



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0009513
(43) 공개일자 2017년01월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 31/22 (2006.01) G01N 21/25 (2006.01)

G01N 21/62 (2006.01) G01N 33/20 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 31/22 (2013.01)

G01N 21/25 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0101708

(22) 출원일자 2015년07월17일

심사청구일자 2015년07월17일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

윤철원

서울특별시 노원구 월계로45길 21, 105동 1002호 (월계동, 롯데캐슬아파트)

(74) 대리인

특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 미생물에서 분리한 시데로포아를 이용한 중금속 검출 색센서

(57) 요약

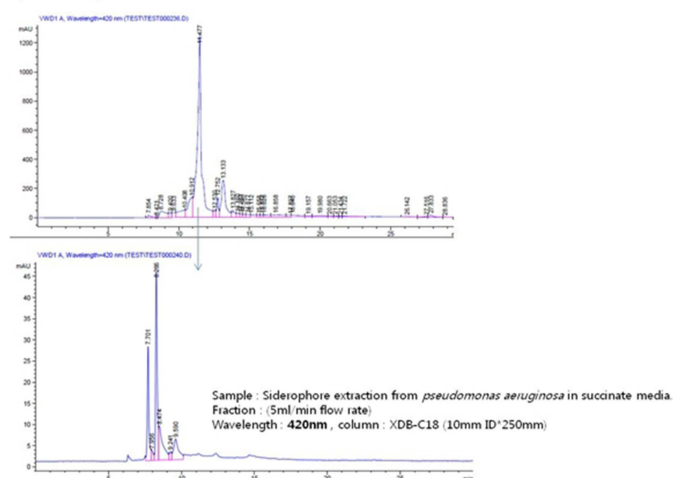
본 발명은 시데로포아를 시료와 반응시켜 색의 변화를 관찰하는 단계; 및

변화된 색의 종류에 따라 시료 내 중금속의 존재 여부 및 종류를 분석하는 단계를 포함하는 중금속 검출 방법에 관한 것으로,

본 발명에서 사용되는 시데로포아는 중금속의 종류에 따라 다른 종류의 형광을 보이므로, 다른 파장의 빛에 의해 특이적으로 검출이 가능하다. 또한, 본 발명에 따른 중금속 검출 방법에서는 ppb 농도로 중금속을 검출할 수 있다.

대표도 - 도1

Separation by HPLC



(52) CPC특허분류

G01N 21/62 (2013.01)

G01N 33/20 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

시데로포아를 시료와 반응시켜 발광 및 발색의 변화를 관찰하는 단계; 및
변화된 발광 및 발색의 종류에 따라 시료 내 중금속의 존재 여부 및 중금속의 종류를 분석하는 단계를 포함하는
중금속 검출 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
변화된 발광의 세기를 측정하여 중금속의 농도를 측정하는 단계를 추가로 포함하는 중금속 검출 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
중금속은 버클륨(Bk), 철(Fe), 납(Pb), 비소(As), 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 나트륨(Na) 및 니켈(Ni)로 이루어진
그룹으로부터 선택된 하나 이상인 중금속 검출 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
시데로포아는 시데로포아를 생산하는 미생물에서 분리한 형광성 시데로포아인 것인 중금속 검출 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서,
미생물은 ftr1 및 ftr2 유전자가 결손된 미생물 변이체인 중금속 검출 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서,
미생물은 *Pseudomonads fluorescens* 또는 *Pseudomonads aeruginosa*인 중금속 검출 방법.

청구항 7

제 4 항에 있어서,
미생물에서 시데로포아의 분리는 a) 시데로포아를 생산하는 미생물을 배지에서 배양한 후 미생물을 제거한 배양액으로부터 소수성 흡착 수지를 이용하여 시데로포아 복합체를 회수하는 단계;
b) 상기 시데로포아 복합체를 고성능액체크로마토그래피로 2회 이상 분획하여 시데로포아를 분리 및 정제하는 단계; 및

c) 상기 시테로포아로부터 철을 제거하는 단계를 포함하는 중금속 검출 방법.

