

A Effect on Physiological Metabolism of Microorganism Which Irradiated by Non-ionization Radiation

In-Ho Ko

Department of Radiotechnology, Cheju Halla University

Received: May 09, 2018. Revised: June 26, 2018. Accepted: June 30, 2018

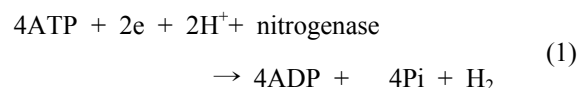
ABSTRACT

A Effect on physiological metabolism of microorganism which irradiated by visible light of non-ionization radiation(12,000 Lux) was investigated. The microorganism used in this experiment was a *Rhodospirillum rubrum* KS-301 of chemosyntheticmicroorganism. Batch fermentation of glucose were implement, and based on the data resulted from the fermentation. First, physiological characteristic of microorganism which was not irradiated was investigated. As a result, the decrease of the residual quantity of the substance(5.03 g/L - 2.17 g/L) was increased with the quantity of the bacteria(1.08 g/L - 3.14 g/L)and the quantity of the hydrogenous production(0.186 g - 0.3 g) respectively. Second, physiological characteristic of microorganism which was irradiated was investigated. As a result, the decrease of the residual quantity of the substance(13.17 g/L - 5.2 g/L) was increased with the quantity of the bacteria(4.7 g/L - 10.57 g/L)and the quantity of the hydrogenous production(0.186 g - 0.3 g) respectively. As the physiological characteristic of microorganism which was irradiated by visible light of non-ionization radiation(12,000 Lux) was active with its life, but the cell damages irradiated by with gamma-ray, X-ray, electron-ray in ionization radiation were appeared at cell.

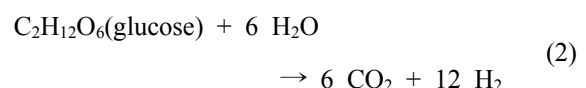
Keywords: visible light, *Rhodospirillum rubrum* KS-301, physiological metabolism

I. INTRODUCTION

세균과 같은 단세포미생물은 생리적 대사 과정에서 기질의 소비, 균체의 증식, 생성물의 증가 속도가 균체의 특징, 발효환경에 따라서 결정되는 데 이 때 비 전리방사선인 가시광선을 홍색 비유황 광합성세균에 조사 하였을 때 광합성기관(chromatophore)의 광화학계 I(photosystem I)에 관여하는 순환식 광인산화(cyclic photophosphorylation)에 의해 ATP(adenosine 5'-triphosphate)가 생성되고 유기물 기질로부터 공급된 전자가 질소고정효소인 nitrogenase 효소계의 전자 운반체가 환원되어 이 환원력과 ATP를 이용하여 nitrogenase의 작용하여 수소가 생성된다.^[1]



그러므로 세균에 의한 수소생성시스템은 생물학적 광분해가 아니고 넓은 범위로 정의한다면 유기 혼합물이 물로부터 산소분자가 생성되는 동안 광합성의 이산화탄소 고정 공정과 함께 동시에 발생하므로 유기물질로부터 세균에 의한 광생산이 일어난다. 유기혼합물로부터 유기물질이 수소와 이산화탄소로 분해되는 과정은 다음 반응식으로 나타낼 수 있다.^[2,3]



미생물의 생리적 대사과정에서 발생한 생성물 중 CO₂만이 대기오염물질이므로 기체분리로 간단히 처리가 가능하다.

이에 따라서 본 연구에서는 홍색 비유황 광합성 세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301에 비 전리방사선(가시광선)이 조사될 때와 조사 안 될 때 회분 반응기로부터 glucose가 수소를 생성하는 실험을 하여 비 전리방사선(가시광선)을 조사한 광합성세균에서의 생리적 대사과정에 미치는 영향을 실험을 하였고 그 결과를 토대로 하여 세포에 대한 생명현상을 전리방사선(감마선, 엑스선, 전자선)과 비교 연구하였다.

