

유기성폐기물의 퇴비화에서의 효소활성도의 변화

이 영 옥 · 민 봉 희

(대구대학교 생명과학부)

적 요 - 포도박과 같은 유기성 폐기물의 퇴비화에서 효소활성도가 퇴비의 안정성 혹은 부숙도를 나타내는 지표로서의 사용가능성이 있는지를 검증하기 위해 β -glucosidase, cellobiohydrolase 및 alkaline phosphatase의 활성도를 측정하였다. 측정된 모든 효소가 퇴비화초기에 최대의 활성도를 나타냈는데 이는 포도박에 잔류해있던 분해가 용이한 유기물질과 관련이 있는 것으로 추정되며 그 후 활성도는 점차 감소하였다. 그러나 퇴비화 60일이 경과한 후에 β -glucosidase와 cellobiohydrolase 활성도는 다시 급격히 상승했고 alkaline phosphatase의 활성도는 큰 변화를 나타내지 않았다. 퇴비화 후반기에 나타나는 이와 같은 효소활성도의 증가는 퇴비의 안정성을 나타내는 하나의 지표로 사용할 수 있음을 시사해 준다.

서 론

현재 우리 나라에서 발생하는 고형 폐기물량의 절반 이상을 차지하는 유기성 폐기물은 분해되면서 악취, 오수의 누출 등 많은 환경문제를 야기시키기도 하지만 다른 한편으로는 자원으로서의 활용가능성도 크므로 최근에는 이에 대한 연구의 필요성이 강조되고 있다(신 등 1998a). 그 동안에도 음식쓰레기를 포함하는 생활쓰레기(Garcia *et al.* 1992; Herrmann & Shann 1993; 신 등 1998b), 축산폐기물(Godden *et al.* 1983), 슬러지(Mckinley & Vestal 1984; Nakasaki *et al.* 1985)의 퇴비화에 관한 미생물학적 연구는 많이 이루어져왔으나 순수한 유기물질인 과일박의 퇴비화에 관한 미생물학적 연구는 배양계수법(viable count procedure)에 의한 미생물군집의 천이(succession)에 관한 연구(Wessely 1981; Streichsbier *et al.* 1982)와 퇴비화에서의 미생물의 식중 효과를 온도, pH, C/N비 등 이화화학적 지표변화에서 추적한 연구(Faure & Deschamp 1991)가 있을 뿐이다. 그러나 배양 가능한 미생물은 실제 생태계에 존재하는 미생물군집의 극히 일부만을 포함하므로 생태계의 실상을 반영한다고 할 수 없다(Amann *et al.* 1994). 이러한 이유로 최근에는 분자유전학적인 기법을 사용하여 세균을 동정하고 군집구조를 규명하는 연구들이 활발히 이루어지고 있다(Manz *et al.* 1992; Amann *et al.* 1994; Roller *et al.* 1994; 김 등 1999). 따라서 본 연구에서는 포도박

의 퇴비화과정에서의 세균군집의 천이를 rRNA targeted oligonucleotide probe를 이용한 fluorescent *in situ* hybridization(FISH)법으로 규명하고 아울러 고분자물질인 셀룰로즈, 리그닌 등이 주성분인 포도박의 분해에 관여하는 세포외효소(extracellular enzyme)인 β -glucosidase, cellobiohydrolase, 미생물의 일반적인 활성도를 나타내는 지표로 간주되는(Speir & Ross 1978) alkaline phosphatase 효소의 활성도가 퇴비화과정에서 어떠한 변화양상을 나타내는지 알아보려고 한다. 이는, 생활쓰레기의 퇴비화에서는 효소 활성도가 퇴비화의 안정성을 나타내는 지표로서의 이용가능성이 있다는(Herrmann & Shann 1993)보고대로 과일박과 같은 순수 유기성 폐기물에서도 효소활성도의 측정이 퇴비의 부숙도 판정에 유효한지를 검증해 보는 한 방안이기도 하다.

