



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학석사학위논문

효소활성 자재를 이용한 음식물류
폐기물처리 공정 특성 및
미생물의 동정



2015년 2월

부경대학교 대학원

U-Eco City 협동과정

이행연

공 학 석 사 학 위 논 문

효소활성 자재를 이용한 음식물류
폐기물처리 공정 특성 및
미생물의 동정

지도교수 이 병 현

이 논문을 공학석사학위논문으로 제출함.

2015년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

U-Eco City 협동과정

이 행 연

이행연의 공학석사 학위논문을 인준함.

2015년 2월



위원장 공학박사 강임석



위원 공학박사 빈정인



위원 공학박사 이병헌



목 차

목 차	i
List of Tables	iii
List of Figures	iv
Abstract	vi
제 1 장 서 론	1
제 2 장 문헌 연구	3
2.1 음식물류 폐기물의 발생 및 처리현황	3
2.1.1 음식물류 폐기물의 발생현황	3
2.1.2 음식물류 폐기물의 처리현황	4
2.2 음식물류 폐기물 소멸공정	5
2.3 음식물류 폐기물 소멸에 영향을 미치는 인자	6
2.3.1 염분 농도	6
2.3.2 온도 및 분해매체	7
2.3.3 미생물의 영향	8
제 3 장 실험재료 및 방법	10
3.1 효소활성자재의 미생물 배양 및 고착방법	10
3.2 효소활성자재를 이용한 분해매체 제작 및 적용	11
3.2.1 효소활성자재를 이용한 분해매체의 제작	11
3.2.2 분해매체를 이용한 소멸화 공정	12
3.2.3 음식물류 폐기물 소멸 모식도	13
3.2.4 효소활성자재의 평가방법	16

3.3 미생물의 분리 및 동정	17
3.3.1 미생물의 형태학적 특성 분석	17
3.3.2 API kit를 이용한 미생물의 동정	19
3.3.3 염기서열을 이용한 미생물의 동정	21
제 4 장 실험결과 및 고찰	24
4.1 효소활성자재의 미생물 배양 및 고착방법	24
4.2 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리기	26
4.2.1 온도에 의한 소멸 특성 비교	26
4.2.2 pH에 의한 소멸 특성 비교	28
4.2.3 공기주입에 의한 소멸 특성 비교	30
4.2.4 소멸 공정에서의 악취 특성 비교	32
4.2.5 발효된 톱밥의 염분 비교	34
4.3 효소활성화자재 내 미생물의 분리 및 동정	36
4.3.1 API kit를 이용한 미생물의 동정	36
4.3.2 염기서열을 이용한 미생물의 동정	41
4.4 소멸기 사용 없이 효소활성자재를 이용한 노지의 음식물류 폐기물 소멸	43
제 5 장 결 론	45
참고문헌	47

List of Tables

Table 2.1	Present condition of food waste disposal and recycling in 2011	4
Table 3.1	Analytical methods and equipments	16
Table 3.2	Shape and form of bacterial colonies	18
Table 3.3	Ingredients and purpose of material for PCR(F. Parveen, 2010)	23
Table 4.1	Change of bacterial number in fermented enzymatic activity material	24
Table 4.2	Change of solid content and temperature in disposing process of food waste	28
Table 4.3	Results of H ₂ S concentration in existing disposing machine and disposing of food waste using enzymatic activity material	33
Table 4.4	Results of NH ₃ concentration in existing disposing machine and disposing of food waste using enzymatic activity material	33
Table 4.5	Result of numerical biochemical pattern and identification of microorganisms using API 20E	37
Table 4.6	Result of numerical biochemical pattern and identification of microorganisms using API 20NE	39
Table 4.7	Result of sequencing(blast search) and accession number	41
Table 4.8	Result of field disposing of food waste using enzymatic activity material	43
Table 4.9	Composting measurement after extinction of food waste	44

List of Figures

Fig. 2.1	Occurrence of total waste and food waste per year.	3
Fig. 3.1	Production diagram for decomposition mediums of enzymatic activity material.	11
Fig. 3.2	Decomposition of food waste in reactor.	13
Fig. 3.3	Extinction process of food waste.	14
Fig. 3.4	Diagram of extinction and compositing of food waste.	14
Fig. 3.5	Mass balance of extinction using enzymatic activity material.	15
Fig. 3.6	The difference between (A)gram positive <i>Bacillus</i> and (B)gram negative <i>Bacillus</i>	18
Fig. 3.7	Diagram of PCR cycle(Wikipedia, 2014a).	23
Fig. 4.1	Change of bacterial number in fermented enzymatic activity material.	25
Fig. 4.2	Change of water and solid content in existing disposing machine of food waste(method of inserting microorganism).	27
Fig. 4.3	Change of water and solid content in disposing of food waste using enzymatic activity material.	27
Fig. 4.4	Change of solid content and temperature in existing disposing machine of food waste.	29
Fig. 4.5	Change of solid content and temperature in disposing of food waste using enzymatic activity material.	29
Fig. 4.6	Change of food waste extinction with continuous and intermittent aeration in existing disposing machine of food waste.	31
Fig. 4.7	Change of food waste extinction with continuous and intermittent aeration in disposing using enzymatic activity material.	31

Fig. 4.8	Change of salt concentration included decomposition media.	35
Fig. 4.9	Identification of (A)L3 and (B)L6 using API 20E.	37
Fig. 4.10	Identification of (A)L1, (B)L2, (C)L5, (D)L7, and (E)L8 using API 20NE.	40
Fig. 4.11	Distribution diagram of microorganism sequence listing separated from enzymatic activity material.	42



Characteristics of food waste treatment process using
enzyme activity materials and bacterial identification

Haeng-Yeon Lee

U-Eco City, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

To process effectively the extinction of food waste used by enzymatic activity material, as much of enzyme, the selected excellent strains, which resolve organic matter well were put and studied the function to remove a bad smell and make food waste light.

First of all, made the specific microscopic organism in soil microbe(radiation germ, yeast) revitalize and set in sawdust the result of enzymatic activity is that *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus* sp, *Serratia* subsp. etc. came to move. *Bacillus* and *Serratia*, as microorganisms, are well known for their processing food waste effectively. To identify the effect of processing food waste treatment used by enzymatic activity material of microorganism, there was a production of fermentor and studied giving different temperature, ventilation map, pH, and etc. As a result, little change caught in pH, however, approximately 20 % change caught in temperature and ventilation map.

The decomposition of food waste making the use of microorganism should keep neutral pH mostly, keep 60 °C temperature to make the food waste light. however, in case of using enzymatic activity material of microorganism, the decomposition of food waste achieved with a good condition even in pH 4~9, and 35 °C temperature. Especially, only 30 % of injection of ventilation map can make decomposition efficiency outstanding. Therefore, the expenses for handling food waste would be reduced.

To make the bad smell of food waste decrease, mixed and stirred enzymatic activity material and food waste was measured by gas detector. Hydrogen sulfide was also decreased from 30 mg/L to 1 mg/L as a result.

This experiment gives us the ability to contribute the effective disposal and odor removing of food waste. Moreover, the aspect of secure the microorganism resource for processing food waste is significance as well.

Key word: Food waste, Enzymatic activity material, Bacillus



제 1 장 서 론

90년도 이후에 들어와 생활수준 향상과 환경법의 강화에 따라 폐기물의 문제가 사회 문제화 되고, 특히 2012년부터 유기성슬러지의 해양투기 금지로 인하여, 더욱더 사회적 문제시 되고 있다. 유기성 음식물쓰레기 처리는 현재 소각, 매립, 바이오가스 생산, 퇴비화 하고 있으나, 소각, 매립은 2차 오염이 일어나고, 퇴비화는 잘못된 발효로 인하여 심한 악취와 특히 염분이 문제화 되고 있다. 또한 바이오가스 생산에도 기대치에 도달하지 못하는 실정이다.

음식물쓰레기의 문제가 되는 요인은 고농도의 유기물을 함유한 높은 수분함량(80~85 %)과 높은 염분(3 %)을 함유하고 있다는 점이다. 이러한 높은 수분과 염분은 소각 시에 발열량을 저하시키며 보조연료를 증가시킨다. 매립에는 고농도 유기물이 함유된 침출수가 생기며, 퇴비화를 할 경우에는 높은 염분에 의해 식물의 발육을 억제시키기도 한다.

우리나라에서 음식물 쓰레기를 처리하는데 연간 12 조원의 비용이 들어갈 것으로 예측이 나오고 있으며, 현재 가정용 음식물 쓰레기의 감량을 위한 기기들이 많이 출시되고는 있다. 현재 가정용 음식물 감량화 기기들은 건조압축 방식, 분쇄방식, 소멸방식 등으로 출시되고 있다. 건조 압축 방식은 음식물 쓰레기의 80 %이상인 수분을 가열 등으로 건조시킨 후 압축하여, 부피를 줄이는 방식인데 유기물들이 그대로 남아 있기 때문에 다시 소각이나, 매립을 하여야 하므로 2차 오염이 발생되며, 분쇄방식은 음식물 쓰레기를 바로 분쇄하여 하수구로 배출 하여야 하므로 하수처리장의 부하를 증가시켜 현재의 용량으로 처리가 어렵고 하수처리장의 물 처리에 악영향을 주어 하수처리 전체에 문제화가 될 수 있다.

발효소멸 장치는 교반과 미생물 분해 능력을 이용하여 음식물 쓰레기의 유기물질을 물과 이산화탄소로 분해하는 방식으로 최근에 관심이 증가하고 있는 방식인데, 유기물의 분해가 잘 되는 우수한 미생물을 이용하면 음식물 쓰레기 처리 시 발생하는 문제점을 해결할 수 있을 것이다. 하지만 우수한 미생물의 미확보와 까다로운 조건, 지속성이 약한 미생물 개발 등으로 확실한 처리 방법이 개발 되지 못하여 활성화 되지 못하는 실정이다.

본 연구에서는 이러한 단점을 보완하기 위하여 우수한 미생물을 확보하고 이를 이용하여 효소를 고착화시킴으로서 미생물이 쉽게 증식하고, 지속성이 오래갈 수 있는 효소활성화자재의 개발로 음식물 쓰레기의 처리효율을 극대화시켰으며, 약취의 효율적 감소, 부산물의 유기질퇴비 등으로 사용하는 방법을 모색 하였다.



제 2 장 문 헌 연 구

2.1 음식물류 폐기물의 발생 및 처리현황

2.1.1 음식물류 폐기물의 발생현황

전국의 폐기물 발생량은 평균 약 41,700 톤/일이며, 음식물류 폐기물은 2005년 이전에는 약 25,000 톤/일을 기록하였으며 종량제 등의 정책에 의해 2005년 이후 약 14,000 톤/일의 폐기물이 발생되고 있다. 전체 발생되는 폐기물 중 음식물류 폐기물이 차지하는 비율은 2005년 이전에는 약 60 %를 차지하였으며, 2005년 이후에는 약 35 %로 감소하였다. 2010년 기준 생활폐기물발생량 원단위는 0.97 kg/일·인이며, 음식물류폐기물발생량 원단위는 0.27kg/일·인으로 계산되었다(환경부, 2014).

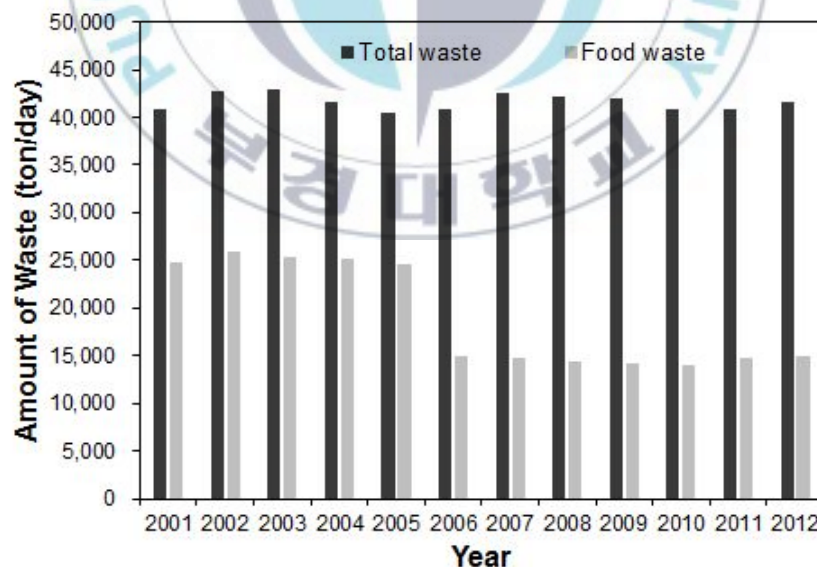


Fig. 2.1 Occurrence of total waste and food waste per year.

