한국환경과학회 가을 학술발표회지 제15권(제2호), 301~303, 2006
Proceedings of the Korean Environmental Sciences Society Conference, Nov. 16~18, 2006

PD8)

가막만해역의 Phosphatase 활성도 및 Kinetics

김숙양*, 이영식, 김상수, 오현주, 정창수, 조민희, 김병만, 문성용
국립수산과학원

1. 서 론

수중생태계 내에서의 인의 이용율은 식물플랑크톤의 양과 종을 조절하는 중요한 인자이다. 특히 식물플랑크톤의 성장을 직접적으로 제한하는 DIP의 역할은 많은 관심의 대상의 되어오고 있다. 인이 결핍된 환경에서 식물플랑크톤은 효소를 만들어 부족한 인을 공급받는 것으로 알려져 있다(Berman, 1970: Reichardt, 1971: Heath and Cooke, 1975; Siuda et al., 1982; Boavida and Heath, 1986; Pick, 1987; Matavulj et al., 1989). 생물이 수중에서 용존된 영양물질을 생체 내에 흡수하려면 유기물의 분해 및 재합성 기능을 수행하여야 한다. 따라서 생물은 Phosphatase, glucosidase, cellulase, peptidase 등과 같은 exoenzyme을 분비한다. 특히 phosphatase 는 유도효소(inducible enzyme) 로서 인이 제한인 수중생태계에서 용존유기인 또는 입자성 유기인을 가수분해하여 생물체가 이용할 수 있는 DIP를 용출시키는 유도효소로서 부영양화와 밀접한 관계가 있다. 따라서 수계에서 phosphatase 의 현존량 과 Kinetics는 생물이 이용 가능한 인산염의 상태를 알려주는 지표가 된다. 본 연구는 가막만에서 하계의 DIP 농도와 phosphatase 의 변화를 살펴보았으며, 식물플랑크톤에 의한 유기인 산염의 분해를 알아보기 위하여 specific activity를 구하였으며, 식물플랑크톤의 대량 증식과 이에 따른 인의 공급관계를 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2006년 6월 하순에서 9월 중순까지 가막만의 5개 정점에서 조사를 실시하였다. 해양환경요인으로 수온, 염분, 용존산소, 수소이온농도를 수질측정기(YSI600)로 측정하였으며, 클로로필 및 기타 해양환경 오염 측정항목은 해양환경공정시험법(2002)에 따라 정량분석 하였으며, phosphatase는 Methyumbelliferyl-phosphatse(MUF-PO_4)를 기질로 사용하였다. MUF-PO_4 는 비형광물질이나 phosphatase 에 의하여 Methylumbelliferon(MUF) 와 인산염기로 분해된다. 따라서 이때 분해산물인 MUF가 형광을 띠게 되며 이것을 형광분광광도계(Excitation:365nm, Emission:460nm)로 정량하였다. 각각 다른 농도에서 측정된 Alkaline phosphatase 의 활성도는 Michaelis-Menten 식에 의하여 최대분해속도(Vmax), 기질전달상수 및 자연농도(Kt+Sn)와 전환시간 (Turnover time)를 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

수중에 용존해있는 DIP(Dissolved inorganic phosphorus)가 결핍될 경우 활성화되는 alkaline Phosphatase 의 Vmax는 0.26 ~ 7.09 $\mu M \cdot l^{-1} \cdot hr^{-1}$ 로서 6월 하순 식물플랑크톤

bloom이 형성되었던 선소, 나진지역에서 최대값을 보였으며, 9월 중순 조사 시에 가장 낮은 분해율을 보였다. Vmax값은 효소의 분해능력과 현존량을 나타내므로 이 값이 높아지면 기질 즉 유기인산염을 왕성히 분해할 수 있는 것을 의미한다. Kt+Sn 값은 0.01 ~ 0.15 μM·l^{-1}·hr^{-1}로서 Kt는 효소의 기질에 대한 친화도를 나타내는 수치이며, Sn은 기질 자연상태의 농도이다. 전환시간 (Tt) 는 현존하는 기질(유기인산염)이 완전히 분해될 때 까지의 추정시간으로서 시험기간 동안 0.002 ~ 0.39hr로 나타났다.

식물프랑크톤에 의한 phosphatase의 기여도를 알아보기 위하여 Chl.a 자료를 이용하여 spscific activity를 조사한 결과 식물프랑크톤 bloom이 일어났던 6월 27일 (0.98 μm/hr/μg chl.a) 및 8월 13일(1.01μm/hr/μgchl.a) 결과에서 높은 값을 보였으나, 점차 낮아져 8월29일에는 0.21 μm/hr/μgchl.a, 9월13일에는 0.16 μm/hr/μgchl.a의 값을 보였다. APA와 Chl.a 의 변화는 유사한 관계를 보여주고 있다. 아울러 이 결과는 가막만의 경우 APA 는 많은 부분이 algae에 의하여 일어난다고 볼 수 있다. 그러나 6월 27일 조사결과에서는 조사일로부터 약 1주일 이내의 강우량이 180mm 의 호우에 의한 영향으로 DIP 의 농도가 높았음에도 불구하고 APA 의 활성도는 높게 분포하였던 것은 식물플랑크톤 외 다른 요소 즉 박테리아에 의한 기여 등을 시사한다.

4. 요 약

조사해역에서의 Phosphatase에 의한 최대분해속도(Vmax)는 0.26 ~ 7.09μM/L/hr 로서, 식물플랑크톤 bloom을 보였던 6월27일 조사 시에 높게 나타났으며 수온이 하강하고 클로로필 농도가 낮았던 9월13일 조사결과에서 가장 낮게 나타났다. 식물플랑크톤에 의한 유기 인산염 분해를 알아보기 위해 Specific activity를 구하였다. Phosphatase activity와 Chlorophyll. a의 변화는 유사한 변화를 보여주고 있으며, 이는 식물플랑크톤 이 Phosphatase의 분비에 큰 기여를 하는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

Boni, L., E. Carpense, D. Wynne, and M. Reti., 1989. Alkaline phosphatase in protogonyaulux tamarensis. J. plankton. Res., 11, 879-885.

Chrost, R. J., W. Siuda, D. Albrech and J. Overbeck, 1986. A methood for determining enzymatically hydrolyzable phoshphate(EHP) in natural waters. Limnol. Oceangr. 31: 662-667.

Chorst, R. J. and J. Overbeck, 1987. Kinetics of alkaline phosphatase activity and phosphorus availability for plankton and bacterioplankton in Lake Plusse. Microb. Ecol. 13:229-248.

Cother, J. and R. T. Heath, 1988. Potential phosphatase release from phosphomonoesters by acid phosphatase in a bog lake. Arch.

Kuenzler, E.,J and J.P. Perras., 1965. Phosphatase of marine algae. Bull. Mar. Biol. Lab., 128, 271-284.

Kuenzler, E.J., 1965. Glucose-6-phosphate utilization by marine algae. J. Phycol., 1, 156-164.

Nauch,M., 1998. Alkaline Phosphatase activities and the relationship to inorganic phosphatae in the Pomeranian Bight(southern Baltic Sea). Aquat. Microb. Ecol., 16, 87-94.