

## 한국해안으로부터 Purple, Non-Sulfur Photosynthetic Bacterium, *Rhodobacter* sp. EGH-24의 분리 및 특성

차 미 선 · 김 기 한 · 조 순 자 · 이 나 은 · 이 정 은 · 이 재 동 · 이 상 준 · 박 재 림\*  
부산대학교 자연과학대학 미생물학과  
\*신라대학교 마린-바이오산업화지원센터  
(2003년 8월 7일 접수; 2003년 12월 5일 채택)

### Identification and Characteristics of a Purple, Non-Sulfur Bacterium, *Rhodobacter* sp. EGH-24 from Korea Coast

Mi-Sun Cha, Gi-Han Kim, Sun-Ja Cho, Na-Eun Lee, Jung-Eun Lee, Jae-Dong Lee,  
Sang-Joon Lee and Jae-Lim Bahk\*

Department of Microbiology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

\*Marine Biotechnology Center for Bio-Functional Material Industries, Silla University, Busan 617-736, Korea

(Manuscript received 7 August, 2003 ; accepted 5 December, 2003)

A species of facultative photo-organotrophic, purple, non-sulfur bacterium was isolated from the 47 point at west and south coast of Korea in September 2001. Separated 13 samples of changes with red color under 28~32 °C, 3000 lux, anaerobe conditions for 7 days cultivated in basal medium. For pure isolation from 13 samples, we used agar-shake tube method (0.4 % agar) and separated 5 strains through 13-repetition test. EGH-24 and EGH-30 was identified as the same strain through the RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)-PCR of strain EGH-9, EGH-13, EGH-23, EGH-24, EGH-30. Four isolates cultivated in synthesis wastewater for wastewater biodegradation test. EGH-24 was selected with efficient wastewater treating strain. Based on the results obtained from morphology, nutrient requirements, major bacteriochlorophyll content, 16S-rDNA phylogenetic analysis, EGH-24 strain may be identified as a new strain of the genus *Rhodobacter* and named *Rhodobacter* sp. EGH-24.

key words : Photosynthetic bacterium, PHB, RAPD-PCR, *Rhodobacter*

#### 1. 서 론

Photosynthetic bacteria에서의 광합성은 녹색식물에서의 광합성 process와는 대조적으로 분자상의 산소를 방출하지 않으며, 외부로부터의 수소공여체의 존재를 요구하고, 수소공여체의 산화가 곧 녹색식물 경우의 산소방출에 해당하는 것이다<sup>1)</sup>. 특히 purple, non-sulfur bacteria에 의하여 광동화 될 수 있는 유기화합물의 범위는 매우 넓다. 즉, 지방산, 다른 유기산, 1차 알콜 또는 탄수화물 그리고 방향

족 화합물까지도 포함된다.

형태학적, 분류학적으로 다른 미생물과는 크게 구분되는 photosynthetic bacteria는 photosynthetic metabolism이라는 독특한 방법을 가지고 있다는 것으로 특징 지워지고, 대부분 *Proteobacteria*의 *alpha-2 subclass, Rhodospirillales*에 속하는 세균으로 gram 음성이며 운동성이 있는 것은 극모성 편모를 갖고, 광합성 색소의 성질에 따라 자색 세균과 녹색 세균의 두 군으로 엄격히 구분된다<sup>2)</sup>.

Purple, non-sulfur bacteria에는 purple, sulfur bacteria나 green, sulfur bacteria와는 다른 3가지 점이 있다<sup>3)</sup>.

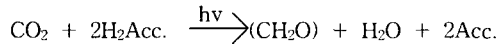
첫째, 이 세균은 그 수소공여체로 무기물보다는

Corresponding Author : Sang-Joon Lee, Department of Microbiology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea  
Phone : +82-51-510-2268  
E-mail : sangjoon@pusan.ac.kr

유기물을 우선적으로 이용한다는 점(몇몇 종은 무기물로서 유황화합물을 이용할 수도 있다).

둘째, 이 세균의 모든 종은 그 생장에 한가지 또는 두 가지 이상의 vitamin을 요구한다는 점 (*Rhodomicrobium*은 예외).

셋째, 이 세균의 대부분의 종들은 빛의 존재하에서 호기적으로 자란다는 점이다(이때에는 호흡에 필요한 수소공여체로서 광합성시에 사용되는 유기물과 같은 것을 이용하는데 이 경우의 이 세균은 보통의 heterotroph와 유사하게 보일 뿐만 아니라 실제 생리적으로도 호흡과 광합성은 상호전환이 가능하다). 주로 저급지방산등의 유기물을 수소공여체로 잘 이용하는 purple, non-sulfur bacteria의 반응식은 van Niel에 의하여



와 같이 나타나졌으며, 이 후의 연구로는 이 세균이 유기물을 수소공여체로 이용하는 외에 탄소원으로도 이용한다는 것이다.

