

## 토양으로부터 분리한 토착유효미생물을 이용한 음식물쓰레기의 자원화

이상우 · 함선녀 · 신태수 · 김혜경 · 연익준\* · 김광렬†

충북대학교 환경공학과 · \*충주대학교 환경공학부

(2008년 8월 21일 접수, 2009년 1월 23일 채택)

## Resource of Food Waste using Indigenous Bacteria Isolated from Soils

Sang-Woo Lee · Sun Nyeoo Ham · Taek-Soo Shin · Hye-Kyung Kim · Ik-Jun Yeon\* · Kawng-Yul Kim†

Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University

\*Department of Environmental Engineering, Chungju National University

**ABSTRACT** : This study was conducted to investigate feasibility of feedstuff for animal using food waste by fermentation mechanism of indigenous microorganism. To achieve this purpose, indigenous bacteria was isolated from soils to use as an inoculant. Enzyme test was performed to verify activity of amylase, protease and lipase using isolated bacteria. Bacteria(H1, D1), which vigorously express the enzyme activity, was selected and used in the fermentation experiments of food waste. From the analysis of 16s rDNA sequencing, H1 and D1 were identified as *Bacillus subtilis* and *Paenibacillus polymyxa*, respectively. In the fermentation experiment, food waste was mixed with rice bran and popped rice to control moisture and nutrient content. Isolated bacteria(*B. subtilis* and *P. polymyxa*) was used as an inoculant. From the measured data such as temperature, pH and ORP, it can be verified that food waste adding the indigenous bacteria was effectively fermented. From the nutritional analysis of manufactured feedstuff, it showed that the contents of crude protein, crude fat and crude fiber were enough to use as feedstuff for animal. In addition, harmful components such as Pb, Hg, Cd, aflatoxin and salmonella concentration were not exceeded permitted standards. Therefore, fermented food waste using indigenous bacteria can be used as feedstuff.

**Key Words** : Food Waste, Fermentation, Indigenous Bacteria, Feedstuff

**요약** : 본 연구는 토착미생물에 의한 발효기작을 이용하여 음식물쓰레기를 동물 사료로 이용하기 위한 가능성을 평가하기 위하여 수행되었다. 이를 위하여 효소활성 실험을 통하여 amylase, protease, lipase에 대한 우수활성을 나타내는 토착유효미생물을 토양으로부터 분리하여 음식물쓰레기의 사료화를 위한 발효제로 사용하였다. 16s rDNA sequencing의 분석을 통해 우수활성을 나타내는 미생물(H1, D1)은 *Bacillus subtilis*와 *Paenibacillus polymyxa*인 것으로 확인되었다. 사료화 실험에서는 수분과 영양소 함량의 조절을 위하여 쌀겨 및 팽화미를 음식물쓰레기에 혼합하여 사료화를 위한 시료로 사용하였으며 효소활성 실험을 통해 분리된 2종의 미생물(*Bacillus subtilis*, *Paenibacillus polymyxa*)을 발효제로 사용하여 사료화 실험을 진행하였다. 발효실험 동안의 온도, pH 및 ORP 측정을 통해 토착유효미생물의 접종에 의한 음식물쓰레기의 발효가 효과적으로 진행됨을 확인할 수 있었다. 반응종료 후 제조된 사료의 영양분 분석 결과에서 조단백질, 조지방, 조섬유는 동물 급여에 충분한 함량을 나타내었다. 또한 Pb, Hg, Cd, aflatoxin 및 salmonella 등의 유해물질의 분석결과 모든 항목이 허용기준치 이하의 값을 나타내었다. 따라서 토착유효미생물을 이용한 음식물쓰레기의 사료화는 동물의 사료로써 충분히 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

**주제어** : 음식물쓰레기, 발효, 토착미생물, 사료화

### 1. 서론

우리나라 생활 폐기물 발생량은 매년 큰 폭으로 증가해 오다가 1995년 쓰레기 종량제 실시를 계기로 줄어들기 시작하였으나 최근에는 다시 증가하는 추세에 있다.<sup>1)</sup> 생활 폐기물 발생량 중 많은 부분을 차지하고 있는 음식물쓰레기의 경우에도 2002년 11,397 ton/day에서 2006년 13,372 ton/day으로 발생량이 증가하고 있는 추세이다. 이미 발생된 음식물쓰레기의 처리방법은 과거에는 주로 매립 및 소각

에 의존했으나, 1997년 폐기물 관리법 개정을 계기로 퇴비화 및 사료화 그리고 안정화(메탄발효) 등의 재활용 방법으로 전환되기 시작하여, 2005년 1월부터 모든 시 지역의 음식물쓰레기 직접매립이 금지됨에 따라 기존의 처리방법을 이용한 음식물쓰레기 자원화시설의 보급과 설치가 급증하는 추세에 있다.<sup>2,3)</sup>

