

광합성 세균의 분리 동정 및 두부 유청 폐수에서의 배양조건 검토

지근억 · 이계호*

한림대학교 식품영양학과, *서울대학교 식품공학과

Isolation of Photosynthetic Bacteria and the Cell Growth on Soybean-Curd Whey Wastes

Geun-Eog Ji and Ke-Ho Lee

Department of Food and Nutrition, Hallym University

*Department of Food Science and Technology, Seoul National University

Abstract

For the purpose of fixing solar energy and utilizing water wastes from food industries for SCP (single cell protein), 170 strains of photosynthetic bacteria were isolated from 56 samples. Among 170 strains, B-Ps-106 strain was selected as the most suitable strain and identified as a variant or a relation of *Rhodopseudomonas sphaeroides* and its growth was better under anaerobic light condition than aerobic condition. The optimum conditions of the cell growth of B-Ps-106 were investigated on soybean-curd whey media. The optimum pH for cell growth was 8.5~9.0. The optimum temperature was 30°C and the optimum light density was above 0.72 cal/cm²/min. The most favorable concentration of K₂HPO₄ and (NH₄)₂SO₄ was both 0.9 g/l when added to soybean-curd whey media.

Key words: photosynthetic bacteria, soybean-curd whey

서 론

모든 지구상의 생물이 생존하는데 필요한 에너지와 인류가 일상 생활을 영위하는데 필요한 대부분의 에너지는 광합성에 근원을 두고 있다. 광합성을 하는 생물로는 식물, 조류, 녹조류, 유글레나, Dinoflagellates, Diatoms 등 외에 광합성 세균이 있다. 광합성 세균은 1883년 Engelmann에 의하여 처음 발견된 이래 Engelmann, Winogradsky, Molisch 등에 의하여 부분적으로 연구되어 오다가 Van Niel⁽¹⁾에 의하여 기작과 분류의 기초가 형성되었다. 이 후로 광합성 세균은 독일 학자를 주축으로 여러 학자들에 의하여 광합성 기작을 규명하는 순수방면의 연구에 이용되었다^(2~4). 한편 광합성 세균을 각도로 이용하고자 하는 시도가 진행되고 있다. 그 중에서도 광합성 세균을 이용한 폐수처리^(5~7)와 광합성 세균의 수소 생산능력을 이용한 에너지 생산^(8,9)에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

본 연구에서는 두부 공장의 부산물인 두부 유청에서 중식이 가장 양호한 광합성균주를 분리 동정하였고 두부 유청에서의 배양조건을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

수원시 밤발 두부공장에서 두부 제조중의 탈수과정에서 제거되는 두부유청(순물)을 pH 9, 110°C에서 15분동안 열불활성화시켜 응고된 단백질을 5,000g에서 1시간 원심분리하여 제거한 뒤 배양에 사용하였다.

균주의 분리

Van Niel의 선택배지⁽¹⁾에 준하여 논, 연못, 활성오니, 개천 등 56점의 시료로부터 분리를 행하였다. 분리용 배지의 조성은 다음 Table 1과 같다. 분리방법은 screw 마개 시험관에 A배지 4.5 mL를 넣어서 살균한 후 약 60°C가 되었을 때 0.22±0.02 μm의 seitz filter로 여과한 B배지 0.5 mL를 A배지에 첨가하여 혼합하였다. 혼합한 후 약 45°C가 되었을 때 적당히 희석한 분리시료 0.2 mL를 첨가하여 rolling tube method로 열음에서 굳힌 뒤 CO₂를 screw 마개 시험관에 분사하였다. CO₂로 충진된 screw 마개 시험관을 30°C의 항온실에서 30W의 전등으로부터 10 cm의 거리에 놓고 약 2일 배양하면 적색과 갈색의 광합성 세균 colony가 나타났는데 이들 중 큰 colony를 분리하였다. 이렇게 하여 분리된 균주를 두부유청에 배양하여 제일 중식이 양호한 균주를 선택하였다.