2.1.2 음식물류 폐기물의 처리현황

2011년도 기준 음식물류 폐기물에 대한 처리 및 재활용 현황을 Table 2.1에 나타내었다. 현재 음식물류 폐기물의 처리를 위해 음식물류 폐기물의 자원화 방법이 연구되고 있으며 정부차원의 지원도 계속되고 있다. 음식물류 폐기물은 고형물 20 %와 수분 80 %로 구성되어 있으며 파쇄·탈수·선별 등의 전처리를 통해 고형물과 수분을 분리하여 고형물은 재활용(자원화)하고 수분은 폐수로 배출한다(환경부, 2013). 대표적인 음식물류 폐기물의 자원화 방법은 퇴비화, 사료화, 혐기소화, 하수병합 혐기성처리, 소멸, 지렁이 분변토를 이용한 재활용 등이 있다. 음식물류 폐기물은 유기물질 및 영양물질이 풍부하여 사료 및 퇴비 제품의 원료 이용되기 충분하고, 산발효 과정을 거쳐 생성되는 메탄을 연료 등의 에너지로 이용할 수 있다(환경부, 2013).

퇴비화 방법은 음식물류 폐기물을 토양 개량제로 이용하여 재활용하는 방법으로 부패성 유기물질을 환경에 대한 2차 오염이 없는 상태로 분해하여 안정화함으로써 퇴비를 생산하여 작물에 유용한 영양분을 공급하고 접근이 용이하다는 장점이 있으나 속도가 매우 느리고 퇴비화 과정에서 발생하는 악취의 문제가 있다. 사료화 방법은 음식물류 폐기물을 원료로 하여 가축의 사료로 재활용하는 것으로 높은 초기 설비비와 유지비용으로 사업화가 어려우며 수익성이 보장되어 있지 않은 실정이다(시민환경기술센터, 2002).

Table 2.1 Present condition of food waste disposal and recycling in 2011

Disposal	Recycle				Landfill	Incineration
	Total	Feed stuff	Composting	Others		
Food waste (ton/day)	12,905	6,291	5,237	1,377	167	465
Ratio (%)	95.3	46.4	38.7	10.2	1.2	3.4

2.2 음식물류 폐기물 소멸공정

음식물류 폐기물은 자원화방법에 따라 호기성 퇴비화, 혐기성 퇴비화, 건식 사료화, 습식 사료화 등으로 구분되며 방법에 따라 기술적, 환경적, 경제적 측면이 상이하다(이와 임, 2003). 그 중 소멸공정은 폐기물 감량화의 한 방법으로 최근 기술이 발달함에 따라 가정용 감량화기기의 도입 등 음식물류 폐기물 감량을 위한 다양한 방법이 시도되고 있다. 소멸화란 소멸처럼 보이게 한다는 의미로 음식물류 폐기물이 완전히 소멸되는 것이 아니라 소멸된 것과 같이 보이게 하는 것이며, 이는 장시간 사용에 의해 97~98 %의 감량 효율을 보인다는 점을 보아 소멸에 가깝게 된다는 것으로 해석이 가능하다(배, 2002). 소멸은 고농도의 유기물인 음식물류 폐기물이 탄수화물, 지방, 단백질로의 미세 유기물 분자로 동화, 분해되면서 생물 세포가 합성된 후 포도당, 아미노산, 지방산 등의 미세 분자 유기물로 소화·분해되고, 합성된 생물세포들은 분해매체에서 식 및 증식하면서 효소를 발생시키면서 발효소멸반응이 진행되어 유기물질을 물과 이산화탄소로 분해하는 과정이다(오와 김, 2006).

음식물류 폐기물의 발효·소멸 기술에는 미생물의 활동을 촉진시키는 제재의 역할이 중요하나 국외 기술을 그대로 도입하여 적용하는 사례가 빈번하여 처리 성능, 효과, 발효·소멸 메커니즘 규명이 미비한 실정이었다(오와 김, 2012). 최근 음식물류 폐기물 처리 시 발생하는 문제점 해결을 위해 소멸화 촉진제를 이용하여 유기물 분해 활성이 우수한 미생물의 개발 및 적용이 이루어지고 있으며, 악취 제거와 음식물류 폐기물 제거에 효과가 있다고 알려져 있는 제품에서 음식물류 폐기물의 분해촉진 효과가 인정되었다(고 외, 2006; 홍 외, 2002). 또한 가정용 음식물 처리기의 실용화를 위해 실시한 연구에서 미생물이 혼합된 목질 바이오칩을 이용하여 음식물류 폐기물 처리를 실시 한 결과 중량감소 뿐만 아니라 유기물 분해 효과도 동시에 얻은 바 있다(나 외, 2012).

2.3 음식물류 폐기물 소멸에 영향을 미치는 인자

2.3.1 염분 농도

우리나라의 음식물류 폐기물은 다른 선진국에 비해 염분함량이 높은 것이 특징이다. 음식물류 폐기물에 포함된 NaCl은 건조 중량비로 평균 3.0 %에 달하는 것으로 조사되었으며 이는 한국인의 평소 짜게 먹는 식습관에서 기인한다(양 외, 2002). 통상적으로 음식물류 폐기물의 염분농도는 함수율 85 %에서 0.6~0.7 %이므로 함수율이 65 %로 조정되면 1.4 %로 증가한다(시민환경기술센터, 2002). 염분 농도의 증가는 음식물류 폐기물 처리효율에 영향을 미치는데, 염분의 농도가 높으면 미생물의 활동이 저하되고 유기물 분해도 이루어지지 않는다. 김 외(2003)는 염분 농도 변화가 음식물류 폐기물 제거 효율, 이산화탄소 발생량, 미생물의 농도에 미치는 영향을 조사하였다. 측정 결과 염분 농도가 높을수록 음식물류 폐기물 제거효율은 떨어졌으며 이산화탄소 발생량 및 미생물의 농도도 감소하였다.

또한 염분은 음식물류 폐기물 처리 후 생성되는 슬러지의 퇴비화에도 영향을 미친다. 음식물류 폐기물은 염분이 많이 함유되어 있어 재활용 사료와 퇴비의 유가성이 낮은 단점이 있다(환경부, 2013). 염분이 높은 퇴비는 토양에 악영향을 미치는 것으로 알려져 있는데, 염분에 포함된 주요 성분인 NaCl이 식물의 발아율을 감소시키고 생육을 저해한다고 보고되고 있다. 또한 토양 중에 염분이 집적되면 수분결핍, 이온불균형 등의 현상이 복합적으로 작용하여 식물의 성장을 감소시킨다(양 외, 2002).

2.3.2 온도 및 분해매체

온도는 소멸공정에서 중요한 역할을 하는 인자로 배 외(2000)에 의하면 토양과 발효를 혼합하여 반응조 내 산화열이 발생하는 온도 변화로 인해 미생물에 의한 분해가 가능한 것이 밝혀졌다. 퇴비화 용기에 열판을 설치하여 온도 조건을 75 °C, 85 °C, 95 °C로 지정하여 장치 내부에서 응축수 포집량을 측정할 결과 온도가 증가할수록 모든 조건에서 응축수의 포집량이 증가하는 것을 알 수 있었다(박과 서, 2001). 또한 음식물류 폐기물 처리 반응기 내 톱밥, 미생물제, 음식물류 폐기물을 혼합한 결과 음식물류 폐기물이 투여되는 시점에서 급격하게 발열 반응이 일어나고 하루 이내에 최저 온도로 떨어지는 현상도 관찰되었다(황과 신, 1999).

음식물류 폐기물의 소멸을 위해서는 미생물의 활동을 촉진시키는 제제의 역할이 중요하다. 오(2010)는 음식물류 폐기물 발효·소멸 반응을 촉진시킬 수 있는 목질바이오칩을 이용하여 음식물류 폐기물 감량 실험을 실시하여 미생물의 발생 및 활성정도를 파악하였다. 목질바이오칩을 이용하였을 때 음식물류 폐기물의 무게감량 및 유기물 분해율이 높아질수록 아데노신3인산(ATP)의 농도가 높아지는 것을 확인하였다. 아데노신3인산(ATP)은 미생물의 활동성 지표로 아데노신3인산의 농도가 증가하였다는 것은 미생물의 활동성이 증가하였다는 것을 의미한다. 또한 분해매체의 세공구조가 음식물류 폐기물 소멸에 미치는 영향을 파악한 연구결과에 따르면 미세공형(1 μm)의 바이오칩의 세공구조가 미생물의 서식지를 충분히 제공하여 효과적인 소멸반응이 진행될 수 있다고 하였다(오와 김, 2012).

2.3.3 미생물의 영향

고온성 미생물은 반응이 빠르고 효율적이므로 음식물류 폐기물 처리에 매우 유리하다. 높은 온도에서 물질 확산 속도를 가지며 기체 이외의 물질의 용해도가 높아지면 오염의 위험성도 낮아진다. 또한 고온성 미생물 효소는 높은 온도에서 생화학 반응에 촉매작용을 할 수 있으며 열에 대한 저항력이 있으므로 증온균의 효소보다 보온성이 더 높은 것으로 알려져 있다(서 외, 2001).

김 외(1998)에 의하면 곰팡이와 효모는 내염성이 우수하고 35~45 °C에서 활발하게 성장하는 것으로 나타났다. clear zone의 크기에 따라 효소의 활성도를 나타내는데, amylase와 protease는 보편적으로 높은 활성도를 보이는 반면 cellulase, lipase는 세균에 비해 곰팡이와 효모의 활성도가 양호하였고 지방류는 주로 효모에 의해 분해되는 것으로 나타났다. 특히 홍 외(2003)는 상용 음식물류 폐기물 소멸제인 *Pomia*와 *Vitabio*를 음식물류 폐기물에 투입하여 30 °C에서 항온 소멸시키면서 음식물류 폐기물 소멸작용에 따른 생물학적 특성을 분석한 결과 미생물을 처리한 음식물류 폐기물 g당 일반 미생물수가 대조군에 비해 전반적으로 많은 것을 확인할 수 있었으며 중성영역에서 서식하는 미생물군이 음식물류 폐기물 분해 촉진 효과가 우수하였다. 이러한 결과는 미생물의 생육 환경을 조절함으로써 효율적인 음식물류 폐기물 처리를 기대할 수 있다.

음식물류 폐기물 처리를 위한 미생물의 분리 및 동정을 통해 호기성 액상 발효조에서 효과를 검토한 후 순수 분리한 미생물의 amylase, protease, cellulase, lipase 등의 효소 활성 및 균체 성장 측정을 통해 선별된 소멸화 미생물은 모두 *Bacillus* sp. 인 것으로 나타난 연구결과가 있다(조 외, 2004). 미생물의 개체 수는 생물학적 처리에 영향을 미치는 인자로 음식물류 폐기물 처리를 위해서는 어느 정도의 미생물 개체 수가 필요하다. 권 외(2014)에 의하면 음식물류 폐기물 소멸 반응이 진행됨에 따라 미생물의 영향을 조사하여 초기

미생물 개체 수는 약 3.3×10^3 cell/mL, 15일 후 약 5.1×10^6 cell/mL 일정한 개체를 유지한다고 하였다. 음식물류 폐기물은 미생물에 의해 감량될 뿐만 아니라 유기물 분해도 동시에 이루어진다.



제 3 장 실험재료 및 방법

3.1 효소활성자재의 미생물 배양 및 고착방법

음식물류 폐기물에 포함된 수분은 약 80 %이며 고형물은 20 %이다. 고형물 중 약 98 %는 분해 가능한 유기물을 함유하고 있으므로 잔류하게 된다. 분해 불가능한 유기물은 소멸되지 않으므로 본 연구에서는 부피의 변화가 없도록 분해 매체를 활용하여 부피 개념에서는 큰 차이가 없도록 하였다.

음식물류 폐기물의 효과적인 균주 활성화를 위해 토양에서 유기질 제거가 뛰어난 방사선 균을 확보하여 적용하였다. 선별된 방사선 균에 처리하고자 하는 유기물 4,000 mgBOD/L를 미생물 균주와 비율이 약 1,000:1이 되게 투입하여 균을 활성화 시킨다. 이 때 미생물은 활발한 활동과 유기물 분해를 위해 다량의 효소를 생산한다.

미생물의 체내·외 효소 고착화를 위해 활성화된 특정 미생물에 물과 톱밥을 혼합하여 미생물의 자산화가 일어날 때까지 수개월 동안 발효시킨다. 이 때 호기성 조건을 유지하기 위해 간헐적으로 폭기 또는 교반을 실시한다. 미생물의 자산화가 잘 이루어졌는가는 미생물 개체 수 측정을 통해 이루어지며 측정된 개체수가 초기 개체수보다 80 % 이상 줄어들어야 한다. 이 후 효소활성자재 3,000 mg/L를 물 100 L와 혼합하여 유기물 1,000 mg/L를 투입한 후 호기성 조건에서 유기물 농도가 90 % 이하로 감소하면 효소활성자재가 최대로 활성화 된 것으로 판단한다.