재료 및 방법

1. 퇴비화조건

60(l)×60(w)×60(h) cm 크기의 나무상자에 농산가공품의 부산물인 포도박의 야적식(windrow) 퇴비화(Run A)와 실험실에서 반응기를 사용한 퇴비화(Run B)를 비교분석하기 위한 실험 조건은 다음과 같다. 재료는, 본교 앞에 위치한 마주앙 공장에서 분양받은 포도박(포도종; Seibel)에 탄수화물이 주종인 포도박의 낮은 질소함량을 감안하여 본교 양계장에서 수집한 계분을 3:1(v:v)의 비율로 혼합한 후, 균질화하기 위해 3시간 동안 고속발

효기에서 분쇄하였고(강 1987), 추가로 공극개선제인 우드칩을 33%의 부피비로 첨가하였다(유 등 1998). 반응기는 원통형 아크릴(두께 0.5 cm, 내경 30 cm, 높이 50 cm)로 만들어졌으며 원활한 산소공급을 위해 압축공기를 하부의 유공판을 통해 반응조 전면에 공급하였다(신 등 1998b). 이때 공기의 주입량은 반응조의 온도가 중온 이상을 유지하도록 2~8 l/min의 범위에서 조절하였다. 퇴비를 뒤집어주어도 주변의 기온과 별 차이를 보이지 않을 때를 퇴비가 완숙단계에 이른 것으로 판단하여(전 1994), 실험은 1999년 8월 24일부터 10월 30일까지 67일간 행하였고, 실험 기간동안 야적식 퇴비는 2~3일에 한번씩 뒤집기를 하였다.

2. 이화학적 측정지표

온도는 현장에서 직접 측정하였고 pH는 시료와 멸균 증류수(pH 7)를 1:5(w:v)의 비율로 혼합하여 pH meter (Fisher Scientific, Accumet 930)로 측정하였다. 총유기탄소량은 TOC analyzer (TOC-5000, Shimadzu)로 측정하였다. 아울러 건량과 회분량은 각각 105°C에서 24시간 건조, 550°C에서 3시간 가열하여 구하였다.

3. 미생물군집의 측정

시료 0.5 g을 멸균된 4% paraformaldehyde 15 ml에 고정시킨 후 5,000 rpm에서 2분간 centrifuge시켜 퇴비의 고형 잔재물들을 제거하고 4°C에서 24시간 이상 보관하였다가 polycarbonate membrane filter (Nucleopore, poresize 0.2 µm, ϕ 25 mm)에 여과시키거나 시료에 세균 이외의 입자가 많을 경우에는 직접 슬라이드에 시료를 놓고 아래와 같은 전처리를 한 후 형광현미경 (Zeiss, Axiolab)으로 20 fields 이상 계수하여 그 평균값을 구하였다.

1) 총세균수

여과시킨 시료를 5분간 암실에서 DAPI (4',6'-diamidino-2-phenylindole, 0.33 µg/ml)로 염색하고 UVfilter (G365, LP395, FT420)를 사용하여 계수하였다.

2) 총균수

균류는 여과된 시료에 Fungi-Fluor Kit (Polysciences, 17442)를 첨가한 후 UVfilter에서 계수하였다.

3) FISH법에 의한 세균군의 측정

여과시킨 시료를 1 ml phosphate buffered saline (PBS)으로 여과한 후, 50%, 80%, 99% ethylalcohol로 0.5 ml씩 차례로 여과하고 공기 중에서 건조시킨 후 probe와 결합시켰다.

Oligonucleotide probes

Eubacteria와 방선균을 동정하기 위한 tRNA probe, EUB 338 (Manz *et al.* 1992)과 HGC (Roller *et al.* 1994)는 문헌에 보고된 대로 주문 제작 (TaKaRa, Japan)하여 사용하였다. 이 때 probe에 사용한 형광물질은 tetramethylrhodamine이다.

In Situ Hybridization

Gelatin을 입힌 슬라이드글라스에 filter를 놓고 16 µl hybridization solution (0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl pH 7.4, 0.01% SDS, formamide (농도 EUB 0%, HGC 25%))과 2 µl probe를 잘 섞은 후, EUB338의 경우에는 38°C에서 90분간 배양하였고 HGC의 경우에는 46°C에서 4시간 배양하였다. 배양 후 세척은 배양온도보다 2°C 높은 온도에서 15분 동안 행하는데 이때 사용하는 washing solution (20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 5 mM EDTA, 0.01% SDS, NaCl (EUB; 0.9 M, HGC; 0.16 M))은 미리 예열시켜 두었다. 세척 후, 공기 중에 건조시켜 green filter (BP546/12, LP580, FT590)를 사용하여 계수하였다.

