



ORIGINAL PAPER

원저

지렁이로부터 분리한 *Bacillus pumilus* JS-01 균주의 유기물 분해능 및 응집능

정두영*, 송인근, 김영준†

EnBiozone Co. Ltd., * 가톨릭대학교 생명공학부
(2006년 11월 7일 접수, 2006년 12월 16일 채택)

Degrading and Flocculating Property of A Bacterium Isolated from the Extract of Earthworm

Doo-Young Jeong*, In-Geun Song, Young-Jun Kim†

EnBiozone Co. Ltd., Division of Biotechnology*, The Catholic University, Bucheon, Korea

ABSTRACT

To develop the microbial agents for the environmentally-friendly treatment and recycling of food waste, useful microorganisms, which showed higher degradation activities to various organic compounds and possessed flocculating activities, were isolated from the earthworm. One of the isolated strains, named JS-01, was further selected due to its higher flocculating activity against 0.5% Kaolin clay. JS-01 was identified as *Bacillus pumilus* sp. by 16s rDNA analysis. The optimal temperature and pH for the growth of JS-01 to express the flocculating activity was found to be at 37°C in pH 7.0 of EPS broth medium. JS-01 also expressed good degrading activity against cellulose, which is one of the representative organic materials in food waste. We propose that JS-01 will be a good candidate for the efficient treatment of food waste and leachate due to the property to degrade cellulose and flocculating activity.

Keyword : flocculating activity, food waste recycling, *Bacillus pumilus*, cellulose degradation

초 록

음식물류폐기물의 친환경적 처리를 위한 소재를 개발하기 위하여 지렁이로부터 유기물 분해 및 응집능을 갖는 기능성 미생물을 분리하였다. 분리된 균주 중 음식물류폐기물을 처리하는데 적합한 것으로 판단되는 균주를 최종 선별하여 JS-01균주로 명명하였으며 16s rDNA 염기서열분석에 의한 최종결과, *Bacillus pumilus*로 동정되었다. 0.5% Kaolin clay을 대상으로 JS-01균주의 응집능을 조사한 결과 응집을 위한

†Corresponding author (yjunkim@catholic.ac.kr)

최적 성장조건은 MRS 액체배지에서 온도 37°C 및 pH 7.0으로 나타났다. 유기물분해능 중에서는 특히, 음식물류폐기물의 대표적 성분인 섬유소에 대한 분해능을 확인하였다. 따라서 JS-01균주는 음식물류폐기물의 친환경적 처리 및 재활용을 위한 미생물 소재 및 음식물 침출수의 효과적인 응집 처리를 위한 생체량 생성에 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

핵심용어 : 친환경응집능, 음식물류폐기물 재활용, 섬유소분해능, 바실러스 푸미러스

1. 서론

과학문명의 발달과 인구증가, 도시 확대 및 생활 수준의 향상 등으로 인하여 환경오염원 및 생활폐기물이 대량으로 발생하고 있으며 이는 모든 나라들의 주요 현안으로 심각한 문제를 발생시키고 있다. 국내의 경우, 유기성폐기물의 한해 발생량이 약 1억톤 (2003년도 기준)에 달하고 있으며¹⁾, 음식물폐기물의 경우, 하루에 약 11,464톤(2004년 기준)²⁾에 달하고, 이를 경제적 수치로 환산하면 약 14조 7천억원이 낭비되고 있는 실정이다. 정부에서는 음식물쓰레기로 인한 경제적 손실과 환경오염 등을 방지하기 위하여 1997년 7월 폐기물관리법시행규칙을 개정하여 2005년 1월 1일부터 특별시·광역시 또는 시지역에서 발생하는 음식물류폐기물을 바로 매립할 수 없도록 규정하였다(환경부)³⁾. 하지만, 이로 인하여 음식물류폐기물 폐수의 해양투기량이 2004년도 70만톤에서 2005년 150만톤으로 2배 이상 증가하는 부차적인 문제가 발생하였다⁴⁾. 이에 해양수산부는 음식물류폐기물의 해양투기를 적극 규제하여 2007년 7월 이후, 95% 이상의 함수량을 갖는 음식물폐기물 폐수만 일시적으로 해양투기를 허용하였다.

따라서 음식물폐기물 폐수의 95% 함수량 기준을 충족시킬 수 있는 친환경적 응집제 개발이 매우 시급한 과제로 부상하였으며 궁극적으로는 95% 이상의 함수량을 충족시키는 단순 응집이 아닌 친환경 응집제 처리에 의한 응집물의 재활용 기술과 폐수의 고도처리를 통한 방류수 수준의 수질처리 기술의 병행 개발이 요구되고 있는 실정이다.

