

Research Article



CrossMark

Open Access

커피찌꺼기 퇴비화 과정의 물리, 화학 및 생물학적 변화

신지환¹, 박승혜¹, 김아름¹, 손이헌², 주세환^{1*}

¹㈜ 코스믹그린 기업부설연구소, ²(자)횡성유기농산

Changes in Physical, Chemical, and Biological Traits During Composting of Spent Coffee Grounds

Ji-Hwan Shin¹, Seung-Hye Park¹, A-Leum Kim¹, Yi-hun Son², and Se-hwan Joo^{1*} (¹Research & Development Center, Cosmicgreen Ltd., Seoul 08377, Korea, ²Hoengseong Organic Farming L.P., Hoengseong 25250, Korea)

Received: 30 June 2020/ Revised: 10 July 2020/ Accepted: 21 July 2020

Copyright © 2020 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Ji-Hwan Shin

<https://orcid.org/0000-0001-6758-4926>

Seung-Hye Park

<https://orcid.org/0000-0002-3276-6110>

A-Leum Kim

<https://orcid.org/0000-0002-3329-6640>

Se-hwan Joo

<https://orcid.org/0000-0003-3383-3255>

Abstract

BACKGROUND: Spent coffee grounds are the most valuable resource for agriculture and industry. However, it is almost thrown untreated into landfills or incineration. Composting is an efficient process for converting spent coffee to fertilizer.

METHODS AND RESULTS: Composting was conducted in the compost pile (40 m³) equipped with a forced aeration system. Physical and chemical properties containing temperature, pH, electrical conductivity, and moisture were measured through the composting period. Moreover, biological changes were examined for the composting phase using Illumina Miseq sequencing of the 16S rRNA gene. We found 7-14 phyla comprising 250-716 species from a variety phase of compost. During the composting period, *Firmicutes* were dominated, followed by *Actinobacteria*

and *Proteobacteria*.

CONCLUSION: The result indicated that the use of spent coffee improved the quality of organic fertilizer and changed the microbial communities, unique to the thermal composting stage, which could enhance the composting process. These findings suggest that spent coffee composted material can provide a significant amount of nutrients, thereby supporting plant growth.

Key words: Bacterial diversity, Compost, Physicochemicals, Spent coffee ground

서론

커피는 전세계적으로 농업용 원료 및 음료의 형태로 많이 소비되는 중요한 자원이다[1]. 음료인 커피를 만드는 데에는 원두의 0.2% 밖에 사용되지 않기 때문에 원두의 대부분이 찌꺼기 형태로 배출된다[2]. 추산에 따르면 2016년 국내에서 발생한 커피찌꺼기(SCG, Spent Coffee Grounds)의 양은 건조기준 약 12만 톤이며 매년 증가하는 것으로 알려졌다[3]. 현재까지도 SCG의 사용가치는 낮게 인식되어 대부분 매립이

*Corresponding author: Se-hwan Joo

Phone: +82-2-6739-5620; Fax: +82-2-6739-5621;

E-mail: sesep@cosmicgreen.co.kr

나 소각을 통해 폐기되고 있으며 국내의 경우 생활쓰레기로 분류되어 일반생활폐기물과 함께 종량봉투에 섞여서 수거 후 소각되고 있는 실정이다.

근래에 상업적 가치와 실질적인 응용에 있어서 그 가치를 인정받기 시작하면서 바이오연료, 퇴비, 동물사료, 흡착제 및 식품 관련 분야에서의 연구가 진행되고 있다[4-7]. 아울러 SCG는 높은 유기물함량, 이차대사산물(테르펜, 스테롤, 페놀릭스 등)뿐만 아니라 다양한 피토케미칼을 함유하고 있어 고부가가치 제품으로의 응용가치가 높다[8-10].

응용 분야 중 하나인 토양 영역에서 토양의 물리 화학적 성질을 개선하기 위해 사용되기도 하지만 SCG가 함유하는 일부 유기물은 생물독성을 나타내기 때문에 SCG의 완전한 분해가 선행되어야 한다[10-12]. 퇴비공정은 농산업에서 발생하는 폐기물을 안전하고 가치있는 토양개량제 혹은 영양 공급원으로 바꾸는 쉽고 경제적인 방법이다. 비록 퇴비공정이 환경친화적이라고는 하지만 온실가스의 발생 같은 부정적인 효과도 있다. 이에 따라 퇴비공정의 적합성, 식물생장 효과, 미생물방제 등 퇴비품질 및 환경개선과 관련한 연구도 수행되었다. [12-15]. 아울러 커피프렌차이즈, 지방자치단체 및 상업회사들이 SCG를 사용하여 친환경 퇴비를 제조하는 등 SCG의 퇴비화에 관한 사회적 관심도 높아지고 있다.

본 연구의 목적은 재활용 되지 못하고 버려지는 SCG로부터 고품질 퇴비를 생산하기 위하여 SCG 퇴비공정과정의 물리, 화학 및 생물학적 특성을 분석하여 식물성 유기자원의 퇴비화 과정을 위한 연구의 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

원재료 준비 및 공정

퇴비공정에 사용된 SCG와 담뱃잎 부산물은 각각 지역 더치커피 생산업체(강원도 소재)와 KT&G로부터 공급받았다. 원재료의 혼합은 SCG와 담뱃잎 부산물의 비율을 80:20 (중량비)로 설정한 뒤 skid loader로 고르게 혼합하여 2 m x 2 m x 10 m(가로 x 세로 x 길이)의 발효조에 넣은 후 발효조 하단으로 부터 양압송풍 처리를 하여 약 20일간 송풍하였다. 이후 온도변화에 따라 혼합물을 이동배치하여 총 123일 간 퇴비공정을 진행하였다.

시료의 채취

퇴비화 과정의 온도, 습도의 변화는 퇴비화 정도를 판단하는 중요한 요소로 사용된다. 본 연구에서도 퇴비화 기간 동안 퇴비 더미 온도변화를 측정하였다. 온도는 퇴비더미의 표면으로부터 약 80 cm 깊이에서 측정하였다. 퇴비화 과정 중 퇴비더미의 물리적 화학적 변화를 분석하기 위하여 3-5일 간격으로 퇴비 샘플을 채취하였다. 샘플의 채취는 퇴비더미 표면으로부터 약 80 cm 이상 깊이에서 500 g 이상 채취한 뒤 polyethylene bag에 담아 실험실로 옮겨 분석을 실시하였다.

