최 종
연구보고서

음식물찌꺼기 등 유기성 폐기물의 자원화를 위한 생물학적 전환기술 개발

Development of bioconversion system for reutilization of organic wastes including food waste

(주) 인바이오넷

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “음식물찌꺼기 등 유기성 폐기물의 자원화를 위한 생물학적 전환기술 개발”의 최종보고서로 제출합니다.

2000. 10. 21.

주관연구기관명		(주)인바이오넷
총괄연구책임자	:	구 본 탁
연구원	:	박 기 돈
		이 정 기
		염 도 영
		성 기 철
		이 대 상
		김 현 국
위탁연구기관명	:	여수대학교
위탁연구책임자	:	김 진 만
위탁연구연구원	:	정 현 미

요 약 문

Ⅰ. 제목

음식물찌꺼기 등 유기성 폐기물의 자원화를 위한 생물학적 전환기술 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구는 국내에서 발생하는 음식물찌꺼기를 원료로 사용하여 효소공정과 발효공정을 통해 고부가가치의 안정된 생물학적 제품을 만들 수 있는 생물학적 전환기술에 관한 것으로서 퇴비화나 사료화에 따른 문제점을 극복할 수 있고 국내의 현실에 적합한 혁신적인 자원화 기술을 개발하는 것을 목적으로 하였다. 본 연구에서는 음식물찌꺼기를 효소에 의해 생분해 하기 위해 고온성 catabolite repression resistant 변이주를 제조하고 효소에 의해 분해된 것을 여러가지 미생물에 적용해 봄으로써 미생물의 배양기질로의 가능성을 타진해 보았다. 특히 특별한 정제 과정이나 제제화가 필요치 않은 단순 미생물 제제로서 생물농약에 그 초점을 맞추어 진행하였다. 또한 본 기술 공정의 대형화를 위한 멸균 방법, pH 조절 방법, 전처리 방법 등의 최적화 작업을 진행하였다. 그외 수질과 폐기물 등의 분야에서 각종 유기성 물질의 정화에 이용될 수 있는 효소의 생산 가능성에 대해서도 검토하였다.

지금까지 국내에서 대량 발생하고 있는 음식물찌꺼기의 자원화 방법으로서 주로 지방자치단체들을 중심으로 퇴비화나 사료화가 시도되고

있다. 그러나 음식물찌꺼기의 퇴비화는, 1) 처리과정에서 발생하는 다량의 악취에 의해 도시형 플랜트로 건설되기 어렵고, 2) 퇴비로서의 품질을 확보하기 위해 상당한 면적의 후숙시설이 요구되며, 3)음식물찌꺼기 중의 염분이 퇴비로서의 품질을 떨어뜨리는 둥 극복해야 할 여러가지 문제점들을 가지고 있다. 또한 음식물찌꺼기의 사료화는, 1) 사료화에 필수적인 신신도를 유지하면서 수거, 유통시키기 어렵고, 2) 이쑤시게, 유리조각 등 사료로서의 안전성을 떨어뜨리는 이물질의 혼입을 막기 어려우며, 3) 살모넬라 등 가축에 치명적인 병원성 미생물의 발생 가능성이 높고, 4) 건조사료 제조시의 과다한 건조비용과, 5) 염분농축 등이 문제점으로 지적되고 있다. 요컨데, 퇴비화나 사료화와 같은 기존의 자원화 방법들은 음식물찌꺼기의 재활용방법으로서는 경제성이 떨어지거나 안정한 최종제품을 내기에는 기술적으로 어려운 한계를 가지고 있다.

음식물 쓰레기의 처리 및 고부가가치 2차 대사산물이나 고급효소 등을 발효생산할 수 있는 본 연구의 생물학적 전환 기술을 통해 음식물찌꺼기 뿐만 아니라 식품가공폐기물, 농수축산 폐기물 등 고도의 유기성폐기물을 같은 개념으로 발효기질화하여 고부가가치의 생물공학제품을 생산할 수 있는 기반기술이 확립될 수 있으며 특히 축산 농가의 고질적인 문제인 축산분뇨의 효과적인 처리 및 자원화 방안 확보도 가능하다는 점에서 본 연구의 필요성이 있다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

국내에서 발생하는 음식물찌꺼기를 생물학적 공정을 통해 생물학적 제품을 생산할 수 있는 표준기질화함으로서 퇴비화나 사료화에 비해 경제성이 있는 처리 및 자원화 방안을 개발하기 위해 다음의 내용을

목표로 한다.

1. 국내에서 발생하는 음식물찌꺼기의 생분해에 최적합한 효소를 생산하는 내열성 미생물의 탐색 (50℃ 이상의 고온에서 최적의 효소활성을 갖는 균주의 개발)
2. 상기 고온성 미생물이 생산하는 효소에 최적합한 반응조건 확립 (고형분 6%의 음식물찌꺼기를 80% 이상 분해하여 액화시킬 수 있는 효소공정의 개발)
3. 발효액의 순환을 통한 효소의 생산 연구
4. 일반적인 미생물을 배양 또는 발효생산하기에 적합한 발효기질로서의 개발
5. Bt (*Bacillus thuringiensis*) 균주에 대해서 1×109/㎖ 이상의 균체 배양
6. 60BIU (Bt의 활성단위) 이상의 역가를 갖는 Bt의 생산
7. Pilot Plant의 설계를 위한 1차 전처리 공정 최적화 연구
8. Pilot Plant의 설계를 위한 1차 발효 최적화 연구
9. Pilot Plant의 설계를 위한 2차 전처리 공정 및 2차 발효 공정 최적화 연구
10. 상기 생물학적 공정에 적합한 플랜트에 대한 기본 설계 (원료의 전처리, 최종제품 및 부산물 효소의 제제화 등 전공정을 포함하는 플랜트에 대한 공정설계, Lay-out, 기계도면 등)

Ⅳ. 연구개발결과

본 연구개발의 결과 중 주요 내용은 다음과 같다.

1. 효소에 의한 생분해 반응 최적 조건 파악

- 기질의 농도, key enzyme의 결정, 다양한 효소의 복합작용 여부, 효소의 단계별 작용 방법 파악.
- 약 80% 이상의 높은 분해율 및 2차발효의 표준기질로의 가능성 확보

2. 음식물찌꺼기의 발효기질화를 위한 내열성효소생산균주 및 개량 균주 확보
   - 음식물찌꺼기 및 유사한 환경으로부터 높은 protease, cellulase, amylase 효소 활성을 지니며 실제 음식물찌꺼기에서 우수한 분해능을 보인 고온성 *Bacillus thermoglucosidasius* (EFB3) 확보
   - 효소 생산시 음식물찌꺼기 배지의 영양요소에 영향을 받지 않는 *Bacillus thermoglucosidasius*의 catabolic repression insensitive mutant 개발
   - 서로 다른 특성을 지니는 *Bacillus thermoglucosidasius*의 catabolic repression insensitive 변이주들의 동시 발효를 통한 분해 효율 증대
3. 음식물찌꺼기의 발효를 통한 표준화 발효기질 확보 및 미생물 적용
   - 표준기질화된 음식물찌꺼기에 본사가 보유한 *Saccharomyces cerevisae, Lactobacillus* sp., *Acinetobacter* sp.를 적용하여 표준 기질로서의 우수성 확보
   - 표준기질화된 음식물찌꺼기에 본사가 보유한 *Bacillus thuringiensis*를 적용시켜 생육시킴으로써 표준 기질로서의 우수성 확보
4. 효소 생산 연구
   - 1차 발효 산물의 재 순환을 통한 효소 농축 방법 확보
5. Bt 고농도 배양을 위한 표준기질의 최적화 및 생물학적 방제 시험
   - 1차 발효를 통해 얻어진 표준기질에 배양된 Bt의 내성포자 밀도를 최대화 할 수 있는 포도당과 무기 영양소의 조건 확립

  - 생산된 Bt의 모기 유충에 대한 독성 확인

6. 플랜트 설계 개발을 위한 최적화
   - (1차 발효기를 기준) 5L 규모의 pilot plant 제작 완료 및 운행 결과 확보
   - 대형화를 위한 전처리 방법, 발효 방법, pH 조절 방법 등의 공정 최적화 실험 완료
   - 일일 원료 10톤 이상 규모의 플랜트 모델 정립

Ⅴ. 연구개발 결과의 활용 계획

● 음식물찌꺼기의 효과적 처리와 자원화를 위한 도시형 플랜트 건설에 활용

● 식품가공폐기물, 농수축산 폐기물 등 고도의 유기성폐기물의 효과적 처리와 자원화를 위한 공정으로 활용

● 엔지니어링 및 시공능력 보유 기업들과 연휴하여 지방자치단체 단위의 기술공모에 참여함. 또는 대량의 유기성폐기물이 발생하는 곳에 민간자본을 끌어들여 플랜트를 건설하고 수익을 올리는 식의 산업화도 가능하리라 여겨짐.

● 추가기술로서 보다 고부가가치의 생물공학제품, 이를테면 식품원료, 고급사료원료, 의약원료, 산업용 효소 등을 생산할 수 있는 생물학적전환 기술이 가능함.

● 국내에서는 플랜트의 시공능력이 있는 기업들에게 기술이전하여 산업화를 촉진시키는 것이 가능함. 해외 기술이전도 가능하며 이 경우 상당한 규모의 기술이전료를 받을 수 있을 것임.

SUMMARY

Despite many efforts to reuse of food wastes, most case has been restricted to use as compost or animal feed. We have developed a novel cost-effective method using two-stage fermentation system to produce valuable products from food waste.

As amylase and cellulase were key enzymes for degrading food wastes, we isolated *Bacillus thermoglucosidasius* (EFB 3) producing the enzymes from food wastes. And this strain was mutated by NTG and UV for resistance against glucose catabolite repression. The phenomenon, catabolite repression, is widespread system in microorganisms, whereby the presence of a rapidly metabolizable carbon source in the growth medium inhibits the synthesis of catabolic enzymes for other caron source.

The primary fermentation step using the catabolite repression insensitive mutant of thermophilic *Bacillus thermoglucosidasius*, producing amylase, protease and cellulase, was designed for preparation of glucose-rich standardized substrate for bacterial cultivation.

In the secondary fermentation, the useful microorganisms were cultivated in the supernatant from the primary step. The growth rates of *Saccharomyces cerevisae*, *Lactobacillus* sp., *Acinetobacter* sp. and *B. thuringiensis* were higher than in case of cultivation in the rich media such as Potato dextrose broth, MRS broth and Nutrient broth. The primary fermentation of food waste at 55℃ for 24h resulted in the reduction of initial solid content of 7% to 2.5%, and

increasing of glucose concentration from 5g/l to 8g/l.

For scale-up of the bioconversion system, we also pretreated food wastes by heat shock (80℃ for 5min) instead of autoclave (121℃ for 15min) and condition for primary fermentation was optimized. The optimal temperature, fermentation time and maximum solid content of food wastes were 55℃, 24 hours and 8% (w/v), respectively. In secondary fermentation for cultivation of Bt, optimal C/N ratio was 40.

In fed batch bioconversion system having biofilter for removal of unpleasure odor, products of 90% from primary fermentation was used standardized substrate for secondary fermentation for Bt, and the rest of products was used as seed culture for consecutive fermentation. And this system was compared with anaerobic digestion system. Digestion ratio of solid content and cell number of BtgMu series in this system were 40% (w/w) and 1.5×107 CFU/ml till sixth batch, respectively.

Our results revealed that the products from the primary fermentation of food waste could be used as a medium for the cultivation of useful microorganisms such as Bt, and this novel method could be a powerful tool for bioconversion of organic wastes including food wastes to valuable microbial products.

CONTENTS

목 차

CONTENTS

제 1 장 서론

제 1 절 연구개발의 목적

“음식물찌꺼기 등 유기성폐기물의 자원화를 위한 생물학적 전환기술“은 미생물유래 효소를 이용, 유기성폐기물을 분해하여 표준기질(standard substrate)화하는 1단계발효와 표준기질을 이용하여 생물농약(biopesticide), 질소고정세균(nitrogen-fixing bacteria) 등 고부가가치 유용미생물을 생산하는 2단계발효의 다단계발효공정을 이용한 유기성폐기물의 생물전환(bioconversion)기술이다.

본 연구는 도시에서 대량발생하는 음식물찌꺼기를 효과적으로 재활용할 수 있는 대규모의 플랜트에 적합한 생물공정을 개발하는 것에 관한 내용으로서 농민들이 안정적으로 사용할 수 있는 미생물농약 등 환경농업소재와 농업환경 등을 정화하는데 사용하는 효소제품을 부산물로 얻을 수 있는 기술을 확보함을 목표로 하고 있다.

제 2 절 연구개발의 필요성

음식물찌꺼기의 퇴비화와 사료화의 문제점: 국내에서 대량 발생하고 있는 음식물찌꺼기의 자원화 방법으로서 주로 지방자치단체들을 중심으로 퇴비화나 사료화가 시도되고 있다. 그러나 음식물찌꺼기의 퇴비화는, 1) 처리과정에서 발생하는 다량의 악취에 의해 도시형 플랜트로 건설되기 어렵고, 2) 퇴비로서의 품질을 확보하기 위해 상당한 면적의 후숙시설이 요구되며, 3)음식물찌꺼기 중의 염분이 퇴비로서의 품질을

떨어뜨리는 등 극복해야 할 여러 가지 문제점들을 가지고 있다. 또한 음식물찌꺼기의 사료화는, 1) 사료화에 필수적인 신신도를 유지하면서 수거, 유통시키기 어렵고, 2) 이쑤시게, 유리조각 등 사료로서의 안전성을 떨어뜨리는 이물질의 혼입을 막기 어려우며, 3) 살모넬라 등 가축에 치명적인 병원성 미생물의 발생가능성이 높고, 4) 건조사료 제조시의 과다한 건조비용과, 5) 염분농축 등이 문제점으로 지적되고 있다. 요컨데, 퇴비화나 사료화와 같은 기존의 자원화 방법들은 음식물찌꺼기의 재활용방법으로서는 경제성이 떨어지거나 안정한 최종제품을 내기에는 기술적으로 어려운 한계를 가지고 있다 (1).