음식물 쓰레기를 자원화 혹은 재활용하는 기술에는 사료화 기술과 퇴비화 기술, 혹은 혐기성 소화를 통한 유효가스 회수 기술 등이 대표적이다. 이중 퇴비화 기술은 처리비용이 저렴한 장점이 있는 반면 악취 등 2차 오염을 유발할 뿐만 아니라 토양살포시 음식물에 함유되어 있는 염분에 의한 농작물 피해를 유발할 수 있다.<sup>4)</sup> 또한 혐기성

† Corresponding author

E-mail: kykim@chungbuk.ac.kr

Tel: 043-261-2466

Fax: 043-267-2466

소화를 통한 유효가스의 회수 기술은 음식물 쓰레기를 연료화 하는 기술로 최근에는 축산분뇨 등과 혼합하여 메탄가스의 발생량을 높이고 이를 회수하기 위한 많은 연구가 진행되고 있으나, 여전히 반응조에서 발생하는 슬러지의 처분 문제가 남는 단점이 있다.<sup>5)</sup> 그 외에도 음식물 쓰레기를 이용하기 위한 다양한 연구로는 지렁이 사육법이나 열을 이용한 탄화법 등을 들 수 있으나 음식물 쓰레기 발생량과 처리비용, 부산물의 이용 실태 등을 고려할 때 현실적인 대안이 되지 못하고 있다.

한편, 음식물 쓰레기에는 식물성, 동물성 영양분과 유지류가 다량 포함되어 있기 때문에 이를 가축의 사료로 재활용 할 수 있으며, 이는 자원화 기술중 가장 바람직한 방법으로 평가되어 왔다.<sup>6)</sup> 그러나, 사료화 기술에 있어서 음식물 쓰레기의 높은 염분 함유량, 계절에 따른 성상의 변화, 기후에 따라 달라지는 부패속도, 그리고 약 80%에 이르는 높은 수분의 함량 등은 해결해야 할 문제로 남아 있다.<sup>7)</sup> 이러한 문제점에도 불구하고 외국의 경우에는 음식물 쓰레기를 이용한 사료화 기술이 다양하게 개발되어 현재는 동물의 사료로서 시판되고 있고 이를 가축에게 직접 급여하고 있는 실정이나, 국내의 경우 가축에 급여하는 사료나 사료의 원료가 되는 곡물의 대부분을 국외에서 수입하고 있음에도 불구하고 앞서 기술한 여러 가지 문제점과 심미적인 이유로 안전한 사료로서의 개발과 가축에의 직접적인 급여가 거의 이루어지지 않고 있는 실정에 있다. 따라서 음식물 쓰레기를 이용하여 보관이 용이하고 안전하며 건강한 가축을 생산할 수 있는 일정한 품질의 사료를 생산하는 기술의 개발이 매우 절실하고 시급한 과제라고 할 수 있다.

본 연구에서는 음식물쓰레기 재활용을 통한 자원순환과 농가의 사료비 절감에 따른 수익률 극대화를 위해 대형 음식점이나 급식소 등에서 배출되는 음식물쓰레기를 대상으로 효과적인 사료화방법을 제시하고자 하였다. 이를 위해 우리나라 토착미생물 중 음식물쓰레기 발효공정에 유효한 미생물을 동정·분리하여 그 특성과 발효에 미치는 영향을 검토하였으며 제조된 사료의 가축사료로의 활용 가능성을 평가하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 발효사료화를 위한 실험재료

사료화를 위한 실험재료는 충북 청주시지역에 소재한 일반 음식점(한식업소)에서 발생된 음식물 쓰레기를 수거하여 부패 방지를 위하여 당일 완전혼합 후 음식물쓰레기의 수분함량이 60~80%가 될 때까지 체반힘의 방법으로 자연 건조한 다음 -10 mesh 이하로 분쇄하여 주재료로 사용하였다. 시료 조제시 염분, 영양분 및 수분 함량 조절을 위해 정미소에서 부산물로 발생하는 쌀겨(rice bran)와 식품 가공 공장에서 발생하는 부산물인 팽화미(popped rice)를 수거하여 음식물 쓰레기와 동일한 크기로 분쇄한 것을 부

**Table 1.** Nutrient compositions of food waste and additives

	Moisture (wt.%)	Crude protein (wt.%)	Crude fat (wt.%)	Crude fiber (wt.%)	Crude ash (wt.%)	pH	NaCl (%)
Food waste	71.12	8.68	8.14	8.13	0.11	5.24	1.3%
Rice bran	8.83	13.06	17.27	6.75	9.19	7.02	-
Popped rice	7.17	8.84	3.32	5.46	1.69	6.20	-

재료로 하여 주재료와 혼합하는 방법으로 발효사료화를 위한 시료를 제조하였다. 실험에서 사용한 음식물쓰레기 및 부재료는 사료표준분석방법<sup>8)</sup>에 따라 분석하여 결과를 Table 1에 제시하였다.