이러한 특성을 가진 purple, non-sulfur bacteria는 다방면에서의 이용성이 타진될 수 있는데 먼저 이들이 생산하는 수소 gas를 이용한 무공해성 대체 에너지의 개발을 들 수 있으며, 어류나 가축의 사료 및 비료로서의 사용가능 등은 이미 일부 연구자에 의해 그 성과가 보고된 바 있다. 또한 무엇보다도

purple, non-sulfur bacteria는 유기물을 많이 함유하고, 오탁이 진행되고 있는 고인 물에서 저급지방산류에서 고급지방산까지 자화를 잘하는 세균이다. 고농도의 폐수 및 유해물질의 처리가 가능하고 운전관리가 용이하다는 장점이 있으며, 생활하수에 비해 10 내지 20배정도 높은 고농도 유기물을 함유하고 있는 축산폐수의 처리에 탁월한 효과가 있으며, 이에 대한 특이적인 악취제거 기능까지 있다<sup>4-8)</sup>. 그리고 purple, non-sulfur bacteria는 광조건하에서 폐기질을 이용하여 PHB를 생산함으로써 낮은 생산단가로 환경친화성 물질의 생산을 유도할 수 있다는 장점이 있다. 이러한 특성을 가진 purple, non-sulfur bacteria는 지금까지 대부분이 육수생태계를 중심으로 연구가 이루어져 왔다. 따라서 본 연구에서는 현재까지 대부분의 연구가 육수 생태계를 중심으로 이루어진 purple, non-sulfur bacteria에 대해 삼면이 바다인 우리나라의 특성에 맞춰 해양으로부터 purple, non-sulfur bacteria를 분리하고, 폐수처리 및 생물 사료 등 실제적인 응용이 이루어져야 한다는 필요성을 가지고 새로운 균주를 분리하여, 그 특성과 이용에 관한 탐색을 하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 광합성 균주의 분리

광합성세균을 분리하기 위해서 서해안과 남해안의 47개 지역의 해안에서 mud와 해수를 채취하여 본 실험의 시료로 이용하였다(Fig 1). 균 분리용 배지는 박이 사용한 basal medium<sup>9)</sup>을 기초로 하였으며(Table 1), 47개의 sample을 멸균 생리식염수로 희석하고 basal medium이 든 cap tube에 접종하고, 5000 lux의 백열등 아래 30cm 거리에서 30℃를 유



Fig. 1. Sampling 47 points in Korea coast.

Table 1. Basal medium for isolation purple, non-sulfur bacteria

Composition	Concentration (%)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.05
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.05
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.08
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.0053
MnSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.00012
Nicotinic acid	0.0001
Thiaminc-HCl	0.0001
Biotin	0.0001
Sodium acetate	0.2
Yeast extract	0.2
NaHCO <sub>3</sub>	0.1
MgSO <sub>4</sub>	0.02
NaCl	3

한국해안으로부터 Purple, Non-Sulfur Photosynthetic Bacterium,  
*Rhodobacter* sp. EGH-24의 분리 및 특성

지하면서 혐기상태로 7일간 배양하여 붉은색 또는 갈색을 형성한 것을 다시 2-3회 enrichment culture를 실시하였다. 분리된 균주들을 순수분리하기 위해서 agar-shake tube method<sup>10, 11)</sup>에 준하여, 0.4%의 agar가 첨가된 basal medium에 배양액을 희석 순으로 접종배양 하였다. Tube속에 나타난 구 모양의 단일 집락을 멸균한 tip으로 취한 후 다시 tube에 접종하는 방법으로 반복 배양하여 광합성세균을 순수분리하였다(Fig. 2).

2.2. RAPD-PCR을 이용한 균주 검색

순수분리한 균주들로부터 genomic DNA를 분리하고, 이것을 주형으로 하여 RAPD-PCR을 실시하였다. PCR 반응 조건은 initial denaturation: 94 °C, 3 min, denaturation: 94 °C, 1 min, annealing: 45 °C, 1 min, extension: 70 °C, 2 min의 조건으로 45 cycle을 실시한 뒤, final extension은 70 °C에서 5 min간 유지하여 증폭을 종결하였다

이때 사용한 primer는 SMO1, SMO2, SMO3으로 그 sequence는 아래와 같다<sup>12-15)</sup>.

