

X-ray 영상기법을 이용한 비소 흡수가 고사리 내부 수액 거동에 미치는 영향 연구

이진평* · 이상준†

X-ray micro-imaging of the arsenic absorption of sap flow in xylem vessels of a fern brake

Jin-Pyoung lee and Sang-Joon Lee

Abstract

The global environment is deteriorating at an alarming rate despite of enhanced international environmental regulation. Many studies have been performed to reduce pollutants. Recently, phytoremediation, plant-based technology for the removal of toxic contaminants from soil, water, and air, has been receiving large attention. Arsenic-contaminated soil is one of the major pollutant sources for drinking water. The fern brake (*Pteris cretica*) has been reported as a hyper-accumulate arsenic from soils. In this study, we investigated the arsenic absorption effect on sap flow inside xylem vessels of a fern brake. The synchrotron X-ray micro-imaging technique was employed to monitor flow inside the plant non-invasively. The captured phase-contrast X-ray images show both anatomy and transport of water inside the fern brake. The refilling process of water containing arsenic inside the xylem vessels of fern brake's leaves and stems was clearly observed. These results would provide important information needed for understanding the mechanisms of accumulation, translocation, and transformation of toxic materials in plants.

Key Words : Phytoremediation(식물정화기술), X-ray micro-imaging technique (X-ray 미세영상기법), Fern brake(고사리)

1. 서론

날로 심각해지는 환경오염은 비단 야생동물의 생존을 위협할 뿐만 아니라, 인간의 생활 주변 속 토양과 수질, 대기를 오염시켜 우리의 몸을 날로 약화 시키고 있다. 인간이 살아가는 환경이 점점 나빠져감에 따라, 환경 오염물질의 처리와 정화에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 환경정화기술에는 크게 물리적, 화학적 및 생물학적 방법^(1,2)으로 나눌 수 있다. 환경복원 기술의 하나로 식물

을 활용해서 오염된 환경을 정화·처리하여 복원하는 기술인 식물정화기술(Phytoremediation)은 오염 지역 처리에 대한 환경친화성이 큰 녹색기술(Green technology)로 새롭게 부각되고 있다^(3,4). 식물정화기술을 일반적인 처리기술과 비교할 때 비용절감효과의 극대화와 일반인들에게 거부감이 없는 심미적 효과가 높다는 것이 현장 실험결과 알려지게 되어 최근 관심을 받고 있다⁽²⁾.

식물학적 정화방법중 토양이나 수질 속의 중금속에 대한 중요한 정화기법은 중금속 고축적 식물(hyper-accumulator)을 이용하여 뿌리 조직에서 중금속을 흡수하고 지상부로 수송하여 축적시킨 후 수확하여 정화시키는 식물추출방법(phytoextraction)이 대표적이다. 최근 이러한 식물 중 비소에 대한 고축적 식물인 고사리(*Pteris cretica*)에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다^(5,6).

† 포항공과대학교 교수
E-mail : sjlee@postech.ac.kr
* 포항공과대학교 환경공학부

비소는 지구상에 20 번째로 많은 원소이며, 토양과 수질을 오염시키는 가장 주된 원인 중 하나이다. 비소는 인체에 흡수되었을 경우 그 자체의 독성만으로 죽음에 이를 수 있으며, 비록 작은 양이라도 암 발병의 원인이 되기도 한다. 특히 제초제 등의 농약에 많이 쓰이는 비소는 농경지의 토양과 수질을 오염시켜 그 농지에서 자란 식물에 의해 사람들이 직접적으로 감염될 수 있는 위험요인을 가지고 있다⁽⁷⁾. 고사리과의 *Pretis* 중 일부는 토양 속의 비소에 대한 고축적 식물종으로 토양속의 비소를 흡수하여 잎과 줄기 등의 조직 내에 축적시켜 토양의 비소 농도를 떨어트리며, 비소로 오염된 토양에서 20%이상 더 잘 자라는 것으로 알려져 있다. 현재 여러 종류의 *Pretis* 종들이 이러한 고축적 식물종으로 알려져 있으며 이와 관련된 연구들이 진행 중에 있다^(5,6).

