

## 河川環境에서의 phytase 活性變化에 관한 研究

김영진\* · 오남순\* · 정문호\*\*

웅진코웨이(주) · \*공주대학교 식품공학과 · \*\*서울대학교 보건대학원

### A Study on the Variation of Phytase Activity in the River Environment

Young Jin Kim, Nam-soon Oh\* and Moon-Ho Chung\*\*

Woongjin Coway, Water Quality Institute

\*Department of Food Science and Technology, Kongju National University

\*\*School of Public Health, Seoul National University

#### ABSTRACT

From August 2000 to August 2001, 9 variables of physicochemical factors and phytase activity were investigated at 4 sites in the River Yungpyung and the influences of physicochemical factors to phytase activity were analyzed. Phytase activities of Site 1, Site 2, Site 3, and Site 4 varied between N.D ~566 nmol/ l /hr, N.D ~434 nmol/ l /hr, N.D ~557 nmol/ l /hr, and N.D ~323 nmol/ l /hr, respectively. The activities of summer season were higher than those of other season. But the activities were not detected on the winter season. The phytase activity and temperature showed high correlation. The correlation coefficients of Site 1, Site 2, Site 3, and Site 4 were 0.82(p<0.01), 0.92(p<0.01), 0.89(p<0.01), and 0.88(p<0.01), respectively. The phytase activity and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ion showed negative relation(r=-0.59, p<0.05) at Site 1. And the phytase activity had relation with Zn<sup>2+</sup> at Site 2(r=0.58, p<0.05) and Site 3(r=0.75, p<0.05).

**Keywords** : phytase, phytate, phytic acid, inositol hexaphosphate, exoenzyme

#### I. 서 론

많은 종류의 곡류와 콩류는 단백질과 지방이 풍부함에도 불구하고 식품으로 사용하는 데 있어 제한을 받는 항영양적 요인들을 가지고 있는데 이와 같은 요인 중 하나가 phytic acid ( myo-inositol - 1,2,3,4,5,6-hexakis dihydrogen phosphate)이다. 식물의 종자 중 phytic acid의 함량은 곡류에서는 0.5 ~ 1.89 %, 콩류에서는 0.4 ~ 2.06 %, 채유용 종자에서는 2.0 ~ 5.2 %를 차지하고 있다. 종자의 총인에서 phytic acid가 차지하는 비율을 보면 곡류에서는 18 ~ 88 %, 콩류에서는 40 ~ 81 %로 높게 나타나고 있다.<sup>1)</sup> Phytic acid는 자연상태에서 1가 또는 2가 양이온의 염 즉, phytate로 존재하며 Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> 등

을 포함하는 미네랄 원소와 결합하여 장에서 쉽게 흡수될 수 없는 phytate-mineral 또는 protein-mineral-phytate 복합체를 형성한다.<sup>2)</sup>

Phytate를 가수분해하여 인산과 myo-inositol이나 phosphatidylinositol을 생산하는 phytase(myo-inositol-hexakisphosphate phosphohydrolase: EC 3.1.3.8)는 식물조직, 동물조직, 미생물에 폭넓게 분포하고 있다.<sup>3,4,5)</sup> 그러나, 돼지, 가금류 및 어류 등의 단위(單胃) 동물은 장에서 낮은 phytase 활성을 갖고 있어 이 같은 phytate 형태의 인이 쉽게 이용되지 못하고 장관을 통과하여 분변으로 배출된다. 배출된 phytate는 가축밀집 생산지역에서 인에 의한 환경오염문제를 발생시키고 있다.<sup>6,7)</sup> 2001년 6월 현재 국내에서 사육되고 있는 닭과 돼지에 의해 흡수되지 않고 배출되는 phytate로부터 생태계로 방출되는 인의 양을 Wodzinski와 Ullah<sup>8)</sup>에 의한 방식으로 계산해보면 연간 약 3,000 톤 정도가 배출되는 것으로 추정되고 있다.

\*Corresponding author : Woongjin Coway, Water Quality Institute  
Tel : 2209-2327, Fax : 2209-2328  
E-mail : jin2701@hanmir.com

본 연구에서는 단위 동물이 밀집으로 사육되고 있는 지역에서 배출되는 phytate를 가수분해하여 인을 유리시킴으로써 부영양화를 초래할 수 있는 phytase의 계절적 활성 변화를 관찰하였고, 효소의 활성에 영향을 미치는 물리화학적 인자를 측정하여 phytase 활성과의 상관성을 알아보았다.

