

두부공업폐수에서 *Rhodobacter capsulatus* KK-10을 이용한 δ -Aminolevulinic Acid의 생산

정대열¹ · 최양문 · 조홍연* · 양한철

¹오뚜기 종합연구소, 고려대학교 생명공학연구소, 고려대학교 생명공학원

초 록: 광합성세균을 이용한 고농도 유기폐수인 두부공업폐수의 정화처리와 동시에 두부공업폐수를 생물제조체인 δ -aminolevulinic acid (ALA) 생산용 대체기질로 이용할 목적으로 *Rhodobacter capsulatus* KK-10을 사용하여 COD 제거율과 ALA 생산능을 검토하였다. 사용된 두부공업폐수의 성상은 pH 4.2, COD/BOD와 BOD/N의 비율은 0.98 및 17.2, BOD:N:P의 함유비율은 10:6:4, 젖산 함유량 1,080 ppm 등으로 광합성세균의 생육에 적당한 조건이었다. 두부공업폐수에서 본 균주를 4일 동안 배양한 결과 약 94% COD 값의 감소와 1.2 g/l의 균체생육을 보였으며 대수기 중기에서 ALA 탈수효소 저해제인 levulinic acid(LA)를 15 mM 첨가한 결과 55 mg/l의 ALA 생산량을 나타내었다. ALA의 전구물질인 succinate 및 glycine과 LA를 각각 15 mM의 농도로 동시 첨가시 최대 114 mg/l의 생산량을 보였다. 상기의 물질들을 각각 15 mM 농도로 연속 첨가한 후 ALA 생성량을 검토한 결과 LA 1회와 glycine과 succinate를 3회에 걸쳐 첨가하였을 때 120 mg/l로 가장 효과적이었으며 COD 제거율은 92%를 나타내었다.(1997년 10월 13일 접수, 1997년 11월 21일 수리)

서 론

광합성세균에 의한 고농도 유기폐수처리는 현재 사용하고 있는 활성슬러지법에 비해 BOD의 용적당 부하율이 높아 무희석으로 처리할 수 있을 뿐만 아니라¹⁻³⁾ 슬러지를 고 단백질 또는 미생물비료로 자원화할 수 있는 장점을 갖고 있다.^{4,5)} 축산, 수산사료로서 균체단백은 필수아미노산의 분포와 단백질의 함량에서 *Chlorella*보다 높고 난황의 착색도 향상, 치어의 생존율 향상, 양어장의 정화 등의 효과가 보고되고 있으며^{6,7)} 균체배양액은 연작장해 완화, 수확량 및 생장도의 증가, 밀감의 맛, 색, 당도 상승 등의 우수한 유기질비료성을 나타내고 있다.⁸⁾ 이러한 유효성들은 cyclic tetrapyrrole 화합물 생합성계의 중간대사물질과 최종산물들에 기인하는 것으로 보고되고 있다.^{9,10)}

두부공업폐수는 고농도 유기폐수이면서 저분자물질로 용이하게 분해될 수 있는 고분자물질의 함량이 높은 점, 유기태 질소원 및 K, P 등의 무기염류원을 다량 함유하고 있는 점, 독성물질을 함유하고 있지 않는 점 등에서 미생물공업용 대체기질로 이용할 수 있는 특성을 지니고 있다. 저자들은 두부공업폐수를 이용하여 광합성세균의 유가배양 및 연속배양에 의한 균체생산과 건조균체의 영양성을 보고한 바 있으며^{11,12)} 전보에서는 광합성세균으로부터 생물제조용 물질인 ALA를 생산할 목적으로 ALA 고생산균주를 분리하고 최대분비를 위한 배양조건들을 합성배지에서 검토한 바 있다.¹²⁾

본 연구에서는 두부공업에서 다량 발생하는 유기폐수를 정화처리함과 동시에 자원화하기 위한 연구의 일환으로 전

보에서 분리한 *Rhodobacter capsulatus* KK-10을 사용하여 두부공업폐수에서 ALA의 최대 생산조건, 균체의 생산량 및 COD 제거율 등을 검토, ALA 생산용 공업적 기질로서 두부공업폐수의 이용 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

전보에서 보고한 바¹³⁾ 있는 *Rhodobacter capsulatus* KK-10과 Lascelle¹⁴⁾의 glutamate-malate 최소배지를 각각 ALA 생산용 균주 및 종배양용 배지로 사용하였다. 균주의 보존용 배지로는 기본배지에 yeast extract 0.02%를 첨가한 사면고체배지를 이용하였다.

