

## 은이온 수용액의 *Microcystis* 생장 억제 효과

최강국 · 이상훈<sup>1</sup> · 배기서<sup>1</sup> · 신재기<sup>2</sup> · 오희목\*

한국생명공학연구원 생물자원센터, <sup>1</sup>충남대학교 바이오융·용화학부,

<sup>2</sup>한국수자원공사 수환경연구원

### Effect of Silver Ion Solution on the Inhibition of *Microcystis* Growth

Gang-Guk Choi, Sang-Hun Lee<sup>1</sup>, Kie-Seo Bae<sup>1</sup>, Jae-Ki Shin<sup>2</sup> and Hee-Mock Oh\*

Biological Resource Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology,  
Daejeon 305-806, Korea

<sup>1</sup>Division of Bio-Applied Chemistry, Chungnam National University,  
Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Korea Institute of Water and Environment, Korea Water Resources Corporation,  
Daejeon 305-730, Korea

**Abstract –** The effect of silver ion solution on the growth of *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388 (cyanobacterium) and *Chlorella* sp. KCTC AG20136 (green alga) was investigated using separated and mixed culture in filtered natural water and BG11 medium. In separated culture, *M. aeruginosa* UTEX 2388 and *Chlorella* sp. KCTC AG20136 were found to be sensitive to 0.01 and 0.1 mg L<sup>-1</sup> of silver ion, respectively. Also, the silver ion concentrations for the growth inhibition of *M. aeruginosa* UTEX 2388 and *Chlorella* sp. KCTC AG20136 in the mixed culture were same in separated culture. Cyanobacteria were more sensitive to the silver ion solution than green algae. In bloom sample, the minimal inhibition concentration of silver ion solution for the low Chl-a sample (110 ~ 190 µg L<sup>-1</sup>) and high Chl-a sample (1,500 ~ 1,900 µg L<sup>-1</sup>) was about 0.1 and 3.0 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The silver ion concentration for the inhibition of algal bloom sample was affected by the algal biomass. In order to use silver ion solution for the control of algal bloom, the silver ion concentration must be determined in consideration of a minimal effect on the environment.

**Key words :** algal bloom, Ca<sup>++</sup>, *Chlorella*, *Microcystis*, silver ion

### 서 론

수화(algal bloom)는 전세계적으로 부영양화(eutrophication)된 호수나 연못에서 흔하게 발생하는 현상으로,

일반적으로 남세균(cyanobacteria)에 의하여 발생한다. 수화를 일으키는 남세균의 대부분은 *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon* 속에 속하며, 수표면에 scum 층을 형성하고, 이취미 발생, 간독소 및 신경독소의 생성으로 환경 및 인간 생활에 유해한 결과 즉, 여가생활의 질을 낮추고, 상수원의 질을 저하시키며 수처리 비용을 증가시키기 때문에 남세균에 대한 생리학 및

\* Corresponding author: Hee-Mock Oh, Tel. 042-860-4321,  
Fax. 042-860-4608, E-mail. heemock@kribb.re.kr

생태학적인 연구가 광범위하게 이루어졌다 (Falconer 1994; Ahn et al. 2003). 또한 정수장치의 침전사를 막하기 할 뿐만 아니라, 전수과정의 염소처리에 의하여 발암 물질인 트리할로메탄(trihalomethane)의 발생 잠재력이 증가하는 등의 문제를 일으키게 된다 (Ahn et al. 2002). 수화 발생시 다른 미세조류에 비하여 남세균이 우점하게 되는 것은 경쟁적으로 이로운 특징인 수직이동(Reynolds 1987), 영양분의 과량 축적(Watson et al. 1997), 1차 포식자인 동물플랑크톤으로부터 섭식을 피하는 능력(Porter 1977) 등을 지니고 있기 때문이다.

수화를 일으키는 미세조류의 제어방법으로는 수증폭기, 전자선, 초음파 등의 물리적 방법(Ahn et al. 2003)과 CuSO<sub>4</sub>, chlorine, simetryne 등을 사용하는 화학적 방법(Kasai et al. 1993), 그리고 바이러스, 세균, 균류, 원생생물, 쌍편모조류, 동물플랑크톤, 어류 등을 이용하는 생물학적 방법에 대한 연구가 수행되었다(김 등 2004). 수중생물에 의한 영양물질 흡수(전과 김 1999; 신과 박 2001), 수처리 시설을 이용한 수중 내 유기물질의 감소(Cha and Hwang 2001) 등이 간접적인 처리 방안으로 보고되었다. 물리적 방법은 직접적이고 효과가 빠른 반면 비용이 많이 들고, 수계의 모든 생물에 영향을 미치므로 수중생태계 먹이연쇄에 교란이 발생하는 단점(Sigee et al. 1999)이 있으며, 생물학적 방법이 친환경적 측면과 경제적 이점은 있으나, 실험적 연구 수준에 머물러 있어 현장에 적용한 사례는 극히 제한적이다.

온 또는 은이온의 강력하고 광범위한 항균활성을 이미 오래 전부터 알려져 왔다(Yamanaka et al. 2005). 이와 같은 은이온의 항균활성 기작을 설명하기 위하여 여러 제안이 있는데, 먼저 항체나 +1기를 지진 은이온은 수소 이온과 친화성을 가지는 특성이 있어, 미생물에 존재하는 SH기에 은이온이 결합하여 미생물의 호흡이나 전자전달을 방해하여 미생물을 사멸하게 한다(Gogoi et al. 2006). 이온 형태가 아닌 은의 경우에는 SH기와 산소 원자간 상호작용의 촉매 작용을 하여 활성 산소를 발생시키며, OH 분자와 황 결합으로 미생물 내의 호흡을 방해하는 기작이 알려져 있다(조와 박 2004).

