韓國環境衛生學會誌
Kor. J. Env. Hlth. Soc.
Vol, 14. No. 1, 55~61, 1988

藻類細胞內 燐含量에 관한 硏究

宋準相 · 李文鎬 · 梁相鏞

國立環境硏究院 水質微生物(擔)

Study on the Phosphorus Content of Algae

Jun Sang Song · Mun Ho Lee · Sang Yong Yang

Division of Water Pollution Microbiology National Institute of Environmental Research

Abstract

Study was conducted on how the phosphorus content of algae changed by the algal species and the algal growth conditions.

Phosphorus contents were not so different by algal species if algae grow on the same phosphorus concentration. Phosphorus content of algae grown on higher P medium was higher than that of algae grown on lower P medium.

Algae excrete P-compounds from cell to the medium when the dissolved reactive phosphorus is depleted in the medium, and the excreted P-compounds were decomposed by algae and used for the growth of algae.

Phosphorus content of algae grown in the P-limited condition was about 5-1 μgP/mg dry wt., but that of algae grown in the condition not P-limited was above 10 μgP/mg dry wt.

Ⅰ. 緖 論

湖水 富營養化 防止技術 開發을 위해서 가장 먼저 分析해야 할 사항은 湖水 環境因子 中 制限因子가 무엇인지 판정하는 일이다. 그러나 일반적으로 湖水內 藻類生育에 있어서 主된 制限因子는 窒素(N)와 燐(P)이다.[1]

그런데 湖水 環境에서 이 N, P 中 어느 것이 制限因子로 作用하는 지 판별하는 方法으로는 여러가지가 있는데 1) 湖水內 N, P의 濃度를 測定하는 方法 2) 호숫물에 N, P를 첨가하여 藻類를 培養해 보는 enrichment experiment[2] 3) phosphatase activity를 測定하는 方法[3] 4) 燐吸收速度(phosphate uptake rate)를 測定하는 方法[4]등이 있다. N,

P外의 環境因子가 制限因子 일때는 1),2)의 方法이 利用될 수 없으며 P가 制限되지 않는 경우에도 phosphatase가 유발될 수 있으므로 3) 역시 완전한 指標는 아니다. 4)는 N, P 制限의 좋은 指標이나 測定方法이 어려운 단점이 있다.

따라서 湖水 環境에서 燐이 制限되고 있는지 아닌지를 판별할 수 있는 指標의 開發이 절실히 요구되고 있다.

湖水 富營養化 豫測에 있어서 가장 중요한 것은 藻類의 生育에 대한 豫測이다. 그런데 藻類의 生育은 거의 燐濃度에 의해 制限을 받으므로 燐濃度에 따라 藻類가 어느 정도 增殖할 수 있는지 豫測함은 藻類의 生育 豫測에 관건이 되고 있다. 이러한 生育 豫測이 정확히 이루어진다면 湖水內 N, P의 環境基準 設定도 가능할 것이다.

그리하여 本 硏究에서는 環境條件에 따른 藻類細胞內 燐含量 變化를 調査하므로서 燐이 制限되고 있는지 아닌지 區別하는데 指標로서 燐含量이 利用될 수 있을 것인지에 대해 검토하였으며 燐이 制限되는 環境에서 藻類가 어느정도 增殖할 수 있으며, 또 增殖하는 메카니즘이 어떠한 지 규명코자 하였다.

Ⅱ. 實驗材料 및 方法

1. 藻類培養

실험에 사용된 藻類種은 American Type Culture Collection(ATCC) 표준균주인 *Anabaena flos-aquae* ATCC 22664, *Scenedesmus basiliensis* ATCC 30431, *Selenastrum capricornutum* ATCC 22662, *Chlorella vulgaris* ATCC 30581과 系狀 綠藻類인 *Microspora sp.* 이었다.

藻類培養培地(Standard Method,[5] p702, Culture medium for fresh water algae)에 藻類를 接種하여 9840 lumen의 형광등 불빛을 쬐어 주면서 25℃에서 150rpm(Psycrotherm TM Incubator Shaker, G27, New Brunswick Sci. Co. Inc.)으로 진탕배양 하였다.