4. 효소활성도

적당히 희석한 시료액에 형광물질인 methylumbelliferone (MUF)이 부착된 기질, β-glucoside (MUF-β-glucoside, Sigma), MUF-cellobiopyranoside (Sigma), MUF-phosphate (Sigma)를 첨가하여 β-glucosidase, cellobiohydrolase, alkaline phosphatase의 활성도를 다음과 같은 방법으로 측정하였다; 시료액 4.5 ml에 해당 기질의 최종농도가 0.5, 2.5, 5.0, 10, 25, 50, 100, 200 µM 이 되도록 첨가하고 현장온도에서 β-glucosidase와 cellobiohydrolase의 경우에는 1시간, alkaline phosphatase의 경우에는 15분 동안 배양한 후, glycine-sodium hydroxide buffer (pH 10.5, 0.2 M)를 0.5 ml 첨가하여 반응을 정지시킨 다음, 형광분광 광도계 (Hofer, TKO 100; Excitation: 365 nm, Emission: 460 nm)로 β-glucosidase, cellobiohydrolase와 alkaline phosphatase에 의해 시료 내 생성된 MUF의 농도를 정량 분석하였으며, Line-weaver-Burk식을 이용하여 Vmax(최대분해속도)를 구했다(Chróst 1989). 이때 측정 결과는 3회 이상 측정된 평균값을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 이화학적 환경지표의 변화

각 실험의 온도, pH, 함수량, 총유기탄소량(TOC), 회분량의 시간적인 변화는 표 1에서 보는 바와 같다. 야적식

Table 1. The changes of physicochemical parameters during the composting of grape pomace

	Time (days)	Temp (°C)	pH	Water-cont. (%)	TOC (%)	Ash-cont. (%)
Run A	3	59	7.5	63	33.1	24.4
	7	44	9.0	48	ND	ND
	14	31	9.2	48	32.82	26.35
	21	37	9.5	51	ND	ND
	28	29	9.2	52	ND	ND
	35	29	9.2	48	ND	ND
	46	23	9.0	54	ND	ND
	60	16	8.8	51	ND	ND
	67	16	8.6	53	30.29	28.73
	Run B	3	46	7.7	52	32.91
7		45	8.8	46	ND	ND
14		42	9.2	55	30.29	29.01
21		38	8.9	54	ND	ND
28		29	8.6	58	ND	ND
35		23	8.7	56	ND	ND
46		20	8.6	54	ND	ND
60		18	8.5	57	ND	ND
67		18	8.5	52	29.8	30.58

ND: not detected

으로 퇴비화한 Run A의 초기 온도는 59°C까지 상승하였으나 통기조건을 개선하기 위해 압축공기를 공급한 Run B의 온도(18~46°C)는 미생물의 활성을 저해시키지 않는 범위(Mckinley *et al.* 1984; Strom 1985)에서 변화하였고 습도 또한 Run A에서 보다 적은 변화를 보였다.

pH은 모든 실험조건에서 퇴비화가 진행되는 동안 급상승하였다가 점차 낮아졌다. Faure 등(1991)은 포도박 퇴비화에서의 pH의 급상승은 온도의 상승과 연계되어 나타난다고 보고하였다. 퇴비화 초기에는 포도박에 함유된 유기산(Streichsbier *et al.* 1982)의 증발과 계분배 함유된 암모니아성분배에 의해 pH가 상승하고(유 등 1998) 시간이 경과됨에 따라 Run A에서는 4주 이상 pH 9.0 이상을 유지할 만큼 천천히 pH가 낮아지는 반면 Run B에서는 단시일내에 pH가 낮아지는데 이는 압축공기의 공급에 따른 통풍효과에 기인하는 것 같다. 일반적으로 퇴비화에 적당한 pH는 5.5~8.5이고(Inbar *et al.* 1993) 함유수량은 50~70%(신 등 1998a)인 것으로 보아 Run B가 Run A보다 퇴비화의 조건에 적합한 것으로 나타났다. 타연구자들의 연구결과(Inbar *et al.* 1993; Garcia *et al.* 1992; Godden *et al.* 1983)와 마찬가지로 퇴비화가 진행되는 동안 회분량은 증가하고 TOC는 감소하였다.