본 연구에서는 은이온을 이용하여 수화의 원인인 남세균을 제어하기 위한 최소 농도를 알아보기 위하여 광범위한 항균활성을 가진 은이온 수용액을 전기분해 장치로 제조하여, 다양한 은이온 농도에 따른 *Microcystis aeruginosa*의 생존량 실험을 수행하여 처리 최소 농도를 구하였다. 또한 수계에 흔하게 존재하는 녹조류 *Chlorella* sp.의 성장에 영향을 미치는 은이온의 농도를 구하기 위하여 생존량 실험을 수행하였다. 은이온의 처리 효과를 높이기 위하여 다양한 pH, Ca<sup>++</sup> 농도, 온도에 따른

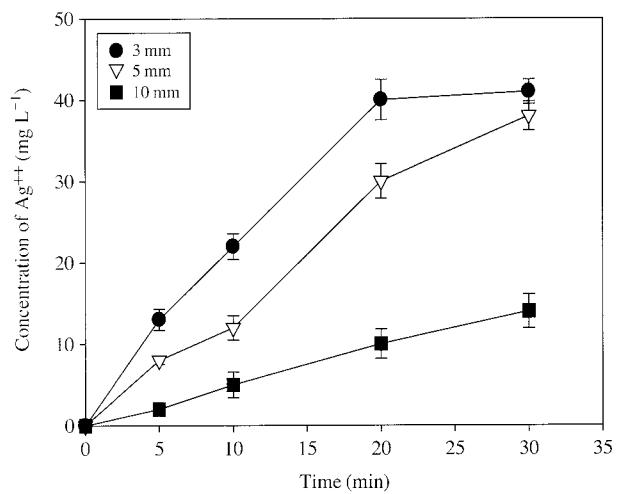


Fig. 1. Silver ion production using manufactured electrolysis device. Voltage: 10 V; Distance of electrodes: 3, 5, 10 mm.

*M. aeruginosa*의 생존량 실험을 수행하였다. 수화가 발생한 대청호 추소리 현장시료를 대상으로 은이온의 농도별 처리 실험과 전기분해장치 통과 실험을 통하여 현장적용의 가능성을 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 은이온 수용액의 제조

은이온(Ag<sup>++</sup>, silver ion) 수용액은 실험실에서 자체 제작한 전기분해장치에 은(silver)을 기판으로 사용하여 제조하였다. 전기분해장치의 전극간격을 3, 5, 10 mm로 조절하고 전압을 10 V로 고정하여 은이온 수용액(silver ion solution) 생산 실험을 통하여 전극간격이 좁을수록 은이온의 농도가 높아지는 결과를 보였다(Fig. 1). 따라서 본 연구에서는 전극간격을 3 mm로 고정하고 직류전류장치를 이용하여 전압을 10 V로 하여 20분간 전력을 공급하여 은이온의 농도가 40 mg L<sup>-1</sup>인 은이온 수용액을 제조하였다. 전기분해장치에 의해 제조된 은이온 수용액 내의 은이온의 농도는 전기전도도(conductivity)를 측정한 후, 다음 식 Y=1.30X+1.08 (Y: 은이온 농도, X: 전기전도도, R<sup>2</sup>=0.986)로 구하였다. 또한 EDXA (Energy Dispersive X-ray)를 통하여서도 은이온이 존재하는 것을 확인하였다(data not shown). 제조된 은이온 수용액은 남세균과 녹조류의 성장억제 실험을 위하여 실험 조건에 따라 적당한 농도(0.01~3.0 mg L<sup>-1</sup>)로 희석하여 사용하였다.

## 2. 미세조류 및 배지

담수 수생태계에서 수화 발생시 우점하는 남세균 (cyanobacteria), *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388은 미국 UTEX에서 분양 받아 사용하였다. 수생태계에서 일 반적으로 존재하는 녹조류 (green algae), *Chlorella* sp. KCTC AG20136은 한국생명공학연구원 생물자원센터 (BRC, KRIBB)에서 분양 받아 실험에 사용하였다. 미세 조류의 배양을 위해서 사용한 배지는 BG11 배지이며, 조성은 1L당 NaNO<sub>3</sub> 1.5 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 39 mg, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 75 mg, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 42 mg, CaCl<sub>2</sub> 38 mg, Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> 776 mg, Ferric ammonium citrate 6 mg, Citric acid 6 mg, Na<sub>2</sub> · EDTA 1 mg, NH<sub>4</sub>Cl 1 mg을 함유하였으며, Microelement를 1 mL 첨가하였다. Microelement의 조성은 1 L 당 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2.86 g, MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O 1.81 g, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 222 mg, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 391 mg, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 79 mg, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 49.4 mg을 함유하였다. 또한 자연수를 배지로 사용한 경우, 대청호의 물을 0.22 μm membrane filter (Whatman Co., Japan)를 사용하여 여과한 멸균여과액을 배지로 사용하였다. 배양은 125-mL 삼각플라스크에 배지를 30 mL씩 분주한 후, 미세조류를 일정량 접종하여 실시하였으며, 배양 조건은 25±1°C, 120 rpm으로 교반하였다. 광원은 삼파장 램프를 이용하여 광량을 100±10 μE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>으로 연속 조사하였다. 모든 실험은 2주에 한번씩 계대 배양 하여 대수기 성장기에 도달한 미세조류를 이용하여 수행하였다.

## 3. 미세조류 제어를 위한 은이온의 최소 농도 측정

남세균 *M. aeruginosa* UTEX 2388과 녹조류 *Chlorella* sp. KCTC AG20136의 성장억제를 위한 최소 농도를 측정하기 위하여, 전기분해 장치로 제조된 은이온 수용액을 배양액 내의 최종 은이온의 농도가 0.01~0.5 mg L<sup>-1</sup> 가 되도록 첨가하여 실험하였다. 배지는 대청호의 물을 여과한 멸균여과수를 사용하였고, 배양 기간은 군주에 따라 달리하였으며, 배양 조건은 seed 배양 조건과 동일하게 수행하였다. *M. aeruginosa* UTEX 2388와 *Chlorella* sp. KCTC AG20136 혼합배양에서는 BG11 배지를 사용하여 수행하였다.

## 4. pH, Ca<sup>++</sup>, 온도가 *Microcystis* 성장저해에 미치는 효과

남세균 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 은이온 수용액을 이용한 성장저해에 영향을 주는 요인을 알아보기 위하여 pH, Ca<sup>++</sup> 농도, 온도 등을 다양하게 하여 실험하였다.

