

Research Article

Open Access

농경지 토양에 집적된 인산의 생물이용가능성 평가

이슬비, 이창훈, 김건엽, 이종식, 소규호, 김상윤,¹ 김필주^{1,2*}

농촌진흥청 국립농업과학원, ¹경상대학교 응용생명과학부, ²경상대학교 농업생명과학원

Evaluation of Bioavailability of Phosphorus Accumulated in Arable Soils

Seul-Bi Lee, Chang-Hoon Lee, Gun-Yeob Kim, Jong-Sik Lee, Kyu-Ho So, Sang-Yoon Kim¹ and Pil-Joo Kim^{1,2*}
(National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea, ¹Division of Applied Life Science (BK 21 Program), Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea, ²Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea)

Received: 23 October 2012 / Revised: 8 November 2012 / Accepted: 23 November 2012

© 2012 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

BACKGROUND: Soil utilization pattern can be the main factor affecting soil physico-chemical properties, especially in soil phosphorus (P). Understanding the distribution and bioavailability of P is important for developing management to minimize P release from arable soils to environment. This study was conducted to evaluate the potential bioavailability of soil organic P by using phosphatase hydrolysis method.

METHODS AND RESULTS: Twenty-four soils from onion-rice double cropping and 30 soils from plastic film house were selected from Changyeong and Daegok in Gyeongnam province, respectively. The P accumulation pattern (total P, inorganic P, organic P, residual P) and water soluble P were characterized. Commercial phosphatase enzymes were used to classify water-extractable molybdate unreactive P from arable soils into compounds that could be hydrolysed by (i) alkaline phosphomonoesterase (comprising labile orthophosphate monoesters), (ii) a combination of alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase

(comprising labile orthophosphate monoesters and diesters), and (iii) phytase (including inositol hexakisphosphate). Available P was highly accumulated with 616 and 1,208 mg/kg in double cropping system and plastic film house, respectively. Dissolved reactive P (DRP) and dissolved unreactive P (DUP) had similar trends with available P, showing 24 and 109 mg/kg in double cropping and 37 and 159 mg/kg in plastic film house, respectively, indicating that important role of dissolved organic P in the environments had been underestimated. From the result of phosphatase hydrolysis, about 39% and 66% of DUP was evaluated as bioavailable in double cropping and plastic film house, respectively.

CONCLUSION(S): Orthophosphate monoester and orthophosphate diester accounted for high portion of dissolved organic P in arable soils, indicating that these organic P forms give important impacts on bioavailability of P released from P accumulated soils.

Key Words: Bioavailability, Phosphatase hydrolysis, Soil phosphorus

*교신저자(Corresponding author),

Phone: +82-55-772-1966; Fax: +82-55-772-1969;

E-mail: pjkim@gnu.ac.kr

서 론

우리나라의 농경지 단위 면적당 화학비료 사용량은 2002 ~ 2004년 평균 240 kg/ha/yr로 OECD 국가 평균인 76 kg/ha/yr보다 높으며 (Lee and Jung, 2006) 세계에서도 농경지 단위면적당 화학비료 사용량이 가장 많은 국가 중 하나로 분류되고 있다 (Kim, 2007). 특히 1970년대 이후 화학비료와 가축분뇨 사용량 증가로 인해 인산을 비롯한 양분이 과다하게 농경지에 집적되고 있는 실정이다 (Kim, 1996).