본 연구에서는 X-ray 미세영상기법(X-ray micro-imaging technique)을 이용하여, 비소를 흡수하는 고사리의 줄기에서의 내부의 수액유동을 가시화하였다. X-ray 미세영상기법은 살아있는 샘플을 자르거나 고정 시키는 다른 어떤 처리를 거치지 않고 내부의 모습을 실시간으로 볼 수 있다는 장점을 가지고 있다. 식물 내부 구조를 관찰 할 수 있는 다른 기법으로는 confocal laser microscopy(CLSM), magnetic resonance imaging(MRI) 등이 있지만, 이러한 방법들은 측정할 수 있는 두께의 한계와 하나의 영상을 얻는데 걸리는 시간이 많이 걸리는 단점이 있다. X-ray 미세영상기법의 장점을 이용하여 곤충 내부의 모습⁽⁹⁾, 불투명한 미세채널 내부 혈류의 속도장 측정⁽¹⁰⁾, 미세기포의 크기 및 속도 동시 측정⁽¹¹⁾, 대나무 물관 내부의 수액 유동 측정⁽¹²⁾ 등 불투명한 물체 내부의 유체유동을 정량적으로 가시화한 연구가 이루어 졌다.

본 연구에서는 이러한 X-ray 미세 영상기법을 이용하여, 고사리 줄기에 있는 물관 내부의 수액 유동을 가시화하였으며, 비소에 의한 고사리의 물 흡수 능력변화에 대한 정보도 얻고자 한다.

2. 실험장치 및 실험 방법

2.1 실험장치

식물의 내부구조와 물관에서의 수액 이동을 가시화하기 위하여 X-ray 미세영상기법을 이용하였다. X-ray 미세영상기법은 방사광 가속기에서 제공되는 X-ray의 높은 결맞음(coherence)특성을 이용하여 X-ray가 물체를 통과하면서 생기는 빛의 위상차(phase-shift)를 이용하여 물체 내부 형태를 투과방식(transmission method)으로 가시화하는 위상대비(phase contrast) 영상기법을 사용한다. 가속기의 높은 결맞음을 가지는 X-ray 빔은 샘플을 통과하면서 프레넬 가장자리 회절(Frenel edge diffraction)

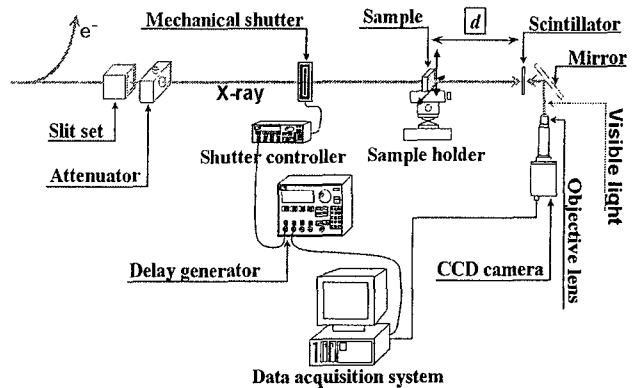


Fig.1 Schematics of X-ray micro imaging system

을 야기시킨다. 이는 빛이 물체를 통과하면서 생기는 두 가지의 다른 위상차에 의한 간섭의 효과로 생기는 회절 패턴을 만들게 되고, 이 패턴을 이용하여 물체 가장자리의 영상을 구성할 수 있다. 이러한 방식은 빛의 기본 성질인 굴절(refraction)과 회절(diffraction)을 이용하는 것으로 방사광 가속기에서 나오는 X-ray에 의한 물체 내부의 경계면에서 생기는 위상차의 변화를 가시화시키는 기법이다⁽⁸⁾.

Fig. 1은 구축된 X-ray 미세영상기법 시스템의 개략도를 나타낸 것이다. 실험은 포항가속기 연구소(PAL)의 7B2라인에서 실시하였다. 가속기 저장링(storage ring)에서 나오는 X-ray는 측정하고자 하는 샘플을 투과하게 되며, 이 때 샘플의 내부 구조에 따라 위상차(phase difference)가 발생하게 된다. 이러한 위상차 정보가 포함된 X-ray 빔은 신틸레이터(scintillator, CdWO₄)에 된다. 신틸레이터는 눈에 보이지 않는 X-ray를 우리가 볼 수 있는 가시영역의 빛으로 바꾸어 주는 결정체(crystal)로 여기에 맞춘 X-ray 영상은 금으로 코팅된 거울(gold coated mirror)를 통해 반사되고, 이를 10배 대물렌즈가 장착된 CCD 카메라로 기록한다.