SMO1 5'-ACGGTGCCTG-3'  
SMO2 5'-GAGATCCGCG-3'  
SMO3 5'-CGGGTCGATC-3'

2.3. 공시균의 선정

폐수처리능이 우수한 균주를 선별하기 위해서, 분리한 균주들을 각각 basal medium에 접종하여

anaerobe, 32 °C, 5000 Lux에서 32시간 배양하였다. 배양액을 원심분리 후 인산완충용액으로 세척하여 Table 2의 합성폐수 II (3% NaCl : CODcr 62,000 mg/l)에 접종하고, 5일 동안 배양하였다. 배양액 1 ml씩을 채취하여, 8,000 rpm으로 원심분리 한 다음, 상등액을 3차증류수로 10배 희석하여 COD 측정에 사용하였다. HACH사의 CODcr kit tube에 희석액 200 µl(1~15000 mg/l range)를 넣고 잘 섞은 다음, 150°C로 가열된 HACH사 COD reactor에서 2시간 가열한 후 실온에서 냉각하여 HACH사 DR/2010에서 CODcr치를 측정하여 비교하였다<sup>16)</sup>.

2.4. 공시균주의 분류 및 동정

공시균으로 선정된 균주의 동정을 위하여 16S rDNA 유전자 분석을 실시하였다. 공시균의 genomic DNA는 Murray와 Thompson의 방법<sup>17)</sup>을 변형하여 수행하였고, 16S rDNA 유전자 증폭에 이용된 primer는 eubacteria의 16S rDNA domain에 특이적으로 부착하여 증폭하는 27F (*E. coli* numbering 8~27: 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')와 1492R (*E. coli* numbering 1492~1510: 5'-TACGGYTACCTTGTTA CGACTT-3')을 사용하였다<sup>18)</sup>. PCR 반응을 위해서 Bioneer사의 AccuPower® PCR PreMix의 tube에 template DNA 1 µl, forward primer(10 pM) 1 µl, reverse primer(10 pM) 1 µl, 멸균 3차 증류수 17 µl을 넣어 잘 섞었다. PCR 반응은 initial denaturation: 94 °C, 3 min, denaturation: 94 °C, 1 min, annealing: 55 °C, 1 min, extension: 72 °C, 3 min의 조건으로 30 cycle을 실시한 뒤, final extension은 72 °C에서 5 min간 유지하여 증폭하였다.

PCR 증폭산물은 QIAGEN사의 QIAquick® gel extraction kit을 사용하여 purify하고 DNA sequencing system(ABI 310)을 이용하여 direct sequencing을 실시하였으며, 결정된 염기서열은 Blast network service을 이용하여 EMBL/

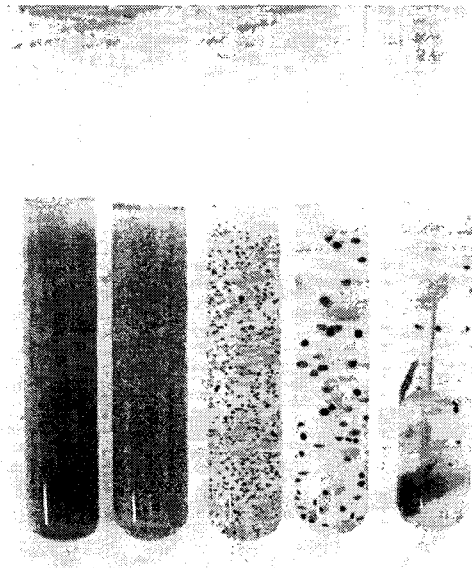


Fig. 2. Agar-shake tube method for isolation of anaerobic bacteria in pure culture. A dilution series was established from left to right, eventually yielding well-isolated colonies.

Table 2. Composition of the synthesis waste water II

Composition	Concentration (%)
Glucose	2
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.05
MgSO <sub>4</sub>	0.02
NaCl	3
Cl <sub>3</sub> Fe · 6H <sub>2</sub> O	0.0005
CaCl · 2H <sub>2</sub> O	0.005
Yeast extract	0.001

±CODcr 62,000 mg/l (pH 7.0)

GeneBank database의 염기서열과 비교함으로써 계통분류학적 유연관계를 분석하였다.

또한 공시균주로 선정된 균의 분류학상 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양적, 생화학적 제반 특성을 검토하여 Bergey's manual of systematic bacteriology<sup>2)</sup>와 Handbook of microbiology 제2판<sup>19,20)</sup>을 참고로 하여 분류, 동정하였다.