현재 대부분의 폐수의 응집처리에 주로 사용되고 있는 응집제인 PAM(poly acryl amide)은 가격이

싼 장점에도 불구하고 자연계에서 분해되기 어려우며 단량체인 acryl amide는 암유발원으로 알려지고 있으며⁵⁾, polyaluminum chloride의 주성분인 aluminum의 경우는 Alzheimer를 일으키는 것으로 보고되어 사용에 대한 우려가 높다^{6, 7)}.

이러한 문제를 해결하기 위하여 chitosan, sodium alginate, gua gum 등과 같은 천연응집제와 미생물 유래의 응집제에 대한 연구 개발이 국내 외에서 활발히 진행되고 있으나 음식물폐수에 적용가능한 응집제 개발은 완성된 바 없다.

본 연구에서는 음식물폐수의 응집 처리를 위한 친환경 응집제를 개발하기 위하여 유기물 분해능 및 응집능을 갖는 미생물을 분리하여 일차적으로는 음식물폐수내 영양원의 분해를 통해 폐수내 유기물의 저감 및 생체량으로의 전환을 유도하고 이차적으로는 응집효율의 향상을 통해 음식물폐기물 폐수의 친환경적 생물학적 처리방안을 구축하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 지렁이에 존재하는 세균의 분리

지렁이에 서식하는 세균을 분리하기 위하여 부천시에 소재하는 원미산에서 지렁이를 채집하였다. 채집된 지렁이의 체액을 0.85% 멸균식염수에 희석한 후, EPS agar 배지(우 등, 1999)에 도말하여 37°C에서 72시간 배양한 후 형태적으로 서로 다른 균주를 순수배양 하였다.

2.2 분리균주의 유기물 분해능

지렁이로부터 분리한 균주의 섬유소, 지방, 단백질에 대한 유기물 분해능 여부를 확인하기 위하여

Avicel, tributylin 및 skim milk를 함유하는 각각의 배지에 도말하여 30°C에서 2일간 배양하여 콜로니 주위에 투명대의 형성 여부를 확인하였다.

2.3 분리균주의 동정

분리균주를 동정하기 위하여 먼저 그람염색을 실시하였고, 분자생물학적 동정을 위해 16S rDNA 서열분석 및 blast search를 실행하였다.

분리균주 genome의 16s rDNA 증폭을 위한 PCR의 primer는 (Table 1)과 같다.

2.4 JS-01 균주의 적정 성장 및 응집 조건

JS-01균주의 온도 및 pH 조건에 대한 성장 정도 및 배양시간에 따른 응집능을 측정하였다. 온도 범위는 25°C, 30°C, 37°C로 하였고, pH 범위는 pH 5.0, pH 6.0, pH 7.0, pH 8.0으로 설정하였다. 균주배양은 EPS broth 배지를 이용하였으며, 120 rpm의 교반속도로 배양하였다.

JS-01 균주의 성장 유형을 파악하기 위하여 3시간 단위로 배양액의 흡광도를 측정하였다. 흡광도는 분광광도계 (DR/4000, HACH Co., USA)를 이용하여 600 nm에서 측정하였다. 응집능 측정은 위의 각 배양조건에서 배양한 시간대별 배양액의 0.5% kaolin clay에 대한 응집능을 조사하였다. 응집보조제로써 1% CaCl₂를 이용하였다. 측정방법은 0.5% kaolin clay 10ml에 배양액 1ml과 1% CaCl₂ 100μl를 넣어 완전 혼합하여 5분간 방치 후 상등액을 채취하여 600nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 증류수를 이용하였다. 응집능은 다음과 같은 수식에 의하여 계산하였다⁹⁾.

$$\text{응집능(\%)} = \frac{\text{대조구 흡광도} - \text{시료 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

2.5 JS-01 균주의 응집능

위향의 최적 응집조건에서 배양한 JS-01 분리 균주 배양액의 응집률과 기존에 보고된 공시균주와 상용제품인 무기응집제의 응집능을 비교하기 위하여 무기응집제로는 시중에 판매되고 있는 H사의 무기응집제를 이용하였고 비교 균주로는 *Agrobacterium* sp. KCCM 40418을 이용하였다. 응집능 실험은 위향에서 기술한 방법과 동일하게 시행하였다.