가속기에서 나오는 X-ray는 연속적으로 공급되기 때문에, 식물과 같은 바이오 샘플에 지속적인 손상을 입히게 된다. 고사리의 경우 고에너지의 X-ray 빔을 지속적으로 조사하게 되면 식물 속의 물들이 에너지를 얻게 되어 기포를 형성하고, 이 기포들이 점점 커지는 것을 관찰하게 된다. 이러한 손상을 줄이기 위해 기계식 셔터와 동기 장치를 사용하였다. CCD 카메라와 기계식 셔터를 동기시켜 영상을 촬영하는 순간에만 셔터가 열려 X-ray영상을 CCD 카메라로 얻을 수 있고, 촬영하지 않는 동안에는 셔터가 닫혀 빔이 조사되지 못하도록 하였다.

실험에 사용된 카메라는 16bit CCD 카메라로 2048 X 2048 pixels의 공간분해능을 가지며, 10 배 대물 렌즈를 사용하여 700 μm X 700 μm의 관찰 영역(field of view)을 가진다. 샘플에 X-ray빔이 조사되는 시간은 100 ms이며, 각 영상은 0.5 초의 간격

으로 취득되었다.

2.2 실험방법

화분에서 자라고 있는 고사리를 실험 직전 7개의 잎이 달린 줄기부분을 잘라 2축 이송장치에 고정하였다. 줄기를 자른 이후 줄기의 물관에서 물이 빠져나가는 것을 X-ray 영상으로 관찰했다. 그리고, 줄기에 비소가 함유된 물을 공급한 후, 시간경과에 따라 물관에 물이 다시 충전되어 흐르는 과정을 X-ray 영상으로 연속적으로 취득하여 관찰하였다. 이 때 물과 비소의 농도를 달리하며 실험을 하였고, 실험에 사용된 비소는 1000 mg/l standard solution 을 사용하였으며, 다른 이온에 의한 영향을 줄이기 위해 물은 DI-water 를 사용하였다. 각 경우마다 다른 잎을 사용하였으며, 하나의 경우에 대하여 처음에는 물만 사용하여 물을 충전시키고, 약 20 분 후 두 번째로 물과 비소가 섞인 용액을 사용하여 충진을 시킨다. 마지막으로 약 2 시간 뒤 다시 물만을 사용하여 충전되는 과정을 관찰 하였다. 각 case 별, 물과 비소의 비율은 표 1 과 같다. 또한, 비소를 사용하여 2 주 동안 기른 고사리와 물만 주어 기른 고사리에서 각각 비슷한 크기의 잎이 달린 줄기를 잘라 같은 방법으로 실험을 하여 수액의 충전 속도를 비교하였다.

Table. 1 The ratio of water and arsenic

Case 1	DI water	DI : As = 1 : 0	DI water
Case 2	DI water	DI : As = 1 : 1	DI water
Case 3	DI water	DI : As = 2 : 1	DI water
Case 4	DI water	DI : As = 3 : 1	DI water
Case 5	DI water	DI : As = 4 : 1	DI water
Case 6	DI water	DI : As = 5 : 1	DI water
Case 7	DI water	DI : As = 0 : 1	DI water

3. 결과 및 토의

Fig. 2 는 고사리 줄기 내부를 X-ray 미세영상기법을 사용하여 얻은 영상이다. 이 X-ray dms 고사리 줄기의 내부 조직과 함께 물관부위에서 수액의 충전과정(그림의 타원부분)을 보여주고 있다.

Fig. 3은 물과 비소의 농도를 변화시키면서 고사리 줄기 내부의 수액의 상승속도를 측정된 결과를 보여주고 있다. 하나의 샘플에 대해 연속적으로 취득한 10장의 영상으로부터 평균속도를 구하고, 이 과정을 3번 반복하여 속도결과를 구하였다.