2.5. PHB 생산성 검토

공시균의 PHB(poly-β-hydroxybutyric acid)의 생산성을 조사하기 위해, 배양액으로부터 회수한 건조균체 50 mg을 chloroform 2 ml와 메탄올(3 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 함유) 2 ml가 첨가된 screw cap tube에 넣어, 100 °C에서 3시간 30분 동안 반응시킨 후 상온으로 냉각시켰고, 이 용액에 증류수 1 ml를 첨가하여 강하게 진탕함으로써 PHB를 methylesterification시켰고, 이중 PHB가 methylester화 되어있는 유기용매층 2 μl를 GC(gas chromatography)에 주입하여 측정하였고 GC작동 조건은 Table 3에 나타났다<sup>21)</sup>.

3. 결과 및 고찰

3.1. 광합성세균의 분리

한국 남해안과 서해안의 47 지역에서 해수와 mud시료를 채취하여(Fig. 1) Basal medium(Table 1)에 7일간 배양한 후, 붉은색으로 변한 tube 13개를 선별 분리하였고, Agar-shake tube method(Fig. 2)로 반복 배양하여 5종의 균주들을(EGH-9, 13, 23, 24, 30) 순수분리 하였다.

3.2. RAPD-PCR을 이용한 균주 검색

5종의 순수분리 된 균주들(EGH-9, 13, 23, 24, 30)을 대상으로 RAPD-PCR을 한 결과 Fig. 3에서와 같이 EGH-24와 EGH-30은 같은 균주로 확인되

어 최종적으로 한국해안에서 순수분리된 광합성세균은 총 4종으로 확인되었다.

3.3. 공시균주의 선정

순수분리된 4종의 균주들 중 폐수처리능이 뛰어난 균주를 선별하기 위하여 인공합성폐수를 제조하여 COD감소율을 조사한 결과 Fig. 4와 같았다. EGH-24의 경우 5일 배양한 후 약 68% 정도의 COD 제거율을 나타내어 다른 균주들에 비해 우수한 폐수처리능을 보여 주었다. 따라서 EGH-24를

Table 3. Operation conditions of GC for quantitative analysis of PHB

Contents	Operation condition
Instrument	HP-5890A GC
Integrator	HP-3390A
Detector	Flame ionization detector(FID)
Column	6 - feet glass packed column
Column packing material	10 % Carbowax 20 M ON
Support	Chromosorb WAW/DMCS (80/100 mesh)
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Carrier N <sub>2</sub> flow rate	30 ml/l
Carrier H <sub>2</sub> flow rate	42 ml/l
Carrier air flow rate	440 ml/l
Temperature	
Column-initial	160 °C
Column-final	200 °C
Oven	160 °C
Injector	220 °C
Detector	250 °C
Initial time	5 min
Program rate	10 °C/min
Final time	4 min
Equilibrium time	3 min
Injection volume	2 μl

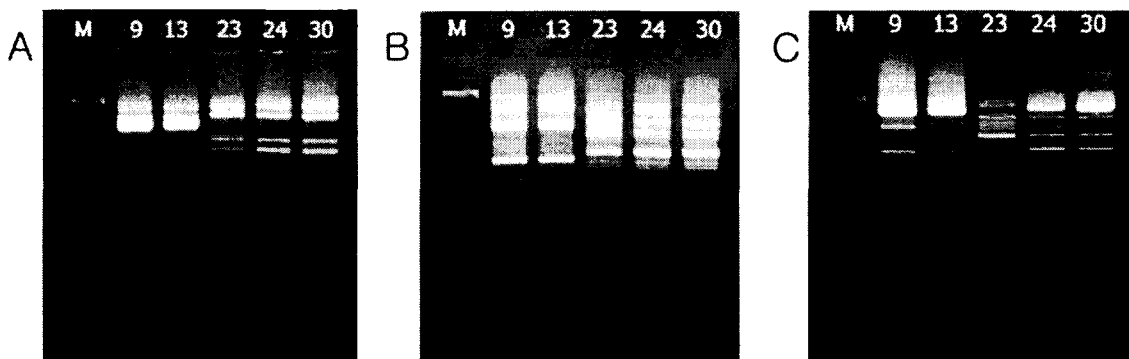


Fig. 3. RAPD-PCR profiles obtained with primers : SMO1 (A); SMO2 (B); SMO3 (C) show the variations among the DNA of the five EGH-9,13,23,24,30 (M: 1 Kb ladder).

