

## Phormidium sp.의 Geosmin 생산에 미치는 환경요인의 영향

박대균 · 오희목\* · 안치용<sup>1</sup> · 맹주선<sup>2</sup>

생명공학연구소 환경생물소재연구실, <sup>1</sup>한국과학기술원 생물과학과, <sup>2</sup>서강대학교 생명과학과

Cyanobacteria와 방선균에 의해 생산되는 대표적 취기물질인 geosmin의 정성 및 정량 분석법을 확립하고, cyanobacteria인 *Phormidium* sp. NIVA-CYA7의 성장과 geosmin의 생산 및 방출에 영향을 주는 환경요인에 대해 조사하였다. Geosmin의 분석은 전처리과정의 간편하고, purge 시간을 1시간으로 단축한 purge & trap concentrator가 장착된 gas chromatograph로 분석하였다. *Phormidium*의 생장은 pH 7.9, 온도 20°C, 광도 120-140  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ , Z8 배지의 배양조건에서 8일까지 유도기를, 이후 14일까지 지수성장기를, 14일 이후에는 정상기를 보였다. 배지 내 질소의 농도를 250  $\mu\text{M}$ 에서 100 또는 25  $\mu\text{M}$ 로 감소시켰을 때, *Phormidium*의 생장은 거의 영향을 받지 않았다. 반면에 배지의 인 농도를 25  $\mu\text{M}$ 에서 10 또는 2.5  $\mu\text{M}$ 로 감소시켰을 때, 인의 농도가 감소할수록 생장은 억제되었다. 배지내 인의 농도를 25  $\mu\text{M}$ 에서 10  $\mu\text{M}$ 로 감소시켰을 때, 단위 탄소당 또는 엽록소-a당 geosmin의 함량은 각각 35%와 68% 증가하였다. *Phormidium*의 geosmin함량은 pH 9.4에서 0.0824  $\mu\text{g}/\text{mg}$  C로 pH 6.4, 7.9에 비해 두 배 이상 많았다. 따라서 *Phormidium*의 geosmin 함량은 성장단계, 인의 농도, pH 등에 따라 영향을 받지만, geosmin의 방출은 이들 요인에 의하여 크게 영향받지 않는 것으로 판단된다.

Key words □ blue-green algae, cyanobacteria, geosmin, *Phormidium*

### 서 론

호소의 부영양화는 하절기에 호소생태계의 이화학적, 생물학적 환경변화뿐 아니라 식물플랑크톤의 성장촉진과 함께 이들에 의해 생산되는 독소나 용존 유기화합물(dissolved organic compounds, DOC)의 증가를 포함하는 현상이다. 수중생태계에서 이러한 DOC의 생산과 소비는 직, 간접적으로 수중 생태계의 생산성에 관련되기 때문에 중요한 생태적 과정이다. 특히 국민 보건에 입장에서 DOC가 높은 물은 취기를 유발하거나 정수과정에서 소독 부산물을 형성하는 전구체가 되기 때문에 음용 및 레크리에이션의 용도에 적합하지 않다(18). 음용수에서 취기의 주요 생산자는 cyanobacteria, 조류 그리고 방선균 등으로 보고되었고(12,13,14), 생산되는 물질은 알켄, 지방족 알콜, 알데히드, 케톤, 에스테르, 치오에스테르 그리고 설파이드계 화합물로 알려져 있다(8,21). 이러한 취기물질 중에서 흙냄새나 진흙냄새를 유발하는 geosmin(trans-1,10-dimethyl-trans-9-decalol)은 주로 방선균과 cyanobacteria에 의해 생산되고(12,13,14), 10 ng/l의 매우 낮은 취기 역치값을 가지며(7), 정수과정에서 쉽게 산화되지 않아 수질 관리의 측면에서 중요한 물질이다(1). 이러한 중요성에도 불구하고 geosmin의 생산 및 방출에 관한 연구는 시료처리가 복잡하며, 특수 분석장비를 필요로 하는 등의 어려움으로 인하여 연구가 미흡한 실정이다.

Geosmin의 생합성과정은 Bentley와 Meganathan(2)에 의해 처음 제안되었는데, 이들은 방선균에서 geosmin이 isoprenoid 경로를 거쳐 합성되는 sesquiterpene 전구체로부터 3 개의 탄소가 떨어진 형태라고 제안하였다. Geosmin의 생합성 과정은 cyanobacteria인 *Oscillatoria brevis*에서도 같은 경로를 거쳐 생합성된다고 알려져 있으며, 특히 cyanobacteria에서 isoprenoid 경로는 엽록소-a나 carotenoids, 그리고 phycocyanin과 같은 색소 생산의 주요 경로이므로 광도가 geosmin합성에 영향을 주는 요인이 보고되었다(12,13,14). Geosmin의 생산과 방출은 세포의 성장에 따라 변화된다고 알려져 있고(19), 특히 생산에 미치는 환경요인으로 는 질소원의 형태(26), 온도(4), 그리고 광도(12) 등이 알려져 있다. Geosmin의 생산과 방출은 세포가 주변 환경에 적응하기 위한 생리적 기작으로 이해되고 있으며, 특히 환경 스트레스하에서 증가된다고 알려져 있다(24). 그러나 취기물질이 왜 합성되며, 세포내 다른 색소의 합성과 관련하여 취기물질의 합성이 어떻게 조절되는지는 아직까지 명확하게 규명되지 않고 있다.