3.2 효소활성자재를 이용한 분해매체 제작 및 적용

3.2.1 효소활성자재를 이용한 분해매체의 제작

고착화 된 효소활성자재와 톱밥의 비율을 5:100으로 하여 수분 60 %인 상태로 2주 동안 발효시킨 후 음식물류 폐기물 제거에 사용한다. 이 때 효소활성자재로 특정 미생물을 다시 활성화 시킨다. 이러한 분해매체의 제작 모식도는 Fig. 3.1에 나타내었다.



Fig. 3.1 Production diagram for decomposition mediums of enzymatic activity material.

3.2.2 분해매체를 이용한 소멸화 공정

분해매체는 효소활성자재를 혼합하여 효소의 기질 특성을 이용한 것으로 지속적인 미생물 투입이 없어도 음식물이나 대기 등에 존재하는 특정 미생물이 고착화되기 쉬운 구조로 되어있다. 음식물류 폐기물 소멸을 위해 분해매체와 음식물 비율을 10:1로 혼합하여 공기 투입이 가능한 발효탱크를 제작하여 분해가 가능하게 하였다. 기존의 음식물류 폐기물 소멸 방식은 60 ℃의 고온을 요구하므로 가온장치가 필요하며 적정 pH는 6~8이다. 또한 지속적인 교반과 간헐적인 미생물 투입이 요구된다. 그러나 본 연구에 적용한 반응기는 별도의 가온 장치 없이 상온에서 반응이 이루어지며, 간헐적 교반과 미생물 추가투입이 필요 없다. 또한 적정 pH가 3~9로 매우 넓은 범위에 적용이 가능하다.



3.2.3 음식물류 폐기물 소멸 모식도

(1) 반응기의 원리 및 소멸의 물질수지

음식물류 폐기물을 처리하기 위한 반응기는 Fig. 3.2와 같은 방법으로 운전된다. 음식물류 폐기물 10 L는 반응기에서 반응 후 H₂O, CO₂, 잔존유기물, 산화열을 발생하며, 반응기 내의 분해매체는 감소하게 된다. Fig. 3.3은 음식물류 폐기물의 소멸화 공정을 간단하게 도식화한 그림이며, Fig. 3.4에는 소멸화와 퇴비화 공정에 대한 모식도를 간단하게 나타내었다.

Fig. 3.5는 효소활성자재를 이용한 소멸의 물질수지를 도식화한 것이다. 음식물류 폐기물의 주성분은 수분으로 약 80 %를 차지하며 고형물질은 20 % 정도이다. 음식물류 폐기물은 수분만 증발시켜도 약 80 %가 감소한다고 볼 수 있다. 만약, 10 kg의 음식물류 폐기물을 가정하면 8 kg 이상은 수분 상태이므로 열에 의해 쉽게 제거가 가능하나 나머지 2 kg은 대부분 유기물이므로 낮은 농도에서는 분해가 어렵다. 그러나 유기물의 90 % 이상이 분해 가능한 유기물질이므로 음식물류 폐기물에 존재하는 고형물질은 대부분 미생물에 의해 분해가 가능하다. 분해되지 않고 남는 물질은 고형물 비중의 약 10 %를 차지하는데 0.2 kg는 대부분 무기물이며 이는 분해매체 내에 존재하거나 분해매체인 톱밥이 다시 분해되어 전체의 양에는 변화 없는 일정한 양을 보이게 된다.

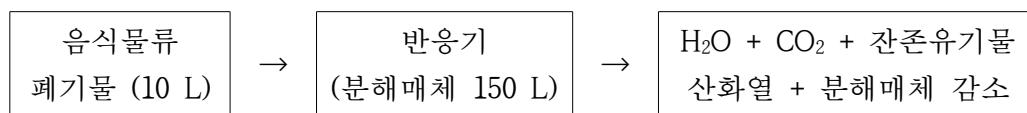


Fig. 3.2 Decomposition of food waste in reactor.

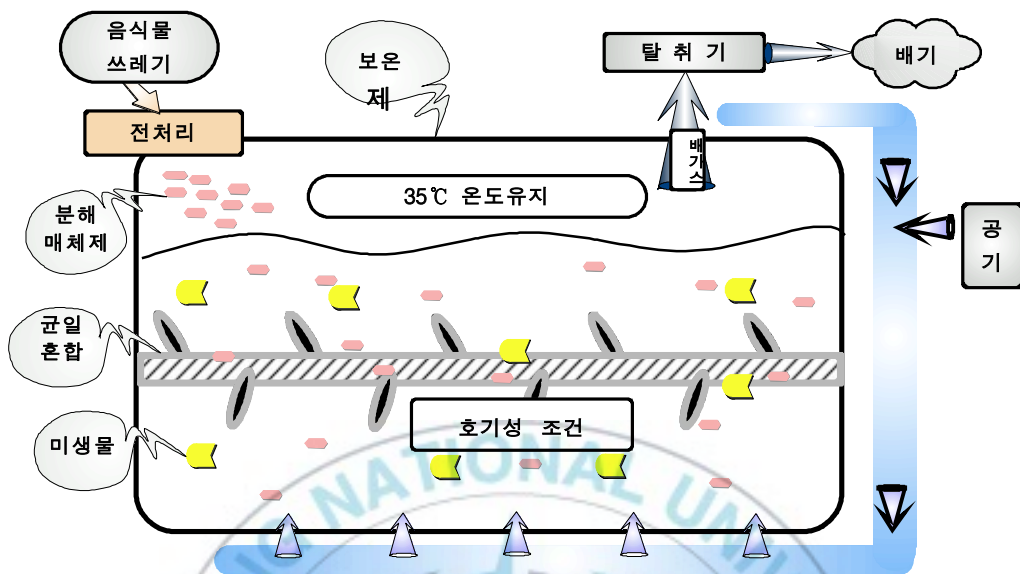


Fig. 3.3 Extinction process of food waste.

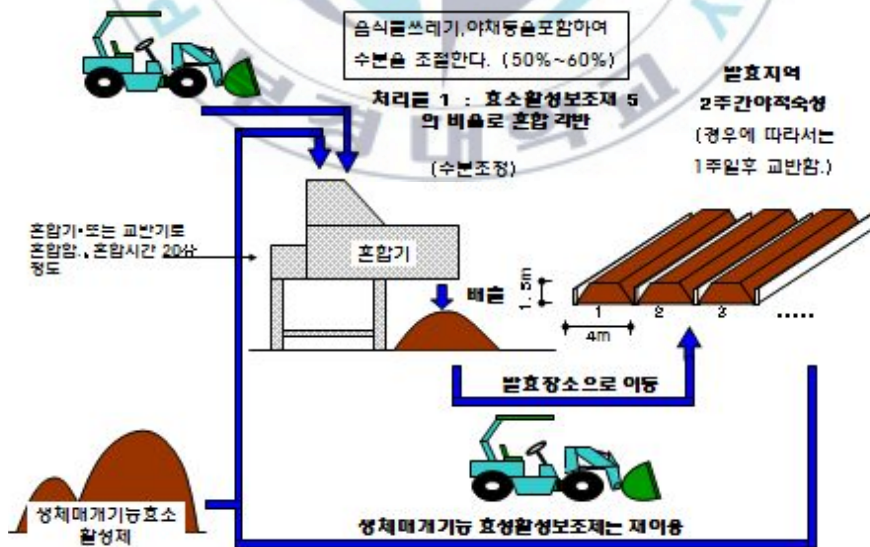


Fig. 3.4 Diagram of extinction and composting of food waste.

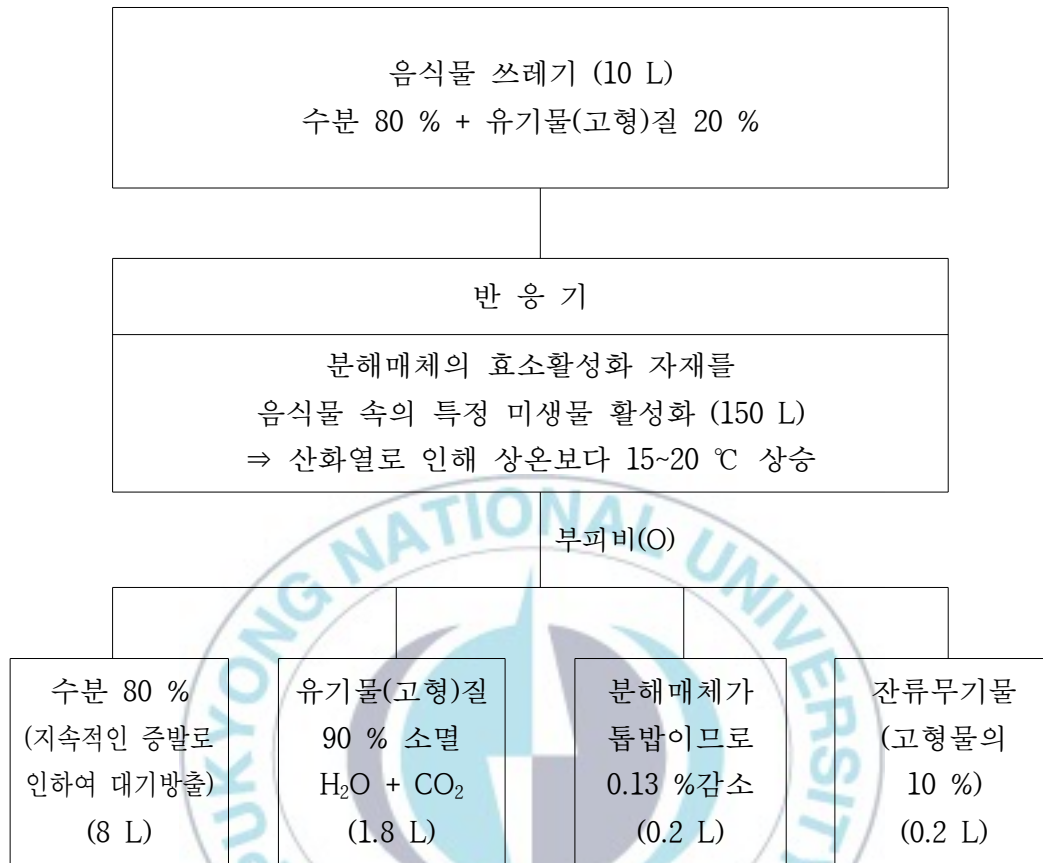


Fig. 3.5 Mass balance of extinction using enzymatic activity material.

(2) 분해매체의 교환과 사용

음식물류 폐기물을 가능한 소멸하고 잔존하는 무기물 중 회분성과 무기 미네랄 성분은 퇴비화하고, 철과 비닐 등은 분류해 폐기처리 하는 것이 목적이다. 분해매체는 앞서 언급한 바와 같이 지속적으로 소멸되며 감소량을 산정하면 약 75일 만에 전량 교체하는 것으로 산정된다. 분해매체를 완전소멸까지 사용하면 분해매체의 기능(수분조절기능, 미생물 고정화 기능, 부피비율 기능) 등이 떨어지므로 주기적으로 분해매체를 추가 투입하고 이 때 부피가 늘어난 것은 over flow 시켜 비닐과 철재를 제거하고 퇴비로 사용한다.

3.2.4 효소활성자재의 평가방법

기존의 음식물류 폐기물 처리방식과 본 연구의 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리방식의 비교를 위해 평가한 항목과 측정방법 및 기기는 Table 3.1과 같다.

온도(°C)와 함수율(%)은 건조 밀집 수분 측정기(HMM-110, Dreaminski, Poland)를 이용하여 분석하였으며, 수분은 전기전도도 측정방식을 채택하고 있다. pH와 염분(%)은 각각 pH 측정기(CyberScan pH11, Oakton Instruments, USA)와 염분 측정기(SB-1500pro, HM Digital, Korea)를 이용하여 분석하였으며, 염분의 측정원리는 전기전도도 측정방식이다. 음식물류 폐기물 소멸 공정에서 발생하는 악취물질로써 대표적인 황화수소(H₂S, ppm_v)와 암모니아(NH₃, ppm_v) 가스를 가스검지기(AP-20, Gitagawa, Japan)와 가스검지관(Gastec, Japan)을 이용하여 측정하였다.