청구항 8

중금속의 존재 여부 및 중금속의 종류에 따라 발광 및 발색의 변화를 나타내는 시테로포아를 포함하는 중금속에 대한 선택적 발광성 및 발색성을 나타내는 센서.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 시테로포아를 이용한 중금속의 검출 방법 및 중금속 검출 색센서에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 산업화에 의해 인간의 삶은 윤택해진 반면 그에 따른 환경 오염은 인간생활의 다른 위협요소가 되고 있다. 이러한 환경오염은 인간의 생명을 위협할 만큼 큰 사회적 이슈가 되고 있으며, 따라서 산업화와 더불어 환경오염을 방지 또는 제거하는 기술의 개발이 요구되고 있다. 특히 토양과 수질의 환경오염은 우리의 삶과 밀접히 연관되어 있고 이를 해결하기 위한 방안을 많은 연구를 통해 노력하고 있는 실정이다.

[0004] 현재 수질의 오염원인 중금속은 인간의 삶에 큰 영향을 주고 있다. 특히 폐광산에서 흘러나오는 중금속은 주변에 거주하는 주민의 상수원을 오염시키고 이에 따라 중금속 오염이라는 큰 문제를 일으킨다. 물론 이러한 중금속을 제거하는 기술은 매우 중요하며 이러한 과정을 통해 수질을 개선할 수 있다. 그러나 이에 앞서 수질이 오염되었는지를 확인하는 작업 역시 중요하다. 즉, 빠른 시간 안에 오염정도를 파악하고 오염원의 종류를 결정해서 주위에 2차적인 오염을 막는 것은 매우 중요한 과정이며 이를 위해 많은 방법이 현재 동원되고 있다. 특히 중금속의 오염을 정확히 정량과 정량분석 하는 것이 중요한 과정이며, 이를 위해 고가의 장비를 이용해 오랜 시간을 분석실험을 위해 투자하게 된다. 이러한 긴 과정을 생략하기 위해 최근에는 중금속과 반응하는 특수한 화학물질을 이용하여 발색을 통해 중금속오염의 정도를 파악할 수 있다(특허문헌 1). 보통 색센서라고 불리는 이 방법은 간편하고 빠르게 측정이 가능하며 어디서든 손쉽게 측정할 수 있는 장점이 있다. 이러한 장점으로 장래 환경 색센서 시장 규모는 계속 성장할 것으로 예측된다.

[0005] 그러나, 현재 색센서 시장은 미국 및 몇몇 국가의 기업에서 원천기술을 독점하고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 1. 한국공개특허 제10-2009-0004285호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 시테로포아를 이용한 중금속의 검출 방법 및 중금속 검출 색센서를 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명에서는 시테로포아를 시료와 반응시켜 발광 및 발색의 변화를 관찰하는 단계; 및

[0011] 변화된 발광 및 발색의 종류에 따라 시료 내 중금속의 존재 여부 및 중금속의 종류를 분석하는 단계를 포함하는 중금속 검출 방법을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명에서는 중금속의 존재 여부 및 중금속의 종류에 따라 발광 및 발색의 변화를 나타내는 시테로포아를 포함하는 중금속에 대한 선택적 발광성 및 발색성을 나타내는 센서를 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 센서, 즉, 환경 색센서는 휴대가 간편하여 현장분석 및 실시간 분석이 가능하고, 잉크 카트리지 처럼 소모성 제품이므로 시장성이 우수하다.

[0016] 또한, 색센서에 대한 원천 물질은 일단 개발되면 변형이 용이하고 다양한 물질에 적용 가능하므로, 중금속뿐만 아니라 음이온계, 양이온계, VOC, 바이오품질 등에 대한 새로운 센서로의 활용이 가능하다.

[0017] 또한, 환경 오염은 범위가 넓어 이를 신속하고 비용측면에서 효율적으로 측정하는 방법의 필요성이 대두되고 있어, 환경분야에서 색센서가 상당히 중요한 기능을 할 가능성이 높다.

[0018] 또한, 본 발명의 센서에 사용되는 시테로포아는 중금속의 종류에 따라 다른 종류의 형광을 보이므로, 다른 파장의 빛에 의해 특이적으로 검출이 가능하하며, ppb 농도로 중금속을 검출할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 실시예에서 분획된 분획물의 hydrosphere C18 column을 이용한 HPLC 결과를 나타낸다.

도 2 내지 4는 실시예에서 분리된 시테로포아와 금속과의 반응성 결과를 나타내는 사진(도 2) 및 그래프(도 3 및 4)이다.