2.6 음식물류폐기물 탈리액을 이용한 JS-01 분리균주의 배양

분리 균주의 음식물류폐기물내 성장 여부를 확인하기 위하여 부천시 종합폐기물처리장내의 음식물류폐기물 처리 시설에서 제공 받은 음식물류폐기물 탈리액을 10배로 희석하여 pH 7.0으로 조절한 후, 멸균하여 EPS broth 배지에서 3일간 전배양된 JS-01 분리균주 배양액 100μl를 접종하여 37°C, 120 rpm의 교반조건에서 배양하였다. 1일 단위로 시료를 채취하여 EPS agar 배지에 도말한 후, 37°C에서 2일간 배양하여 형성된 콜로니를 계수하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 지렁이로부터 세균의 분리 및 유기물 분해능

지렁이는 음식물류폐기물의 감량화¹⁰⁻¹²⁾ 및 대사 결과물인 분변토의 퇴비화¹³⁾를 통한 유기성폐자원의 재활용 방안의 한 축을 이루고 있는 중요한 생물자원으로 최근 주목을 받고 있다. 본 연구에서는 이에 착안하여 지렁이의 장 및 체내에 서식하는 세균 중 유기물 분해능이 뛰어난 미생물을 분리하여

(Table 1) Nucleotide Sequences of Primers for the Amplification of Isolated Bacterial 16s rDNA

Primer	Sequences	Reference
27F	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG	Lane (1991)8)
1492R	GGT TAC CTT GTT ACG ACT T	

음식물류폐기물 폐수의 응집처리 미생물소재로 개발

하고자 하였다.

지렁이 체액내 미생물 분포는 약 3.5×10^5 cells/ml로 나타났으며, 이 중 고체배지 상에서 EPS성 물질을 분비하며 서로 다른 형태적 특징을 갖는 4개의 균주를 분리하여 각각 JS-01~JS-04 균주로 명명하였다. 분리 균주 모두 Gram 양성균의 짧은 간균으로 나타났으며, 다양한 기질이 각각 첨가된 고체배지에서의 유기물 분해에 관련된 세포외 효소의 활성 분석을 통해 음식물폐기물의 대표적인 유기화합물인 섬유소, 단백질, 지방에 대한 유기물 분해능이 우수한 것으로 확인되었다(Table 2). 특히 JS-01 균주는 섬유소 및 단백질에 대한 분해능을 가지고 있을 뿐만 아니라 지방 분해능력이 매우 우수하게 나타났다. Singleton 등에¹⁴⁾ 의하면 직접 계수시 지렁이(*Lumbricus rubellus*) 한 마리당 10^7 개체의 원핵생물이 존재하며 장에 밀접하게 연합하여 생존하는 원핵생물 중 배양 가능한 미생물은 0.01~0.53%로 밝혀져 있으며, *Bacillus*는 지렁이를 포함한 토양 무척추동물의 장내 미생물 군집의 중요한 구성원으로 특히 섬유소 분해 미생물의 대표적 미생물군으로 알려져 있다¹⁵⁾. 특히 지렁이의 장내 이동은 *Bacillus* 균주의 포자 발아를 촉진하는 것으로 보고되어 있다¹⁶⁾. 따라서 토양내 지렁이로부터 분리한 JS-01 균주는 음식물폐기물 폐수에 존재하는 유기물의 효과적인 분해와 대사과정에 따른 생체량의 증가를 위한 미생물 소재로의 적용 가능성이 매우 크다.

3.2 16s rDNA 서열분석을 이용한 분리균주의 분자생물학적 동정

지렁이 체액으로부터 분리한 4종의 분리균주 JS-01~04 균주의 16s rDNA 서열분석 결과, 각 분리 균주는 [Table 3]에 나타난 바와 같이 JS-01 및 JS-02 균주는 각각 *Bacillus pumilus* 및 *B. cereus*에 속하였으며 다른 두 균주는 *Enterobacter* sp. 및 *Pantoea agglomerans*로 동정되었다. 이들 4 균주는 계통유전학적으로 매우 밀접한 관계를 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

*Bacillus pumilus*는 국내외적으로 분해가 어려운 xylan이나 xylooligosaccharide, 섬유소, 단백질, 지질, 나프탈렌 등에 대한 분해능이 보고^{17~21)} 되어 있으며, 국내 음식물폐기물의 고형물중 섬유소가 주성분인 야채류가 가장 큰 구성비를 차지하고 있다는 점²²⁾에서 분리균주인 JS-01 균주는 음식물폐기물 내 고형물의 저감을 위한 후보 미생물 소재로 적용할 수 있을 것으로 판단된다. 또한 *B. pumilus* 균주는 염의 농도나 고온에 대해서도 안정적이며 구조 단백질의 분해에도 탁월한 능력을 나타내고, 메주 제조시 *B. cereus*와 함께 주발효 미생물로 알려져 있다²³⁾. 일반적으로 음식물폐기물의 염도가 0.5~2% 함량을 갖는 것을 감안할 때, 염에 저항성을 갖는 분리균주를 음식물폐기물을 대상으로 한 미생물소재 개발은 매우 큰 장점으로 판단된다.