결과를 보면 모든 경우에 있어서 첫 번째와 두 번째 경우, 즉 처음 증류수만 사용한 경우와 비소가 섞인 물을 쓴 경우에 있어서는 상승속도에 차이가 거의 없음을 알 수 있다. 그러나, 비소가 섞인 물을 쓴 다음 다시 물을 공급한 마지막 경우에는 상승속도가 증가하는 것으로 나타났다. 모든

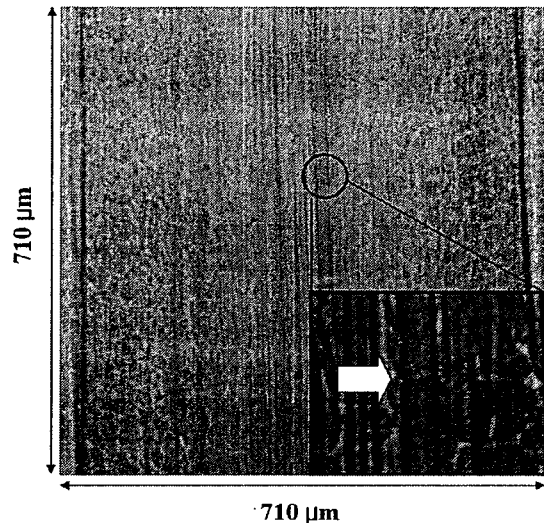


Fig. 2 A typical X-ray image showing xylem vessels in Pteris stem

경우에 있어서 3번째 실험에서 약 10% 정도의 상승 속도 증가가 나타난다. 이는 고사리가 비소를 흡수한 이후 비소에 의해 내부 화학반응이 일어나 고사리 잎이 물을 끌어 올리는 능력이 다소 상승한 것임을 알 수 있다. 일반적으로 비소에 대한 고축적 식물종인 Pteris는 물속에 녹아 있는 5가 이온의 비소 As(V)를 흡수하여 3가 이온인 As(III)의 형태로 축적되어 진다고 알려져 있다^(5,6). 중금속에 대한 고축적 식물종들은 토양이나 수질 속의 중금속을 흡수하고 이를 변형시켜 자신의 성장에 필요한 다른 유기물을 만들어 축적함으로써 성장속도가 보다 빨라지게 된다⁽³⁾.

Fig. 4 는 비소를 사용하여 재배한 고사리와 단순히 물만 이용하여 재배한 고사리를 대상으로 비교 실험한 결과이다. 결과에서 볼 수 있듯이 앞선 첫 번째 결과와 마찬가지로 비소를 사용하여 기른 고사리의 경우 줄기에서 물의 상승 속도가 물만 사용하여 기른 고사리의 경우보다 빠른 것을 알 수 있다. 평균속도를 보면 비소를 사용한 경우는 53.4 $\mu\text{m} / \text{s}$, 비소를 사용하지 않은 경우는 41 $\mu\text{m} / \text{s}$ 의 속도를 가지는 것으로 나타내었다. 이것은 앞서