대상폐수

대상폐수는 F사의 두부공장 폐수로 4°C 이하에서 보관하면서 사용하였다.

배양방법

30 ml captube에 glutamate-malate 배지를 완전히 채운 후 30°C, 조도 3,500 lux에서 3일간 배양한 전배양액 2%(v/v)를 두부공업폐수를 넣은 500 ml Rhoux bottle 또는 70 ml screw captube에 접종한 후 혐기적 조건에서 일정기간 동안 정치배양하였다. 광은 100 W 텡스텐 전구가 부착되어 있는 growth chamber를 사용하여 Rhoux bottle 또는 screw captube의 표면에 조사하였으며 조도는 조도계를 사용하여 조정하였다.

찾는말 : 두부공업폐수, 광합성세균, δ -aminolevulinic acid

*연락처자

ALA 분석

Mauzerall 등의 방법에 따라 전보¹³⁾와 같이 정량하였으며 전배양액 2%(v/v)를 멸균한 후 두부공업폐수에 넣고 동일하게 배양 및 ALA 분석을 행한 후 대조값으로 사용하였다.

균체량 및 Bacteriochlorophyll의 측정

대상폐수에서의 균체량은 배양한 배양액과 대상폐수 각각 10 ml/를 103~105°C에서 미리 건조시킨 유리섬유(Whatman, G/FB)를 사용하여 여과한 후 항량이 될 때까지 건조시킨 다음 desiccator에서 방냉 후의 무게와 여과전의 유리섬유 무게의 차이로 MLSS(Mixed Liquor Suspended Solids)를 측정하여 Nakai¹⁵⁾ 등의 방법에 따라 배양액과 대상폐수의 MLSS로부터 건조 균체량을 환산하였다.

균주의 bacteriochlorophyll은 acetone : methanol = 7 : 2의 용매로 추출한 후 770 nm에서 흡광도를 측정하였다.

COD 정량

대상폐수의 COD(Chemical Oxygen Demand) 측정은 COD값에 영향을 줄 수 있는 배양액의 균체를 제거하기 위해 7,500 x g에서 5 분간 원심분리하여 얻은 상등액을 표준정량법¹⁶⁾에 따라 산화제 중크롬산칼리(K₂Cr₂O₇)를 사용하여 유기물을 화학적으로 산화시킬 때 소모된 산소량으로 측정하였다.

폐수분석

폐수의 일반성분분석은 표준정량법¹⁶⁾에 준하여 측정하였다.

결과 및 고찰

두부공업폐수의 특성

고농도 유기폐수의 하나인 두부공업폐수를 정화처리함과 동시에 ALA 생산을 위한 광합성세균의 공업용배지로의 적합성을 알아보기 위해 두부공업폐수의 성상을 검토하였다. 대상폐수로 사용한 F사 두부공장폐수의 pH는 4.2로 산성부근이었으며 생물학적 분해 가능성의 지표인 COD/BOD의 값이 0.98로 생물학적 분해 가능한 물질이 다량 함유되어 있었고 BOD : N : P의 함유비율은 10 : 6 : 4 정도로 미생물의 생육에는 적당한 조건이었다. 또한 BOD/nitrogen의 값이 17.2를 나타냄으로써 본 두부공업폐수는 Imhoff¹⁷⁾ 등이 보고한 sludge 활성화에 요구되는 값인 17~31의 범위내에 위치함을 알 수 있었다. 대상폐수의 인과 칼륨의 높은 함량은 두부의 원료인 콩에 다량의 인, 칼륨 성분이 함유되어 있기 때문으로 추정되었으며 납, 카드뮴 등의 유해한 중금속은 검출되지 않았고 광합성세균의 탄소원으로 이용될 수 있는 lactic acid(1,080 ppm)를 비롯하여 상당량의 유기산이 함유되어 있었다. 이상의 두부공업폐수 성상은 ALA 생산용 기질로서 뿐만 아니라 광합성세균에 의한 폐수처리시 발생하는 sludge를 사료 또는 유기질비료로서 자원화가 가능함을 나타내 주었으며 기타 화학적 산소요구량(COD), 부유고형물질의 양(SS), 저급지방산(VFA)의 양 등의 주요