2. 미생물군집의 천이

총세균수(Fig. 1)는 모든 실험조에서 초기에 10~100

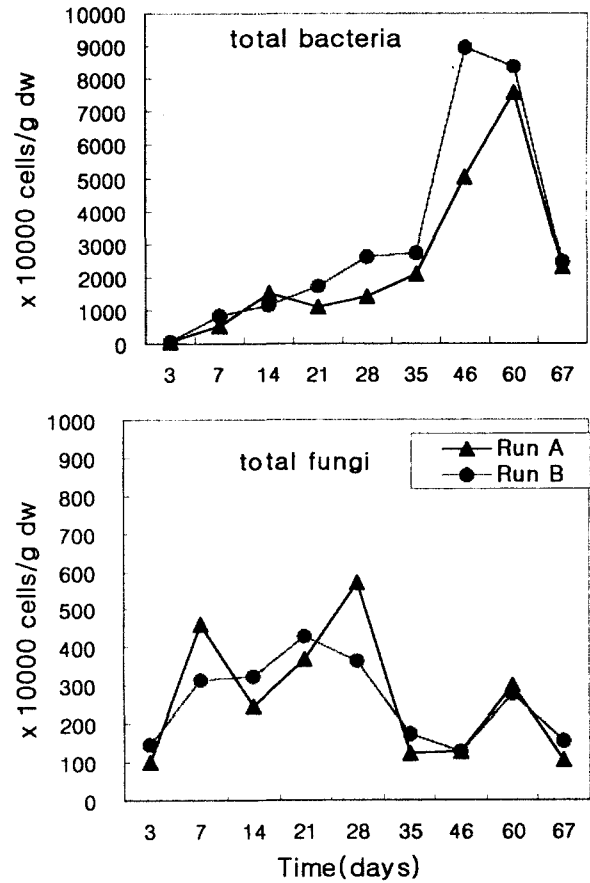


Fig. 1. The variations of total bacteria (upper) and total fungi (bottom) during the composting of grape pomace.

배로 급격히 증가하다가 퇴비화 2주 후부터는 큰 변동 (Run A; 10~76 × 10⁶ cells/g dw, Run B; 11~90 × 10⁶ cells/g dw)이 없다가 최종 실험일인 67일이 경과되었을 때 감소하는 양상을 보였다. 이와 같은 세균수의 증가는 본 실험에서 적용한 DAPI염색에 의한 직접계수법에서는 죽은 세균과 살아있는 세균의 구분이 불가능하므로 퇴비화과정에서 용해된 세균을 제외하고는 모두 계수되었기 때문으로 사료된다. 균류는 세균과는 달리 초기부터 많은 개체수 (Run A; 1.0~5.7 × 10⁶ cells/g dw, Run B; 1.5~4.3 × 10⁶ cells/g dw)를 나타냈고 시간경과에 따른 큰 변화를 보이지 않았다. Streichsbier 등(1982)은 포도박의 퇴비화 초기에는 효모가 거의 독점적으로 우점하며 그 효모의 용해와 포도박에 잔류해 있는 알코올이 에스터화되면서 세균군집이 급작스럽게 출현한다고 하였다. 결론적으로 균류는 압축 공기를 공급해 준 Run B에서보다 야적식 퇴비화 (Run A)에서 약간 우세하였고 세균수는 Run B에서 더 많이 검출되었다. 그러나 균류의 생체량이 세균에 비해 월등히 크고 그 개체수에서도

Table 2. Succession of bacterial populations during the grape pomace composting (represented in ratio (%) of eubacteria to total bacteria and actinomycetes to eubacteria)

days	Run A		Run B	
	*EUB/*TC	*HGC/EUB	EUB/TC	HGC/EUB
14	100	15	100	18
21	100	16	100	10
28	100	23	59	17
35	78	13	76	22
46	39	16	14	22
80	17	22	16	29
67	34	10	23	30

* EUB; eubacteria, *HGC; actinomycetes, *TC; total bacteria

큰 차이를 보이지 않는 것으로 보아 포도박의 퇴비화에서 균류가 지대한 역할을 담당하는 것으로 사료된다.