## II. 실험재료 및 방법

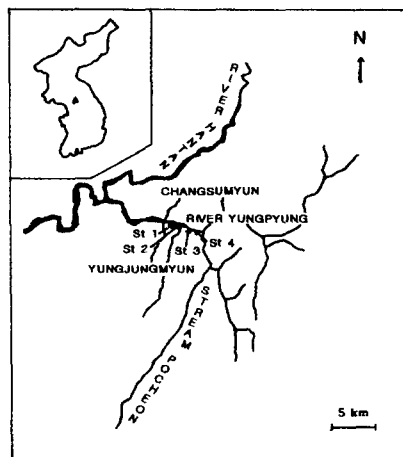
### 1. 연구대상 지역의 선정

연구의 대상인 영평천은 이동면에서 시작하여 경기도 포천군의 북부지역을 흘러 한탄강에 합류하는 하천으로 총 길이는 40.6 km이다. 조사 지점은 지역적 특성을 고려하여, Fig. 1에서와 같이 4개의 지점을 선정하였다. 지점 1은 주원리 J종돈사육장의 폐수 방류구와 영평천이 합류하는 부근에 선정하였으며, 지점 2는 양돈 및 양계의 밀집지역인 주원리를 흐르는 외북천과 영평천의 합류하는 부근에, 지점 3은 양돈 및 양계 밀집지인 영송리를 흐르는 시내와 영평천이 합류하는 부근에, 지점 4는 양계 밀집지인 거사리의 양계장에서 방류하는 폐수가 영평천과 합류하는 부근을 선정하였다.

### 2. 조사일정 및 채수방법

연구에서 사용된 시료는 2000년 8월부터 2001년 8월의 기간동안 채수되었다. 하천의 phytase 활성은 1개월 간격으로 측정하였다.

채수된 시료는 멸균된 1000 ml polypropylene bottle에 담아 냉장 보관하여 운반, 분석하였다.



### 3. 하천환경에서의 phytase 활성 측정

#### 1) 물리화학적 인자의 측정

수온은 채수 후 표준온도계를 이용하여 즉시 측정하였고 pH는 pH meter(i-1000, istek)를 사용하여 측정하였다. 영양염류로  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ 를, 미생물 기원의 phytase 활성을 억제한다고 알려져 있는 금속이온<sup>9)</sup>으로는  $\text{Zn}^{2+}$ 과  $\text{Cu}^{2+}$ 를 spectro-photometer(DR-2010, HACH)를 사용하여 측정하였으며 각각의 측정방법은 Table 1과 같다.

Table 1. Analytical methods of inorganic and metal ions<sup>10)</sup>

Item	Method
Sulfate	Sulfa Ver4 Method
Nitrate	Cadmium Reduction Method
Ammonium ion	Salicylate Method
Copper	Porphyrin Method
Zinc	Zincon Method

용존 무기인산의 농도는 phytase의 활성 측정방법<sup>11)</sup>을 변형하여 사용하였다. 여과된 하천수 1 ml에 발색시약 1 ml를 첨가하여 상온에서 30분간 반응시킨 후 700 nm 서 UV/VIS spectrophotometer (Cary 1C, Varian)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 발색시약은 5.5 % (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 에 1.5 % (w/v)가 되도록 ammonium molybdate를 녹인 용액과 2.7 % (w/v) ferrous sulfate를 녹인 용액을 측정할 때마다 4:1 (v:v)로 혼합하여 사용하였다.

#### 2) Phytate의 측정

하천 시료 중의 phytate 분석은 Haug와 Lantzsh의 방법<sup>12)</sup>을 변형하여 사용하였으며 채취된 시료에 2N HCl을 10 % (v/v) 첨가하여 상온에서 3시간 동안 phytate를 용해시킨 후 측정하였다. 분해액 1 ml에 0.2 g의 ammonium iron(III) sulfate · 12 $\text{H}_2\text{O}$ 를 2 N HCl 100 ml에 녹인 후 증류수를 이용하여 1 l로 맞춘 용액 2 ml를 첨가하여 뚜껑을 덮고 끓는 수욕조에서 30분간 반응시킨 다음 ice-water에서 15분간 냉각하였다. 상온에서 방치시켜 상온으로 유지시킨 후 반응액에 10 g의 2,2'-bipyridine에 10 ml의 thioglycolic acid를 첨가하여 초순수를 이용하여 1 l로 맞춘 용액 4 ml와 반응시켜 519 nm에서 UV/VIS spectrophotometer (Cary 1C, Varian)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