도 5는 paper strip을 이용한 시테로포아와 중금속과의 반응 결과를 나타내는 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

[0022] 본 발명에서는 시테로포아를 이용한 중금속의 검출 방법을 제공한다. 상기 중금속은 시테로포아를 시료와 반응시켜 발광 및 발색의 변화를 관찰하는 단계; 및

[0023] 변화된 발광 및 발색의 종류에 따라 시료 내 중금속의 존재 여부 및 중금속의 종류를 분석하는 단계를 통해 검출될 수 있다.

[0024] 본 발명에서 시료는 중금속을 포함하는데, 시테로포아는 상기 시료 중의 중금속에 특이적으로 결합하여 발광 및 발색의 변화를 나타낼 수 있다. 시테로포아는 중금속의 종류에 따라 다른 발광 및 발색 변화를 나타내므로, 변화된 발광 및 발색의 종류에 따라 중금속의 존재 여부 및 나아가 중금속을 종류를 분석할 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명에서는 변화된 발광의 세기를 측정하여 중금속의 농도를 측정할 수도 있다. 상기 중금속 농도 측정에서는 형광의 세기를 측정할 수 있는 기기를 필요로 한다.

[0026] 본 발명의 중금속 검출 방법에서, 중금속은 버클륨(Bk), 철(Fe), 납(Pb), 비소(As), 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 나트륨(Na) 및 니켈(Ni)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0027] 상기 중금속들은 본 발명에 따른 시테로포아와 반응하여 각각 상이한 색의 발색을 나타내는데, 예를 들어, 철은 갈색, 비소는 녹색, 카드뮴은 갈색 및 구리는 노란색을 나타낼 수 있다.

[0028] 본 발명에서 시테로포아(siderophore)는 수용성 저분자인 철이온-특이 결합(ferric iron-chelating) 화합물로, 일반적으로 펩타이드 사슬로 연결된 황록색의 형광 크로모포어(fluorescent chromophore)이다. 상기 시테로포아는 미생물이 생산하는 소분자 물질로서 주로 철과 결합하는 기능을 지니고있으며, 이러한 복합체 형태로 미생물에 의해 흡수될 수 있다. 최근에는 시테로포아가 세포에 철을 공급하는 이외에 중금속 독성으로부터 보호하는

역할을 한다는 보고가 있으며(Gilis, A. et al. Effect of the siderophore alcaligin E on the bioavailability of Cd to *Alcaligenes eutrophus* CH34. J. Ind. Microbiol. Biotechnol.(1998) 20, 61-68.), 시데로포아를 이용하여 중금속을 제거하는 방법이 연구되고 있다.