藻類培養培地 調製時 燐의 濃度 增減에 따라 다른 成分도 同一한 比率로 增減했다.

2. 一般項目 分析

藻類의 生育, 藻類細胞內 燐含量 및 藻類培養液內 營養鹽類 濃度 測定은 Fig. 1과 같은 실험과정으로 分析했다. 藻類培養液을 GF/C 여과지로 여과한 다음 乾燥重量을 測定하여 藻類의 生育을 分析했고, 藻類培養液을 0.45μm membrane filter로 여과한 다음 濾液內의 營養鹽類를 測定하여 培養液內 溶存 營養鹽類를 分析했다. 藻類培養液을 6,000g로 15분간 원심분리하고 분리된 藻類를 증류수에 다시 현탁시켜 總燐과 乾燥重量을 測定했으며 아울러 藻類 현탁액을 GF/C여과지로 여과하고 濾液의 總燐도 測定하여 藻類細胞內 燐含量을 다음 式에 의해 計算했다.

(藻類현탁액의 總燐 − 藻類현탁액 濾液의 總燐) ÷ 藻類현탁액의 乾燥重量 = μgP/mg 乾燥重量

乾燥重量, 反應性燐 및 總燐 測定은 環境汚染公定試驗法[6]에 따랐다.

Ⅲ. 實驗成績 및 考察

1. 藻類種別 燐含量

藻類細胞內 燐含量은 藻類의 培養時間에 따라 變化한다. 培養 初期엔 燐含量이 극히 낮으나 代數增殖期에 이르면 藻類細胞內 燐含量이 最大로 된다. 그러나 培養後期가 되면 燐含量은 다시 적어지며 어느정도 평행을 이루므로 燐含量은 크게 變化하지 않는다. 평행에 도달했을 때의 燐含量을 비교해 보면 Table 1에서 보는 바와 같이 藻類種間 차이가 없다. 培地의 初期 燐濃度가 2.16mgP/l 일 경우 평형에 도

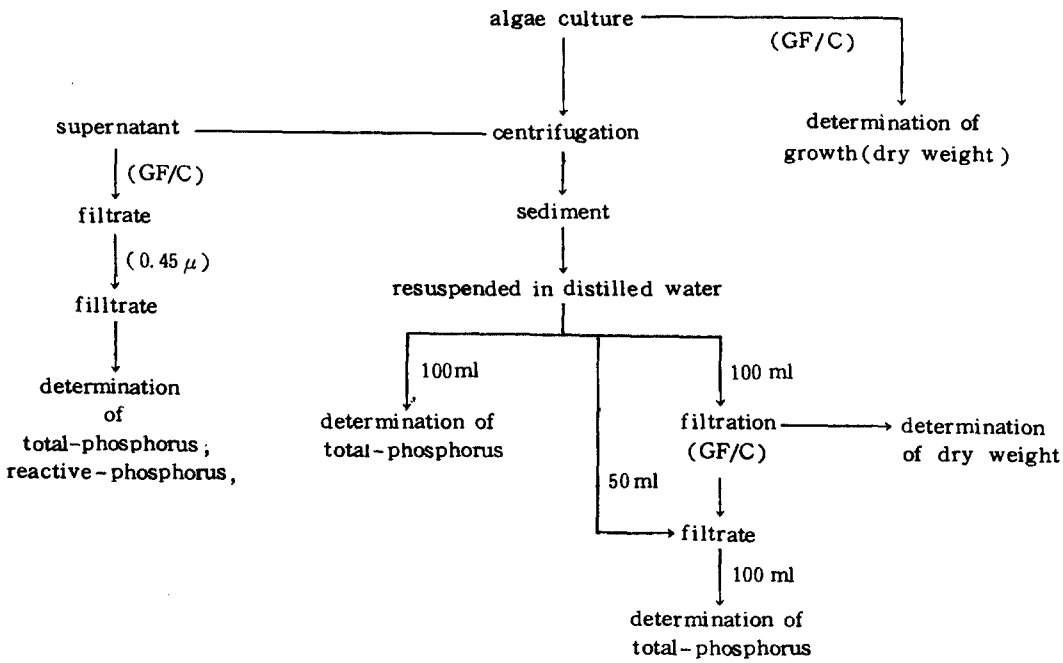

Fig. 1. Experimental procedure

Table 1. Phosphorus content of five algal species*

(Unit : μgP/mg dry wt.)