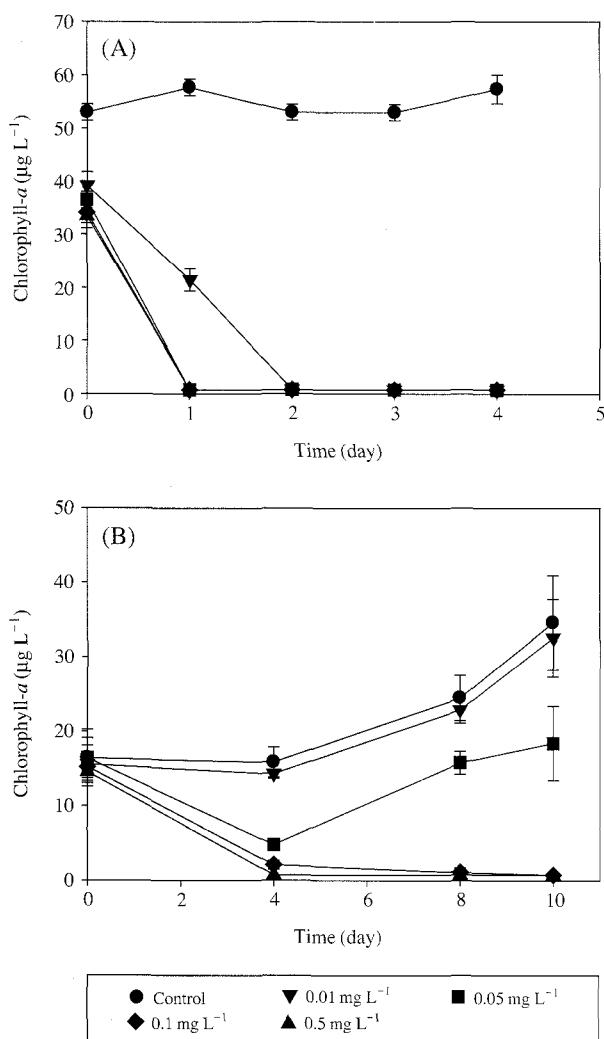
*M. aeruginosa* UTEX 2388을 일정량 접종하고, pH는 7, 8, 9의 조건에서, Ca<sup>++</sup>의 농도는 10.7, 17.9, 35.8 mg L<sup>-1</sup> 의 조건에서, 온도는 20, 25, 30°C의 조건에서 BG11 배지를 사용하여 seed 배양과 동일한 실험 조건에서 배양하였다. 은이온 농도 0.01~0.25 mg L<sup>-1</sup>에서 5일간 배양한 후 chlorophyll-a (Chl-a)를 측정한 후 생존률(survival rate)로 환산하여 나타내었다.

## 5. 수화 발생 현장시료의 채수

수화 발생시 scum 층을 형성한 남세균에 대하여 은이온 수용액의 효과와 제작된 전기분해 장치의 효율을 알아보기 위하여 현장 시료를 대청호 추소리 지역 (26° 50'N, 127° 50'E)에서 수화가 심한 2006년 9월 3일에 채수하였다. 채수는 수화로 인하여 형성된 scum 층과 표면에서 50 cm 깊이의 물을 Van-Dorn 채수기를 이용하여 수행하였다. 채수한 시료는 *Microcystis*가 약 95% 이상을 차지하여 우점하였다. 채수한 시료 중 scum 층 시료의 Chl-a는 1,600±200 μg L<sup>-1</sup>이었으며, 50 cm 깊이의 물 시료의 Chl-a는 150±20 μg L<sup>-1</sup>이었다. 수표면에 scum 층을 형성한 시료와 표면에서 50 cm 깊이의 시료를 대상으로 은이온 수용액을 처리하여 은이온 농도에 따른 성장 저해 효과를 측정하였다. 은이온 수용액의 효과에 대한 실험의 경우, 은이온의 농도와 배양 기간은 본문에 나타내었으며 배양 조건은 seed 배양 조건과 동일하게 수행하였다. 또한 수표면의 scum 층 시료를 전기분해 장치에 500 mL sec<sup>-1</sup>의 유속으로 직접 통과 시킨 후 사멸률과 3일 동안 정치시키고 1일 간격으로 Chl-a를 측정하여, 시간의 경과에 따른 생존률을 알아보았다.

## 6. 시료 분석

Chl-a 측정은 시료 1 mL을 GF/C filter로 여과하여 남세균과 녹조류를 GF/C filter 위에 모아 15-mL corning tube에 넣고, 용매 (methanol : chloroform, 1 : 2, v/v) 6 mL을 가한 후, 빛을 차단하기 위하여 foil로 감싸서 4°C의 저온실에 5시간 방치하였다. 방치된 tube에 5.4 mL의 물을 첨가하고 3분간 vortex하여 반응을 정지시킨 후, 저온실에서 16시간 정치시켰다. 반응이 정지된 시료의 chloroform 층에서 2 mL을 취하여 형광 측정용 cell에 넣고, Turner 450 fluorometer (Barnstead/Thermolyne Co., IA, USA)를 이용하여 gain 값을 10으로 놓고 형광을 측정하여 값을 구하였다. 남세균과 녹조류의 계수는 광학 현미경 (Microphot-FAX, Nikon Co. Japan)을 이용하여 Hemocytometer (Paul Marienfeld GmbH & Co, Germany)에서 수행하였다.



**Fig. 2.** Effect of silver ion solution on the growth of *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388 (A) and *Chlorella* sp. KCTC AG20136 (B) in filtered natural water medium.