따라서, 본 연구는 cyanobacteria가 생산하는 대표적 취기물질로 알려진 geosmin의 검출법을 정립하고, geosmin을 생산하는 cyanobacteria인 *Phormidium* sp.의 성장과 geosmin의 생산에 미치는 몇가지 환경요인의 영향을 조사, 분석하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주 및 배양

본 실험에 사용한 *Phormidium* sp. NIVA-CYA7은 Norwegian Institute for Water Research(NIVA)에서 분양 받은 것으로,

\*To whom correspondence should be addressed  
Tel: 82-42-860-4321, Fax: 82-42-860-4598  
E-mail: heemock@mail.krribb.re.kr

trichome의 직경이 5.8~8.7  $\mu\text{m}$ 로 평균 7.1  $\mu\text{m}$ 이고, 세포의 길이는 폭보다 짧은 특징을 갖는 사상형 cyanobacteria이다(3). 또한 성장시 trichome이 뭉쳐 얇은 algal mat를 형성하며, flask의 표면에 부착하는 특징이 있다. *Phormidium*의 배양에 사용한 배지는 NIVA Culture Collection에서 사용한 Z8 배지의 질소와 인 농도를 변형하고, pH는 7.9로 조정하여 사용하였다. *Phormidium*은 shaking incubator(KSI, 200FL)를 사용하여, 광량은 120-140  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ , 온도는 20°C 그리고 shaking rate은 50 rpm의 조건으로 배양하였다.

### 분석용 시료의 준비

배양된 *Phormidium* 시료는 12,000 rpm에서 30 분간 원심 분리하였다. 상등액은 membrane filter(pore size 0.45  $\mu\text{m}$ , Advantec MFS, Inc.)로 여과한 후, 세포의 geosmin의 분석에 사용하였다. 침전물은 10 mM 2-mercaptoethanol이 포함된 10 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 10  $\mu\text{l}$ 에 녹인 후, 시료를 균질화하기 위하여 초음파파쇄기(Lab-sonic System, 600W)로 약하게(tapered microtip, 50% duty cycle, 30 sec) 2회 파쇄하여 엽록소-a, phycocyanin 분석에 사용하였다. 총 유기탄소, 세포내 geosmin, 총 단백질 분석용 시료는 세포를 buffer에 녹인 후, 초음파파쇄기로 강하게(replaceable titanium tip, 50% duty cycle, 3 min) 5회 파쇄하여 사용하였다.

### 색소 및 세포구성물질의 분석

엽록소-a를 측정하기 위하여 준비된 시료 100  $\mu\text{l}$ 를 Whatman GF/C filter로 여과한 후, 이 filter를 chloroform:methanol(2:1, v/v) 용액 9 ml에 넣어 엽록소를 추출하였다. 4-5 시간이 지난 후, 증류수 5.4 ml를 첨가하여 4°C에서 12 시간동안 보관하였다. 이 용액에서 chloroform 층만을 취해 fluorometer(Sequoia-Turner, Model 450)를 이용하여 엽록소-a를 정량하였다(25).

Phycocyanin을 측정하기 위하여 준비된 시료 100  $\mu\text{l}$ 를 80% acetone으로 2회 용출하고 원심분리한 다음, pellet을 0.2 M sodium acetate buffer(pH 5.5)에 완전히 녹였다. 이 buffer는 spectrophotometer(Shimadzu, UV-160A)를 이용하여 각각 625 nm, 678 nm, 725 nm에서 흡광도를 측정하여 phycocyanin의 함량을 산출하였다(11).

총 유기탄소를 측정하기 위하여 준비된 시료 1 ml를 증류수로 희석한 후 총유기탄소분석기(Shimadzu, TOC-5000A)를 이용하여 총 유기탄소를 정량하였다. 총 단백질을 측정하기 위하여 시료 100  $\mu\text{l}$ 를 일부 변형된 Lowry 법에 따라 발색시킨 후, spectrophotometer를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다(9). 단백질 표준물질로는 bovine serum albumin(Sigma Co.)을 사용하였다.