농경지에 축적된 인산은 자연 강우나 인위적인 배수 등으로 수계에 유출되어 독성 조류 번성이나 부영양화와 같은 수질과 관련된 환경문제를 유발한다. 특히 인산의 형태중 유기태 인산 (Organic P)은 토양 용액뿐만 아니라 침출수 및 배출수 중 총인산 (Total P)의 많은 부분을 차지하고 있어 인산 동태에 중요한 형태로 평가되고 있다 (Turner and McKelvie, 2002). 유기태 인산은 인산가수분해효소(phosphatase)에 의해 무기태 인산으로 전환되어 생물에 이용된다. 유기태 인산의 다양한 화학적 형태는 phosphatase에 의한 가수분해가능성에 영향을 준다. Stott 와 Tabatabai(1985)는 화학 분석법과 크로마토그래피 기법을 이용하여 토양내 inositol phosphatate, phospholipid, nucleic acid 등의 유기태 인산을 확인하였다. He 등(2004)은 acid phosphatase, nuclease 등의 가수분해효소의 조합을 이용해 돈분 퇴비 및 농경지 토양내 존재하는 유기태 인산의 형태와 효소가수분해 잠재력을 분석하여 생물이용성을 평가하였다. 유기태 인산의 무기화에 관여하는 대표적인 효소는 acid phosphomonoesterase, alkaline phosphomonoesterase, phosphodiesterase 및 phytase가 있다. Acid phosphomonoesterase나 alkaline phosphomonoesterase는 산성 혹은 알칼리 토양에서 monoester phosphate의 가수분해에 관여하며, phosphodiesterase는 AMP와 DNA와 같은 phosphodiester의 가수분해에 관여한다. Phytase는 토양내 유기태 인산의 화합물 중 거의 대부분을 차지하는 phytic acid의 가수분해를 촉매하여 inositol과 phosphoric acid로 분해시킨다.

인산분해효소의 가수분해를 이용해 토양 용액내 유기태 인산 화합물의 작용기 (functional class)의 특성과 생물학적 이용가능성 (bioavailability)을 평가할 수 있다. 즉 인산가수분해효소가 토양 용액이나 유출수내 유기태 인산을 기질로 이용하여 가수분해하고 분해산물로 정인산 (orthophosphate, Pi)이 생성된다. 기질 특이성을 가지는 효소에 의해 가수분해 가능한 DUP를 작용기별로 분류할 수 있다 (Turner and McKelvie, 2002). 국외에서의 환경내 유기태 인산의 정량 및 가수분해에 대한 다양한 시도에도 불구하고 아직 국내에서 토양내 유기태 인산과 그 생물이용성에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

Lee 등(2010)은 변곡점을 이용해 영농형태별 토양의 인산 유출 잠재력을 평가하고 밭과 시설재배지의 인산 유출 위험성이 높다고 하였다. 이에 본 연구는 농경지에 축적된 인산이 수계에 유출시 생물이용가능성을 효소가수분해방법을 통해 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시험토양

시험토양은 평균 경작연수가 15년 이상으로 다년간 화학비료와 퇴비를 과량으로 사용하여 토양 내 인산 축적이 높을 것으로 예상된 경남 창녕의 양과-벼 재배지와 경남 진주시 대곡면의 호박, 수박, 고추 시설재배단지를 대상으로 하였다. 2008년 3월 창녕 (24개 지점)과 대곡 (30개 지점)에서 시료 채취용 오거를 이용해 표층토 (0~15 cm)를 채취하여 풍건 시키고 사분 (2 mm 이하)하여 토양 이화학적 특성과 인산의 축적 특성을 조사 하였다.

토양 분석

토양 pH는 1:5법 (토양:물), 유기물은 Tyurine법, 유효인산은 Lancaster법, 치환성 양이온은 1 M NH₄-acetate buffer (pH 7.0)를 이용하여 추출 정량하였다(RDA, 1988). 토양 내 유기태 인산 함량은 토양을 350°C에서 1시간 동안 회화 후 0.5 M H₂SO₄로 침출하여 조사된 인산의 함량과 회화 없이 0.5 M H₂SO₄으로 침출하여 정량된 인산 함량의 차이로 계산하였다 (Egawa and Nonaka, 1980). 이때 인산함량은 ascorbic acid 환원법 (Murphy and Riley, 1962)으로 측정하였다. 토양 총인산은 토양을 진한 HClO₄로 완전분해 한 후 ICP-OES (Perkin Elmer Model OPTIMA 4300 DV, Shelton USA)로 정량하였다. Residual P는 total P에서 무기태 인산과 유기태 인산의 합을 차로 계산하였다.