Corresponding author: Geun-Eog Ji, Department of Food and Nutrition, Hallym University, Okchondong, Chunchon, Gangwondo 200-702, Korea

Table 1. Composition of selective medium for photosynthetic bacteria

Medium A.	K ₂ HPO ₄	0.5g
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2g
	NaCl	2.0g
	agar	20g
	pH	8.5/in 900 ml tap water
Medium B.	NaHCO ₃	5.0g
	yeast extract	0.1g
	acetate	1.5g
	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0g
	pH	8.5/in 100 ml tap water

균주의 동정

선택된 균주에 대하여 형태학적 배양학적 생리학적 제특성을 조사하고 Bergey's Manual⁽¹⁰⁾과 Handbook of Microbiology⁽¹¹⁾에 준하여 동정하였다.

증균배양

두부 유청 배지로 가득 채운 screw 마개 시험관에 선택된 균주를 1백금이 접종한 후 30°C 광, 혼기에서 48시간 배양한 것을 종균으로 주 배양에 1% 첨가하였다.

주배양

호기배양 : 균주의 탁도를 측정할 때는 20 ml 시험관에 배지 5 ml를 넣어 진탕(oscillation : 120 rpm, stroke length : 3 cm) 배양하여 660 nm에서 O.D.를 측정하였다. 전조증량 측정시는 500 ml shaking flask에 200 ml 넣어 진탕 배양하였다. 배양후 원심분리하여 균체를 침전시키고 증류수로 균체를 현탁시킨뒤 재원심분리하여 회수된 균체를 105°C 오븐에서 건조시켜 균체의 전조 증량을 구하였다.

혐기배양 : 균주의 탁도를 측정할 때는 17.5 ml screw 마개 시험관에 진탕효과를 얻기 위해 1 ml의 head space를 남기고 배양액을 넣은 뒤 진탕 배양하였다. 전조증량 측정시는 380 ml의 무색 유리 시약병에 360 ml을 넣은 뒤 진탕배양하였다.

Dehydrogenase 역가 측정

北村傳의 방법⁽¹²⁾에 준하여 다음과 같이 측정하였다. Warburg flask의 주실에 배양액 2 ml와 0.05 M Tris-HCl buffer(pH 8.4) 2 ml를 넣고 측실에 0.1% triphenyl tetrazolium chloride 0.1 ml와 1% sodium acetate 1 ml을 넣은 뒤 Warburg flask를 N₂로 충전시켰다. 37°C에서 10분 보온 후 측실을 기울여서 측실의 내용물을 주실에 혼합하여 반응을 시작하게 한 뒤 30분 동안 반응을 유지시켰다. 다음 관을 열고 1 ml의 acetone을 가하고 혼들어줘 반응을 정지시킨 후에 상등액의 흡광도를 blank와 비교하여 485 nm에서 측정하였다. 이때 주어진 조건에서(37°C, 30 min) 배양액(효소액) 1 ml가 흡광도를

Table 2. Comparison of the cell growth between selected strain of brown colony, B-Ps-106, and selected strain of red colony, R-Dt-10

Culture period (days)	Dry weight (g/L)	
	B-Ps-106	R-Dt-10
1	0.58	0.35
2	0.83	0.45
3	0.97	0.51
4	1.09	0.60
5	1.21	0.66

1 증가시키는 역가를 1 unit라 정의하였다.

광도의 측정

광합성 세균의 배양시 조사한 광도를 Max Mio thermometer로 측정하였다.

일반 성분 분석

배양이 끝나면 원심분리하여 균주를 제거한 뒤에 배양액의 성분을 정량하였다. 환원당은 Somogyi법⁽¹³⁾으로, 단백질은 Lowry-Folin법⁽¹⁴⁾으로, 총질소는 micro Kjeldahl법⁽¹⁵⁾으로 정량하였다. 전물량은 105°C 오븐에서 함량에 도달할 때까지 건조시킨뒤 구하였다.

결과 및 고찰

균주 분리

Table 1의 조성을 갖는 Van Niel의 선택 배지에서 광, 혼기조건하에서 30°C에 배양하였을 때 나타나는 colony 중 colony의 크기가 큰 적색 colony 52주와 갈색 colony 127주를 분리하고 이렇게 분리된 균주들을 두부유청에 배양하여 증식정도를 O.D.로 비교하여 제일 약호한 성장을 보여주는 적색 colony R-Dt-10의 1균주와 갈색 colony B-Ps-106의 1균주를 선별하였다. 이 두 균주를 5일간 광, 혼기조건하에서 배양하여 전조증량으로 비교한 결과는 Table 2와 같다. Table 2에서 볼 수 있는 바와 같이 갈색 colony B-Ps-106이, 적색 colony R-Dt-10보다 증식정도가 높았기 때문에 B-Ps-106을 우수균주로 선정하고 보존배지는 tryptone glucose yeast extract media (TGY)로 하였다.