생물학적 전환기술: 식품가공폐기물이나 축산폐기물과 같은 고농도의 유기성폐기물을 효소처리와 고온성 호기발효공정 등을 이용하여 Single Cell Protein (사료, 식품 등으로 활용하기에 충분한 영양가치를 지닌 미생물균체)이나 젖산(Lactic acid) 등의 최종제품을 만드는 “생물학적 전환기술” 들이 전세계적으로 연구되고 있다 (2). 이 기술들은 유기성폐기물을 미생물의 배양기질로 활용하여 부가가치가 높은 안정된 최종산물을 만든다는 개념을 가지고 있으며 효소공학적 응용과 발효공학기술을 기반으로 한다.

본 연구의 내용: 본 연구는 국내에서 발생하는 음식물찌꺼기를 원료로 사용하여 효소공정과 발효공정을 통해 고부가가치의 안정된 생물학적 제품을 만들 수 있는 생물학적 전환기술에 관한 것으로서 퇴비화나 사료화에 따른 문제점을 극복할 수 있고 국내의 현실에 적합한 혁신적인 자원화 기술을 개발하는 것에 관한 내용이다. 본 연구에서의 음식물찌꺼기는 고온에서 효소에 의해 생분해 되었고 이것을 미생물의 배양기질로 하여 미생물농약을 생산 및 최적화 연구를 진행하였다. 부산물로서의 효소의 활성 및 농축 가능성을 진단해보았고 또한 본 기술의 산업화를 위해 공정의 최적화 작업을 실시하였다.

기술적 필요성: 본 연구 결과는 퇴비화나 사료화에 편중된 국내의 음식

찌꺼기 자원화 방안에 제3의 대안으로서 제시될 수 있으며 충분한 경제성과 안정성이 입증될 경우 획기적이고 확실한 방안으로 자리잡을 수 있게 될 것이다. 또한 고도의 유기성폐기물을 효과적으로 재활용할 수 있는 기술적 모델을 제공함으로써 심각한 환경오염원이 되고있는 각종의 유기성폐기물들에 대한 환경친화적이고 경제적인 자원화 기술들을 개발할 수 있는 기반이 될 것이다. 본 연구에서는 특별한 정제과정이나 제제화가 필요치 않은 단순 미생물제제로서 생물농약과 생물비료 등에 초점을 맞췄다. 본 연구는 식품원료, 의약품원료 등으로 사용될 수 있는 고부가가치 2차 대사산물이나 고급효소 등을 음식물찌꺼기를 원료로하여 발효생산할 수 있는 기술적 기반을 마련할 수 있게 될 것이며 음식물찌꺼기 뿐만 아니라 식품가공폐기물, 농수축산 폐기물 등 고도의 유기성폐기물을 같은 개념으로 발효기질화하여 고부가가치의 생물공학제품을 생산할 수 있는 기반기술로서 개발할 수 있다. 특히 축산 농가의 고질적인 문제인 축산분뇨의 효과적인 처리 방안이 없는 상황에서 본 기술을 통해 이의 자원화 방안도 확보할 수 있는 잇점이 있다. 실제로 외국에서는 축산분뇨 등의 유기성 폐기물을 효소처리로 발효기질화하여 젖산발효를 통해 Lactic acid를 대량생산할 수 있는 연구들이 보고되고 있다 (3, 4).

경제·산업적 필요성: 음식물찌꺼기의 재활용은 환경오염을 줄일 수 있고 처리에 드는 비용을 줄일 수 있는 경제적 이점이 있지만 현재의 음식물찌꺼기의 재활용 수준은 2% 미만에 불과한 실정이다. 따라서 국내에서 다량 발생하고 있는 음식물찌꺼기를 효과적으로 재활용할 수 있는 기술의 개발이 절대적으로 요구되는 상황이다. 본 연구는 퇴비화나 사료화에 비해 여러가지 장점을 가질 수 있는 새로운 공정에 관한 것으로서 1) 미생물농약 등 고부가가치 생물공학제품의 판매를 통해 막대한 이익을 발생시킬 수 있고, 2) 버려지는 음식물찌꺼기를 이용해 값싸게 이러한 환경농업소재를 대량생산하여 공급함으로써 국내의 환

경농업 발전에 이바지하고, 3) 부산물로 얻어지는 효소를 저가로 공급할 수 있게됨에 따라 축산분뇨 등 심각한 환경오염을 일으키는 각종 유기성 폐기물의 효과적인 처리에 사용될 수 있으며, 4) 해외에 대한 기술이전과 제품수출 등을 통하여 외화획득에 일조할 수 있기에 연구의 필요성이 있다. 또한 음식물찌꺼기 외에 처리에 막대한 비용이 들고 있으며 심각한 환경오염을 일으키고 있는 여러 가지 유기성폐기물에 대한 자원화를 통해 처리에 따르는 비용을 절감하고 자원화를 통한 부가가치를 창출할 수 있는 효과적인 방안이 제공될 수 있을 것이다. 특히 축산분뇨 등에 효과적으로 적용할 수 있게 될 경우 환경오염의 주원인 중의 하나로 제약을 받고 있는 국내의 축산 산업 분야을 보다 발전시킬 수 있게 될 것이다.

사회‧문화적 필요성: 매립에 의한 음식물찌꺼기의 처리는 침출수에 의한 2차적인 환경오염 문제를 일으키고 있고 매립지 선정에 있어서의 님비현상에 의한 인근 주민들과의 갈등 등 사회적인 문제를 가지고 있다. 소각 또한 최근들어 다이옥신 등 대기오염물질에 대한 사회적 관심이 증폭되면서 소각시설 입지 선정 등에 있어서 주민들과의 마찰이 끊이지 않고 있는 실정이다. 오는 2005년부터 음식물찌꺼기의 직접매립이 금지됨에 따라 지방자치단체를 중심으로 환경친화적인 음식물찌꺼기의 재활용 방법으로 퇴비화나 사료화에 의한 자원화가 적극적으로 시도되고 있는데 이는 매립이나 소각에 따른 환경오염을 방지하고 지역주민과의 갈등을 피할 수 있으며 처리비용을 절감하여 경제적 이득을 보려고 하는데 초점이 맞춰져 있다. 본 연구는 도시에서 대량발생하는 음식물찌꺼기를 효과적으로 재활용할 수 있는 대규모의 플랜트에 적합한 생물공정을 개발하는 것에 관한 내용으로서 농민들이 안정적으로 사용할 수 있는 미생물농약 등 환경농업소재와 농업환경 등을 정화하는데 사용하는 효소제품을 부산물로 얻을 수 있는 기술에 대한 것이다. 이를 통해 농업환경의 개선에 기여할 수 있고 특히 축산분뇨와 같

이 환경오염의 주요원인으로 지목받고 있는 유기성폐기물에도 확대적용할 수 있다.

제 3 절 관련 분야에 대한 기술현황

1. 국외의 경우

가. 1998년 이전

- 음식물찌꺼기에 의한 문제가 크게 심각하지 않음.
- 유기성폐자원의 재활용 관련기술이 있으나 single cell protein이나 lactic acid 등을 생산하는 정도이며, 고부가가치 상품으로의 생물학적 전환기술은 미미한 상태임.
- 캐나다의 Thermo-Tech사가 세계 최초로 음식물찌꺼기의 단단계 발효를 이용한 생물학적 전환기술을 개발함 (5).

나. 1998년 이후

- Thermo-Tech사의 기술이 크게 인정받지 못함. 오히려 악취 등의 문제로 공장이 폐쇄조치를 당함.
- 음식물찌꺼기에 의한 문제가 대두되지 않고 있음.

2. 국내의 경우

가. 1998년 이전

- IMF 등 국내외경제 상황변화에 의해 사료값 등이 폭등함에 따라 음식물찌꺼기를 직접 사료화하는 운동이 전국적으로 전개됨.
- 캐나다에 본사를 둔 Thermo-Tech사의 음식물찌꺼기 생물학적 전환기술을 국내기업이 기술이전하였으나 국내실정에 맞지 않아 산업화에 어려움을 겪고 있음.

나. 1998년 이후

- 경제위기를 극복하면서 사료값이 안정세로 전환됨.
- 음식물찌꺼기의 양은 경제위기 전보다 증가하여 심각한 환경문제를 야기함.
- 음식물찌꺼기의 사료화운동은 사료의 질적인 문제점과 사회경제적 상황변화로 인해 중단됨.
- 음식물찌꺼기의 생물학적 전환에 의한 고부가가치 제품 생산기술에 대한 필요성이 점차 대두됨.
- 최근들어 음식물 쓰레기에 대한 메탄화등 자원화에 대한 연구가 일부 진행중임.

제 4 절 최종목표수행을 위한 연구개발 내용 및 범위

- ● 국내에서 발생하는 음식물찌꺼기의 생분해에 최적합한 효소를 생산하는 내열성 미생물의 탐색 (50℃ 이상의 고온에서 최적의 효소활성을 갖는 균주의 개발)
- ● 상기 고온성 미생물이 생산하는 효소에 최적합한 반응조건 확립 (고형분 6%의 음식물찌꺼기를 80% 이상 분해하여 액화시킬 수 있는 효소공정의 개발)
- ● 일반적인 미생물을 배양 또는 발효생산하기에 적합한 발효기질로서의 개발
- ● 1차 발효액 재순환을 이용한 효소 생산
- ● BT(Bacillus thuringiensis) 균주에 대해서 1×109/ ㎖ 이상의 균체 배양
- ● 60BIU(BT의 활성단위) 이상의 역가를 갖는 BT제의 생산
- ● Pilot plant의 설계를 위한 1차 발효전처리 최적화 연구

- Pilot plant의 설계를 위한 1차 발효 최적화 연구
- Pilot plant의 설계를 위한 2차 발효 전처리 공정 및 2차 발효 공정 최적화 연구
- 상기 생물학적 공정에 적합한 플랜트에 대한 기본 설계 (원료의 전처리, 최종제품 및 부산물 효소의 제제화 등 전공정을 포함하는 플랜트에 대한 공정설계, Lay-out, 기계도면 등)

제 2 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1절 연구 수행 내용 및 방법

1. 음식물찌꺼기의 발효기질화 연구

가. 자료조사 및 계획수립

외국의 사례를 중심으로 미생물유래 분해효소를 이용하여 음식물찌꺼기를 분해, 재활용하는 생물전환기술에 대한 자료를 입수하여 분석하였음. 외국의 기술을 분석하여 문제점을 도출하고, 우리나라 음식물쓰레기에 적용할 수 있는 최적의 시스템을 계획함.

나. 음식물찌꺼기의 성분분석 및 표준기질로서의 사용가능성 조사

한국의 식당, 가정에서 발생하는 음식물찌꺼기의 성분을 화학적 방법을 이용하여 정량, 정성적인 방법으로 분석함.

다. 효소에 의한 생분해 반응 최적조건 연구

미생물유래 효소를 이용하여 음식물찌꺼기를 생분해하는 최적조건을 찾기 위하여 다음과 같이 단계별로 실험하였음.

1) 음식물찌꺼기의 물리적 파쇄 : 음식물찌꺼기를 실험실에서 파쇄기, 믹서, 실험실용 homogenizer를 사용하여 직경 0.1mm 이하로 미세하게 분쇄하였음.

2) 음식물찌꺼기의 분해농도 결정 : 분쇄된 음식물찌꺼기를 dilution하여 농도별로 시료를 준비한 후 공업용 효소인 alpha-amylase, cellulase, proteinase, lipase를 이용하여 음식물찌꺼기를 분해하였음.

3) Key enzyme의 결정 : 위 각 효소 중 가장 중요한 역할을 하는 key enzyme을 찾기 위하여 6% 음식물찌꺼기의 효소별 55도, 24시간 분

해조건에서 분해능을 조사함. 각 효소에 의한 분해능은 기질에 따라 분해능을 측정하는 방법이 다름. 24시간이 경과한 후 ice machine에 투입하여 더 이상의 효소활성에 의한 분해를 정지한 후 amylase의 경우 총 glucose 농도, protease의 경우 총 free 아미노산 농도 등을 spectrophotometer, chromatography 법을 이용하여 측정함.

4) 효소칵테일의 사용 : Alpha-amylase, cellulase, proteinase를 동시에 사용하여 음식물찌꺼기의 동시분해능을 측정함.

5) 효소의 동시투입과 단계별투입에 따른 분해율 변화 : 위 세가지 효소를 동시에 투입하여 음식물찌꺼기를 분해한 경우와 각각의 효소를 단계적으로 (amylase, cellulase, proteinase) 투입한 경우의 분해율을 비교하여 표준기질화 공정설계에 필요한 기본적인 데이터를 확보함.

2. 음식물찌꺼기의 발효기질화를 위한 내열성효소생산균주 탐색/응용 (위탁연구)

가. 음식물찌꺼기로부터 균주의 탐색

음식물찌꺼기 및 유사한 환경으로부터 시료를 채취한 후 nutrient agar plate 상에 도말하여 30℃ 50℃ 조건에서 24 72시간 배양함. Plate 상에서 colony를 형성한 후보균주를 분리한 후 소량을 액체배양하여 single colony로 보관함. 각 colony를 plate에 도말한 후 각효소에 대한 기질을 이용하여 효소 활성을 측정하여 최종 고활성효소생산균주를 선정함.

나. 분리 균주의 효소활성도 측정

soluble starch, CMC를 amylase, cellulase에 대한 기질로 하여 시간별, 온도별로 효소활성을 측정함. 각 효소의 활성 측정 방법은 다음과 같다 (6). amylase 및 cellulase 활성의 측정은 0.1% soluble starch 혹은 1% cellulose 용액 900㎕에 균주 배양 상층액 (효소액)을

100㎕ 첨가하여 55℃에서 30분간 반응시킨 후 동량의 DNS (Dinitro salicylic acid) 용액을 혼합하여 물에 15분간 끓인 후 570nm 에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 대조구에서는 효소액 대신 멸균수를 100㎕ 첨가시켜 동일 방법으로 흡광도를 측정하였다. 단위 활성(Unit)은 기질 용액과 55℃에서 30분간 반응하여 효소가 첨가되지 않은 대조구와 비교할 때 0.001의 흡광도 값의 차이를 나타나게 하는 효소의 량으로 정의하였다.