Table 3.1 Analytical methods and equipments

Item	Method and equipment
Temperature (°C)	Hay moisture meter (HMM-110)
Water content (%)	Hay moisture meter (HMM-110)
pH (-)	pH meter (CyberScan pH11)
Salinity (%)	Salinity meter (SB-1500pro)
Odor: H ₂ S, NH ₃ (ppm _v)	Gas detection tube (AP-20)

3.3 미생물의 분리 및 동정

효소활성화 자재로부터 미생물을 분리하기 위해 순수분리 배양을 실시하였다. 시료 1 g을 멸균수 10 mL에 희석하여 사용하였다. LB 배지(Luria-Bertani media; Tryptone 10 g/L, NaCl 10 g/L, Yeast extract 5 g/L)를 기본배지로 하여 배양을 실시하였으며 배양 조건은 35 ± 1 °C, 16 시간이다. 콜로니의 형태, 크기, 색 등에 따라 액체배지에 분리하였으며 액체배지에 배양된 미생물은 150 rpm으로 진탕배양을 실시하였다. 단일 종의 콜로니를 얻기 위해 순수분리는 7 회 실시하였다.

3.3.1 미생물의 형태학적 특성 분석

(1) 콜로니의 형태
















고체 배지에 배양된 미생물의 콜로니 형태에 따라 미생물을 분리하였다. 콜로니의 형태는 모양, 색, 크기, 높이, 질감 등을 비교하며 관찰하였다. Table 3.2는 콜로니를 분류하는 방법이다. 콜로니는 모양, 표면의 형태, 질감, 색깔 등으로 나뉜다.

(2) 세포의 형태

세포의 형태를 분석하는 가장 간단한 방법은 그람염색이다. 그람염색은 결과에 따라 그람양성과 그람음성으로 나뉜다. 그람양성균은 크리스탈바이올렛과 요오드 복합체(crystal violet-iodine complex)가 알코올이나 아세톤으로 탈색할 때 제거되지 않아 보라색을 띤다. 그람음성균의 경우 알코올이나 아세톤에 의해 크리스탈 바이올렛-요오드복합체가 탈색된 후 사프란닌(safranin)을 이용하여 대비염색을 실시하므로 최종적으로 사프란닌의 붉은색을 띤다. 이러한 차이는 세포벽을 구성하는 펩티도글리칸층의 두께 차이로 인해 나타난다. Fig. 3.6에 나타난 바와 같이 그람양성균의 경우 두꺼운 펩티도글리칸층이

형성되어있어 크리스탈바이올렛-요오드 복합체가 남아있으나, 그람음성균의 경우 매우 얇은 펩티도글리칸층을 가져 탈색과정에서 크리스탈 바이올렛-요오드 복합체가 탈색된다(A. Brown, 2008; M.T. Madigan et al., 2009).

Table 3.2 Shape and form of bacterial colonies

Types		Morphology					
Form	Shape						
		Circular	Irregular	Filamentous	Rhizoid		
	Surface	Shiny, Smooth, Veined, Rough, Dull, Wrinkled (or Shriveled), Glistening					
	Texture	Dry, Moist, Mucoid, Brittle, Viscous, Butyrous (Buttery)					
	Color	Opaque, Cloudy, Translucent, Iridescent					
Elevation							
		Flat	Raised	Umbonate	Crateriform	Convex	Pulvinate
Margin							
		Entire	Undulate	Lobate	Curled	Filiform (filamentous)	

Source: "Colony Morphology: Describing Bacterial Colonies"

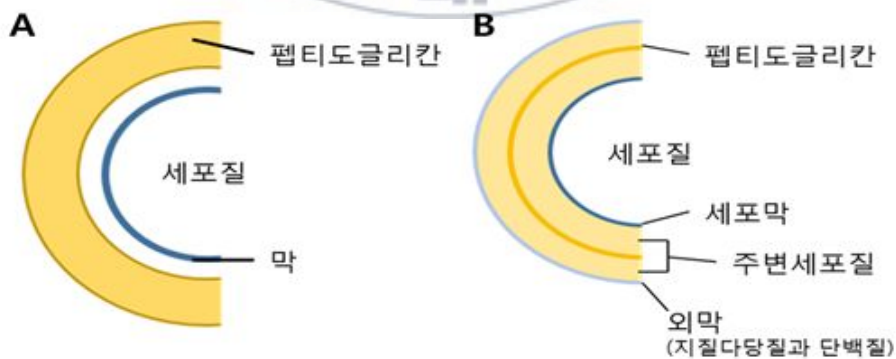


Fig. 3.6 The difference between (A)gram positive Bacillus and (B)gram negative Bacillus.

3.3.2 API kit를 이용한 미생물의 동정

API(BIOMERIEUX, USA)는 Analytical Profile Index의 약자로 미생물의 생화학적 특성을 판단하여 미생물을 동정하는 방법이다.

(1) API 20E

API 20E는 장내세균 과 무리 및 다른 그람음성세균의 동정에 사용되는 통상의 시험법을 소형화한 것이다. 건조된 기질을 함유하고 있는 20 개의 분리된 플라스틱 스트립(strip)에 미생물 현탁액을 주입하여 18~24 시간 배양 후 색의 변화를 기록하여 결과를 판단한다(A. Brown, 2008).

1) 스트립의 준비

Incubation box를 준비하고 약 5mL의 멸균 증류수를 부어 수분을 유지하도록 한다. Tray의 끝에 균주의 정보를 기록하고 스트립을 tray 위에 올려놓는다.

2) 접종 액의 준비

Suspension medium 앰플에 하나의 colony를 골고루 부유되도록 한다.

3) 스트립의 접종

큐플 또는 튜브까지 균액을 채운 후, 혐기적인 상태에서 36 ± 2 °C, 18~24 시간 배양한다. ADH, LDC, ODC, H₂S, URE는 혐기적 조건을 만들어 주기 위해 광유(mineral oil)로 큐플을 채운다.

4) 스트립의 판독

판독표를 바탕으로 결과지에 양성(+)과 음성반응(-)을 입력하고, 판독결과를 제공하는 <http://apiweb.biomerieux.com>에 접속하여 7자리 숫자를 입력해 미생물을 동정한다.

(2) API 20NE

API 20NE는 장내세균 이외의 그람음성간균의 동정에 사용된다. 건조된 기질을 함유하는 20 개의 튜브에 세균 부유 액을 접종하여 배양 후 색의 변화를 관독하여 미생물을 동정한다.

1) 스트립의 준비

Incubation box를 준비하고 약 5 mL의 멸균 증류수를 부어 수분을 유지하도록 한다. Tray의 끝에 균주의 정보를 기록하고 스트립을 tray 위에 올려놓는다.

2) 접종 액의 준비

NaCl 0.85 % medium 앰플에 1~4 개의 colony를 취해 혼탁도 0.5 McFarland로 맞춘다.

3) 스트립의 접종

NO₃에서 PNPG까지 현탁액을 채운다. API AUX medium과 접종액 200 μ l를 잘 섞은 후 GLU에서 PAC까지 채운다. GLU, ADH, URE는 혐기적 조건을 만들어 주기 위해 광유(mineral oil)로 큐플을 채운다. 29 \pm 2 $^{\circ}$ C에서 24 시간 동안 호기적인 상태에서 배양한다.

4) 스트립의 관독

관독표를 바탕으로 결과지에 양성(+)과 음성반응(-)을 입력하고, 관독결과를 제공하는 <http://apiweb.biomerieux.com>에 접속해 7자리 숫자를 입력하여 미생물을 동정한다.

3.3.3 염기서열을 이용한 미생물의 동정

(1) DNA extraction

순수분리 된 미생물은 신선한 LB 액체배지에서 36 ± 1 °C, 16 시간 배양 후 사용하였다. 미생물은 15,000 rpm에서 원심 분리하여 상징액을 제거하고 남은 작은 알갱이(pellet cells)를 사용하였다. DNA 추출에는 GeneAll Exgene™ Cell SV kit를 사용하였다. 간단한 방법으로 세포 내에 존재하는 DNA를 순수하게 분리해 내는 kit로 사용방법은 다음과 같다.

- 1) 액체배지에 배양된 미생물을 원심 분리하여 상징액은 제거하고 남은 물질(pellet cells)을 사용한다.
- 2) Lysozyme(LYS702, Bioshop, Canada)과 buffer GP를 혼합한 enzyme mixture 180 μ l를 넣고 37 °C에서 30 분간 반응시킨다. 이 과정은 효과적인 세포용출을 위해 세포벽을 약하게 만드는 과정이다.
- 3) 혼합액(mixture)에 20 μ l의 proteinase K와 200 μ l의 buffer BL을 첨가하여 잘 섞은 후 56 °C에서 30 분, 70 °C에서 30 분 반응시킨다. 만약 병원균 존재가 의심된다면, 70 °C에서 30 분 더 반응시킨 후 95 °C에서 15 분간 반응시킨다. 15 분 이상 95 °C에서 추가적인 반응을 실시하는 것은 DNA 분해를 일으킬 수 있으므로 유의해야 한다. 반응이 끝난 혼합액은 상온이 될 때까지 방치한다.
- 4) 200 μ l의 에탄올을 첨가하고 잘 섞은 후 스피ندا운(spin down)을 실시한다. 이 과정에서 에탄올과 혼합액을 완전혼합 시키는 것이 중요하다.
- 5) 혼합액을 SV column에 옮긴 후 15,000 rpm에서 원심 분리를 실시하여 막(membrane)에 혼합액이 결속(binding) 되도록 한다.
- 6) 600 μ l buffer BW를 첨가한 후 1 분 동안 15,000 rpm에서 원심 분리를 실시한다.

- 7) 700 μ l buffer TW를 첨가한 후 1 분 동안 15,000 rpm에서 원심 분리를 실시한다. 원심분리를 1 분 추가하여 TW 잔여물을 제거한 후 깨끗한 1.5 mL centrifuge tube로 교체한다.
- 8) 200 μ l buffer AE 또는 멸균 증류수를 첨가한 후 1 분 동안 상온에서 반응시킨다. 15,000 rpm에서 1 분간 원심분리를 실시하여 순수한 DNA를 얻는다.

(2) PCR

PCR(Polymerase Chain Reaction)은 중합효소 연쇄반응으로 검출을 원하는 특정 표적물질을 증폭하는 방법으로 소량의 유전물질로부터 염기 순서가 동일한 유전물질을 많은 양 증폭이 가능하다. 이 기술은 올리고뉴클레오티드 프라이머 쌍이 주형 DNA 상의 특정 위치에 결합한 후 열에 안정한 DNA 중합효소에 의해 DNA 서열을 복제하는 방법이다(M.T. Madigan et al, 2009). 이중 가닥의 DNA를 95 $^{\circ}$ C에서 15~30 초간 처리하여 수소결합을 파괴시켜 각각 한 가닥의 DNA로 분리시킨다(변성, Denaturation). 단일 가닥의 DNA는 프라이머와 반응하게 되는데, 2종류의 프라이머는 각각 상보적인 단일 가닥의 DNA에 결합하여 annealing한다. 이때의 적절 온도는 프라이머 염기배열과 길이에 따라 결정되나 일반적으로 55 $^{\circ}$ C에서 30 초~1 분간 반응시킨다. DNA 단일 가닥과 결합된 프라이머는 dNTP가 존재하는 상태에서 DNA polymerase를 작용시켜 프라이머를 신장(extension)시킨다. DNA의 농도, 증폭단면의 크기 등에 따라 반응시간 및 온도를 조절하는데 일반적으로 72 $^{\circ}$ C에서 30~10 분간 처리한다. PCR을 진행하기 위해서는 몇 가지 시료가 필요하다. Table 3.2는 이에 대한 성분 및 역할이다. Taq DNA polymerase는 열에 안정한 특성을 가지는 DNA 중합효소로 말달에서부터 작용하여 새로운 가닥을 형성하는 역할을 한다. dNTP는 DNA 합성의 재료인 뉴클레오타이드로 통상적으로 dATP, dCTP,

dGTP, dTTP를 사용한다. DNA를 구성하는 역할을 할 뿐만 아니라 DNA polymerase가 DNA를 합성하는데 에너지를 제공한다. 프라이머는 DNA의 양 끝에 상보적으로 결합하는 올리고뉴클레오타이드의 한 쌍으로 DNA 복제를 시작하는 물질이다.

Table 3.3 Ingredients and purpose of material for PCR(F. Parveen, 2010)

Ingredients	Purpose
Taq DNA polymerase	Produces an enzyme DNA polymerase that amplified the DNA from primers by polymerase chain reaction
Buffer	Provides optimal pH and salt conditions.
dNTP	Follow standard base pairing rule.
DNA template	Provides the DNA to be amplified.
Primers	For each target sequence at the end of the DNA, both strands are copied simultaneously in both directions.