### 2.2. 토착유효미생물의 분리 및 동정

음식물 발효를 위한 발효 미생물은 충북 청원군 인근의 산토양(마사토)을 채취하여 토양 중 존재하는 미생물을 활성효소 실험을 통해 분리·선별하여 사용하였다. 토착유효미생물의 분리·선별 방법은 0.9% NaCl 용액 100 mL에 산토양 5 g를 혼합하여 30분 교반 후 상등액 1 mL를 취하여 starch agar medium, skim milk agar medium, sierra medium 등의 활성배지에 접종한 후, 각각의 활성배지에서 30°C에서 3일간 배양하여 형성된 colony로부터 탄수화물, 단백질, 지질 등의 영양분 분해효소가 발생되면서 나타나는 배지의 변화로 활성을 검색하였다.<sup>9)</sup> 각각의 배지에서 가장 높은 활성을 나타내는 미생물 중 2종의 미생물을 선별하여 사료화 실험에 사용하였으며, 이들 미생물에 대한 동정을 위하여 universal primer는 SEL0904 16S rRNA sense (5'-ATC ATG GCT CAT CAG ATT GAA CGC-3')와 SEL1226 16S rRNA antisense(5'-T ACC TTG TTA CGA CTT CTA CCT-3')를 이용하였으며 PCR을 통한 16S rDNA 결과의 분석은 NCBI GeneBank network service의 BLAST program으로 수행하였다.<sup>10)</sup>

### 2.3. 실험장치

음식물쓰레기의 발효사료화 장치는 아크릴을 이용하여 두께 5 mm, 지름 250 mm, 높이 450 mm의 원통형으로 제작하였다. 발효조는 발효사료화 장치를 지름 450 mm, 높이 500 mm 크기의 고무통 안에 설치한 후 보온용 단열 재료 packing 하여 공기를 최대한 차단하고 외기의 온도 변화에 의한 영향을 줄일 수 있도록 제작하였다. 또한 반응이 진행되는 동안 발효조의 pH, ORP (Oxidation Reduction Potential) 등을 실시간으로 측정할 수 있도록 자동측정 장치(Mutichannel system, Istek Co.)를 연결해 발효의 진행 상태를 확인할 수 있도록 하였다.

### 2.4. 음식물 사료화를 위한 반응기 운전 조건

발효사료 제조를 위한 시료는 건조 함량을 기준으로 음식물쓰레기 16 kg, 쌀겨 9 kg, 팽화미 5 kg를 혼합하여 제조함으로써 최종 수분을 30±5%로 조절하였다. 음식물 쓰

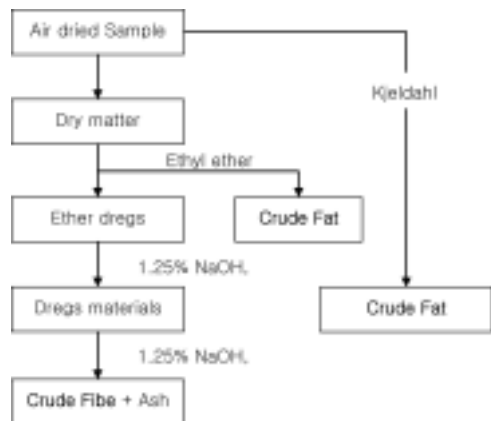
**Table 2.** Experimental conditions of fermentation for food waste

Material	Food waste (kg)	Rice bran powder (kg)	Popped rice (kg)	Moisture (%)	Inoculated microbe
F1	16	9	5	30±5	sterilized
F2	16	9	5	30±5	H1
F3	16	9	5	30±5	H1, D1

레기의 사료화시 활성우수균주의 영향을 정확하게 평가하기 위하여 혼합된 시료는 dry oven을 이용하여 160℃에서 4시간 동안 1차 건조 멸균한 후 autoclave를 이용하여 121℃에서 15분간 2차 멸균하였다. 음식물쓰레기 발효사료화 과정에 영향을 미치는 유효미생물을 확인하기 위하여 활성배지를 이용하여 분리·동정된 우수활성균(H1, D1) 2종을 세 개의 시료에 각각 다르게 조합하여 접종하였으며, 접종후 상온에서 14일간 발효시키면서 발효 과정을 관찰하였다. 본 실험에서 사용한 배합시료와 미생물 접종 조건을 Table 2에 제시하였다.

2.5. 발효사료의 영양분 및 유해물질 분석

분리한 토착유효미생물을 이용하여 제조된 발효사료에 대하여 사료로써의 사용 가능성을 조사하기 위하여 조단백질(crude protein), 조지방(crude fat), 조섬유(crude fiber) 등의 영양분 함량을 분석하였다. 연구에서 사용한 영양분 함량 분석방법은 1865년 독일 Weende시험 연구소에서 Henneberg와 Stohmann이 확립시킨 Weende분석법으로, 현재 우리나라 축산연구소를 비롯하여 사료 및 식품의 영양가치를 평가하기 위해 세계 각국에서 널리 사용되고 있으며 분석과정을 요약하면 Fig. 1과 같다.<sup>8)</sup> 또한 제조된 발효사료의 유해성 평가를 위해 현행 사료 관리법에서 규정하고 있는 유해물질을 대상으로 제조된 사료에 대한 유해물질 함유량을 조사하였다. Pb, Hg, Cd 등 3가지 중금속 속의 대한 함유량 분석은 폐기물공정시험법에 따라 중금속 용출 후 ICP (Inductively Coupled Plasma Lab8440, Lab-tam, Co.)로 분석하였으며 아플라톡신 B1과 살모넬라는 축산물의 가공기준 및 성분규격(농림부고시)의 방법에 의해 분석하였다.