FISH법에 의해 측정된 진정세균(eubacteria)이 총세균수에서 차지하는 비율은 퇴비화초기에는 100%였다가 점점 감소하였고 방선균을 포함하는 HGC세균군(Roller *et al.* 1994)이 eubacteria에서 차지하는 비율은 점점 증가하는 양상을 나타냈는데 이는 퇴비화 후반기에 방선균이 우점하게 됨 (Streichsbier *et al.* 1982)을 지시해 준다(Table 2).

3. 효소활성도

고분자탄수화물을 올리고당으로 분해하는 cellobiohydrolase와 그 분해산물인 이당류를 분해하는 β -glucosidase의 활성도(V_{max})는 퇴비화 초기에 증가하다가 감소하였고 60일이 경과했을 때 다시 증가하는 양상을 보였다. 초기에 두 효소가 높은 활성도를 나타내는 것은 포도박에 잔류해 있던 저분자성 유기물질이 많이 존재했기 때문으로 생각된다. 퇴비화 3주 후부터 60일 이전까지는 두 효소가 낮은 활성도(β -glucosidase; 2~7 (Run A), 6~440 nmol/h/g dw (Run B), cellobiohydrolase; 0.17~1 (Run A), 0.62~2 nmol/h/g dw (Run B))를 나타내면서 서로 역 상관관계에 있음을 알 수 있다. 즉 β -glucosidase의 활성도가 증가하면 cellobiohydrolase 활성도가 낮아지는 현상을 나타냈다. 이와 같은 현상은 세포의 효소의 이화산물억제(catabolite repression) 기작에 기인하는 것으로 생각된다. 그러다 퇴비화 60일이 경과되면서 다시 큰 폭으로 증가하였는데 cellobiohydrolase의 경우에는 약 100배 증가하였다. 퇴비화 21일 이전에는 잔류해 있던 저분자물질들을 분해하고 그 후부터 포도박의 주성분인 cellulose의 분해가 이루어지는 것으로 추측된다. Herrmann 등(1993)은 생활쓰레기의 퇴비화 과정에서 효소활성도를 측정된 결과, 초기 50여일 동안

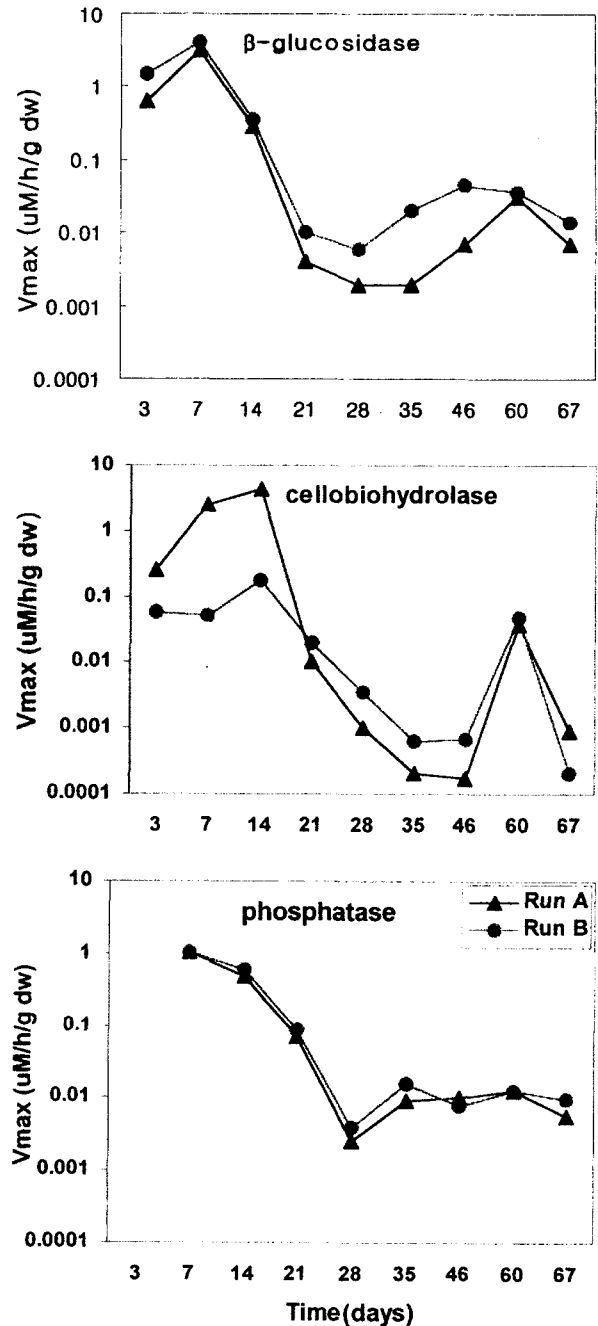


Fig. 2. The variations of β -glucosidase · cellobiohydrolase · alkaline phosphatase activities (V_{max}) during the composting of grape pomace.