### 취기물질의 분석

시료에 녹아있는 취기물질은 purge & trap concentrator (Tekmar, 3000)를 사용하여 농축하였으며, gas chromatograph (Varian, 3400CX)를 이용하여 정성 및 정량 분석하였다. 시료에 포함된 취기물질의 purge 조건은 Stahl과 Parkin(22)의 방법을 일

부 변형하여 최적화하였다. Purge 시간은 60 분으로 설정하였고, gas chromatograph와 연결되어 농축된 시료를 자동으로 공급하는 주입부의 온도는 170°C로 설정하였다. Purge가 끝나고 tenax trap에 농축되어 있던 휘발성 유기화합물은 고온에 의해 탈착(desorption)되어 gas chromatograph로 주입되는데, 이때 탈착온도와 시간은 각각 245°C, 2 분으로 설정하였다.

Gas chromatograph의 분석조건은 다음과 같이 설정하였다. Column은 fused-silica capillary column인 XTI-5(Restek Co., 30 m $\times$ 0.32 mm, 25  $\mu\text{m}$  film thickness)를 사용하였고, injector와 detector 온도는 각기 270°C, 280°C로 설정하였다. Column의 승온조건은 120°C에서 10 분간 유지하였고, 이후 분당 10°C씩 증가하여 225°C에서 10 분간 유지하도록 설정하였다. 시료에 녹아있는 geosmin의 정성분석은 표준물질(Sigma Co.)의 retention time과 비교한 후, 시료에 표준물질을 첨가하여 확인하였으며, 정량분석은 peak의 면적을 기준으로 계산하였다.

### 생장에 따른 geosmin의 생산과 방출

*Phormidium*의 생장에 따른 geosmin의 생산과 방출을 조사하기 위해 Z8 배지에서 20 일간 회분배양하면서 5 일부터 3 일 간격으로 세포를 회수하여 실험하였다. Biomass를 알아보기 위해 총 단백질과 총 유기탄소를 정량하였다. Geosmin은 세포내 geosmin과 세포외 geosmin으로 나누어 분석하였다. 배지에 축적되는 세포외 geosmin은 배지를 membrane filter로 여과하여 cell-free 시료를 얻은 후, 이 시료 20 ml를 취기분석용 시료로 사용하였다. 세포내 geosmin은 준비된 시료 2 ml를 12,000 rpm에서 15 분간 원심분리하여 세포 파쇄물을 침전시킨 후, 상등액만을 취하여 membrane filter로 여과한 후, 얻어진 시료를 증류수로 희석하여 세포외 geosmin의 분석과 동일한 방법으로 분석하였다.

### Geosmin의 생산과 방출에 미치는 환경요인

질소와 인의 농도가 *Phormidium*의 생장과 geosmin 생산에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위해 각각 인-고정, 질소-고정 Z8 배지에 질소와 인의 농도를 달리하여 회분배양하면서 2 일 간격으로 biomass와 세포외 geosmin 그리고 세포내 geosmin을 정량하였다. 질소의 농도는 호소 부영양화의 일반적인 기준인 0.3 mg/l(21  $\mu\text{M}$ )를 고려하여 250  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ 로 결정하였다. 인의 농도 역시 일반적인 기준인 0.02 mg/l(0.65  $\mu\text{M}$ )를 고려하여 25  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 2.5  $\mu\text{M}$ 로 결정하였다. 인-고정의 경우 인의 농도는 25  $\mu\text{M}$ 로 고정하였고, 질소의 농도는 250  $\mu\text{M}$ 로 고정하였다.

pH의 변화가 *Phormidium*의 생장과 geosmin 생산에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위해 Z8 배지의 초기 pH를 각각 6.4, 7.9, 9.4로 조절하여 회분배양하였다. 세포의 생장이 지수성장기(exponential phase)를 지나 정상기(stationary phase)에 도달할 것이라 예상되는 배양 15 일에 엽록소-a, phycocyanin, 총 유기탄소를 측정하였고, 세포외 geosmin과 세포내 geosmin을 정량하였다.

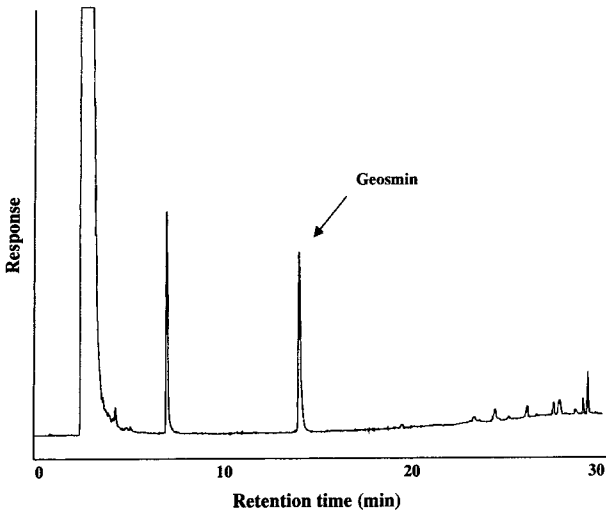


Fig. 1. Gas chromatogram of geosmin.