**Fig. 1.** Feedstuff analysis method.

3. 결과 및 고찰

3.1. 효소활성 검색을 통한 토착유효미생물 분리 및 동정

토양으로부터 음식물 쓰레기의 사료화를 위한 토착유효미생물의 분리 및 동정을 위하여 활성배지(starch agar medium, skim milk agar medium, sierra medium)를 이용한 효소활성 실험을 수행하였다(Table 3). 기초 실험을 통하여 1차적으로 각각의 배지에서 활성을 나타내지 않는 미생물을 제외하고 총 11종의 미생물을 대상으로 효소 활성 실험을 수행하여 높은 활성을 나타내는 2종의 미생물을 선정하였으며 이들 미생물에 대하여 동정을 실시하였다.

3.1.1. Amylase 활성 검색

Amylase 활성을 검색하기 위하여 starch agar medium에서 배양한 후 1% potassium iodide와 iodine solution을 부어 배지표면을 덮어주어 효소활성균주의 colony 주위에 보라색이 투명한 clear zone으로 형성되는 것을 관찰하여, 만들어진 clear zone을 측정하여 활성도를 0.5 cm마다 '+'로 표시하였다(Table 3). 총 11종의 미생물중 9종의 미생물은 탄수화물 분해 효소인 amylase 생성이 관찰되지 않았으며 D1와 H1종에서 각각 0.7 cm, 0.8 cm의 clear zone이 형성되는 것이 관찰되었다. 실험에 사용된 총 11종의 H1의 경우 탄수화물 분해에 사용되어지는 amylase의 생성이 가장 활발하게 일어나는 것으로 나타났다.

3.1.2. Protease 활성 검색

Protease 활성은 skim milk agar medium에서 배양된 colony 주위에 clear zone이 형성되면 protease를 분비하는 활성을 갖는 것을 알 수 있다.<sup>11)</sup> Protease 활성을 검색하기 위해 skim milk agar medium에서 배양하여 만들어진 clear zone을 측정하여 활성도를 0.5 cm마다 '+'로 표시하여 Table 3과 같이 activity를 표시하였다. 총 11종의 미생물중 8종

**Table 3.** Enzyme activity of isolated microorganisms from soils

Strain no.	Starch agar medium		Skim milk agar medium		Sierra medium		
	Clear zone (cm)	Activity	Clear zone (cm)	Activity	Clear zone (cm)	Activity	
1	D1	0.7	++	1.9	++++	0.4	+
2	D2	-		-	-	-	
3	D3	-		1.3	+++	1.2	+++
4	D4	-		-	-	0.6	++
5	D5	-		1.5	+++	0.9	++
6	Y1	-		1	++	-	
7	Y2	-		-	-	0.6	++
8	R1	-		0.7	++	-	
9	H1	0.8	++	2.5	+++++	1.1	+++
10	H2	-		0.7	++	-	
11	H3	-		0.7	++	-	

(D1, D3, D5, Y1, R1, H1, H2, H3)에서 clear zone이 확인되어 protease를 분비되는 것을 확인할 수 있었으며, 이중 amylase 활성 검색에서 높은 활성도를 나타내었던 D1과 H1종이 protease 활성에서도 높은 활성을 나타내는 것을 알 수 있다.

3.1.3. Lipase 활성 검색

Lipase의 활성 측정은 sierra medium에서 colony에 백색 침전물이 생기면 lipase를 분비하는 활성을 나타내는 균주로 분류될 수 있다.<sup>11)</sup> Lipase 활성을 검색하기 위해 sierra medium에서 배양하였으며 만들어진 clear zone을 측정하여 활성도를 0.5 cm마다 '+'로 표시하였다. Table 3과 같이 총 11종의 미생물중 6종(D1, D3, D4, Y2, H1)의 미생물이 Lipase 활성을 나타내었으며, 이중 D3와 H1종이 우수한 활성을 나타냈다.

3.2. 유효 토착미생물 동정

유효 발효 미생물을 분리하기 위해 실행한 효소활성검색을 통해 Amylase, Protease, Lipase에 대해 활성을 나타내는 2종(H1, D1)을 선택해 16s rDNA sequencing한 결과 *Bacillus subtilis*(H1), *Paenibacillus polymyxa*(D1)인 것으로 나타났다.