한국해안으로부터 Purple, Non-Sulfur Photosynthetic Bacterium,  
*Rhodobacter* sp. EGH-24의 분리 및 특성

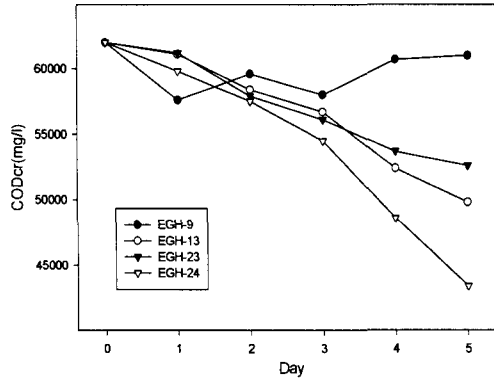


Fig. 4. Biodegradation of the waste water for 4 strains(EGH-9 : -●-, EGH-13 : -○-, EGH-23 : -▼-, EGH-24 : -▽-).

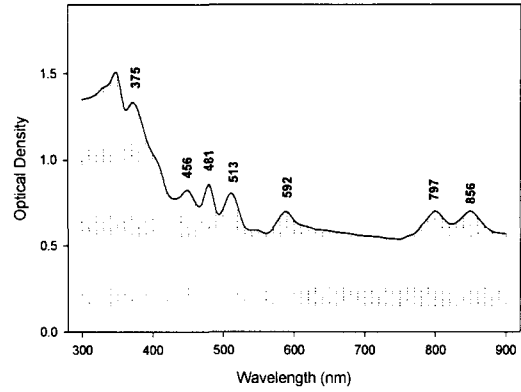


Fig. 5. Absorption spectrum of cell suspension of isolate grown under phototrophic conditions showing major absorption peaks at 375, 592, 797 and 856 nm, indicating the presence of bacteriochlorophyll a and 456, 481 and 513 nm, indicating the presence of carotenoid (spheroidene).

공시균으로 선정하였다.

EGH-24의 경우 인공합성폐수 이외의 다른 폐기질의 이용성의 조사에서도 우수한 성능을 보여주었다 (자료미제시) 따라서 기타의 다른 배양 조건을

Table 4. Morphology and biochemical characteristics of the selected strain of photosynthetic bacteria EGH-24

Content	Characteristics
<b>Morphology</b>	
Size	1.2~1.6 $\mu\text{m}$ (normal) 2.0~2.5 $\mu\text{m}$ (PHB production)
Shape	Rod
Flagella	Positive
Mode of division	Binary fission
<b>Growth and color</b>	
Anaerobic, light	Good growth, brown to purple
Anaerobic, dark	Poor growth, colorless
Aerobic, light	Good growth, purple
Aerobic, dark	Good growth, pale pink
Gram staining	Negative
Motility	Positive
G+C content	55.853 %
<b>Biochemical</b>	
Gelatin liquefaction	Positive
Starch hydrolysis	Positive
Casein utilization	Positive
Urease	Positive
Nitrate reduction	Negative
H <sub>2</sub> S formation	Positive
Bacteriochlorophyll	a (375, 592, 797, 856 nm)
Carotenoid	Spheroidene (group 2)
Growth factor requirement	Negative
Reduced sulfur compound utilization	Negative
Hydrogen evolution	Positive
Oxidation	Positive
Aidification	Negative

조절할 경우 매우 우수한 폐수처리능을 가진 광합성 세균으로의 개발이 가능하리라 사료된다.

3.4. 공시균의 분류 및 동정

EGH-24의 형태학적, 배양학적, 생화학적 특성을 조사한 결과는 Table 4에 나타내었다. EGH-24는 그람음성의 간균으로 운동성을 가지며, 포자를 형성하지 않았고 편모(단극모)를 관찰 할 수 있었다. 또한 배양액의 배양정도와 색깔 등으로 배양적 특성을 관찰한 결과 Anaerobe, 0 lux의 배양액 조건에서만 잘 성장하지 못했고 붉은 색의 색소는 빛의 존재 하에만 나타났다. 또한 EGH-24이 생산하는 bacteriochlorophyll은 375, 592, 797, 856 nm 파장에서 peak를 나타내는 bacteriochlorophyll a 였고,

carotenoid 색소는 456, 481, 513 nm 파장에서 peak를 나타내 group 2의 spheroidene이 주성분이었다 (Fig. 5). 또한 electron donor와 carbon source 이용은 Table 5에서 보는 바와 같다.

EGH-24의 16S rDNA sequencing 결과는 Fig. 6에서 나타내었고, 16S rDNA 염기서열을 기초로한 분자계통학적 분석 결과는 Fig. 7에 나타내었다. 16S rRNA 염기서열 분석 결과, *Marichromatium purpuratum* 와 98%의 상동성을 나타내었다.