균주 동정

선정된 균주 B-Ps-106의 특성은 Table 3과 같다. 생리학적 특성 중 기질 이용성은 따로이 Table 4에 나타냈다. Table 3 특성들을 볼 때 선정균주 B-Ps-106은 형태학적으로는 *Rhodopseudomonas capsulatus*와 *Rhodopseudomonas sphaeroides*에 가깝다. 본 균주는 pH 8.5에서 간균의 형태를 하고 있어 *Rhodopseudomonas capsulatus*에 더 가까우나, 기질 이용성에서는 Table 4에서 보는

Table 3. Description of the selected strain of photosynthetic bacteria, B-Ps-106

Morphological characteristics		
size: at pH 6.2	0.8~1.5 μm in diameter	nearly sphere
at pH 8.5	1×2 μm short rod	
	always existing 1×5~6 μm long rod	
multiplication:	binary fission	
gram stain :	-	
motility :	+	
flagella :	polar in sphere or short rod peritrichous in long rod	
spore formation	+	
Cultural characteristics		
agar colony :	raised, circular, smooth, entire	
agar slant :	filiform-beaded	
agar stab :	filiform-beaded	
gelatin liquefaction :	negative	
gelatin utilization :	negative	
starch utilization :	negative	
casein utilization :	negative	
color :	brown in anaerobic stab culture rod in aerobic stab culture white on slant culture	
Physiological characteristics		
catalase	+	
dehydrogenase	+	
growth factor	-	
indole formation	-	
NH ₃ formation	±	
organic compound	as electron donor	
anaerobic light	+	
aerobic light	+	
aerobic dark	+	
anaerobic dark	-	
H ₂ S as electron donor		
anaerobic light	+	
aerobic light	-	
aerobic dark	-	
anaerobic dark	-	

바와 같이 *Rhodopseudomonas capsulatus*와는 판이하게 달랐다. 반면에 본 선정균주 B-Ps-106과 *Rhodopseudomonas sphaeroides*와는 기질 이용성에 있어서 거의 일치하고 있다.

*Rhodopseudomonas sphaeroides*와 다른 점은 *Rhodopseudomonas sphaeroides*는 H₂S를 이용하지 못하는데 본 균주는 이용한다는 점과 *Rhodopseudomonas sphaeroides*는 biotin, thiamine hydrochloride, nicotinic acid를 growth factor로 요구하나 본 균주는 vitamin free casamino acid에서도 잘 자란다는 점이다. 사용된 기본 배지조성은 (NH₄)₂SO₄ 1.0g, K₂HPO₄ 0.5g, MgSO₄·7H₂O 0.2g, NaCl 2.0g, acetate 1.5g, Na-glutamate 1.5g, D.L. malate 1.5g, H₂O 1000 ml이었고 pH는 8.5로 조정하였다. 광, 혼기 배양을 할 때는 0.5g의 cysteine과 0.5g의 Na-

Table 4. Description of the substrate utilization of the selected strain, B-Ps-106 (anaerobic light)

	B-Ps-106	<i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i>	<i>Rhodopseudomonas capsulatus</i>
ethanol	+	+	-
glycerol	+	+	-
sorbitol	+	+	-
mannitol	+	+	-
glucose	+	+	+
fructose	+	+	+
mannose	+	+	-
Na-acetate	+	+	+
Na-lactate	+	+	+
Na-malate	+	+	+
Na-citrate	-	-	-
Na-propionate	+	- ¹⁾	+
Na-tartarate	+	+	-
Na-thiosulfate	-	-	-
alanine	+	-	+
asparagine	+	±	+
Na-aspartate	+	±	-
Na-glutamate	+	+	+
leucine	+	+	-
H ₂ S (Na ₂ S)	+	-	-
benzoic acid	-	-	-
maltose	+	-	-
lactose	+	-	-
sucrose	+	-	-
tryptophan	+	-	-

¹⁾: in handbook of Microbiology

± : grow a little or hardly grow

thioglycollate를 첨가하였다. 본 균주에 있어서도 biotin, thiamine, nicotinic acid 등은 생장촉진 역할을 하고 특히 광, 혼기에서 nicotinic acid의 효과가 탁월하였는데 이러한 결과를 Table 5에 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 본 실험에서 분리 선정된 선정균주 B-Ps-106을 *Rhodopseudomonas sphaeroides*의 변종 또는 근연균으로 동정하였다.