[Table 2] Exo-Enzyme Activities of the Isolated Bacteria from the Earthworm upon Solid Media Containing Various Substrates

Isolated strain	Enzyme activity		
	CA ^a	PA	LA
JS-01	+ ^b	++	+++
JS-02	+	++	++
JS-03	+	++	++
JS-04	+	+	++

^a CA: cellulolytic activity (cellulase), PA: proteolytic activity (protease), LA: lipolytic activity (fatty acid esterase)

^b +: 1-2 mm, ++: 2-4 mm, +++: > 5mm indicate clear zone.

3.3 *Bacillus pumilus* JS-01 분리 균주의 최적 성장 및 응집능 조건

3.3.1 최적 배양 조건

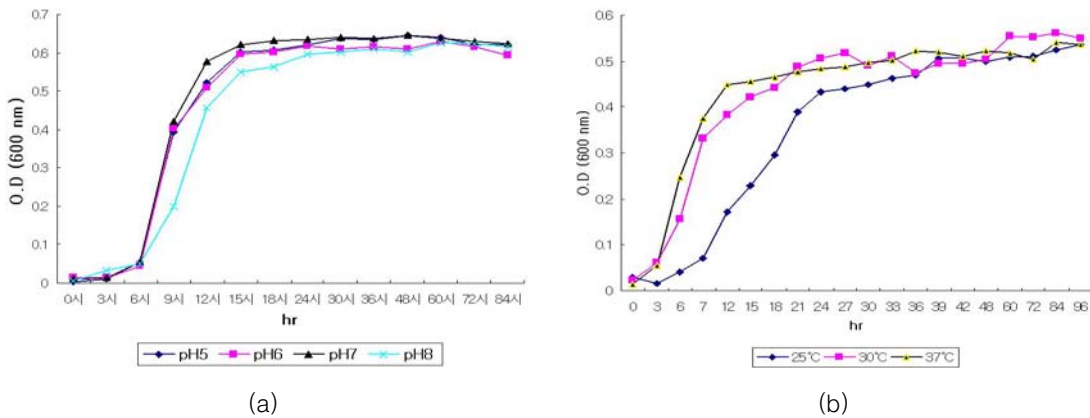
분리 균주 중 유기물 분해능이 상대적으로 우수한 *Bacillus pumilus* JS-01 균주를 대상으로 음식물폐기물 탈리액내에서의 배양을 통해 유기물의 저감 및 균체의 생체량을 증가시켜 최종적으로 친환경 응집제의 효과적인 응집반응을 유도하기 위한 목적으로 일차적으로 이화학적 환경인자인 온도 및 pH에 대한 분리균주의 적정 성장조건을 도출하였다. pH 조절에 따른 분리균주의 성장 양상은 pH 5~pH 8에서 모두 유사한 성장 양상을 나타냈으나 pH 8에서 생장이 다소 떨어짐을 알 수 있다[Fig. 1 (a)]. 따라서 JS-01 균주는 생장에 있어 pH의 영향을 크게 받지 않으나 알칼리 상태에

서는 생장에 영향을 미칠 것으로 판단된다. 온도에 따른 성장 조건에서 30°C 및 37°C에서는 상이한 결과는 나타나지 않았으나 25°C에서는 다소 생장이 느린 것으로 보아 낮은 온도에 영향을 받는 것으로 판단되었다[Fig. 1 (b)].

JS-01 분리 균주의 최적 성장 조건 분석 결과, 약산성에서 중성에 이르는 pH 범위에서는 산성도에 의한 영향은 크게 없었으며, 온도 또한 25°C에서는 30°C와 37°C의 온도 조건에 비해 유도기(lag phase)가 길고 급격한 생장이 이루어지지 않는으나 24시간 이후엔 다른 온도에서의 성장과 유사한 경향을 보여주었다. 이러한 점은 실제 음식물 폐기물 처리 plant에 적용시 30~37°C의 온도 유지를 위한 가온이 필수적으로 요구되지 않는다. 즉 전력 소비를 절약하기 위한 상온에서의 공정 진행도 가능할 것으로 판단된다.