물리적, 화학적 특성분석

퇴비화 시간 경과에 따른 퇴비의 물리적, 화학적 특성 분석을 위해 온도, 수분, pH, 전기전도도, 양이온치환용량, 유기물 함량 및 성분원소를 분석하였다. 수분함량은 건조법, pH와 EC는 1:10법, 유기물함량은 회화법, 총질소는 켈달법 등 농촌진흥청의 비료의 품질검사 기준에 준하여 분석하였다. 시료의 분석은 농촌진흥청에서 제시한 토양화학분석법에 준하여 실시하였다.

발아율 실험

커피박 퇴비의 식물생장저해여부는 Luo 등[17]이 제시한 발아율 측정법에 따라 판별하였다. 대상 식물로 발아와 성장속도가 빠른 유채(*Brassica napus* L.)를 사용하였고 생육시작 5일 후 상대발아율(RSG, relative seed germination), 상대뿌리 길이(RRG, relative root growth)를 측정하여 발아율(GI, germination index)를 산출하였으며 아래의 식을 이용하여 종자발아지수를 판정하였다.

- $RSG(\%) = (\text{퇴비추출물 처리구 내 발아 종자수} / \text{무처리구 내 발아 종자수}) \times 100$
- $RRG(\%) = (\text{퇴비추출물 처리구의 평균 뿌리길이} / \text{무처리구의 평균 뿌리길이}) \times 100$
- $GI(\%) = RSG \times RRG / 100$

공정단계별 세균군집 분석

퇴비의 시간 경과에 따른 미생물 군집 분석은 (주) 천랩(Seoul, Korea)에 의뢰하여 분석하였다. DNA preparation은 FastDNA Spin Kit for Soil을 사용하였고, MPbiomedica(USA)의 프로토콜을 따라 시행하였다. DNA는 1% 아가로스 겔 전기영동을 사용하여 확인하고, Gel Doc 시스템(BioRad, Hercules, CA, USA)으로 가시화하였다. 증폭된 생성물은 CleanPCR (CleanNA)로 정제하였다. 정량은 Quant-iT PicoGreen dsDNA assay kit (Invitrogen USA)를 사용, DNA의 정량은 Epoch Spectrometer (BioTek, USA)를 사용하였다. 확인된 amplicons의 sequencing은 Illumina Miseq sequencing system(Illumina, USA)을 사용하였으며, 16S rRNA 유전자 부위 중 V3-V4 부분을 증폭하는 318F와 806R 프라이머를 사용하고, paired-end sequencing을 통해 분석하였다. Q 25 이상의 reads로 de-novo clustering을 통해 OTUs를 생성하였으며, 얻어진 OTUs중 singletons을 제외한 뒤 이후 분석에 사용하였다[18]. 시료 내의 군집 다양성 확인을 위해 OTUs와 ACE, Chao1, Shannon, Simpson index를 이용하여 alpha-diversity를 분석하였다.

시료 간의 군집 다양성 분석을 위한 beta diversity분석은 Bray-Curtis dissimilarity measure 방법을 이용해 Principal Coordinates Analysis (PCoA) 방법으로 시각화 하였다.

Spearman 상관 분석을 사용하여 퇴비공정의 변화와 퇴비공정 내 박테리아 군집 구조 변화 사이의 통계적 유의성을 테스트 하였다.

결과 및 고찰

온도 및 수분

발효조의 온도와 수분의 변화를 비료공정 전기간동안 조사하였다(Fig. 1). SCG의 혼합직후 온도는 28°C로 퇴비더미 주변환경의 온도와 비슷한 수준이었다. 혼합 후 4일째 온도가 64°C에 도달하였고 11일째 최고 온도인 90°C로 상승한 뒤 약 11일간 유지되었다. 25일을 전후로 온도가 하강하기 시작하였으며 46일째 62°C에 도달하였다. 온도가 하강하는 25일경 더미를 다른 장소로 이동배치 후 공기공급을 중단하였다. 이후 95일까지 온도가 60°C 부근에서 계속 유지되었으며 101일째 이후 58°C로 약간 낮아진 상태를 유지하였다. 조사기간 이후 온도는 서서히 하강하여 주변부온도와 유사한 수준까지 하강하였다. (data not shown)

유기물의 퇴비화 시 수분함량은 미생물의 유기물 분해활성에 중요한 요인으로 작용한다. 일반적인 유기물의 호기성 퇴비화를 위한 최적의 수분함량은 40-65%이다[19]. 본 연구의 경우 퇴비화 초기의 수분함량은 약 55% 이었다. 퇴비공정이 진행되면서 수분의 함량은 점점 낮아져 123일에는 31%까지 감소하였다.

퇴비화 과정 중 퇴비더미의 EC 변화는 혼합초기 3.6 dS/m였으며 약 10일 후 2.5 dS/m까지 낮아진 후 서서히 상승하여 약 80일째 4.0 dS/m로 나타났다가 이후 상승폭이 커져 123일에는 6.1 dS/m까지 상승하였다.

pH 및 EC

pH는 혼합초기 5.58이었으나 11일까지 소폭 감소하여 4.96을 나타내었다. 이후 pH는 서서히 증가하여 123일째에 5.17을 나타내었다. 퇴비공정 기간 중 pH의 변화는 암모니아 및 유기산의 생성에 따라 변화하는 양상을 보이는 것으로 알려졌는데 퇴비화가 진행되면 암모니아 생성량에 따라 pH가 증가하다가 일정기간 경과 후 안정기에 도달하면 7-8정도로 유지된다고 알려졌다[20, 21]. 또한 단백질의 탈 아미노화로 인한 암모니아 발생은 pH를 급격하게 상승시키며, 반대로 탄수화물과 지질의 분해로 생성되는 유기산은 pH의 감소의 요인으로 알려졌다[22]. 본 연구의 퇴비 공정에서 확인된 pH 감소 양상은 SCG의 성분함량의 특성[4, 23]에 기인하며 SCG에 함유된 탄수화물과 지질 분해에 의한 유기산의 생성 비율이 단백질 분해에 의한 암모니아 생성보다 많기 때문에 pH가 낮아지는 것으로 생각된다.