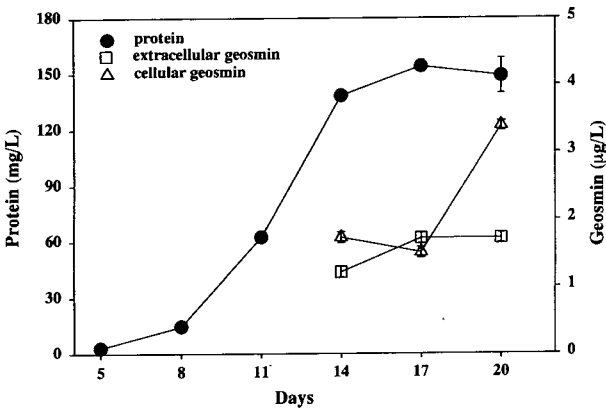


Fig. 2. Changes of protein and geosmin concentration in the culture of *Phormidium* sp. Each symbol represents a mean value of triplicates. Vertical bars represent standard deviation.

결과 및 고찰

취기물질의 분석

Cyanobacteria와 방선균에 의해 생산되는 대표적 취기물질인 geosmin 표준물질의 chromatogram은 Fig. 1과 같다. 취기물질을 농축하기 위한 purge 시간은 15 분, 30 분, 60 분, 90 분 그리고 180 분으로 조절하여 실험한 후, 최대 회수율을 보이는 60 분으로 설정하였다(자료 생략). Geosmin의 gas chromatograph 분석결과 retention time은 14 분으로 조사되었다.

본 연구에서 정립된 geosmin의 purge & trap-gas chromatograph 분석법은 유기용매 추출법(7)에 비하여 전처리과정이 간편하고, 취기물질 농축기로 흔히 사용되고 있는 CLSA(closed loop stripping analysis)법(6)과 비교하여 purge 시간을 1 시간으로 단축하여 편리한 분석법으로 판단된다.

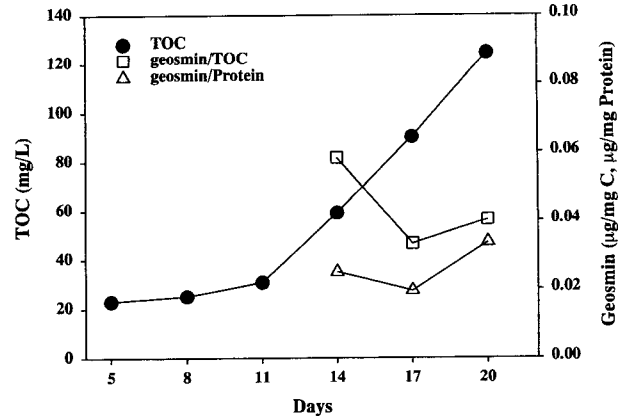


Fig. 3. Changes of total organic carbon (TOC) concentration and geosmin content in the culture of *Phormidium* sp. Geosmin contents were normalized by TOC and protein content of *Phormidium* sp., separately.

생장에 따른 geosmin의 생산과 방출

*Phormidium*의 생장은 8 일까지 유도기(lag phase)를 보이고 이후 14 일까지 지수성장기를 보이며 14 일 이후는 정상기를 보였다(Fig. 2). 성장기간 동안 배지로 방출되는 세포의 geosmin은 지수성장기부터 배지에 축적되어 정상기에 약간 증가한 후 일정하게 유지되는 경향을 보였다. 세포내 geosmin은 정상기가 진행되면서(17 일 이후) 이전보다 2 배 이상 많은 양이 검출되었다.

세포의 총 유기탄소 변화로 성장곡선을 나타낸 경우 지수성장기 이후 총 유기탄소는 계속 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3). 단위 탄소당 geosmin의 함량은 지수성장기에 가장 높다가 정상기로 접어들면서 감소하여 0.038 µg/mg C로 일정하게 유지되는 경향을 보였고, 단위 단백질당 세포내 geosmin의 함량은 지수성장기의 초기에 세포내 축적되었다가 후기에 약간 증가되는 경향을 보였다. 이러한 경향은 Bowmer 등(5)의 실험과 유사한 결과로 *Anabaena circinalis*에서 geosmin은 지수성장기에 세포내, 외에 축적되며 엽록소-a 농도와 매우 높은 상관관계를 보인다고 밝혀진 바 있다.

