

## 음식물 쓰레기의 호기성분해를 위한 고온균의 분리 및 생육 특성

최민호, 조성은, 유정목, 정윤진,\* 박연희

아주대학교 생물공학과, 환경공학과\*

### Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria for Aerobic Decomposition of Food Waste

Choi, Min Ho, Sung Eun Cho, Jung Mok Yoo  
Yoon Jin Chung\* and Yun Hee Park

Dept. of Biotechnology, Dept. of Environmental Eng, \* Ajou University.

#### ABSTRACT

For development of microbial additives applicable to in-vessel composting system of food waste, thermophilic bacteria which showed amylase, protease, lipase and cellulase activity were isolated from soil, compost and food waste. Among 81 isolates, the growth characteristic of 20 strains with high enzyme activity were examined. All strains are Gram positive rod with catalase activity and 17 strains are spore formers. At 50°C, most of the strains were able to grow from pH 5 to pH 10 and in presence of 8% of NaCl. In trypticase soy broth, the growth of these strains was greatly increased by aeration, but decreased at elevated temperature above 50°C.

Keywords: Thermophilic bacteria, Food waste, microbial additives, In-vessel composting system

#### 요 약

음식물 쓰레기 퇴비화 장치에 사용하기 위한 미생물제제 개발을 목적으로 토양, 퇴비 등으로 부터 고온균을 분리하여 그 생육 특성을 조사하였다. 분리한 81주 중에서 음식물 쓰레기를 분해시키는 전 분 분해효소, 단백 분해효소, 지방 분해효소 및 섬유소 분해효소의 활성이 높은 20주를 분리하여 형태 및 생리적 특성을 조사한 결과 모두 그람 양성균의 간균으로 카탈라제를 가지고 있었으며 17주는 포자 형성균으로 밝혀졌다. 이 균주들은 대부분 pH 5에서 pH 10까지 생육할 수 있었으며 8% NaCl이

함유된 배지에서도 성장하였다. 또한 각 효소의 생산 균주 그룹별로 생육에 미치는 영향을 조사한 결과 통기에 의해 생육이 크게 증가하였으며, 50°C 이상 온도가 올라갈수록 생육이 저하되었다.

핵심용어 : 고온균, 음식물 쓰레기, 미생물제제, 퇴비화 장치

## 1. 서 론

우리나라 쓰레기의 약 30%를 차지하고 있는 음식물 쓰레기는 가축사료로 극히 일부가 이용되는 경우 이외에는 재활용 방법이 없어 매립방법으로 처리되었으나, 다른 쓰레기에 비하여 수분함량이 높고 쉽게 부패되기 때문에 보관, 운반에 큰 문제점을 지니고 있다(환경처, 1994).

이러한 음식물 쓰레기의 처리 및 재활용 방안은 심각한 환경 오염문제의 발생과 유용한 유기성 자원의 낭비라는 점에서 중요한 과제가 되고 있으며, 이에 대한 방안으로서 음식물 쓰레기를 생분해, 퇴비화하여 처리하는 방법이 관심을 끌고 있다(Shin *et al.*, 1994, Song *et al.*, 1993).

최근 우리나라에서도 음식물 쓰레기의 재활용을 위한 장치가 개발되기 시작하여 현재 약 20종의 음식물 쓰레기 처리기가 제작, 판매되고 있다. 퇴비화 과정은 미생물에 의한 유기물의 분해과정에서 비롯되며(Diaz *et al.*, 1993, Gray *et al.*, 1971), 이러한 장치들도 처리과정에서는 차이가 있으나 대부분 미생물 균주를 제제화하여 첨가하는 방법을 사용하고 있고, 이미 외국에서도 균주첨가로 각종 쓰레기의 분해 및 퇴비화를 촉진시킨다는 연구결과가 보고되었다(Nakasaka and Akiyama 1988, Finstein and Morris 1975). 그러나 사용 목적에 적합한 미생물 제제용 균주 선발을 위한 체계적인 분리방법 및 균주의 특성에 대한 연구보고는 극히 적은 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 체계적인 방법을 통하여 음식물 쓰레기의 효율적인 분해에 적합한 미생물을 분리하고 여러가지 환경요인에 대한 분리 균주의 생육특성을 조사함으로써 최적균주개발의 기초자료로 얻고자 하였다. 선발하고자하는 미생물로는 음식물의 주성분인 탄수화물, 단백질, 지질, 섬유소에 대한 분해효소 활성이 우수한 균주로서, 대부분의 음식물 쓰레기 처리기가 50~60°C 정도의 고온 속성 발효를 목표로 개발되고 있으며, 일반적으로 음식물 쓰레기가 pH가 낮고, 염농도가 비교적 높은점을 고려하여 생육 pH 범위가 넓고, 내염성인 고온성 균주를 중심으로 하였다.