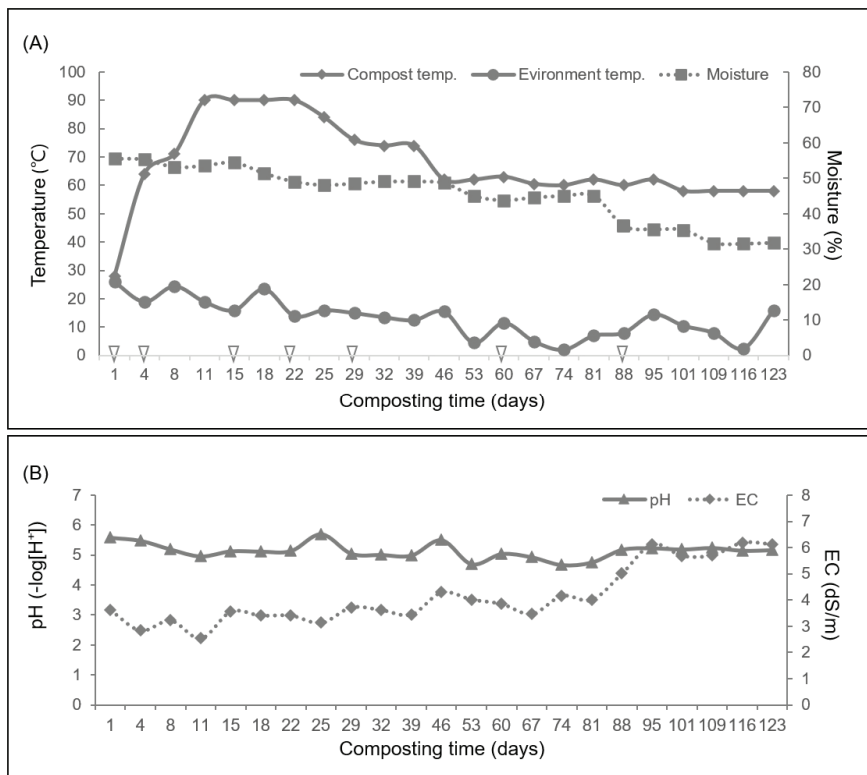


Fig. 1(A, B). Changes in environmental factors during the process of composting. (A) temperature variation (compost pile and environment) and moisture content in compost. (B) The change of pH and EC in compost. Samples: D01 from initial compost(day 1-3), D02 from the mesophilic stage (day 4-10), D05 from the thermophilic stage (days 11-21), D07 and D09 from cooling phase (day 22-28 and 29-45), and D14 and D20 from maturity stage (day 46-87 and 88-123). Indicate the samples for chemical and biological analyses with an inverted triangle.

유기물, 무기물 함량

원재료의 배합 후 온도의 변화에 따라 온도상승기(D01, D02), 고온기(D05), 냉각기(D07), 숙성기(D09, D14), 숙성후기(D20) 단계로 구분하고 각 단계의 특성을 분석하였다 (Table 1).

퇴비화 과정 중 유기물의 함량 변화는 공정초기 41.4%이었으나 공정 후반으로 가면서 증가하여 88일째 52.3%까지 상승하였다.

퇴비 중 총질소량의 변화는 공정초기(D01) 1.02%를 나타내었으며 온도 상승(D02)후 냉각될 때(D09)까지 약 1% 정도 수준을 유지하였다. 그러나 공정후반(D14, D20)으로 진행되면서 급격히 증가하여 2.19까지 상승하였다. 이러한 경향은 인과 칼륨의 함량변화에서도 나타났는데 인, 칼륨의 총량은 공정초기(D01) 0.39%, 0.66%를 나타내었다가 공정기간이 지남에 따라 증가하여 D20시기 각각 0.71%, 1.59%를 나타내었다.

본 실험의 C/N ratio는 42.42 이었으며 공정기간이 지나며 감소하여 23.87을 나타내었다. 퇴비화 공정 동안 미생물의 발달은 성장에 필요한 탄소 및 질소의 비율에 의해 영향을 받는다. 퇴비화를 위한 초기 C/N비율은 20-30이 적합한 것으로 알려졌다[24] 연구에 따라 20-50 사이의 비율이 제시되기도 한다 [25-27]. 또한 퇴비 원료의 종류 및 조성에 따라 다르며 처음에는 높다가 분해가 진행될수록 낮아진다. 본 실험의 퇴비화 과정 결과 88일째(D20) C/N ratio가 초기에 비해 44%정도 감소한 것은 미생물이 유기물을 분해하고 성장하는데 적절한 환경 조성에 의한 퇴비화 결과로 판단된다 [28]. 암모니아태와 질산태질소의 변화도 확인하였는데 공정초기에 암모니아태 질소의 농도는 1008.7 mg/kg이었으나 퇴비더미의 온도가 상승하면서 일시적으로 616.1 mg/kg까지 감소하였다가 공정후반에 1290.3 mg/kg으로 가파르게 증가하였다. 반면 질산태질소는 공정초기 140.1 mg/kg이었

으며 공정기간에 따라 상승하여 224.1 mg/kg까지 서서히 증가하였다. 암모니아태 질소는 초기에 감소하다가 퇴비더미 온도가 하강하면서 증가하였고, 질산태 질소는 지속적인 증가 현상이 나타나 두 물질의 변화의 유의미한 상관성을 찾을 수 없었다. SCG 퇴비 공정에서 후숙기간 중 공기 차단은 유기물의 무기화기에 관여하는 미생물의 대사를 촉진하며 그 결과 약 60°C의 온도가 유지되는 것으로 생각된다.

양이온 치환용량

양이온 치환용량은 퇴비공정 초기(D01)에 15.1 cmol⁺/kg이었다가 공정기간에 따라 증가하여 88일(D20)에 30.61 cmol⁺/kg을 나타내었다(Table 1). 이는 퇴비더미 내 유기물 분해 의한 생성된 물질의 수산기 및 카르복실기의 증가에 의한 것으로 예상된다.