*B. subtilis*는 그람양성균으로 통성혐기성균으로 내열성이 아주 강하고 amylase, cellulase, protease를 분해하는 효소를 강력히 분비하는 것으로 보고되고 있다. 또한 유지의 분해, 우유의 응고, 젤라틴의 액화, biotin, vitamin K2의 합성 등 여러 분야에 이용되고 있으며 우리가 먹는 된장, 청국장 제조에 사용되는 균주로서 다량의 소화효소를 분비하여 소화를 촉진하며, 가축의 증체 효율을 증가시키는 것으로 알려져 있다.<sup>12,13)</sup> 이러한 생균제의 작용기작은 해로운 세균을 억제하여 질병의 발생을 억제하고 가축의 생산성을 향상시키는 것으로 보고되었다.<sup>14)</sup>

그람음성균인 *P. polymyxa*는 혐기균이며 토양속의 다른 미생물과 상호작용으로 다양한 항생물질과 가수분해 효소를 생산하는 유용미생물로 알려져 있으며, 특히 polymyxin B와 같은 작은 펩타이드 항생물질을 생산한다고 보고된 바 있다.<sup>15,16)</sup> 신은석<sup>17)</sup>은 *P. polymyxa*가 생산하는 항균활성물질에 의한 병원성 세균에 대한 성장억제력, 다제내성 균주에 대한 항균 활성, 배양학적 특성 등에 관한 연구에서는 생산하는 항균물질은 10~100℃까지 항균활성을 나타내는 등 열에 매우 안정하며, pH 3~11까지의 변화에 항균활성을 나타내고, 법정 1군 전염병을 일으키는 *Salmonella typhi*, *Shigella dysentri*, EHEC(장출혈성 대장균), *Vibrio*, *Cholera* 등의 병원성 세균과 *Salmonella Typhimurium*, ETEC(장염비브리오), *Yersinia Enterocolitica*, *Yersinia Pestis* 등의 식중독 균주에 탁월한 성장억제 효과를 나타내는 것으로 보고되었다.

3.3. 분리된 토착유효미생물에 의한 발효사료 반응

토양으로부터 분리한 토착유효미생물 중 분해효소 활성

이 우수한 균 2종(H1, D1)을 이용하여 각각 다르게 조합한 2개의 접종 발효조에 대한 온도, pH, 산화환원전위(ORP) 등 3개 항목에 대한 관찰하여 보았으며 1개의 대조군 발효조를 동일한 조건에서 실험을 실시하여 결과를 비교하였다.

3.3.1. 온도변화

분리한 토착유효미생물을 접종한 음식물쓰레기에 대하여 14일간의 발효과정 동안의 온도변화를 측정하였다(Fig. 2). 모든 시료의 초기 온도는 23~24℃를 나타내었으나 분리한 토착유효미생물 시료(F2, F3)의 경우 반응 3일 후 온도가 급격하게 상승하여 각각 31℃와 35℃에 도달하였으며 이후 지속적으로 온도가 상승하여 반응 13일에서 최고 39.9℃와 41.9℃를 나타내었다. 특히 *B. subtilis*와 *P. polymyxa*를 혼합하여 접종한 F3 시료는 *B. subtilis*만을 접종한 F2 시료들에 비하여 반응기간 동안 약 2~4℃ 정도 높은 온도를 나타내었다. 또한 멸균된 시료인 F1의 경우 발효실험이 진행된 14일간 관찰한 결과 온도변화가 거의 나타나지 않았으며 온도변화가 가장 크게 나타난 F3 시료와 비교시 최종온도는 약 17℃의 차이를 나타내었다. 이러한 온도분포의 차이는 분해되기 쉬운 당-전분 등 용해성물질이 접종된 토착유효미생물에 의해 분해되어 열을 발생시켜 반응온도가 상승하여 약 40℃까지 오르기 때문으로 판단된다.<sup>18)</sup> 반응조 내의 온도를 측정하여 멸균시료와 비교해본 결과, 토양으로부터 분리한 유효토착미생물에 의한 음식물 쓰레기의 사료화 반응이 활발히 진행되는 것으로 판단할 수 있다.

3.3.2. pH 변화

혐기성 발효는 가수분해, 산생성, 메탄생성 단계를 거쳐 발효가 완료된다. 가수분해 단계는 amylase, protease, lipase 등의 효소에 의해 고분자 물질이 저분자 물질로(당, 지방산, 아미노산, 글리세롤) 분해됨으로써 미생물 체내로 흡수되어 대사과 에너지원으로 이용되며 가수분해산물은 에너지원으로 작용하여 저분자 유기물인 휘발성유기산 등을 생성하는데, 균의 종류와 환경에 따라 탄수화물, 단백질, 지방 등이 분해되어 다양한 생성물(acetate, propionate, butyrate, hydrogen 등)로 전환된다.<sup>19)</sup> 미생물의 작용에 의한 산

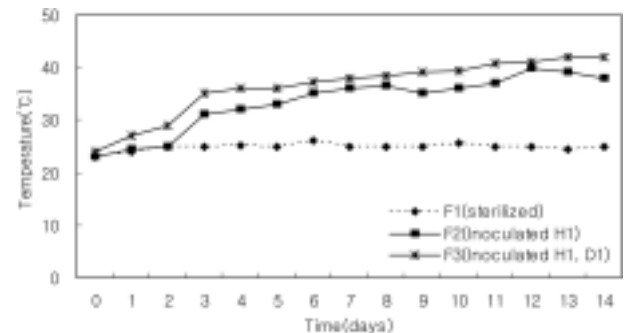


Fig. 2. Variation of temperature during fermentation.