다. 고온성 미생물의 탐색

55 ° C, 최소배지조건에서 48시간 이상 배양하였을 경우 고온에서 미생물의 성장과 효소활성이 유지되는 미생물을 plate 상에서 확인함.

라. 음식물찌꺼기 적용실험

미세분쇄한 6% 음식물찌꺼기를 기질로 solid content(%), 생균수(CFU/ml), 환원당(gram/liter)을 측정함.

마. 효소생산균주의 개량

음식물찌꺼기를 표준기질화하여 유용한 미생물을 대량발효생산하기 위해서는 표준기질 내에 유용미생물이 생장하기 위한 영양분이 모두 존재하여야 함. 그러나 1단계 효소분해과정중 효소생산미생물에 의하여 영양분이 모두 고갈될 경우 표준기질로 사용하기가 어려움. 따라서 효소생산미생물과 최종생산되는 유용미생물은 서로 다른 영양분을 이용하여야 함. 따라서 효소생산용 미생물을 개량하여 glucose utilization을 하지 않는 돌연변이 균주로 개량함. 인위적 돌연변이는 UV 혹은 TG를 사용하였고 방법은 다음과 같다 (7). 분리된 균을 nutrient broth (beef extract 0.3%, peptone 0.5%) 5ml에 55℃ 온도 조건으로 24시간 배양한 후 NTG를 최종 1mM 처리하여 다시 2시간 동안 진탕 배양하였다. 배양액은 회수하여 전분 혹은 섬유소가 1% 첨가된 영양한천배지에 순차 희석 도말법으로 도말하였다. 이어 평판 배지에 UV를 20 erg의 양으로 40초 동안 조사하고 고체 배양기

중심에 30mM의 2-데옥시글루코스를 100㎕ 투입하였다. 그 후 55℃에서 24시간 정치 배양하였다. 배양 후 2-데옥시글루코스의 확산으로 인해 고체 배양기 중심부위로부터 균의 생육이 저지되는 투명환이 형성되는데 이 투명한 영역대에서 생육하는 미생물 집락을 분리하고 이를, 포도당 주 수송수단인 Group translocation이 파괴되고 카타볼라이트리프레션 시스템이 손상을 입은, 변이주로 선별하였다. 분리된 변이주는 다시 glucose가 0.3%, soluble starch 혹은 CMC (carboxymethyl cellulose)가 1% 첨가된 영양한천배지에 접종하였다. 24시간 동안 배양 후 1/10N iodine 용액 혹은 0.1% Congo-red 용액으로 처리하여 투명환의 크기가 가장 크고 amylase, cellulase에 각각 특이적인 catabolite repression resistant 변이주를 선별하였다.

바. 효소의 농축

1차 발효가 완료된 후 1차 발효액의 90%를 1차 발효조에 순환시켜 재발효를 진행하였다. 이후 이 과정을 반복하여 발효액내의 amylase와 cellulase의 효소 농축 경향을 살펴보았다. 이는 투입되는 음식물량의 증가, 처리 속도 증대에 있어서 중요한 요소로 판단되어지고 또한 효소의 생산 가능성을 시사해 줄것으로 사료된다.

3. Bt 발효 생산 연구

가. Bt 발효 생산 연구

음식물찌꺼기를 미생물유래 효소로 분해하여 표준기질을 만든 다음(1단계), 표준기질을 이용하여 산업적으로 유용한 Bt 발효생산조건을 최적화하고, 실험실 스케일에서 Bt를 발효생산함(2단계). Bt는 *Bacillus*의 일종으로서 생균수의 측정과 sporulation rate의 측정을 병행함. 생균수는 agar plate 상에서, sporulation rate는 heat shock을 준 후 agar plate상과 현미경 상에서 측정함. 또한 생산된 미생물 농

약을 모기 유충을 이용해 bio assay를 실시하여 생산된 미생물 농약이 실제로 생물학적 방제 효과가 있는지를 확인함.

나. 다른 유용 미생물의 적용

1차 발효를 통해 얻어진 표준 기질에 본사가 보유하고 있는 효모 (*Saccharomyces* sp.), 유산균 (*Lactobacillus* sp.) 및 Gram 음성 균인 *Acinetobacter* sp.를 적용하여 각 균들의 생육 정도를 조사하였다.

4. 플랜트 설계 개발을 위한 공정 최적화

가. 1차 전처리 공정 최적화

1) 고형분 함량 최적화: 음식물 찌꺼기의 고형분 함량은 8%에서 12% (w/w)까지 조절한 후 실제로 발효조 내에서 교반이나 공기 주입에 대한 문제점을 살펴봄.
2) 멸균 방법 최적화: 플랜트의 용이성과 경제적 상황을 고려하여 121℃에서 고온 멸균을 진행하는 대신에 80℃에서 heat shock을 시간별로 주면서 멸균 방법을 최적화 함.
3) 원료의 전처리 방법 최적화: 1차 발효에 사용되기 전의 강염(NaOH) 처리가 1차 발효 시 고형분 감량에 어떠한 영향을 미치는 가를 조사 함.

나. 1차발효 최적화

1) 발효 온도의 최적화: 발효온도는 각각 30, 37, 45, 50, 55℃로 설정하여 24시간 발효 한후 고형분 감량, 환원당 등을 조사
2) 발효 시간의 최적화: 발효 시간을 96시간까지 진행하여 고형분 감량, 환원당 등을 조사
3) pH 조절 방법 최적화: NaOH를 이용한 자동 조절과 potassium phosphate를 이용한 완충 조절 방법을 비교함. 또한 buffering 농도를 달리하여 최적 완충 농도를 판단함.

4) 기존 기술과의 고형분 감량능 비교: 혐기성 하수병합처리 방법에 쓰이는 혐기성 산발효와 고형분 함량을 비교하였음.

5) 강염 (NAOH) 가수분해 후 개발균주 적용 효과 검증: 음식물 찌꺼기를 강염 가수분해 후 본 발효를 실시한 것과 열처리를 한 것의 고형분 감량능을 비교함.

6) 연속발효: 초기 발효균의 접종을 제외하고 별다른 종균의 접종없이 1일 단위로 초기 음식물찌꺼기의 90% (v/v) 분량의 새로운 음식물을 투여하여 발효를 실시해 10일 동안의 고형분 함량 및 생균수를 조사

다. 2차 전처리 및 공정 최적화

1) 고형분 분리 여부 판단: 원심분리나 Ultra filtration을 사용하여 거른 액을 2차 발효에 적용한 것과 1차 발효액 자체를 2차 발효에 적용한 것의 2차 종균의 생균수를 비교해봄.

2) 영양분의 추가 여부 판단: 미생물 농약을 최적으로 생산해 내기 위해 1차 발효액에 영양분을 첨가하여 BT의 생균수 및 내성포자수를 측정함.

라. 실험실 규모의 pilot plant의 운영

실험실 규모 (5 liter)의 piolot plant를 자체 제작 운영하여 고형분의 감량능 및 생균수 등을 측정함.

마. 후처리 공정 최적화

본 공정에서 발생하는 악취를 하수병합처리 방법일때와 비교하였다. 또한 바이오필터를 설치하여 본 공정의 악취 발생 농도를 측정하였다.

제 2 절 연구 결과

1 음식물찌꺼기의 발효기질화 연구

가. 계획수립

본 연구는 단단계 단순발효공정이 아닌 2단계 발효, 즉 음식물찌꺼기를 효율적으로 분해하여 표준화된 발효기질을 생성하는 1차발효와 표준화된 기질을 이용하여 Bt (생물농약)와 같은 고부가가치 제품을 발효생산하는 2차발효로 분리하였음 (그림 1)

나. 음식물찌꺼기의 성분분석 및 표준기질로서의 사용가능성 조사

한국의 식당, 가정에서 발생하는 음식물찌꺼기를 분석한 결과 평균 수분함량은 84.16%, pH는 약 6.8, 주요성분함량은 단백질, 지방, 섬유소, 전분을 포함하는 성분이 각각 27.3%, 11.5%, 2.83%, 56.8%로 측정되었음. 이외에도 칼슘성분이 1.42%, potassium이 0.23% 함유되어 있음. 음식물찌꺼기의 성분조사 결과 위 성분들을 미생물유래 효소를 이용하여 효율적으로 분해할 경우 매우 우수한 미생물 발효 배지의 조건을 갖출 수 있음.

다. 효소에 의한 생분해 반응 최적조건 연구 :

1) 음식물찌꺼기의 분해농도 결정 : 분쇄된 음식물찌꺼기를 4%, 6%, 7%, 8.5%, 10%, 12%의 농도별로 시료를 준비한 후 공업용 효소인 alpha-amylase, cellulase, proteinase, lipase를 이용하여 음식물찌꺼기를 분해하였음. 그 결과 6 7% 음식물찌꺼기 농도에서 가장 효율적으로 효소에 의해 분해되었음. 이후 모든 효소분해실험은 6% 음식물찌꺼기 농도조건에서 수행하였음.

2) Key enzyme의 결정 : 위 각 효소 중 가장 중요한 역할을 하는 key enzyme을 찾기 위하여 6% 음식물찌꺼기의 효소별 분해능을 조사함. 그 결과 alpha-amylase가 가장 중요한 key enzyme으로

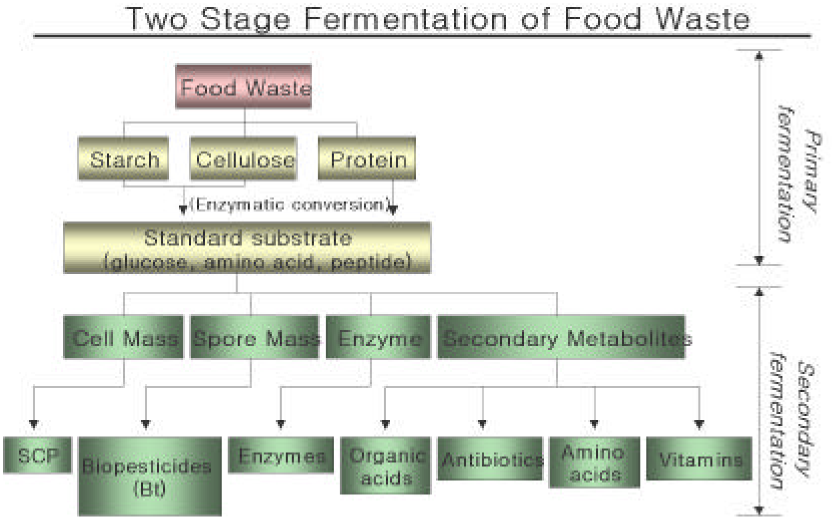


그림 1. 2단계연속발효공정에 의한 음식물찌꺼기의 고부가가치 발효생산 제품으로의 생물학적 전환

밝혀짐. 55℃, 24시간 분해조건에서 alpha-amylase의 경우 6% 음식물찌꺼기를 2.1%까지 분해되어 65%의 분해율을 나타내어 glucoamylase (58%), proteinase (30%), cellulase (55%), lipase (9%)에 비해 높은 분해율을 나타냄. Amylase가 6% 음식물찌꺼기를 2.1%까지 분해하여 key enzyme으로 선정됨 (그림 2).

3) 효소칵테일의 사용 : Alpha-amylase, cellulase, proteinase를 동시에 사용하여 음식물찌꺼기를 분석한 결과 6% 음식물찌꺼기는 1.2%까지 분해되어 80% 이상의 분해율을 나타내었음. 따라서 효율적인 음식물찌꺼기의 분해를 위해서는 key enzyme인 alpha-amylase 이외에 cellulase와 proteinase가 필수적임. 효소분해 후 잔류하는 1.2% 성분은 효소로서 분해할 수 없는 성분으로 사료됨.

4) 효소의 동시투입과 단계별투입에 따른 분해율 변화 : 위 세가지 효소를 동시에 투입하여 음식물찌꺼기를 분해한 경우와 각각의 효소를 단계적으로 (amylase, cellulase, proteinase) 투입한 경우의 분해율을 비교한 결과 모두 80% 정도의 분해율을 나타내었음 (그림 3). 따라서 공정의 단순화를 위하여 효소의 동시투입이 효율적이라는 결론을 얻음.

5) 결론 : 한국의 음식물찌꺼기는 미생물유래 효소를 이용하여 분해하였을 경우 고부가가치성 미생물 또는 미생물제품을 대량생산하는 2차발효의 표준기질로 사용하기에 적합하며, 약 80% 이상의 높은 분해율을 얻음. 음식물찌꺼기를 효율적으로 분해하기 위해서는 고온에서 활성을 유지하는 amylase, cellulase를 생산하는 고온성미생물이 매우 중요함.

2. 음식물찌꺼기의 발효기질화를 위한 내열성효소 고생산균주 탐색 및 응용(위탁연구)

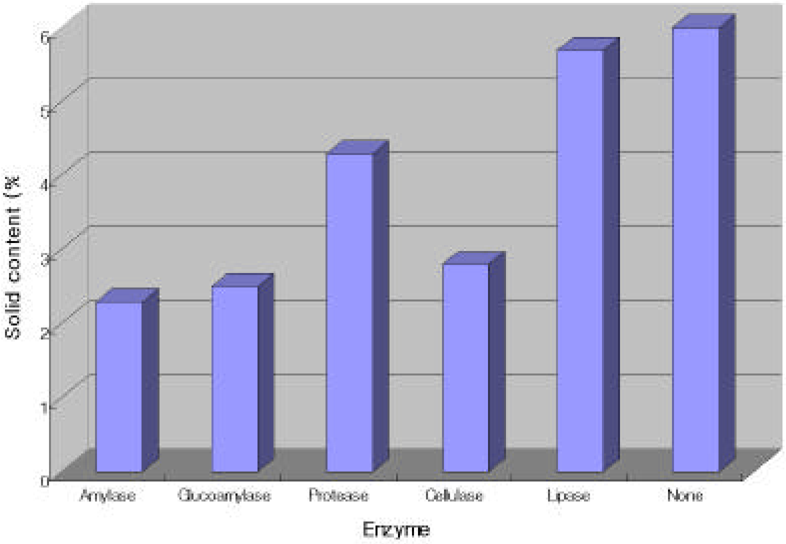


그림 2. 각종 공업용 효소를 이용한 음식물찌꺼기 분해능 실험.