#### 3) Phytase 활성 측정

하천수의 phytase 활성은 하천에서 채취한 시료를

0.2  $\mu$ m 멤브레인 필터(Nalgene)를 사용하여 미생물 및 부유물질을 제거한 후 Shimizu 방법<sup>11)</sup>을 변형하여 측정하였다. 여과된 하천수 900  $\mu$ l에 Na-phytate(Sigma)용액 100  $\mu$ l을 첨가하고 기질의 농도가 1 mM이 되게 조절하였다. 하천의 수온과 동일한 온도에서 96시간 반응시킨 후 10 % Trichloroacetic acid 용액을 1 ml를 첨가하여 반응을 중단시켰다. 생성된 orthophosphate는 1.5 ml의 발색시약으로 발색시켜 700 nm에서 UV/VIS spectrophotometer(Cary 1C, Varian)를 이용하여 흡광도를 측정하였으며  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 로 표준용액을 제조하여 시료의 흡광도와 비교하였다. 발색시약은 5.5 % (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 에 1.5 % (w/v)가 되도록 ammonium molybdate를 녹인 용액과 2.7 % (w/v) ferrous sulfate를 녹인 용액을 측정할 때마다 4:1 (v:v)로 혼합하여 사용하였다. 하천에서의 phytase 활성은 생성된 orthophosphate nmol/  $\ell$ /hr로 정의하였다.

### III. 실험결과 및 고찰

#### 1. 반응시간에 따른 phytase 활성 변화

자연환경에서 존재하는 세포의 효소는 활성이 낮기 때문에 반응이 일어나기 위해서는 상당한 시간이 필요한 것으로 알려져 있다.<sup>13,14)</sup> 하천수의 phytase 활성 측정에 필요한 반응시간 설정하기 위해 여과된 하천수에 Na-phytate를 기질로 첨가하여 120시간 동안 반응시켰다. Fig. 2를 보면 120시간의 반응에서 96시간까지 직선적( $R^2=0.98$ )으로 phosphate가 방출되고 있으며, 본 실험에서도 하천수의 phytase 활성은 96시간을 반응시켜 측정하였다.

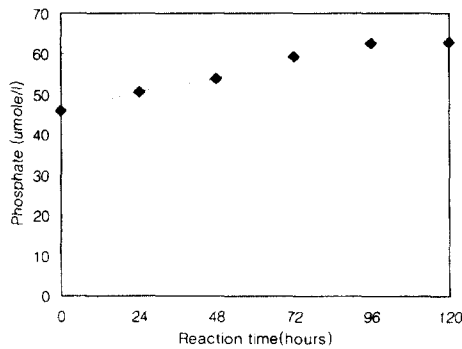


Fig. 2. Release of phosphate from phytate by phytase in the river sample.

2) Phytase 활성과 물리화학적 인자의 계절적 변화  
수환경에서 존재하는 유기물의 대부분은 고분자화합물로 구성되어 있다. 이 고분자물질의 일부만이 자연계에서 물질순환에 관여하는 미생물에 의해 이용될 수 있으며 대부분은 미생물 세포에 직접적으로 전달될 수 없다. 이와 같은 문제를 해결하기 위해서 자연계에 존재하는 미생물은 세포외 효소를 환경으로 분비함으로써 저분자량의 유기물로 가수분해시켜 대사를 하게 된다.<sup>15)</sup> 세포외로 분비되는 세포외 효소는 수온, pH, 활성억제물질, 기질의 종류에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다.<sup>15,16)</sup>

자연계에서 인의 순환에 관여하고 있는 phytase 활성의 계절적 변화와 이 효소에 영향을 주는 물리화학적 인자와의 관계를 각 지점별로 조사하였다.

지점 1에서의 phytase 활성은 N.D~566 nmol/  $\ell$ /hr의 범위를 보였다. Fig. 3을 보면 하절기에 566 nmol/  $\ell$ /hr로 가장 높은 활성을 보였으나 수온이 하강함에 따라 활성이 낮아져, 동절기에는 활성이 보이지 않았다가 수온이 상승함에 따라 활성이 다시 증가하고 있다. 수온과 phytase 활성간에 상관성을 분석한 결과, Fig. 4와 Table 3에서 상관계수(r)가 0.82로 상관성이 높게 나타나고 있다. 지금까지 알려진 바에 의하면 phytase는 고온에서 높은 활성을 가지고 있기 때문에 이들간에 상관성이 높은 것으로 생각된다.<sup>9)</sup>

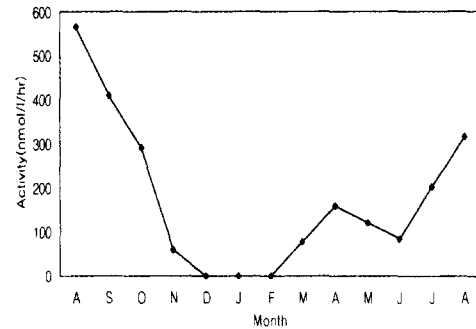
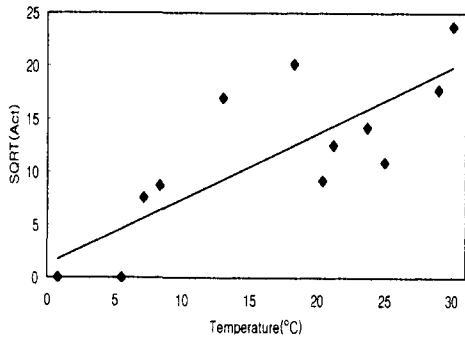


Fig. 3. Seasonal fluctuations of phytase activity from August 2000 to August 2001 at Site 1.