## 2 실험 방법

### 2.1 균주의 분리

음식물 쓰레기 분해력이 우수한 호열성 세균을 분리하기 위해 균분리원으로 유기물이 풍부한 토양, 퇴비 그리고 음식물 쓰레기등을 채취하여 사용하였다. 시료 약 3g을 50ml의 멸균된 무기염 배지(Choi *et al.*, 1994)에서 30분간 진탕하여 현탁시킨후, 적절히 희석하여 분리용 배지에 도말하고, 50°C에서 1~3일간 배양하여 자란 colony에서 clear zone 형성에 기준하여 균주들을 분리하였다. 분리용 배지로는 탄수화물, 단백질, 지방질 및 섬유소 분해능력을 가진 균주를 얻기 위하여 nutrient agar 배지(peptone 5g, beef extract 3g, agar 15g, D.W 1L, pH 7.0)에 각각 1%의 soluble starch, raw starch, skim milk를 각각 첨가한 배지

와 0.5%의 tributyrin을 첨가한 Luria Bertani배지(tryptone 10g, yeast extract 5g, NaCl 10g, agar 15g, D.W 1L, pH 7.5) 그리고, 0.5%의 carboxymethyl cellulose (CMC) 함유 배지(NaNO<sub>3</sub> 1g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1g, KCl 0.5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g, yeast extract 0.05g, Na-CMC 5g, agar 11g, D.W 1L, pH 7.0)를 사용하였다. 또한 음식물찌꺼기를 10% 첨가한 무기염 배지에 분리용 시료를 일정량 첨가하여 2~3일 배양한 후 동일 배지로 3회 반복 enrichment culture하여 분리하는 방법도 사용하였다. 분리된 균주들은 순수분리하고 각각의 효소 활성도를 측정하여 분해력이 우수한 균주들을 선발하였다.

## 2. 2 효소 활성 측정

1차적으로 분리된 균주들로부터 유기물 분해 능력이 우수한 균주들을 선발하기 위하여 각 균주의 amylase, protease, lipase 그리고 cellulase 활성도를 측정하였다.

### 2. 2. 1 Amylase 활성 측정

1%의 soluble starch 또는 raw starch를 첨가한 nutrient agar 배지를 효소 활성 측정용배지로 사용하였으며, 측정방법은 지름이 17cm인 멸균된 petri-dish에 배지를 부어 균히고 배지표면을 펴낸 후, 내경이 7mm인 stainless steel cylinder를 올려 놓고, 분리균주를 trypticase soy broth(TS broth, tryptone 17g, soytone 3g, NaCl 5g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.5g, glucose 2.5g, agar 18g, D.W 1L, pH 7.3)에서 18시간 배양한 배양액 20μl를 cylinder내로 주입한 다음 50°C에서 일정기간 배양하고, I<sub>2</sub>-KI용액(iodine 1g, potassium iodide 2g, D.W 300ml)을 분무하여 형성된 clear zone의 지름을 측정하였다. Raw star-

ch에 대해서는 배양 후 생긴 clear zone의 지름을 직접 측정하였다.

### 2. 2. 2 Protease 활성 측정

1%의 skim milk를 첨가한 nutrient agar 배지를 효소 활성 측정용 배지로 사용하였으며, skim milk가 분해되어 생긴 clear zone의 지름을 측정하였다.

### 2. 2. 3 Lipase 활성 측정

Luria Bertani 배지에 0.5%의 tributyrin을 첨가한 배지를 사용하였으며, tributyrin이 분해되어 생긴 clear zone의 지름을 측정하였다.

### 2. 2. 4 Cellulase 활성 측정

기질로서 0.5%의 CM-cellulose를 함유하고 있는 배지를 사용하였으며, 0.1% congo red 용액을 가하고 30분간 유지시킨 후 1M NaCl용액으로 15분간 세척했을때 생긴 clear zone의 지름을 측정하였다(Lee *et al.*, 1984).

## 2. 3 생육능력 조사

생육에 중대한 영향을 미치는 온도, pH, NaCl 농도에 대하여 생육범위를 조사하였다. 온도의 영향에 대해서는 50°C와 60°C에서 배양시의 생육정도를 조사하였고, pH의 영향에 대해서는 초기 pH를 4, 5, 7, 8, 9, 10으로 조절한 TS broth에서 50°C배양시의 생육정도를 조사하였다. 염농도의 영향에 대해서는 NaCl을 8% 또는 15% 첨가한 TS broth에서의 생육정도를 조사하였다.

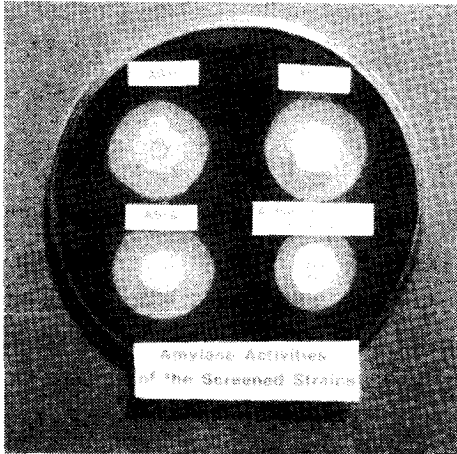
## 2. 4 형태 및 생리적 특성

2차로 선발한 균주에 대해서는 현미경으로 형태를 관찰하고, Gram 염색 및 포자 형성여부

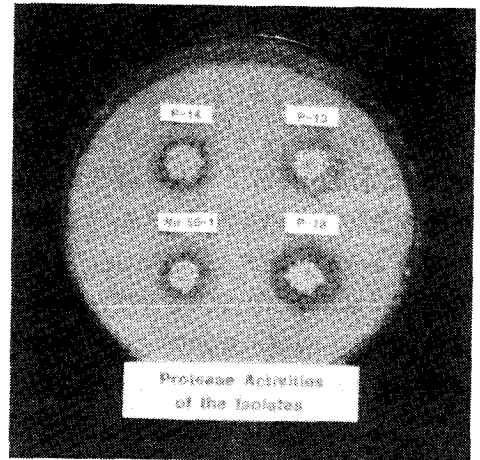
를 조사하였다. Gram 염색은 Hucker의 방법을 사용하였으며, 분리균주들의 포자 형성여부

