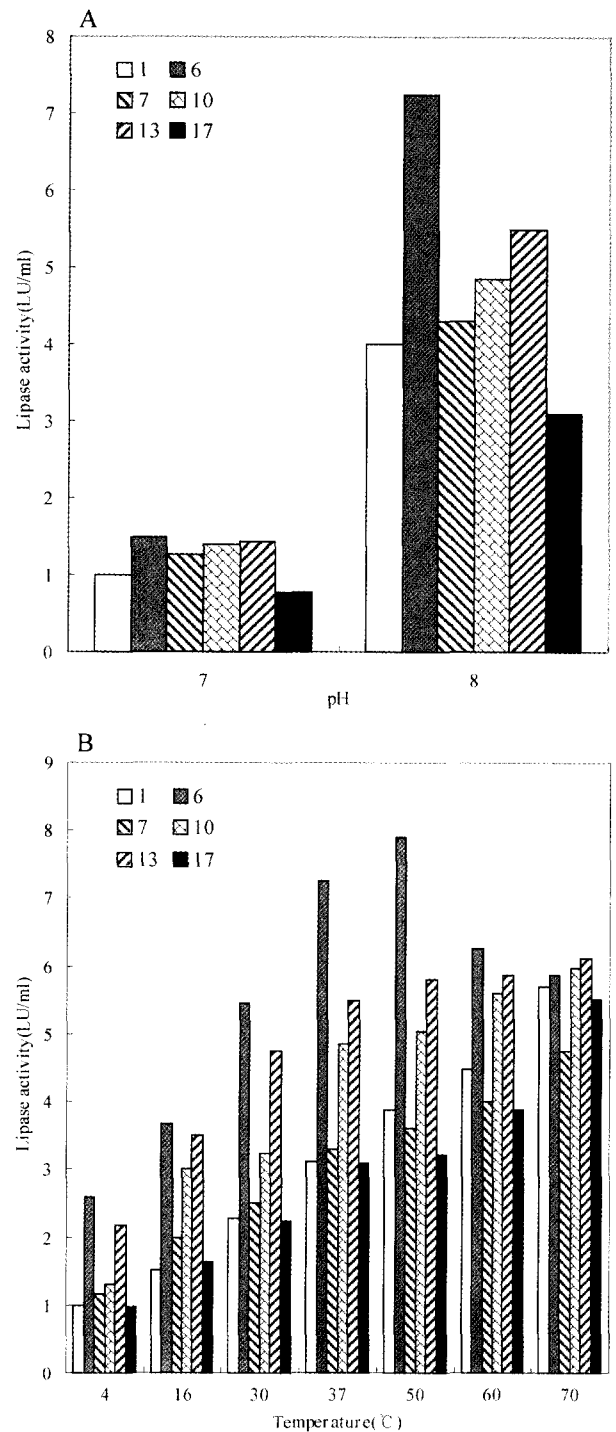


Fig. 5. Effect of pH (A) and temperature (B) on the lipase activity. Enzyme activities were determined at 37°C for the effect of pH and at pH 8.0, the effect of temperature on the lipase activity was measured.

따라서 분리된 6개의 균주가 생산한 protease 역시 퇴비화의 초기 단계에서보다 퇴비화가 진행되어 가면서 온도가 상승할 때 그 분해능력이 촉진됨을 예측할 수 있다.

각 균주들의 lipase의 활성을 측정한 결과(Fig. 5) 다른 효소들보다 활성이 상대적으로 낮았다. 이는 퇴비화 진행에 관련되는 유기물들 중 lipid의 함량이 많지 않음을 시사하는 것이다. 각각의 평균 활성은 pH 8.0 이상에서 상대적으로 높은 활성을 보임으로써 이들 효소들은 알칼리성 lipase 일 것으로 생각된다(Fig. 5A). pH 8.0에서 온도의 변화에 대한 lipase 활성은 온도가 올라감에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며 37~70°C 사이의 넓은 온도 범위에서 높게 나타났다(Fig. 5B). 따라서 lipase 역시 퇴비화의 초기 단계에서보다 퇴비화가 진행되어 가면서 온도가 상승할 때 그 분해능력이 촉진됨을 예측할 수 있다.