상기의 형태학적, 배양적, 생화학적인 특성과 16S rRNA sequencing 결과를 종합한 결과, 16S rRNA의 분석은 Proteobacteria의  $\gamma$  subclass에 해당하는 *Marichromatium purpuratum* 와 가장 가깝게 나

1	TATGACCGCTGGCGGCATGCCTAACACATGCAAGTCGAACGCGAAACCCCTTCGG	55
56	GGGGAGTAGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTGTGGGAATCTGCCCTGCAGCGGG	110
111	GGATAACCCGGGGAAACTCGGGCTAATACCGCATAACGACCTACGGGTGAAAGGGG	165
166	GCTTCGGCTCTCACTGCAGGATGAGCCCACATCCGATTAGCTTGTGGTGAGGTA	220
221	ACGGCTACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACT	275
276	GGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGAC	330
331	AATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTGCGGGTT	385
386	GTAAGCACTTTCAGCGAGGAAGAAAAGCCTGTGGTTAATACCCATGGGTCTTGA	440
441	CGTTACTCGAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGCGGTAATAC	495
496	GGAGGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCGTAAAGGCGCACGTAGGCGGC	550
551	GAGGTCACTCAGTATGTGAAAGCCCCGGGCTTAACTGGGAAGTGCATTTGATAC	605
606	TGCCTGGCTAGAGTTTGATAGAGGGGGTGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATG	660
661	CGTAGATATCTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGATCAAACTGA	715
716	CGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCAC	770
771	GCCGTAACGATGTCNACTAGCCCGTTGGGCTCATTTAAGGGTTTAGTGGCGCAG	825
826	CTAACGCGATAAGTCGACCGCCTTGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAACTCAAAG	880
881	GAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAAC	935
936	GCGAAGAACCTTACCAGCCCTTGACATCCTCGGAAGTGGCAGAGATGCCCTTGGT	990
991	GCCTTCGGGAGCCGAGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTA	1045
1046	GATGTTGGGTAAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACG	1100
1101	TAATGGTGGGAAGTCTAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGTGGGGAT	1155
1156	GACGTCAAGTCATCATGGCCCTTATGGGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTC	1210
1211	GGTACAGAGGGTTGCAAAGCGGCGACGTGGAGCTAATCTCAGAAAACCGGTGTA	1265
1266	GTCCGGATTGCAGTCTGCAACTCGACTGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGC	1320
1321	GAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAC	1375
1376	ACCATGGGAGTTGGTTGCACCAGAAGTAGATAGCTTAACTTCGGGAGGGCGTTTA	1430
1431	CCACGGTGNATCAANACTGGGG	1452

Fig. 6. Nucleotide sequence of the 1452 bp PCR product.