선정균주 B-Ps-106은 광, 혼기조건에서도 자라고 초기조건에서도 자라기 때문에 폐수 등에 적용할 때 혼기조건으로 배양시 혼기조건을 맞춰주기 위해 따로이 환원제를 첨가하지 않더라도 본 선정균주가 자라며 용존산소를 소비하여 배양액은 자연히 혼기상태에 도달한다. 또한 대부분의 *Rhodopseudomonas*는 자연계에서 유독요인이 되는 H₂S를 이용하지 못하는데 본 선정균주는 H₂S를 이용하므로 H₂S를 내는 산업폐수의 처리시 또는 미생물 비료로의 이용 등에 유리한 점으로 작용하리라고 생각된다. 그리고 기질 이용성에 있어서도 지금까지 알려진 바에 의하면 광합성 세균중 이용기질의 범위가 가장 넓은 *Rhodopseudomonas sphaeroides*보다 더 넓어 미생물을 이용한 광 energy의 고정목적에 매우 바람직한 균주로 생각된다.

Table 5. Effects of vitamin free casamino acid and various vitamins on cell growth of the selected strain, B-Ps-106 (after 2-days)

Vitamins	Cell growth (O.D. at 660 nm)	
	Aeroic	Anaerobic
V ¹⁾	0.83	0.49
B ²⁾	1.12	0.78
P ³⁾	0.47	0.63
T ⁴⁾	1.20	0.55
N ⁵⁾	0.97	2.51
B+T	3.05	0.92
B+N	1.82	3.62
B+T+N	3.30	4.01
B+T+N+P	3.41	4.12

^{1)V}: vitamin free casamino acid 5 g/l

^{2)B}: biotin 1 mg/l

^{3)P}: P-aminobenzoic acid 100 mg/l

^{4)T}: thiamine hydrochloride 100 mg/l

^{5)N}: nicotinic acid 1 mg/l

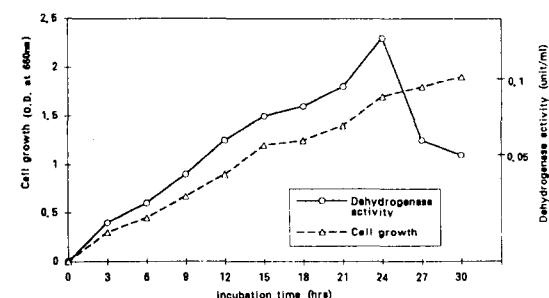


Fig. 1. Time course change of cell growth and dehydrogenase activity of the selected strain, B-Ps-106

두부유청에서의 배양 조건실험

배양시간에 따른 증식 정도와 dehydrogenase activity : 분리 선정된 B-Ps-106을 두부유청에 광, 혼기하에서 배양하여 2시간마다 증식 정도와 dehydrogenase activity를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 北村傳⁽¹²⁾은 균 증식도와 dehydrogenase activity가 비례관계에 있다고 가정하고 균 증식정도를 dehydrogenase activity로 측정하기도 하였는데 본 실험결과 배양시간의 경과에 따라 처음에는 서로 비례관계에 있지만 균의 성장이 늦어지면서 dehydrogenase activity가 배양 개시 24시간에서 현저히 줄어드는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에서는 균의 증식 정도를 dehydrogenase activity로는 측정하지 않고 O.D.(탁도)와 전조증량으로 측정하였다.