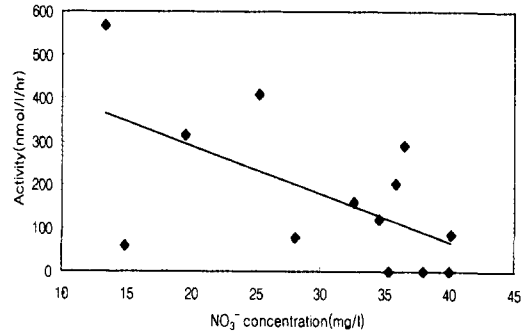


$y = 0.6207x + 1.2403$  ( $r = 0.82, p < 0.01$ )

Fig. 4. Relationship between phytase activity and temperature at Site 1.

Table 2는 조사기간 중 이 지점에서의 물리화학적 인자들의 측정 결과를 나타내고 있는데, pH는 7.23~8.42의 범위를 나타냈다. Phytase 활성을 억제한다고 알려진  $Zn^{2+}$ 과  $Cu^{2+}$ 는 각각 N.D~0.07 mg/l, N.D~14.2  $\mu\text{g/l}$ 의 낮은 농도로 검출되었다.  $NO_3^-$ 은 13.3~40.1 mg/l,  $SO_4^{2-}$ 는 10~190mg/l,  $NH_4^+$ 는 1.1~161.5 mg/l의 범위를 나타냈다. 분자량 1000 이하의 유기인산화합물은 자연계에 존재하고 있는 효소들에 의해 쉽게 분해될 수 있으며 생물학적 활성을 가지고 봄과 겨울에 발견된다는 보고가 있다.<sup>17)</sup> 실제로 phytase의 기질인 phytate도 늦가을에서 초겨울인 10월~12월과 봄인 4월과 5월에 검출되었으며 1.0~5.0  $\mu\text{mol/l}$ 의 농도를 나타냈다. 용존 무기인산의 농도는 6.7~126.5  $\mu\text{mol/l}$ 의 매우 높은 농도를 나타냈으며, 수온은 최저 0.8 °C에서 최고 30.1 °C의 편차를 보였다.

수온 이외의 다른 물리화학적 인자들과 phytase 활성과의 상관성을 분석한 결과가 Table 3에 나타나 있다. 이 중  $NO_3^-$ 만이 Fig. 5에서 음의 상관성( $r = -0.59$ )을 보이고 있다. 안 등<sup>18)</sup>에 의하면 강 하구에서 이용 가능한 질소의 양이 세균의 활성에 음의 방향으로 작용하는 것으로 보고되고 있는 바, 지점 1에서도  $NO_3^-$ 이 음의 효과를 나타내고 있는 것으로 생각된다.



$y = -11.077x + 511.08$  ( $r = -0.59, p < 0.05$ )

Fig. 5. Relationship between phytase activity and nitrate at Site 1.

지점 2에서는 조사기간 중의 phytase 활성은 N.D~434 nmol/l/hr의 범위를 보였다. Fig. 6을 보면 하절기에 각각 434 nmol/l/hr로 타 조사시기에 비해 높은 활성을 보였으나 동절기에는 활성이 보이지 않고 있는데, 이는 낮은 수온에 기인하는 것으로 생각된다.

조사기간 중 이 지점의 물리화학적 인자들의 측정 결과를 보면 pH는 6.45~8.59,  $Zn^{2+}$ 은 N.D~0.08 mg/l,  $Cu^{2+}$ 은 N.D~15.2  $\mu\text{g/l}$ ,  $NO_3^-$ 은 17.2~47.9 mg/l의 농도를 나타냈다.  $SO_4^{2-}$ 는 9~27 mg/l의 범위로 오염원에서부터 멀리 떨어진 지점 3과 더불어 비교적 일정한 농도가 유지되고 있다.  $NH_4^+$ 는 0.1~47.0 mg/l, phytate는 늦가을과 초겨울인 10월과 12월에 각각 2.8, 1.7  $\mu\text{mol/l}$ , 봄인 4월과 5월에 2.8과 5.5  $\mu\text{mol/l}$ 의 농도로 검출되었다. 무기인산의 농도는 7.9~92.6  $\mu\text{mol/l}$ 를 나타냈으며 수온은 0.2~30.1 °C의 범위를 나타냈다.