고 찰

본 연구의 결과로 볼 때 축산 분뇨에서 분리된 균주들은 4가지 대표적인 효소인 amylase, cellulase, protease와 lipase들을 모두 생성하는 특징을 가지고 있음을 보였으며, 이들 효소들은 균체의 성장과 밀접한 관계(growth-associated)를 보였다. 그러나 lipase의 활성이 다른 효소들 보다 상대적으로 낮은 것으로 보아 퇴비화 초기 과정에 있어서는 lipase가 크게 관련되지 않은 것으로 생각된다. 또한 대부분의 균주들이 넓은 pH 영역과 비교적 높은 온도에서 효소 생성이 극대화됨으로써, 본 연구에서 사용된 균주들은 축산 분뇨 발효초기에서 발효가 진행중인 고온 환경초기까지 성장하며 필요한 유기물을 생산하는 것으로 생각된다.

그러나 cellulase 효소 활성의 경우 37°C에서 가장 높은 활성을 보인 반면 낮은 온도나 높은 온도에서는 활성을 나타내지 않음으로써, 이 효소를 생산하는 미생물의 경우 축산 분뇨의 발효초기와 고온이 나타나는 발효 중기 및 후기 과정에 기여하는 미생물 군총(microbial flora)이 다름을 암시한다. 이는 축산 분뇨 발효에 있어서 수분 조절제인 톱밥을 분해한 후 생성되는 탄소원의 공급이 발효초기 균체 성장뿐만 아니라 발효 과정에 가장 중요한 과정임을 입증한다 할 수 있다.

감사의 말

본 논문은 공주대학교 자원 재활용 연구센터 (RRC/NMR)의 지원 하에 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 이석준, 김성빈, 김희식, 권기석, 윤병대, 오희목. 1999. 축산 폐수의 고도처리 및 지질생산을 위한 *Botryococcus braunii*의 대량배양. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27, 166-171.
2. 이석준, 김희식, 윤병대, 오희목. 1999. Tubular bioreactor에서 *Botryococcus braunii*를 이용한 축산폐수의 고도처리. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27, 153-158.
3. Antoine, P., X. Tailieu, and P. Thonart. 1997. The degradation of L-tyrosine to phenol and benzoate in pig manure. *Appl. Biochem. Biotech.* 63-65, 707-717.
4. Baumgarten, E., M. Nagel, and R. Tischner. 1999. Reduction