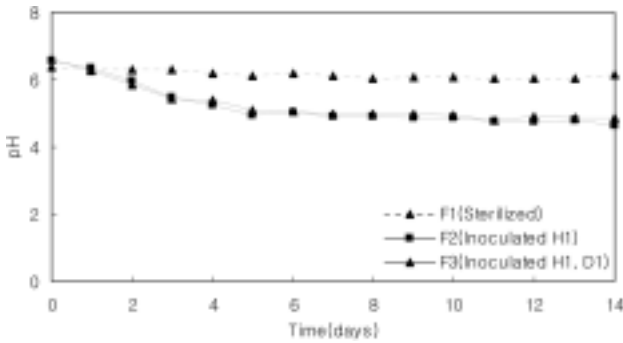


Fig. 3. Variation of pH during fermentation.

생성 작용은 유기산을 생성하며 이로 인하여 pH의 감소를 가져올 수 있으며 메탄생성 단계의 경우 메탄가스는 수중 산소와 반응하여 물과 이산화탄소를 발생시키며 이러한 이산화탄소는 물의 pH를 증가시키는 현상을 초래하게 된다.<sup>20)</sup>

Fig. 3에 보인 바와 같이 14일간의 발효과정 동안의 pH 변화를 측정한 결과, 미생물의 접종에 여부에 따라 pH의 변화에 차이를 나타내었다. 미생물이 멸균된 F1 시료의 경우 초기 pH는 6.4의 값을 나타내었으며 14일의 반응 시간이 경과 후 pH 6.1~6.2로 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 분리한 토착유효미생물을 접종한 F2와 F3 시료의 pH는 초기 6.6이었으나 발효과정이 진행됨에 따라서 완만하게 감소하는 경향을 보였으며, 반응 14일 경과 후 F2와 F3 시료의 pH는 각각 4.7과 4.9를 나타내었다. 이는 접종된 미생물의 산생성 반응이 진행되어져 유기산 생성되는 것으로 판단된다.

3.3.3. 산화환원전위(ORP) 변화

미생물의 배양시 미생물의 증식이 시작되는 산화환원전위(Oxidation Reduction Potential, ORP)의 하한 값은 미생물의 특성에 따라 달라지며 미생물 배양초기에서 산화환원전위의 감소 변화는 미생물 증식이 일어나는 것을 의미한다.<sup>21)</sup> 본 실험에서 14일간의 반응기간 동안 ORP를 측정한 결과 전체적으로 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 4). 멸균된 시료인 F1의 경우 초기 74 mV의 값을 나타내었으며 14일 경과 후 27 mV의 값으로 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 이는 생물학적 반응에 의한 변화보다는 반응실험이 진행되는 기간 동안 음식물쓰레기내 유기물과 수분중 존재하는 산소의 반응과 보온용 반응기내 온도변화로 인한 용존산소의 감소에 따른 것으로 판단된다. 그러나 *B. subtilis*를 접종한 F2 시료에서는 초기 80 mV에서 반응 4일 후 33 mV로 감소하는 경향을 나타내었으며 이후 반응이 10일까지 진행됨에 지속적으로 감소하여 혐기 상태인 (-)의 값을 나타내었고 최종적으로 반응 14일 후 -119.5 mV까지 급격하게 감소하는 것으로 나타났다. F2 시료의 경우 통성혐기성균인 *B. subtilis*에 의하여 반응이 이루어지므로 초기 호기성 상태에서 반응이 진행되어 산소가 소모된 후 반응기내 혐기성 조건이 형성됨에 따라 3일

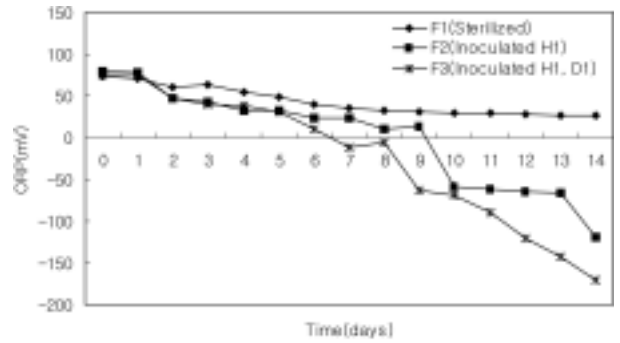


Fig. 4. Variation of ORP during fermentation.

간의 안정기를 보이며 이후 ORP 값이 감소하는 경향을 나타내는 것으로 보인다. *B. subtilis*와 *P. polymyxa*을 혼합하여 접종한 F3 시료는 산화환원전위의 값이 F2 시료와 유사한 경향을 나타내었으나 F2 시료에 비하여 빠르게 ORP 값이 감소하는 경향을 나타내었다. F3 시료의 경우 반응 7일후 (-)의 값을 나타내었으며 이 후 지속적으로 ORP값이 감소하여 최종적으로 -170 mV의 값을 보였다. F3 시료의 경우 초기 *B. subtilis*에 의하여 F2 시료와 유사한 경향을 나타내며 반응 7일 이후 반응기 내 혐기성조건이 형성됨에 따라 혐기성균인 *P. polymyxa*에 의하여 지속적으로 반응이 이루어져 F2 시료에 비하여 빠르게 ORP 값이 감소하는 것으로 판단된다. 토착유효미생물을 접종한 시료인 F2, F3 시료와 멸균 시료인 F1 시료의 ORP 변화 결과를 비교하여 보면 ORP의 변화폭이 큰 것으로 미루어 접종된 미생물에 증식이 이루어지며 또한 이에 의하여 발효반응이 원활하게 진행되어지는 것으로 판단된다.