는 Medium G에 동일배지에서 계대배양된 각 균주를 1% 접종한 뒤, 80°C의 water bath에

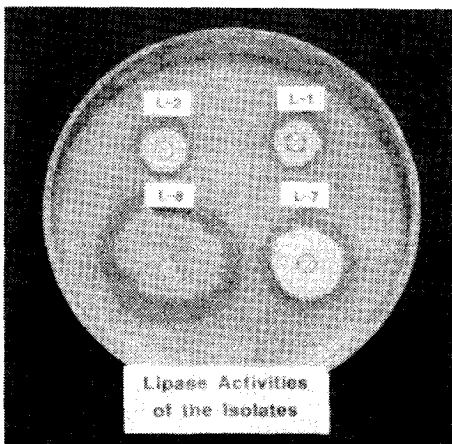
(a)



(b)



(c)



(d)

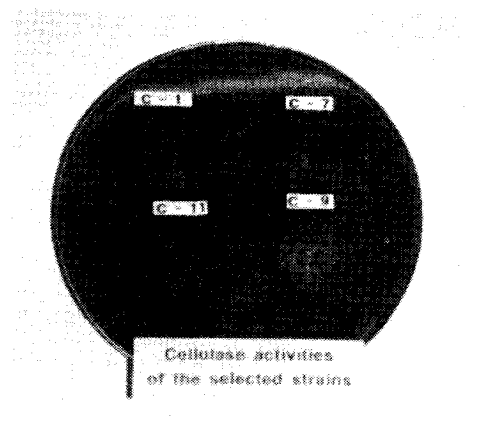


Fig. 1. Plate Assay of Amylase, Protease, Lipase and Cellulase of the Isolated Strains.

- (a) Amylase production of the isolated strains on the nutrient agar containing 1.0% soluble starch. *Bacillus stearothermophilus* KCTC 1803 is a reference strain.
- (b) Protease production of the isolated strains on the nutrient agar containing 1.0% skim milk.
- (c) Lipase production of isolated strains on the Luria Burtani agar containing 0.5% tributyrin.
- (d) Cellulase production of isolated strains on the 0.5% Na-CMC media.

서 10분간 열처리 한 후 50°C에서 1~2일 배양했을때의 생육여부에 따라 포자 형성여부를 판별하였다(Gerhardt *et al.*, 1981).

2. 5 분리균주의 생육비교

2. 5. 1 Aeration의 영향

TS broth에 균주를 1% 접종하여 50°C에서 정지배양하거나 150rpm으로 진탕배양하면서 600nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다.

2. 5. 2 온도의 영향

TS broth에 균주를 1% 접종하여 50°C,

55°C, 60°C에서 진탕배양하면서 600nm에서 흡광도를 측정하였다.

2. 5. 3 pH의 영향

pH를 5, 6, 7로 조절한 TS broth에 균주를 1% 접종하여 50°C에서 진탕배양하면서 600nm에서 흡광도를 측정하였다.

2. 5. 4 NaCl 농도의 영향

NaCl이 각각 0.5%, 1.5%, 3.0% 함유된 TS broth에 균주를 1% 접종한 후 50°C에서 진탕배양하면서 600nm에서 흡광도를 측정하였

Table 1. Morphological and physiological characteristics of 20 selected strains.

strains		shape	Gram stain	catalase	spore
amylase producing group	AR-2	rod	+	+	+
	AR-3	rod	+	+	-
	AR-5	rod	+	+	+
	AR-6	rod	+	+	+
	AR-7	rod	+	+	-
protease producing group	P-6	rod	+	+	+
	P-10	rod	+	+	+
	P-13	rod	+	+	+
	P-14	rod	+	+	-
	P-16	rod	+	+	+
lipase producing group	L-1	rod	+	+	+
	L-2	rod	+	+	+
	L-3	rod	+	+	+
	L-7	rod	+	+	+
	L-8	rod	+	+	+
cellulase producing group	C-1	rod	+	+	+
	C-5	rod	+	+	+
	C-7	rod	+	+	+
	C-9	rod	+	+	+
	C-11	rod	+	+	+

+ : growth, (+) : weak growth, - : no growth

다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3. 1 분리균주의 특성

분리원으로부터 음식물 쓰레기의 주성분을 분해시키는 amylase, protease, lipase 및 cellulase의 활성이 우수한 고온성 균주를 분리하여 1차로 81주를 screening하였다. 이 균주들은 상당히 높은 효소 활성도를 가지는 균주들로서 대조 균주들보다 우수하여 음식물 쓰레기의 분해에 매우 유용할 것으로 생각된다(Fig. 1).

1차로 screening한 균주 81주중에서 amylase, protease, lipase 및 cellulase의 활성이 높은 20주의 균주를 선발하여 세포형태, Gram 염색, catalase 생산, spore 형성여부를 조사하였다(Table 1). 이 균주들은 모두 Gram 양성, 간균이었으며, catalase를 생산하였고, 17주는 포자를 형성하였다.

pH에 대한 생육 범위를 50°C와 60°C에서 조사한 결과, 배양온도를 50°C로 한 경우 대부분은 pH5에서도 생육할 수 있었으며, 알칼리 조건에서는 pH9에서도 생육하였으며 pH10에서도 생육하는 균주도 16주에 달하여 생육 pH 범위가 매우 넓은 균주들을 알 수 있었다(Table

Table 2. Growth of Selected Strains in TS broth from pH 4 to pH 10 at 50°C.