Geosmin의 생산과 방출에 미치는 질소와 인의 영향

배지의 인 농도를 25 µM로 고정된 인-고정 배양에서 엽록소-a, phycocyanin 등으로 나타낸 *Phormidium*의 생장은 질소농도에 의해 많은 영향을 받지 않았다(Table 1). 질소농도에 따른 *Phormidium*의 생장이 정상기에 도달한 배양 15 일에 250~25 µM의 질소농도에서 세포의 geosmin의 양은 3.88~4.30 µg/l로 비슷한 양이 검출되었으나, 세포내 geosmin의 농도는 질소의 농도가 250 µM인 경우 4.78 µg/l로 가장 높았다. 단위 유기탄소당 geosmin의 함량은 25 µM에서 0.049 µg/mg C로 가장 많았으나, 세가지 질소농도에서 대체로 비슷한 정도로 검출되었고, 단위 엽록소-a당 geosmin의 함량도 큰 차이가 없었다.

일반적으로 조류의 경쟁과 성장에 있어 큰 영향을 미친다고 생각되는 요소는 optimal N:P ratio이고, 대체로 cyanobacteria의 경우 optimal N:P ratio는 15 이하로서 다른 조류보다 낮은 것으

**Table 1.** Pigment and geosmin concentration in the culture of *Phormidium* sp. grown for 15 days in P-fixed (25  $\mu$ M) Z8 medium.

Item	N concentration ( $\mu$ M)		
	250	100	25
<b>Pigments</b>			
Chlorophyll- <i>a</i> ( $\mu$ g/l)	556.8 $\pm$ 33.7 <sup>a</sup>	432.2 $\pm$ 33.2	410.6 $\pm$ 30.8
Phycocyanin (mg/l)	3.14 $\pm$ 0.64	2.45 $\pm$ 0.20	2.71 $\pm$ 0.32
<b>Geosmin</b>			
Extracellular ( $\mu$ g/l)	3.88 $\pm$ 0.16	4.30 $\pm$ 0.34	4.04 $\pm$ 0.40
Cellular ( $\mu$ g/l)	4.78 $\pm$ 0.03	3.05 $\pm$ 0.08	4.08 $\pm$ 0.08
Geosmin ( $\mu$ g/l C)	0.037	0.036	0.049
Geosmin ( $\mu$ g/l Chl- <i>a</i> )	8.77	7.20	9.93

<sup>a</sup>Each value was expressed as mean $\pm$ SD.

**Table 2.** Pigment and geosmin concentration in the culture of *Phormidium* sp. grown for 15 days in N-fixed (250  $\mu$ M) Z8 medium.

Item	P concentration ( $\mu$ M)		
	25	10	2.5
<b>Pigments</b>			
Chlorophyll- <i>a</i> ( $\mu$ g/l)	868.3 $\pm$ 22.0 <sup>a</sup>	241.2 $\pm$ 1.2	60.6 $\pm$ 2.6
Phycocyanin (mg/l)	2.97 $\pm$ 0.43	1.61 $\pm$ 0.39	1.17 $\pm$ 0.23
<b>Geosmin</b>			
Extracellular ( $\mu$ g/l)	2.74 $\pm$ 0.15	2.11 $\pm$ 0.17	N. D.
Cellular ( $\mu$ g/l)	2.72 $\pm$ 0.05	2.36 $\pm$ 0.04	N. D.
Geosmin ( $\mu$ g/mg C)	0.038	0.058	N. D.
Geosmin ( $\mu$ g/mg Chl- <i>a</i> )	3.15	9.81	N. D.

<sup>a</sup>Each value was expressed as mean $\pm$ SD.

로 알려져 있다(16,17,23). 인-고정 실험에서 이 ratio는 세가지 질소농도에 대해 각각 10:1, 4:1, 1:1 이 되므로 질소가 인에 비해 성장 제한요인으로 작용할 것이라 예상할 수 있다. *Phormidium*의 성장에서 세포가 지수성장기를 지나 정상기에 도달하는 15 일째 질소가 제한될수록 즉, 질소농도가 감소할수록 엽록소-*a*의 농도가 감소되는 경향을 볼 수 있다. Naes와 Post(13)의 실험에서도 이와 비슷한 양상을 볼 수 있는데, *Oscillatoria brevis*가 광-제한 상태에서 질소-제한 상태로 전환되면서 엽록소-*a*의 함량이 감소하는 경향을 보였다.