- [0029] 본 발명에 따른 시데로포아는 형광성 시데로포아로, 중금속의 존재 여부 및 중금속의 종류에 따라 발광 및 발색의 변화를 나타낸다. 이러한 시데로포아는 시데로포아를 생산하는 미생물에서 분리될 수 있다.
- [0030] 상기 시데로포아를 생산하는 미생물은 *ftr1* 및 *ftr2* 유전자가 결손된 미생물 변이체일 수 있으며, *ftr1* 및 *ftr2* 유전자를 결손시키기 위한 미생물은 사상성 균류에서 선택될 수 있다. 일 구체예에서 시데로포아를 생산하는 미생물은 *Pseudomonads fluorescens* 또는 *Pseudomonads aeruginosa*일 수 있으며, 보다 구체적으로 *Pseudomonads fluorescens* 일 수 있다. 특히, 본 발명에서는 *Pseudomonads fluorescens*를 사용하여 형광을 띄는 시데로포아를 생산할 수 있으며, 상기 생산된 시데로포아는 중금속과 결합하여 향상된 형광 세기 및 색변화를 나타내게 된다.
- [0031]
- [0032] 일 구체예에서, 미생물에서 시데로포아의 분리는
- [0033] a) 시데로포아를 생산하는 미생물을 배지에서 배양한 후 미생물을 제거한 배양액으로부터 소수성 흡착 수지를 이용하여 시데로포아 복합체(Siderophore mixture)를 회수하는 단계;
- [0034] b) 상기 시데로포아 복합체를 고성능액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)로 2회 이상 분획하여 시데로포아를 분리 및 정제하는 단계; 및
- [0035] c) 상기 시데로포아로부터 철을 제거하는 단계를 포함하는 미생물로부터 생산된 시데로포아를 분리 및 정제하는 단계를 통해 수행될 수 있다.
- [0036] 상기 단계 a)에서 소수성 흡착 수지는 스티렌/다이비닐벤젠 중합체(styrene/divinylbenzene copolymers) 또는 지방족 에스터(aliphatic ester)를 주요 성분으로 하는 합성수지가 사용될 수 있으며, Diaion HP-20, AmerliteXAD-2 Amberlite XAD-4, Amberlite XAD-7, Amberlite XAD-7HP, Amberlite XAD-8, Amberlite XAD-16, Amberlite XAD-16 HP, Amberlite XAD-1180, Amberlite XAD-2000, Amberlite XAD-2010(비극성 다방향성 수지) 등으로 구성된 그룹 중 1종을 선택할 수 있으며, 구체적으로 Amberlite XAD-16(Sigma)를 사용할 수 있다.
- [0037] 상기 수지로부터 시데로포아 복합체를 용리하기 위한 용매로는 메탄올, 에탄올, 아세톤, 아세토나이트릴, 부탄올, 아이소프로판올, 에틸아세테이트, 클로로포름, 디클로로메탄, 헥산 중 1종을 선택할 수 있다. 구체적으로 물과 혼합 가능한 용매인 메탄올, 에탄올, 아세톤, 아세토나이트릴을 선택할 수 있다.
- [0038] 상기 단계 b)에서 HPLC를 통한 시데로포아의 분리 및 정제는 2회 이상, 바람직하게는 3회 HPLC할 수 있으며, 2 ~ 3차 분획을 통해 시데로포아의 분획을 더욱 정확하게 세분화할 수 있다. 상기 HPLC의 구체적인 방법 및 조건은 이에 한정되지 않으며, 예를들어, 동일 발명자가 출원한 특허, 한국공개특허 제10-2013-0029354를 HPLC 방법으로 수행할 수 있다.
- [0039] 바람직하게 상기 단계 b)에서 시데로포아의 분리 및 정제는 히드로스피어 C18 컬럼 (Hydrosphere C18 column prep용 컬럼)을 이용하여 그래디언트(gradient)는 아세토니트릴/물(Acetonitrile/water)을 0-90%로 하고, 60분간, 플로우레이트(flow rate)는 5ml/min로 하여 435nm에서 측정된 후 유효 피크(peak)의 분획(fraction)을 수거하는 것을 특징으로 한다.
- [0040] 본 발명에서, 상기 시데로포아의 종류는 특별한 제한이 있는 것은 아니며, 엔테로틴(enterobactin), 파라박틴(parabactin), 아크로박틴(acrobactin), 안구이박틴(anguibactin), 비브리오박틴(vibriobactin), 아조토박틴(azotobactin) 등의 카테콜 형태, 페리크롬(ferriochrom), 페리옥사민(ferrioxamine), 코프로젠(coprogen), 노카다민(nocardamine) 등의 히드록사메이트 형태, 아쓰로박틴(arthrobactin), 아에로박틴(aerobactin), 시조키넨(schizokinen) 등의 시트레이트-하이드록사메이트(citrate-hydroxamate) 형태, 그리고 슈더-박틴(pseudobactin), 이나포베르틴(pyoverdin) 등의 퀴놀린(quinoline) 형태일 수 있다.
- [0042] 또한, 본 발명은 중금속에 대한 선택적 발광성 및 발색성을 나타내는 센서에 관한 것으로, 상기 센서는 중금속의 존재 여부 및 중금속의 종류에 따라 발광 및 발색의 변화를 나타내는 시데로포아를 포함한다.