Algae	Culture time (day)									
	2	3	4	5	6	7	8	9	···	12
Anabaena flos-aquae	1.3	15.2	7.1			6.9				
Microspora sp.			10.9	10.3		8.1	7.3			
Scenedesmus basiliensis		9.9	13.7	12.2		14.8				7.4
Selenastrum capricornutum			2.0	12.4	8.5	7.6				
Chlorella vulgaris					12.1		14.4	11.7		7.0

* Initial phosphorus concentration of medium was 2.16 mgP/l

달한 藻類細胞內 燐含量은 약 7.2μgP/mg 乾燥重量이다.

2. 培地內 燐濃度가 藻類細胞內 燐含量에 미치는 영향

藻類 培養培地內 燐濃度가 높을 수록 細胞內 燐含量도 높음을 Table 2에서 볼 수 있다. 培地內 燐濃度가 매우 높을 때는 燐이 藻類細胞內에 축적될 정도로 燐含量이 높은 반면 湖水와 같은 自然水系의 燐濃度에 가까운 0.210mgP/l 濃度에서는 藻類細胞內 燐含量이 1.1μgP/mg 乾燥重量까지 내려가 細胞內 필수 燐만 含有하는 것으로 보인다.

Table 2. Effect of medium phosphorus concentration on the phosphorus content of *Anabaena flos-aquae*

(Unit : μgP/mg dry wt.)

Initial P Conc. in medium (mgP/l)	Culture time (day)						
	2	3	4	5	6	7	8
10.8				21.3		18.1	16.1
4.32		14.7	13.2	7.3		6.7	
1.19	10.0	12.8	12.3			4.1	2.5
0.210	9.1	4.4	3.0		1.6	1.1	

3. 培養時間에 따른 藻類細胞內 燐含量 變化

培養時間에 따라 藻類細胞內 燐含量이 變化하는 양상을 Fig. 2, 3, 4에서 볼 수 있는데 培地內 初期 燐濃度는 各各 9.6mgP/*l*, 2.16mgP/*l*, 0.210mgP/*l* 이었다.

藻類에 곧바로 利用될 수 있는 溶存反應性燐이 培地에 충분히 存在할 때는 藻類細胞內 燐含量이 약 70μgP/mg 乾燥重量으로 높은 값을 보일 뿐 아니라 培養 3日 以後 藻類의 生育은 계속 증가 하더라도 燐含量에는 큰 變化가 없다(Fig. 2). 그리고 培養 2日째 燐含量이 약 120μgP/mg 乾燥重量이나 되는 것으로 보아 環境條件에 따라 藻類가 細胞內에 燐을 축적할 수 있는 能力이 높음을 알 수 있다.