발아율 시험

종자발아지수(GI)는 상대발아율과 상대뿌리길이에 의해 결정되며 비료의 식물독성여부를 판별하는 좋은 방법이다[29-31]. 종자발아지수에 관한 다수의 연구에 의하면 GI값이 80% 이상일 때 식물독성이 없는 것으로 판별하며 퇴비로서 사용이 가능하다고 알려져 있다[17,26]. 본 연구에서 얻은 퇴비와 물을 1:10 비율로 혼합하여 얻은 추출액을 희석한 뒤 유채종자에 처리하여 종자발아지수를 측정하였다. 그 결과 추출원액을 포함한 모든 처리구에서 발아지수가 80% 이상을 나타내었다 (Fig. 2). 또한 퇴비 추출액의 희석 비율이 높아질수록 발아지수가 상승하는 경향을 보였는데 5% 처리구에서 124%로 증가하였고 40%일 때 171%의 발아지수를 나타내었다. 더 높은 농도를 처리할 경우 발아지수는 감소하였는데 100% 처리구에서 154%의 발아지수를 나타내었다. 따라서 SCG 퇴

Table 1. Physical and chemical properties during the composting process

Properties	D01 (initial)	D02 (Mesophilic phase)	D05 (Thermophilic phase)	D07 (Cooling phase1)	D09 (Cooling phase2)	D14 (Maturing phase)	D20 (post maturing)
Organic Matter (%)	41.38	40.57	42.95	43.36	45.53	57.71	52.28
Total Nitrogen (%)	1.02	0.99	1.00	1.01	1.13	1.92	2.19
Total Phosphate (%)	0.39	0.41	0.37	0.36	0.37	0.74	0.71
Total Potassium (%)	0.66	0.65	0.70	0.74	0.84	1.16	1.59
C/N ratio	42.42	29.72	34.00	34.00	30.58	31.55	23.87
CEC (cmol ⁺ /kg)	15.10	16.20	16.60	17.80	21.20	29.80	30.60
NH ₄ ⁺ -N (mg/kg/dry)	1008.72	616.14	846.6	728.52	670.48	1288.39	1290.36
NO ₃ ⁻ -N (mg/kg/dry)	140.1	168.12	170.09	214.16	136.11	196.24	224.18

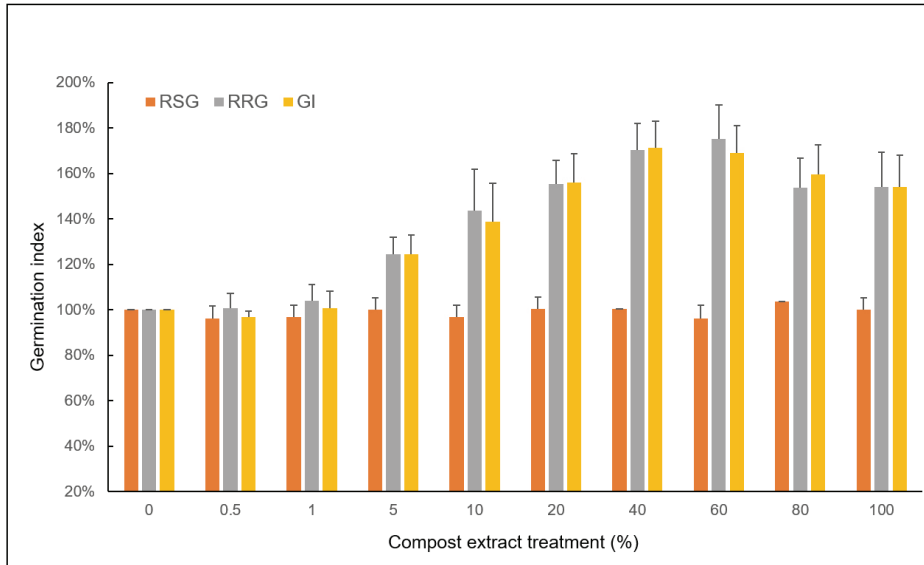


Fig. 2. Changes of seed germination index in different composting concentration.

비는 식물독성이 없으며 적절한 비율로 희석하여 처리할 경우 식물생장 촉진에 도움이 될 것으로 판단된다.

커피박퇴비 내 세균군집의 다양성

퇴비공정의 온도 변화에 따라 구분단계에 따라 박테리아의 군집구조를 분석하였다. 퇴비공정 각 단계별로 세균 군집의 종 다양성(richness)을 비교하기 위해 rarefaction curve를 나타내었다(Fig. 3). 고온기(D05)와 숙성기(D14) 시료의

곡선이 가파른 것으로 나타나 종다양성이 큰 것으로 분석되었으며, 다음으로 온도상승기(D02) 및 숙성기(D09), 혼합기(D01) 및 냉각기(D07), 숙성후기(D20) 순으로 종 다양성이 감소하는 것으로 나타났다. 한편, 세균 군집의 다양성을 여러 측면에서 평가하기 위해 OTUs, richness (ACE, Chao1), Shannon, Simpson index (Table 2)를 확인하였다. 그 결과 rarefaction curve 결과와 마찬가지로 다양성지표에서 고온기와 숙성기의 미생물 군집의 다양성이 높게 나타났다.