초기 pH에 따른 균증식 : 초기 pH를 달리하여 호기와 광협기조건하에서 1일 동안 배양했을 때의 균증식을 O.D.로 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에서 보듯이 optimum pH는 8.5~9.0으로 알카리쪽으로 치우치고 있다. 호기에서는 넓은 pH에 걸쳐 증식에 큰 차이가 없으나

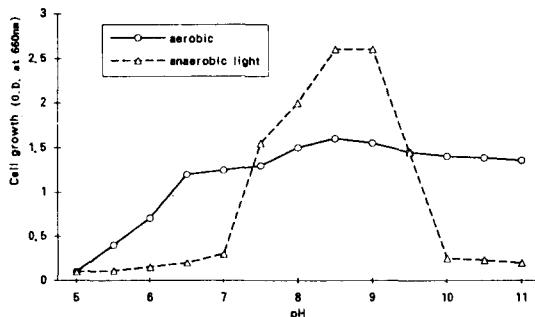


Fig. 2. Effect of initial pH on cell growth of B-Ps-106

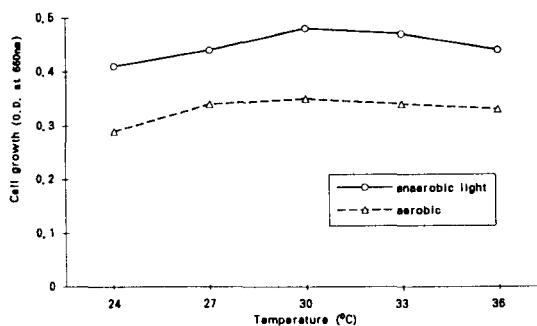


Fig. 3. Effect of temperature on cell growth of B-Ps-106

광, 혼기에서는 pH에 민감한 것으로 나타났다.

배양온도에 따른 균 증식 : 각각 온도를 24, 27, 30, 33, 36°C로 조정한 5개의 항온 장치를 사용하여 호기조건과 광, 혼기조건에서 6시간마다 흔들어 주며 4일 동안 정지 배양한 뒤의 증식 정도를 O.D.로 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 이때 광 거리는 30W의 전구로부터 9cm로 하였다. 실험결과 호기, 광협기 배양에서 모두 30°C에서 제일 빠른 성장을 보여주었다. 그러나 24°C에서 36°C에 걸쳐 온도에 따른 증식 정도에는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

호기조건에서의 교반속도에 따른 균 증식 : 호기조건에서 80 rpm에서 200 rpm 사이에 걸쳐 교반속도를 달리하여 배양한 뒤 전조 균체 중량을 측정한 바, 교반속도에 따른 증식정도에 큰 차이가 없었다.

광도에 따른 균증식 : 30W의 전구를 배양액으로부터 거리를 달리하여 광도를 달리하였다. 이때의 1일 후 균 증식정도를 O.D.로 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 그래프의 상단에는 전구로부터의 거리를 표시하였고 5cm 떨어졌을 때의 광도는 Max Mio thermometer로 직접 측정할 수 없어서 10 cm의 광도에 4배하여 환산한 값이다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 0.11 cal/cm²/min 이하에서는 증식이 매우 저조했으며 전체적으로 광도를 2배로 하면

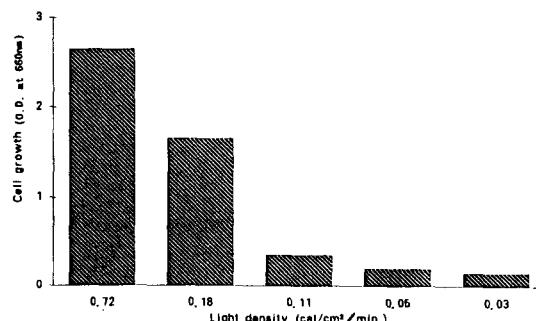


Fig. 4. Effect of light density on cell growth of B-Ps-106 under anaerobic condition

증식도 약 2배로 되는 정비례 관계가 있는 것으로 나타났다. 전구를 60W 이상을 사용해서 광도를 더욱 증가시키면 증식이 더욱 빨라질 것으로 예상된다.

수원 농업기상 관측소의 비공식 자료에 의하면 수원의 1964~1978년의 평균 일조량은 318.1 cal/cm²/day이었고 일조시간은 6.1 hr이었다. 위의 자료를 이용하면 수원에서 태양에너지를 이용하여 본 선정균주 B-Ps-106을 배양하는 경우 일조시간당 약 0.8 O.D.의 균증식이 일어날 것으로 계산된다. 일조시간에는 태양에너지를 이용하여 배양할 수 있지만 일몰후는 인조광원을 이용하여야 한다. 인조광원을 이용하여 균배양을 하는 것이 경제적으로 불리하다면 일조시간에는 광, 혼기배양을 하고 일몰후는 호기적으로 배양하는 방법을 고려할 수 있다.