[Table 3] Identification of Isolated Bacteria from the Extract of Earthworm using by 16s rDNA Sequence Analysis

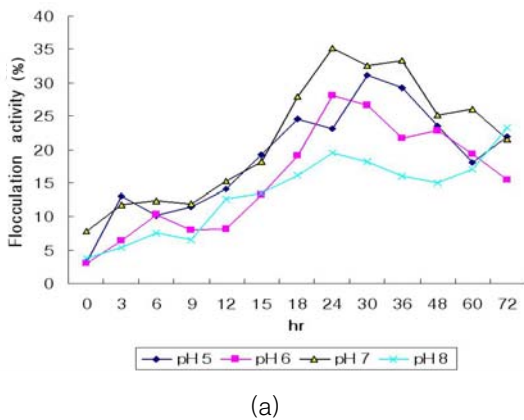
Isolated strain	Organism	Similarity
JS-01	<i>Bacillus pumilus</i>	99%
JS-02	<i>Bacillus cereus</i>	99%
JS-03	<i>Enterobacter sp.</i>	99%
JS-04	<i>Pantoea agglomerans</i>	99%



[Fig. 1] Growth patterns of isolated bacterium, *Bacillus pumilus* JS-01 strain from the extract of earthworm according to pH treatment and temperature.

3.3.2 최적 응집 조건

pH 및 온도 조건에 대응한 *Bacillus pumilus* JS-01 균주의 생장에 따른 균주배양액의 5% kaolin에 대한 응집능을 살펴본 결과, 온도 및 pH 조건에 따라 응집능의 차이가 있음을 이는 것을 확인하였다. 전체적으로 대수증식기를 지나 24시간 이상 배양시 최고의 응집활성을 나타냈으나 균주의 생체량이 배양 후 12 시간 이후에 정체기에 들어가 72시간 까지는 생체량을 유지하는데 반하여 응집능은 대체적으로 온도 및 pH 처리구간에 관계없이 36시간 이후 급격히 감소하였다(Fig. 2). 배양액의 각 pH 구간에 있어서 균주의 성장곡선은 유사한 경향을 보인 것과 달리 응집능에서는 다른 경향을 보여주었다. 배양시간에 따른 응집활성은 30시간 배양에서 가장 높은 효율을 보였다. 응집능에 미치는 pH의 영향에서 pH 7이 응집능에 미치는 가장 효율적인 처리 구간이었으며, pH 5 또한 pH 7 구간에 비해 응집능이 다소 떨어지나 응집능은 비교적 높게 나타났다(Fig. 2 (a)). 온도 조건에 대한 응집능에서는 37°C에서 배양한 시료에서 가장 높은 응집능을 보였으나 25°C에서는 응집능의 활성이 매우 낮게 나타났다(Fig. 2 (b)). 결론적으로 pH 7 및 37°C의 조합 처리 구간이 분리 균주의 적정 성장 및 응집능의 활성에 가장 적합한 이화학적 환경인자 조건으로 판단되었다.

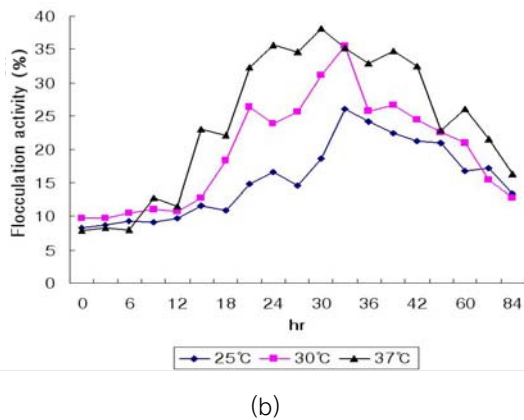


3.3.3 최적 배양조건에서의 응집 비교 실험

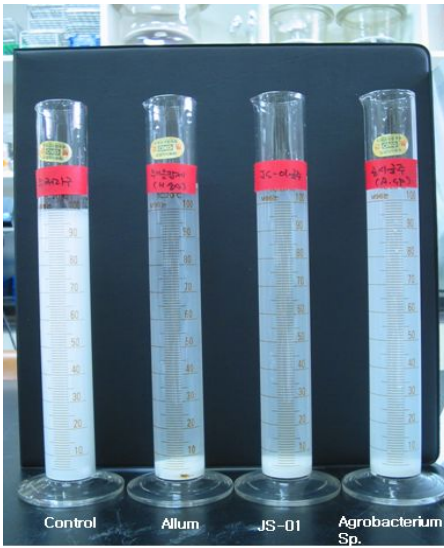
이전의 결과를 통해 최적 조건에서 배양한 *Bacillus pumilus* JS-01 균주의 응집능의 효율성을 비교하기 위하여 상용 무기응집제인 Allum과 기준에 보고된 응집능을 갖는 *Agrobacterium* sp. KCCM 40418 균주 배양액의 0.5% kaolin에 대한 응집능 비교 결과, *Agrobacterium* sp. 배양액의 응집능에 비해 약 2배의 응집능을 보인 반면 무기응집제에 의한 응집능(80.93%)의 76%에 해당하는 61.72%의 응집능을 나타냈다(Fig. 3) (Fig. 4).