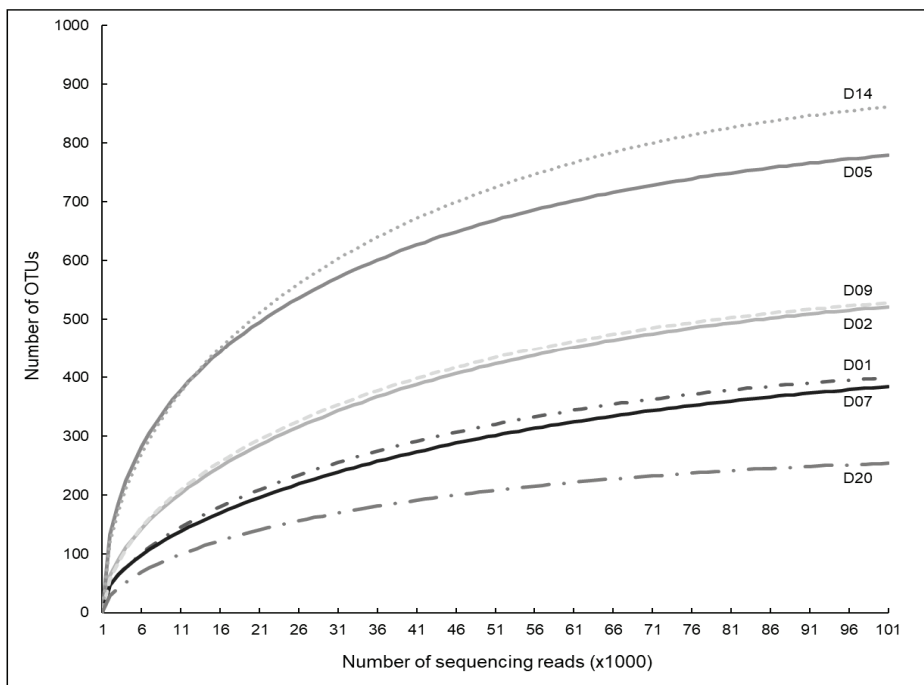


Fig. 3. Rarefaction curve for microbiome samples from different composting phases. Curves were plotted at a cutoff of 0.03 for each sample.

Table 2. Summary of 16S rRNA sequencing, operational taxonomic units (OTUs), and microbial alpha-diversity indices in different composting phases. Microbial alpha-diversity indices (ACE, Chao1, Shannon and Simpson) were estimated based on 97% OTU clusters

Sample (day)	Total read	OTU	ACE	Chao1	Shannon	Simpson	Coverage
D01 (1)	79612	399	452	421	2.55	0.13	0.99
D02 (4)	69054	521	594	564	2.63	0.15	0.99
D05 (15)	64072	779	850	823	4.15	0.05	0.99
D07 (22)	73134	384	466	442	2.69	0.11	0.99
D09 (29)	75841	528	592	559	2.21	0.26	0.99
D14 (60)	94843	862	941	903	3.57	0.07	0.99
D20 (88)	27503	254	288	273	1.73	0.43	0.99

퇴비공정 단계에 따라 존재하는 미생물 군 사이의 유사도를 비교 분석하기 위해 Principle Coordinates Analysis를 시행하였다. 퇴비공정 동안 확인된 미생물 군집의 구조는 PCoA와 UPGMA 분석을 통해 3개의 그룹으로 구분되었다 (Fig 4 A,B). 제 1 주성분의 변수는 46.97%였으며 총 변수는 81.13%로 나타났다. 각 군집의 유사성 및 특징에 따라 클러스터링 되어 D01, D04는 3사분면, D05, D07, D09는 1사분면, D14, D20은 4사분면에 위치하였다. 이러한 결과로 초기 온도 상승시기(D01, 04), 고온기 및 냉각기(D05, D07, D09)와 후숙과정 (D14, D20) 내 존재하는 미생물 군집이 퇴비화 공정 단계, 즉 퇴비 더미의 온도 변화에 따라 달라지는 것을 확인하였다.

커피박퇴비 내 박테리아군집 구조

공정과정에 기간 전반에 걸쳐 우점하는 군집은 *Firmicutes* (63%), *Actinobacteria* (18%), *Proteobacteria* (17%), *Bacteroidetes* (2%)의 분포를 나타내었다(Fig 5A). 원재료 혼합 시기(D01)와 온도상승기(D02)에서 *Firmicutes* 문이 각각

98%, 96% 이상, *Actinobacteria* 문은 1%, 3%를 차지하였다.

이들 군집의 하위 단계인 속 수준에서 차지하는 비율이 상위 20개인 군집을 나타내었다(Fig 5B). *Firmicutes* 문에 속하는 *Lactobacillus*, *Bacillus*가 각각 전체의 96%, 84%를 차지하였다. 그외에도 *Firmicutes* 문의 *Weissella*, *Bacillus*가 약 3% 정도를 차지하는 등 다양한 미생물 군집이 확인되었다.

퇴비화 과정의 고온기(D05)에서는 온도 상승기에 비해 군집의 다양성이 증가하였는데 *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* 문이 각각 37%, 26%, 26%를 차지하였으며 *Bacteroidetes*가 약 10%를 차지하고 있었다. 온도상승기 대부분을 차지하던 *Lactobacillus* 속은 1%로 급격하게 줄어든 반면 *Bacillus* 속이 28%로 증가하였다. 또한 *Proteobacteria* 문이 26%로 증가하였는데 *Pseudomonas* 속이 4%로 높은 비율을 이루고 있었다. 한편 *Actinobacteria* 문은 온도가 상승하면서 군집의 구성 종류 및 비율이 급격히 변하여 *Saccharopolyspora* 및 *Rhodococcus* 속 등 구성군집이 비교적 고른 분포양상을 나타냈다. 그러나 온도상승기에 84%로