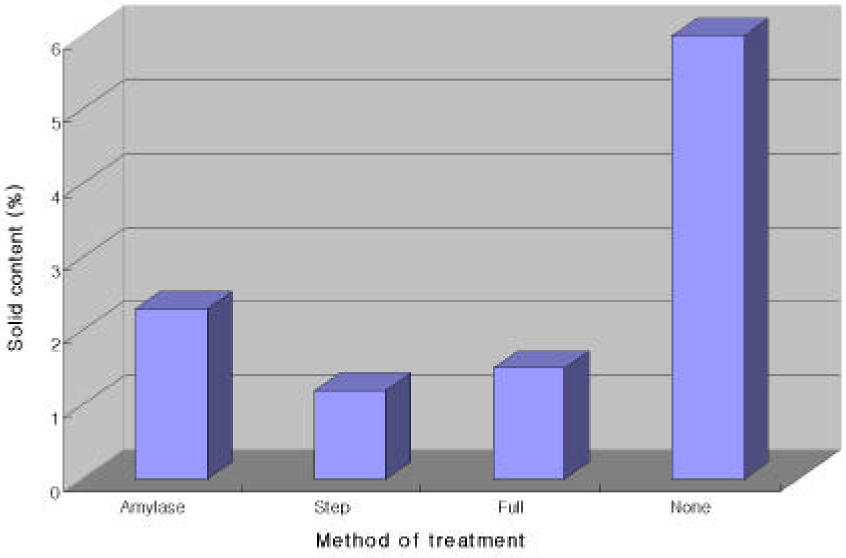


그림 3. 효소칵테일의 동시투입 및 단계별 투입에 따른 음식물 찌꺼기 분해능 차이

가. 음식물찌꺼기로부터 균주의 탐색

분쇄한 음식물찌꺼기를 agar plate상에 도말하여 37°C에서 24 48 시간 배양한 후 plate상에서 자란 미생물 colony를 분리함. 각 colony를 3ml nutrient broth를 사용하여 배양한 후 특성을 파악한 결과 Ba (*Bacillus amyloliquefaciens*), L32 (*Bacillus licheniformis*), EFB (1-38, *Bacillus thermoglucosidasius*), Hot (1-8, 미동정), New (1-5, 미동정) 수종을 포함하는 43개 균주를 분리, 확보함.

나. 분리 균주의 효소활성도 측정

분리한 43개 균주를 각각 soluble starch, casein, 또는 CMC를 기질로 사용하여 만든 plate에 도말하여 24시간 배양한 후 plate상의 clear zone의 지름을 측정하여 각 균주의 효소활성도를 조사하였음. 그 결과, Ba, EFB3에서 매우 높은 amylase activity가 관찰되었으며, L32와 Hot8에서 약간의 amylase activity가 나타남. Protease activity의 경우 EFB3에서 가장 높았으며 43개 균주에서 모두 일정한 단백질 분해능이 관찰되었음. CMC를 분해하는 cellulase의 경우 L32, EFB3, Hot8에서 활성이 간찰되었으며 이중 EFB3의 cellulase activity가 약 3배 이상 높은 것으로 나타남.

다. 고온성 미생물의 탐색

위의 43개 균주를 55°C, 최소배지조건에서 48시간 이상 배양하였을 경우 Hot1-8, New1-5, 그리고 EFB1-38이 고온에서도 성장과 효소활성을 유지함을 확인하였음.

라. 음식물찌꺼기 적용실험

미세분쇄한 6% 음식물찌꺼기를 기질로 Ba, L32, EFB3, Hot8, New2-3를 선별하여 30°C 조건에서 144시간까지 적용한 후 solid content(%), 생균수(CFU/ml), 환원당(gram/liter)을 측정한 결과 EFB3에서 2.0%, 5.5 X 108, 1.7g/l로, 음식물찌꺼기에 대해 가장 우

수한 효과를 보임.

마. 고전적 돌연변이 유발(classical mutation)에 의한 균주의 개량

여수대 김진만교수 연구팀에 의해 탐색된 50℃ 이상의 온도조건에서 음식물찌꺼기를 분해할 수 있는 효소를 생산하는 *Bacillus thermoglucosidasius* (이하 Btg로 표기함) 균주를 이용하여 음식물찌꺼기를 분해한 결과 분해능은 뛰어나지만 표준기질의 필수조건인 glucose 영양분을 고갈시키는 현상을 발견하였음. 표준화된 기질 내에 glucose의 농도가 낮을 경우 유용한 미생물의 효율적인 발효생산이 어려움. 따라서 Btg 균주를 classical mutation 방법을 이용하여 돌연변이 균주로 전환하여 glucose utilization pathway를 block하고 대신 다른 탄소원을 이용하는 균주를 개발하였음.

1) BtgMu의 개발 : UV/NTG를 이용하여 돌연변이를 유발한 결과 돌연변이 균주중 glucose를 탄소원으로 이용하지 않으면서 amylase 효소의 활성이 증가된 균주를 확보함 (그림 4).

2) BtgCelMu의 개발 : UV/NTG를 이용하여 돌연변이를 유발한 결과 돌연변이 균주중 glucose를 탄소원으로 이용하지 않으면서 cellulase 효소의 활성이 증가된 균주를 확보함 (그림 4).

3) BtgMu와 BtgCelMu의 glucose utilization : BtgMu와 BtgCelMu가 표준기질의 필수조건인 glucose를 고갈시키는지 여부를 확인한 결과 두 균주 모두 glucose 농도에 변화를 주지 않음을 확인하였음 (그림 5).

4) BtgMu와 BtgCelMu의 고형 음식물찌꺼기 분해능 : Solid state에서의 BtgMu와 BtgCelMu 각각의 음식물찌꺼기 분해능을 조사한 결과 음식물찌꺼기 총질량의 감소정도(Reduced Total Weight)와 BtgMu와 BtgCelMu의 총 생균수에서 모두 만족할만 한 결과를 얻었음. 음식물찌꺼기의 감소는 미생물처리후 13까지 꾸준히 올라 약 65% 정도의 분해율을 나타내고 있음 (그림 6).

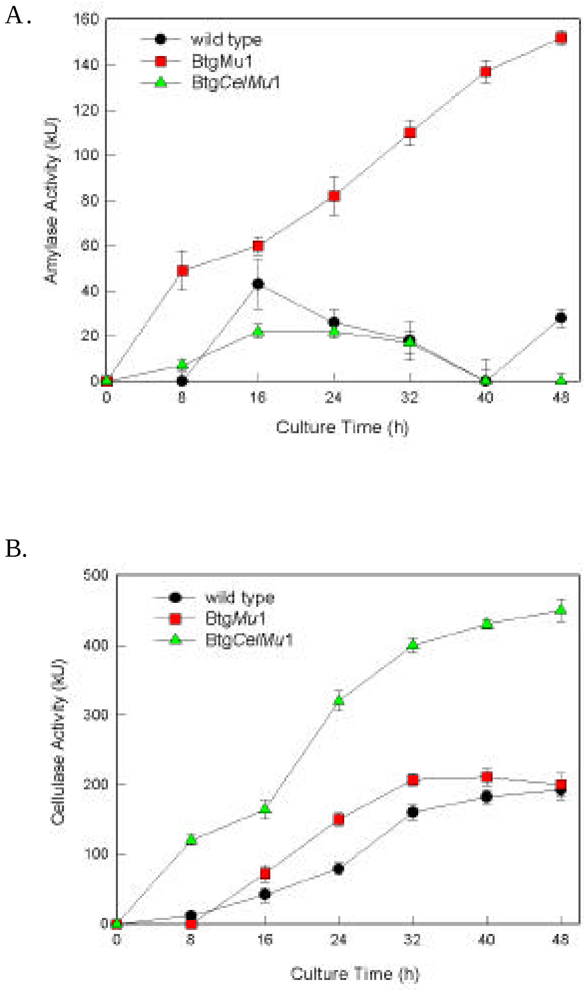


그림 4. Wild type **균주**, BtgMu, BtgCelMu**의** amylase **및** cellulase **효소활성 비교**

(A, amylase activity ; B, cellulase activity)

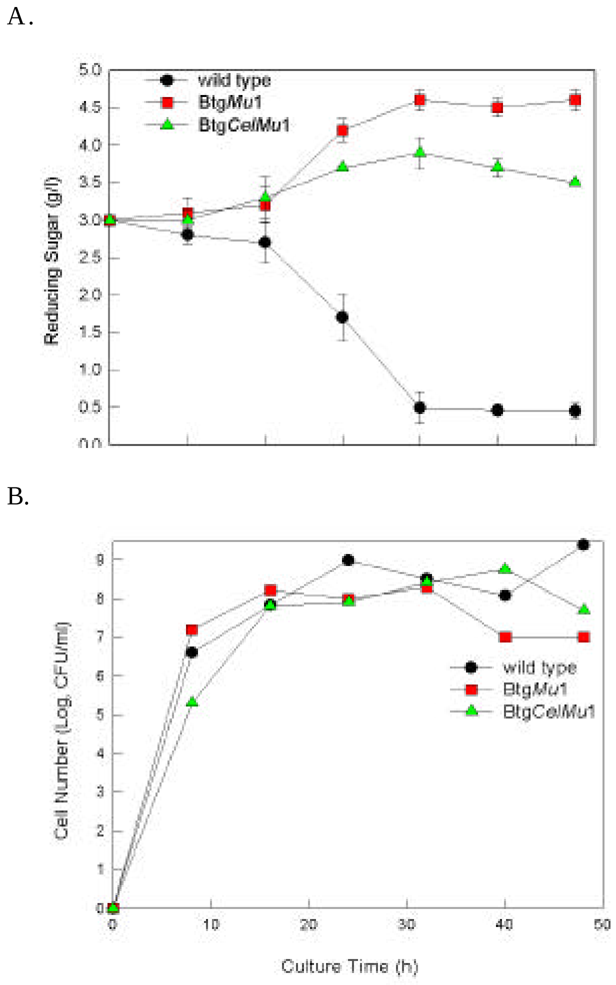


그림 5. Wild type **균주**, BtgMu, BtgCelMu**의** glucose utlilization **및 생육 비교**

(A, reducing sugar ; B, cell number)

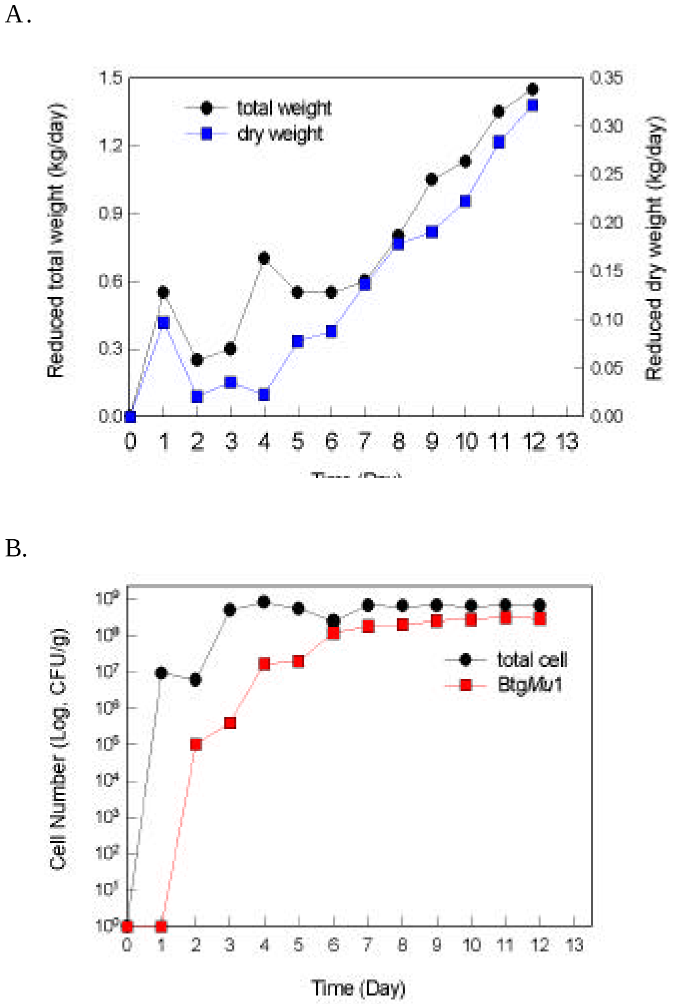


그림 6. BtgMu**와** BtgCelMu**를 각각 이용한 고형 음식물찌꺼기의 분해능**(A) **및 생균수 분석**(B)

5) BtgMu와 BtgCelMu의 액상 음식물찌꺼기 분해능 : Liquid state에서의 BtgMu와 BtgCelMu 각각의 음식물찌꺼기 분해능을 조사한 결과 음식물찌꺼기 총질량의 감소정도 (Reduced Total Weight)가 고형에서보다 우수한 결과를 얻었음. 음식물찌꺼기의 감소는 공업용효소를 사용했을 경우와 유사하게 6%에서 2%까지 감소함. 또한 BtgMu와 BtgCelMu의 생균수도 정상적으로 증가하는 것으로 나타남 (그림 7).