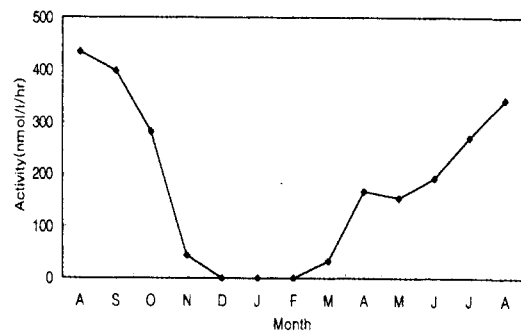
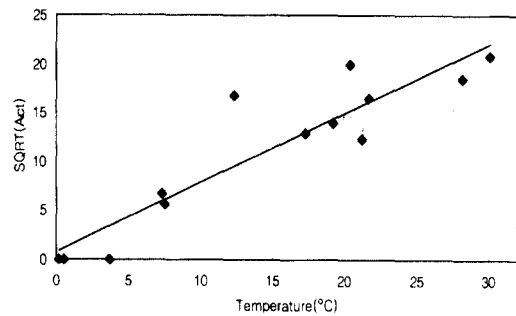


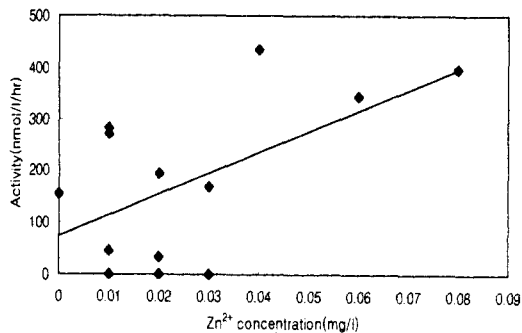
Fig. 6. Seasonal fluctuations of phytase activity from August 2000 to August 2001 at Site 2.

이들 물리화학적 인자들과 하천수의 phytase 활성과의 상관성을 분석한 결과, Table 3을 보면 수온과 Zn<sup>2+</sup>이 phytase 활성과 상관성이 있는 것으로 나타났다. Fig. 7에서 수온과 phytase 활성과의 상관계수 (r)는 0.92로 매우 높게 나타나고 있으며, Fig. 8에서 Zn<sup>2+</sup>과 phytase 활성사이에도 상관성 (r=0.58, p<0.05)을 보이고 있다. 일반적으로 Zn<sup>2+</sup>은 phytase 활성을 억제(9)하는 것으로 알려지고 있으나, phytase의 생산을 촉진하는 작용(19)도 하고 있으므로 하천환경의 낮은 농도에서는 phytase의 생산을 촉진하는 것으로 생각된다.



$y = 0.7091x + 0.7375$  (  $r=0.92, p<0.01$  )

Fig. 7. Relationship between phytase activity and temperature at Site 2.



$y = 4021x + 73.219$  (  $r=0.58, p<0.05$  )

Fig. 8. Relationship between phytase activity and zinc ion at Site 2.

Fig. 9를 보면 지점 3에서는 phytase 활성이 N.D~557 nmol/ℓ/hr의 범위를 나타냈으며, 다른 지점과는 다르게 9월에 가장 높은 활성을 보였다. 이 지점의 물리화학적 인자들을 측정된 결과 pH는 7.28~8.39, Zn<sup>2+</sup>은 N.D~0.08 mg/ℓ, Cu<sup>2+</sup>은 N.D~15.2 μg/ℓ,

NO<sub>3</sub><sup>-</sup>은 0.5~37.6 mg/ℓ의 범위를 나타냈다. SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>은 11~35 mg/ℓ의 범위로 비교적 일정한 농도가 유지되고 있다. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>는 0.6~110.0 mg/ℓ, phytate는 12월에 3.9 μmol/ℓ, 4월과 5월에 2.1과 5.7 μmol/ℓ의 농도로 검출되었다. 용존 무기인산의 농도는 10.9~82.5 μmol/ℓ를, 수온은 최저 0.5 ℃에서 최고 32.5 ℃의 범위를 나타냈다.