II. MATERIAL AND METHODS

1. 실험재료

1.1 균 배양

실험에 사용한 세균은 *Rhodospirillum rubrum* KS-301이다. 이 균들을 보관하기 위한 stock culture 은 G5 배양액의 조성은 yeast extract(Difco Co) 5 g/L, pepton(Difco Co) 5 g/L, agar 25 g/L, K₂HPO₄ 180mg/L, KH₂PO₄ 120mg/L, DL-malic acid 3.5 g/L, L-glutamate 5 g/L이며 멸균하기 전에 0.1 N HCl과 0.1 N NaOH을 사용하여 pH 7로 맞추었다.

이 때 pH meter(Horiba Co., M-7E)로 조정하였다. 이 균의 생리적 활성을 유지하기위해 broth 상태로 1-2 주마다 교환 배양하였으며 broth 배양의 조성은 Ormerod basal medium으로 조성은 Table 1.^[4]에 나타내었다. 이 배지도 pH는 7로 맞추었다. preculture 는 glucose적용을 위해 broth culture의 조성에서 DL-malic acid 대신에 biotin 15 µg/L, glucose 5.4 g/L 또는 glucose 14.5 g/L를 첨가하였다.

이 배지는 pH를 6.9로 맞추었으며 각 용액은 12 1°C에서 15분간 살균하여 사용하였다. Main culture 는 pH를 6.9로 맞추었으며 배양액은 4가지 용액으로 나누어 앞에서 나타낸 것과 같은 방법으로 살균하여 사용하였다.

Table 1. Ormerod basal medium(broth culture)

Component	Concentration(g/L)
K ₂ HPO ₄	0.9
KH ₂ PO ₄	0.6
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.0118
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.075
EDTA	0.02
DL-Malic Acid	4
Yeast Extract	0.1
Sodium L-Glutamate	0.1
Trace Elements solution	1ml*
pH	7.0

Table 2. Trace Elements solution

Component	Concentration(g/L)
H ₃ BO ₃	2.8
Cu(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0.04
MnSO ₄ · 4H ₂ O	2.1
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.24
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.75

1.2 실험기기

반응기, Magnetic Stirrer, 아르곤탱크, 분광광도계 (Shimadzu UV-2401PC, Japan), 원심분리기(Beckman J2-2401PC, Gas chromatography(Shimadzu 7A), pH meter(Union prix, model GP-55), 100 watt 전구조명 (비 전리방사선인 가시광선조사기구) 등을 사용했다.

2. 실험 장치

본 실험에 사용하는 회분 발효실험 장치로 Fig. 1 에 나타내었고 반응기의 용량은 1.5 L이며 밑면적은 12 × 5.6 cm², 배양액이 차 있는 높이는 15 cm로서 비 전리방사선인 가시광선을 조사받은 면적은 180 cm²(12 × 15)이다. 반응기와 배양액은 autoclave 로 121 °C에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 이 때 배양액은 glucose, sodium L-glutamate, KH₂PO₄ 미량 원소의 4가지 용액으로 나누어 각각 멸균하여 혼합하였다.^[4,5] 배양액이 혐기성 상태가 보존되기 위해서 아르곤 가스를 5분간 흘려 보냈으며 자석 교반

기(Magnetic Stirrer)로 교반하여 내용물을 혼합하는 한편 물 재킷으로 반응온도를 일정하게 유지하였다. 비 전리방사선인 가시광선의 강도는 100 W 전구 2개를 양쪽에 설치하여 12,000 Lux로 홍색 비유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301에 조사하였으며^[6,7] 그 결과 발생하는 생리적 대사과정에서 생성된 분석시료는 sampling needle로 채취하였다.

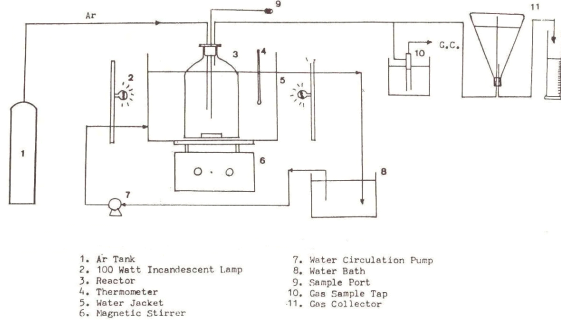


Fig. 1. Schematic Diagram of Batch Experimental Apparatus.