인산 유출 잠재력 평가를 위해 토양 수용성 인산 함량과 분포 특성을 조사하였다. 수용성 인산은 토양과 물을 1:10 (v/v)의 비율로 30분간 침출하고 4000 rpm에 10분간 고속 원심분리 (4°C 유지)하여 상층액을 0.45 μm 여과지에 거른 후 DRP를 ascorbic acid 환원법으로 정량하였다. 총 용존 인산 (Total dissolved P, TDP)은 H₂SO₄-HClO₄를 이용하여 수용액을 강열 분해하고 이를 묽은 NaOH로 중화하여 ascorbic acid 환원법으로 정량하였다. 이때 수용액 중의 DUP는 TDP과 DRP의 차이로 계산하였다.

수용성 인산의 생물 이용가능성 평가

토양 유기태 인산의 많은 부분이 phosphomonoester, phosphodiester, phytate로 존재하며 이를 기질로 가수분해 하는 효소인 acid phosphomonoesterase, phosphodiesterase, phytase를 이용하여 DUP의 생물 이용 가능성을 평가하였다. 실험에서 사용된 효소 및 buffer 조건은 다음과 같다 (Table 1). 선발된 효소를 0.1M Tris-HCl buffer(pH 8.0), 0.1M Tris-HCl buffer (pH 8.8), 0.1M Glycine-HCl buffer (pH 2.5)에 완전 용해시켰으며 buffer제조사 2 mM MgCl₂을 효소반응의 촉매제로 사용하였다.

Table 1. Phosphatase enzymes and buffer used to determine functional classes of MUP in soil water-extract

Items	Alkaline PMase ¹⁾	Phosphodiesterase	Phytase
EC No.	EC3.1.3.2.	EC3.1.4.1.	EC3.1.3.8.
Type	Type III	Phosphodiesterase 1, Type IV	<i>myo</i> -inositol hexakisphosphate 3-phosphohydrolase
Source	<i>Escheichia coli</i>	<i>Crotalus atrox</i> venom	<i>Aspergillus ficuum</i>
Buffer	0.1M Tris-HCl pH 8.0	0.1M Tris-HCl pH 8.8	0.1M Glycine-HCl pH 2.5
Activity of preparation (units ²⁾ /mL)	1	0.03	1

¹⁾Alkaline phosphomonoesterase

²⁾One unit (U) of enzyme activity was defined as liberation of 1.0 μ M of Pi(or appropriate products in case of non-phosphate-releasing enzymes) from appropriate substrates

Phosphodiesterase는 diester 분자내 하나의 ester-P 결합만 가수분해하므로 phosphodiesterase와 phosphomonoesterase를 조합하여 phosphodiesterase의 가수분해에 의해 생성된 monoester를 다시 가수분해하여 Pi를 ascorbic acid법으로 정량하였다. Phytase stock solution은 1500 g에서 10분간 원심 분리하여 부유 물질을 제거한 후 사용하였다. 일반적으로 효소단백질과 인산이 반응하여 침전이 형성되므로 (Turner, 2003), 효소의 농도를 가급적 낮게 조절하여 사용하였다. 사용된 효소 용액의 농도는 인산표준용액을 이용해 인산 측정에 방해가 거의 일어나지 않는 것으로 나타났다. 효소의 가수분해 능력을 평가하기 위해 다양한 인산 화합물 (1 mgP/L)을 기질로 이용하여 인산의 회복율을 평가하였다. 사용된 인산 화합물은 다음과 같다: Inositol hexakisphosphate, Glucose-6-phosphate, para-nitrophenyl phosphate (Orthophosphate monoester type), DNA (Diester type), tetra-sodium pyrophosphate, Adenosine 5'-triphosphate (Condensed phosphate type), \pm 2-aminoethyl phosphonic acid (Phosphonate type).

유출 가능한 토양 인산의 생물 이용가능성을 평가하기 위해 공시토양을 증류수와 1:10으로 30분간 침출하고, 4000 rpm에 원심분리한 후 0.45 μ m membrane filter에 여과하여 냉장 보관하였다. Assay mixture는 4.5 mL의 침출된 토양용액 (또는 기질 인산 화합물)과 assay동안 미생물의 방해를 제거하기 위해 0.25 mL의 0.1 M NaN_3 를 가하고 0.25 mL의 enzyme mixture(①alkaline phosphomonoesterase, ②alkaline phosphomonoesterase+alkaline phosphodiesterase, ③phytase)를 가해 주었다. 혼합물을 약하게 교반한 후 16시간 동안 37°C에서 incubation하여 incubation 전과 후의 차이로 효소에 의해 가수분해 가능한 molybdate unreactive P (MUP)를 계산하였다.