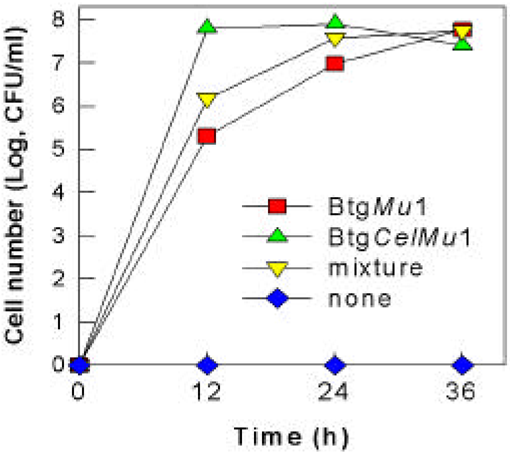
6) BtgMu와 BtgCelMu의 혼합투입시 액상 음식물찌꺼기 분해능 : Liquid state에서의 BtgMu와 BtgCelMu를 혼합배양하여 투입했을 경우의 음식물찌꺼기 분해능을 조사한 결과 amylase, cellulase 모두 각각 투입한 것에 비교하여 효소의 활성이 증가하는 경향을 보임. 이는 두 미생물을 동시에 음식물찌꺼기에 투입하여 분해하므로 각각을 발효하는 것에 비해 매우 경제적인 시스템을 구성하는데 필수적임 (그림 8, 9).

7) 결론 : Amylase, cellulase 등 음식물찌꺼기를 분해하는데 필요한 효소를 생산하는 *Bacillus thermoglucosidasius* 균주의 glucose 소모 문제점을 보완하기 위해 classical mutation을 이용하여 돌연변이 균주를 제작하여 실험한 결과 BtgMu와 BtgCelMu는 glucose에 대한 catabolite repression에 대해 저항성을 가지는 동시에 우수한 활성효소를 생산하는, 음식물찌꺼기의 bioconversion의 조건에 정확하게 일치하는 우수한 균주임을 확인함. Protease의 활성도 매우 높은 편이나 개선의 여지가 있고, 음식물찌꺼기의 분해능을 증가시켜 전체적인 시스템을 가속화시키는 연구가 필요함.

바. 1차 발효액의 재순환을 통한 효소의 농축 (인바이오넷)

1차 발효액을 다시 1차 발효조로 재순환시켜 발효액 내의 효소의 농축 가능성을 타진해 본 결과 세번의 재순환시 amylase의 경우는 약 3배의, cellulase의 경우는 약 1.5배의 효소 활성이 농축되었다. 하지

A.



B.

그림 7. BtgMu과 BtgcelMu1의 액상 음식물 찌꺼기 적용시 성장 경향 (A) 및 1차 발효 시설 (B)

(BtgMu1, BtgMu1 단독접종 ; BtgcelMu1, BtgcelMu1 단독접종 ; BtgMu1과 BtgcelMu1의 동시접종 ; none, 무접종)

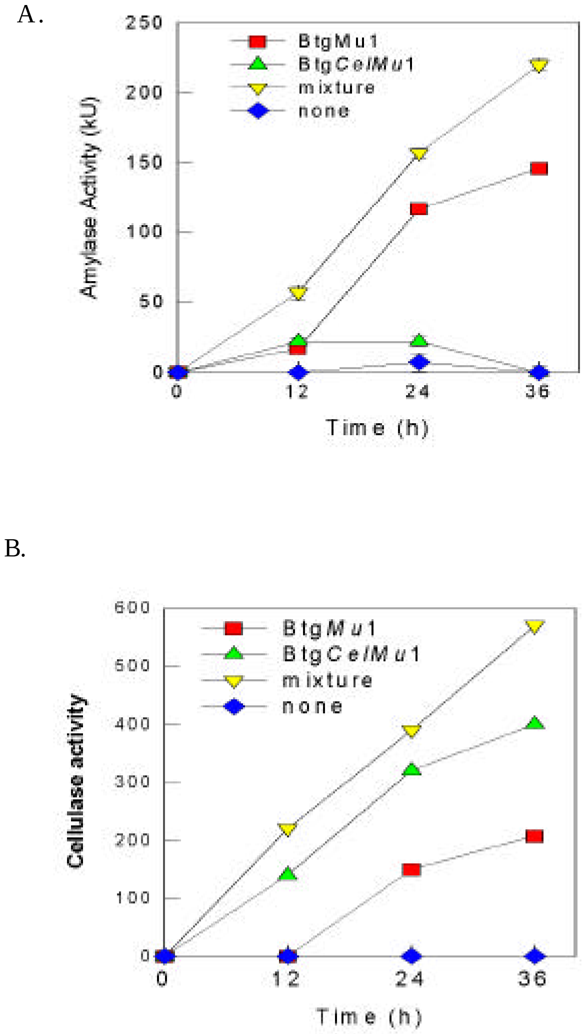


그림 8. BtgMu**와** BtgCelMu**를 혼합투입하였을 경우** amylase(A)**와** cellulase(B)**의 활성증가**

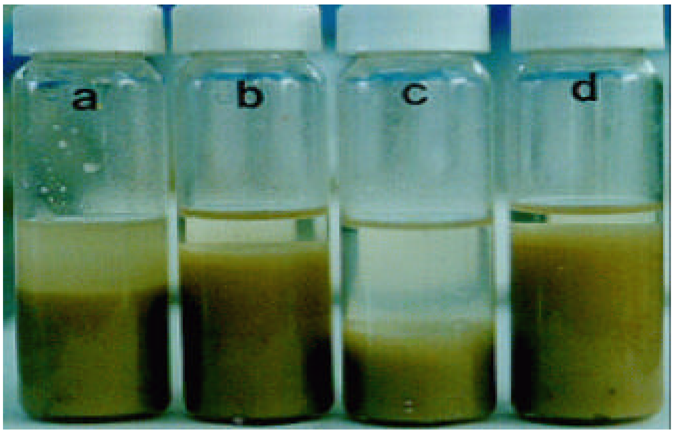


그림 9. BtgMu와 BtgCelMu를 투입하고 8시간 경과후 음식물찌꺼기의 분해정도 비교.

(a, BtgMu 단독투입; b, BtgCelMu 단독투입 ; c, 혼합투입; d, 무처리)

만 이후 효소액이 포화되면서 그 이상의 급격한 증가는 보이지 않았다 (표 1). 또한 이런 효소의 활성 증가는 환원당의 농도에 영향을 미쳐 환원당 양을 초기 5.3 g/liter에서 8.4 g/liter로 증가시켰다.

표 1. 1차 발효액의 재순환에 따른 효소 활성

재순환 횟수	0	1	2	3
Amylase activity (U)	0	119	219	368
Cellulase activity (U)	0	240	310	358
Reducing sugar (g/L)	5.3	6.6	7.3	8.4

사. 결론

*Bacillus thermoglucosidasius*로 동정된 EFB3 균주가 고온성 미생물로서 비교적 높은 amylase, cellulase activity를 가지는 후보균주로 확보됨. 따라서 음식물찌꺼기의 생물학적 전환에 EFB3 균주를 사용하기로 함. 또한 고전전 돌연변이 유발을 통해 본 균주를 변이시켜 amylase와 cellulase에 각각 특이적인 catabolite repression resistant 변이주를 개발하고 이를 동시 적용한 결과 보다 우수한 분해력을 나타내는 것을 확인함. 1차 발효의 재순환을 통해서는 효소의 농축으로 효소 생산가능성을 확인할 수 있었음.

3. 2단계 발효인 Bt의 발효생산연구

가. Bt의 발효생산 : 1차 발효에서 음식물찌꺼기를 효소로 분해하여 glucose가 함유된 표준화된 기질을 만든다음 이 기질을 미생물 배양용 배지로 하여 고부가가치성 미생물농약제품인 *Bacillus thuringiensis* (Bt)를 생육시켜 고농도 생산하였음 (그림 10).

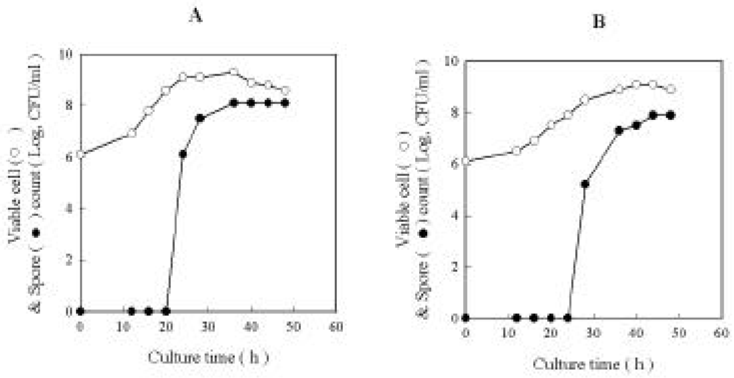


그림 10. **일반배지**(A)**와 음식물찌꺼기를 분해하여 만든 표준기질**(B)**을 이용한** Bt**의 고농도발효생산**

나. 생산된 Bt의 모기 유충을 이용한 생물학적 방제 실험 : 2차 발효를 통해 생산된 미생물 농약의 최종 농도 (spore 농도)를 각각 103부터 107 CFU/ ml로 조절하여 시험관에 넣고 여기에 모기 유충을 5마리씩을 첨가한 후 모기 유충의 사멸율을 시간대별로 살펴 보았다. 이때 104 CFU/ ml이상의 Bt spore가 첨가된 시험관에서는 14시간안에 모든 모기 유충이 사멸됨을 관찰할 수 있었다. 또한 106 CFU/ ml이상의 Bt spore가 첨가된 경우는 불과 2시간안에 모든 모기 유충이 사멸됨을 관찰할 수 있었다. 자세한 결과를 표 2에 정리하였다. 여기서 대조구는 미생물 농약이 첨가되지 않는 모기유충의 서식하고 있던 물에 같은 수의 모기 유충을 첨가한 경우이다.

표 2. 생산된 미생물 농약의 모기 유충에 대한 방제력 검사

시간 (hrs)	최종 미생물 농약 농도 (CFU/ml)					대조구	
	107	**106**	**105**	**104**	**103**	**-**	**-**
0.0	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
0.5	**4**	**4**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
1.0	**1**	**2**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
2.0	**0**	**0**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
4.0	**0**	**0**	**2**	**4**	**5**	**5**	**5**
7.0	**0**	**0**	**1**	**3**	**5**	**5**	**5**
14.0	**0**	**0**	**0**	**0**	**5**	**5**	**5**
19.0	**0**	**0**	**0**	**0**	**5**	**5**	**5**
36.0	**0**	**0**	**0**	**0**	**3**	**5**	**5**
80.0	**0**	**0**	**0**	**0**	**3**	**5**	**5**
104.0	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**5**	**4**
128.0	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**1**
152.0	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**1**

다. 다른 유용 미생물의 배양 : 본사가 보유하고 있는 미생물인 *Saccharomyces cerevisae, Lactobacillus* sp., *Acinetobacter* sp.를 1차 발효 결과 얻어진 표준화 기질에 배양하여 그 생육을 관찰한 결과 배양 24시간 후 각각 4.2×109, 1.4×109, 1.4×1010 CFU/ml의 생균수를 나타내었다. 이는 균들이 영양 배지 상에서 조사한 생균수인 3.7×108, 4.5×108, 3.5×109 CFU/ml 보다 높은 생균수로 1차 발효에서 얻어진 표준화 기질은 Bt 뿐만 아니라 많은 다른 미생물에 적용할 수 있음을 나타내고 있다.

라. 결론 : 일반배지를 사용하였을 경우에 비교해 음식물찌꺼기를 미생물유래 효소로 분해하여 표준기질을 만든 후 이를 원료로 Bt를 생산했을 경우 Bt의 생균수 및 sporulation rate에서 크게 차이가 없었고 (그림 10) 오히려 *Saccharomyces cerevisae, Lactobacillus* sp., *Acinetobacter* sp.의 경우에 있어서는 일반 영양배지 보다 높은 생균수를 나타내었다. 따라서 음식물찌꺼기를 미생물을 이용하여 표준화된 기질로 만드는 1단계발효공정과 표준화된 기질을 이용하여 고부가가치 미생물을 고농도배양하는 2단계 발효공정을 최적화하고 scale-up할 수 있다면 음식물찌꺼기의 다단계 발효공정을 이용한 성공적인 생물학적 전환(bioconversion) 시스템을 구축할 수 있다는 확신을 가짐.

4. 플랜트 설계 개발을 위한 공정 최적화

가. 1차 발효 전처리 최적화

1) 초기 고형분 함량의 최적화: 고형분의 함량이 8.5% 이상이 되면 agitation 및 aeration이 불가능하다고 판단되었음. 따라서 최적의 고형분 함량은 8.0%로 확인되었음.

2) 전처리 효과

가) Autoclave 대체 효과

음식물 찌꺼기를 autoclave하는 것은 실험실에서는 간단한 일이지만 대형화 플랜트에 적용한다면 상당한 경제적 부담 및 조작의 복잡성을 야기할 수 있으므로 보다 간단하면서도 효과를 낼 수 있는 멸균 방법을 모색하였다. 우선 수거해 온 음식물 찌꺼기의 오염 정도를 확인 하기 위해 37℃에서 2일간 배양하여 생균수를 측정하였다. 결과 음식물 찌꺼기 1ml당 1×108CFU 이상의 자체 오염 미생물이 확인되었다. 그 후 오염된 음식물 찌꺼기에 80℃에 열을 0분에서 5분간격으로 40까지 적용함으로써 멸균 효율을 살펴 보았다. 약 5분 이상 열처리가 된 경우 잡균이 밀도가 약 1×104 CFU/ml 이하로 저하되어 멸균 효율이 높은 것으로 나타났다 (표3).