- 1. Ar Tank 2. 100W Lamp 3. Reactor 4. Thermometer
- 5. Water Jacket 6. Magnetic Stirrer 7. Water Circulation Pump 8. Water Bath 9. Sample port 10. Gas Sample Tap
- 11. Gas Collector

3. 실험 방법과 분석 방법

3.1 실험 방법

stock culture로부터 균주를 취하여 broth culture에 접종 시킨 후 이 배양액 10 ml를 preculture 1 L에 접종시킨다. 이것을 회분반응기에 넣어 예비 회분 실험을 수행하였다. 광학농도 optical density(O·D)가 0.6이 될 때까지 비 전리방사선인 가시광선의 강도로 12,000 Lux을 홍색 비유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301에 조사하면서 배양한 후 이 배양액 700 mL를 8,000 rpm에서 10분간 원심 분리시킨 후 이 농축된 균체를 main culture 1 L에 다시 분산 시켰다. 본 실험에서는 기질의 초기농도를 5.4 g/L로 고정시켰을 때 의 시간의 변화에 따른 기질 소비량, 수소생성량, 균체 증식량을 조사하였다.

3.2 분석 방법

G·C(Shimadzu 7A)를 사용하여 수소의 농도를 측

정하였다. column은 2.5m stainless steel을 충전 물질로는 Porapak Q를 사용하였다. Carrier gas는 질소를 사용하였고 압력은 0.8 kgf/cm²이고 검출기는 TCD를 사용하였다. 이 때 시료 주입량은 300 μl이었고 검출기 전류는 10 mA를 사용하였다. 균체의 양은 분광광도계(Shimadzu UV-2401PC, Japan)로 660 nm에서 optical density(O·D)를 측정하고 검량선을 사용하여 건조 균체량으로 환산하였다. 글루코오스 농도도 분광광도계로 측정하였는데 순수 글루코오스인 경우 DNS(denitrosalicylic acid)발색법을 적용하여 파장 575 nm에서 optical density(O·D)를 측정하고 검량선을 사용하여 환산하였다. 발효 용액 중의 잔류 글루코오스인 경우는 먼저 시료를 8000 rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 고형물을 제거한 다음 DNS발색법으로 측정하였다.

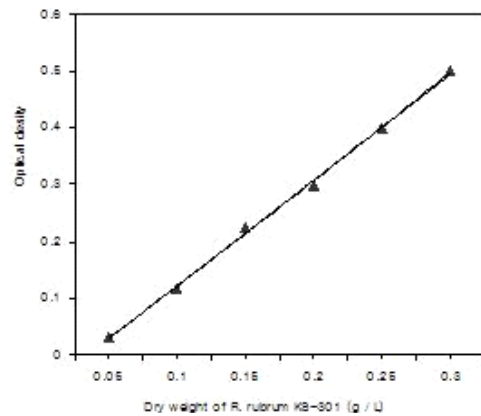


Fig. 2. Standard calibration curve of R. rubrum KS-301 at 660nm.

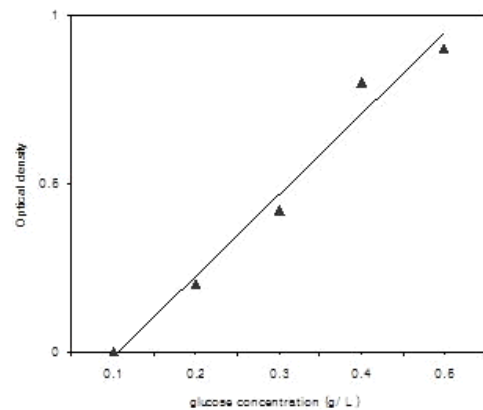


Fig. 3. Standard calibration curve of glucose at 575nm DNS method.