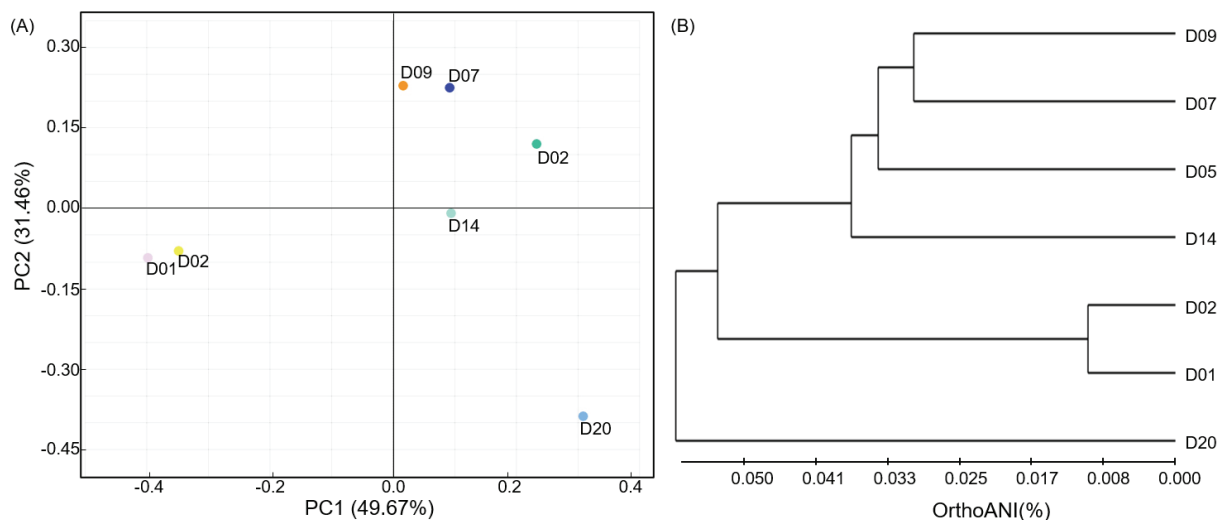


Fig. 4(A, B). The Principle component analysis (A) and UPGMA Method of Beta diversity index (B) for each sample.

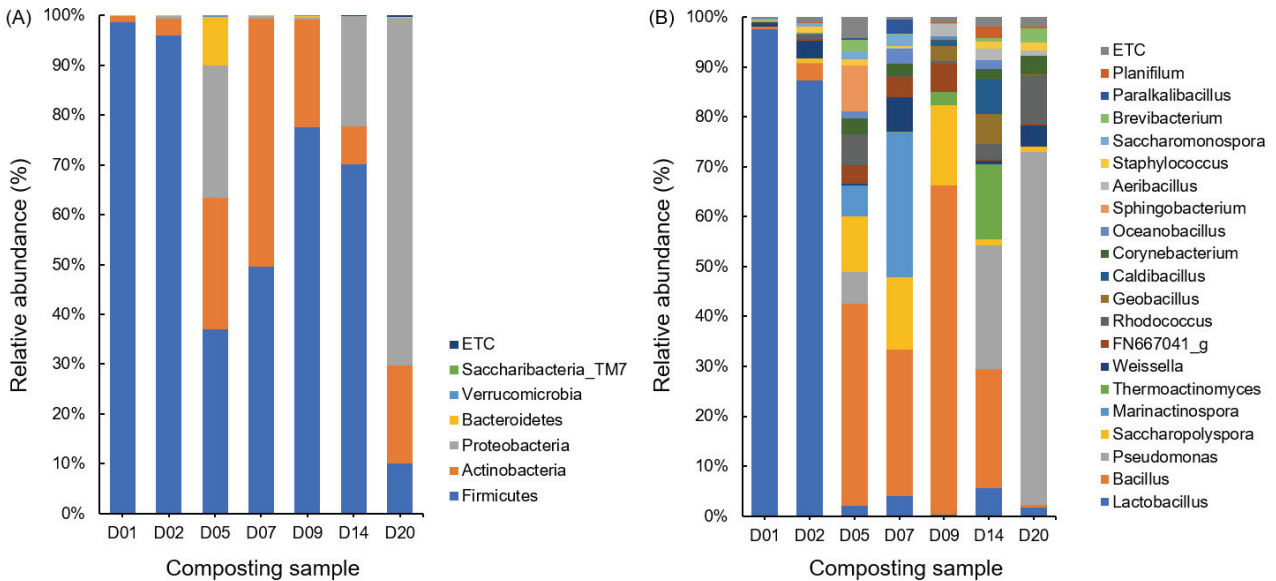


Fig. 5(A, B). Composition and relative abundance of bacterial communities based 16S rDNA sequences in each sample. (A) The relative abundances of phylum in above 0.1%, (B) the relative abundance of dominant genus (top 20).

가장 우점하던 *Lactobacillus*는 1% 수준으로 급격히 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

퇴비더미의 온도가 하강하는 냉각기(D07)부터 고온기에서 높은 비중을 차지하던 군집의 비율이 다소 변화를 보였으나 전반적인 우점 양상은 고온기의 양상을 유지하고 있었다. 가장 우점하던 *Firmicutes*문의 *Bacillus* 속은 28%에서 27%로 줄어들었으나 가장 많은 비율을 차지하고 있었다. 또한 같은 문의 *Lactobacillus*속과 *Weissella* 속도 3.7%, 6.6%로 소폭 증가하였다. *Actinobacteria* 문의 경우 *Marinactinospora*, *Saccharopolyspora*의 증가가 두드러져 27.3%, 13.7%를 차지하였다.

숙성기(D09, D14)를 지나면서 군집의 변화 양상이 두드러지게 나타나는데 숙성기는 고온기 이전단계에서 보인 문 수준의 군집분포와 유사한 형태를 나타내었다. 그러나 하위 단계로 갈수록 군집의 구성비율이 차이가 있었는데 고온기부터 높은 비율을 보이던 *Firmicutes* 문 *Bacillus* 속이 62.8%로 급격히 증가하였다가 시간이 지나면서 20.4%까지 감소하였다. 반면 냉각기에서 낮은 비율로 존재하던 *Thermoactinomyces*, *Geobacillus*, *Caldibacillus*, *Oceanobacillus*, *Aeribacillus*, *Planifilum*의 증가 양상이 공정과정 후반까지 유지되었다.

숙성후기(D20)으로 진행되면서 문 수준의 군집양상이 급격하게 변하여 대부분을 차지하던 *Firmicutes* 문이 77.6%에서 10.0%, *Proteobacteria* 문이 0.4%에서 69.7%로 급격한 변화를 나타내었다. 반면 *Actinobacteria* 문의 경우 21.5%에서 19.8%로 다소 줄어든 경향을 보였으나 앞의 두 문에 비교적 일정한 수준으로 유지되고 있었다. *Firmicutes* 문의 경우 *Weissella*, *Staphylococcus*를 제외하고는 대부분 속이 감소하는 양상을 보였다. *Actinobacteria* 문의 경우 *Rhodococcus*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium* 속이 증가양상을 나타낸

반면 다른 속은 이전수준을 유지하였다. 한편 *Proteobacteria* 문의 *Pseudomonas* 속이 65.3%까지 급격히 증가하였다.