Table 1. Environmental factors of soybean curd wastewater

Factor	Concentration (mg/l)	Factor	Concentration (mg/l)
Temperature (°C)	18	Total sugar	16.9
pH	4.2	Total phosphorus	133
Total solids	3,470	Protein	1,240
Volatile solids	3,040	Sulfate	ND
Suspended solids	550	Calcium	22.3
BOD	3,310	Sodium	24.9
COD	3,240	Potassium	150
Acetic acid	226	Iron	0.82
Propionic acid	37.8	Copper	0.11
Butyric acid	32.6	Zinc	0.17
Lactic acid	1,080	Manganese	0.04
Total nitrogen	192	Lead	ND
Ammonia nitrogen	2.3	Cadmium	ND

ND : Not Detected

성상은 Table 1과 같다.

두부공업폐수에서 *Rhodobacter capsulatus* KK-10의 생육과 폐수의 COD 변화

홍색비유황 광합성세균의 생리적 특성중의 하나는 탄소원으로서 저급지방산의 자화율이 높은 점이다. Table 1에 나타난 바와 같이 유기산을 다량 함유하고 있는 두부공업폐수를 ALA 생산용 배지로의 이용가능성을 검토하기 위하여 1차적으로 두부공업폐수에 대한 본 ALA 생산균주의 생육도와 생육에 따른 COD의 변화를 조사하였다. 합성배지에서 배양한 seed culture 2%(v/v)를 폐수에 적용시킨 후 균체량 및 COD 감소를 측정하여 균체의 생육이 양호하였으며, 배양 4일만에 COD 값을 94% 정도 감소시킴을 알 수 있었다(Fig. 1). 균의 생육도에 있어서도 합성배지에서 보다 최대생육에 요하는 배양기간이 6~7일에서 3~4일로

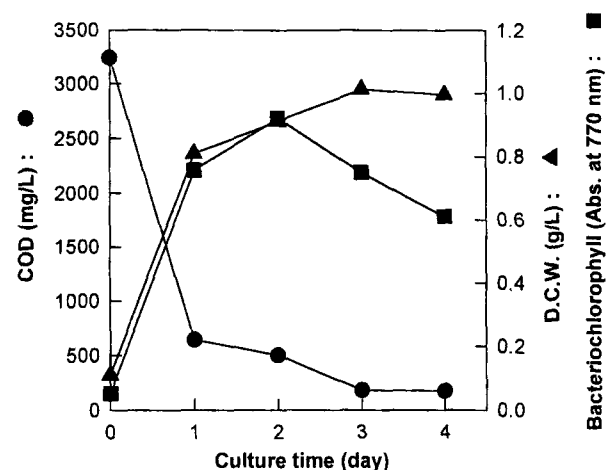


Fig. 1. Cell growth, changes of bacteriochlorophyll and COD removal efficiency in the soybean curd wastewater during cultivation by *Rhodobacter capsulatus* KK-10.

Cultivation was anaerobically carried out at 30°C under 3,500 lux and initial pH of soybean curd wastewater was adjusted to 6.8 with 6 N NaOH.

단축됨을 나타내었으며 bacteriochlorophyll은 대수기 말기까지 증가한 후 감소하는 경향을 보였다. 또한 ALA 탈수효소 저해제로서 ALA의 균체의 생산을 증가시킨 바¹³⁾ 있는 LA를 15 mM 농도로 균생육 대수기 증기에서 첨가한 후 검토한 두부공업폐수 처리액 중의 ALA 함량은 약 55 mg/l로서 전보¹³⁾에서 보고한 합성배지에서의 생산량인 35 mg/l보다 1.6 배 높은 값을 나타내었다. 이는 두부공업폐수가 ALA 생산용 배지를 대체할 수 있음은 물론 폐수처리와 함께 ALA 함유 폐수처리액의 용도개발이 가능함을 시사해 주었다.