- [0043] 본 발명에 따른 시테로포아는 형광을 지니며, 중금속과 결합할 경우 강한 형광을 지니게 된다. 또한, 각 중금속에 따라 다른 종류의 형광을 보이므로, 다른 파장의 빛에 의해 특이적으로 검출이 가능하며, ppb의 농도로 검출할 수 있다.
- [0044] 본 발명에서 센서는 색센서이다. 상기 색센서는 대상물질의 검지 시에 색상이 변하는 것으로 대상물질을 감지하는 기술로, colorimetric sensor, optoelectronic nose 및 chromogenic sensor 등이 알려져 있다. 상기 색센서는 대상물질을 검지했을 때, 육안(naked eye)으로 현장에서 실시간으로 정보를 제공할 수 있다는 장점을 가진다.
- [0045] 본 발명에 따른 센서는 페이퍼 형태 또는 튜브 형태일 수 있다. 상기 페이퍼 형태 또는 튜브 형태의 센서는 당업계의 일반적인 센서의 구성을 지닐 수 있다.
- [0046] 일 구체예에서, 페이퍼 형태의 센서는 색변화가 즉각적으로 나타나서 현장에서 대상 중금속에 대한 시각적 확인이 가능하다는 장점을 가진다. 예를 들어, 페이퍼 형태의 센서는 paper strip일 수 있으며, 상기 paper strip의 페이퍼에 여러 가지 중금속을 스팟(spot)한 후 회석된 시테로포아를 스팟하여 색의 변화를 관찰할 수 있다.
- [0047] 일 구체예에서, 튜브 형태의 센서는 튜브 내부에 시테로포아가 들어있어, 튜브에 중금속을 스팟한 후 색의 변화를 관찰할 수 있다.
- [0048] 상기 페이퍼 형태 또는 튜브 형태는 시각적인 정보로 확인하여 편의성이 있지만 야간 분석시에는 시각적 정보의 확인이 어려울 수 있으므로, 이를 해결하기 위하여 칩이나 장치 형태로 개발된 휴대용 센서를 이용할 수도 있다.
- [0050] 실시예
- [0051] 제조예 1. 미생물로부터 시테로포아 분리
- [0052] 1) 시테로포아 배양
- [0053] 본 연구에 사용된 시테로포아는 *Pseudomonads fluorescens*와 *Pseudomonads aeruginosa*로부터 분리하여 사용하였다.
- [0054] 분리방법은 다음과 같다.
- [0055] *P. fluorescens*와 *P. aeruginosa*을 iron-free succinate 배지(1 L의 물에 K_2HPO_4 6g, KH_2PO_4 3g, $MgSO_4$ 0.2g, $(NH_4)_2SO_4$ 1g, succinic acid 4g을 포함)에서 48 시간 동안 배양하였다. 배양 후 CAS assay를 통해 시테로포아의 생산을 확인하였다.
- [0057] 2) 시테로포아 복합체 정제 및 분리
- [0058] (1) 컬럼을 통한 시테로포아 복합체의 정제
- [0059] 1)에서 배양된 샘플을 원심분리를 통해 얻은 배지를 0.45 μm 여과지에 펌프를 이용하여 여과하여 균체를 제거하였다..
- [0060] 다음, Amberlite XAD16 resin(Sigma) 20 g을 컬럼에 채우고 50mM Potassium phosphate buffer (pH 7.5) 200 ml로 세척(washing)하여 충분히 평형화(equilibration) 시킨 후 곰팡이를 제거한 위의 샘플을 레진(resin)에 통과시켜 흘려보냈다.
- [0061] 노랗게 변한 레진(resin)에 50 mM Potassium phosphate buffer (pH 7.5) 50 ml로 세척(washing)하고 메탄올(HPLC grade) 20 ml를 흘려 컬럼에서 나오는 용액을 용리(elution) 하였다.
- [0062] 이 단계에서 시테로포아 복합체(Siderophore mixture)는 culture volume의 1/1000 H_2O 로 용리(elution)한 후 사용, 4 $^{\circ}C$ 에서 보관하였다.
- [0064] (2) HPLC를 통한 시테로포아 분리 및 정제