에는 효소활성도의 증감이 반복되다가 100여일 경과된 후 β -glucosidase, endo-cellulase, alkaline phosphatase 활성도가 큰 폭으로 증가하는데 이는 저분자성 유기물이 고갈되어 미생물들이 고분자인 셀룰로스를 탄소원으로 이용하는 것을 의미하므로 이와 같은 후반기의 효소 활성도 증가를 퇴비 안정화 또는 부숙도(maturity)를

나타내는 지표로서 사용할 수 있다고 하였다. β -glucosidase의 활성도는 산소를 공급해준 Run B가 Run A에서 보다 항상 높았으나 cellobiohydrolase는 초기 2주간은 Run A가 Run B보다 높다가 후반기에는 Run B에서 Run A보다 더 높은 활성도를 나타냈다. 퇴비화 3일 후에 측정된 β -glucosidase의 활성도가 퇴비의 온도가 59°C였던 Run A에서는 0.62 $\mu\text{mol/h/g dw}$ 이었고 Run B (46°C)에서는 1.5 $\mu\text{mol/h/g dw}$ 로 측정되었으나 cellobiohydrolase의 경우에는 Run B (0.0652 $\mu\text{mol/h/g dw}$)에서 보다 Run A (0.25 $\mu\text{mol/h/g dw}$)에서 더 높은 활성도를 보이므로 55°C 혹은 60°C 이상의 온도는 미생물의 활성을 저해한다는 Mckinley 등(1984)의 결과와는 완전히 일치하지는 않았다.

유기성 인의 유용성(availability)과 미생물의 전반적인 활성 정도를 지시해 주는 alkaline phosphatase 활성도(Speir & Ross 1978)는 초기에 가장 높았고 28일이 경과될 때까지 큰 폭으로 감소하다가 약간 증가한 후 거의 변화를 나타내지 않았다. 즉, β -glucosidase와 cellobiohydrolase의 활성도에서 볼 수 있었던 큰 폭의 증가는 없었다. Godden 등(1983)은 퇴비화의 후반기에 퇴비가 안정화되면 alkaline phosphatase 활성도가 일정해진다고 하였다.

결론적으로 포도박을 주재료로 하는 퇴비화에서 β -glucosidase와 cellobiohydrolase 활성도가 큰폭으로 증가하는 시기인 퇴비화 60일에 alkaline phosphatase 활성도 또한 일정한 것으로 보아 이때부터 퇴비가 안정화 단계 혹은 부숙단계에 들어선 것으로 판단된다. 그러나 효소활성도는 퇴비의 함수량, 온도, 영양상태 등의 이화학적 요인과 긴밀한 관계에 있으므로(Jones *et al.* 1983; Strom 1985; Inbar *et al.* 1993) 효소활성도의 측정만으로 퇴비의 안정성과 부숙도를 평가하기보다는 TOC의 감소와 회분량의 증가 등 이화학적인 지표들과 병행하여 종합적으로 평가하는 것이 바람직하리라 사료된다.

사 사

이 논문은 과학기술부·한국과학재단 지정 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화 연구센터의 지원에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

강창민(1987) 농수산물폐기물의 기계식 퇴비화에 관한 연구. 서울대학교 환경대학원 석사학위 논문.
김동주, 홍선희, 안태석(1999) 소양호에서 세균군집구조의 계