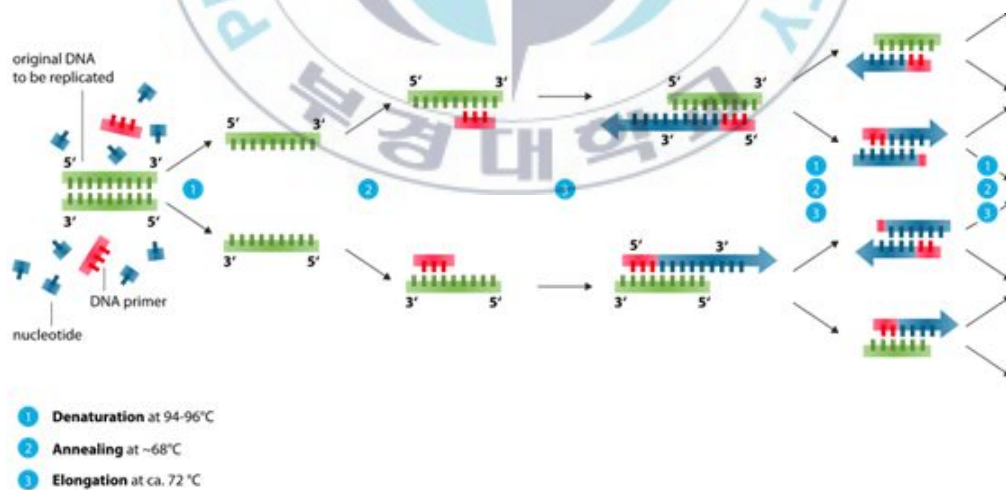


Fig. 3.7 Diagram of PCR cycle(Wikipedia, 2014a).

제 4 장 실험결과 및 고찰

4.1 효소활성자재의 미생물 배양 및 고착방법

선별된 방사선 균에 처리하고자하는 유기물 4,000 mgBOD/L를 미생물 균주와 비율이 약 1,000:1이 되게 투입하여 균을 활성화 시킨 후 물과 톱밥을 혼합하여 미생물의 자산화가 일어날 때까지 수개월 동안 발효시킨 결과는 Table 4.1과 Fig. 4.1에 나타내었다.

발효의 성공 유무는 미생물 개체수를 통해 판단한다. 초기 개체수보다 80 % 이상 감소해야 효소활성자재의 발효가 성공적으로 이루어졌다고 판단하며, Fig. 4.1에 나타낸바와 같이 초기 300 unit/mL의 개체수는 2개월 후 50 %로 감소하였으며 4개월 후 80 % 이상으로 감소하였다.

Table 4.1 Change of bacterial number in fermented enzymatic activity material

Time (month)	1	2	3	4	5	6
Bacterial number (unit/mL)	300	150	80	60	50	40
Reduction ratio (%)	0.0	50.0	73.3	80.0	83.3	86.7

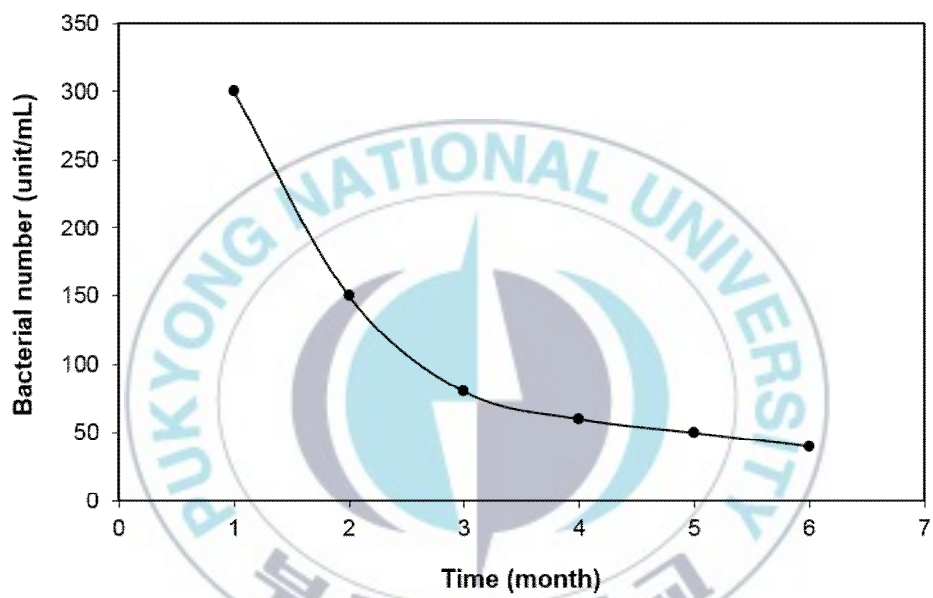


Fig. 4.1 Change of bacterial number in fermented enzymatic activity material.

4.2 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리기

기존의 음식물류 폐기물 처리기기와 효소활성자재를 이용하여 음식물류 폐기물 처리기의 효율을 비교·분석하였다.

4.2.1 온도에 의한 소멸 특성 비교

기존의 미생물을 투입하여 음식물류 폐기물을 처리하는 방식에서 Fig. 4.2에 나타난 바와 같이 기존의 음식물류 폐기물 처리 방식인 미생물을 투입하여 처리하는 방법에서 고형물(유기물)의 처리효율은 매우 낮은 것으로 판단된다. 온도를 60 °C로 높였을 때 음식물류 폐기물 수분은 빠르게 감소하였으나 고형물(유기물)의 분해속도가 느렸다. 또한 초기에 수분이 많은 양 증발하여 일정 시간이 경과한 후 가루날림 현상이 관찰되었다. 초기의 수분 함량은 80 %로 일반적인 음식물류 폐기물의 수분을 포함하고 있었으며 12시간 경과 후 절반인 40 %로 감소하였다. 반응이 완료된 24시간 이후 수분함량은 35 %로 나타남으로써 낮은 수분함량에 의해 분해속도가 저해되고 이로 인하여 효과적인 처리를 위해서는 추가적인 수분 공급이 필요한 것으로 나타났다.

이에 비해 효소활성자재를 이용한 연구에서 온도 40 °C에서 실험이 진행되었으며 Fig. 4.3에 나타난 바와 같이 수분 증발은 빠르게 일어나지 않았으나 유기물의 분해는 빠른 속도로 일어났다. 수분은 초기 80 %에서 서서히 감소하여 반응이 완료된 24시간 이후 44 %의 수분함량을 유지하였으며 가루날림 현상은 관찰되지 않았다. 또한 고형물(유기물)의 함량은 초기 20 %에서 서서히 감소하다가 14시간 이후 10 %로 절반이 감소하였으며 반응이 완료된 24시간 경과 후 고형물(유기물) 함량은 2 %로 나타나 매우 높은 처리 효율을 보였다.

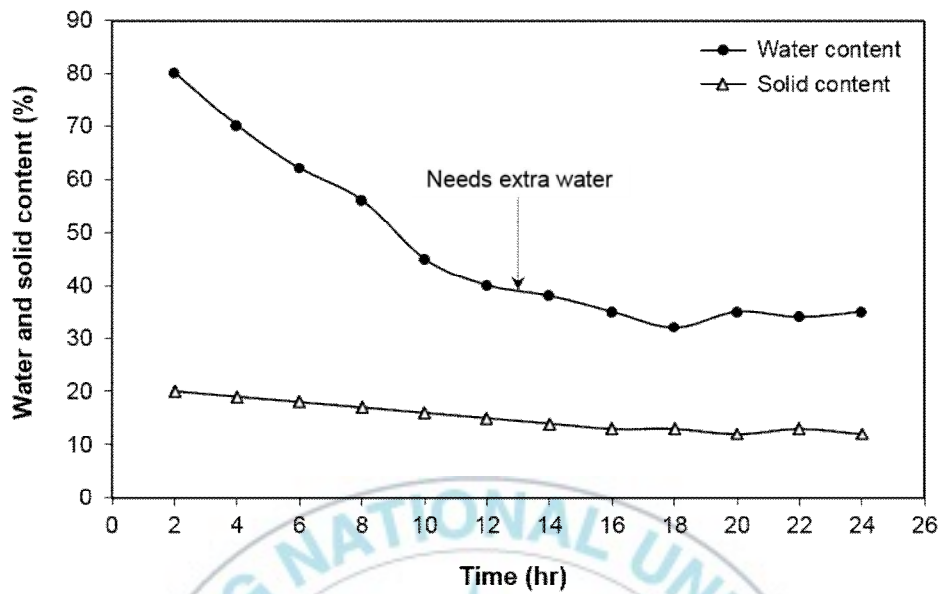


Fig. 4.2 Change of water and solid content in existing disposing machine of food waste(method of inserting microorganism).

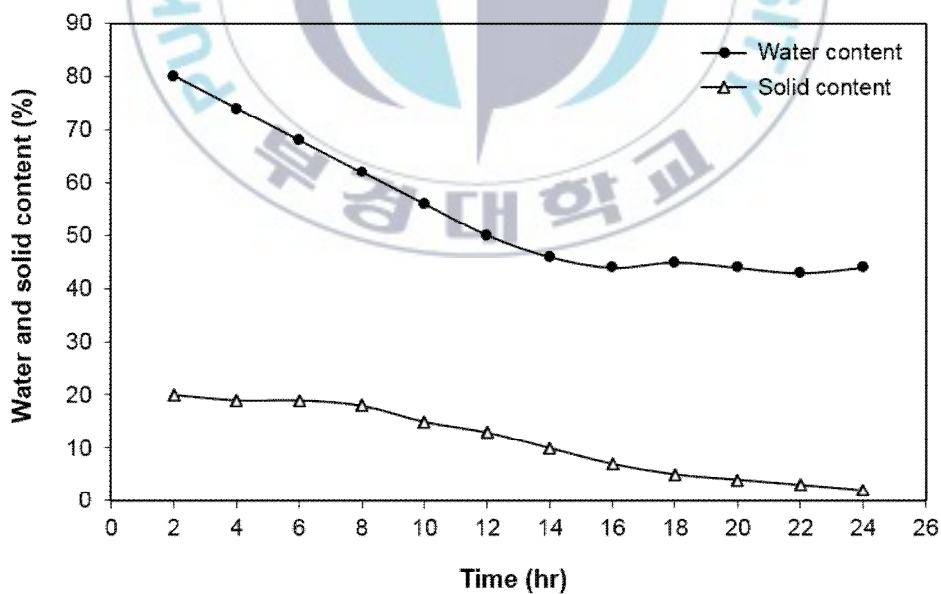


Fig. 4.3 Change of water and solid content in disposing of food waste using enzymatic activity material.

4.2.2 pH에 의한 소멸 특성 비교

음식물류 폐기물은 가정이나 업소에서 수거하여 반입되는 과정에서 대개 산화, 부패되어 pH 4 이하로 낮은 상태이다. 기존의 미생물 투입 방식을 이용하여 음식물류 폐기물을 처리한 결과 Fig. 4.2에 나타난 바와 같이 초기 6 시간 동안은 고형물의 감소와 산화 반응에 의한 온도의 증가가 일어나지만, 시간이 경과할수록 낮은 pH로 인해 음식물류 폐기물 분해가 어려웠으며 악취가 발생하였다. 2일의 경과시간 이후에도 음식물류 폐기물의 분해가 이루어지지 않아 미생물의 추가 투입이 필요하였으며 산화 반응열이 낮아 보조 열원이 많이 필요하였다.

그러나 효소활성자재를 이용한 본 연구의 음식물류 폐기물 처리는 Fig. 4.5에 나타난 바와 같이 동일한 pH 조건(pH 4)에서 지속적인 음식물류 폐기물의 분해가 원활하게 일어났으며, 12 시간 경과 후에는 고형물이 5 %까지 감소하였다. 온도는 지속적인 산화 반응에 의해 초기에 증가하다가 8 시간 경과 이후에는 25 °C로 일정하게 유지함으로써 보조 열원이 필요하지 않았다. 악취 또한 변함이 없거나 오히려 감소하였다. Table 4.1에는 기존 음식물 처리기와 효소활성 자재를 이용하는 방법에 대한 시간에 따른 고형물과 온도 변화를 비교하여 나타내었다.

