

전자현미경을 활용한 생물시료의 중금속 검출 : Energy Dispersive X-ray Spectroscopy 분석법

권희석¹, 강지선¹, 김지수¹, 이주연¹, 이영근², 장화형²

¹ 한국기초과학지원연구원 나노환경연구부 전자현미경팀

² 한국원자력연구원 방사선이용연구부

1. 서 론

환경독성학적 측면에서 환경오염원 특히 중금속에 대한 미생물의 기능에 대한 연구가 진행되고 있으며 나아가 이를 산업화 하고자 하는 시도가 활발하다. 특히 미생물의 중금속에 대한 저항 능력 혹은 체내 오염시의 회복 능력 등이 이들 연구의 주된 관심이 되고 있다. 따라서 중금속 물질에 대한 효과적인 측정 방법 및 장비의 개발이 필수적이다. 기존 체내 중금속 검출 방법은 고가의 장비 혹은 번거로운 사용법으로 인하여 현장에서 요구되는 정밀도와 신속성을 만족하기 어렵다는 단점이 있었다. 현재 Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)는 투과전자현미경과 함께 단순한 사용법과 정밀한 결과 분석이 가능하여 다양한 연구 분야에서 폭넓게 활용되고 있다.

2. 목 적

Acinetobacter sp. 는 경기도 지역에서 채취한 토양 미생물로서 Pb 내성 균주로 알려져 있다. 그러나 토양생태에 있어서 그들의 역할이 뚜렷하게 밝혀지지 않고 있다. 본 연구에서는 Pb를 처리한 *Acinetobacter sp.*의 특이한 반응을 살펴보고 전자현미경의 Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)를 활용하여 환경오염원의 지표로 사용되는 생물체로부터 단순하고 정밀한 세포 수준의 정량 정성 분석법을 개발하고자 한다.

3. 재료 및 방법

1) 미생물

경기도 여주, 이천 지역의 논지에서 분리한 Pb 내성 균주로 알려진 *Acinetobacter sp.*를 Pb를 용해시킨 액체 배지에서 배양하였다.

2) 전자현미경 및 EDS 분석

시료로부터 Pb의 축적이 일어나는 부위를 확인하게 위하여 전자현미경 관찰이 필수적이다. 따라서 시료의 고정 및 탈수를 거쳐 Epon 812 포매 및 중합을 시킨 후 초 박편 절단을 하였

다. 전자현미경 관찰을 통하여 균주에서 Pb의 영향을 분석하였다.

EDS 분석은 전용 전자현미경인 JEM2100F (JEOL, Japan)을 이용하여 Spot size 1.5 nm, HADDF 1, 배율 STEM 60k, Line scan sweep count 2000 의 조건으로 수행하였다.

4. 결과 및 고찰

Acinetobacter sp. 는 단독 개체들로 관찰되기도 하였으나 대다수 2-5개씩 group형태로 발견되었다. Pb 처리균의 경우 개체를 중심으로 환상의 일정거리를 두고 높은 전자 밀도의 막대형 결정체가 집중적으로 축적되어 있는 것을 관찰하였다. 이 결정체는 균주의 내부는 물론 외부 표면에서도 발견되지 않았다. EDS 분석 결과 세포 내부와 환상 경계면에서 Pb의 양은 거의 미미하지만 막대형 결정체가 축적되어 있는 부위에서 Pb가 높게 검출되었다. 세균류의 중금속 흡수에 관한 연구는 다양하게 이루어졌으나 본 연구 결과와는 달리 대부분의 경우 세포내 혹은 세포벽 부분에 중금속이 축적되는 것으로 보고되었다. 따라서 *Acinetobacter* sp. 에서 Pb를 분리해 내는 기작 및 Pb로부터 자신을 보호하기 위한 물질 분비 등의 기작을 연구한다면 재미있는 결과가 있을 것으로 기대한다.

아울러 생물 시료의 중금속에 대한 EDS 분석을 이용할 경우 분석 시간이 거의 실시간으로 이루어 지며 별도의 전처리없이 모든 성분을 검출할 수 있고 상대적 정량 분석 까지 가능하여 다양한 분야로의 응용이 가능할 것으로 기대한다.