pH와 온도 조건의 환경 인자에 대한 분리 균주의 적정 성장 정도는 에 대한 환경인자의 광역성이 부여되는 반면, pH 8 및 25°C에서의 응집능은 현저히 감소하였다. 음식물폐기물의 일반적인 pH가 4.5~5.5 임을 감안한다면 분리 균주에 의한 응집능이 pH 5에서도 유지된다는 점에서 실제 plant에 적용시 장점으로 작용할 것으로 사료된다.

서 등의²⁴⁾ 보고에 의하면 토양으로부터 분리한 *Bacillus* sp. A56균주의 경우, C/N비 등을 고려한 최적화된 배지에서의 응집활성이 기초배지에서 서보다 10배 정도 향상되었고 균체량은 약 3배 정도 증가하였고 이러한 결과는 이 등²⁵⁾의 보고 (*Arcuadendron* sp. TS-49 균류)와 우 등²⁵⁾의 보고(*Achromobacter* sp. YJ-66)⁹⁾와 일치하고 있다. 이러한 선행 연구보고를 참고할 때, 온도와



[Fig. 2] Time course of flocculation activities from the cultured broth of isolated bacterium, *Bacillus pumilus* JS-01 strain from the extract of earthworm according to pH and temperature.



[Fig. 3] Photograph of flocculation test on the 0.5% kaolin suspension with commercial allum and cultured broth of the isolated bacterium, *Bacillus pumilus* JS-01 strain and *Agrobacterium* sp. KCCM 40418.

pH의 최적 응집조건에서 배양하여 정제하지 않은 배양액의 카올린에 대한 응집능이 기존의 상용 응집제인 allum에 의한 응집능의 76%에 이르는 응집효율은 차후 pH 및 온도의 환경인자에 더하여 영양원 등의 적정 환경인자의 적용이나 돌연변이

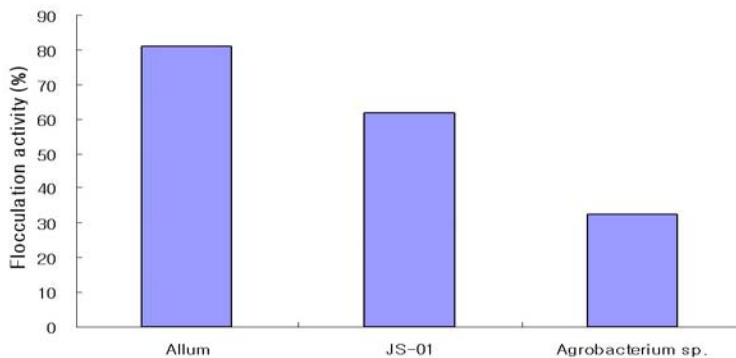
체 유도 등을 통한 균주개량을 통해 상용 무기응집제의 응집효율과 대등하거나 또는 그 이상의 응집능을 갖는 미생물 응집제의 개발이 가능할 것으로 판단된다.

3.4 음식물탈리액을 이용한 *Bacillus pumilus* JS-01 분리 균주의 생장

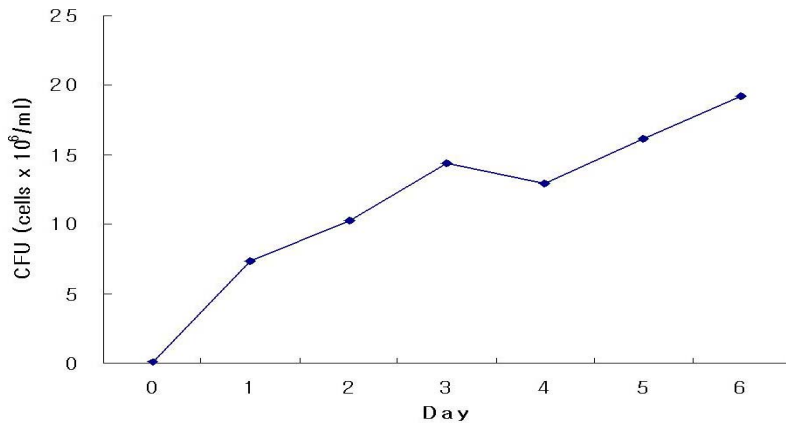
유기물 분해능 및 응집능을 갖는 분리균주 *Bacillus pumilus* JS-01 균주의 음식물탈리액을 배지로 이용한 생장 여부를 조사한 결과, 전배양된 분리균주 배양액의 접종 시, 탈리액내 분리균주의 초기 생체량이 5.3×10^3 CFU/ml에서 1일 후, 7.37×10^6 CFU/ml의 급격한 생체량의 증가를 보였으며 2일 후에 1.03×10^7 CFU/ml으로 증가하여 이후 6일에 이르기까지 2배의 생체량을 유지하였다(Fig. 5). 이러한 결과는 분리균주가 고농도의 고상 영양원과 염분 함유 및 산성화 되어 있는 특성을 갖고 있는 국내 음식물폐기물의 생물학적 처리에 매우 적합하며 기존에 보고되어 있는 *Saccharomyces cerevisiae* 균주와의 혼합 처리를 통해 상승효과를 가질 것으로 사료된다.