strains		pH4	pH5	pH7	pH8	pH9	pH10
amylase producing group	AR-2	-	+	+	+	+	+
	AR-3	-	+	+	+	+	+
	AR-5	-	+	+	+	+	+
	AR-6	-	-	+	+	+	+
	AR-7	-	+	+	+	+	+
protease producing group	P-6	-	-	+	+	+	+
	P-10	(+)	+	+	+	+	+
	P-13	(+)	+	+	+	+	+
	P-14	(+)	+	+	+	+	+
	P-16	-	+	+	+	+	+
lipase producing group	L-1	-	+	+	+	+	-
	L-2	-	+	+	+	+	-
	L-3	-	+	+	+	+	(+)
	L-7	(+)	+	+	+	+	+
	L-8	(+)	+	+	+	+	+
cellulase producing group	C-1	-	-	+	+	+	+
	C-5	(+)	+	+	+	+	+
	C-7	(+)	+	+	+	+	+
	C-9	(+)	+	+	+	+	+
	C-11	(+)	+	+	+	+	+

+ : growth, (+) : weak growth, - : no growth

2). 한편, 60°C에서 배양시에는 pH5에서는 생육하지 못하였고, 알카리 조건에서는 pH9에서 17주는 생육하였으나, pH10에서는 대부분 생육하지 못하였다(Table 3). 따라서, 이 균주들은 생육 pH 범위가 비교적 넓었으며, 생육온도가 높아짐에 따라 생육 pH 범위는 좁아지는 특징이 있음을 알 수 있었다.

NaCl 농도에 대한 생육범위를 조사한 결과(Table 4) NaCl에 대한 저항성은 매우 높아서 모두 8%에서도 생육하였고, 일부 균주는 15%에서도 생육이 가능하여, 이들은 모두 내염성 균주들이었다.

따라서, 이 균주들은 음식물 쓰레기 분해시

생육에 중요한 인자로 작용할 것으로 생각되는 pH와 NaCl 농도에 대한 생육 범위가 넓은 균주들로서 그 이용가치가 클 것으로 기대된다.

### 3. 2 분리균주의 생육 비교

1차로 screening한 균주중에서 amylase, protease, lipase 및 cellulase 활성이 높은 균주를 각각 5주씩 선발하여 생육에 영향을 주는 중요한 인자인 aeration, 온도, pH, NaCl에 대하여 조건을 달리하여 각 그룹별로 생육 특성을 조사하였다.

Aeration의 영향을 조사한 결과(Fig. 2) 진탕배양한 경우에는 접종 후 급속히 성장하여 48

Table 3. Growth of Selected Strains in TS broth from pH 4 to pH 10 at 60°C.

strains		pH4	pH5	pH7	pH8	pH9	pH10
amylase producing group	AR-2	-	-	+	+	+	-
	AR-3	-	-	+	+	(+)	-
	AR-5	-	-	+	+	(+)	(+)
	AR-6	-	-	+	+	+	-
	AR-7	-	-	+	+	+	-
protease producing group	P-6	-	-	+	+	+	-
	P-10	-	-	(+)	-	-	-
	P-13	-	-	+	+	+	-
	P-14	-	-	+	+	+	-
	P-16	-	-	-	-	-	-
lipase producing group	L-1	-	-	+	+	-	-
	L-2	-	-	+	+	-	-
	L-3	-	-	+	+	+	-
	L-7	-	-	+	+	+	-
	L-8	-	-	+	+	(+)	-
cellulase producing group	C-1	-	-	+	+	+	-
	C-5	-	-	+	+	+	-
	C-7	-	-	(+)	+	+	+
	C-9	-	-	-	+	+	-
	C-11	-	-	+	+	+	-

+ : growth, (+) : weak growth, - : no growth

시간에 최고에 달하였다. 그러나, 정치배양한 경우에는 진탕 배양한 경우보다 전체적으로 생육이 저조하여 aeration의 영향이 매우 큰 것으로 나타났다.

생육온도의 영향을 조사한 결과(Fig. 3) amylase, lipase 및 cellulase 생산 그룹에서는 50°C에서 55°C보다 생육이 월등히 높게 나타났다. 50°C에서는 2일까지 성장하여 최고에 달하였으나 55°C에서는 약 24시간 후 부터는 stationary phase에 달하였다. Protease생산 그룹은 두 온도에서 생육차이가 적었으며 55°C에서

도 24시간 이후 계속 O.D가 증가하였다. 이 결과는 McKinley 등이 Municipal sewage sludge의 퇴비화에서 미생물 활성에 대한 온도의 영향을 조사한 연구 결과와 유사하였다 (McKinley and Robie vestal, 1985, 1984). 이들은 온도가 매우 중요한 영향을 미치는 인자이며, 35°C~50°C에서 미생물의 활성이 가장 좋았으나, 55°C~60°C 이상에서는 미생물의 활성이 급격히 감소하였다고 보고하였다.

배지의 초기 pH의 영향을 조사한 결과(Fig. 4) protease 생산 그룹만 초기 pH가 6인 배지에서의 생육이 pH 7일때보다 높았으며 나머지 그룹들은 초기 pH 7에서의 생육이 pH 6일때보다 좋았다. 또한, protease, lipase생산 그룹은 pH에 따른 생육정도 차이가 적게 나타나는 반면, amylase, cellulase 생산 그룹은 생육초기인 6~24시간까지는 차이가 없었으나 24시간 이후 큰 차이를 나타내었다. 모든 균주들은 초기 pH가 5인 경우에는 배양 초기에 lag phase가 존재하여 pH가 6이나 7인 경우에 비하여 생육이 늦게 시작되었으나 최종 생육 정도에는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 이것은 배양 중의 pH 변화를 살펴 본 결과, 배양 초기에 pH가 하락한 후 다시 pH가 상승하여 최종 pH는 초기 pH와 관계없이 모두 유사하게 되어 pH가 낮은 경우라도 생육최종 생육정도는 큰 차이가 생기지 않았기 때문이었다.