- [0065] 상기 용리(elution) 용액을 진공농축기(Vacuum concentrator)에 100 mm/hg, 20℃로 메탄올(methanol)을 날려 농축시켰다. 상기 농축된 시테로포아 복합체(siderophore mixture)를 메탄올 (HPLC grade) 500 μ l로 녹인 후, 원심분리 (12000 rpm, 4 $^{\circ}$ C, 1 min)하여 녹지 않은 찌꺼기를 제거한 후 상층액을 옮겨주었다. 상기 옮긴 상층액을 0.22 μ m Nylon membrane syringe filter로 걸렀다.
- [0066] 이와 같이 준비된 시테로포아 복합체(Siderophore mixture, 4 $^{\circ}$ C 보관) 중 100 μ l를 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)로 분리하여 정제하였다 (Agilent Eclipse XDB-C18 column).
- [0067] 1차 분획(fraction)은 다음과 같은 조건으로 실시하였다.
- [0068] Solvent 조건: Water 90 % (w/ 0.1 % TFA): Acetonitrile 10 %(w/ 0.1 % TFA) (TFA: Trifluoroacetic acid)
- [0069] Detection & gradient 조건: Absorbance at 435 nm (Sample volume: 100 μ l) (도 3 참조)
- [0070] 0 min - 10 %,
- [0071] 15 min - 20 %,
- [0072] 30 min - 50 %,
- [0073] 40 min - 60 %,
- [0074] 45 min - 10 %,
- [0075] 65 min - 10 %
- [0076] 분획(fraction) 받은 시테로포아를 진공농축기(Vacuum concentrator)에 100 mm/hg, 20℃로 용액을 날린 후 50 μ l H₂O (HPLC grade)로 녹여 스핀다운(spin down) 한 후 상층액을 분획(fraction)하여 정제하고 피크(peak)를 세분화하기 위하여 같은 조건으로 한 번 더 반복하였다.
- [0077] 다음 2차 및 3차 분획(fraction)을 다음 조건으로 하였다.
- [0078] Solvent 조건: Water 90% (w/ 0.1% TFA): Acetonitrile 10%(w/ 0.1% TFA)
- [0079] Detection & gradient 조건: Absorbance at 435nm (Sample volume: 50 μ l)
- [0080] 20 min - 10%
- [0081] 60 min - 20%
- [0082] 본 발명에서 도 1은 본 발명에 따라 hydrosphere C18 column을 이용한 HPLC 결과를 나타낸다.
- [0084] 실험예 1. 색센서를 이용한 시테로포아 검출
- [0085] 제조예 1에 의해 분획(fraction)된 시테로포아를 진공 농축기(Vacuum concentrator)에 100 mm/hg, 20℃로 용액을 날린 후 H₂O (HPLC grade) 200 μ l로 녹였다. 다음 붉은 시테로포아에 20 mM 메타놀릭 8-히드록시퀴놀린 (Methanolic 8-hydroxyquinoline) 50 μ l를 넣고 1 시간 동안 70 $^{\circ}$ C에 반응시킨 후 24 시간 동안 상온에서 침전시켰다.
- [0086] 상기 침전시킨 용액에 클로로포름(chloroform) 200 μ l를 넣고 섞어준 후 원심분리(12000 rpm, 4 $^{\circ}$ C, 15 min)를 하여 상층액을 취하고 이 과정을 5번 이상 반복하여 철분을 용액에서 제거하였다.
- [0087] 상기 철분이 제거되어 투명한 시테로포아를 사용하여 중금속을 검출하였다.
- [0088] (1) 분리된 시테로포아의 금속과의 반응성 검토
- [0089] 시테로포아(SID)의 금속과의 반응성을 실험하였다.
- [0090] 금속으로는 버클륨(Bk), 철(Fe), 납(Pb), 비소(As), 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 나트륨(Na), 니켈(Ni)을 사용하였으며, 시테로포아(SID) 외에 DW, FOB의 반응성을 검토하였다.
- [0091] 먼저, 10배 희석한 시테로포아 샘플을 96 well plate에 200 μ l 넣고 100 mM의 FeSO₄, 버클륨(Bk), 납(Pb), 비소(As), 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 나트륨(Na) 또는 니켈(Ni) 20 μ l를 넣은 후 잘 섞었다. 30분 정치 한 후 스펙트로

포토미터로 620 nm의 파장에서 발광 및 발색을 측정하였다.

[0092] 상기 결과를 도 2 에 나타내었다.

[0093] 상기 도 2에 나타내듯이, 시테로포아는 각각의 금속과 결합을 함으로서 형광을 나타내며, 각 금속에 대하여 특이적인 색을 가지는 것을 확인할 수 있다.

[0094] 본 발명에서 도 3은 시테로포아의 중금속(철, 납, 비소, 카드뮴, 구리)에 대한 중금속 반응성을 나타낸다. 상기 도 3은 시테로포아가 철, 납, 비소, 카드뮴, 구리와 결합하여 생기는 형광을 620 nm에서 측정한 후, 형광의 세기를 그래프로 나타낸 것으로서, 파란색, 붉은색, 연두색 및 보라색 막대는 각각 10배, 5배, 2배 및 1배 희석한 시테로포아 샘플에서 반응한 형광의 세기 결과이다. 상기 도 3에 나타난 바와 같이, 철의 경우 반응성이 매우 높은 것을 확인할 수 있다. .