두부공업폐수에서 ALA전구물질과 LA의 첨가효과

대상폐수에서 ALA 생산성을 높이기 위하여 전구물질인 glycine, succinate와 LA의 첨가효과를 검토하였다. LA 농도를 15 mM로 고정한 후 glycine과 succinate를 0~80 mM의 농도범위로 단독 혹은 복합적으로 첨가배양한 결과, glycine과 succinate를 각각 15 mM 농도로 복합첨가할 때 최대 114 mg/l의 생산량을, succinate 30 mM 농도에서 101 mg/l의 생산량을 나타내었으나 glycine의 단독 첨가시에는 15 mM 농도에서 94 mg/l의 다소 낮은 생산성을 보였다 (Fig. 2). 이는 전구물질의 첨가없이 LA만을 첨가했을 때의 생산량 55 mg/l와 비교할 때 30 mM succinate의 단독첨가 및 15 mM의 glycine과 succinate를 복합첨가한 경우 약 2 배 높은 생산을 보인 결과로 ALA 생합성계의 전구물질인 glycine과 succinate로부터 ALA 합성효소에 의해 세포내에 과량생산된 ALA가 ALA 탈수효소의 저해로 인해 porphobilinogen으로 전환되지 못하고 세포외로 분비되는 것으로 추정되었다.

한편 ALA 생산에 미치는 LA의 농도효과를 알아보기 위하여 두부공업폐수에 15 mM glycine, 15 mM succinate의 복합첨가 배양과 30 mM succinate의 단독 첨가배양에서 LA의 농도를 15~60 mM의 범위에서 배양증기에 첨가한 후 검토한 결과는 Fig. 3과 같다. Glycine과 succinate의 복합첨가 배양에서는 배양 5일에 15 mM LA 첨가농도에서 112 mg/l의 생산량을 나타내었으며 30 mM succinate의 단

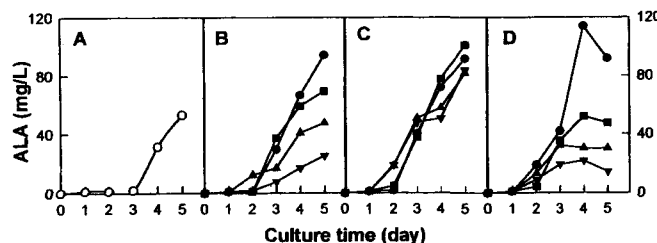


Fig. 2. Effects of precursor supplementation and LA addition on ALA production in soybean curd wastewater. The raw soybean curd wastewater was supplemented with various concentrations (○, 0 mM; ●, 15 mM; ■, 30 mM; ▲, 60 mM; ▼, 80 mM) of glycine and succinate. 15 mM LA was added into the culture broth at middle log phase of cell growth. A, No supplementation of glycine and succinate; B, Glycine supplementation; C, Succinate supplementation; D, Combined supplementation of glycine and succinate.

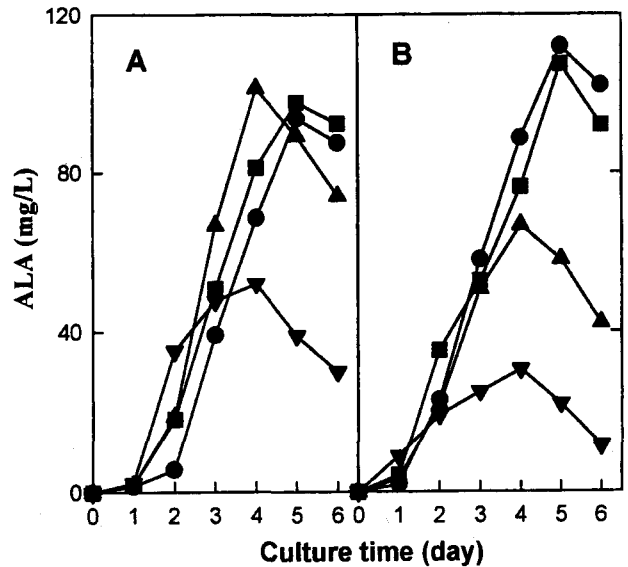


Fig. 3. Effect of LA concentration on ALA production in soybean curd wastewater supplemented with precursors. LA with various concentrations (●, 15 mM; ■, 30 mM; ▲, 45 mM; ▼, 60 mM) was added into the soybean curd wastewater at middle log phase of cell growth. A, 30 mM succinate supplementation; B, Combined supplementation of 15 mM glycine and 15 mM succinate.