결과 및 고찰

인산 집적 특성

시험토양 유효인산 함량은 616과 1,208 mg/kg으로 발과

시설재배지의 적정 인산 수준인 300 과 500 mg/kg (RDA, 1999)를 크게 초과하는 것으로 나타났다 (Table 2). 양과-벼 재배지와 시설재배지 토양의 평균 총인산 함량은 각각 1,543 과 2,155 mg/kg 으로 총 인산 중 54~57%가 residual P의 형태로 존재하며 약 36% 및 8~11%가 각각 무기태 및 유기태 인산의 형태로, 분포하고 있었다 (Table 3). 토양의 무기 및 유기태 인산의 분포는 농경지 관리 방법 및 투입 비료 혹은 퇴비에 의존적이다 (Makarov *et al.*, 2002). 조사 지역인 창녕과 대곡은 재배 작물에 따라 차이가 있으나 평균 퇴비의 사용량이 36~40 ton/ha/yr에 이르고 화학비료의 사용도 많아 토양 인산 집적에 큰 영향을 준 것으로 평가되었다.

토양 유기태 인산은 토양 모재, 유기물 함량 및 미생물 활성에 영향을 받으며 평균 총 인산 함량의 약 30~65%를 차지한다고 보고되고 있다 (Harrison, 1987). 유기태 인산 역시 물에 용해되거나 토양입자와 함께 유실된다. Inositol hexakisphosphate를 제외한 유기태 인산의 대부분이 토양 내 흡착 정도가 낮아 이동성이 높은 것으로 알려져 있다 (Turner, 2003). 우리나라와 같이 밭에서 논으로 관리하거나 답전운환을 실시하는 시설재배지의 경우 축적된 인산이 유실되어 주변수계에서 부영양화에 기여할 것으로 예상되며 유출된 수용성 인산의 특성에 대한 이해가 필요하다.

창녕의 이모작 (n=24)과 진주시 대곡면 시설재배지 (n=30) 토양의 수용성 인산의 함량 및 분포 특성은 Table 3와 같다. 이모작 및 시설재배지 토양의 수용성 총 인산 함량은 각각 133, 196 mg/kg이었다.

수용성인산의 분포특성을 살펴보면, 수용성 인산의 약 18%정도가 DRP로 80% 이상이 DUP의 형태로 존재하였다. 일반적으로 DRP는 주로 free orthophosphate로 존재하며 이는 식물이나 수중 미생물에 의해 직접 이용되므로 수질에 있어 주요 분석 항목이다. 그러나 DUP의 경우 수질 평가지표로 거의 이용되지 않고 대부분 무시되었는데 이는 DRP와 달리 DUP의 복잡한 구조로 인한 직접적인 측정 방법이 거의 없기 때문으로 해석된다. DUP의 대부분은 pyrophosphate, polyphosphate와 같이 축적된 무기태 인산, inositol phosphate,

Table 2. Characteristics of soils used for phosphatase hydrolysis

Parameters	Rice-onion double cropping paddy (n=24)		Vegetables cultivating greenhouse upland (n=30)	
	Mean	Range	Mean	Range
pH (1:5 with H ₂ O)	6.2	5.4-7.4	6.5	5.5-7.7
OM ¹⁾ (g/kg)	23.5	20.2-25.3	34.9	18.7-37.8
Available P ₂ O ₅ (mg/kg)	616	111-1,238	1,208	1,004-1,438
Ex. cations ²⁾ (cmol ⁺ /kg)				
K	1.2	0.5-2.3	2.0	1.1-2.4
Ca	7.0	4.9-9.4	8.2	6.7-9.2
Mg	2.5	1.9-3.7	2.7	1.7-3.4
Water soluble P (mg/kg)	133	105-222	196	30-543
DRP	24	15-98	37	5-249
DUP	109	90-124	159	25-294
Soil texture	Silty loam, Sandy loam, Loam		Silty loam, Sandy loam	