## 결과 및 고찰

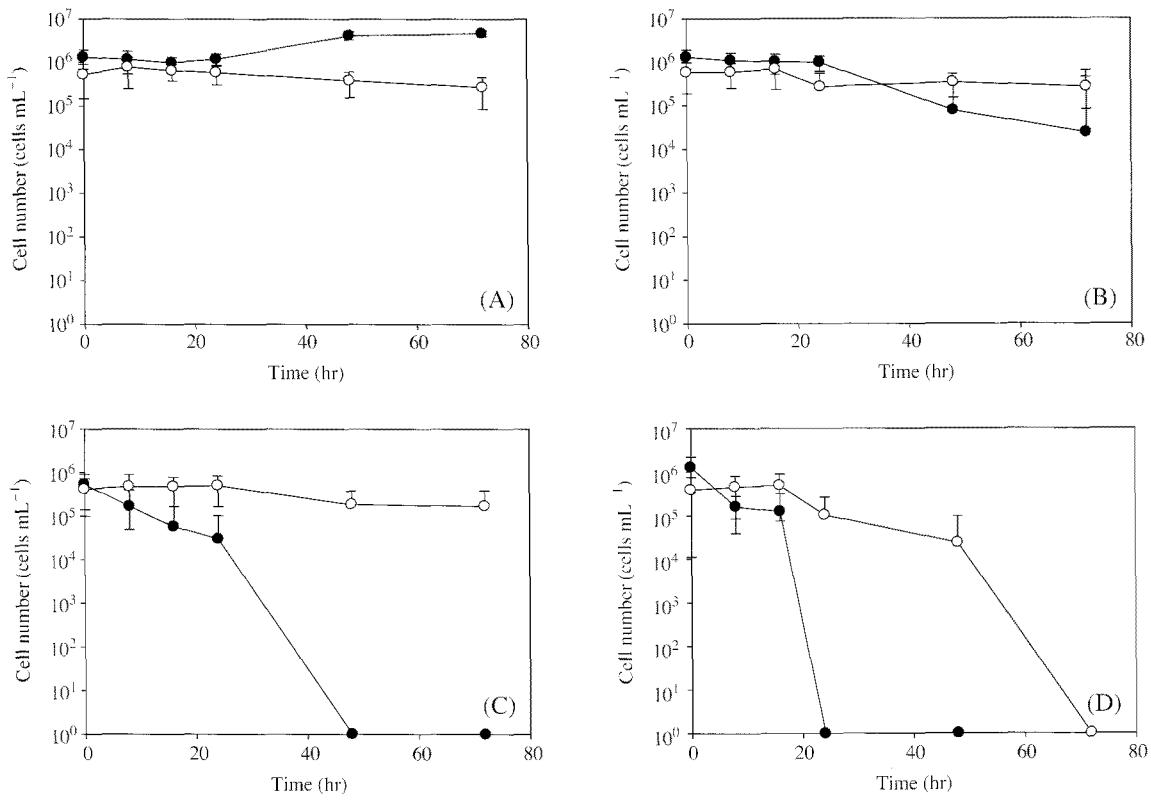
### 1. 남세균과 녹조류의 제어를 위한 은이온의 최소농도 측정

은이온 농도에 따른 남세균 *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388의 생존량 변화를 Fig. 2A에 나타내었다. 접종 초기의 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 Chl-a는 33.4~52.9 µg L⁻¹이었다. 은이온을 처리하지 않은 대조구의 경우 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 Chl-a는 초기 52.9 µg L⁻¹에서 배양 기간 동안 변화가 거의 없었다. 이는 채집한 자연수에 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 성장에 필요 한 영양염이 부족하기 때문에 증식은 일어나지 않은 것으로 사료된다. 은이온 수용액을 처리한 경우, 은이온의

농도가 0.05 mg L⁻¹ 이상의 실험구에서는 Chl-a가 1일 이내에 0 µg L⁻¹의 값을 보여 *M. aeruginosa* UTEX 2388이 완전히 사멸하였으며, 0.01 mg L⁻¹을 처리한 경우에는 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 생존률이 1일에 54.7% 감소하였고, 2일에는 100% 감소하였다. 따라서 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 경우 은이온의 음용수 기준인 0.1 mg L⁻¹(DeZuane 1997)보다 10배 낮은 농도인 0.01 mg L⁻¹을 처리하여도 충분히 *Microcystis*를 제어할 수 있음을 보여주고 있다. BG11 배지의 경우 은이온의 농도 0.01 mg L⁻¹로 처리한 실험구에서 *M. aeruginosa* UTEX 2388이 1일 이내에 사멸한 결과(data not shown)에 비하여 자연수를 배지로 사용한 실험구에서 은이온 수용액에 대한 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 내성이 약간 상승한 이유는 자연수에 존재하는 은이온들과 결합하여 염으로 전환되어 살균력이 약화되기 때문이라고 판단된다. 결론적으로 남세균(*M. aeruginosa* UTEX 2388)의 제어를 위한 최소 은이온 농도는 0.01 mg L⁻¹이었으며, 은이온 수용액 처리 후 2일 이내에 사멸하였다.

녹조류인 *Chlorella* sp. KCTC AG20136의 경우, *M. aeruginosa* UTEX 2388과 같이 대조구의 경우 성장이 느린 경향을 보였으며, 8일 이후에는 성장이 둔화되었다(Fig. 2B). 은이온 농도 0.01 mg L⁻¹인 은이온 수용액을 처리한 실험구의 경우에는 대조구와 비슷하게 성장하는 양상을 보였으나, 은이온의 농도가 0.05 mg L⁻¹인 실험구의 경우 생존률이 대조구에 비하여 4일에는 25.3% 감소하였으나, 10일에는 53.6% 증가하는 결과를 보였다. 은이온 수용액(0.05 mg L⁻¹)에 대하여 초기에는 *Chlorella* sp. KCTC AG20136의 성장 억제 효과가 있었으나, 4일 이후에 성장 억제 효과가 상실되어 다시 성장한 양상을 보였다. 그러나 은이온의 농도 0.1 mg L⁻¹ 이상에서는 *Chlorella* sp. KCTC AG20136의 Chl-a가 지속적으로 감소하여 8일에 0 µg L⁻¹을 나타내어 100% 사멸하였다. 결론적으로 *Chlorella* sp. KCTC AG20136의 경우, 은이온 농도 0.05 mg L⁻¹까지는 내성을 보였으며, 0.1 mg L⁻¹ 이상의 농도에서는 사멸하는 결과를 보였다. 따라서, *Chlorella* sp. KCTC AG20136는 *M. aeruginosa* UTEX 2388에 비하여 높은 은이온 농도에 대한 내성을 보였다. 은이온에 대한 사멸 기작 중 은이온이 chromosomal DNA와 결합하여 전사와 발현을 억제함이 보고(Feng et al. 2000) 되었다. 따라서 진정세균인 남세균보다 진핵생물인 녹조류가 은이온에 대하여 강한 내성을 보인 것은 세포질 내에 chromosomal DNA가 노출되어 있는 진정세균에서 은이온이 DNA와 쉽게 결합할 수 있기 때문이라고 사료된다.

*M. aeruginosa* UTEX 2388과 *Chlorella* sp. KCTC



**Fig. 3.** Growth inhibition of *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388 (●) and *Chlorella* sp. KCTC AG20136 (○) under mixed cultivation in BG11 medium with different concentrations of silver ion solution. A, Control; B,  $\text{Ag}^{++}$   $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ; C,  $\text{Ag}^{++}$   $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ; D,  $\text{Ag}^{++}$   $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ .

AG20136의 혼합배양을 통하여 은이온 농도에 따른 성장 억제 효과를 보았다(Fig. 3). *M. aeruginosa* UTEX 2388과 녹조류 *Chlorella* sp. KCTC AG20136의 초기 농도를 각각  $3.8 \sim 5.7 \times 10^5$ 과  $0.4 \sim 1.3 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ 로 접종하였다. 단독배양 실험에 비하여 접종농도가 약간 높았다. *M. aeruginosa* UTEX 2388의 경우, 은이온의 농도가  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ 에서는 1일 이후에 감소하는 경향을 보여 3일에 초기 접종량의 1.8%만이 생존하는 결과를 보였다. 또한 은이온의 농도  $0.05$ 과  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 에서는 각각 2일과 1일만에 완전히 사멸하는 결과를 보였다. 그러나, *Chlorella* sp. KCTC AG20136의 경우에는  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  농도 이하의 은이온 수용액을 처리한 실험구에서는 개체 수의 감소가 없었으나,  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도로 처리한 실험구에서 18시간 이후에 개체수가 감소하기 시작하여 3일만에 완전 사멸하는 결과를 보였다. *M. aeruginosa* UTEX 2388과 *Chlorella* sp. KCTC AG20136 혼합배양의 경우, *M. aeruginosa* UTEX 2388 단독배양에 비하여 은이온의 농도에 대한 내성이 증가하여 사멸되는 기간이 약간 증가한 결과를 보였다. 그러나, 사멸을 위한 최소농도는 단독배양과 동일하였다.

## 2. pH, $\text{Ca}^{++}$ 농도, 온도가 *Microcystis* 성장 저해에 미치는 효과

은이온 수용액 처리에 의한 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 사멸률에 pH의 영향을 알아보기 위하여, *M. aeruginosa* UTEX 2388의 접종 농도를  $\text{Chl-a } 100 \mu\text{g L}^{-1}$ 가 되도록 접종하고 5일간 배양 후  $\text{Chl-a}$ 를 측정하여 상대적인 생존률을 구하였다(Fig. 4A). 은이온 농도에 따라 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 생존률은 차이를 보였으나, 각각의 pH에 대한 생존률의 차이는 없었다. 따라서 은이온에 의한 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 성장 억제는 pH에 영향을 받지 않는 것으로 판단된다.

BG11 배지에서  $\text{CaCl}_2$ 를 제외시켜 배지를 만들고  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도를  $10.7, 17.9, 35.8 \text{ mg L}^{-1}$ 가 되도록  $\text{CaCl}_2$ 를 첨가하였으며, BG11 배지의  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도는  $9.7 \text{ mg L}^{-1}$ 이다.  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도에 따른 은이온 수용액에 대한 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 성장 억제 효과를 Fig. 4B에 나타내었다. 은이온의 농도가  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ 의 은이온 수용액을 첨가하여 실험한 경우,  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도가 증가함에 따라 대조구에 비하여 성장이 촉진되는 양상을 보여

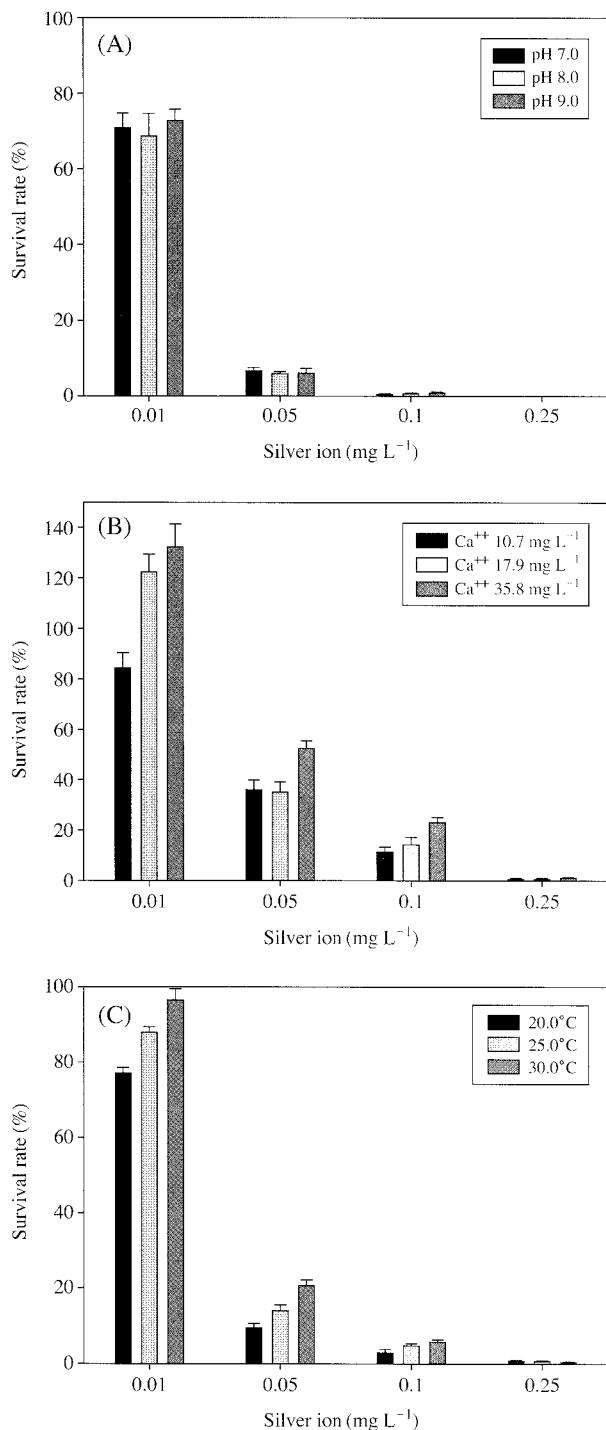


Fig. 4. Effects of pH (A),  $\text{Ca}^{++}$  concentration (B), and temperature (C) on survival rate of *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388 in BG11 medium with different concentrations of silver ion solution after 5 days of cultivation.