Table 4.2 Change of solid content and temperature in disposing process of food waste

Method	Time (hr)	1	3	5	7	9	11
Existing disposing machine	Solid content (%)	20	17	16	15	15	15
	Temperature (°C)	13	20	27	27	24	20
Enzymatic activity material	Solid content (%)	20	15	10	8	7	6
	Temperature (°C)	12	18	22	24	25	25

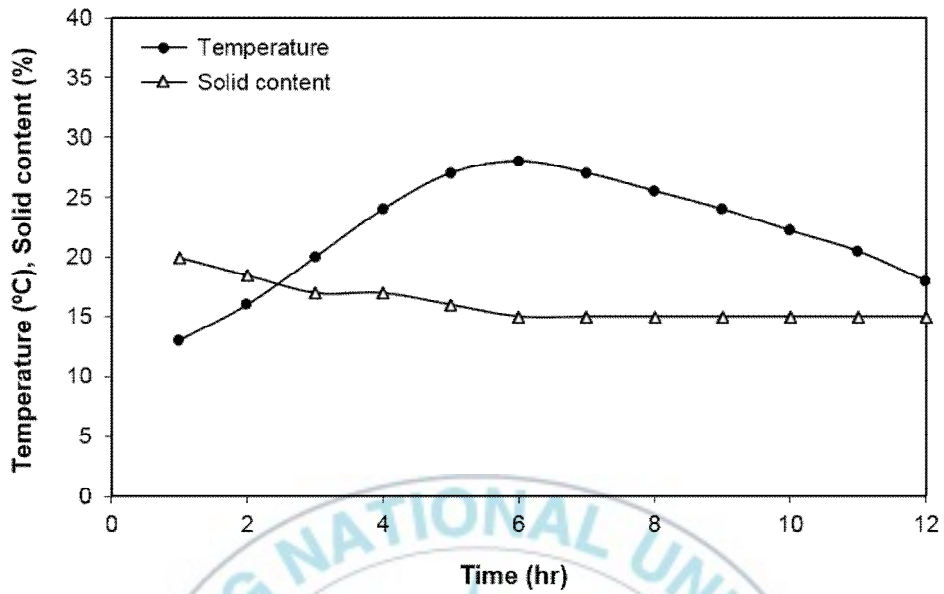


Fig. 4.4 Change of solid content and temperature in existing disposing machine of food waste.

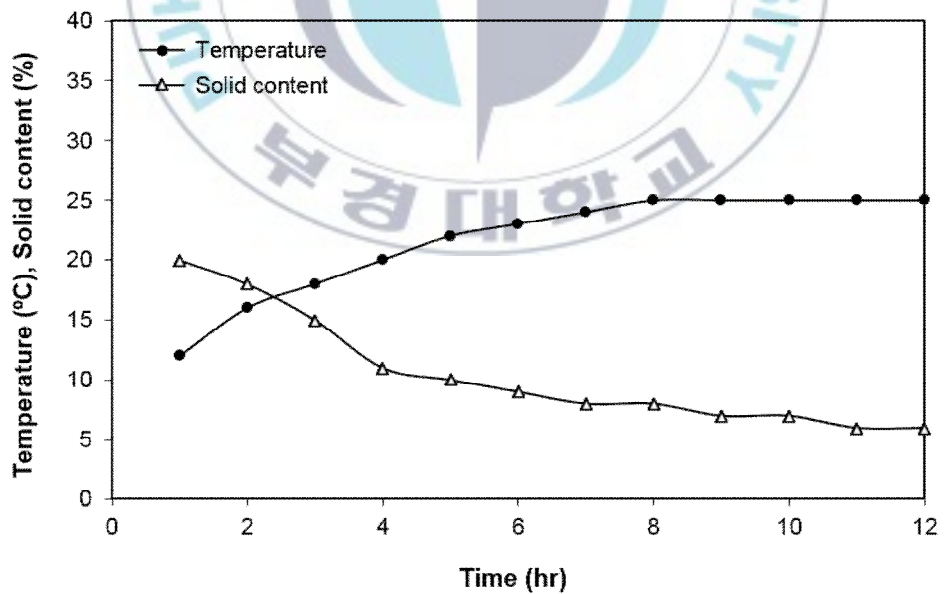


Fig. 4.5 Change of solid content and temperature in disposing of food waste using enzymatic activity material.

4.2.3 공기주입에 의한 소멸 특성비교

기존의 미생물 투입을 이용한 음식물류 폐기물 처리 방식과 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리방식의 공기 주입량 비교하였으며 음식물류 폐기물 10 kg에 0.5m³의 공기를 주입하여 실험을 실시하였다. 처리기기에 공기를 주입한다는 것은 추가적인 전력이 필요함을 의미하므로 운전비용과 연결되는 문제이다.

Fig. 4.6는 기존의 미생물 투입 방식에서 공기 주입 방법 차이에 따른 음식물류 폐기물의 소멸량을 비교한 그래프이다. 지속적으로 공기를 주입할 경우 음식물류 폐기물 소멸은 계속해서 이루어지지만 4 시간 간격으로 1 시간만 공기를 간헐적으로 주입할 경우 음식물류 폐기물의 소멸이 거의 이루어지지 않는 것을 확인할 수 있다. 따라서 기존의 미생물 투입 방식은 지속적인 공기 주입을 필요하다고 판단된다.

Fig. 4.7에 나타난 바와 같이 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리 방식은 지속적인 공기 주입을 요하지 않는 것으로 판단된다. 지속적인 공기 주입 방법과 간헐적인 공기 주입 방법 모두 음식물류 폐기물의 소멸은 유사하게 나타났다. 따라서 효소활성자재를 이용한 방법은 간헐적인 주입으로도 음식물류 폐기물 처리가 원활하게 이루어지는 것으로 판단된다.

공기주입은 운전비용과 직결되는 문제이다. 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리방식은 기존의 미생물 투입 방식에 비해 약 30 %의 전력이 절약되는 것으로 나타났다. 그러므로 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리방식을 이용하면 운전비용 절약이 가능할 것으로 보인다.

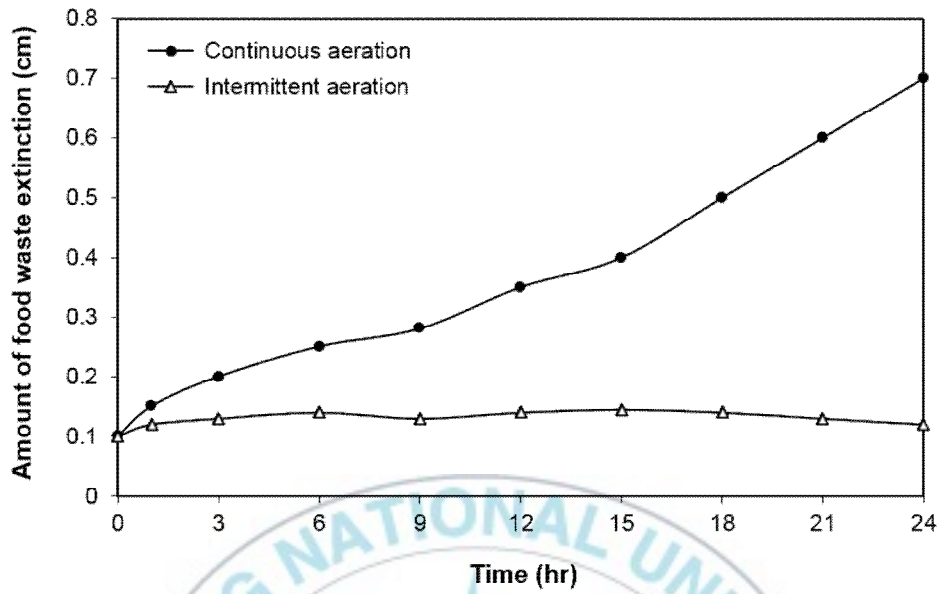


Fig. 4.6 Change of food waste extinction with continuous and intermittent aeration in existing disposing machine of food waste.

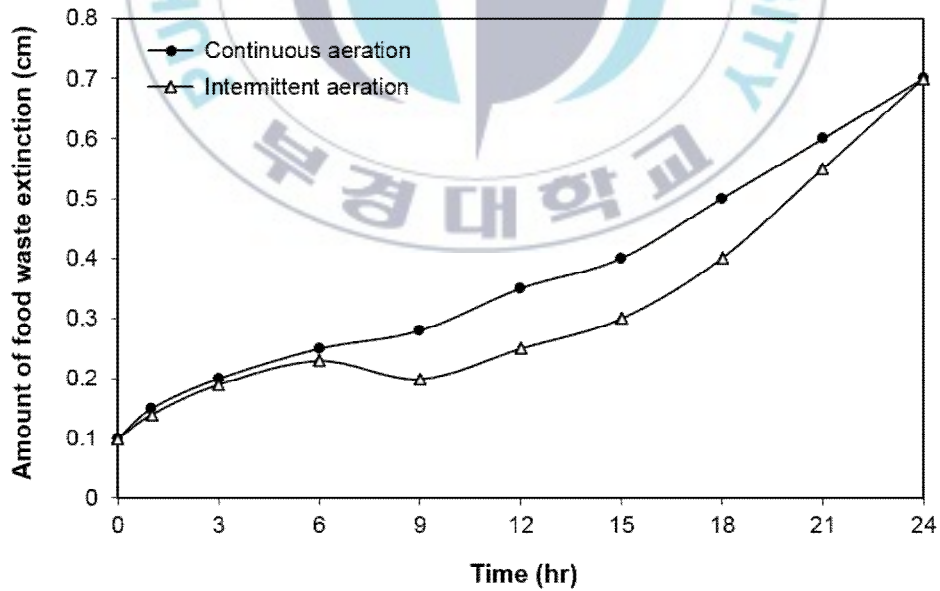


Fig. 4.7 Change of food waste extinction with continuous and intermittent aeration in disposing using enzymatic activity material.

4.2.4 소멸 공정에서의 악취 특성 비교

음식물류 폐기물 처리 시 발생하는 복합악취를 측정하기 위해 온도 40 °C, pH 6 으로 고정하여 각 처리기의 공기 배출구에서 악취의 정도를 비교·분석하였다. 복합악취에 대한 정량적 접근을 위해 음식물류 폐기물에서 발생하는 대표적인 악취물질인 H₂S와 NH₃를 대상으로 실험을 실시하였다.

Table 4.3에 나타난 바와 같이 처리 전 H₂S 농도는 30 ppm_v로 상당히 높게 나타났으며, 이로 인한 악취가 심한 상태였다. 기존 미생물 투입 방식에 비해 효소활성자재를 이용한 방식의 경우 악취 발생이 적은 것으로 나타났다. 기존의 미생물 투입 방식의 경우 12 시간까지는 H₂S의 농도가 일정하게 감소하지만, 이후에는 투입된 미생물의 활성 감소로 인한 유기물 분해 저해가 일어남으로써 H₂S의 농도도 거의 감소하지 않는 것으로 나타났으며, 24시간 후 73 %의 H₂S 제거율을 보였다. 효소활성 자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리방식은 1 시간 경과 후 50 %의 H₂S가 제거되었으며, 효소활성 자재에 의한 음식물류 폐기물 내 유기물의 안정적인 분해로 인하여 12 시간 전에 H₂S가 거의 제거되었다.

Table 4.4에 나타난 바와 같이 처리 전 NH₃ 농도는 8 ppm_v로 다소 높은 편이었으며, 기존의 미생물 투입 방식의 경우 12 시간까지는 H₂S와 마찬가지로 NH₃의 농도가 일정하게 감소하지만, 이후에는 NH₃의 농도가 2 ppm_v로 일정하게 유지됨으로써 제거율이 75 %로 나타났다. 효소활성 자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리방식은 1 시간 경과 후 62.5 %의 NH₃가 제거되었으며, H₂S와 마찬가지로 12 시간 전에 NH₃ 농도가 1 ppm_v 이하로 감소하였다.

따라서 기존의 미생물 투입 방식은 촉매 연소시설 등의 악취제거 효율이 높은 biofilter 등과 같은 추가적인 장치가 필요하나 본 연구에서 사용한 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리 시스템은 특별한 악취저감 시설을 요하지 않음을 알 수 있었다.

Table 4.3 Results of H₂S concentration in existing disposing machine and disposing of food waste using enzymatic activity material

Method	Time (hr)	0	1	12	24
Existing disposing machine	Concentration (ppm _v)	30	20	10	8
	Removal ratio (%)	0.0	33.3	66.7	73.3
Enzymatic activity material	Concentration (ppm _v)	30	15	< 1	< 1
	Removal ratio (%)	0.0	50.0	> 97	> 97

Table 4.4 Results of NH₃ concentration in existing disposing machine and disposing of food waste using enzymatic activity material

Method	Time (hr)	0	1	12	24
Existing disposing machine	Concentration (ppm _v)	8	5	2	2
	Removal ratio (%)	0.0	37.5	75.0	75.0
Enzymatic activity material	Concentration (ppm _v)	8	3	< 1	< 1
	Removal ratio (%)	0.0	62.5	> 88	> 88

4.2.5 발효된 톱밥의 염분 비교

우리나라에서 발생하는 음식물류 폐기물의 염분 함량은 가정에서 발생하는 폐기물은 4.84 %, 식당의 음식물류 폐기물은 3.36 %로 가정에서 발생하는 음식물류 폐기물의 염분이 식당에서 발생하는 폐기물의 염분보다 높은 것으로 나타났다. 또한 영업용 식당에서 발생하는 음식물류 폐기물의 염분은 중식당이 가장 높은 3.3 %였으며 양식당 2.88 %로 가장 낮게 나타났는데, 평균적으로 3 % 내외인 것으로 나타났다.