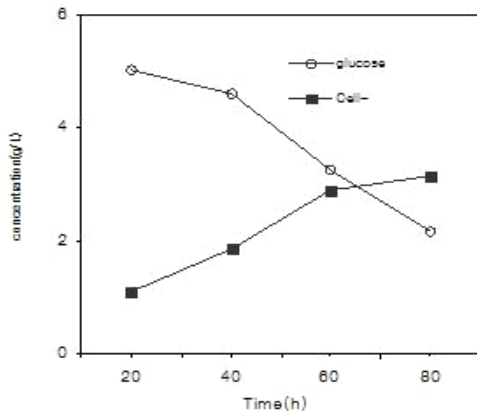


Fig. 4. Batch culture of *R. rubrum* KS-301 by non-irradiation. (Initial glucose con, = 5.4 g/L. Tem, = 30°C, pH =7.0)

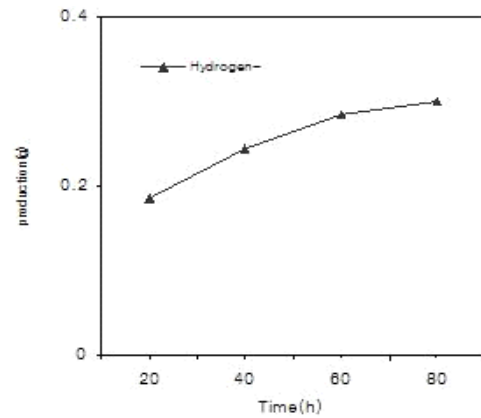


Fig. 7. Batch culture of *R. rubrum* KS-301 by irradiation (Initial glucose con, = 14.5 g/L. Tem, =30°C, pH =7.0)

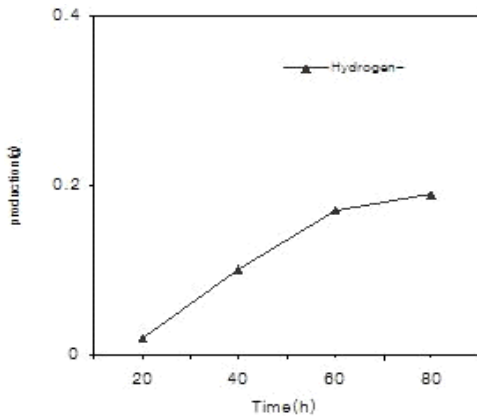


Fig. 5. Batch culture of *R. rubrum* KS-301 by non-irradiation (Initial glucose con, = 5.4 g/L. Tem, = 30°C, pH = 7.0)

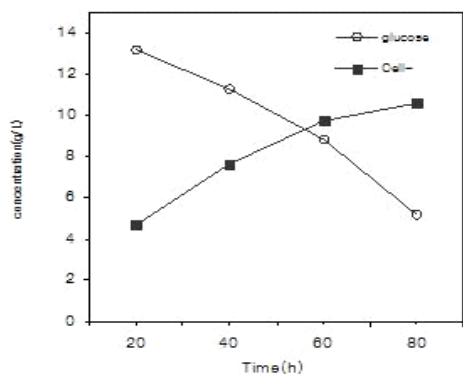


Fig. 6. Batch culture of *R. rubrum* KS-301 by irradiation. (Initial glucose con, = 14.5 g/L. Tem, =30°C, pH =7.0)

III. RESULT

1. 미생물 회분실험 결과

홍색 비유황 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301에 대한 비 전리방사선인 가시광선의 강도는 100 W 전구 2개를 양쪽에 설치하여 12,000 Lux로 조사할 때와 안 할 때의 기질소비량, 균체증식량, 수소생성량을 측정하여 기질인 glucose의 초기농도를 5.4 g/L, 14.5 g/L, 온도 30°C, pH 7.0으로 하였을 때 시간의 변화에 따라 균체량, 수소생성량, 잔류 glucose 농도를 Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig.7을 통해서 살펴본 결과 조사할 때와 안 할 때보다 기질인 glucose 농도가 2배에서 3배까지 감소하고 균체량은 2배에서 4배까지 증가하였으며 그 결과 수소 생성량도 2배에서 3배까지 증가함을 알 수가 있었다.

2. 미생물의 생리적 대사

2.1 비 전리방사선인 가시광선을 조사를 하지 않은 때의 미생물의 생리적 대사 특성

(1) 시간의 변수 영향

회분발효시간을 각각 20, 40, 60, 80 hr으로 한 후 균체량, 수소 생성량, 잔류 glucose 농도를 Fig. 4에 나타내었다. 잔류 glucose 농도가 5.03 g/L - 2.17 g/L로 감소함에 따라서 균체량은 1.08 g/L - 3.14 g/L로 증가함을 알 수가 있었고 Fig. 5는 Fig. 4에서

잔류 glucose 농도가 감소 할 때 균체량이 증가하면서 배설물(생성물)인 수소가 0.02 g - 0.19 g으로 증가하였다. 이는 홍색 비 유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301가 기질인 glucose를 소비하면서 균체량이 증식하였고 그 결과 생성물(배설물)인 수소가 생성 되었다.