3.4. 제조된 발효사료의 분석

3.4.1. 영양분 분석 결과

일반적으로 사료로 이용되는 물질은 가축에게 급여 시 영양학적으로 볼 때 조단백질, 조지방, 조섬유의 함량이 중요한 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 시료내 미생물을 멸균한 F1 시료와 가축사료로의 사용 가능성 평가를 위해 동정된 토착유효미생물 2종을 조합하여 접종한 F2와 F3 시료를 14일간 발효하여 제조한 사료에 포함된 영양분 함량 변화를 분석하였다(Table 4). 가축에게 급여되는 사료는 일반적으로 사료에서 조단백질 함량이 18~23% 요구되나 영양적 측면에서 조단백질 함량이 10% 이상이면 사료로서 이용가치가 가능한 것으로 알려져 있으며,<sup>22)</sup> 조지방 요구량은 대상동물에 따라 다소 차이를 보이나 일반적인 조지방 요구량이 2% 이상으로 보고되고 있다.<sup>23)</sup> 또한 조섬유 함량은 반추동물은 제외한 돼지, 닭, 오리 등의 동물에게 급여하는 사료는 조섬유 함량이 높게 되면 소화율과 기호성도 떨어져 육질 및 생산성에 지장을 주게 됨으로 약 4~8%가 적절한 함량인 것으로 알려져 있다.<sup>22)</sup> 멸균된 F1 시료의 경우 조단백질, 조지방의 함량은 각각 19.6%, 16.2%로써 사료로 사용시 요구되어지는 함량을 만족하였으나 조섬유의 함량은 10.6%로 사료로 사용하기에 다소 높은 값

**Table 4.** Nutrients compositions of fermented feedstuff

Material	Crude protein (wt.%)	Crude fat (wt.%)	Crude fiber (wt.%)
F1	19.6	16.2	10.6
F2	15.1	12.0	8.1
F3	13.7	11.0	6.9

**Table 5.** Analysis of hazardous and toxic components

	Pb (ppm)	Hg (ppm)	Cd (ppm)	Aflatoxin B1 (ppb)	Salmonella D
Permitted level	< 20	< 0.5	< 2.5	< 50	none
Food waste	2.86	0.01	0.16	1.03	none
F2	3.45	0.01	0.23	3.41	none
F3	3.24	0.01	0.21	2.93	none

을 나타내었다. 그러나 토착유효미생물을 이용하여 제조된 발효사료의 조단백질 함량은 F2와 F3 시료의 경우 각각 13.7%와 15.1%로 사료로 요구되어지는 조단백질 함량 만족시키는 것으로 나타났으며, 조지방은 11.0%와 12.0% 그리고 조섬유 함량은 각각 6.9%와 8.1%로 제조된 F2와 F3 사료들은 영양학적으로 문제가 없어 가축 사육을 위한 사료로 사용할 수 있을 것으로 보인다.

3.4.2. 유해물질 분석 결과

유해물질 함량을 조사하기 위해 Pb, Hg, Cd, 아플라톡신, 살모넬라의 함량을 분석한 결과 Table 5에서 보는 바와 같이 모두 기준치 이내로 적정하게 나타났다. Pb와 Cd는 각각 허용기준 20 ppm과 2.5 ppm 이하를 크게 하회하는 3.24~3.45 ppm과 0.21~0.23 ppm으로 나타났다. Hg의 경우 기준치의 1/50수준이었으며 살모넬라균은 검출되지 않았다. 아플라톡신의 경우 기준치인 50 ppb 보다 훨씬 낮은 2.93~3.41 ppb로 나타났다.

4. 결론

음식물쓰레기의 효율적인 사료화를 위하여 음식물쓰레기와 쌀겨 및 팽화미를 부재료로 하여 제조한 시료를 대상으로 발효반응에 유용한 토착유효미생물을 이용한 발효 사료화 방법을 연구하여 얻은 결론은 다음과 같다.

- 1) 효소활성도를 검사를 통하여 토양으로부터 분리한 2종의 유효미생물을 선별하여 16S rDNA sequencing으로 동정한 결과 *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus polymyxa* 등으로 나타났으며, 동정된 각각의 미생물은 소화효소분해능이 우수하고, 항생효과를 나타내는 미생물이었다.
- 2) 토착유효미생물을 이용하여 제조한 발효사료의 영양성분을 분석한 결과 조단백질 13.7~15.1%, 조지방 11.0~12.0%, 조섬유 6.9~8.1%로 나타나 가축의 급여 사료로 이용하는데 영양학적으로 문제점이 없는 것으로 나타났다.
- 3) 제조한 발효사료에 포함되어 있는 유해물질인 Pb,

Hg, Cd 등 중금속과 아플라톡신 및 살모넬라균에 대한 함량 분석결과 각각의 유해물질 모두 기준치 이하를 나타냈다.