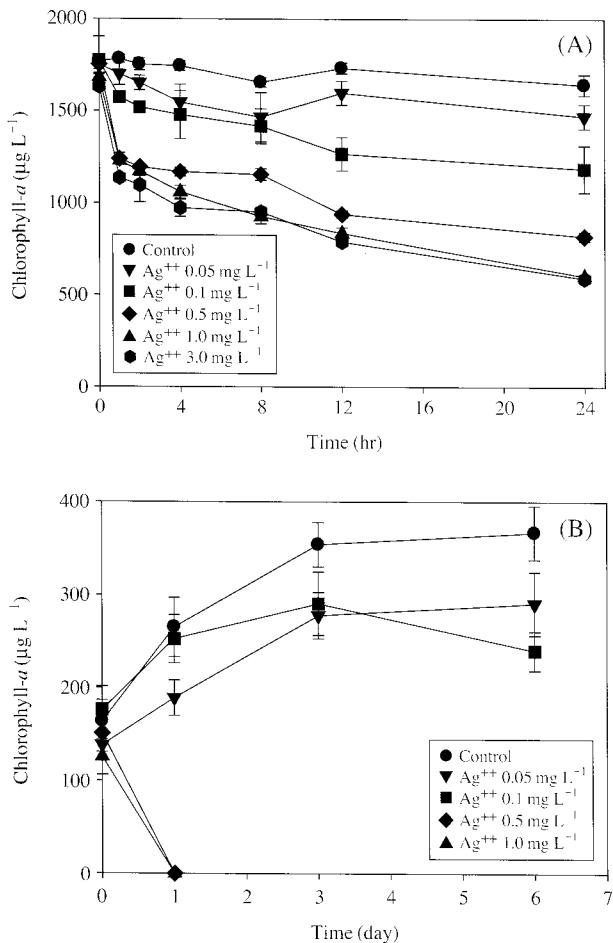
$\text{Ca}^{++}$ 의 농도  $35.8 \text{ mg L}^{-1}$ 에서는 대조구에 비하여 1.3배 성장이 촉진되었다. 또한, 은이온의 농도를 증가시킨 실험구에서도  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도가 증가함에 따라 *M. aeruginosa*

UTEK 2388의 은이온 수용액에 대한 내성이 증가하는 결과를 보였다. 이와 같은 결과는  $\text{Ca}^{++}$ 가 은이온이 세포막을 통과하는 것을 방해했기 때문이라고 판단된다. 이전의 silver zeolite에 의한 *Escherichia coli*의 생존률의 실험결과에서 배지에  $\text{MgSO}_4$ 와  $\text{FeSO}_4$ 를  $1 \text{ mM}$  농도로 첨가하여 실험한 결과, *E. coli*의 생존률이 각각 100과 200배 증가하였다(Matsumura et al. 2003)는 결과와도 일치하였다. 결론적으로 이가 양이온( $\text{Ca}^{++}$ )의 농도가 높은 환경에서는 은이온 수용액의 처리 효율이 감소하는 것으로 판단된다.

수화가 일어나는 한여름의 수온은  $30^{\circ}\text{C}$  이상을 유지하고 있다(정 등 2005). 따라서 온도에 따른 은이온 수용액이 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 성장 억제에 미치는 영향을 알아보기 위하여 배양 온도를  $20, 25, 30^{\circ}\text{C}$ 의 조건에서 실험을 수행하였다. 높은 온도에서 은이온의 성장 저해 효과가 감소하는 경향을 보여 *M. aeruginosa* UTEX 2388의 생존률이 높아졌다(Fig. 4C). 은이온의 농도가  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ 인 은이온 수용액을 처리한 경우,  $20^{\circ}\text{C}$ 에서는 대조구에 비하여 77.1%의 생존률을 보인 반면,  $25^{\circ}\text{C}$ 와  $30^{\circ}\text{C}$ 에서는 각각 87.8과 96.6%의 생존률을 보여 은이온에 대한 내성이 증가 했음을 보여 주었다. 또한  $0.05$ 와  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 의 경우에서도 온도가 높아짐에 따라 은이온 수용액에 대한 내성이 높아져서 생존률이 상승한 결과를 보였다. 높은 온도에서 은이온 수용액에 대한 내성이 증가하는 것은 *Microcystis*의 성장과 관련이 깊을 것으로 사료된다. 결론적으로 효과적인 은이온 수용액의 처리는 수온이 낮은 시기가 적당하다고 판단된다.

### 3. 수화 발생 시료에 은이온 수용액 처리

수화가 발생하게 되면 수중에 있던 *Microcystis*가 수표면으로 이동하여 대량 증식하게 되며 녹색의 띠를 형성하고, 바람에 따라 이동하고 두꺼운 층을 형성하여 scum을 이루게 된다. 수표면에서 채수한 scum 층 시료는 실험군에 따라 약  $1,500 \sim 1,900 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 Chl-a 농도를 보였다. 실험군의 Chl-a 오차가 심한 것은 뭉쳐있어서 균질하게 접종이 용이하지 않았기 때문으로 판단된다. 은이온 수용액을  $0.05 \sim 3.0 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도로 첨가하고, 24시간 동안 배양하면서 Chl-a의 농도를 측정하여 scum 층의 *Microcystis* 성장 억제 효과를 보았다. 고농도 (Chl-a  $1,500 \sim 1,900 \mu\text{g L}^{-1}$ )의 *Microcystis*에 은이온 수용액 처리 실험 결과, 은이온 수용액  $0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0 \text{ mg L}^{-1}$ 로 처리하고 24시간 동안 배양한 실험구의 생존률은 대조구와 비교하여 각각 89.5, 72.1, 49.8, 36.6,



**Fig. 5.** Effect of silver ion solution at the high Chl-*a* ( $1,500 \sim 1,900 \mu\text{g L}^{-1}$ ) scum sample (A) and low Chl-*a* ( $110 \sim 190 \mu\text{g L}^{-1}$ ) water sample under  $50 \text{ cm}$  depth (B).

35.9%를 보였다(Fig. 5A). 은이온 농도가  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  이상으로 처리한 실험구의 경우 초기 1시간까지는 Chl-*a*의 농도가 급격하게 감소하였으나, 이후에는 완만하게 Chl-*a*의 농도가 감소하는 양상을 보였다. 수화가 발생한 후 남세균의 사멸을 위해서는 은이온 농도가  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  이상은 되어야 한다고 판단된다. 따라서 수화가 이미 발생한 경우 scum 층을 형성한 *Microcystis*를 제거하기 위한 은이온 수용액의 처리는 은이온의 처리 농도가 너무 높아 환경에 영향을 미칠 수 있는 것으로 판단된다.

표면에서  $50 \text{ cm}$  깊이의 현장시료의 Chl-*a* 농도가  $110 \sim 190 \mu\text{g L}^{-1}$ 를 나타내었으며, 은이온 수용액을  $0.05 \sim 3.0 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도로 처리하고 6일 동안 배양한 결과 은이온의 농도에 따라 확연하게 구별되는 결과를 보였다 (Fig. 5B). 은이온 농도가  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  이상의 은이온 수용액을 처리한 실험구에서는 처리 후 1일 이내에 사멸하는 양상을 보였으나,  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  이하에서는 은이온에 대

한 내성을 가지는 양상을 보였으며,  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ 에서는 *Microcystis*의 성장 저해에 영향을 미치지 않아 대조구와 비슷한 성장률을 보였다. 은이온 수용액  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 을 처리한 실험구는 1일 후의 값이 대조구와 비슷한 수준을 보였으나, 이는 초기에 접종된 남세균의 양이 대조구에 비하여 상대적으로 많았기 때문이라고 판단되며, 시간이 지남에 따라  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ 보다 더 성장에 저해를 받아 6일 후에는 생존률이 65.4%이었다.