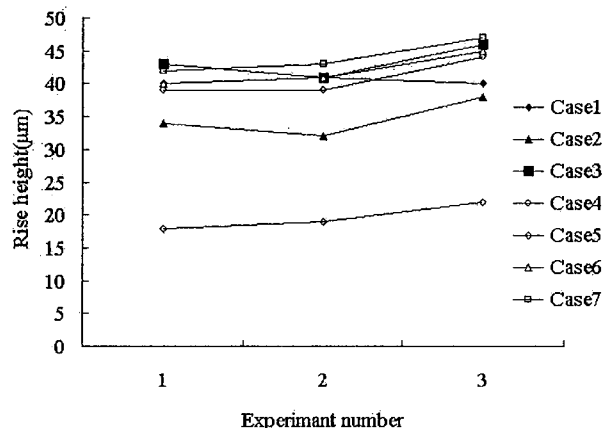


Fig. 3 Water rise velocity in each cases

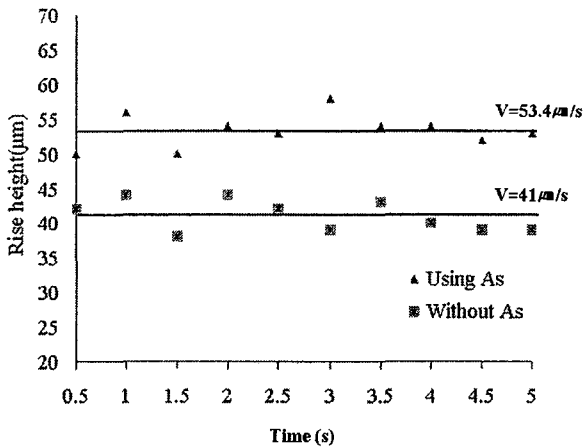


Fig. 4 Water rise kinetics in xylem of Pteris stem

설명한 것과 마찬가지로 비소를 흡수함에 따라 물을 끌어올리는 고사리의 흡입능력이 향상되었음을 알 수 있다. 그러나 이 경우 첫 번째 실험과는 달리 상승속도가 23%정도 증가한 것으로 나타났다. 이것은 비소가 고사리에게 영향을 미친 시간의 차이 때문이라 생각되어 진다. 첫 번째 실험에서는 비소가 투입되고 2 시간 정도의 시간밖에는 흐르지 않았지만, 두 번째 실험의 경우 2 주간의 재배 기간 동안 고사리의 조직 속에 비소가 보다 많이 축적 되어 더 큰 효과를 가져 온 것이라 생각되어 진다.

4. 결 론

본 논문에서는 비소에 대한 고축적 식물종인 고사리의 물 흡수 능력에 대해 줄기 내부 물관의 가시화를 통해 연구하였다. 그 결과 비소가 투입된 경우 고사리가 물을 끌어올리는 상승 속도가 증가하였다. 이것은 기존의 연구들과 마찬가지로 비소를 흡수한 고사리가 토양 속의 물을 흡입할 펌프로서의 능력이 향상 되었음을 말해준다. 이처럼 X-ray 미세영상기법을 사용한 식물 내부흐름의 가시화는 환경오염물질을 흡수하는 식물들 내부에서 일어나는 독성 물질의 축적, 이동, 변형 등의 과정을 이해하는데 크게 도움이 될 것이다.

후 기

본 연구는 포항 방사광 가속기 연구소의 7B2 빔라인에서 수행되었으며, 포항 방사광 가속기에서의 실험은 과학기술처와 포항공대의 지원을 받았습니다. 본 연구는 과기부(과학재단)에서 지원한 특정기초연구(R01-2004-000-10500-0)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

- 1) Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, P., Dushenkov, S., Ensley, B. D., Chet, I. and Raskin, I., 1995, "Phytoremediation. A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants," *Bio/Tech.*, Vol. 13, pp. 468-474.
- 2) US EPA, 2000, Introduction to Phytoremediation, EPA/600/R-99/107.
- 3) Tsao, T., 2003, Phytoremediation, Springer, Berlin..
- 4) Kruger, E. L., Anderson, T. A. and Coats, J. R., 1997, Phytoremediation of soil and water contaminants, American Chemical Society, Washington, DC.
- 5) Srivastava, M., Ma, L. Q. and Santos, J., 2006, "Three new arsenic hyper-accumulating ferns," *The Science of The Total Environment*, Vol. 364, pp. 24-31.
- 6) Zhang, W., Cai, Y., Tu, C. and Ma, L. Q., 2002, "Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyper-accumulating plant," *The Science of The Total Environment*, Vol. 300, pp. 167-177.
- 7) Cullen, W. R. and Reimer, K. J., 1989, "Arsenic speciation in the environment," *Chem. Rev.*, Vol. 89, pp. 713-764.
- 8) Raven, C., Snigirev, A., Snigireva, I., Spanne, P., Souvorov, A. and Kohn, V., 1996, "Phase-contrast microtomography with coherent high-energy synchrotron x rays," *Appl. Phys. Lett.* Vol. 70, pp. 1826-1828.
- 9) Westneat, M. W., Betz, O., Blob, R. W., Fezzaa, K., Cooper, W. J. and Lee, W. K., 2003, "Tracheal Respiration in Insects Visualized with Synchrotron X-ray Imaging", *Science*, Vol. 299, pp. 558-560.
- 10) Lee, S. J. and Kim, G. B., 2005, "Synchrotron micro-imaging technique for measuring the velocity fields of real blood flows", *J. of Applied Physics*, Vol. 97, 064701.
- 11) Lee, S. J. and Kim, S., 2005, "Simultaneous Micro-imaging of Size and Velocity of Micro-bubbles Moving in an Opaque Tube", *Experiments in Fluids*, Vol. 39, pp. 492-497.
- 12) Kim, Y. and Lee, S. J., 2003, "In vivo visualization of flow in xylem vessels of a bamboo plant using synchrotron X-ray micro imaging technique", *KSME J.*, Vol. 27, pp. 563-581.