표 3. 음식물찌꺼기의 잡균 오염 정도와 멸균 효과

배양일	멸균전			멸균후
	0day	1day	2day	
pH	6.67	5.28	5.09	5.19
중온성 균 수 (CFU/ml)	5.2×107	1.0×108	2.6×108	104이하
고온성 균 수 (CFU/ml)	105이하	105이하	105이하	104이하

나) 강염기 전처리 비교

전처리로 최종 1N의 농도로 NaOH를 처리하여 음식물 찌꺼기의 pH가 12가 되도록 조정하여 12시간 처리한 것과 그렇지 않

은 실험구의 고형분 함량을 비교하였다. 이때 강염기를 처리한 구는 점도가 현저하게 줄어드는 것을 확인할 수 있었지만 측정 결과 고형분 함량에서는 열처리를 한 음식물찌꺼기와 거의 차이를 보이지 않았다.

나. 1차 발효 최적화

1) 발효 온도별 1차 발효 실시 : 6%의 음식물 찌꺼기를 *Bacillus thermoglucosidasius* catabolite repression resistant mutant를 이용하여 30, 37, 45, 50, 55℃에서 각각 1차 발효를 실시하여 pH, 생균수, 고형분 감량 및 환원당의 결과를 비교하였다. 결과 분해율은 37, 55℃일때가 가장 좋았지만 환원당의 함량으로 볼때 30℃에서는 급격한 저하를 보이는 반면 55℃일때는 증가하는 경향을 보였다 (그림 11). 따라서 본 공정은 55℃에서 진행되어야 함을 결정할 수 있었다.

2) 열처리 방법에 따른 1차 발효 효율 측정 결과 : 37℃에서 2일 동안 배양하여 자연 오염 시킨 음식물 쓰레기를 각각 열처리 (80℃, 5분)와 autoclave (121℃, 15min)한 후 1차 발효를 실시하였다. 고형분 감량은 autoclave한 것이 약 65%로 가장 높게 나왔으나 경제적인 면을 고려한다면 열처리한 것이 약 58%로 유사한 분해율로 판단되어졌다 (그림 12).

3) 발효 시간에 따른 1차 발효 효율 : 발효 시간을 48시간으로 늘려서 55℃에서 1차 발효를 실시하였다. 앞선 결과에 따라 음식물 찌꺼기를 80℃에서 5분간 열처리한 후 발효를 진행하였고 대조구로는 열처리를 하지 않은 음식물 찌꺼기를 사용하였다. 고형분 생균수및 고형분 함량은 이미 12 시간 이후에 급격한 증가를 나타냈으나 표준화 기질에서 중요한 요소가 되는 환원당의 농도가 발효 24시간 이후에 증가되므로 최적의 발효 시간은 24시간 이후어야 할 것으로 판단되어졌다 (그림 13).

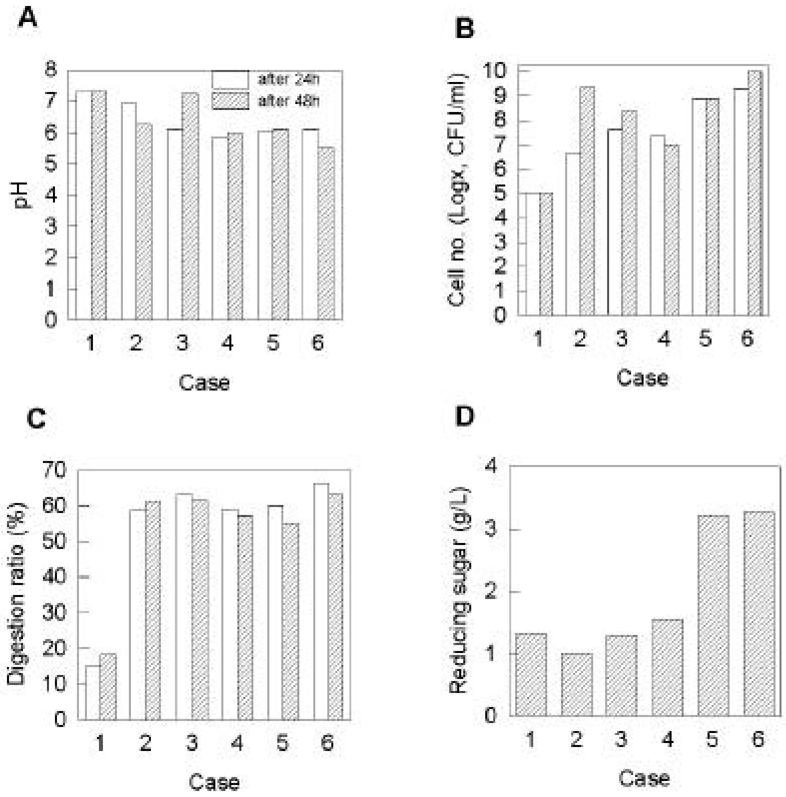


그림 11. 발효 온도에 따른 1차 발효 효율

(1, culture at 4℃ ; 2, at 30℃ ; 3, at 37℃ ; 4, 45℃ ; 5, 50℃ ; 6, 55℃)

(A, pH ; B, cell number ; C, digestion ratio ; D, reducing sugar)

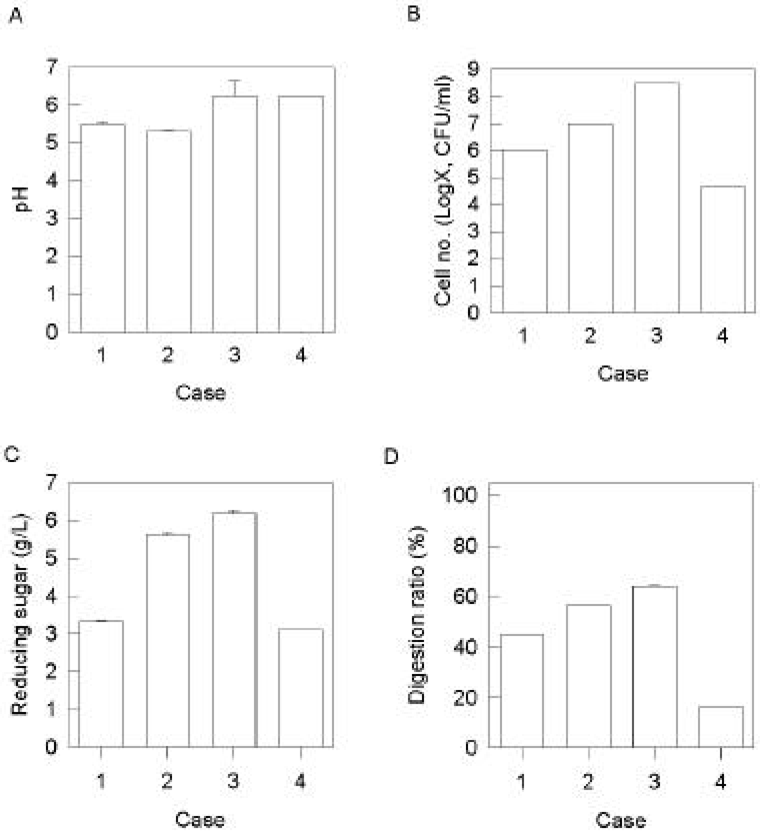


그림 12. **열처리 방법에 따른** 1**차 발효 효율 측정 결과**

(1, **무처리** Btg **발효** ; 2, **열처리 후** Btg **발효** ; 3, autoclave**후** Btg **발효** ;
4, Btg **접종 없이 발효**)

(A, pH ; B. cell number ; C, reducing sugar ; D, digestion ratio)

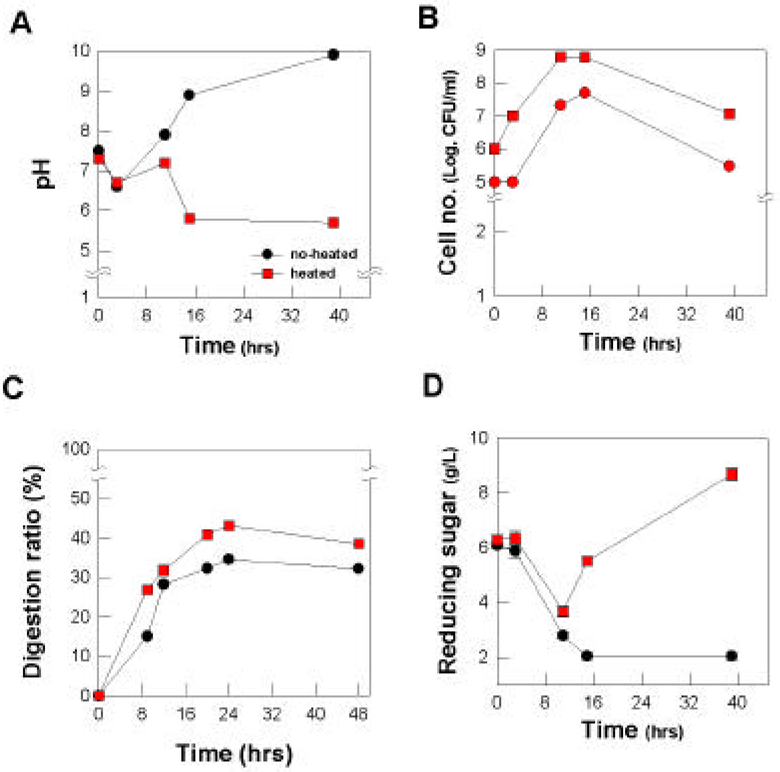


그림 13. **발효 시간에 따른** 1**차 발효 효율**

(A, pH ; B, cell number ; C, digestion ratio ; D, reducing sugar)

4) 음식물 쓰레기의 고형분 함량을 높여서 재실시: 대형화 플랜트 운영시 경제성을 고려해 적용하고자하는 음식물의 고형분 함량을 기존의 6% (w/w)에서 8% (w/w)로 높여 pH, 생균수 및 고형분 감량율을 조사하였다. 발효는 55℃에서 4일 동안 이루어 졌다. 초기 65% (w/w)보다 고형분 분해율을 저하되었지만 분해율은 이미 24시간째 최대 수준으로 올라감을 알 수 있었다 (그림 14). 이때 분해율은 39%였으며 경제성을 고려할 때 만족할 수준으로 판단되어 졌다.

5) 혐기적 산발효와 NaOH 처리 발효의 효율 비교: 본 생물학적 전환 기술에서의 1차 발효와 다른 유사 발효와의 효율을 비교 검증하였다. 실험구는 3가지 형태로 진행되었으며 첫번째는 음식물 찌꺼기의 전처리 방법으로 강염기 (NaOH)를 처리하여 음식물 찌꺼기의 pH를 12까지 올려 하루를 방치한 후 본 미생물을 투여하여 발효한 것이고 두번째는 전처리가 끝난 뒤 음식물 찌꺼기 자체를 종균으로 하여 혐기적으로 37℃에서 발효를 진행한 것이다. 마지막 세번째는 본 연구에서 제안하는 방법으로 음식물찌꺼기를 80℃에서 5분간 전처리 한 후 55℃에서 본 종균을 투입하여 발효한 경우이다. 발효가 진행됨에 따라 pH의 변화는 열처리 방법으로 종균을 투여한 구에서 가장 큰 변화를 나타내 초기 7에서 약 5.6까지 저하하는 경향을 보였다. 생균수는 강염기를 처리하여 종균을 투여한 구에서는 약 2.4×106 CFU/ml이하로 나타났으며 혐기적 산발효 구에서는 약 109 CFU/ml 이상으로 나타났다. 본 연구에서 제안한 공정에서는 약 2.4×107 CFU/ml로 나타났다. 본 기술 공정에서의 분해율은 기존의 방법들보다 높게 나타났으며 또한 발효액에 존재하는 환원당의 농도도 약 5.0g/L로 가장 높은 수치를 보였다. 나머지 두 방법에서의 환원당은 거의 변화가 없거나 저하하는 경향을 보였다 (그림 15).

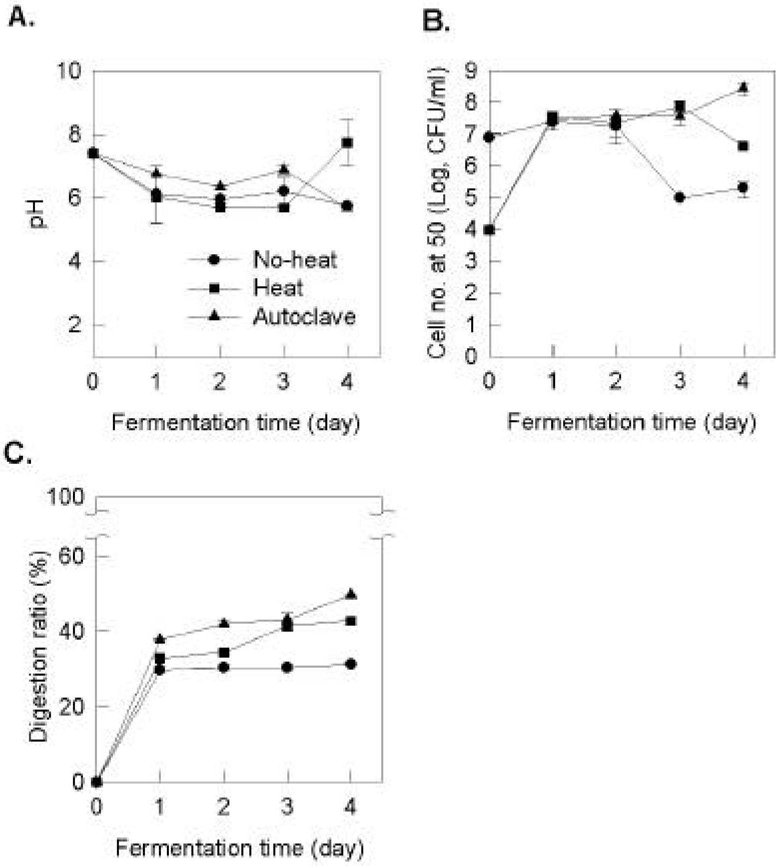


그림 14. **고형분** 8% (w/w) **음식물찌꺼기를 이용한** 1**차 발효**

(A, pH ; B, cell number ; C, digestion ratio)