현장 시료의 경우 배양 종에 비하여 은이온 수용액의 저해 효과가 감소한 가장 큰 원인은 배양종의 경우 단세포로 독립적으로 떨어져 있을 뿐만 아니라 서로 뭉치기 위한 다당류인 점질층(mucilage)이 없기 때문이라고 판단된다. 일반적으로 자연계에서 *Microcystis*의 경우 세포외 물질(extracellular material)에 의하여 군집을 형성하고 군집이 형성된 가장 큰 이유는 동물풀랑크톤에 의한 섭식을 피하기 위함이라고 제시되고 있다(Porter 1977). 또한 점질층에 의하여 군집 생활을 하는 이유는 부유성을 높이기 위함이라는 보고도 있다(Oliver and Ganf 2000). *Microcystis*는 해가 뜨기 직전에 수면면으로 이동하였다가 해가 중천에 오는 정오가 되기 직전에 수면으로 가라앉는다고 보고되었다. 그리고 여름에 증식하였다가 날이 추워지는 겨울에는 토적층으로 가라앉아서 토양의 표면에서 동면을 한다. 이때 점질층의 역할도 중요하다는 견해도 있다(Oliver and Ganf 2000). 단일세포로 세균에 노출되는 것보다 군집을 형성하고 두꺼운 점질층 막으로 보호된다면 세균에 의한 공격도 피할 수 있을 것이라고 판단된다. 따라서 현장시료의 경우 점질층에 의하여 군집을 형성함이 배양 종에 비하여 높은 농도의 은이온 수용액에서 내성을 가지는 원인이라고 사료된다.

수화가 이미 발생한 경우 은이온 수용액의 처리는 은이온의 처리 농도가 너무 높아 환경에 영향을 미칠 수 있으며, 은이온 수용액 제조장치를 통한 은이온 수용액의 제조에도 무리가 있다고 판단된다. 이와 같은 현장시료 결과를 바탕으로 현장시료에 은이온 수용액을 처리하는 대신 현장시료를 직접 은이온 수용액 제조장치에 통과시키는 실험을 실시하였다. 현장에서 수화가 발생했을 때 적용여부를 알아보기 위하여 수화가 발생한 현장시료를 은이온 수용액 제조장치를 통과시킨 후 시간에 따른 경시적인 변화를 보았다. 수화가 발생한 추소리 현장 시료를 대상으로 은이온 수용액 제조장치를 통과시킨 후 Chl-*a*의 양은 29.3% 감소하였으며, 시간이 지남에 따라 Chl-*a*가 감소하는 양상을 보였다(Fig. 6). 이는 은이온 수용액 제조장치를 통과한 시료에 여전히 은이온이 남아서 미세조류의 사멸을 유도한 것으로 판단된다.

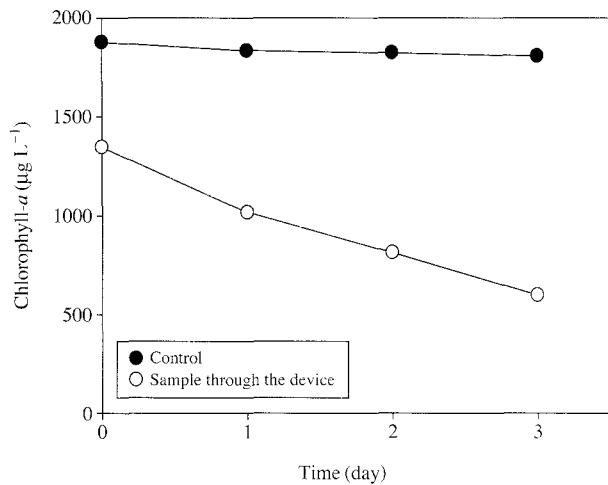


Fig. 6. Change of Chl-a concentration in the scum sample which was passed the manufactured electrolysis device.

또한 은이온 수용액 제조장치를 통과한 시료의 경우 세포의 파괴가 심하여 시료 전체의 색이 누렇게 변화된 양상을 보였다(data not shown). 현장 시료의 경우 수화가 심하게 진행된 상태이므로 *Microcystis*의 군체들이 육안으로 확인될 만큼 크고, 부유능을 가지고 떠 있었으나, 시료를 통과시킨 후의 시료에서는 전체적으로 *Microcystis*의 군체를 확인할 수가 없었다.

과거 로마시대부터 물 저장고 내 수질을 보존하기 위해  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  농도의 은 콜로이드 용액을 사용하였다 (Matsumura *et al.* 2003). 미국 환경보호청(US EPA)은 은의 2차 음용수수질기준(Secondary Drinking Water Standard)을  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 로 규정하고 있다. 따라서 수질 안전성을 고려하여 은이온 수용액의 사용시 은의 잔류 농도는  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 내로 조절하는 것이 바람직하다고 판단된다. 또한 저농도의 은에 만성적으로 노출되었을 때 피부색이 청회색으로 변하는 은 중독 현상을 보이지만, 돌연변이나 발암효과는 보고되지 않았다.