[0095] 또한, 본 발명에서 도 4는 비소 및 카드뮴의 농도에 따른 형광 세기를 나타낸다. 도 4에 나타나듯이, 비소 및 카드뮴은 농도가 증가할수록 형광의 세기가 커지는 경향을 보이는 것을 확인할 수 있으며, 10 ppb(10 uM) 이상에서는 농도 증가에 따른 형광 세기 증가 효과가 미미한 것을 확인할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 시테로포아는 10 ppb 이하의 낮은 농도에서도 중금속의 검출이 가능하다는 장점을 가진다.

[0096]

[0097] (2) paper strip을 이용한 시테로포아의 중금속 반응 검증

[0098] 10배 희석한 시테로포아 10 μ l를 왓트만 페이퍼에 스쾃한 다음 건조시켰다. 상기 건조된 시테로포아 스쾃에 100M의 각 금속을 10 μ l를 스쾃하여 색의 변화를 확인하였다.

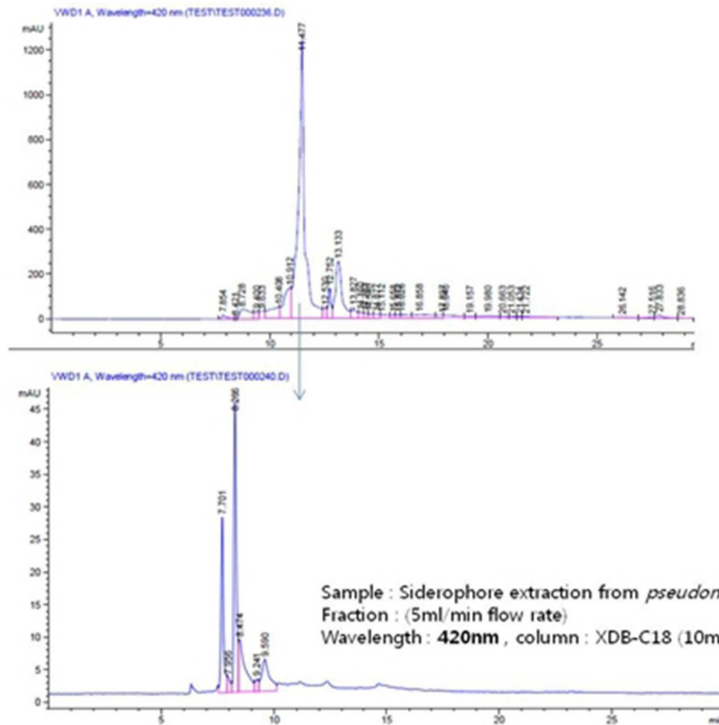
[0099] 본 발명에서 도 5는 상기 색의 변화를 보여주는 사진이다.

[0100] 상기 도 5에 나타나듯이, 시테로포아는 각각의 중금속에 대하여 각각 다른 발색을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