NaCl 농도의 영향을 조사한 결과(Fig. 5), 이 균주들은 모두 내염성 균주들로서 NaCl의 영향을 거의 받지 않았다. Amylase, cellulase 생산 그룹의 경우 6~24시간 동안에 급속히 성장하였으며 NaCl 농도에 따른 생육 정도의 차이가 적었다. 특히, protease, lipase 생산 그룹의 경우는 NaCl 농도가 3%인 경우가 생육이 가장 우수하고, 1.5%, 0.5%의 순으로 나타나 이들은 호염성임을 알 수 있었다.

Table 4. Growth of Selected Strains in TS broth from pH 4 to pH 10 at 60°C.

strains		NaCl	
		8%	15%
amylase producing group	AR-2	+	(+)
	AR-3	+	-
	AR-5	+	(+)
	AR-6	+	-
	AR-7	+	-
protease producing group	P-6	+	-
	P-10	+	-
	P-13	+	-
	P-14	+	-
	P-16	+	-
lipase producing group	L-1	+	-
	L-2	+	-
	L-3	+	-
	L-7	+	-
	L-8	+	-
cellulase producing group	C-1	+	(+)
	C-5	+	(+)
	C-7	+	+
	C-9	+	(+)
	C-11	+	-

+: growth, (+): weak growth, -: no growth



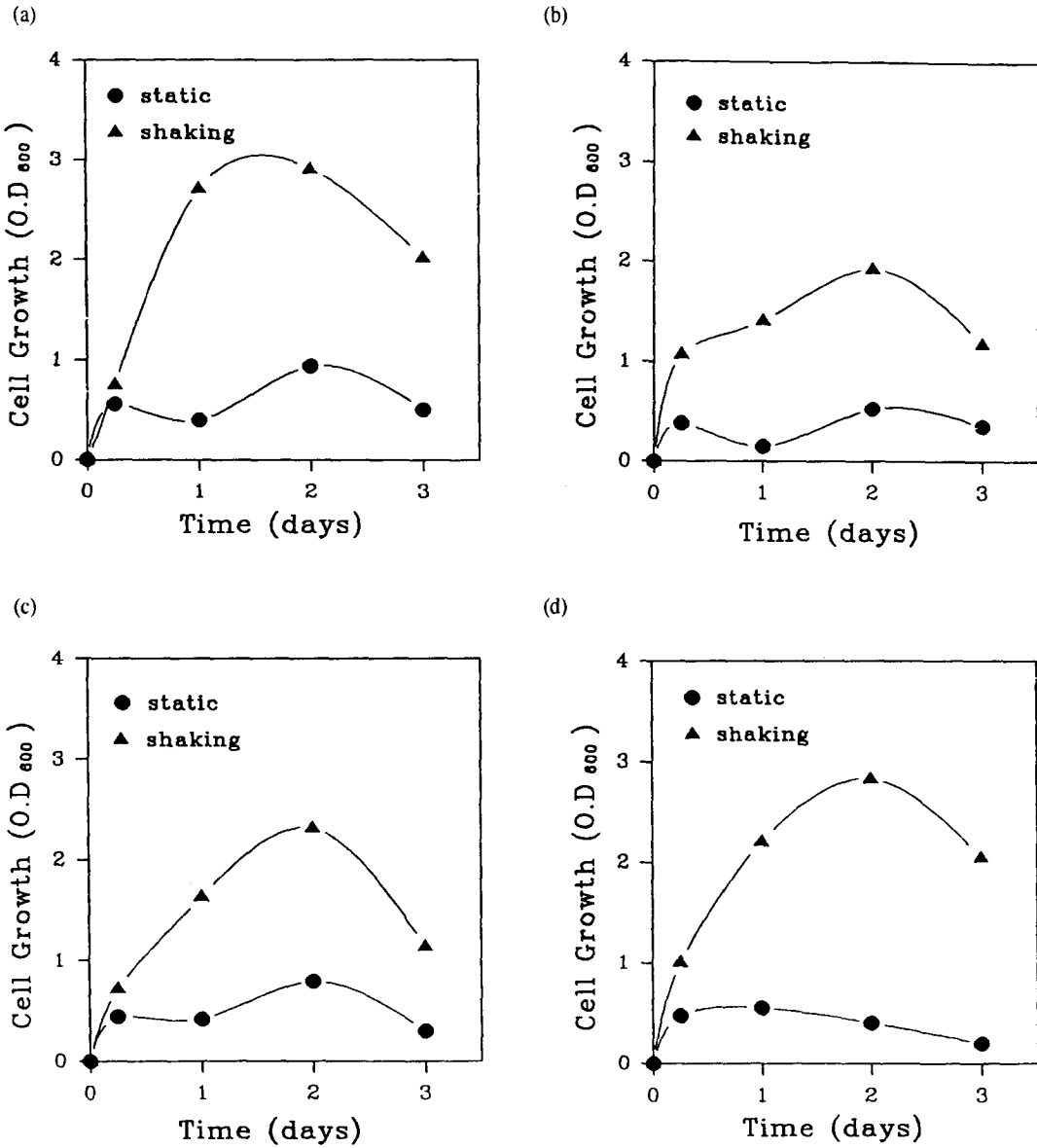


Fig. 2. Effect of aeration on the growth of selected strains with high enzyme activity at 50°C.  
 (a) amylase producing group (b) Protease producing group (c) lipase producing group (d) cellulase producing group

#### 4. 결 론

음식물 쓰레기의 주성분을 분해시키는 amy-

lase, protease, lipase 및 cellulase의 활성이 높은 균주를 토양 및 퇴비 등의 분리원으로부터 screening하고, 생육 특성을 조사하였다.