낙동강 시료 내의 미생물 군집변화 실험과 낙동강에서 채집한 물벼룩의 은이온 수용액 내성 실험 결과는 은이온의 무영향 농도는  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ 이었다. 또한 물벼룩 실험에서  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도를 처리한 후 1개월간 방치한 결과 녹조류의 재성장이 일어남을 확인하였다. 이는 자연수를 사용하여 은이온 수용액 제조장치로 은이온을 제조한 후 시간이 경과함에 따라 은이온이 수계의 다양한 물질( $\text{Cl}^-$  등)과 결합하여 염의 형태로 전환되어 은이온의 농도가 낮아진다고 판단된다. 그러나  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  이상의 농도로 처리시 초기의 종의 다양성이 감소하는 문제점이 있으므로 생태계에 직접 사용하는 것은 신중을 기해야 할 것으로 판단된다. 은이온 수용액은 낮은

농도로 간헐적 처리가 바람직하다. 따라서 생태계 안전성 확보를 위해 연속적 사용보다는 간헐적 사용법이 좋을 것으로 판단된다. 종합적으로 은이온 수용액을 처리하는 시기는 수화가 발생하기 전에  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도 이하로 간헐적으로 처리하여 적정수의 *Microcystis* 개체 수를 유지하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

## 결 론

은을 기판으로 사용한 전기분해 장치를 이용하여 기판 간격을  $3 \text{ mm}$ 로 하고,  $10 \text{ V}$ 의 전압을 공급하여  $40 \text{ mg L}^{-1}$  농도의 은이온 수용액을 제조하였다. 은이온 수용액의 최소 성장저해 농도는 남조류, *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388의 경우  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$  반면, 녹조류, *Chlorella* sp. KCTC AG20136은  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 이었다. *M. aeruginosa* UTEX 2388의 성장 저해 효과를 증진시키기 위한 실험 결과, pH는 별 영향이 없었으며,  $\text{Ca}^{++}$ 는 내성을 증진시켰고, 낮은 온도에서 성장저해 효과가 증진되었다. 은이온 수용액의 조류 성장저해 효과는 미세조류의 종류 및 밀도에 따라 다르며, 수화(algal bloom)를 일으키는 남세균이 녹조류에 비하여 더욱 민감하게 작용하였다. 수화가 발생한 현장 시료 중 표면에서  $50 \text{ cm}$  깊이의 저농도 *Microcystis* ( $\text{Chl-a } 110 \sim 190 \mu\text{g L}^{-1}$ ) 시료는  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$ 의 은이온 수용액을 처리시 24시간 내에 사멸하였으나, scum 층의 고농도 *Microcystis* ( $\text{Chl-a } 1,500 \sim 1,900 \mu\text{g L}^{-1}$ ) 시료는  $3.0 \text{ mg L}^{-1}$  처리시 24시간 후 64%의 사멸률을 보였다. 현장 시료를 은이온 수용액 제조장치에  $500 \text{ mL sec}^{-1}$ 의 유속으로 통과시킨 직후 *Microcystis*의 사멸률은 29%이었으며, 정차 3일 후에는 67%의 사멸률을 보였다. *Microcystis*의 초기 농도에 따라 은이온 수용액의 제어 농도에 차이를 보였다. 종합적으로 은이온 수용액을 처리하는 시기는 수화가 일어나기 전에 처리하는 것이 이상적으로 판단된다. 은이온은 생태계에 상당한 영향을 미치므로 환경 방출을 최소화한 간접처리, 단시간의 처리, 처리시기 조절, 은의 환경 잔류 등에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

## 사 사

본 연구는 교육과학기술부에서 지원하는 21세기 프론티어사업(CDRS), 한국수자원공사 및 한국생명공학연구원 기관고유사업의 지원에 의한 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- 김백호, 최희진, 한명수. 2004. 유해성 조류 *Microcystis aeruginosa*의 생물학적 제어를 위한 미소생물제재의 적용 실험. 한국육수학회지. 37:64-69.
- 신정이, 박석순. 2001. 하천 수생식물의 영양염류 제거능 산정에 관한 연구. 한국물환경학회지. 17:201-213.
- 전만식, 김범철. 1999. 부레옥잠의 수중영양염 제거 잠재력에 관한 고찰. 환경생물. 17:117-124.
- 정승현, 안치용, 최애란, 장감용, 오희목. 2005. 대청호에서 강우와 식물플랑크톤 군집의 관계. 환경생물. 23:57-63.
- 조경환, 박수길. 2004. 초음파법으로 제조된 은 나노 입자의 항균특성 연구. J. Kor. Ind. Eng. Chem. 18:952-955.
- Ahn CY, AS Chung and HM Oh. 2002. Rainfall, phycocyanin, and N : P ratios related to cyanobacterial blooms in a Korean large reservoir. Hydrobiologia 474:117-124.
- Ahn CY, HS Kim, BD Yoon and HM Oh. 2003. Influence of rainfall on cyanobacterial bloom in Daechung reservoir. Kor. J. Limnol. 36:413-419.
- Cha GC and MG Hwang. 2001. Nitrogen removal and behavior of soluble microbial product (SMP) in the MBR process with intermittent aerobic condition. Kor. Membrane J. 3:1-8.
- DeZuane J. 1997. Handbook of Drinking Water Quality. An International Thomson Publishing Company, New York.
- Falconer IR. 1994. Health problems from exposure to cyanobacteria and proposed safety guidelines for drinking and recreational water. pp. 3-10. In Detection Methods for Cyanobacterial Toxins (Codd GA, TM Jefferies, CW Keevil and E Potter eds.). The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Feng QL, J Wu, GQ Chen, FZ Cui, TN Kim and JO Kim. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. J. Biomed. Mater. Res. 52:662-668.
- Gogoi SK, P Gopinath, A Paul, A Ramesh, SS Ghosh and A Chattopadhyay. 2006. Green fluorescent protein-expressing *Escherichia coli* as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles. Langmuir 22:9322-9328.
- Kasai F, N Takamura and S Hatakeyama. 1993. Effects of sime-tyrne on growth of various freshwater algal taxa. Environ. Pollut. 79:77-83.
- Matsumura Y, K Yoshikata, S Kunisaki and T Tsuchido. 2003. Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. Appl. Environ. Microbiol. 69:4278-4281.
- Oliver RL and GG Ganf. 2000. Freshwater blooms. pp. 149-194. In The Ecology of Cyanobacteria (Whitton BA and M Potts eds.). Kluwer Academic Publishers. MA.
- Porter KG. 1977. The plant-animal interface in freshwater ecosystems. Am. Sci. 65:159-170.
- Reynolds CS. 1987. Cyanobacterial water-blooms. Adv. Bot. Res. 13:67-143.
- Sigee DC, R Glenn, MJ Andrews, EG Bellinger and RD Butler. 1999. Biological control of cyanobacteria: principles and possibilities. Hydrobiologia 395/396:161-172.
- Watson SB, E McCauley and JA Downing. 1997. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperature lakes of differing nutrient status. Limnol. Oceanogr. 42: 487-495.
- Yamanaka M, K Hara and J Kudo. 2005. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. Appl. Environ. Microbiol. 71:7589-7593.

Manuscript Received: June 20, 2008

Revision Accepted: August 12, 2008

Responsible Editor: Hak Young Lee