培地內 初期 溶存反應性燐의 濃度가 2.16mgP/*l*인 경우 Fig. 3에서 보는 바와 같이 培養 8日째 부터 溶存反應性燐의 濃度는 거의 0m

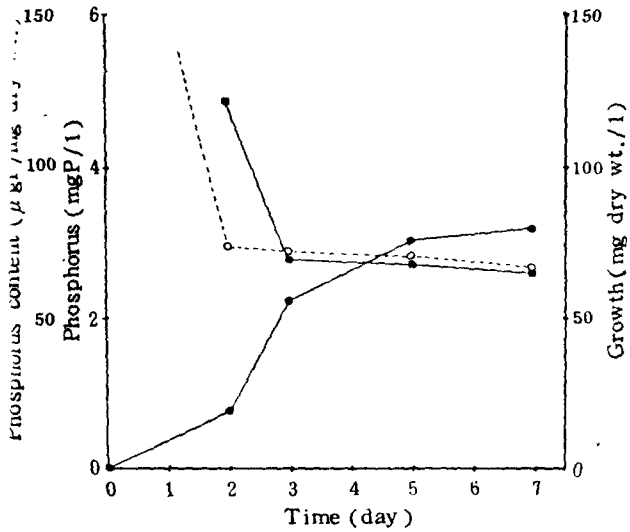

Fig. 2. Change of *Anabaena flos-aquae* phosphorus content with culture time (Initial phosphorus concentration was 9.6 mgP/l)
●——● : growth ○-----○ : dissolved reactive phosphorus ■——■ : phosphorus content

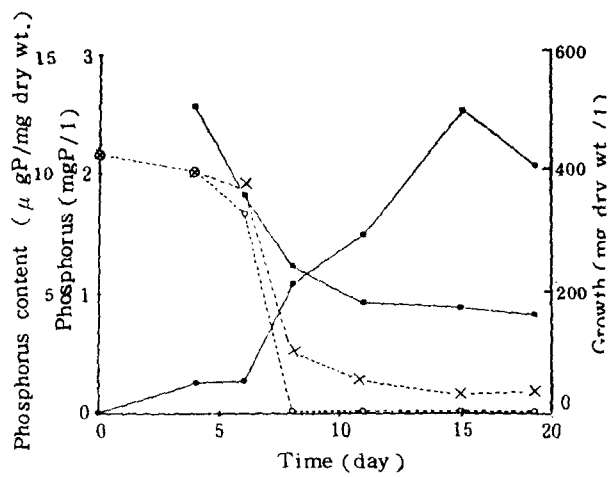

Fig. 3. Change of *Anabaena flos-aquae* phosphorus content with culture time (Initial phosphorus concentration was 2.16 mgP/l)
●——● : growth ○-----○ : dissolved reactive phosphorus ×-----× : total dissolved phosphorus ■——■ : phosphorus content

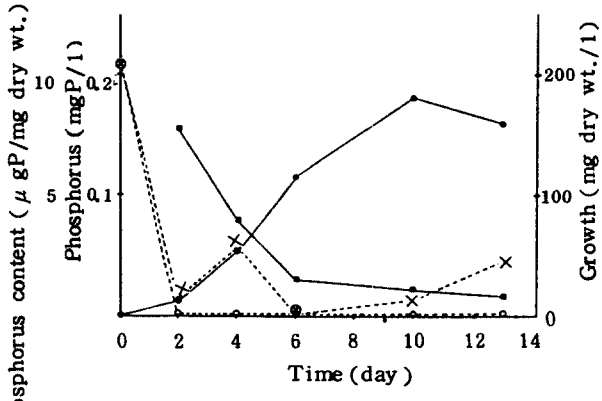

Fig. 4. Change of *Anabaena flos-aquae* phosphorus content with culture time (Initial phosphorus concentration was 0.210 mgP/l) ●——● : growth ○-----○ : dissolved reactive phosphorus ×------× : total dissolved phosphorus ■——■ : phosphorus content

gP/*l* 이다. 이처럼 溶存反應性燐이 무시될 정도로 存在해도 藻類의 生育은 培養 8日 以後에도 계속 증가하고 있다. 이에 반해 藻類細胞內 燐含量은 培養時間에 따라 감소하고 있다. 한편 培地內 溶存反應性燐의 濃度는 거의 0mgP/*l* 이나 培地內 總溶存燐의 濃度는 0.15mgP/*l* 以上이다. 이러한 현상들로 볼 때 藻類에 곧바로 利用되는 溶存反應性燐이 고갈된 水環境에 있어서는 藻類細胞에 축적되어 있던 燐이 유리되어 藻類의 增殖에 利用됨을 알 수 있다. 藻類 培養을 위해 培地에 넣어 준 燐은 모두 溶存反應性燐 임에도 불구하고 培養 8日째 부터는 溶存되어 있는 燐의 형태가 거의 反應性燐이 아니므로(Fig.3) 藻類細胞로 부터 유리되는 燐은 反應性燐이 아니고 燐化合物임을 알 수 있다. 그리고 유리된 燐化合物은 必要에 따라 그때 그때 分解되어 藻類에 利用되고 있음을 알 수 있다. 따라서 溶存反應性燐의 형태로 燐이 培地內에 축적되는 일이 없다(Fig. 3).