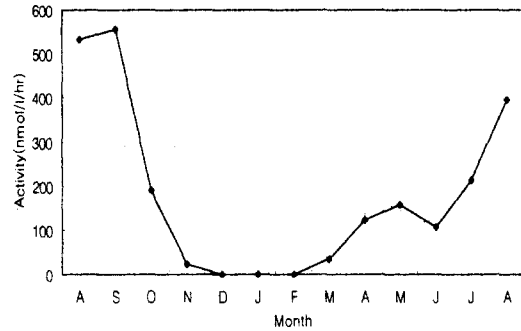
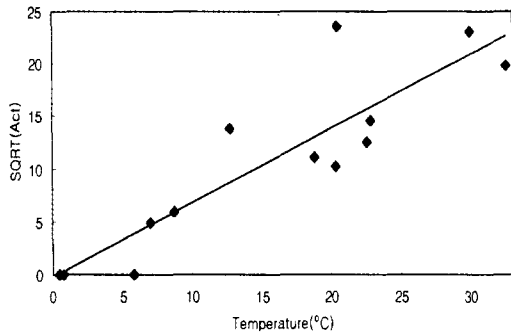


Fig. 9. Seasonal fluctuations of phytase activity from August 2000 to August 2001 at Site 3.

이 지점에서 측정된 물리화학적 인자들과 하천의 phytase 활성과의 상관성을 조사한 결과, 상관성의 정도에 차이가 있으나 지점 2와 같이 수온과 phytase 활성, 수온과 Zn<sup>2+</sup>이온 사이에 상관성이 있는 것으로 나타나고 있다. Fig. 10과 Fig. 11에서 phytase 활성과 수온의 상관계수 (r)는 0.89 (p<0.05), phytase 활성과 Zn<sup>2+</sup>의 상관계수 (r)는 0.75 (p<0.05)를 나타냈다.

측정지점이 오염원에서 비교적 멀리 떨어진 지점 2와 지점 3에서는 수온과 Zn<sup>2+</sup>이 하천의 phytase 활성에 영향을 미치는 인자로 작용하는 것으로 생각되며, 이와 같은 현상이 하천의 일반적인 현상인지 여부는 좀더 연구가 필요할 것 같다.



$y = 0.7074x - 0.2899$  ( $r=0.89, p<0.01$ )

Fig. 10. Relationship between phytase activity and temperature at Site 3

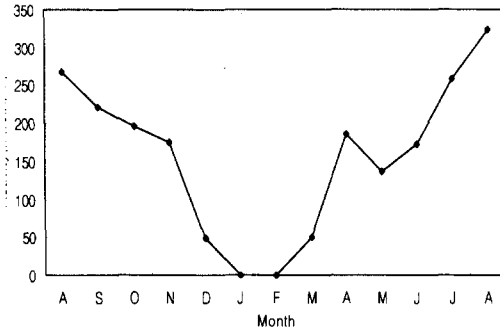
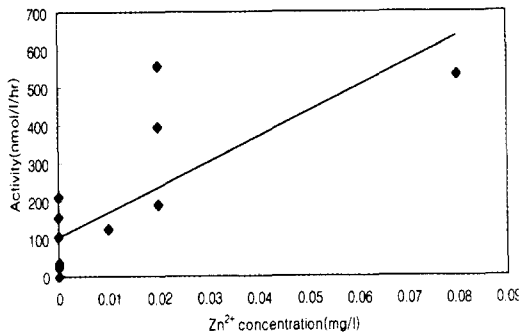


Fig. 12. Seasonal fluctuations of phytase activity from August 2000 to August 2001 at Site 4.



$y = 6656.4x + 102.5$  ( $r=0.75, p<0.05$ )

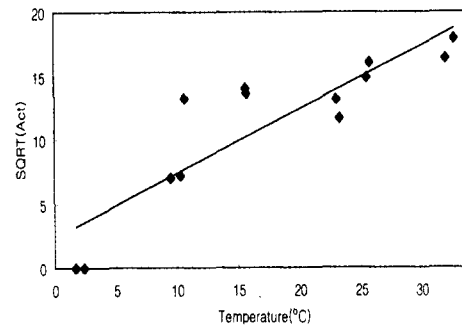
Fig. 11. Relationship between phytase activity and zinc ion at Site 3.

지점 4에서의 phytase 활성은 N.D~323 nmol/ℓ/hr의 범위를 보였다. Fig. 12를 보면 하절기에 각각 268, 323 nmol/ℓ/hr로 높은 활성을 보였으나 동절기인 1월, 2월에는 활성이 보이지 않았다. 초겨울인 11월과 12월에도 다른 지점에 비해 높은 활성을 보이고 있는데, 이 지점의 수온이 다른 지점보다 높았기 때문에 활성이 높게 나타난 것으로 생각된다.

조사기간 중 이 지점의 물리화학적 인자들을 측정 한 결과를 보면 pH가 6.66~8.50, Zn<sup>2+</sup>은 N.D~0.08 mg/ℓ, Cu<sup>2+</sup>은 N.D~37.0 μg/ℓ, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>은 8.5~235.8 mg/ℓ의 범위를 나타냈다. SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>는 57~1,800 mg/ℓ로 편차가 매우 높게 나타나고 있다. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>은 2.6~544.0 mg/ℓ, phytate는 12월에 2.6 μmol/ℓ, 5월에 4.2 μmol/ℓ의 농도로 검출되었다. 용존 무기인산의 농도는 9.1~265.1 μmol/ℓ를, 수온은 최저 1.7℃에서 최고 32.7℃의 범위를 나타냈다.