퇴비화에 따른 온도변화 미생물 군집의 상관관계

Spearman 상관 분석을 이용하여 퇴비공정에 따른 온도 변화와 퇴비화 각 단계에서 확인된 균주 간의 상관관계를 분석하였다. 문과 속 수준에서 양과 음의 상관관계가 확인되었다. 전체 퇴비공정에서 *Firmicutes*가 주요 우점 군이었으나 *Actinobacteria* ($r=0.821$)가 가장 강한 상관관계를 보였으며 이어서 *Bacteroidetes* ($r=0.545$), *Saccharibacteria_TM7* ($r=0.688$)가 양의 상관관계를, *Firmicutes* ($r=-0.679$)은 음의 상관관계를 나타내었다(Table 3).

퇴비화 전 기간동안 우점하는 속 20개 중 5개 균주가 강한 양의 상관관계를 보였으며 *Saccharopolyspora* ($r=0.750$), *Marinactinospora* ($r=0.929$), *FN667041_g* ($r=0.821$), *Bacillus* ($r=0.857$), 및 *Paralkalibacillus* ($r=0.813$)로 확인되었다. 또한 4개의 균주는 약한 상관관계를 보였는데 *Saccharomonospora* ($r=0.679$), *Oceanobacillus* ($r=0.679$)는 양의 상관관계를 *Lactobacillus* ($r=-0.607$), *Planifilum* ($r=-0.571$)은 음의 상관관계를 보였다. 나머지 균주들은 온도변화와 상관관계가 없는 것으로 나타났다.

각 퇴비공정단계에서 확인된 균들의 퇴비공정 과정에서의 역할은 잘 알려지지 않았다. 퇴비화에 의한 온도 상승 및 변화 과정에서 미생물 군집의 변화는 퇴비화 각 단계의 물리화학적 변화와 세균군집의 우점에 의한 것으로 판단되며 각 과정에서 일어나는 미생물의 유기물 분해 활성도 다를 것으로 판단된다. 특히 매우 낮은 비율로 존재하는 세균은 분리 배양의 문제로 인해 역할구명에 어려움이 있으며 이들이 공정과정에 중요한 생리생화학적, 생태학적 역할을 하는지에 대한 연구가 필요하다.

Table 3. Spearman correlation analysis between composting temperature and the dominant bacteria. Top 20 genera were selected by relative abundance during composting. Spearman's value (r) is significantly correlated between the variables compared

Phylum	Genus	Spearman r^a
<i>Actinobacteria</i>		0.821*
	<i>Saccharopolyspora</i>	0.750*
	<i>Marinactinospora</i>	0.929*
	<i>FN667041_g</i>	0.821*
	<i>Rhodococcus</i>	-0.071
	<i>Corynebacterium</i>	0.143
	<i>Saccharomonospora</i>	0.679
	<i>Brevibacterium</i>	0.214
<i>Bacteroidetes</i>		0.545
	<i>Sphingobacterium</i>	0.214
<i>Firmicutes</i>		0.821
	<i>Lactobacillus</i>	-0.607
	<i>Bacillus</i>	0.857*
	<i>Thermoactinomyces</i>	0.205
	<i>Weissella</i>	-0.214
	<i>Geobacillus</i>	-0.214
	<i>Caldibacillus</i>	0.205
	<i>Oceanobacillus</i>	0.679
	<i>Aeribacillus</i>	0.134
	<i>Staphylococcus</i>	-0.214
<i>Proteobacteria</i>		0.143
	<i>Pseudomonas</i>	-0.036

^a: Negative values denote negative correlation and positive values denote positive correlation.

*** indicates a level of statistical significance at $p < 0.05$

본 연구에서는 커피찌꺼기의 퇴비화 가능성과 공정과정에 대한 이해를 위해 퇴비화 과정에 대한 물리적, 화학적, 생물학적 특성을 분석하였다. 공정과정이 진행됨에 따라 pH는 서서히 감소한 반면 EC는 다소 증가하는 것이 확인되었다. 질소, 인 및 칼륨의 조성은 후속과정이 진행되며 증가하는 양상이 나타났다. 퇴비더미의 물리화학적 변화는 미생물 군집의 변화 양상에 따라 달라지는 것으로 예상할 수 있으나 유기물의 특성, 분해산물의 구성 등에 관해 추가 연구가 필요하다. 퇴비더미의 발열반응에 의한 빠른 온도 상승은 커피찌꺼기 내 미생물에 의한 유기물의 분해 의한 현상이며 이후 퇴비의 품질을 결정하는 요인으로 생각된다. 향후 각 온도 특이적으로 존재하는 미생물의 분리동정과 생리생화학적 특성을 구명하여 공정의 각 단계에 적용하여 공정 및 퇴비의 품질 개선에 기여할 수 있을 것으로 기대한다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This work was supported by the Technology development Program (1425140234) funded by the Ministry of SMEs and Startups(MSS, Korea).

References

- Daglia M, Papetti A, Gregotti C, Berte F, Gazzani G (2000) In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1449-1454. <http://doi.org/10.1021/jf990510g>.
- Nam G, Kim MS, Ahn JW (2017) Analyses for current research status for the coffee by-product and for status of coffee wastes in seoul. *Journal of Energy Engineering*, 26(4), 14-22. <https://doi.org/10.5855/ENERGY.2017.26.4.014>.
- Kim Y, Oh MJ, Lee YM, Lee HJ, Cha ES (2018) Overview for coffee grounds recycling technology and future concerns. *Journal of Korea Society of Waste Management*, 35, 587-599. <http://doi.org/10.9786/kswm.2018.35.7.587>.
- Campos-Vega R, Loarca-Piña G, Vergara-Castañeda HA, Oomah BD (2015) Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 24-36. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.012>.
- Kondamudi N, Mohapatra SK, Misra M (2008) Spent coffee grounds as a versatile source of green energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), 11757-11760. <http://doi.org/10.1021/jf802487s>.
- Acevedo F, Rubilar M, Scheuermann E, Cancino B, Uquiche E, Garces M, Inostroza K, Shene C (2013) Spent coffee grounds as a renewable source of bioactive compounds. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 7(3), 420-428. <http://doi.org/10.1166/jbmb.2013.1369>.
- Panusa A, Zuurro A, Lavecchia R, Marrosu G, Petrucci R (2013) Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17), 4162-4168. <http://doi.org/10.1021/jf4005719>.
- Mussatto S, Machado E, Martins S, Teixeira J (2011) Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*,