음식물류 폐기물의 퇴비화에 중요한 요인 중 하나는 염분이다. 염분은 식물 생장에 영향을 미치는 인자로 이에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 퇴비 내 염분 농도가 높을수록 토양을 분사시켜 토양 공극 내 물의 이동을 저하시켜 토양의 물리성을 악화시켜 작물 재배에 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 따라서 음식물류 폐기물 분해매체에 포함된 염분이 2 %를 초과하게 되면 퇴비로 사용이 불가능하므로 이를 비교하기 위한 실험을 실시하였다.

기존의 미생물 투입 방식과 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리 시스템 내의 분해매체를 매일 처리한 후 15일 경과 후 염분 농도를 측정한 결과 두 경우 모두 2 % 내외의 염분 농도를 유지함을 확인하였다. 따라서 종전의 음식물류 폐기물을 퇴비로서 유통한 결과 많은 농가에서 작황 피해를 입은 사례가 많았는데, 미생물이나 효소활성자재를 이용하여 분해된 발효매체를 퇴비로 적용하는 것에 있어서 염분으로 인한 피해는 없을 것으로 사료된다.

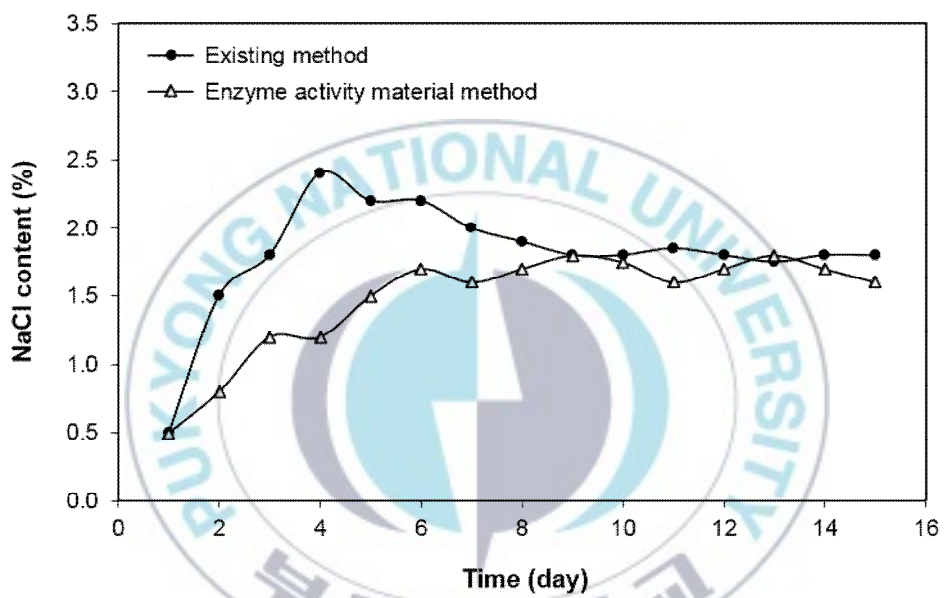


Fig. 4.8 Change of salt concentration included decomposition media.

4.3 효소활성화자재 내 미생물의 분리 및 동정

효소활성 자재를 내 미생물의 분리 및 동정을 위해 API kit를 이용하여 1차적인 분석을 실시한 후, DNA 염기서열을 분석하였다.

4.3.1 API kit를 이용한 미생물의 동정

(1) API 20E

API 20E를 이용하여 분석을 실시한 결과 L3과 L6 미생물에서만 결과를 얻을 수 있었다. Table 14에 나타난 바와 같이 L3은 *Aeromonas hydrophilia/caviael sobria*2, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* 로 동정되었으며 *vibrio fluvialis*일 가능성이 있는 것으로 나타났다. L6은 *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia rubidaea*로 동정되었으며 각각 미생물의 유사도는 51 %, 46 %, 2.4 %로 나타났다.

*Serratia marcescens*는 *Enterbacteriaceae*에 포함되는 그람 음성 박테리아로 토양, 물, 식품 등에 널리 분포되어 있는 미생물이다(Wikipedia, 2014b). 또한 *Serratia*는 호기성 박테리아 중 하나로 호기조건에서 PCP(pentachlorophenol)를 분해할 수 있는 것으로 알려져 있으며, 음식물류 폐기물의 혐기성 소화에서 biohydrogen을 가장 많이 생성하였다(S. Singh et al., 2007; L. Xiao et al., 2013).

Table 4.5와 Fig. 4.9는 L3와 L6 미생물에 대한 API 20E 실험 결과이다.

Table 4.5 Result of numerical biochemical pattern and identification of microorganisms using API 20E

Title	Numerical Biochemical pattern	Result	% ID	Note
L3	522725	<i>Aeromonas</i>	-	vibrio fluvialis is possible
		<i>hydrophilia/caviae/sobria2</i>	-	-
		<i>Serratia marcescens</i>	-	-
		<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-
L6	5227723	<i>Serratia marcescens</i>	51	
		<i>Serratia liquefaciens</i>	46	
		<i>Serratia rubidaea</i>	2.4	



Fig. 4.9 Identification of (A)L3 and (B)L6 using API 20E.

(2) API 20NE

API 20NE를 이용하여 L1, L2, L5, L7 그리고 L8을 분석한 결과 Table 15와 같은 결과를 나타냈다. L1은 *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas salmonicida* ssp *salmonicida*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio alginolyticus* 로 나타났으며 L2는 *Aeromonas salmonicida* ssp *salmonicida*, *Pseudomonas luteoia* 로 나타났다. L5는 *Shewanella putrefaciens* group, *Comamonas testosteroni*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas aeruginosa*로 나타났으며 이때의 각각의 유사도는 55.8 %, 36.2 %, 3.8 % 이었다. L7과 L8은 같은 결과를 보였는데, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas salmonicida* ssp *salmonicida*, *Aeromonas hydrophila/caviae* 로 나타났다.

*Stenotrophomonas*는 주로 케라틴을 분해하는 미생물로 알려져 있다(Z. Fang et al., 2013). 또한 해독작용 및 독성물질인 아크릴라미드의 분해를 촉진하며 처리장에서 발생하는 냄새 제거에도 효과가 있다(V. Verma et al., 2010). *Stenotrophomonas*는 세포 외 리파아제를 생산하여 지질 분해에 효과적이며, *Shingomonas*는 세포 외 프로티아제를 생산하여 단백질 분해에 효과적이다 (M.H. Beikdashti et al., 2012; M. Turkiewicz et al., 1999).

*Pseudomonas*와 *Aeromonas*는 낮은 온도에서 슬러지를 저장하는 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 탈염, 탈단백질 등을 위한 효소 생성에 효과적으로 작용한다(N.H.M. Yasin et al., 2014; K.T. Oh et al., 2007; Y.S. Oh et al., 2000)

Table 4.6과 Fig. 4.10은 L1, L2, L5, L7와 L8 미생물에 대한 API 20NE 실험 결과이다.

Table 4.6 Result of numerical biochemical pattern and identification of microorganisms using API 20NE

Title	Numerical Biochemical pattern	Result	% ID	Note
L1	1450761	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-
		<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>	-	-
		<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	-
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
		<i>Vibrio alginolyticus</i>	-	-
L2	5550641	<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>	-	-
		<i>Pseudomonas luteoia</i>	-	-
L5	1010545	<i>Shewanella putrefaciens group</i>	55.8	Ps. Pseudoalc is possible
		<i>Comamonas testosterioni</i> <i>/Pseudomonas alcaligenes</i>	36.2	-
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3.8	-
L7	1552745	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-
		<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>	-	-
		<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	-	-
L8	1552745	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-
		<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>	-	-
		<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	-	-



Fig. 4.10 Identification of (A)L1, (B)L2, (C)L5, (D)L7, and (E)L8 using API 20NE.

4.3.2 염기서열을 이용한 미생물의 동정

염기서열을 이용한 미생물 동정 결과는 Table 4.7과 같다. L1과 L2는 같은 미생물 인 것으로 보이며, L7과 L8의 염기서열도 동일한 것으로 보인다. L1과 L2는 *Bacillus cereus*로 나타났으며 L3은 *Serratia marcescens*로, L4는 *Bacillus thuringiensis*, L5는 *Bacillus* sp., L6은 unculutured bacterium, L7과 L8은 *Bacillus thuringiensis* 인 것으로 나타났다. *Bacillus cereus*는 케라틴을 가수분해하는 효소를 생산하는 미생물이다(W.H. Lo et al., 2012; J.M. Kim et al., 2001).

Table 4.7 Result of sequencing(blast search) and accession number

Title	Result of sequencing(Blast search)	% ID	Accession No.
L1	<i>Bacillus cereus</i> strain C-4	100	KM211501.1
L2	<i>Bacillus cereus</i> strain C-4	100	KM211501.1
L3	<i>Serratia marcescens</i> subsp. JLZM21	100	JN999831.1
L4	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain RJ26	100	KM250110.1
L5	<i>Bacillus</i> sp. DSPV 003PSA	100	JQ322232.1
L6	Uncultured bacterium clone nck233h12c1	100	KF097136.1
L7	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain RJ26	100	KM250110.1
L8	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain RJ26	100	KM250110.1

Fig. 4.11에 나타나 바와 같이 L1과 L4의 염기서열은 매우 유사한 것으로 보인다. 또한 L3과 L6 유사한 염기서열을 가지는 것으로 판단된다. L1과 L4는 단백질의 일종인 케라틴을 분해하는 미생물인 *Bacillus cereus*와 유사한 염기서열을 가진다. 또한 L3과 L6은 음식물류 폐기물의 혐기성 소화 시 Biohydrogen 생성을 돕는 미생물인 *Serratia*와 유사한 염기서열을 가지는 것으로 나타났다.

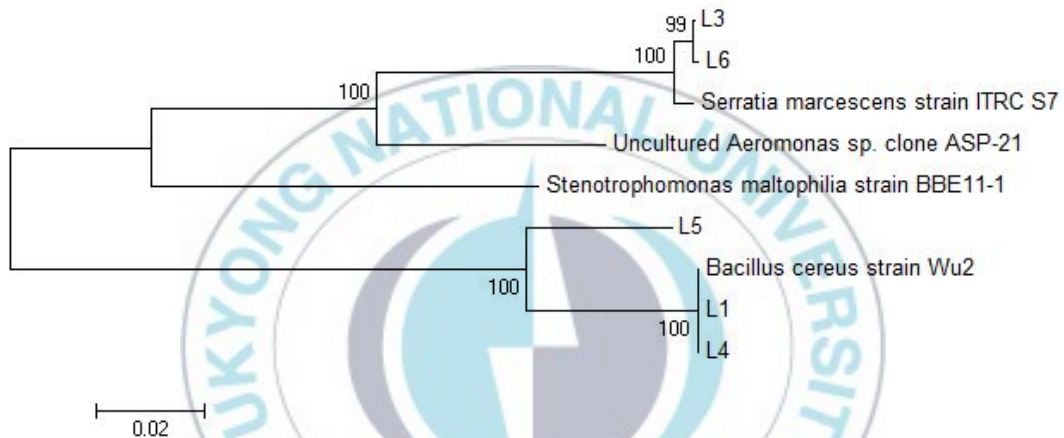


Fig. 4.11 Distribution diagram of microorganism sequence listing separated from enzymatic activity material.

4.4 소멸기 사용 없이 효소활성자재를 이용한 노지의 음식물류 폐기물 소멸

음식물류 폐기물 발효 소멸기를 사용하지 않고 음식물류 폐기물의 소멸을 평가하기 위해 일상 대기 조건에서 퇴비화 조건과 동일하게 실험을 실시하였다. 먼저 효소로 만든 톱밥인 분해매체와 음식물류 폐기물을 7:3의 비율로 20 rpm, 교반시간 20 분으로 혼합 후 높이 1m, 폭 1.5m로 쌓아 올려 상온에 방치하였다.

시간 경과에 따른 온도, 악취물질 농도와 분해능력의 변화는 Table 4.8에 나타내었다. 1 일 후 혼합물의 온도는 20 °C, 2 일 후 혼합물의 온도는 40 °C로 시간의 변화에 따라 온도가 증가하는 경향을 보였으며 4 일 후 최고치인 60 °C까지 상승하였다. 이후 온도는 서서히 감소하는 경향을 보였으며 10 일 경과 후 상온과 비슷한 온도로 감소하였다. 악취물질 농도 또한 1 일 후 상당히 저감되었으며, 10 일 이후 거의 안정화되는 것으로 나타났다. 음식물류 폐기물 슬러지도 10일 후 거의 소멸된 것으로 판단된다. 수분을 약 60 % 포함한 시점은 약 15 일 정도로 15일 후를 음식물류 폐기물 재투입 시기로 하여 10회 정도 반복 실험을 실시하였다.