이 지점은 다른 지점보다 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 등의 오염물질의 농도차가 심하게 발생하고 있는데, 오염원의 특성상 처리되지 않고 배출되는 계분의 세척수에 의해 측정 지점이 직접 영향을 받고 있기 때문에 이와 같은 현상이 발생하는 것으로 생각된다.

측정된 물리화학적 인자와 phytase 활성간에 상관성을 분석한 결과, Fig. 13에서 수온만이 phytase 활성과 상관성( $r=0.88, p<0.05$ )을 나타냈다.



$y = 0.5026x + 2.3389$  ( $r=0.88, p<0.01$ )

Fig. 13. Relationship between phytase activity and temperature at site 4.

조사기간 중 4개 지점에서 측정된 물리화학적 인자와 하천수의 phytase 활성과의 상관성을 분석한 결과, 수온, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 및 Zn<sup>2+</sup>이 phytase 활성과 상관성이 있는 것으로 나타났다. 4개 지점 모두에서 수온과 phytase 활성 사이에서 높은 상관성을 보였는데, 오염원에서 가장 멀리 떨어진 지점 2가 가장 상관성이 높았으며( $r=0.92$ ), 가장 가까운 지점 1은 상관성이 가장 낮게 나타났는데( $r=0.82$ ), 지점 1에서는 배출

되는 폐수의 영향을 그대로 받기 때문에 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 등의 인자들이 다른 지점에 비해 더욱 작용하는 것으로 생각된다.

Table 2. Physicochemical factors from August 2000 to August 2001 at sampling sites

Factor	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
pH	7.23~8.42	6.45~8.59	7.33~8.39	6.66~8.50
Zn (mg/ℓ)	n.d~0.07	n.d~0.08	n.d~0.08	n.d~0.08
Cu (μg/ℓ)	n.d~14.2	n.d~15.2	n.d~15.2	n.d~37.0
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/ℓ)	13.3~40.1	17.2~47.9	0.5~37.6	8.5~235.8
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/ℓ)	10~190	9~27	11~35	57~1,800
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/ℓ)	1.1~161.5	0.1~47.0	0.6~110.0	2.6~544.0
Phytate (μM)	n.d~5.0	n.d~5.5	n.d~5.7	n.d~4.2
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (μM)	6.7~126.5	7.9~92.6	10.9~84.6	9.1~265.1
Temp (°C)	0.8~30.1	0.2~30.1	0.5~32.5	1.7~32.7

\* n.d : not detected

Table 3. Correlation coefficients between phytase activity and physicochemical factors at sampling sites

Factor	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
Temp.	0.83(p<0.01)	0.92(p<0.01)	0.89(p<0.01)	0.88(p<0.01)
Zn <sup>2+</sup>	0.07(p>0.05)	0.58(p<0.05)	0.75(p>0.05)	0.49(p>0.05)
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0.79(p<0.05)	0.13(p>0.05)	0.44(p>0.05)	0.32(p>0.05)
pH	0.26(p>0.05)	0.33(p>0.05)	0.40(p>0.05)	0.32(p>0.05)
Cu <sup>2+</sup>	0.11(p>0.05)	0.53(p>0.05)	0.29(p>0.05)	0.07(p>0.05)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.52(p>0.05)	0.04(p>0.05)	0.23(p>0.05)	0.07(p>0.05)
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.00(p>0.05)	0.04(p>0.05)	0.35(p>0.05)	0.00(p>0.05)
Phytate	0.21(p>0.05)	0.05(p>0.05)	0.21(p>0.05)	0.22(p>0.05)
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.28(p>0.05)	0.07(p>0.05)	0.25(p>0.05)	0.00(p>0.05)

#### IV. 결 론

2000년 8월부터 2001년 8월까지 단위 동물이 밀집으로 사육되고 있는 영평천 지역의 4개 지점에서 사육동물에 의해 소화되지 않고 배출되는 phytate를 가수분해하여 인을 유리시킴으로써 부영양화를 조래할 수 있는 phytase의 계절적 활성 변화를 관찰하였고 이 효소의 활성에 영향을 미치는 물리화학적 인자도 측정하였다. 영평천의 4개 지점에서 phytase 활성의 변화를 보면, 지점 1의 phytase 활성은 N.D~566 nmol/ℓ/hr, 지점 2는 N.D~434 nmol/ℓ/hr, 지점 3은 N.D~557 nmol/ℓ/hr, 지점 4는 N.D~323 nmol/ℓ/hr의 범위를 나타냈다. 4개 지점 모두 하절기에 높

은 활성을 보였으나 수온이 하강함에 따라 활성이 낮아져, 동절기에 활성이 보이지 않았다가 수온이 상승함에 따라 활성이 증가하였다.