배양중 두부유청의 성분변화: 배양시간의 경과에 따라 두부유청의 성분변화를 조사하였다. 호기배양과 광, 혼기배양중의 성분변화를 Table 6에 나타냈다. Table 6에서 보면 호기배양에서 고형물이 더 많이 감소되었는데도 균체증식은 광, 혼기하에서 더 많은 것으로 나타났다. 광, 혼기배양 중에서 가스생성으로 인한 압력 때문에 가스의 유출이 있었는데 가스의 유출이 없었다면 고형물 함량은 더욱 줄지 않았을 것이다. 이와 같이 광, 혼기조건에서 고형물 함량은 줄지 않았는데도 균증식은 더 많은 이유는 호기조건에서는 균체내의 영양소를 분해하여 대사 에너지를 얻어야 하고 아울러 일단 생성된 가스는 공기 중으로 거의 방출되는 반면에 광, 혼기 배양에서는 대사 에너지를 외부로부터 오는 빛을 이용하고 있기 때문에 균체내의 영양소를 연소시킬 필요가 상대적으로 적기 때문인 것으로 생각된다. 또한 균체로부터 생산된 가스는 밀폐된 용기이므로 배지중에 다시 흡수되어 재이용 되기도 한다고 생각된다. 환원당은 균체증식이 많이된 10시간에서 20시간 사이에도 별로 줄지 않았는데 이유는 한편으로는 단당류가 분해되지만 다른 한편으로는 다당류가 단당류로 분해되기 때문인 것으로 생각된다. 동정 과정의 기질 이용성에서 본 바와 마찬가지로 본 선정균주 B-Ps-106은 당을 잘 이용하는 것으로 나타났다. 질소화합물의 경우는 총질소량이 줄어든 속

Table 6. Change in the composition of soybean-curd whey during aerobic and anaerobic light culture of selected strain, B-Ps-106

Time (hrs)	0	10	20	30	40	50
Aerobic						
Cell dry weight(g/l)	—	0.14	0.58	0.65	0.68	
Reducing sugar(mg%)	48	46	29	21	20	
Protein(mg%)	122	120	117	108	106	
Total N(mg%)	26.9	26.4	24.2	23.0	22.7	
Extract(%)	1.38	1.33	1.19	1.13	1.13	
Anaerobic						
Cell dry weight(g/l)	—	0.13	0.61	0.8	0.92	1.08
Reducing sugar(mg%)	48	45	40	34	29	10
Protein(mg%)	122	120	114	111	106	104
Total N(mg%)	26.9	26.4	24.2	23.0	22.7	19.1
Extract(%)	1.38	1.36	1.29	1.26	1.24	1.22

도보다 단백질이 줄어든 속도가 작다. 이것은 B-Ps-106이 고분자태의 질소를 잘 이용하지 못하는 것을 의미한다. 실제로 광협기 배양 50시간 후의 Lowry-Folin태의 단백질을 콩과 콩제품의 질소계수 5.91로 나누어 질소량으로 환산하면 17.6 mg%가 되어 50시간 배양후에 남아 있는 총질소는 거의 단백질임을 알 수 있다. 이도 역시 동정시 조사한 casein utilization negative와 각종 amino산 이용성 positive의 결과와 같은 양상을 보여주었다. 고분자의 유기물을 잘 이용하지 못하는 것은 광협성 세균의 일반적 성질로서 고분자가 많이 함유된 자원 특히 두부유청과 같이 단백질이 많은 자원을 이용하여 광협성 세균을 배양하려면 *Bacillus* 등 고분자를 잘 이용하는 유기영양균을 배양하여 알맞게 분해시킨뒤 광협성 세균을 배양하는 방법을 적용할 수 있다. 다른 방법으로는 산가수분해를 시킨 뒤 광협성 세균을 배양하는 방법을 적용할 수 있어 앞으로 이 두 가지 방법을 비교 실험하는 연구가 필요하다. 배양중의 건조중량 변화를 보면 호기 배양시는 30시간 후에는 균체증식이 별로 없었고 40시간 후에 0.68 g/l에 그쳤으나 광, 혼기조건 하에서는 40시간 후에 0.92 g/l이었고 40시간 후에도 증식속도는 완만하지만 계속 증식되는 것으로 나타났다.