독첨가시에는 배양 4일에 45 mM LA 첨가농도에서 106 mg/l의 생산량을 나타내었다. 이 결과로부터 45 mM LA와 30 mM succinate의 첨가시와 각각 15 mM의 LA, glycine 및 succinate 첨가시의 ALA 생산량을 비교할 때 배양일 수는 단축되지만 LA가 glycine이나 succinate보다 더 값비싼 첨가원임을 고려하면 각각 15 mM의 LA, glycine, succinate의 첨가방법이 경제적 생산조건으로 사료되었다. 또한 배양 4, 5일만에 생산량이 최대치에 달한 후 ALA 생산량이 감소되는 현상은 전보¹³⁾에서 보고한 바 있는 합성배지에서의 결과와 동일하였으며 이는 세포내 ALA 탈수효소의 활성에 의해 배양액 중의 ALA가 tetrapyrrole 생합성계로 전환되거나 배양액 중에서 분해 또는 타 성분과의 반응에 의해 감소하는 것으로 보고되고 있다.^{18,19)}

LA, glycine 및 succinate의 연속 공급효과

Fig. 4는 ALA 생산성에 높은 효과를 나타내었던 LA, glycine 및 succinate를 15 mM 농도로 1회부터 6회까지 배양중에 연속첨가시킴에 따라 변화하는 ALA의 생산량과 균체량을 추적하였다. 그 결과 LA만을 1회 첨가하였을 때의 ALA 생산량(55 mg/l)에 비해 LA와 전구물질의 동시 1회 첨가에 의해 약 2배(108 mg/l), LA 1회와 전구물질 3회 및 6회 연속첨가에 의해 각각 120 mg/l와 118 mg/l의 첨가효과를 나타내었다. LA와 전구물질의 6회 연속첨가는 동시 1회 첨가시와 큰 차이를 보이지 않았으나 전구물질 3회 또는 6회 연속첨가에 의해 약 11%의 생산량 증대를 보임으로써 유의적인 효과를 나타내었다. 한편 전구물질의 3회와 6회 첨가시 유사한 값의 ALA 생산은 세포내 ALA 합성효

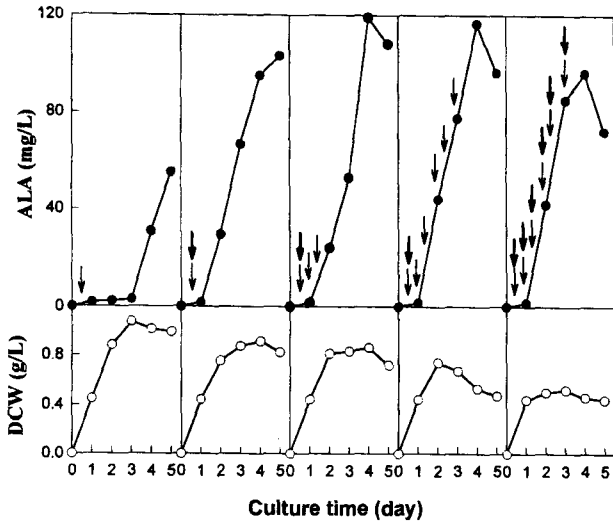


Fig. 4. Effect of serial addition of LA, glycine and succinate on ALA production in soybean curd wastewater. Thin and thick arrows indicate additions of 15 mM LA and ALA precursors, respectively.

소의 기질 포화 농도에 기인하였거나 과량의 전구물질 첨가에 의해 균체의 생육이 저해되었기 때문으로 추정되었다.

한편 전구물질들은 첨가량 증가에 따라 균의 생육을 저해하였으며 특히 tetrapyrrole 생합성계의 ALA 탈수효소 저해제인 LA의 과량첨가는 균의 생육을 현저히 저해함을 알 수 있었다. Sasaki 등²⁰⁾은 *Rhodobacter sphaeroides*를 사용하여 축산폐액을 대상으로 제조제로서의 ALA 생산을 검토한 바 있는데, 광합성세균이 정상적 배양조건에서 폐액내의 acetic acid와 propionic acid를 잘 이용하며, 특히 propionic acid를 주로 이용하고 butyric acid는 이용하지 않는 것으로 보고하고 있다. 본 연구의 대상폐수인 두부공업폐수는 Table 1에서와 같이 lactic acid가 주 유기산임에도 불구하고 이들이 보고한 ALA 생산량과 유사한 값을 보임으로써 본 균주가 두부공업폐수를 기질로 한 ALA 생산용 균주로서 적합함을 알 수 있었다.