4. 결론

지렁이로부터 4종의 유기물분해능 및 응집능을



[Fig. 4] Flocculation activities of commercial allum flocculant and 30 hrs cultured broth, and culture broth of *Agrobacterium* sp. and isolated bacterium, *Bacillus pumilus* JS-01 strain. JS-01 strain was incubated on EPS broth medium (pH 7.0) at 37°C.



[Fig. 5] A time course of biomass of cultivated *Bacillus pumilus* JS-01 strain on 10% diluted food wastes leachate, adjusted pH 7.0 at 37°C.

갖는 우수한 균주(JS01 ~ JS04 균주)를 분리하여 동정한 결과, *Bacillus pumilus*, *B. cereus*, *Enterobacter* sp. 및 *Pantoea agglomerans*로 각각 동정되었다. *B. pumilus* JS-01 분리 균주는 섬유소 및 단백질에 대한 분해능 뿐만 아니라 지방 분해능력이 매우 우수하게 나타났다. *B. pumilus* JS-01 균주의 최적 성장 온도는 37°C 이었으며 pH 5에서 8의 범위에서 유사한 성장 양상을 보였으나 pH 8에서 생장이 다소 떨어졌다. 분리 균주의 온도와 pH에 따른 응집능은 37°C, pH 7의 배양 조건에서 가장 우수하였으며 pH 5에서 배양시 응집능은 다소 감소하였다. 전체적으로 온도 및 pH에 따른 각 실험구에서 30시간 배양까지는 생체량에 비례하여 응집능이 증가하여 30시간 배양시 최고의 응집률을 보였으나 이후에는 급격히 응집능이 감소하여 생체량과 비례하지 않았다. 결론적으로 pH 7 및 37°C의 배양 조건이 *B. pumilus* JS-01 균주에 대한 성장 및 응집능에 대한 최적의 환경인자 조합으로 나타났다. JS-01 균주의 음식물폐기물에 대한 적용 여부를 판단하기 위한 음식물폐기물 탈리액에서의 배양 결과, 접종 초기의 10³배 생체량이 접종 1일 만에 1,000배의 급격한 생체량 증가를 보였다. 온도 및 pH의 적정 조건에서 배양한 *B. pumilus* JS-01 균주 배양액의 응집능은 약 62%로 대표적인 상용 무기응

집제인 allm의 76%에 상응하였다.

사사

본 연구는 2006년도 환경부 핵심환경기술사업의 연구비 지원에 의하여 수행된 일부 연구로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 김영구, 배재근, 최훈근, 김성미, 황의영, “유기성폐기물의 종합관리기술구축을 위한 물리화학적 성상 분석”, *유기물자원화*, 13(1), pp. 100~114 (2005).
2. 환경부, “2004 전국 폐기물 발생 및 처리 현황”, (2005).
3. 환경부, ‘폐기물관리법시행규칙(제6조 1항 별표4)’, (2005).
4. 해양경찰청, “’05년 폐기물 해양투기 현황 및 ’06년 폐기물 해양투기 억제대책”, (2005).
5. Yokoi, H., Yoshida, T., Mori, S. and Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y., “Biopolymer flocculant produced by an *Enterobacter* sp., *Biotechnol. Lett.*, 19(6), pp. 569~573 (1997).