질소의 농도를 250  $\mu$ M로 고정한 질소-고정 배양의 경우, 인의 농도에 의해 *Phormidium*의 색소 및 geosmin의 함량은 크게 영향을 받았다(Table 2). 엽록소-*a*, phycocyanin으로 나타낸 *Phormidium*의 생장은 배지내 인의 농도가 25  $\mu$ M에서 2.5  $\mu$ M로 감소함에 따라 크게 저해되었다. 인의 농도가 2.5  $\mu$ M의 경우 세포의 생장이 크게 저해되었기 때문에 세포의 geosmin뿐 아니라 세포내 geosmin 역시 배양기간동안 모두 검출한계 이하로 검출되었다. 세포의 생장이 정상기에 도달한 배양 15 일에 세포의 geosmin의 농도는 25  $\mu$ M 배지에서 2.74  $\mu$ g/l로 10  $\mu$ M배지에

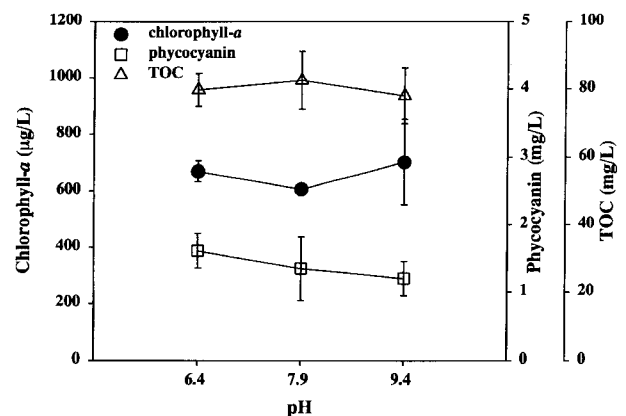
비해 높았다(Table 2). 또한 인의 농도가 낮아짐에 따라 세포의 생장이 저해되어 엽록소-*a*, phycocyanin, 총 유기탄소의 농도는 모두 25  $\mu$ M 배지에 비해 10  $\mu$ M 배지에서 매우 낮게 조사되었다.

질소-고정 배양에서 인의 제한이 심화될수록 세포내 인을 함유하는 구성분의 양이 감소할 것이고, 또한 geosmin의 생합성 경로로 알려져 있는 isoprenoid 경로가 인을 함유하는 중간 대사산물을 많이 포함하는 경로이기 때문에 geosmin의 합성이 저해될 것이라 예상하였다. 그러나, Table 2에서 관찰된 바와 같이 세포내 geosmin의 함량은 25  $\mu$ M에 비해 10  $\mu$ M에서 더 높게 측정되었다. 이것은 10  $\mu$ M배지에서 세포내 geosmin의 농도가 25  $\mu$ M과 비교하여 13%의 감소를 보인 반면 엽록소-*a*는 72%의 감소, 총 유기탄소는 42%의 감소를 보였으므로, 결과적으로 단위 탄소당 또는 단위 엽록소-*a*당 geosmin의 함량은 10  $\mu$ M에서 각각 35%와 68% 증가하였다. 따라서 인-제한과 같은 영양염류의 스트레스하에서 세포의 geosmin 함량은 증가하는 것으로 판단된다.

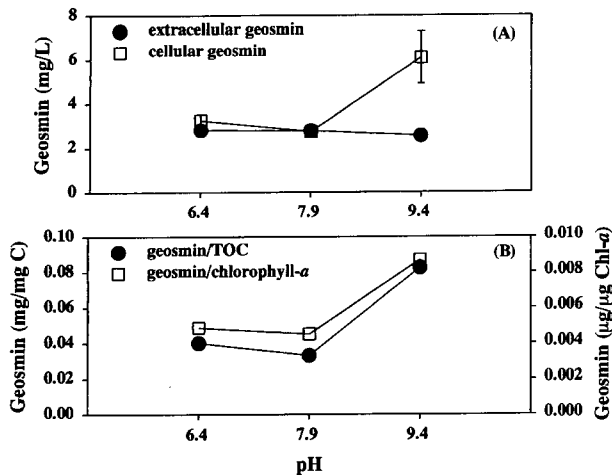
Cyanobacteria에서 geosmin과 같은 2차 대사산물의 세포내 함량이 인-제한 조건에서 증가한다는 보고는 최근에 *Microcystis aeruginosa*에 의해 생산되는 간독소인 microcystin의 경우에도 이미 보고된 바가 있다(15). 인-제한 상태에서 2차 대사산물의 세포내 함량이 증가되는 것은 탄소고정률이 낮아지기 때문에 세포의 생장이 억제되어 microcystin과 같은 2차 대사산물의 단위 건조중량당 함량이 증가되는 것으로 추정된다.

#### Geosmin의 생산과 방출에 미치는 초기 pH의 영향

엽록소-*a*와 총 유기탄소의 농도로 나타낸 *Phormidium*의 생장은 pH변화에 큰 영향을 받지 않았으나, phycocyanin의 농도는 pH가 증가됨에 따라 조금씩 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4). 배지에 측정된 세포의 geosmin의 농도는 세가지 pH에서 각각 2.81, 2.78, 2.56  $\mu$ g/l로 검출되었다(Fig. 5). 세포내 단위 탄소당 geosmin의 함량은 pH 9.4에서 0.0824  $\mu$ g/mg C로 pH 증가에 따라 크게 증가하였으며, 단위 엽록소-*a*당 geosmin의 함량도 이와 유사한 변화양상을 보였다. 높은 pH에서 geosmin의 생산이 증가



**Fig. 4.** Effect of initial pH on chlorophyll-*a*, protein, and total organic carbon (TOC) concentrations in the culture of *Phormidium* sp. grown for 15 days. Each symbol represents a mean value of triplicates. Vertical bars represent standard deviation.