- of nitrogen and carbon content in swine waste with algae and bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52, 281-284.
5. Beaudet, R., C. Gagnon, J.G. Bisailon, and M. Ishaque. 1990. Microbiological aspects of aerobic thermophilic treatment of swine waste. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 971-976.
6. Boopathy, R. 1996. Isolation and characterization of a methanogenic bacterium from swine manure. *Biores. Technol.* 55, 231-235.
7. Georgacakis, D., A. Tsavdaris, J. Bakouli, and S. Symeonidis. 1996. Composting solid swine manure and lignite mixtures with selected plant residues. *Biores. Technol.* 56, 195-200.
8. Hamer, G. and J.D. Bryers. 1985. Aerobic thermophilic sludge treatment some biotechnological concepts. *Conservation & Recycling* 8, 267-284.
9. Hawkins, J.C. 1978. The handling of animal wastes. *Agri. Eng.* 102, 162-165.
10. Imbeah, M. 1998. Compostion piggery waste: a review. *Biores. Technol.* 63, 197-203.
11. Ito, S., S. Shikata, K. Ozaki, S. Kawai, K. Okamoto, S. Inoue, A. Takei, Y. Ohta, and T. Satoh. 1989. Alkaline cellulase for laundry detergents: Production by *Bacillus* sp. KSM-635 and enzymatic properties. *Agri. Biol. Chem.* 53, 1275-1281.
12. Lesuisse, E., K. Schanck, and C. Colson. 1993. Purification and preliminary characterization of extracellular lipase of *Bacillus subtilis* 168, an extremely basic pH-tolerant enzyme. *Eur. J. Biochem.* 216, 155-160.
13. Liao, C.M., H.M. Liang, and S. Singh. 1997. Swine manure cleanup criteria calculation for odor causing volatile organic compounds based on manure-to-ventilation air exposure pathway. *J. Environ. Sci. Health B.* 32, 449-468.
14. Morel, J.L., F. Colin, J.C. Germon, P. Godin, and C. Juste. 1985. Methods for the evaluation of the maturity of municipal refuse compost. pp. 56-72. In *Composting of Agricultural and other Wastes*, ed. J. K. R. Gasser. Elsevier Applied Science, London and New York.
15. Ozaki, K., S. Shikata, S. Ito, and K. Okamoto. 1990. Molecular cloning and nucleotide sequence of a gene for alkaline cellulase from *Bacillus* sp. KSM-635. *J. Gene. Microbiol.* 136, 1327-1334.
16. Park, S.H. and M.Y. Pack. 1986. Cloning and expression of a *Bacillus* cellulase gene in *Escherichia coli*. *Enzyme Microb. Technol.* 8, 725-728.
17. Sonnleitner, B. and A. Fiechter. 1983. Bacteria diversity in thermophilic aerobic sludge. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18, 47-51.
18. Terry, C.M. 1999. A swine integrator's perspective on nutrient management procedures. *J. Anim. Sci.* 77, 445-449.
19. Tiquia, S.M., N.F.Y. Tam, and I.J. Hodgkiss. 1996. Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter at different moisture contents. *Biores. Technol.* 55, 201-206.
20. Yanagida, N., T. Uozumi, and T. Beppu. 1986. Specific excretion of *Serratia marcescens* protease through the outer membrane of *E. coli*. *J. Bacteriol.* 166, 937-944.
21. Zhu, J., D.S. Bundy, X. Li, and N. Rashid. 1997. The hindrance in the development of pit additive products for swine manure odor control-a review. *J. Environ. Sci. Health A.* 9-10, 2429-2448.

(Received August 16, 2001/Accepted September 12, 2001)

ABSTRACTS : Isolation and Enzymatic Characterization of Bacteria from Livestock Manure
Jin-Sun Kim¹, So-Sun Chung¹, Joon-Suk Lee¹, Miyoung Choi^{2,4}, Seong-Yum Seo,^{3,4} and
Hyune-Hwan Lee^{1,4*} (¹Department of Bioscience and Biotechnology, Hankuk University of Foreign Studies, Yongin 449-791, Korea, ²Department of Biological Science, Sun Moon University, Asan 336-840, Korea, ³Department of Biology, Kongju National University, Kongju 314-701, Korea, ⁴Regional Research Center for New Materials by Recyclings, Kongju National University(RRC/NMR) Kongju 314-701, Korea)

To develop the effective composting system, we isolated bacteria that have the abilities to degrade organic matters such as cellulose, carbohydrate, protein and lipid during the composting of livestock manure. Among 24 strains, 6 bacteria have all the enzymatic activities of protease, amylase, cellulase and lipase. These microorganisms were identified as *Corynebacterium varibilis*, *Bacillus* spp., *Pseudomonas spinosa*, *Acetobacter calcoaceticus* and *Athrobacter cumminsii*. All the enzymes produced by the bacteria showed activities at the broad pH range and the maximal activities were obtained at 60 °C. It seemed that after the increase of temperature caused by fermentation of livestock manure, the enzymes started to degrade the raw materials, which are added for the control of humidity. However cellulase activity was maximum at 37 °C, suggesting that the cellulase-producing bacteria work at an early stage of livestock manure fermentation to provide the organic material for the growth of other bacteria. The production of the enzymes were growth-associated and maximal activities appeared at the early stationary phase of growth.