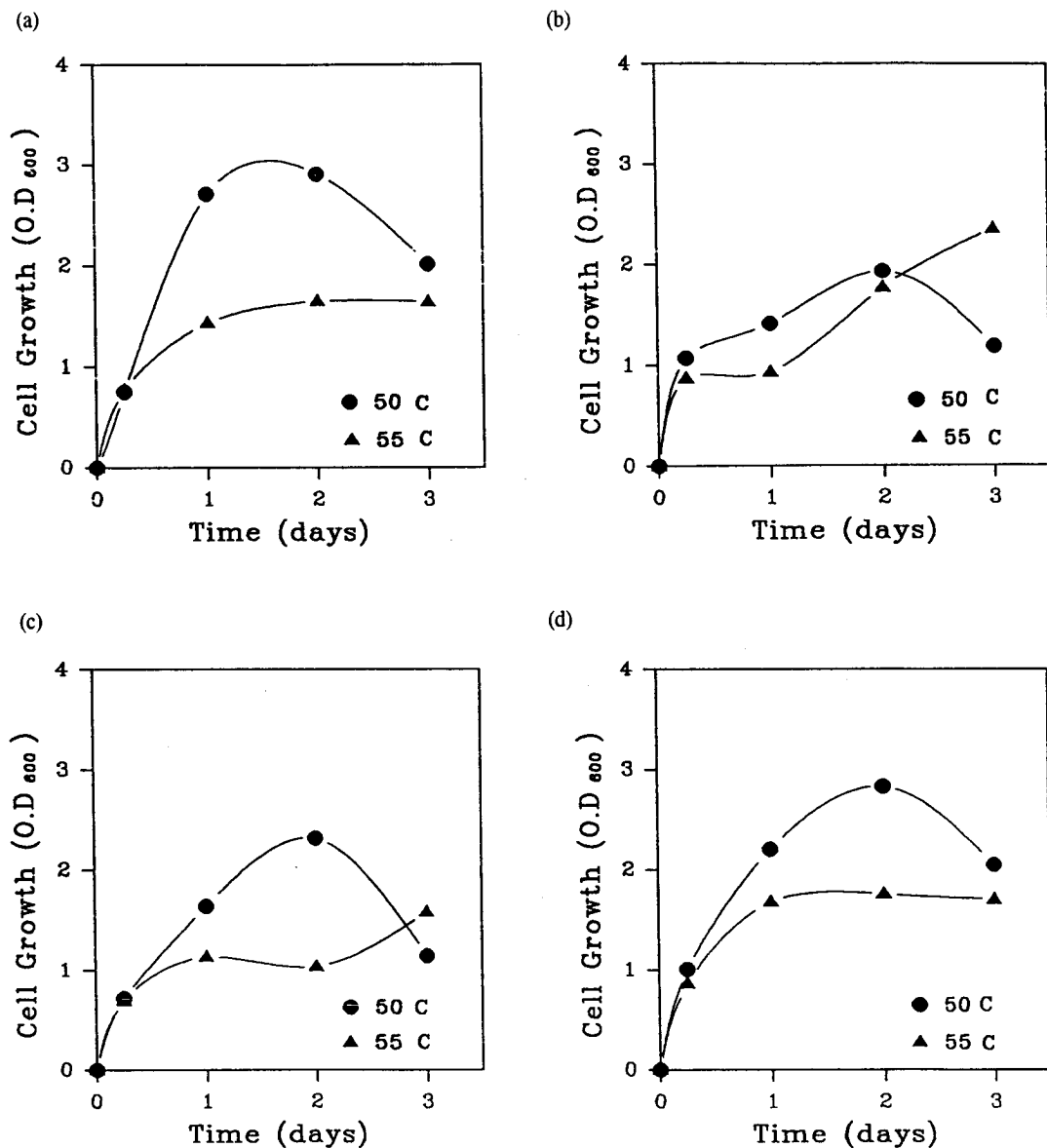


Fig. 3. Effect of temperature on the growth of selected strains with high enzyme activity at 50°C.  
 (a) amylase producing group (b) Protease producing group (c) lipase producing group (d) cellulase producing group

1차 screening한 81주 가운데 효소활성이 우수한 20주의 특성을 조사한 결과, 이들은 모두 Gram 양성, 간균이었으며 catalase를 생산하였

고, 17주는 spore를 형성하였다. pH와 NaCl 농도에 대한 생육 범위를 조사한 결과 pH에 대한 생육범위가 넓어 대체로 pH 5~pH 10의 범