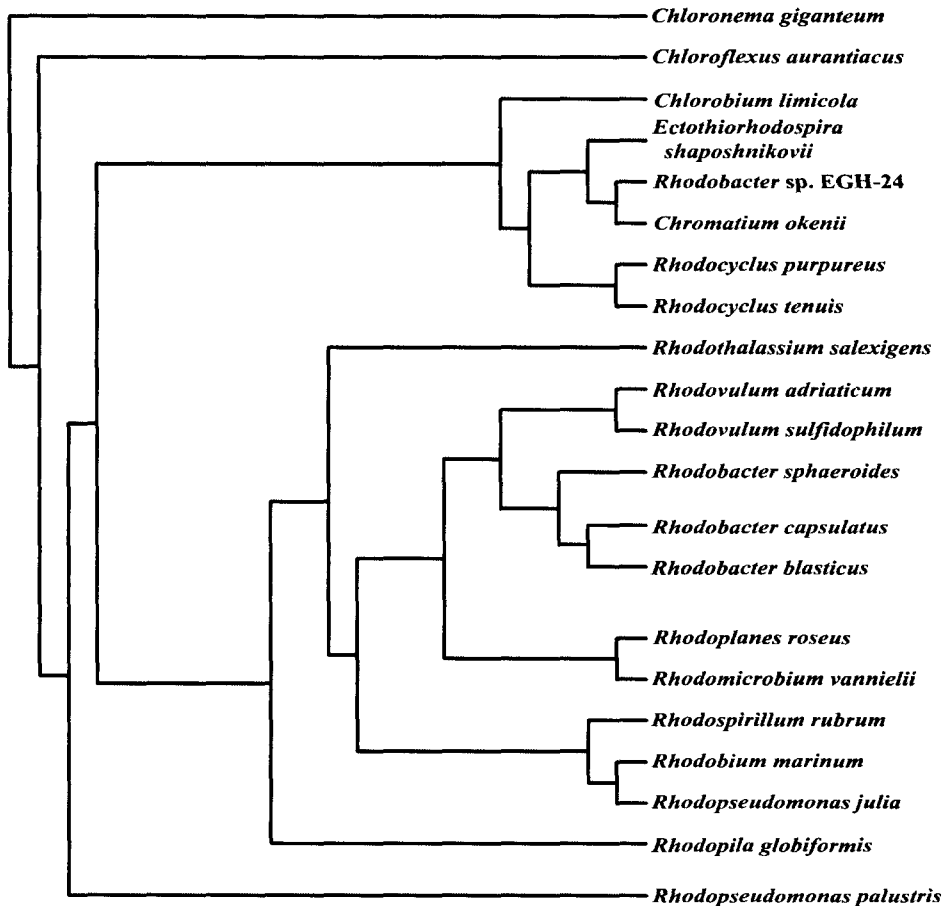


Fig. 7. A rooted tree generated from an alignment of 1452 bp of the 16S rRNA of the isolated with the photosynthetic bacteria obtained from the GenBank database.

타났고, purple, non-sulfur bacteria 중에는  $\beta$  subclass에 해당하는 *Rhodocyclus*속(대부분의 purple, non-sulfur bacteria는  $\alpha$  subclass에 해당)과 가깝게 나타났다. 하지만 Bergey's manual 상의 형태학적, 배양적, 생화학적 부분에서 *Marichromatium* 속과 다르고 *Rhodobacter* 속과 가장 유사한 결과를 가져왔다. 따라서 결론적으로 본 실험에서 공시균주로 선정한 EGH-24균은 *Rhodobacter* 속으로 동정되었다.

### 3.5. *Rhodobacter* sp. EGH-24의 PHB 생산성 검토

공시균주인 *Rhodobacter* sp. EGH-24의 전자현미경사진 관찰 (Fig. 8)에서 PHB로 추정되는 물질이 관찰되었다. 따라서 GC를 이용하여 그 물질을 확인한 결과 Fig. 9에서와 같이 PHB임이 확인되었다.

## 4. 결 론

한국 서해안과 남해안 47개소의 해수와 mud 시료로부터 광합성세균으로 유추되는 13개의 균주를 분리하였고, agar-shake tube method와 RAPD-PCR을 이용하여 4개 서로 다른 균주를 순수분리하였다. 4개의 균주 중 폐수분해능이 가장 뛰어난 균을 선정하여, 형태학적, 배양적, 생화학적 특성 및 16S rRNA sequencing에 의한 동정결과 purple, sulfur bacteria 쪽에 가까웠으나 형태학적, 배양학적, 생화학적 특성이 purple, non-sulfur bacteria의 *Rhodobacter* 속에 가장 근접하여, *Rhodobacter* sp. EGH-24로 명명하였다.

*Rhodobacter* sp. EGH-24의 carotenoid 색소는 spheroidene(group 2)이었고, bacteriochlorophyll은 a 였으며, GC실험 결과 PHB를 생산하였다.

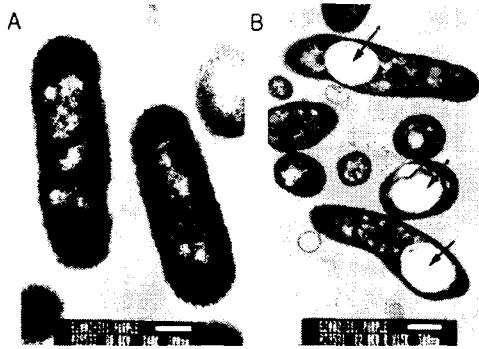


Fig. 8. Transmission electron micrograph of the isolated strain(indicate bar A[200 nm], B[500 nm], arrow : PHB).

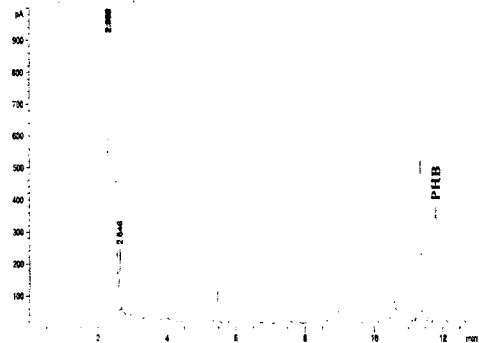


Fig. 9. Gas chromatogram of PHB produced by *Rhodobacter* sp. EGH-24.