두부공업폐수의 정화율과 ALA 생산

생물제조제 ALA의 생산용 공업적 기질로서 검토한 두부공업폐수의 적용가능성과 일부 최적배양조건을 기초로 시간 경과에 따라 조사한 두부공업폐수의 정화율과 ALA 생산성은 Fig. 5와 같다. ALA의 생성량을 증가시키기 위해 배양 1일째 15 mM의 농도로 첨가한 LA와 동일농도로 연속 3회 첨가한 glycine 및 succinate가 정화율과 균체생육에 미치는 영향은 무첨가시에 비해 최대치에 도달하는 배양기간이 3일에서 4일로 늦추어지는 경향과 균체 생산량 및 COD 제거율이 다소 감소하는 현상을 보였을 뿐 약 92% COD 제거율과 약 0.9 g/l의 균체량을 나타냄으로써 ALA의 생산과 동시에 폐수의 정화처리가 가능함을 알 수 있었다.

그럼에도 처리수의 COD가 약 250 ppm으로 방류수 기준에 미달하고 있는 점, 처리수 중에 함유된 ALA의 함량이 120 mg/l의 저농도인 점을 감안할 때 광합성세균의 고농도

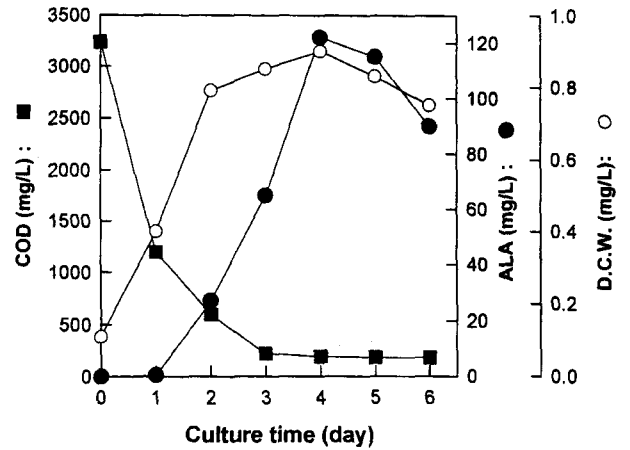


Fig. 5. Time course of cell growth, ALA production and COD removal efficiency under the optimized cultural condition. Cultivation was carried out under cultural optimized by one addition of 15 mM LA and three serial addition of 15 mM ALA precursors into soybean curd wastewater, as described in Fig. 4.

배양공정 및 광합성세균 고정화 반응조의 개발과 ALA 실용화를 위한 분리방법의 개발 또는 처리수의 직접이용 등에 있어 향후 지속적인 연구가 요구되고 있다.

감사의 글

본 연구는 농진청 농업특정연구개발사업의 연구비에 의해 수행된 연구의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. 小林達治 (1985) 光合成細菌による濃厚有機排水の資源化處理, 用手と廢水. **27**, 40-45.
2. Kobayashi, M., K. Fujii, I. Shimamoto and T. Maki (1979) Treatment and re-use of industrial waste water by photosynthetic bacteria. *Progress Water Technol.(U.K.)*, **11**, 279-284.
3. 小林正泰 (1978) 光合成細菌による高濃度有機廢水處理 (PSB 處理法). *醱酵と工業*, **36**, 753-765.
4. Kobayashi, M. and S. I. Kurata (1978) The mass culture and cell utilization of photosynthetic bacteria process. *Biochemistry*, **13**, 27-30.
5. Sawada, H. and P. L. Roger (1977) Photosynthetic bacteria in waste treatment. Mixed culture studies with *Rhodospseudomonas capsulatus* with agricultural/industrial effluents. *J. Ferment. Technol.*, **55**, 297-302.
6. 秋珍吉小 (1978) 養魚飼料として光合成細菌の利用. *醱酵と工業*, **36**: 836-841.
7. Kobayashi, M. (1976) Utilization and disposal of wastes by photosynthetic bacteria. In 'Microbial Energy Conversion' Schlege, H. G., J. Barnea and K. G. Enrich Golze Ed. pp.443-453, Göttingen.
8. Kobayashi, M. and M. Z. Haque (1971) Contribution to nitrogen fixation and soil fertility by photosynthetic bac-