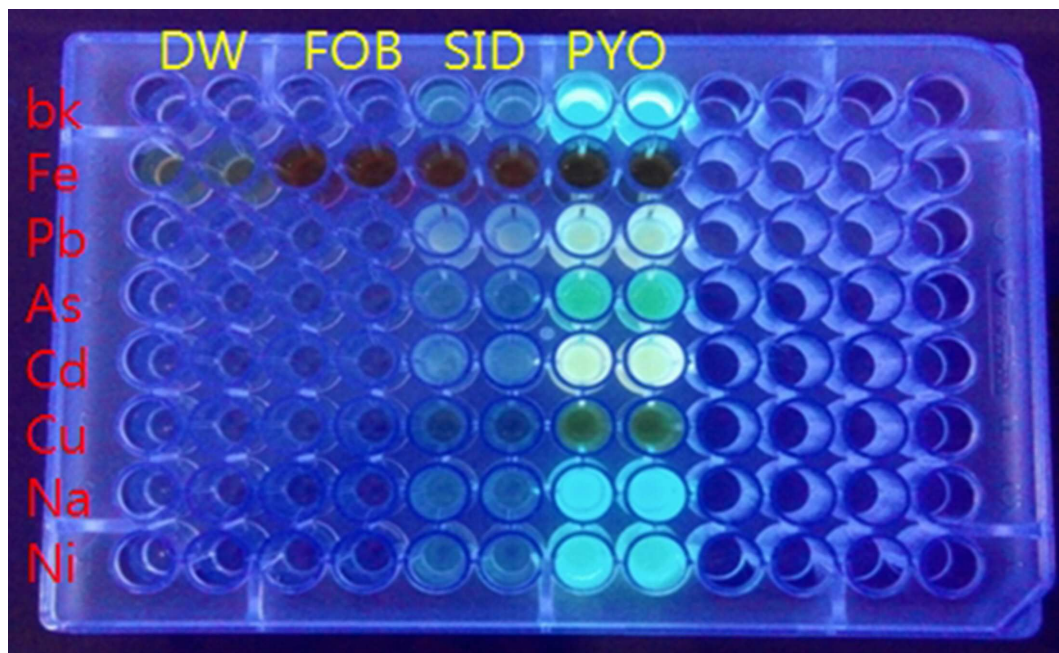
도면

도면1

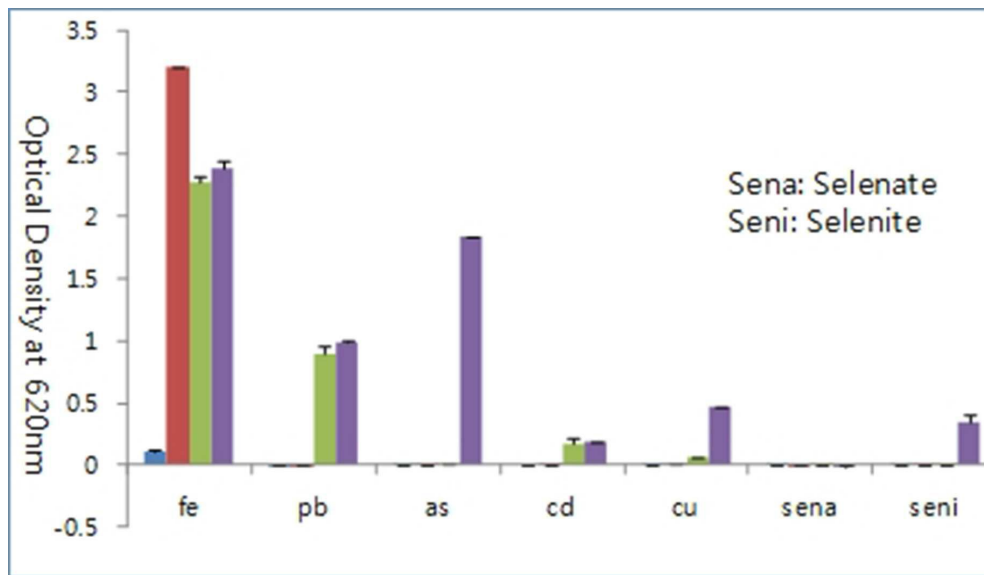
Separation by HPLC



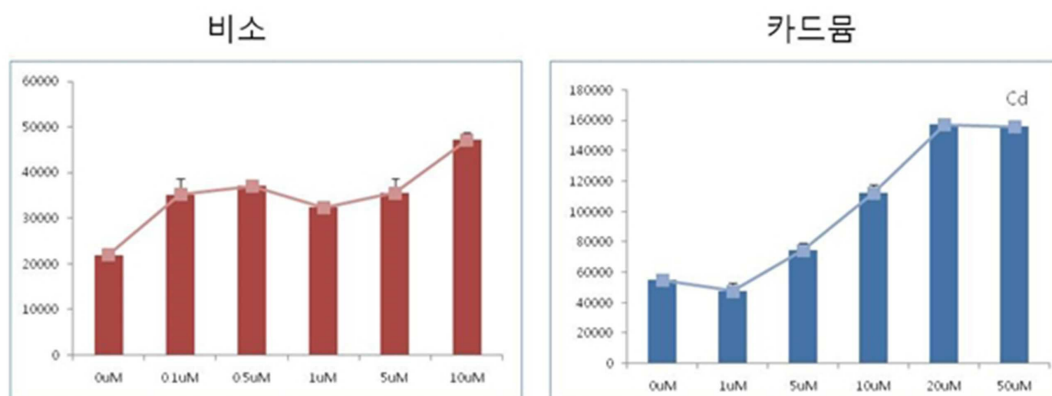
도면2



도면3



도면4



도면5

물 철 구리 카드뮴 비소