¹⁾Organic matter

²⁾Exchangeable cations

Table 3. Characteristics of phosphorus accumulation in soils selected for this study

Parameters	Rice-onion double cropping paddy (n=24)		Vegetables cultivating greenhouse upland (n=30)	
	Mean	Range	Mean	Range
P fraction (mg P/kg)				
Total	1,543	823-2,479	2,155	960-3,809
Inorganic	561 (36.4) ¹⁾	223-965	764 (35.4) ¹⁾	220-1,440
Organic	131 (8.5) ¹⁾	65-225	237 (11.0) ¹⁾	90-418
Residual	884 (57.3) ¹⁾	535-1,289	1,153 (53.5) ¹⁾	650-1,951
Water soluble P (mg P/kg)				
Total	133 (8.6) ¹⁾	105-222	196 (9.1) ¹⁾	30-543
Reactive	24 (18.0) ²⁾	15-98	37 (18.9) ²⁾	5-249
Unreactive	109 (82.0) ²⁾	90-124	159 (81.1) ²⁾	25-294

¹⁾Proportion (%) to total P

²⁾Proportion (%) to water soluble P

ATP, phosphonate와 같은 유기태 인산, 부식산이나 점토광물과 결합된 교질성 인산으로 이루어져 있다 (Turner and McKelvie, 2002). 본 연구에서 대부분의 수용성 인산이 DUP의 형태로 존재하며 DUP가 자연계에서 phosphatase에 의해 가수분해 되면 수계에 미치는 영향이 클 것으로 예상되며 이에 대한 연구와 관리가 시급한 것으로 판단되었다.

Figure 1과 같이 본 연구 토양 총 인산과 수용성 인산은 고도의 정의 상관관계를 나타내며 ($n=54$, $R^2=0.682$ 로 $r=0.826^{***}$), 이를 통해 인산이 토양에 집적될수록 주변 수계로 유출 잠재력이 매우 높은 것으로 평가되었다. 또한 수용성 인산의 대부분이 유기태 형태로 구성되어 있어 유기태 인산이 환경에 미치는 영향이 큰 것으로 판단되었다.

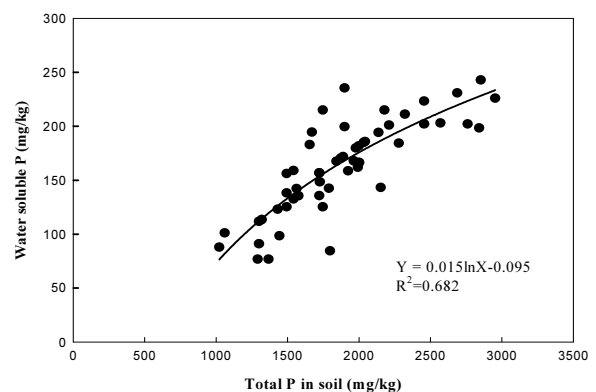


Fig. 1. Correlation between soil total P and water soluble P in arable soils.

인산분해효소를 이용한 토양 인산의 생물 이용 가능성 평가

인산의 생물 이용가능성 평가를 위해 사용된 buffer와 효소 stock solution의 기질 특이성 조사 결과는 Table 4과 같다.

효소의 기질 분해 특이성 결과를 살펴보면 alkaline phosphomonoesterase는 ATP, glucose-6-phosphate, *para*-nitrophenyl phosphate, *tetra*-sodium pyrophosphate와 같은 condensed P compound나 orthophosphate monoester에 90% 이상의 높은 기질 분해 특이성을 보였다. Alkaline phosphomonoesterase+phosphodiesterase은 orthophosphate diester인 DNA에 대해 약 85%의 높은 기질 분해 특이성을 나타냈다. Phytase는 inositol hexakisphosphate에 대해 높은 기질 분해 특이성을 나타내었고, alkaline phosphomonoesterase + phosphodiesterase에 의한 기질 분해 특성과 비슷한 정도로 condensed P compound나 monoester, diester를 분해하는 것으로 나타났다. 본 실험에서 phytase는 대부분의 기질화합물에 분해 특이성이 나타났는데 이는 부분적으로는 crude enzyme에 의한 불순물의 영향인 것으로 판단된다. Hayes 등(2000)은 정제된 phytase를 기질 분해 실험에 사용하면 inositol hexakisphosphate에 더 높은 특이성을 보인다고 하였다. pH 2.5 buffer와 pH