하천환경에서 phytase의 활성과 물리화학적 인자와의 상관관계를 분석한 결과, phytase의 활성과 수온사이에는 상관성이 높은 것으로 나타났다. 지점 1에서 phytase 활성은 수온과의 상관계수(r)가 0.82(p<0.01), 지점 2에서는 0.92(p<0.01), 지점 3에서는 0.89(p<0.01), 지점 4에서는 0.88(p<0.01)로 높은 상관성을 보였다. 지점 1에서 phytase의 활성과 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 이온은 음의 상관성(r=-0.59, p<0.05)을 나타냈다. 지점 2와 지점 3에서는 phytase 활성과 Zn<sup>2+</sup> 사이에 상관성이 있는 것으로 확인되었는데, 각각의 상관계수(r)는 0.58(p<0.05)과 0.75(p<0.05)를 나타냈다. NO<sub>3</sub><sup>-</sup>과 Zn<sup>2+</sup>은 특정 지점에서만 상관성을 보이고 있어, 하천환경에서 조사된 물리화학적 인자 중 phytase 활성에 가장 큰 영향을 미치는 인자는 수온이라고 판단된다.

#### 참고문헌

- 1) Reddy, N.R., S.K. Sathe and D.K. Salunkhe : Phytases in legumes and cereals. *Adv. Food Res.* 82, 1-92, 1982.
- 2) Wang, H.L., E.W. Swain and C.W. Hesseltine : Phytase of molds used in oriental food fermentation. *J. Food Sci.* 45, 1262-1266, 1980.
- 3) Greiner, R., U. Konietzny and K.D. Jan : Purification and characterization of two phytase from *Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys.* 303, 107-113, 1993.
- 4) Cooper, J.R. and H.S. Gowing : Mammalian small intestinal phytase (E.C 3.1.3.8). *Br. J. Nutr.* 50, 673-678, 1983.
- 5) Martin, M. and J. Luque : Phytases activity in chicken erythrocytes and its control by organic phosphates (glycerate 2,3-P2 and inositol P5) during avian development. *Compar. Biochem. Physiol.* 80B, 557-561, 1985.
- 6) Nasi, M. : Microbial phytase supplementation for improving availability of plants phosphorus in diet of growing pigs. *J. Agr. Sci. Finland*, 62, 435-442, 1990.
- 7) Poulsen, H. : Phosphorus utilization and excretion in pig production. *J. Environ. Qual.* 29, 24-27, 2000.
- 8) Wodzinski, R.J. and A.H.J. Ullah : Phytase. *Adv. Appl.*

- Microbiol. 42, 263-302, 1996.
- 9) Liu, B.L., A. Rafiq, Y.M. Tzeng and A. Rob: The induction and characterization of phytase and beyond. *Enzyme Microb. Technol.* 22, 415-424, 1998.
  - 10) HACH : Handbook of Spectrophotometer DR2010, HACH, 2000.
  - 11) Shimizu, M. : Purification and characterization of phytase from *Bacillus subtilis* (natto) N-77. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56, 1266-1269, 1992.
  - 12) Haug, W. and H.J. Lantzsh : Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* 34, 1423-1426, 1983.
  - 13) Huber, A.L. and D.K. Kidby : An examination of the factors involved in determining phosphatase activities in estuarine water I: Analytical procedures. *Hydrobiologia* 111, 3-11, 1984.
  - 14) Berman, T. : Alkaline phosphatase and phosphorus availability in lake Kinneret. *Limnology and Oceanography* 15(5), 663-674, 1970.
  - 15) Christ, R.J. : Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes, p.29-59 In R.J. Christ(ed.), *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer-Verlag, New York, 1991.
  - 16) Mänter, U., P. Einio, J. Nurminen and J. Overbeck : Extracellular enzymes in polyhumic lake : important regulators in detritus processing. *Hydrobiologia* 229, 225-238, 1992.
  - 17) Broberg, O. and G. Persson : Particulate and dissolved phosphorus forms in freshwater: composition and analysis. *Hydrobiologia* 170, 61-90, 1988.
  - 18) 안태영, 조기성, 하영칠 : 낙동강 하구의 세균분포와 활성에 미치는 환경요인. *미생물학회지* 29(5), 329-338, 1991.
  - 19) Choi, Y.M., D.O. Noh, S.H. Cho, H.K. Lee, H.J. Suh and S.H. Chung : Isolation of a phytase-producing *Bacillus* sp. KHU-10 and Its phytase production. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9(2), 223-226, 1999.