5. 참고문헌

- Klaus T., R. Joerger, E. Olsson and C.G. Granqvist, 1999. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. Proc Natl Acad Sci U S A. 96: 13611-13614.
- Merroun M.L., K. Ben Chekroun, J.M. Arias and M.T. Gonzalez-Munoz, 2003. Lanthanum fixation by *Myxococcus xanthus*: cellular location and extracellular polysaccharide observation. Chemosphere. 52: 113-120.
- Merroun M.L. and S. Selenska-Pobell, 2001. Interactions of three eco-types of *Acidithiobacillus ferrooxidans* with U(VI). Biometals. 2001 Jun;14(2):171-9.

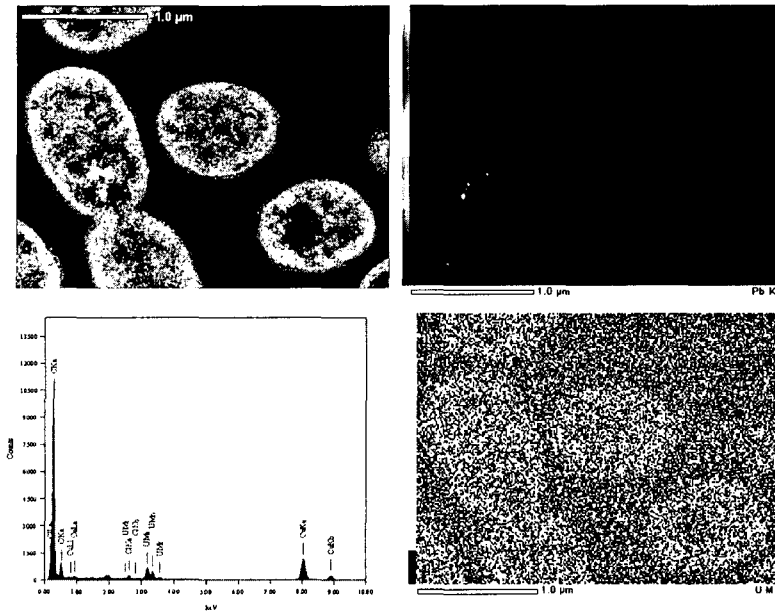


Fig. 1. 대조군의 EDS 결과. Pb (우상)가 전혀 검출되지 않는 반면 염색 성분 (우하)이 세포 내외에서 검출되었음.

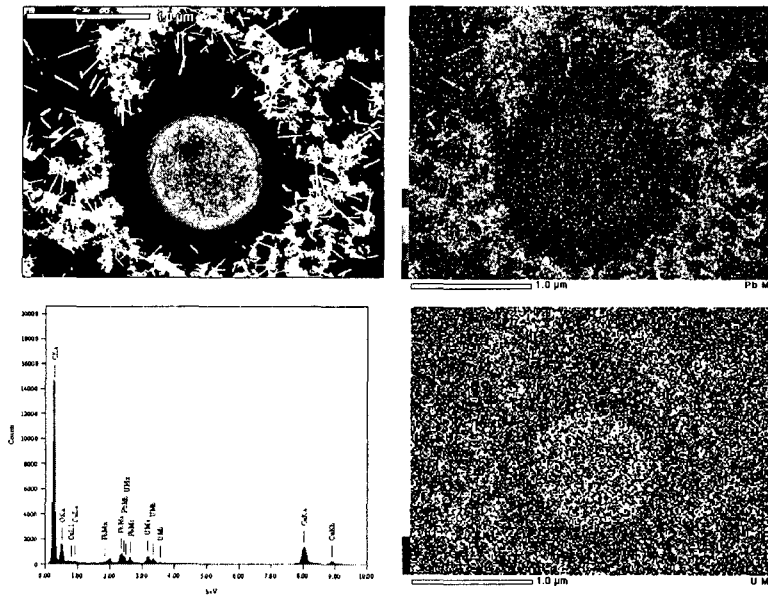


Fig. 2. 실험군 (Pb 처리군)의 EDS 결과. Pb (우상)가 세포내에서 미약하게 검출되는 반면 주변부에서 상당량 검출되었음.