8.0 buffer는 기질 분해가 거의 일어나지 않았으며, 사용된 기질중 ± 2 -aminoethyl phosphonic acid는 buffer와 조합된 효소 모두에서 거의 분해되지 않는 것으로 나타났다. 따라서 이상의 효소기질 분해 특이성 결과를 통해 각 효소의 조합에 의해서 토양 용액에 존재하는 인산의 분해 특성 및 인산의 형태별 분류가 가능할 것으로 판단된다. 즉, alkaline phosphomonoesterase에 분해되는 인산을 orthophosphate monoester로, alkaline phosphomonoesterase+phosphodiesterase와 alkaline phosphomonoesterase와의 차이를 통해 orthophosphate diester를, phytase와 alkaline phosphomonoesterase+phosphodiesterase의 차이를 통해 inositol phosphate의 함량에 대한 평가가 가능하다.

조사토양을 물로 침출하여 인산분해효소를 이용하여 유출 가능한 인산의 생물 이용가능성을 평가한 결과는 Table 5와 같다. 이모작 및 시설재배지 토양중 물로 침출된 DUP중 약 38%와 66%가 인산분해효소에 의해 분해되는 것으로 나타났다. 이러한 인산분해효소에 의해 분해 가능한 인산의 함량 차이는 농경지에 집적된 인산의 함량에 영향을 받는 것으로 판단된다.

Table 4. Recovery of P (%) from model P compounds (1 mgP/L) by enzymatic and hydrolysis. Values are means of triplicate samples

Compound	pH 2.5 buffer	pH 8.0 buffer	Compound recovery as MRP ³⁾ (%)		
			APMase ¹⁾	APMase+PDase ²⁾	Phytase
± 2 -aminoethyl phosphonic acid	<0.1	<0.1	2.7	0.7	0.6
ATP	<0.1	<0.1	92.8	94.8	98.9
DNA	<0.1	<0.1	3.1	85.6	91.9
Glucose-6-phosphate	<0.1	<0.1	98.0	98.2	94.2
Inositol hexakisphosphate	0.8	0.9	10.2	4.6	95.3
<i>para</i> -nitrophenyl phosphate	2.9	0.6	97.4	97.9	96.7
<i>tetra</i> -sodium pyrophosphate	0.8	<0.1	97.8	98.0	96.0

¹⁾Alkaline phosphomonoesterase

²⁾Alkaline phosphomonoesterase + Phosphodiesterase

³⁾Molybdate Reactive P

Table 5. Hydrolyzed phosphorus (mgP/kg) of molybdate-unreactive P (MUP) in water extractable Ps of rice-onion double cropping paddy and vegetables cultivated greenhouse upland soils by three different phosphatases

Phosphatase enzyme	Rice-onion double cropping paddy		Vegetables cultivating greenhouse upland	
	Mean	Proportion (%) ¹⁾	Mean	Proportion (%) ¹⁾
Alkaline phosphomonoesterase	13.1	12	28.6	18
Phosphodiesterase	26.2	24	70.0	44
Phytase	3.3	3	6.4	4
Sum	41.4	39	105.6	66.4

¹⁾Proportion (%) of hydrolyzed P to MUP in water extractable P

DUP중 생물에 이용 가능한 인산의 형태를 살펴보면 많은 양이 alkaline phosphomonoesterase와 phosphodiesterase에 의해 분해되는 것으로 나타났다. Alkaline phosphomonoesterase에 의해 이모작 토양에서 12%, 시설재배지 토양에서 18% 정도의 DUP가 분해되는 것으로 나타났다.

이모작 및 시설재배지 토양 DUP중 24와 44%가 phosphodiesterase에 의해 분해되는 것으로 나타났다. 따라서 이모작과 시설재배지 토양에서 유출가능한 유기태 인산중 orthophosphate diester의 함량이 비교적 높은 것으로 평가되었다. 이러한 diester가 토양내 많이 존재하는 이유로 첫째, 대부분의 유기태 인산이 핵산이나 인지질과 같은 미생물체로부터 유래하여 diester의 형태로 토양에 투입되며(Bieleski, 1973), 둘째, 용액내 diester의 함량이 높은것은 labile monoester와 비교했을 때 이들의 분해속도가 느리기 때문으로 해석된다(Dick and Tabatabai, 1978).