위의 실험결과 토착유효미생물을 발효제로 이용하여 버려지는 음식물 쓰레기의 사료화시 가축에게 유용하게 사용될 수 있는 사료를 제조할 수 있으며, 가축사료의 대부분을 수입에 의존하고 있는 우리나라의 현실로 볼 때 매우 유용한 음식물쓰레기의 재활용 기술로 활용되어질 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 2007년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의해 연구되었음.

참 고 문 헌

1. 조중삼, 김남찬, “수분조절제를 이용한 음식물쓰레기의 사료화에 관한 연구,” 한국환경분석학회지, 7(1), 37~42 (2004).
2. 김남찬, 장병만, “삼중염을 이용한 음식물쓰레기 퇴비의 염분(NaCl) 분해 방법,” 유기성자원학회 추계 공동 심포지움 및 학술논문발표, pp. 143~151(2004).
3. 김영주, 차병훈, “한식업소 음식물쓰레기 중 닭도리탕 부산물의 사료 및 퇴비질 분석에 관한 연구,” 환경관리학회지, 7(3), 353~357(2001).
4. 박홍양, “남은음식물 양돈 습식사료화 기술,” 음식물쓰레기 줄이기 연구결과 공동발표회, pp. 131~141(1998).
5. 김유정, 김재혁, 권정안, 이인규, 권순국, 김현욱, “음식물 쓰레기와 돈분뇨의 병합 혐기소화조 내 악취성 화합물의 거동에 관한 연구,” 한국냄새환경학회 춘계학술대회, pp. 92~97(2006).
6. Westendorf, M. L., Zirkel, E. W., and Behnke, K. C., “Feeding food or table waste to Livestock,” *Prof. Anim. Sci.*, 12, 129~137(1996).
7. 정우진, 이정채, 김태환, 임계택, “음식폐기물의 양돈사료 자원화를 위한 처리공정 및 사료가치 평가,” 한국환경농학회지, 19(1), 44~50(2000).
8. 농촌진흥청, “사료표준분석법”(2001).
9. Ronald, M., “Handbook of Microbiological Media,” CRC Press(2000).
10. Chang, J.-S., Yoon, I.-H., and Kim, K.-W., “Isolation and ars Detoxification of Arsenite-Oxidizing Bacteria from Abandoned Arsenic- Contaminated Mines,” *J. Microbiol. Biotechnol.*, 17(5), 814~815(2007).
11. 김용웅, “음식폐기물의 유효 토착미생물 혼합발효에 의한 고기능성 농업생물소재 개발,” 농림부(2001).
12. 홍양덕, “Penicillin이 *Bacillus subtilis*의 생육에 미치는 영향,” *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 1(1), 19~

- 20(1973).
13. 김태호, “음식물쓰레기 산발효 공정중 미생물상의 조사 및 최적미생물 선별,” 서울시립대 석사학위 논문(2003).
  14. 맹원재, 박경규, 백인기, 오상집, 최윤재, 한인규, “사료가 공학,” 선진문화사(1993).
  15. Paulus, H. and Gray, E., “The biosynthesis of polymyxin B by growing cultures of *B. polymyxa*,” *J. Biol. Chem.*, **239**, 865~871(1964).
  16. Kajimura, Y. and Kaneda, M., “Fusaricidins B, C and D, new depsipeptide antibiotics produced by *Bacillus polymyxa* KT-8 isolation, structure elucidation and biological activity,” *Japan Journal of Antibiotics*, **50**, 220~228(1997).
  17. 신은석, “*Paenibacillus polymyxa*가 생산하는 항균활성물질에 관한 연구,” 안동대학교 생물학과 박사학위 논문(2005).
  18. 정준오, 권혁구, 이장훈, “음식물쓰레기 퇴비화에서 혼합물 특성이 퇴비화에 미치는 영향,” *한국환경위생학회지*, **28**(5), 22~27(2002).
  19. Stronach, S. M., Rudd, T., and Lester, J. N., “Anaerobic fermentation process in industrial wastewater treatment,” Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York Tokyo(1989)
  20. 이은경, 정재춘, “첨가제를 달리한 음식쓰레기 퇴비화에 관한 연구,” *대한환경공학회지*, **16**(8), 953~962(1994).
  21. 이계준, “발효미생물학,” 라이프사이언스(2002).
  22. 조중삼, “수분조절제를 이용한 음식물쓰레기의 사료화에 관한 연구,” *광운대학교 석사학위논문*(2002).
  23. 정기환, 장기호, 박영준, 홍영송, 신형태, “남은 음식물을 이용한 사료자원이 흰쥐의 성장과 사료효율에 미치는 효과,” *폐기물 자원화*, **7**(2), 65~71(1999).