- 4(5), 661-672.
<http://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>.
9. Bravo J, Juárez I, Monente C, Caemmerer B, Kroh LW, De Peña, MP, Cid C (2012) Evaluation of spent coffee obtained from the most common coffeemakers as a source of hydrophilic bioactive compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(51), 12565-12573. <http://doi.org/10.1021/jf3040594>.
 10. Cervera-Mata A, Pastoriza S, Rufián-Henares J, Párraga J, Martín-García JM, Delgado G (2018) Impact of spent coffee grounds as organic amendment on soil fertility and lettuce growth in two Mediterranean agricultural soils. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(6), 790-804.
<http://doi.org/10.1080/03650340.2017.1387651>.
 11. Butler TA, Sikora LJ, Steinhilber PM, Douglass L (2001) Compost age and sample storage effects on maturity indicators of biosolids compost. *Journal of Environmental Quality*, 30(6), 2141-2148.
<http://doi.org/10.2134/jeq2001.2141>.
 12. Ros M, Pascual JA, García C, Hernandez MT, Insam H (2006) Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 3443-3452.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.05.017>.
 13. Kim MJ, Shim CK, Kim YK, Park JH, Han EJ, Kim SC (2016) The antifungal activity of coffee ground compost extract against plant pathogens. *Journal of the Korea Organic Resource Recycling Association*, 24(4), 85-94.
<http://doi.org/10.17137/korrae.2016.24.4.85>.
 14. Kim MJ, Shim CK., Kim YK, Hong SJ, Park JH, Han EJ, Huh CS, Jee HJ, Kim SC (2016). Control effect of coffee ground compost and velvet bean against root-knot nematode, *meloidogyne incognita* in pumpkin. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 20(1), 47-55.
<https://doi.org/10.7585/kjps.2016.20.1.47>.
 15. Lee MK, Shin, DI, Park HS (2012) Acceleration of the mycelial growth of *trametes veriscolor* by spent coffee ground. *The Korean Journal of Mycology*, 40(4), 292-295. <http://doi.org/10.4489/KJM.2012.40.4.292>.
 16. Ryu EM, Choi HS, Shin HJ (2014) Effect of coffee grounds' residue on the growth and chlorophyll content of Korean wheat sprout. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 29(2), 106-111.
<http://doi.org/10.7841/ksbj.2014.29.2.106>.
 17. Luo Y, Liang J, Zeng G, Chen M, Mo D, Li G, Zhang D (2018) Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. *Waste Management*, 71, 109-114.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.023>.
 18. Yoon SH, Ha SM, Kwon SJ, Lim JM, Kim YS, Seo HS, Chun JS (2017) Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA and whole genome assemblies, *International Journal of Systematic and Evolutionary*, 67(5), 1613-1617.
<http://doi.org/10.1099/ijsem.0.001755>.
 19. Garg A, Tothill IE (2009) A review of solid waste composting process - the UK perspective. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 57-63.
 20. Francou C, Poitrenaud M, Houot S (2005) Stabilization of organic matter during composting: Influence of process and feedstocks. *Compost Science & Utilization*, 13(1), 72-83.
<http://doi.org/10.1080/1065657x.2005.10702220>.
 21. Jimenez EI, Garcia VP (1989) Evaluation of city refuse compost maturity: a review. *Biological Wastes*, 27(2), 115-142. [http://doi.org/10.1016/0269-7483\(89\)90039-6](http://doi.org/10.1016/0269-7483(89)90039-6).
 22. Hargreaves JC, Adl MS, Warman PR (2008) A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 123(1-3), 1-14.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.07.004>.
 23. Ballesteros LF, Teixeira JA, Mussatto SI (2014) Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 3493-3503.
<https://doi.org/10.1007/s11947-014-1349-z>.
 24. Petric I, Avdihodzic E, Ibric N (2015) Numerical simulation of composting process for mixture of organic fraction of municipal solid waste and poultry manure. *Ecological Engineering*, 75, 242-249.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.12.003>.
 25. Zhang L, Sun X (2014) Changes in physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar. *Bioresource Technology*, 171, 274-284. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.079>.
 26. Cáceres R, Coromina N, Malinska K, Martínez-Farré FX, López M, Soliva M, Marfà O (2016) Nitrification during extended co-composting of extreme mixtures of Green waste and solid fraction of cattle slurry to obtain growing media. *Waste Management*, 58, 118-125.
<http://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.08.014>.
 27. Brito LM, Mourao I, Coutinho J, Smith SR (2012) Simple technologies for on-farm composting of cattle slurry solid fraction. *Waste Management*, 32(7), 1332-1340.

- <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.03.013>.
28. Cerda A, Artola A, Font X, Barrena R, Gea T, Sánchez A (2018) Composting of food wastes: Status and challenges. *Bioresource Technology*, 248, 57-67. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.133>.
29. Moharana PC, Biswas DR (2016) Assessment of maturity indices of rock phosphate enriched composts using variable crop residues. *Bioresource Technology*, 222, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.097>.
30. Raj D, Antil RS (2011) Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. *Bioresource Technology*, 102(3), 2868-2873. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.077>.
31. Awasthi MK, Pandey AK, Khan J, Bundela PS, Wong JWC, Selvam A (2014) Evaluation of thermophilic fungal consortium for organic municipal solid waste composting. *Bioresource Technology*, 168, 214-221. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.048>.
32. Young BJ, Rizzo PF, Riera NI, Torre VD, López VA, Molina CD, Fernández FE, Crespo DC, Barrena R et al. (2016) Development of phytotoxicity indexes and their correlation with ecotoxicological, stability and physicochemical parameters during passive composting of poultry manure. *Waste Management*, 54, 101-109. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.05.001>.