이상의 결과를 통해 공시균주인 *Rhodobacter* sp. EGH-24는 폐수처리능이 우수할 뿐아니라 PHB 생산성도 있어 본 연구를 지속적으로 진행하여 폐기질을 이용하여 PHB를 생산함으로써 환경친화성 생분해 물질의 생산을 위한 생산단가 저감효과 뿐만아니라, 생물학적 폐수처리 및 산업폐기물의 recycling 효과도 기대할 수 있으리라 사료된다.

#### 감사의 글

본 연구는 신라대학교 마린-바이오산업화지원센터의 지원 및 2003년도 Brain Busan 21사업의 지원을 받아 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

#### 참고 문헌

- 1) 이은숙, 권애란, 1997, 수소 생성 광합성 세균 *Rhodobacter sphaeroides* KS 56 분리, Korean J. Food & Nutr., 10(4), 549-552.
- 2) James, T. S., 1989, Bergy' Manual of Systematic Bacteriology, The William and Wilkins Co., U.S.A., 3, 1635-1696.
- 3) 李光雄, 1971, 光合成細菌의 生理 및 利用에 關한 最近의 動向, Kor. Jour. Microbiol., 9, 130-138.
- 4) Kim, J. K., B. K. Lee, S. H. Kim and J. H. Moon, 1999, Characterization of denitrifying photosynthetic bacteria isolated from photosynthetic sludge, Aquacultural Engineering, 19, 179-193.
- 5) 손경식, 1996, 광합성세균을 이용한 축산폐수의 처리방법 및 시스템, 대한민국특허, 10-1996-0082479.
- 6) 심범석, 2000, 유기성폐기물의 처리방법 및 장치, 대한민국특허, 10-2000-0023108.
- 7) 이상철, 2001, 광합성세균 간이 배양기, 대한민국특허, 20-2001-0011869.

- 8) Huang, J. S., C. S. Wu, C. G. Jih and C. T. Chen, 2001, Effect of Addition of *Rhodobacter* sp. to Activated-Sludge Reactors Treating Piggery Wastewater, Wat. Res., 35(16), 3867-3875.
- 9) 박용성, 1991, 광합성 세균의 고농도 배양방법, 대한민국특허, 특1991-0014632.
- 10) Madigan, Martinko, Parker, 1997, Brock 대학 미생물학 탐구당, 804-805pp.
- 11) 한국미생물학회, 1998, 대학미생물학 실험서, 을유문화사, 339-348pp.
- 12) Sharifeh, M., U. M. Ekanemesang, F. O. Aikhionbare, K. S. Kimbro and J. Bender, 2001, Identification and characterization of *Rhodospseudomonas* spp., a purple, non-sulfur bacterium from microbial mats, Bio-molecular Engineering, 18, 49-56.
- 13) Stefania, R., K. Gindro, H. Richter and O. Viret, 2002, Characterization of molecular markers for specific and sensitive detection of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. in strawberry (*Fragaria ×ananassa* Duch.) using PCR, FEMS Microbiolgy Letters, 10379, 1-6.
- 14) Aikhionbare, F. O., K. P. Pruess and Z. B. Mayo, 1998, Greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes characterized using random amplified polymorphic DNA. Genetic Analysis: Bio-molecular Engineering, 14, 105-108.
- 15) Fabio, F. M., A. Nóbrega, I. E. Marriel, E. Paiva and L. Seldin, 2002, Genetic diversity of *Paenibacillus polymyxa* populations isolated from the rhizosphere of four cultivars of maize (*Zea mays*) planted in Cerrado soil, Applied Soil Ecology, 583, 1-14.
- 16) 오광근, 이철우, 전영중, 이재홍, 1996, 광합성세



한국해안으로부터 Purple, Non-Sulfur Photosynthetic Bacterium,  
*Rhodobacter* sp. EGH-24의 분리 및 특성

- 균에 의한 미생물막의 형성, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 24(6), 733-737.
- 17) Murray, M. G. and W. F. Thompson, 1980, Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA, Nucleic Acid Res., 8, 4321-4325.
- 18) Lang, D. J., 1991, 16S/23S rRNA sequencing, In E. Stackebrandt and M. Goodfellow (ed.), Nucleic acid techniques in bacterial systematics. John Wiley and Sons, New York, 115-175pp.
- 19) Laskin, A., 1977, Handbook of Microbiology 2nd Edition Volume I, I. C. R. C., Press Inc., 119-130pp.
- 20) Laskin, A., 1977, Handbook of Microbiology 2nd Edition Volume V, I. C. R. C., Press Inc., 641-647pp.
- 21) 손홍주, 1995, 세균에 의한 포도당과 주정증류 폐액으로부터 생분해성 Polyhydroxyalkanoic Acid의 생산, 부산대학교 대학원 박사학위논문, 200-206pp.