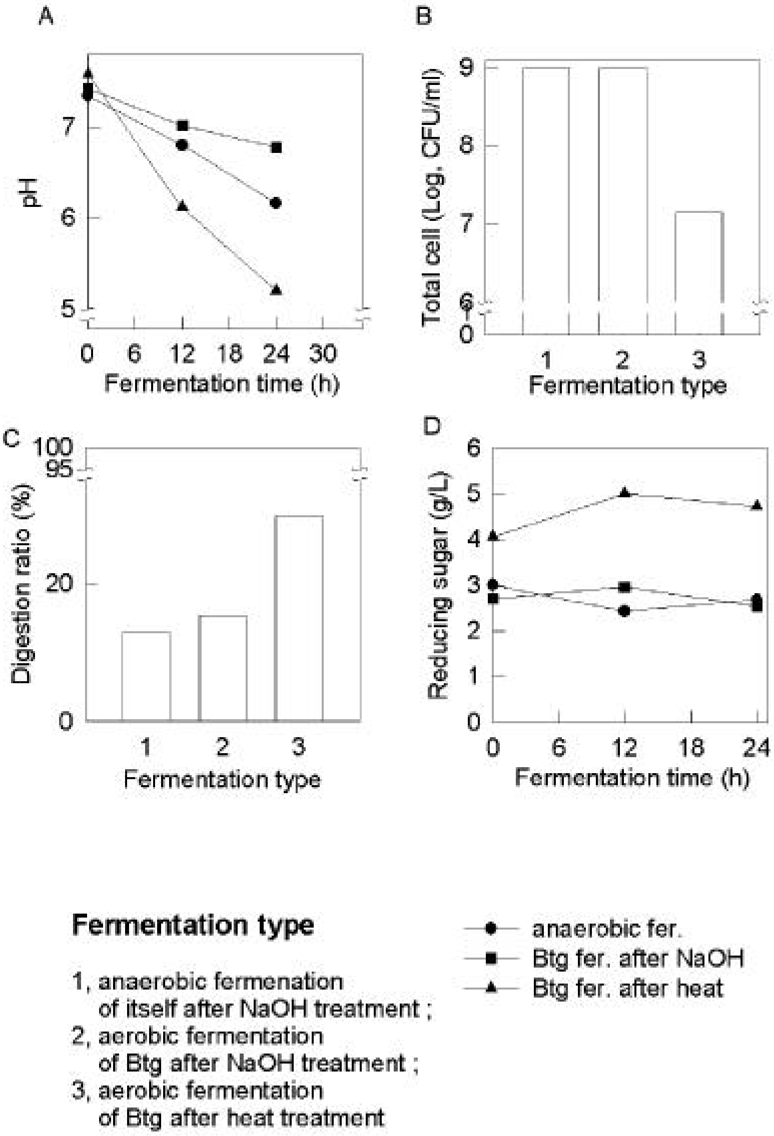


그림 15. **혐기적 산발효와** NaOH **처리 발효와의 효율 비교**

(A, pH ; B, total cell number ; C, digestion ratio ; D, reducing sugar)

6) Buffering effect 조사 : 초기 음식물 찌거기의 pH를 조절하기 위해 potassium phosphate를 이용하여 buffering을 실시하였다. buffer 농도에 따른 1차 발효의 효율을 조사하기 위해 최종 potassium phosphate의 농도를 각각 0, 5, 10, 50, 100, 200mM로 조절하여 고형분 분해율, 생균수 및 pH 변화를 측정하였다. 대조구로는 종균 접종을 하지 않은 것을 사용하였다. buffer 농도가 10mM을 초과할 경우 생균수 및 고형분 분해율이 급격하게 저하되는 것을 확인할 수 있었다 (그림 16).

7) 연속 음식물 투여시 효율 검증 : 5 liter 발효기에서 catabolite 변이주를 최종 약 106 CFU/ml (약 1% v/v)로 접종하여 8%의 음식물 쓰레기로 1차 발효를 실시하였다.발효 24시간 후 발효액의 10%를 초기 접종용으로 남겨두고 새로운 8% (w/w) 음식물을 전체 volume의 90%를 투여하였다. 이후 이와 같은 작업을 반복하여 고형분 감량능과 pH 및 생균수의 변화를 관찰하였다. 또한 pH 조절 방법을 초기 buffering을 한것과 5N NaOH를 이용한 자동 조절 한것, 두가지 경우로 나누어 발효를 실시하였다. 발효 4일까지 약 34% 이상의 분해율을 보이던 것이 생균수가 106 CFU/ml 이하로 저하되면서 급격하게 저하하기 시작하였다. 전체적으로 buffering을 이용한 고형분 분해율이 NaOH를 이용한 자동 조절을 이용한 발효에서 보다 낮은 경향을 보였다 (그림 17).

다. 2차 발효 전처리 및 2차 발효 최적화

1) 전처리 최적화

1차 발효액을 8,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 얻은 상등액과 1차 발효액 자체에 각각 Bt를 접종하여 내성 포자수를 조사한 결과 각각 3.0×108, 2.9×108 CFU/ml로 나타났다. 이는 1차 발효액이 원심분리 유무에 상관없이 모두 Bt를 배양하는데 적합한 기질임을 보여주는 결과라 할 수 있다.

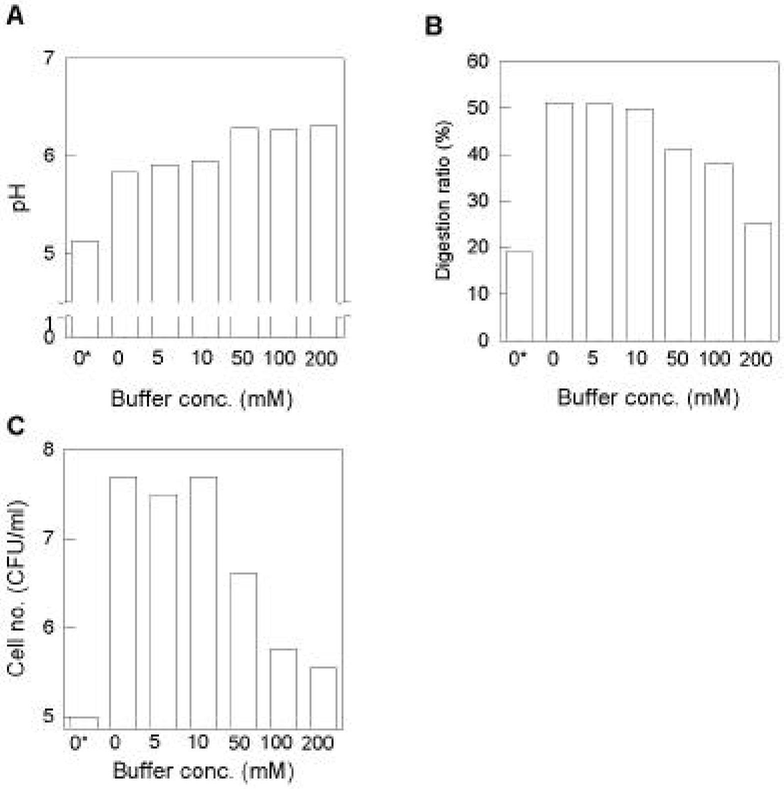


그림 16. buffer **농도** (potassium phosphate)**에 따른** 1**차 발효 효율**

(A, pH ; B, digestion ratio ; C, cell number)

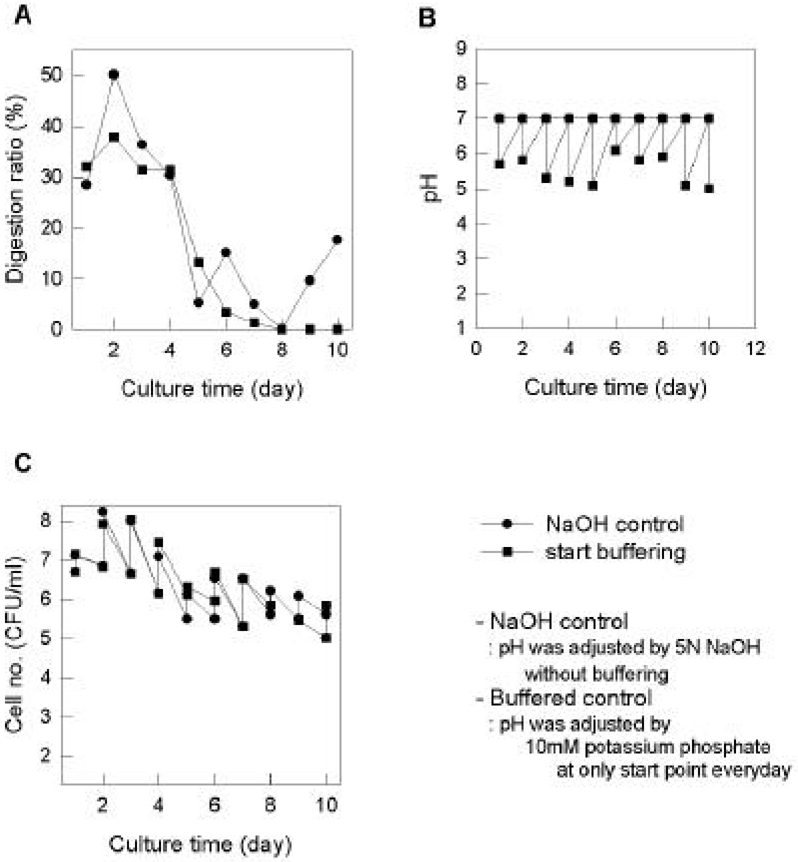


그림 17. Fed batch **방법에 따른** 1**차 발효 효율**

(A, digestion ratio ; B, pH ; C, cell number)

2) 2차 발효 최적화

1차 발효액을 8,000rpm에서 원심분리한 후 상등액을 이용하여 2차 발효를 실시하였다. 사용된 균주는 *Bacillus thuringiensis*로 미생물 농약 균주로 약 1% 농도로 접종되었다. 균주를 접종하기전 발효액의 pH를 NaOH 및 HCl로 7.0으로 조절한 후 발효액의 탄소원 및 질소원 함량을 측정하여 탄소원과 질소원의 비를 각각 glucose와 ammonium sulfate로 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70%로 조절하였다. 결과 C/N 비가 40을 넘어설 경우 생균수 및 미생물 농약 생성에 중요한 역할을 하는 내성 포자수가 급격하게 줄어 듬을 확인할 수 있었다 (그림 18).

라. 후처리 공정 최적화

각 발효조에서 생성되는 악취 성분 (암모니아, 황화수소, 아민류, 에탄올, 메탄올)을 측정한 결과 소량이 측정되었다. 따라서 본 시스템에 본사사가 개발한 biofilter를 장착하여 악취를 제거하는 실험을 진행하여 90% 이상의 악취를 제거하였다. 자세한 결과를 표 4에 나타내었다.

표 4. Biofilter 장착에 따른 1차 발효조내의 악취의 감소 경향

	암모니아 (ppm)	황화수소 (ppm)	아민류 (ppm)	에탄올 (ppm)	메탄올 (ppm)
Biofilter 장착 전	0	2	2	100	80
Biofilter 장착 후	0	0	0	10	6

5. 플랜트의 설계

상기의 결과를 토대로 한 전체 공정은 아래와 같으며 그림 19에 전체 공정도를 나타내었다.

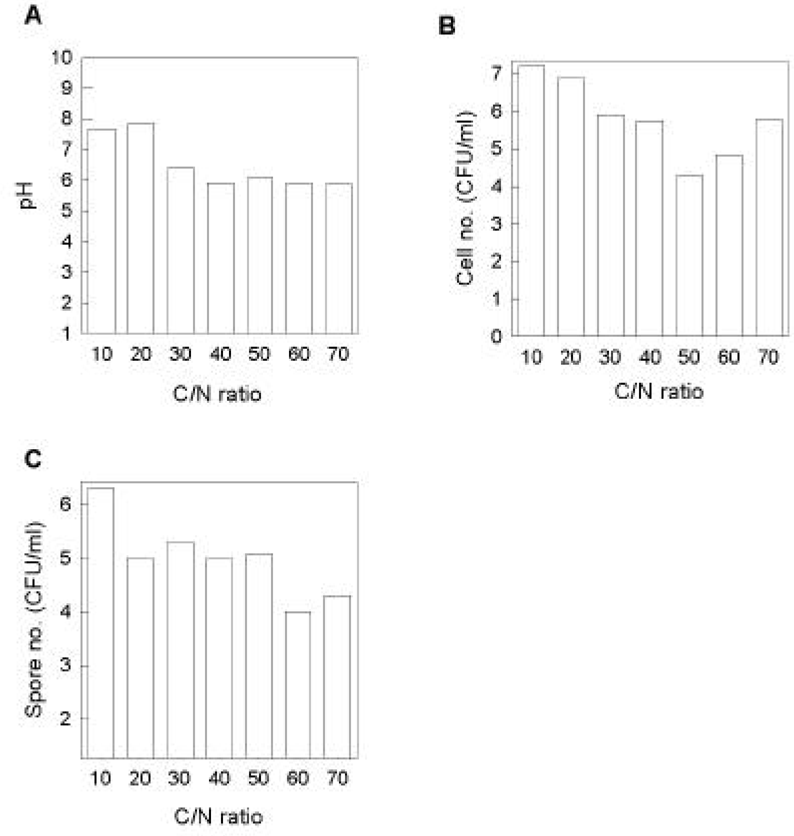


그림 18. **표준화 기질을 이용한** Bt**의 발효**

(A, pH ; B, spore number ; C, cell number)