본 연구에서 phytase에 의한 DUP의 분해율은 이모작 및 시설재배지 토양에서 3~4%로 낮았다. 일반적으로 토양 inositol P의 함량은 토양 유기태 인산의 5-40%까지 차지한다고 보고되고 있다 (Turner, 2007). 그러나 phytase의 활성, 토양 점토 함량, 투입되는 퇴비의 조성 및 근원에 따라 inositol P의 유출 및 분해가능성은 다소 다른 경향을 나타낸다. Pant 등(1994)은 일반적으로 phytase는 토양 물 침출액내 acid phosphatase, alkaline phosphatase에 의해 가수분해된 인산보다 2배 정도 많이 분해한다고 하였다. 그러나 McKelvie 등(1995)은 inositol P가 토양에 강하게 흡착하기 때문에 이에 대한 수중 미생물의 유효도가 낮아서 인산 이동의 위험성이 낮다고 하였다. 그러나 토양이 건습되면서 inositol P의 유출 가능성을 크게 증가하고 효소에 의해 가수분해 가능한 형태로 유출된다. 또한 토양 점토와 교질에 흡착되어 입자 자체로 유거에 의해 주변 수계에 유출 된다. 계분 및 돈분이 처리된 토양 inositol P의 함량이 우분을 처리한 곳 보다 높다고 알려져 있다. 이는 가축의 소화기관내 미생물의 phytase의 종류나 활성에 의한 inositol P의 가수분해 차이에 기인한 것으로 판단된다. 비록 본 연구결과에서는 DUP중 phytase에 의해 분해 가능한 형태가 낮았으나 우리나라에서도 해마다 농경지 토양에 가축분뇨의 투입량이 늘고 있어 특히 inositol P의 토양내 거동성과 생물이용가능성에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

일반적으로 DUP의 약 60% 정도가 비특이적 phosphatase에 의해 가수분해 된다고 알려져 있어 환경내 DUP의 생물이용가능성은 비교적 높다고 할 수 있다. 생물에 의해 이용되기 어려운 DUP는 주로 살아있는 박테리아, 세포 조각, 부식과 같은 고분자 화합물, 인산을 함유한 광물 교질이 있다(Hens and Merckx, 2001).

본 연구에서 토양에 축적된 유기태 인산중 orthophosphate monoester와 orthophosphate diester가 주로 인산분해효소에 의해 분해되어 주변 수계에서 생물 이용 가능성이 클 것으로 판단된다. 인산분해효소기법을 이용하여 이모작 및 시설재배지 토양의 유출 인산의 생물이용가능성을 평가한 결과,

DUP의 상당부분이 생물에 이용이 가능한 형태로 주변 수질 환경에 미치는 영향이 큰 것으로 평가되었다.

요약

본 연구에서는 화학비료와 퇴비를 과다하게 투입하여 인산의 집적 및 유출 위험성이 높은 양파-벼 재배지와 시설재배지의 인산 집적 특성과 인산가수분해효소를 이용한 집적 인산의 수계에서의 생물이용가능성을 평가하였다. 수용성 인산중 많은 부분의 유기태 인산이 주변 수계에 유출될 위험성이 높았지만 그동안 제대로 평가되지 못했다. 본 연구결과에서 alkaline phosphomonoesterase와 phosphodiesterase에 의해 이모작토양에서 DUP의 12, 24% 가 시설재배지 토양에서 DUP의 18과 44%가 분해되는 것으로 나타났다. 토양에 축적된 유기태 인산중 orthophosphate monoester와 diester가 주로 인산분해효소에 의해 분해되어 농경지 주변 수계로 유출시 생물 이용 가능성이 큰 것으로 평가되었다. 따라서 수계에서 인산의 거동을 이해할 때 유기태 인산에 대한 충분한 고려가 필요할 것이다.