K₂HPO₄ 및 (NH₄)₂SO₄ 첨가의 영향: 두부유청에 K₂HPO₄와 (NH₄)₂SO₄의 농도를 달리하여 첨가하여 광, 혼기하에서 2일 배양한뒤 증식정도를 조사한 결과 K₂HPO₄는 0.9 g/l, (NH₄)₂SO₄는 0.9 g/l 첨가하였을 때 균의 증식이 비교적 양호하였다.

요약

일광 에너지를 고정하고 식품공장의 폐수를 이용할 목적으로 56점의 분리원으로부터 광협성 세균 179주를 분리하고 그중 두부유청에서 제일 잘자라는 균주를 선정하여 동정하고 두부유청을 기질로 하여 배양 최적조건을 조사하였다. 선정균주 B-Ps-106은 *Rhodopseudomonas*

*nas sphaeroides*의 변종 또는 균연균으로 동정되었고 초기 배양보다 광첨가 배양에서 더 양호한 성장을 나타냈다. 최적 pH는 8.5~9.0이었고 최적온도는 30°C 이었고 최적광량은 0.72 cal/cm²/min 이상이었다. K₂HPO₄와 (NH₄)₂SO₄ 농도를 달리하여 각각 첨가한 결과 양쪽에서 모두 0.9 g/l 첨가했을 때 비교적 양호한 성장을 나타냈다.

문 헌

1. Van Niel, C.B.: The culture general physiology, and classification of the nonsulfur purple and brown bacteria. *Bacteriol. Rev.*, **8**, 1(1944)
2. Deisenhofer, J. and Michel, H.: The photosynthetic reaction center from the purple bacterium *Rhodopseudomonas viridis*. *Science*, **245**, 1463(1989)
3. Qureshi, N., Takayama, K., Meyer, K.C., Kirkland, T. N., Bush, C.A., Chen, L., Wang, R. and Cotter, R.J.: Chemical reduction of 3-oxo and unsaturated groups in fatty acids of diphosphoryl lipid A from the lipopolysaccharide of *Rhodopseudomonas sphaeroides*. *J. Biol. Chem.*, **266**, 6532(1991)
4. Buchanan, R., Michel, H. and Gerwerk, K.: Light-induced charge separation in *Rhodopseudomonas viridis* reaction centers monitored by Fourier-transform infrared difference spectroscopy. *Biochemistry*, **31**, 1314 (1992)
5. Kobayashi, M. and Kurata, S.: The mass culture and cell utilization of photosynthetic bacteria. *Process Biochem.* **13**, 27(1978)

6. Reinbold, R.S. and Takemoto, J.: Use of swiss cheese whey permeate by *Kluveromyces fragilis* and mixed culture of *Rhodopseudomonas sphaeroides* and *Bacillus megaterium*. *J. Dairy Sci.*, **71**, 1799(1988)
7. Varsha, S.K. and Wyndham, R.C.: Anaerobic phototrophic metabolism of 3-Chlorobenzoate by *Rhodopseudomonas palustris* WS 17. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 3871(1990)
8. Ormerod, J.G. and Gest, H.: Light-dependent utilization on organic compound and photoproduction of molecular hydrogen by photosynthetic bacteria. *Arch. Biochem. Biophys.*, **94**, 449(1961)
9. 이혜주, 배무 : *Rhodopseudomonas sphaeroides*와 *Clostridia*의 혼합배양에 의한 수소생산. 산업미생물학회지, **20**, 430(1992)
10. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J. G.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1986)
11. Laskin, L.: Handbook of Microbiology vol.1, Organic Microbiology (CRC press) 17(1974)
12. 北村傳 : 酸協誌, **30**, 76(1976)
13. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C., p.226(1980)
14. Lowry, O.H., Farr, A.L., Rosebrough, N.J. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
15. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C., p.858(1980)

(1992년 10월 20일 접수)