**Fig. 5.** Effect of initial pH on geosmin concentration (A), and cellular geosmin content normalized by TOC and chlorophyll-*a* content (B) of *Phormidium* sp. grown for 15 days. Each symbol represents a mean value of triplicates. Vertical bars represent standard deviation.

되는 현상은 *Streptomyces halstedii*에서도 보고된 바 있는데, *S. halstedii*의 세포내 단위 건조중량당 geosmin의 함량은 높은 pH에서 더 높았다(4,20).

일반적으로 cyanobacteria의 경우 넓은 pH 범위에서 살 수 있으며 특히 낮은 pH보다는 높은 pH를 선호한다(10). 일반 호소 생태계에서는 cyanobacteria의 수화시기에 pH가 8 이상으로 증가하며, 활발한 광합성 과정에서 CO<sub>2</sub>와 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>를 흡수하므로 pH는 더욱 높아지게 된다. 따라서 cyanobacteria의 경우 외부의 높은 pH에 대해 세포내 pH를 일정하게 유지하는 기작을 갖게 된다. 그러나 geosmin의 생합성과 같은 경로를 공유하는 엽록소-*a*, phycocyanin 등의 색소는 pH변화에 따라 많은 차이를 보이지 않았으므로(Fig. 4) 색소의 생합성경로인 isoprenoid 경로전체가 활성화되는 것은 아닌 것으로 추정된다. 따라서 높은 pH에서 geosmin의 생산이 증가되는 현상은 isoprenoid 경로중 geosmin의 생합성에 관련되는 일부 경로가 높은 pH에서 활성화되거나 외부의 높은 pH에 대하여 세포내 pH를 유지하는 과정에서 활성화되는 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- 오희목, 반용호, 박대균, 이진환, 맹주선. 1999. 대청호내 cyanobacteria에 의한 취기물질 생산. 한국육수학회지 32, 181-188.
- Bentley, R. and R. Meganathan. 1981. Geosmin and methylisoborneol biosynthesis in streptomycetes. *FEBS Lett.* 125, 220-222.
- Berglund, L., I. J. Johnsen, K. Ormerod, and O. M. Skulberg. 1983. *Oscillatoria brevis* (Kütz.) Gom. and some other especially odouriferous benthic cyanophytes in Norwegian inland waters. *Wat. Sci. Technol.* 15, 241-246.
- Blevins, W. T., K. K. Schrader, and I. Saadoun. 1995. Comparative physiology of geosmin production by *Streptomyces halstedii* and *Anabaena* sp. *Wat. Sci. Technol.* 31, 127-133.
- Bowmer, K. H., A. Padovan, R. L. Oliver, W. Korth, and G. G. Ganf. 1992. Physiology of geosmin production by *Anabaena circinalis* isolated from the Murrumbidgee River, Australia. *Wat. Sci. Tech.* 25, 259-267.
- Izaguirre, G., C. J. Hwang, S. W. Krasner, and M. J. McGuire. 1982. Geosmin and 2-methylisoborneol from cyanobacteria in three water supply systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 708-714.
- Johnsen, P. B. and J. C. W. Kuan. 1987. Simplified method to quantify geosmin and 2-methylisoborneol concentrations in water and microbiological cultures. *J. Chromatogr.* 409, 337-342.
- Jüttner, F. 1983. Volatile odorous excretion products of algae and their occurrence in the natural aquatic environment. *Wat. Sci. Technol.* 18, 187-192.
- Markwell, M. A. K., S. M. Haas, and L. L. Bieber. 1978. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal. Biochem.* 87, 206-210.
- Miller, A. G., D. H. Turpin, and D. T. Canvin. 1984. Na<sup>+</sup> requirement for growth, photosynthesis and pH regulation in the alkalotolerant cyanobacteria *Synechococcus leopoliensis*. *J. Bacteriol.* 159, 100-106.
- Myers, J., J. R. Graham, and R. T. Wang. 1978. On spectral control of pigmentation in *Anacystis nidulans* (Cyanophyceae). *J. Phycol.* 14, 513-518.
- Naes, H., H. Aarnes, C. Utkilen, S. Nilsen, and O. M. Skulberg. 1985. Effect of photon fluence rate and specific growth rate on geosmin production of the cyanobacterium *Oscillatoria brevis* (Kütz.) Gom. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1538-1540.
- Naes, H. and A. F. Post. 1988. Transient states of geosmin, pigments, carbohydrates and proteins in continuous cultures of *Oscillatoria brevis* induced by changes in nitrogen supply. *Arch. Microbiol.* 150, 333-337.
- Naes, H., H. C. Utkilen, and A. F. Post. 1989. Geosmin production in the cyanobacterium *Oscillatoria brevis*. *Arch. Microbiol.* 151, 407-410.
- Oh, H.-M., S. J. Lee, M. H. Jang, and B.-D. Yoon. 2000. Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 176-179.
- Oh, H.-M. and G.-Y. Rhee. 1991. A comparative study of microalgae isolated from flooded rice paddies: light-limited growth, C fixation efficiency and relative N and P requirement. *J. Appl. Phycol.* 3, 211-220.
- Rhee, G.-Y. and I. J. Gotham. 1980. Optimum N:P ratios and coexistence of planktonic algae. *J. Phycol.* 16, 486-489.
- Rhee, G.-Y. and P.-A. Thompson. 1992. Sorption of hydrophobic organic contaminants and trace metals on phytoplankton and implications for toxicity assessment. *Aqua. Ecosys. Health.* 1, 175-191.
- Rosen, B. H., B. W. MacLeod, and M. R. Simpson. 1994. Accumulation and release of geosmin during the growth phases of *Anabaena circinalis* (Kütz.) Rabenhorst. *Wat. Sci. Technol.* 25, 185-190.
- Schrader, K. K. and W. T. Blevins. 1999. Effects of selected environmental conditions on biomass and geosmin production by *Streptomyces halstedii*. *J. Microbiol.* 37, 159-167.
- Slater, G. P. and V. C. Block. 1983. Isolation and identification of compounds from a lake subject to cyanobacterial blooms. *Wat. Sci. Technol.* 15, 229-240.
- Stahl, P. D. and T. B. Parkin. 1994. Purge-and-trap extraction of geosmin and 2-methylisoborneol from soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*