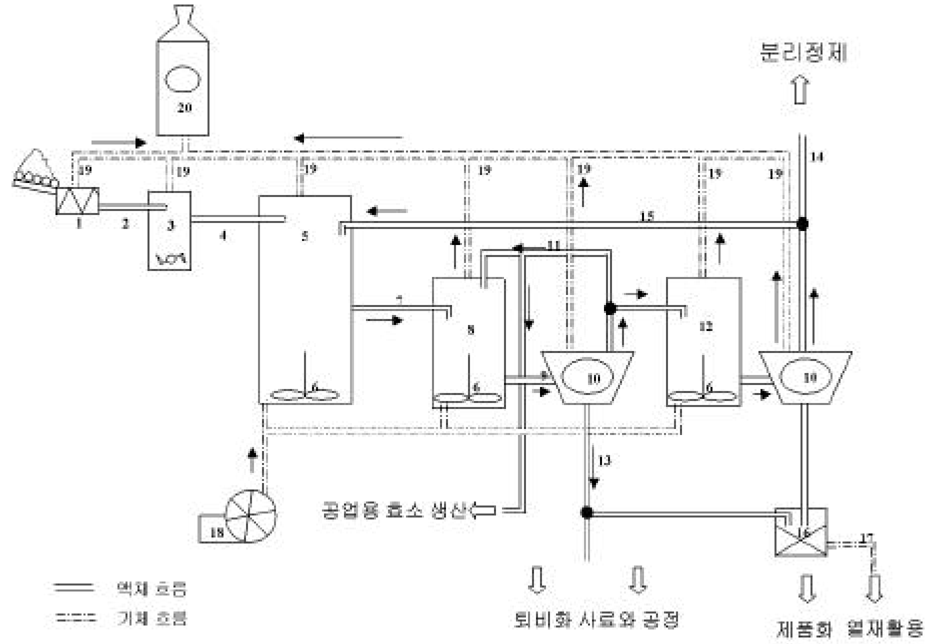


그림 19. **생물학적 전환기술의 전체 공정도**

수거된 유기성 폐기물로부터 선별기 (1)를 거쳐 미생물에 의해 분해될 수 없는 금속류, 비닐류, 유리류 등을 제거한다. 선별된 고농도 유기성 폐기물은 수송관 (2)을 거쳐 파쇄기 (3)로 들어가 잘게 파쇄된 후 수송관 (4)을 거쳐 전처리조 (5)로 투입된다. 전처리조에서의 고농도 유기성 폐기물은 고형분 함량이 6-8%가 되도록 가수하고 습식 멸균되어 이 후 상온으로 보관되며 고농도 유기성 폐기물의 혐기적 발효를 방지하기 위하여 산소공급 (5)과 교반기 (impeller, 6)를 이용한 에지테이션 (agitation)이 이루어 진다. 전처리조는 언제든지 1차 발효에 쓰일 수 있도록 1차 발효조 (8)에 비해 2-3배의 용량 (40,000-60,000ℓ)을 지니고 있다. 전처리조에서의 액상 유기물은 수송관 (7)을 통해 1차 발효조 (8)로 옮겨져 상기에서 언급한 균주를 이용하여 55℃에서 발효된다. 발효시간은 초기 24-48 시간이며 안정화 된 뒤는 약 12 24 시간이다. 발효액은 수송관 (9)을 거쳐 원심분리기 (10)로 옮겨져 고형분과 상층액으로 분리된다. 상층액의 약 10 20%는 1차 발효조 내의 효소 농축을 위해 재순환 (11) 된다. 초기 발효에서 상층액의 나머지 80 90%는 2차 발효조 (12)로 옮겨져 2차 발효의 기질로 활용되지만 재순환이 4 6회 이상 진행 될 경우는 약 60 70%만이 2차 발효조로 이동되며 나머지 10 20%는 산업용 대량 효소로 제품화된다. 고형 성분은 수송관 (13)를 통해 선택적으로 건조기를 통과한 후 퇴비화나 사료화 공정에 활용되어 진다. 2차 발효조 (12)에서의 발효는 적용 미생물에 따라서 다양한 조건에서 시행되어진다.

상층액을 이용할 경우는 수송관 (14)을 통해 유용 물질 분리, 정제 과정을 거치게 되며 고형분을 이용할 경우는 상층액은 수송 (15)되어 전처리조의 가수용으로 쓰이고 고형분은 건조기 (16)을 거친 후 제품화된다. 건조기에서 발생한 열은 공기관 (17)을 통해 열에너지원으로 활용된다.

산소 공급은 공기 공급기 (18)를 통해 전저리조, 1차 발효조, 2차 발

효조, 건조기로 투입된다. 각 반응조 및 기계에서 발생하는 악취는 배출 공기관 (19)을 통해 바이오 필터 (biofilter, 20)를 통해 외부 환경으로 방출되어진다.

현재 본사는 생물학적 전환기술의 사업화를 추진하기 위해 본 연구의 결과로 얻어진 상기의 공정을 바탕으로 약 10 톤 규모의 발효조를 이용하여 보다 구체적인 공정 적용 실험을 계획 중에 있다.

제 3 절 결론

고형물 6%의 음식물 찌꺼기는, 그 자체에 고농도로 존재하는 영양분 (glucose)에 영향을 받지 않고 amylase와 cellulase를 대량으로 생산하며 glucose의 주 수송 경로인 group PTS 기작이 파괴되어 소량의 glucose만을 흡수하는 고온성 *Bacillus thermoglucosidasius*의 catabolite repression 변이주에 의해 1차 발효되어 표준화 기질을 제조할 수 있었다. 결과적으로 국내의 음식물찌꺼기는 미생물 유래 효소를 이용하여 분해하였을 경우 고부가가치성 미생물 또는 발효 산물을 생산하는 표준화 기질로 사용하기에 적합하며, 본 개발 시스템은 약 80% 이상의 높은 분해율을 보임으로써 음식물 찌꺼기 처리에도 우수함을 나타내었다. 표준화 기질을 통한 2차 발효에 있어서는 Bt의 경우 일반 배지를 사용하였을 경우에 비교해 생균수와 내성 포자수에서 크게 차이를 보이지 않았고 *Saccharomyces cerevisae, Lactobacillus* sp., *Acinetobacter* sp. 등과 같은 다른 유용 미생물등의 경우에 있어서는 오히려 영양배지에서보다 높은 생균수를 나타내었다. 따라서 음식물 찌꺼기를 미생물을 이용하여 표준화된 기질로 만드는 1단계 발효 공정과 표준화된 기질을 이용하여 고부가가치 미생물을 고농도배양하는 2단계 발효 공정을 scale-up 할 수 있다면 음식물 찌꺼기 다단계 발효 공정

을 이용한 성공적인 생물학적 전환 시스템을 구축할 수 있다는 가능성을 가지게 되었다. 생산된 Bt를 이용한 생물학적 방제 실험에서는 생산된 Bt가 모기 유충에 대해 우수한 독성을 보임으로써 제품의 품질에 있어서도 확신을 가질 수 있었다. 1차 발효액의 일부 혹은 전체를 재순환시킴으로써 발효조 내의 효소의 농도를 높여 1차 발효의 분해율을 증대시킬 수 있는 가능성을 확인하였을 뿐 아니라 산업 각 분야에 유용한 효소 생산을 위한 활용 가능성을 제시하였다.

본 생물학적 전환시스템의 대형화를 위한 공정 최적화 실험에서는 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 많은 열량을 필요로 하는 autoclave 시스템을 80℃의 열처리 시스템으로 전환함으로써 경제적인 시스템 설계가 가능해 졌다.
- 전처리 방법으로 NaOH를 처리해 보았으나 이는 전체 공정 효율에 별 영향을 미치지 못하는 것으로 확인되었다.
- 1차 발효 최적화 실험을 통해 최적 1차 발효 조건 (55℃, 24시간, 8% 고형분 함량의 음식물 찌꺼기 배지)를 설정함으로써 1차 발효 공정에 잇어서의 경제성을 보다 구체적으로 산출할 수 있는 계기를 마련하였다.
- 1차 발효시 음식물 찌꺼기의 pH 조절 방법을 확립함으로써 보다 효율적인 1차 발효 공정을 설계할 수 있게 되었다.
- 음식물 찌꺼기의 처리 방법으로 현재 널리 사용되고 있는 혐기적 산발효의 효율과 비교함으로써 본 생물학적 전환기술의 우수함을 확인하였다.
- 연속적으로 음식물을 투여하여 1차 발효를 실시함으로써 본 시스템에서 미생물의 2차 접종 시기를 예측할 수 있게 되었다.
- 2차 발효에 적용된 Bt의 생육에 대한 optimization을 실시하여 구체적인 영양비를 예측할 수 있게 되었다.

- Biofilter를 **장착시킴으로써 본 시스템에서 발생될 수 있는 악취 문제를 해결하였다**.

제 3장 연구개발 결과의 활용계획

제 1 절 기대효과

- 국내에서 발생하는 음식물찌꺼기를 효율적으로 처리하면서 재활용할 수 있는 생물학적전환 기술을 확보하게 됨으로써 이와 유사한 식품가공폐기물, 농수축산폐기물 등 고도의 유기성 폐기물을 마찬가지로 재활용할 수 있는 기술개발이 쉽게 이루어질 수 있는 파급효과가 기대된다.
- 경제성이 있는 플랜트로 건설될 수 있는 공정기술을 확보하게 된다.
- 음식물찌꺼기 등 버려지는 유기성 폐자원을 발효기질로 개발할 수 있게 됨에 따라 미생물의 발효에 의한 다양한 고부가가치 생물공학제품을 생산할 수 있는 기술기반을 제공한다.
- 현재 음식물찌꺼기를 이용한 발효사료의 가격은 건식사료의 판매가격을 기준으로 할 때 Kg 당 약 200원 정도이고 이에 따른 제조원가는 Kg 당 100원을 넘고 있다. 본 연구과제에 의해 개발되는 공정은 동일한 규모의 사료화 플랜트와 비교할 때 10배 이상(Kg 당 미화 20불 이상의 판매가와 Kg 당 100원 정도의 생산원가)의 수익을 올릴 수 있는 플랜트로 적용될 수 있을 것으로 기대된다.
- 버려지는 음식물찌꺼기 등을 활용하여 저비용으로 생산된 미생물농약, 미생물비료 등 제품은 농가에 저가로 공급될 수 있게 됨으로써 고부가의 저공해 또는 무공해 농산물 생산을 통해 농가의 소득증대에 도움이 될 것으로 기대된다.
- 탁월한 가격경쟁력을 갖고 생산되는 미생물농약 등의 생물공학제

품들은 수입대체와 수출을 통해 외화획득에 크게 기여할 수 있을 것이다. 이러한 기대효과는 음식물찌꺼기를 사료화하였을 때의 곡물사료의 수입대체효과 와 비교할 때 국가적으로 훨씬더 큰 경제적 이득을 가져다 줄 것이다.

- 부산물로 얻어지는 생분해용 효소들은 제품으로 개발되어 축산분뇨, 폐수 등의 생물학적 처리에 사용하게 됨으로서 국내환경오염 문제 해결에 일조할 수 있다.

제 2 절 활용 방안

1. 시장규모

- 넓은 면적이 소요되고 악취가 문제가 될 수 있는 퇴비화플랜트와, 안정성과 경제성이 떨어지는 사료화에 비하여 도시형플랜트로 적합하고 경제성이 높으며 안정성이 있는 최종산물을 생산할 수 있는 생물학적전환 기술이 확립되면 현재 진행되고 있는 지방자치단체 중심의 퇴비화나 사료화 플랜트에 대한 시도는 이를 중심으로 바뀌게 될 것이다.
- 식품가공폐기물, 농산폐기물, 축산폐기물 등 고도의 유기성폐기물의 처리 및 자원화에 대한 경제성있고 안정한 방법을 확립하게 됨으로서 환경문제 해결과 경제성있는 재활용의 측면에서 파급효과가 클 것으로 여겨진다.
- 최근 우리나라의 모대기업에서 Thermo-Tech 사의 단단계발효공정을 이용한 음식물찌꺼기 처리기술을 도입하면서 수십억원의 로열티를 지불한 예가 있다. 본 기술의 개발로 이러한 외화의 낭비를

줄일 수 있을 것이다. 또한 외국의 특정 농업부산물 유기성폐자원에 대하여 계속 연구를 진행하여 본 기술을 외국에 수출하거나 다단계발효플랜트를 수출할 수 있을 것으로 기대한다.

2. 활용방안 및 사업화 계획

- 음식물찌꺼기의 효과적 처리와 자원화를 위한 도시형 플랜트 건설에 활용
- 식품가공폐기물, 농수축산 폐기물 등 고도의 유기성폐기물의 효과적 처리와 자원화를 위한 공정으로 활용
- 엔지니어링 및 시공능력 보유 기업들과 연휴하여 지방자치단체 단위의 기술공모에 참여함. 또는 대량의 유기성폐기물이 발생하는 곳에 민간자본을 끌어들여 플랜트를 건설하고 수익을 올리는 식의 산업화도 가능하리라 여겨짐.
- 추가기술로서 보다 고부가가치의 생물공학제품, 이를테면 식품원료, 고급사료원료, 의약원료, 산업용 효소 등을 생산할 수 있는 생물학적전환 기술이 가능함.
- 국내에서는 플랜트의 시공능력이 있는 기업들에게 기술이전하여 산업화를 촉진시키는 것이 가능함. 해외 기술이전도 가능하며 이 경우 상당한 규모의 기술이전료를 받을 수 있을 것임.

제 4 장 참고 문헌

1. **한국 폐기물학회 대구·경북지역회 춘계산학협동학술 심포지엄** (1999)
2. Martin AM, Bioconversion of waste material to industrial products, Press Elsevier Applied Science (1991)
3. Tsai, Shih-perng et al., Fermentation and recovery process for lactic acid production, American patent (1995)
4. Bailey, Richard B et al., Production of lactic acid by continuous fermentation using an inexpensive raw material and a simplified method of lactic acid purification, American patent (1987)
5. Daniel Brian et al., Process for thermophilic aerobic fermentation of organic waste, American patent (1996)
6. Miller GL, Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, Anal.Chem., 31, 426-428 (1959)
7. Adelberg EA, Mandel M et al., Optimal conditions for mutagenesis by NG in E.coli K12, Biochem.Biophys.Res.Commun., 18, 788-795 (1965)

주 의

1. **이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구 보고서입니다.**
2. **이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.**
3. **국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.**