2.2 비 전리방사선 가시광선을 조사한 미생물의 생리적 대사 특성

회분발효시간을 각각 20, 40, 60, 80 hr으로 한 후, 균체량, 수소 생성량, 잔류 glucose 농도를 Fig.6에 나타내었다. 잔류 glucose 농도가 13.17 g/L - 5.2 g/L로 감소함에 따라서 균체량은 4.7 g/L - 10.57 g/L로 증가함을 알 수가 있었고 Fig. 7은 Fig. 6에서 잔류 glucose 농도가 감소 할 때 균체량이 증가하면서 배설물(생성물)인 수소가 0.186 g - 0.3 g로 증가하였다. 이는 홍색 비 유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301가 기질인 glucose를 소비하면서 균체량이 증식하면서 생성물(배설물)인 수소가 생성 되었다.

IV. DISCUSSION

1949년 Gest와 Kamen이 비 전리방사선인 가시광선을 조사한 광합성세균에 의한 수소생성에 대한 연구보고가 최초로 있는 후 비 전리방사선인 가시광선을 조사한 홍색 비 유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301에서 유기성 기질로부터 수소생성은 1979년에 Zurrer와 Bachofen이 실험으로 입증하였으며^[8,9] 이는 본 실험결과에서 나타난 것과 같이 기질인 glucose를 소비하면서 균체량이 증식하고 그 결과가 생성물(배설물)인 수소를 생성하는 것과 유사하게 나타내었다. 본 실험에서는 비 전리방사선인 가시광선의 강도는 100 W 전구 2개를 양쪽에 설치하여 12,000Lux로 홍색 비 유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301에 조사하거나 조사를 안 한 때의 결과를 시료로 측정 한 결과 조사 할 때가 조사를 안 한 때 보다 기질인 glucose 농도가 2배에서 3배까지 감소하고 균체량은 2배에서 4배까지 증가하였으며 그 결과 수소 생성량도 2배에서 3배까지 증가하였다. 본 실험을 통해서 종합해 볼 때 적절한 온도, pH, glucose 농

도를 지닌 배양액에서 홍색 비 유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301은 비 전리방사선을 조사 할 때가 조사를 안 할 때 보다 더 균증식율, 기질소비율, 수소생성율이 각각 증가함으로써 생명 활동인 생리적 대사가 활발하게 진행하고 있음을 알 수가 있었다.

V. CONCLUSION

홍색 비유향 광합성세균인 *Rhodospirillum rubrum* KS-301에 대한 비 전리방사선인 가시광선의 강도는 100 W 전구 2개를 양쪽에 설치하여 12,000 Lux로 조사할 때와 안 할 때의 기질소비량, 균체증식량, 수소생성량을 측정한 결과를 기질인 glucose의 초기농도를 5.4 g/L, 14.5 g/L, 온도 30℃, pH 7.0으로 하였을 때 시간의 변화에 따라 균체량, 수소 생성량, 잔류 glucose 농도의 변화량은 아래와 같았다.

첫째, 비 전리방사선인 가시광선을 조사를 하지 않은 때의 미생물의 생리적 대사 특성은 다음과 같았다.

1. 잔류 glucose 농도가 5.03 g/L - 2.17 g/L로 감소함에 따라서 균체량은 1.08 g/L - 3.14 g/L로 증가하였다.
2. 잔류 glucose 농도가 5.03 g/L - 2.17 g/L로 감소함에 따라서 균체량은 1.08 g/L - 3.14 g/L로 증가하고 그 결과 수소생성량은 0.02 g - 0.19 g로 증가하였다.

둘째, 비 전리방사선인 가시광선의 강도를 100 W 전구 2개로 양쪽에 설치하여 12,000 Lux로 조사할 때의 미생물의 생리적 대사 특성 알아본 결과로 다음과 같았다.