Table 4.8 Result of field disposing of food waste using enzymatic activity material

Time (day)		0	1	5	10	15	20
Temperature (°C)		-	25	50	25	23	23
Odor compound (ppm _v)	NH ₃	8	3	2	1	0	0
	H ₂ S	27	5	2	1	1	1
Extinction capacity (cm)		-	10	5	2	1	2

10회 반복 실험 후 농촌진흥청고시(제2013-29호)에 나타난 시험방법을 이용하여 음식물류 폐기물의 소멸 후 생성된 퇴비의 성분을 측정한 결과 Table 4.9와 같은 결과를 얻었다. 2013년 농촌진흥청에 발표된 퇴비의 이화학적 성분의 규격은 유기물 12 % 이상, 수분 80 % 이하, 중금속 일정 농도 이하이며 본 연구에서 생성된 퇴비는 모두 규격기준을 만족하는 것으로 나타났다.

Table 4.9 Composting measurement after extinction of food waste

항목	시험 결과	규격기준
유기물	47.2 %	12 % 이상
유기물 대 질소비	28.7	-
수분	44.2 %	80 % 이하
염분	1.95 %	
납	5.81 mg/kg	130 mg/kg 이하
구리	14.9 mg/kg	360 mg/kg 이하
비소	1.47 mg/kg	45 mg/kg 이하
수은	0.04 mg/kg	2 mg/kg 이하
크롬	13.4 mg/kg	200 mg/kg 이하
카드뮴	0.68 mg/kg	5 mg/kg 이하
아연	61.5 mg/kg	900 mg/kg 이하
니켈	4.07 mg/kg	45 mg/kg 이하
부숙토	부숙완료	
염산불용해물	1.04 %	

제 5 장 결 론

효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리 공정 특성 및 미생물의 동정에 대해 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- (1) 선별된 방사선 균에 처리하고자하는 유기물 4,000 mgBOD/L를 미생물 균주와 비율이 약 1,000:1이 되게 투입하여 균을 활성화시킨 결과 효소활성자재의 활성화는 4개월 이후 이루어졌다.
- (2) 기존의 미생물 투입방식과 효소활성자재를 이용한 음식물류 폐기물 처리 방식의 비교 및 분석 결과 온도의 변화는 기존 방식의 경우 발효 후 24시간 이후 수분이 35 %로 감소하였으며 고형물의 감소는 거의 없는 것으로 나타났다. 또한 수분 감소로 인해 가루날림 현상을 보였다. 효소활성자재를 이용한 처리 방식은 수분이 24시간 발효 후 44 %의 수분의 유지하였으며 고형물은 2 %로 감소하였다.
- (3) pH가 낮은 음식물류 폐기물의 처리방법에 있어서 기존의 방식과 효소활성자재를 이용한 방식을 비교한 결과, 기존의 방식은 음식물류 폐기물의 분해가 원활이 이루어지지 않았으나 효소활성자재를 이용한 방식은 높은 분해효율을 보였다.
- (4) 기존의 방식은 지속적인 공기주입을 요구하나 효소활성자재를 이용한 방식은 간헐적인 공기주입으로도 충분한 음식물류 폐기물 소멸이 일어나는 것을 관찰하였으며, 기존방식에 비해 30 %의 전력을 절약할 수 있을 것으로 판단된다.

- (5) 음식물류 폐기물 처리 시 발생하는 악취는 기존의 미생물 투입 방식의 경우 24시간 경과 후 H₂S와 NH₃의 제거율이 각각 73과 75 %로 나타났으며, 효소활성자재를 이용한 본 연구방식은 12시간 이후 H₂S와 NH₃의 농도가 모두 1 ppm_v 이하로 감소하였다.
- (6) 기존의 방식과 효소활성자재를 이용한 방식으로 처리된 음식물류 폐기물의 염분농도는 2 % 내외로 나타났다. 기존의 방식의 경우 염분농도가 2.4 %까지 증가 후 서서히 감소하였으며, 효소활성자재를 이용한 방식의 경우 점진적으로 증가한 후 거의 일정하게 유지되는 특성을 보였다.
- (7) 효소활성자재에 존재하는 미생물의 분리 및 동정결과 *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus* sp.로 나타났다.
- (8) 효소활성자재를 이용한 노지에서의 음식물류 폐기물 소멸 후 생성된 퇴비는 농촌진흥청 규격기준을 모두 만족하는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- “Colony Morphology: Describing Bacterial Colonies.”, <http://www.rci.rutgers.edu/~microlab/CLASSINFO/IMAGESCI/colony%20Morphology.pdf>
- A. Brown (2008) Benson’s Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology, 10 ed. McGraw-Hill.
- F. Parveen (2010) Investigation of Sludge Characteristics and Bacterial Diversity of Membrane Bioreactor Systems, Master’s thesis, Institute of Environmental Sciences and Engineering, National University of Sciences and Technology.
- J.M. Kim, W.J. Lim, H.J. Suh (2001) Feather-degrading *Bacillus* species from poultry waste, *Process Biochemistry*, **37**, pp.287-291.
- K.T. Oh, Y.J. Kim, V.N. Nauyen, W.J. Jung, R.D. Park (2007) Demineralization of crab shell waste by *Pseudomonas aeruginosa* F722, *Process Biochemistry*, **42**, pp.1069-1074.
- L. Xiao, Z. Deng, K.Y. Fung, K.M. Ng (2013) Biohydrogen generation from anaerobic digestion of food waste, *International J. of Hydrogen Energy*, **38**, pp.13907-13913.
- M. T. Madigan, J. M. Martinko, P. V. Dunlap, D. P. Clark (2009) Brock Biology of Microorganisms, 12 ed. Pearson Education.
- M. Turkiewicz, E. Gromek, H. Kalinowska, M. Zielinska (1999) Biosynthesis and properties of an extracellular metalloprotease from the Antarctic marine bacterium *Sphingomonas paucimobilis*, *Journal of Biotechnology*, **70**, pp.53-60.
- M.H. Beikdashti, H. Forootanfar, M.S. Safiarian, A. Ameri, M.H. Ghahremani, M.R. Khoshayand, M.A. Faramarzi (2012) Optimization of culture conditions for production of lipase by a newly isolated bacterium

- Stenotrophomonas maltophilia*, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **43**, pp.670-677.
- N.H.M. Yasin, V.S. Torres, T. Maeda, Enhanced reduction of waste activated sludge at a low temperature by locally isolated strains *Pseudomonas* sp. VNT and *Aeromonas* sp. VNT.
- S. Singh, R. Chandra, D.K. Patel, V. Rai (2007) Isolation and characterization of novel *Serratia marcescens*(AY927692) for pentachlorophenol degradation from pulp and paper mill waste, *World J. Microbial Biotechnol*, **23**, pp.1747-1754.
- V. Verma, S.C. Raju, A. Kapley, V.C. Kalia, H.F. Dagainawala, H.J. Purohit (2010) Evaluation of genetic and functional diversity of *Stenotrophomonas* isolates from diverse effluent treatment plants, *Bioresource Technology*, **101**, pp.7744-7753.
- W.H. Lo, J.R. Too, J.Y. Wu (2012) Production of keratinolytic enzyme by a indigenous feather-degrading strain *Bacillus cereus* Wu2, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **114**(6), pp.640-647.
- Wikipedia (2014a) Polymerase chain reaction, http://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction.
- Wikipedia (2014b) *Serratia marcescens*, http://en.wikipedia.org/wiki/Serratia_marcescens.
- Y.S. Oh, I.L. Shin, Y.M. Tzeng, S.L. Wang (2000) Protease produced by *Pseudomonas aeruginosa* K-187 and its application in the deproteinization of shrimp and crab shell wastes, *Enzyme and Microbial Technology*, **27**, pp.3-10.
- Z. Fang, J. Zhang, B. Liu, G. Du. J. Chen (2013) Biochemical characterization of three keratinolytic enzymes from *Stenotrophomonas maltophilia* BBE11-1 for biodegrading keratin waste, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **82**, pp.166-172.

- 고대현, 이강형, 유진수, 송홍규 (2006) 발효소멸기를 이용한 음식물쓰레기의 감량화 및 악취제거, *한국미생물학회*, **42(4)** PP306~312.
- 고대현, 이강형, 유진수, 송홍규 (2006) 발효소멸기를 이용한 음식물 쓰레기의 감량 및 악취제거, *한국미생물학회*, **42(4)**, pp.306-312.
- 권범숙, 나현숙, 임혜정, 임채승, 정선용 (2014) 미생물을 이용한 액상소멸방식의 음식물쓰레기 처리, pp.303~309.
- 김영권, 홍석일, 홍명표, 김명진, 박명석, 김종석 (1998) 음식물찌꺼기 소멸화를 위한 발효제 및 최적화에 대한 연구, pp.73~75.
- 김정섭, 김해수, 박승조 (2003) 염분농도에 따른 음식물쓰레기 소멸에 관한 연구, pp.276~278.
- 나숙현, 임혜정, 임채승, 정선용 (2012) 액상소멸방식인 가정용 음식물 처리기의 실증화 및 실용화 연구, *한국폐기물자원순환학회*, pp.281-282.
- 나현숙, 임혜정, 임채승, 정선용 (2012) 액상소멸방식인 가정용 음식물 처리기의 실증화 및 실용화 연구, *한국폐기물자원순환학회*, pp.281~282.
- 박주원, 서정운 (2001) 가정용 소형 퇴비화 용기의 형태 및 온도가 응축수량에 미치는 영향, *한국환경농학회지*, **20(3)**, pp.150~154.
- 배재근 (2002) 음식물쓰레기 감량화수단으로서 소멸화방법에 대한 검토, *폐기물자원화*, **10(2)**, pp.38-51.
- 배재근, 주홍수, 박정수, 박진영, 최현수, 장기훈 (2000) 발효토에 의한 음식물쓰레기 소멸화 가능성의 검토, *유기성자원학회 2000년도 추계학술대회*, pp.154-159.
- 배재근, 주홍수, 박진영, 최현수, 장기훈 (2000) 발효토에 의한 음식물쓰레기 소멸화 가능성의 검토, *추계학술대회논문집*, pp.154~159.
- 서명교, 이상봉, 이국의, 이상훈(2001) 음식물쓰레기 소멸화에 관한 연구, *한국환경위생학회지*, **27(1)**, pp.14~19.
- 시민환경기술센터 (2002) 음식물쓰레기 자원화 방법 및 특성, pp.14~16.
- 양지원, 백기태, 전영선, 염상필, 신문식, 김상준 (2002) 음식물찌꺼기 염분제거 공정 개발에 관한 연구, 환경과학기술원, 환경부.

- 오정익 (2010) 목질바이오칩에 의한 음식물쓰레기 발효-소멸반응에서의 아데노신3인산의 변화, *대한환경공학회*, pp.363-368.
- 오정익, 김효진 (2012) 목질세편 세공구조에 따른 음식물쓰레기의 발효·소멸 효율 평가, *LHI Journal*, **3**(3), pp.299-305.
- 이정임, 임동순 (2003) 음식물쓰레기 자원화 방식에 따른 경제성 분석, *폐기물 자원화*, **11**(2), pp.46-52.
- 조대현, 백경화, 김희식, 반찬선, 장규섭, 오희목, 윤병대 (2004) 음식물쓰레기 소멸을 위한 고상 복합 미생물제제의 개발, *한국환경학회지*, pp.1355~1361.
- 최명수, 오정익 (2006) 목질바이오칩을 이용한 음식물쓰레기의 소멸기술, pp.15~18.
- 홍정희, 안용근, 정진도 (2003) 음식물쓰레기 소멸제의 쓰레기 소멸특성에 관한 연구, pp.306~311.
- 홍정희, 안용근, 정진도, 선호영 (2002) 상용 음식물 소멸제의 감량특성에 관한 연구, *한국폐기물학회 2002년도 춘계학술연구발표 논문집*, pp.463-465.
- 홍정희, 안용근, 정진도, 선호영(2002) 상용음식물 소멸제의 감량특성에 관한 연구, pp.463~465.
- 홍정희, 정진도, 안용근 (2003) 음식물쓰레기 소멸제 첨가에 의한 소멸 효과에 따른 미생물학적 특성, *한국폐기물학회지*, **20**(3), pp.266~272.
- 환경부 (2013) 음식물류폐기물 자원화 정책 방향, pp.32-36.
- 환경부 (2014) 환경부 환경통계포털, <http://stat.me.go.kr/nesis/index.jsp>.
- 황응주, 신항식 (1999) 소규모 소멸식 퇴비화에서의 유기물 성분별 분해율 평가, *한국폐기물학회지*, **16**(5), pp.459~465.