培地內 初期 燐濃度가 0.210mgP/*l* 로 培地內 燐濃度가 매우 낮은 경우에는 Fig.3과 같은 현상이 더욱 현저하게 나타난다. Fig.4에서 보는 바와 같이 藻類 培養 2日째 以後에는 溶存反應性燐의 濃度가 거의 0mgP/*l* 이다. 그러나, 藻類의 生育은 培養 2日 以後에도 크게 증가하고 있다. 그러나, 總溶存燐의 濃度變化는 Fig.3과 그 양상이 다르다. Fig. 4에서는 培養 4日째 總溶存燐의 濃度가 높고 培養 6日째는 그 濃度가 낮아졌으며 培養 10日째는 다시 總溶存燐의 濃度가 높아졌다. 이것으로 보아 培地內에 燐이 없으면 藻類細胞로 부터 燐化合物이 유리되고 유리된 燐化合物이 藻類에 의해 分解 利用되고 나면 다시 燐化合物이 藻類細胞로 부터 유리되는 반복과정이 일어남을 알 수 있다.

Fig.3에서는 培養 18日째, Fig.4에서는 培養 13日째 培地內 總溶存燐의 濃度가 증가하고 藻類의 濃度가 감소한 것으로 보아 生育環境 不適으로 藻類가 死滅되고 있음을 알 수 있다. 培地內 燐의 濃度가 높을 수록 死滅期에 이르는 時間이 길어지는 듯하나 이를 증명하는 실험이 계속되어야 할 것이다.

Fig. 2, 3, 4에서 공통적으로 볼 수 있는 현상은 培地內 燐의 濃度가 높든지 낮든지 어느 경우에도 培養 初期엔 藻類가 細胞內에 燐을 축적하고 있다. 물론 축적하는 量은 培地內 燐濃度가 높을 수록 축적량도 많다.

4. 燐이 制限因子로 작용하지 않는 條件일때의 藻類細胞內 燐含量

藻類培養 도중에 溶存反應性燐을 培地에 첨가해 주므로서 培地內 燐이 制限因子로 작용하지 않는 條件이 되도록 했다. 이때의 藻類細胞內 燐含量을 보면 Fig.5에서 보는 바와 같이 10μgP/mg 乾燥重量 以上이 되고 있는데 이값은 燐이 制限因子로 작용할 때의 燐含量 약 5~1μgP/mg 乾燥重量(Fig.3, 4)보다 훨씬 높다. Fig.5에서 藻類의 生育이 미약한 이유는 培地內의 N濃度를 줄여 N에 의해 生育이 制限되는 條件에서 藻類를 培養했기 때문이다.

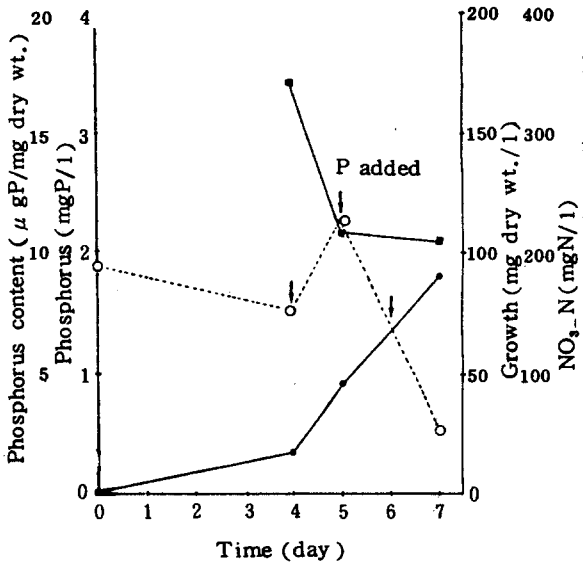

Fig. 5. Change of *Anabaena flos-aquae* phosphorus content with culture time when cultured in a nitrogen limited medium
●——●: growth ○------○: dissolved reactive phosphorus ■——■: phosphorus content