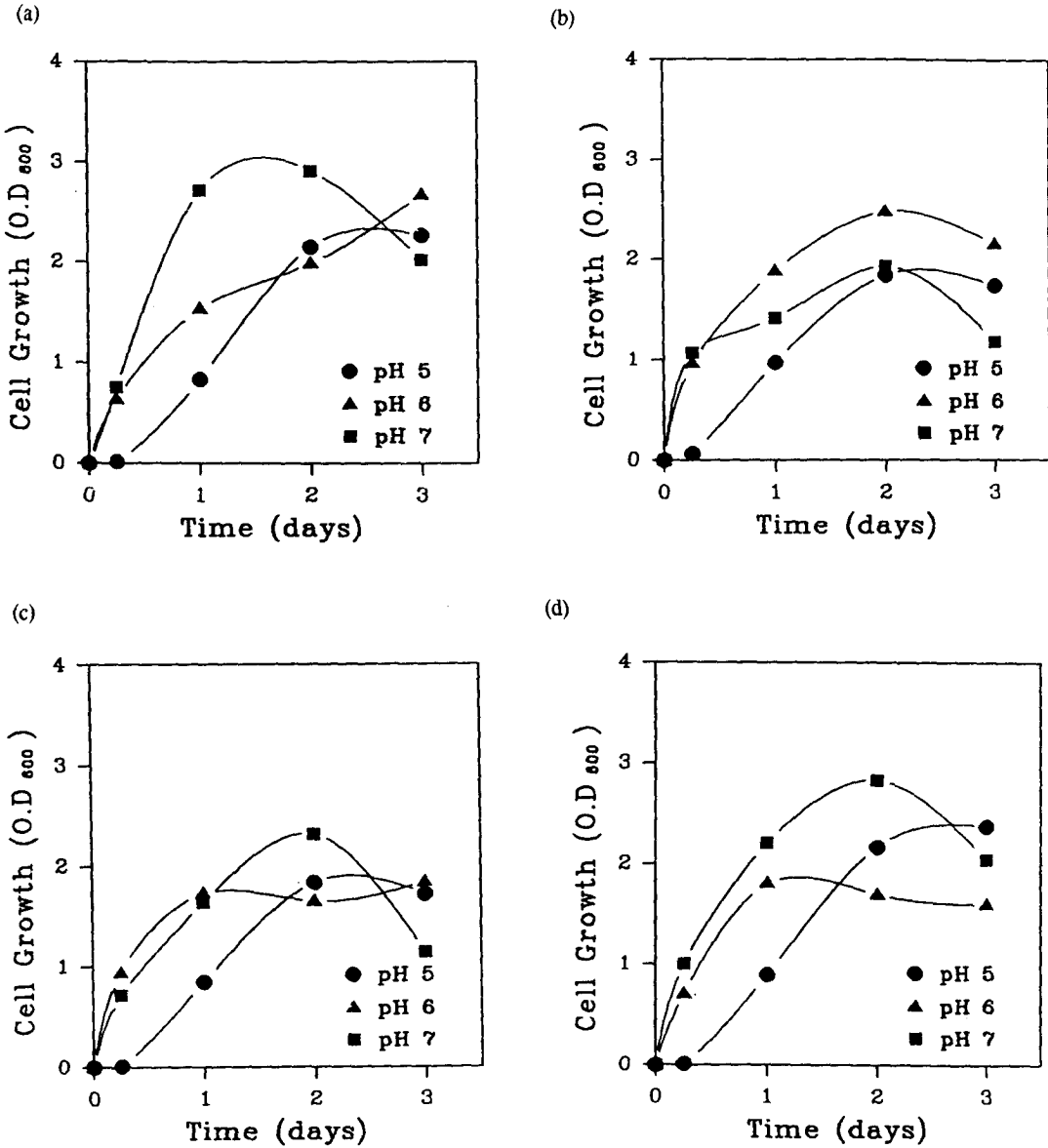


Fig. 4. Effect of pH on the growth of selected strains with high enzyme activity at 50°C.  
 (a) amylase producing group (b) Protease producing group (c) lipase producing group (d) cellulase producing group

위에서 생육가능하여 일반적으로 pH가 5~6 정도인 음식물 쓰레기에서 생육이 가능한 것으로 나타났다. 또한, 8% NaCl에서도 생육하여

NaCl에 대한 저항성이 매우 높은 내염성 균주들이었다.