- teria. Lie, T. A and E. G. Moulder, *Plant and Soil*, special vol., 443-456.
9. Sasaki, K., S. Ikeda, Y. Nishizawa and M. Hayashi (1987) Production of 5-aminolevulinic acid by photosynthetic bacteria. *J. Ferment. Technol.*, **65**, 511-515.
 10. Li, J. M., O. Brathwaite, S. D. Cosloy and C. S. Russell (1989) 5-aminolevulinic acid synthesis in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **171**, 2547-2552.
 11. 강성욱, 조경덕, 임왕진, 조홍연, 양한철 (1993) 두부공업폐수를 이용한 광합성세균 *Rhodospirillum rubrum* P17의 균체 생산. *산업미생물학회지*, **21**, 622-627.
 12. 조경덕, 강성욱, 임왕진, 조홍연, 양한철 (1993) 유기폐수처리를 위한 *Rhodospirillum rubrum* P17의 종균생산. *한국농화학회지*, **36**, 488-494.
 13. 정대열, 최양문, 조홍연, 양한철 (1997) δ -Aminolevulinic acid 생산 광합성세균의 분리 및 배양특성. submitted in *Hanguk Nongwahak Hoechi*.
 14. Lascelle, J. (1956) The synthesis of porphyrins and bacteriochlorophyll by cell suspension of *Rhodospseudomonas spheroides*. *J. Biochem.* **62**, 78-93.
 15. 永井 史郎, 田井 梁, 天道 俊孝 (1977) 豆腐製造廢水における汚染の轉換率, 汚染分解係數の推算. *醱酵工學會誌*, **55**, 289-293.
 16. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater (1989) 17th Ed., American Public Health Association, Inc., New York.
 17. Imhoff, K., W. J. Muller and D. K. B. Thistlethwayte (1971) Disposal of sewage and other water-borne. Butterworth co., London, 218-227.
 18. Sasaki, K., S. Ikeda, Y. Nishizawa and M. Hayashi (1987) Production of 5-aminolevulinic acid by photosynthetic bacteria. *J. Ferment. Technol.*, **65**, 511-515.
 19. Gilles, H., R. Jaench and R. K. Thauer (1983) Biosynthesis of 5-aminolevulinic acid in *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Arch. Microbiol.* **135**, 237-345.
 20. Sasaki, K., S. Ikeda, Y. Nishizawa and M. Hayashi (1980) Influence of iron of the excretion of 5-aminolevulinic acid by a photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Ferment. Bioeng.*, **68**, 378-381.

Production of δ -Aminolevulinic Acid in Soybean Curd Wastewater by *Rhodobacter capsulatus* KK-10.

Dae-Yeol Cheong¹, Yang-Mun Choi, Hong-Yon Cho* and Han-Chul Yang(¹Ottogi Research Center, Anyang 431-070, Korea, Institute of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea, Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea)

Abstract: The removal efficiency of COD and the production of δ -aminolevulinic acid (ALA) were concurrently investigated for both purifying the soybean curd wastewater of high BOD and utilizing the wastewater as a renewable substrate of ALA production using *Rhodobacter capsulatus* KK-10. Its wastewater was a favorable media for the growth of photosynthetic bacteria in terms of its environmental characteristics having COD/BOD rate of 0.98, ratio of BOD : N : P = 100 : 6 : 4, BOD/N ratio of 17.2, lactic acid of 1,080 ppm. Its COD value wastewater was decreased to 94% and dry cell weight was approached to about 1.2 g/l after cultivation of the photosynthetic bacteria for 4 days. By the addition of 15 mM levulinic acid (LA) into the wastewater at the middle log phase of cell growth, the amount of ALA secreted was 55 mg/l. The ALA production was considerably increased to 114 mg/l under the cultural condition of 15 mM supplementations of glycine and succinate with LA at the same period. Furthermore the maximum ALA production of 120 mg/l and COD removal efficiency of 92% were accomplished in the soybean curd wastewater enriched with one addition of 15 mM LA and three serial additions 15 mM ALA precursors.

Key words : soybean curd wastewater, photosynthetic bacteria, δ -aminolevulinic acid

*Corresponding author