- 58, 1163-1167.
23. Tilman, D., S. S. Kilham, and P. Kilham. 1982. Phytoplankton community ecology: The role of limiting nutrients. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13, 349-372.
24. Wood, A. M. and L. M. Van Valen. 1990. Paradox lost? On the release of energy-rich compounds by phytoplankton. *Mar. Microb. Food Webs* 4, 103-116.
25. Wood, L. W. 1985. Chloroform-methanol extraction of chlorophyll-*a*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 38-43.
26. Wu, J. T., P. I. Ma, and T. L. Chou. 1991. Variation of geosmin content in *Anabaena* cells and its relation to nitrogen utilization. *Arch. Microbiol.* 157, 66-69.

(Received January 31, 2000/Accepted March, 10)

---

**ABSTRACT: Effect of Selected Environmental Factors on the Production of Geosmin in *Phormidium* sp.**

**Dae-Kyun Park, Hee-Mock Oh,\* Chi-Yong Ahn<sup>1</sup>, and Jueson Maeng<sup>2</sup>** (Environmental Bioresources Laboratory, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejon 305-333, <sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Taejon 305-701, and <sup>2</sup>Department of Life Science, Sogang University, Seoul 121-742, Korea)

A method for quantitative and qualitative analysis of geosmin, odorant produced by several actinomycetes and cyanobacteria, was established and optimized. The effects of environmental conditions on the growth of *Phormidium* sp. NIVA-CYA7 were examined and the production and release of geosmin by the species was analyzed by using the purge and trap-gas chromatographic technique. One of the major advantages of the technique established in the present study is that the preparation of sample is simpler and purge time is shorter. Under the culture conditions (pH 7.9, 20°C, 120-140  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  and Z8 medium), *Phormidium* showed growth characteristics with a lag phase for 8 days and an exponential phase for 14 days followed by a stationary phase. Reduction of inorganic nitrogen concentrations in the culture medium from 250 to 100 or 25  $\mu\text{M}$  brought no significant effect on the cell growth. However, the cell growth was significantly inhibited with decreasing concentrations of inorganic phosphorus from 25 to 10 or 2.5  $\mu\text{M}$ . When the inorganic phosphorus concentration in the medium was lowered from 25 to 10  $\mu\text{M}$ , the levels of geosmin in the organism expressed as percentages per unit TOC and chlorophyll-*a* increased by 35% and 68%, respectively. When the initial pH of the medium was 9.4, geosmin content was 0.0824  $\mu\text{g}/\text{mg}$  C, which was 2-fold higher than that at pH 7.9. Consequently, the level of geosmin in *Phormidium* was found to vary with growth phases of the culture, external inorganic phosphorus concentration and external pH, while the release of geosmin was not significantly affected by the factors.