6. Master, C.L., Multhaup, G., Simms, G., Pottgiesser, J., Martins, R.N., and Beyreuther, K., "Neuronal origin of a cerebral amyloid: neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease contain the same protein as the amyloid of plaque cores and blood vessels", *EMBO J.* 4(11), pp. 2757~2763 (1985).
7. Diarfield, K.L. and Abernathy, C.O., "Acrylamide: its metabolism, developmental and reproduction effect, genotoxicity, and carcinogenicity" *Mutat. Res.*, 195, pp. 45~77 (1988).
8. Lane, D.J., 16S/23S rRNA sequencing. In : Stackebrandt, E., Goodfellow, M. (Eds). *Nucleic acid sequencing Techniques in bacterial Systematics*, Wiley, New York, pp. 115~175 (1991).
9. 우정숙, 정준영, 정만재, 도대홍 "Achromobacter sp. YJ-66에 의한 생물응집제의 생산특성", *한국산업미생물학회지*, 27(6), pp. 433~439 (1999).
10. 최훈근, "지렁이를 이용한 가정의 남은음식물 감량화", *폐기물자원화*, 10(4), pp. 26~34 (2002).
11. 나영은, 남홍식, 한민수, 방혜선, 소규호, 배운환, 안용준, "지렁이를 이용한 생 음식물쓰레기 처리 가능성", *한국토양동물학회지*, 8(1-2), pp. 13~16 (2003).
12. 창호, 이종민, 배성근, 전성균, 김종오, "지렁이를 이용한 음식물 쓰레기 처리에 관한 연구", *유기성자원학회지*, 13(1), pp. 71~78 (2005).
13. 이병도, 배운환, "가금류와 지렁이를 이용한 음식물 쓰레기 재활용 방법에 관한 연구" *유기성자원학회지*, 12(2), pp. 100~109 (2004).
14. Singleton, D.R., Hendrix, P.F., Coleman, D.C., and Whitman, W.B. "Identification of uncultures bacteria tightly associated with the intestine of the earthworm *Lumbricus rubellus* (Lumbricidae; Oligochaeta)", *Soil Biol. Biochem.*, 35, pp. 1547~1555 (2003).
15. König, H., "Bacillus species in the intestine of termites and other soil invertebrate", *J. Appl. Microbiol.*, 101, pp. 620~627 (2006).
16. Fisher, K., Hahn, D., Hönerlage, W., and Zeyer Z., "Effect of passage through the gut of the earthworm *Lumbricus terrestris* L on *Bacillus megaterium* studied by whole cell hybridization", *Soil Biol. Biochem.*, 29, pp. 1149~1152 (1997)
17. Duarte, M.C.T., Silva, E.C., Bulhões Gomes, I.M., Ponezi, A.N., Portugal, E.P., Vicente, J.R. and Davanzo, E., "Xylan-hydrolyzing enzyme system from *Bacillus pumilus* CBMAI 0008 and its effects on *Eucalyptus grandis* kraft pulp for pulp bleaching improvement", *Bioresource Technol.*, 88(1), pp. 9~15 (2003).
18. Poorna, C.A. and Prema, P., "Production and partial characterization of endoxylanase by *Bacillus pumilus* using agro industrial residues" *Biochem. Engineer. J.*, 32(2), pp. 106~112 (2006).
19. Kim, H.K., Choi, H.J., Kim, M.H., Sohn, C.B. and Oh, T.K., "Expression and characterization of Ca²⁺-independent lipase from *Bacillus pumilus* B26", *Biochim. Biophysica Acta(BBA)*, 1583(2), pp. 205~212 (2002).
20. Lee, M.H., Song, J.J., Choi, Y.H., Hong, S.P., Rha, E.E., Kim, H.K., Lee, S.G., Poo, H.Y., Lee, S.C., Seu,

- Y.B. and Sung, M.H., "High-Level Expression and Secretion of *Bacillus pumilus* Lipase B26 in *Bacillus subtilis* Chungkookjang", J. Microbiol. Biotechnol., 13(6), pp. 892~896 (2003).
21. Calvo, C., Toledo, F.L. and González-López, J., "Surfactant activity of a naphthalene degrading *Bacillus pumilus* strain isolated from oil sludge", J. Biotechnol., 109(3), pp. 255~262 (2004).
22. 유기영, 함건식, 이현미, 이진숙, "음식물쓰레기 감량 및 자원화 방안", 서울시정개발연구원, (1997).
23. 정가진, 미생물도감, 서울대학교 미생물연구소, pp. 41~42 (2005).
24. 서현호, 이문호, 김희식, 박찬선, 윤병대, "Bacillus sp. A56을 이용한 응집제 생산", 한국산업미생물학회지, 21(5) pp. 486~493 (1993).
25. 이순호, 권기석, 이재동, 이문호, 오희목, 윤병대, 이태호, "응집제 생산균주의 분리 및 배양특성", 한국영양식량학회지, 24(5), pp. 790~795 (1995). 