감사의 글

This study was supported by Rural Development Administration, Republic of Korea (Project No. PJ907228022012).

참고문헌

- Bieleski, R.L., 1973. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability, *Annual Review of Plant Physiol. & Plant Mol. Biol.* 24, 225-252.
- Dick, W.A., Tabatabai, M.A., 1978. Hydrolysis of organic and inorganic phosphorus compounds added to soils, *Geoderma*, 21, 175-182.
- Egawa, T., Nonaka, M., 1980. Studies on soil organic phosphorus. 1) Organic phosphorus content in some Andosols, *Bull. of the faculty of agriculture Meiji University*, 52, pp. 55-68 (in Japanese with English summary).
- Harrison, A.F., 1987. *Soil organic phosphorus: a review of world literature*, p. 257, CAB International, Wallingford, UK
- Hayes, J.E., Richardson, A.E., Simpson, R.J., 2000. Components of organic phosphorus in soil extracts that are hydrolysed by phytase and acid phosphatase, *Biol. Fert. Soils*, 32, 279-286.
- He, Z., Griffin, T.S., Honeycutt, C.W., 2004. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus in swine manure and soil, *J. Environ. Qual.* 33, 367-372.
- Hens, M., Merckx, R., 2001. Functional characterization

- of colloidal phosphorus species in the soil solution of sandy soils, *Environ. Sci. Technol.* 35, 493-500.
- Kim, Y.W., 1996. Impacts of fertilizer on agricultural environment and its countermeasure, pp. 57-81. '96 Symposium on agricultural environment, Korean Society of Environmental Agriculture.
- Kim, C.G., 2007, Development & evaluation of nutrient gross indicators by applying nutrient balance indicators, pp. 27-55, Workshop on Development of OECD agri-environmental indicators and its political application, RDA.
- Lee, Y., Jung, P.G., 2006. *Nutrient balance indicators*, p. 68, Development & evaluation of OECD agri-environmental indicators, KREI & RDA, Korea (in Korean).
- Lee, S.B., Lee, C.H. Hong, C.O., Lee, Y.B., Kim, P.J., 2010. Evaluation of phosphorus release potential in arable land with different land use by phosphorus threshold, *Korean J. Environ. Agri.* 29(4), 343-347.
- Makarov, M.I., Haumaier, L., Zech, W., 2002. Nature of soil organic phosphorus: An assessment of peak assignments in the diester region of ^{31}P NMR spectra, *Soil Biol. Biochem.* 34, 1467-1477.
- McKelvie, I.D., Hart, B.T., Cardwell, T.J., Cattrall, R.W., 1995. Use of immobilized 3-phytase and flow injection for the determination of phosphorus species in natural waters, *Anal. Chim. Acta.* 316, 277-289.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Anal. Chim. Acta.* 27, 31-36.
- Pant, H.K., Edwards, D., Vaughan, A.C., 1994. Extraction, molecular fractionation and enzyme degradation of organically associated phosphorus in soil solutions, *Biol. Fert. Soils*, 17, 196-200.
- RDA (Rural Development Administration), 1988. *Methods of Soil Chemical Analysis*, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, Korea (in Korean)
- RDA (Rural Development Administration), 1999. *Fertilization standards to crop plants*, p.148, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA. Suwon, Korea (in Korean).
- Stott, D.E., Tabatabai, M.A., 1985. Identification of phospholipids in soils and sewage sludges by high-performance liquid chromatography, *J. Environ. Qual.* 14, 107-110.
- Turner, B.L., McKelvie, I.D., 2002. A novel technique for the pre-concentration and extraction of inositol hexakisphosphate from soil extracts with determination by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance, *J. Environ. Qual.* 31, 466-470.
- Turner, B.L., 2003. Organic phosphorus transfer from terrestrial to aquatic environments, in: Turner, B.L. (Eds), *Organic phosphorus in the environment*, CABI Publishing, pp. 269-294.
- Turner, B.L., 2007. Inositol phosphates in soil: Amounts, forms and significance of the phosphorylated inositol stereoisomers. in: Turner, B.L. (Eds), *Inositol phosphates: Linking agriculture and the environment*, CAB Int., Wallingford, UK. pp. 186-207.