- 질적·수직적 변화. 한국미생물 학회지 **35** : 242-247.
신항식, 황응주(1998a) 유기성 폐기물의 자원화 가능성 및 퇴비 이용 전망 평가. 폐기물자원화 **6** : 7-30.
신항식, 정연구, 황응주(1998b) 음식쓰레기의 실험실 규모 퇴비화에서 셀룰로즈 분해에 대한 퇴비 식종 효과. 폐기물 자원화 **6** : 21-30.
유영석, 장기운(1998) 공극개선재의 혼합비율에 따른 제지·하수슬러지의 퇴비화과정 중 이화학적 변화. 폐기물자원화 **6** : 45-57.
전학문(1994) 유기질 폐기물의 발효처리와 퇴비화. 아카데미서적.
Amann R, W Ludwig & KH Schleifer(1994) Identification of uncultured bacteria: A challenging task for molecular taxonomists. *ASM News* **60** : 360-365.
Chróst RJ(1989) Characterization and Significance of β -glucosidase Activity in Lake Water. *Limnol. Oceanogr.* **34** : 660-672.
Faure D & Deschamps AM(1991) The Effect of Bacterial Inoculation on the Initiation of Composting of Grape Pulps. *Bioresource Technol.* **37** : 235-238.
Garcia C, T Hernandez & F Costa(1992) Comparison of Humic Acids Derived from City Refuse with More Developed Humic Acids. *Soil Sci. Plant-Nutr.* **38** : 339-346.
Godden B, M Penninckx, A Pi rard & R Lannoye(1983) Evolution of Enzyme Activities and Microbial Populations during Composting of Cattle Manure. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **17** : 306-310.
Herrmann RF & JR Shann(1993) Enzyme Activities as Indicators of Municipal Solid Waste Compost Maturity. *Compost Sci. Utilization*, **1** : 54-63.
Inbar Y, Y Hadar & Y Chen(1993) Recycling of Cattle Manure: The Composting Process and Characterization of Maturity. *J. Environ. Qual.* **22** : 857-863.
Jones KL & JM Grainger(1983) The Application of Enzyme Activity Measurements to a Study of Factors Affecting Protein, Starch and Cellulose Fermentation in Domestic Refuse. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **18** : 181-185.
Manz W, R Amann, W Ludwig & M Wagner(1992) Phylogenetic oligonucleotide probes for the major subclasses of proteobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **15** : 593-600.
Mckinley VL & R Vestal(1984) Biokinetic Analyses of Adaptation and Succession: Microbial Activity in Composting Municipal Sewage Sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* **47** : 933-941.
Nakasaki K, M Sasaki, M Shoda M & H Kubota(1985) Change in Microbial Numbers during Thermophilic Composting of Sewage Sludge with Reference to CO₂

- Evolution Rate. *Appl. Environ. Microbiol.* **49** : 37-41.
- Roller C, M Wagner, R Amann, W Ludwig & KH Schleifer (1994) *In situ* probing of Gram-positive bacteria with high DNA G+C content using 23S rRNA-targeted oligonucleotides. *Microbiology* **140** : 2849-2858.
- Speir TW & DF Ross (1978) Soil phosphatases and sulfatases. pp. 198-235. *In Soil enzymes* (Burns RG ed). Academic Press, New York.
- Streichsbier F, K Messner, M Wessely & M Röhr (1982) The Microbiological Aspects of Grape Marc Humification. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **14** : 182-186.
- Strom PF (1985) Effect of Temperature on Bacterial Species Diversity in Thermophilic Solid-Waste Composting. *Appl. Environ. Microbiol.* **50** : 899-905.
- Wessely M (1981) Methodische Untersuchungen zur Taxonomie und Ökophysiologie von Actinomyceten bei der Kompostierung von Traubentrestern. Univ. TU Wien, Ph. D. Thesis.

Variations of Enzyme Activities in Composting Process of Organic Refuse

Young-Ok Lee and Bong-Hee Min

(Dept. of Life Science, Taegu University, Kyung-puk 712-714)

Abstract - To verify the usefulness of enzyme activities as a index for the stability or maturity of organic refuse composting such as grape pomace, V_{max} of β -glucosidase, cellobiohydrolase and alkaline phosphatase were measured. The peak values of all measured enzymes at the initial stage of composting were probably associated with easily degradable organic matter in the grape pomace and decreased gradually. But the activities of β -glucosidase and cellobiohydrolase were increased again rapidly whereas that of alkaline phosphatase remained approximately constant after 60 composting days. These results suggest that the increase of enzyme activities during the later periods of grape pomace composting process could be used as a index for their stability. [V_{max} , β -glucosidase, cellobiohydrolase, alkaline phosphatase, grape pomace].