이 균주들을 효소활성에 따라 네 그룹으로 분

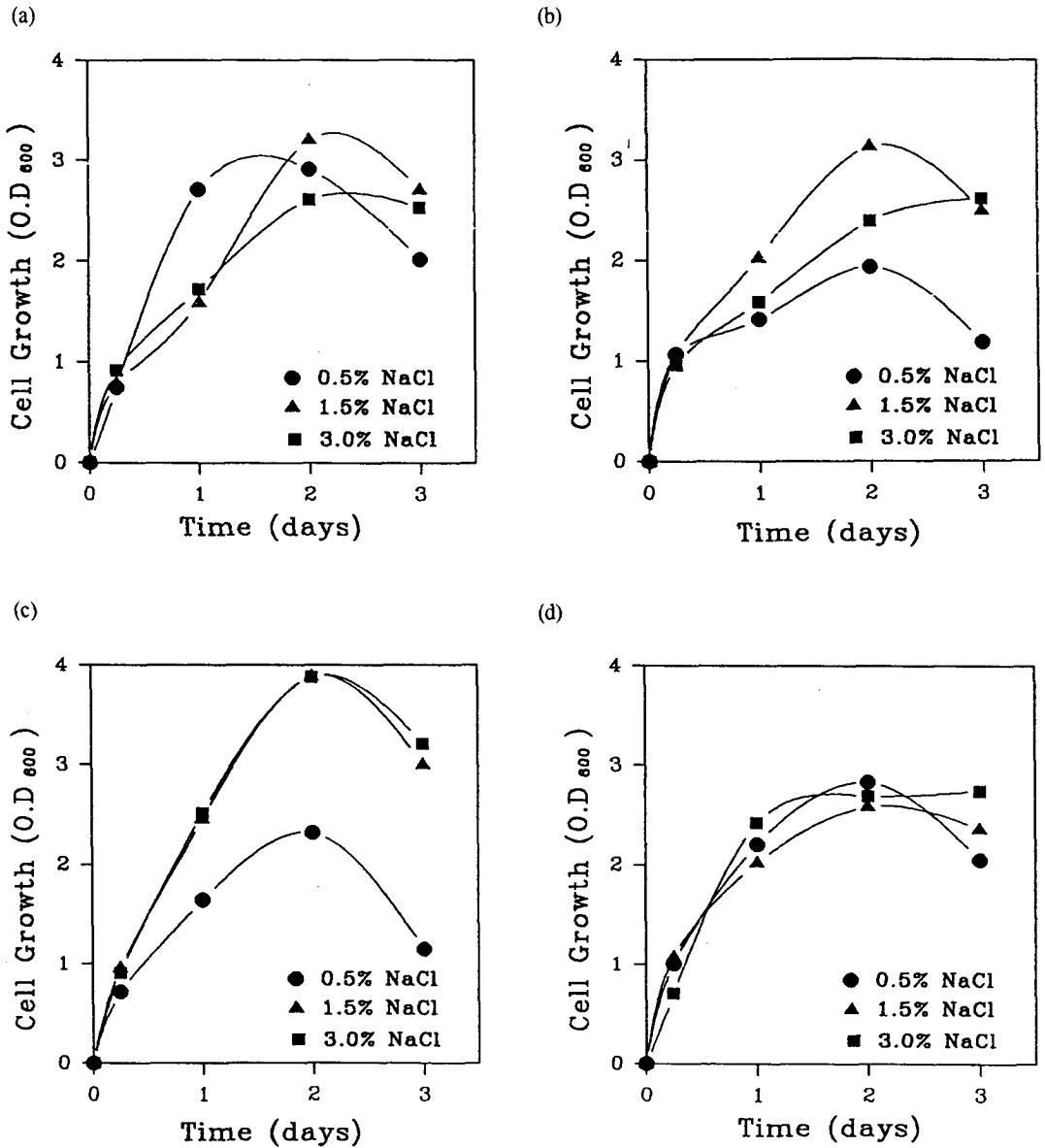


Fig. 5. Effect of NaCl concentration on the growth of selected strains with high enzyme activity at 50°C.

(a) amylase producing group (b) Protease producing group (c) lipase producing group (d) cellulase producing group

류하고 생육조건의 영향을 살펴본 결과, 모두 진탕배양한 경우 생육이 좋았으나 정치배양했을 때는 생육정도가 매우 낮아 aeration의 영향을

크게 받았다. Amylase, lipase 및 cellulase 생산균주 그룹은 50°C에서 배양했을 경우 55°C에 비하여 생육이 월등히 높았으며 초기 pH가 7

인 경우가 가장 높은 생육을 보였다. 그러나 protease 생산 그룹은 50°C와 55°C에서 생육의 차이가 적었으며 pH 6에서 pH 7보다 더 생육이 높은 것으로 나타났다. 또한, NaCl 농도의 영향을 조사한 결과 이 균주들은 NaCl 농도가 3%에서도 잘 성장하는 내염성 균주로 나타나 보통 1~2% 정도의 NaCl을 포함하는 음식물 쓰레기를 분해시키기에 적합한 것으로 볼 수 있었다.

선발된 분리 균주들의 유기물 분해 능력과 생육특성에 대한 조사를 기초로 하여 이들 균주의 첨가에 의해 음식물 쓰레기 분해를 가속화시킬 수 있을 것으로 기대된다.

### 참 고 문 헌

- 1) 환경처(1994) 1993년 환경백서
- 2) Choi, Min-Ho, Do-Hyun Jo, and Yun-Hee Park. 1994. Isolation of cholesterol utilizing bacteria and their degradation pattern. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22(4), 340-346.
- 3) Choi, Moo-Young and Eun Lee. 1990. Treatment of *Thermoactinomyces* sp. to application of poultry feces. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18 (5), 530-534.
- 4) Diaz. L.F., G.M. Savage, L.L. Eggerth, C.G. Golueke. 1993. Composting and recycling municipal solid waste. Lewis publishers, Boca Raton.
- 5) Finstein, M.S., and M.C. Morris. 1975. Microbiology of municipal solid waste composting. *Adv. Appl. Microbiol.* 19, 113-151.
- 6) Gerhardt, P., R.G.E. Murry, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg, and G.B. Phillips. 1981. *Manual of Methods for General Bacteriology.* American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 7) Gray, K.R., K. Sherman and A.J. Biddlestone. 1971. Review of composting-Part I. *Process Biochem.* 6, 32-36.
- 8) Lee, D.S., H.K. Kim and M.Y. Pack. 1984. Combination of colony formation and congo red reaction for detecting intra-and extra-cellular cellulolytic activities. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 12(4), 305-309
- 9) Mckinley, V.L. and J.R. Vestal. 1984. Biokinetic analyses of adaptation and succession: Microbial activity in composting municipal sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 933-941.
- 10) Mckinley, V.L. and J.R. Vestal. 1985. Physical and chemical correlates of microbial activity and biomass in composting municipal sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 50(6) 1395-1403.
- 11) Nakasaki Kiyohijo and Tetsuo Akiyama. 1988. Effect of seeding on thermophilic composting of household organic waste. *J. Ferment. Technol.* 66(1), 37-42.
- 12) Shin, Hang-Sik, Eung-Ju Hwang, and Yeon-Koo Jeong. 1994. Optimum mixing ratio of bulking agent for garbage composting. *J. KOWREC.* 2(1), 75-86.
- 13) Song, Jun-Sang, Hun-Keun Choi, and Kyu-Yeon Kim. 1993. A basic study on composting of organic house-

34 최민호, 조성은, 유정목, 정윤진, 박연희

hold waste using small vessels. J. KOWREC. 1(2), 227-235.