이상의 實驗結果로 미루어 볼 때 湖水에 전도현상(turn-over)이 일어날 때나 湖水에 流出水(run-off)가 流入되는 경우와 같이 燐이 高濃度로 存在하는 環境에 藻類가 일단 폭로되면 그후 湖水 環境內 燐의 濃度가 고갈 되더라도 藻類에 축적된 燐에 의해 藻類의 生育이 증진될 수 있음을 알 수 있다. 따라서 단순히 水環境內 溶存燐의 濃度 測定만으로 藻類의 生育을 豫測 評價함은 올바른 評價가 되지 못한다. 그리고 湖水內 가두리양식장에 生育한 藻類는 燐이 高濃度인 環境에서 生育한 藻類이므로 비록 소량이라도 이 藻類를 湖水內로 放出함은 水華現象(algal bloom)과 같은 藻類增殖現象을 유발할 수도 있음에 주의를 기울여야 한다.

燐이 고갈된 環境에서는 藻類細胞內 燐含量이 낮고 燐이 고갈되지 않는 環境에서는 燐含量이 높다. 그러므로 湖水內 부유물질이 大部分 藻類라면 湖水內 藻類의 燐含量을 正確히 測定할 수 있으며 이 燐含量의 높낮음을 보고 燐이 制限因子인지 아니면 다른 環境因子가 藻類生育에 制限因子인지를 評價할 수도 있을 것이다. 아울러 湖水內 燐濃度는 고갈상태인데 비해 거기에 存在하는 藻類의 燐含量은 높은 값이라면 이 藻類는 外部에서 流入된 藻類일 것이라는 판단이 가능하다.

이와같이 水環境을 評價하는 데 藻類細胞內 燐含量 測定은 많은 도움이 될 것으로 믿는다.

Ⅳ. 結 論

藻類種이나 培養條件에 따라 藻類細胞內 燐含量이 어떻게 變化하는지 調査하였다.

藻類種間 燐含量 차이는 없었으나 培地內 燐濃度가 높을 수록 燐含量도 비교적 높았다.

培地內에 溶存反應性燐이 고갈되면 藻類는 細胞內에 축적하고 있던 燐을 燐化合物의 형태로 유리시키는 데 유리된 燐은 藻類의 生育에 利用이 된다. 이처럼 溶存反應性燐이 고갈된環境에서의 藻類細胞內 燐含量은 5~1μgP/mg 乾燥重量인데 비해 燐이 制限因子로 作用하지 않는 條件일 때는 燐含量이 10μgP/mg乾燥重量 以上이다.

參 考 文 獻

1. William E. Miller et al.: "Algal Productivity in 49 Lake Waters as Determined by Algal Assays", Water Research 8, 667-679, 1974.
2. Claesson A. and A. Forsberg: "Algal assay studies of wastewater polluted lakes", Arch. Hydrobiol. 89, 208-244, 1980.
3. Petterson K.: "Alkaline Phosphatase activity and algal surplus phosphorus as

phosphorus-deficiency indicators in Lake Erken", Arch. Hydrobiol. 89, 54-87, 1980.
4. Roel Riegman and Luuc R. Mur: 'Phytoplankton growth and phosphate uptake (for P limitation) by natural phytoplankton populations from the Loosdrecht lakes (The Netherlands)"; Limnol. Oceanogr. 31(5), 983-988, 1986.
5. APHA-AWWA-WPCF: Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th Ed., 1985.
6. 環境廳, 環境汚染公定試驗法(水質分野), 1983.