1. 잔류 glucose 농도가 13.17 g/L - 5.2 g/L로 감소함에 따라서 균체량은 4.7 g/L - 10.57 g/L로 증가하였다.
2. 잔류 glucose 농도가 13.17 g/L - 5.2 g/L로 감소함에 따라서 균체량은 4.7 g/L - 10.57 g/L로 증가하고 그 결과 수소생성량은 0.186 g - 0.3 g로 증가하였다

상기의 실험의 결론을 종합해 보면 비 전리방사

선인 가시광선을 조사한 미생물에서 조사를 안 한 미생물보다 생리적 대사가 활발함을 알 수가 있었고 전리방사선인 감마선, 엑스선, 전자선에서 나타내는 세포의 치사작용이나 생명활동의 장애가 발생하는 것과 대조적으로 나타내었음을 본 실험을 통해서 알 수가 있었다.

Reference

- [1] N. Migake, H. Takahashi, "cyclic photophosphorylation of Photo-synthetic bacteria." *Journal of Fermentation technology*, Vol. 12, No. 3, pp. 60, 1982.
- [2] H. Zurrer, R. Bachofen, "Environmental application of carbon metabolism to used Photo-synthetic bacteria." *Application Environmental Microbiology*, Vol. 37, No. 7, pp. 789, 1979.
- [3] H. Gest, " Photo-synthetic mechanism of microorganism", *Advanced Microbiological Physiology*, Vol. 7, No. 3, pp. 243, 1994.
- [4] J. G. Ormerod, K. S. Ormerod, H. Gest, "Micro biological culture and application", *Biochemistry, Biophysics*, Vol. 94, No. 23, pp. 449, 1961.
- [5] J. S. Kim, K. Ito, H. Takahashi, "Microorganism process of renewable resources" *Agriculture, Biology, chemistry*, Vol. 46, No. 4, pp. 937, 1982.
- [6] J. S. Kim, K. Ito, H. Takahashi, "Fermentational using of renewable resources" *Journal of Fermentation technology*, Vol. 59, No. 3, pp. 185, 1982.
- [7] J. S. Kim, K. Ito, H. Takahashi, "Utilization of renewable resources", *Microbiology*, Vol. 59, No. 3, pp. 185, 1982.
- [8] H. Gest, M. D. Kamen, "Hydrogen Production of Photosynthetic bacteria." *Science*, Vol. 109, No. 33, pp. 558, 1949.
- [9] J. S. Kim, K. Ito, H. Yamauchi, "Microorganism process of organic substrate" *Agriculture, Biology, chemistry*, Vol. 46, No. 4, pp. 1469, 1982.
- [10] S. Aiba, *Advances in Biochemical Engineering*, John Wiley, Inc Springer-verlag, 1982.

비 전리 방사선을 조사한 미생물에서 생리적 대사에 미치는 영향

고인호

제주한라대학교 방사선과

요약

본 실험은 비 전리방사선인 가시광선을 조사한 미생물에서의 생리적 대사특징을 연구하였다. 이 실험에 사용된 미생물은 화학합성미생물인 *Phodospirillum Rubrum* KS-301이었다. glucose의 회분발효를 수행하였고 발효결과는 테이터의 기초가 되었다. 첫째, 비 전리방사선인 가시광선을 조사할 때의 잔류 glucose(기질량)량을 5.03 g/L - 2.17 g/L로 감소하면은 균체량은 1.08 g/L - 3.14 g/L로 수소생성량은 0.02 g - 0.19 g로 증가 하였다. 둘째, 비 전리방사선인 가시광선을 조사 할 때의 잔류 glucose(기질량)을 13.17 g/L - 5.2 g/L로 감소하면은 균체량은 4.7 g/L - 10.57 g/L로 수소생성량은 0.186 g - 0.3 g로 증가 하였다. 이 실험결과를 종합해 볼 때 비 전리방사선인 가시광선을 조사한 미생물에서의 생리적 대사특징으로는 가시광선을 미생물에게 조사한 결과 생명의 활동이 활발하게 일어나고 있음을 알았고 그 반대로 다양한 연구논문에서 따르면 감마선, 엑스선, 전자선을 조사한 미생물에서는 세포치사나 세포의 기능적, 형태학적 장애를 나타내었음을 알 수가 있었다.

중심단어: 가시광선, *Rhodospirillum rubrum* KS-301, 생리적 대사