

## 어저귀에 의한 2,4,6-trinitrotoluene의 식물상 복원공법 Phytoremediation of 2,4,6-trinitrotoluene by *Abutilon avicennae*.

배범한, 김선영\*, 이인숙\*, 장운영\*\*

경원대학교 토목환경공학과,

\*이화여자대학교 생물학과, \*\*광운대학교 환경공학과

### ABSTRACT

It has been reported that some plants have the potential to metabolize the 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in contaminated soils, sediments and natural water. In this study, the effects of TNT on germination and early seedling development of *Abutilon avicennae* was characterized in a germination test. Concentration up to 80 mg /L TNT did not affect germination but root and shoot growth, and fresh biomass decreased as TNT concentration increased.

A series of axenic hydroponical batch culture of *Abutilon avicennae* at various initial TNT concentration was used to determine its transformation kinetics, to identify products formed, and to evaluate phytotoxic effects on the TNT transformation process. At higher initial TNT concentrations, TNT removal rate constant decreased, however, total amount of TNT removed was increased in the culture media. Reductive transformation products of TNT were not detected in the plant culture media but higher concentrations of reduced metabolites were detected in the root and stem extracts of plant material at the 7 days of batch incubation. From these results we concluded that *Abutilon avicennae* has an intrinsic capacity for taking up and transforming TNT.

---

key words : phytoremediation, 2,4,6-trinitrotoluene, *Abutilon avicennae*, phytotoxic effects, removal rate, axenic hydroponical batch.

### I. 서론

전세계적으로 주요 재래무기나 핵무기의 원료로 폭발성 물질이 많이 쓰여지고 있다. 이 중 TNT는 다른 유기 화합물과 달리 토양에 대한 흡착력이 중간 정도로 지하수를 통해 빠르게 이동하여 토양과 지하수를 오염시켜 토양 환경에 악영향을 미치는 돌연변이 물질이다.(1) 또한 사람의 피부를 자극하고, 호흡기 계통의 장애, 빈혈, 간에 대한 발암물질로 알려져 있어 미국 환경 보호청에서는 TNT를 발암 가능한 물질(Class C)로 규정하고 있다.

고폭물질로 오염된 토양이나 지하수의 복원에는 토양의 굴착(Excavation)에 이은 소각(Incineration) 처리 방법이 많이 사용되었다. 그러나, 비용이 많이 들고 소각 이후에 재(ash)나 시안(CN-)과 같은 제 2 차 독성 부산물을 형성하여 최근에는 경제적이며 친환경적인 Phytoremediation 공법으로 처리하려는 노력이 경주되고 있다.

Phytoremediation은 유기오염물질을 제거하는 식물의 메커니즘은 뿌리를 통해 식물체 세포내로 오염물을 직접 흡수하여 식물에 무독한 중간 물질로 변환시킨 후 축적하거나, (2-3) 휘발성 오염물질을 공기를 통해 잎으로 직접 흡수하고, 뿌리를 통해 배출액(exudates)과 효소를 분비하여 근권 미생물에 의한 오염물의 생화학적 분해를 촉진시킨다. (4) 또한 Phytoremediation은 오염물이 지하수로 이동하는 것을 감소시키고 토양을 안정화 시키며 심미적인 기능도 있다. 본 연구는 1년 생 잡초인 어저귀의 발아율과 초기 seedling 성장을 통해 TNT의 식물 독성 효과를 정량하여 TNT로 오염된 토양을 정화시키기 위한 내성종으로서의 가능성을 알아봄과 동시에 어저귀(*Abutilon avicennae*)에 의한 TNT 무독화 과정을 모니터링하기 위해 무균 액체 반응조를 준비하고 TNT농도에 따라 식물에 의한 제거 및 분해에 대한 동역학적 상수를 구하는 것이다. 또한 식물체 내에서 TNT 및 TNT 변환물의 거동을 살펴 식물에 의한 TNT 무독화 가능성을 알아보는 것이다.

## II. 본론

### 2.1 발아와 성장

TNT stock 용액을 희석하여 10 mg/L 단위로 80mg/L까지 agar 용액을 준비하고, 농진청에서 얻은 잡초 종자 어저귀 15개씩을 각각 plate에 옮긴 후 실내온도 25도, 습도 60%로 유지한 chamber 에서 14일간 암배양하여 발아상태의 변화를 관찰하였다. 14일 후 농도별 15개체씩 무작위로 수거하여 뿌리와 지상부의 길이 및 생체량을 측정하였다.

### 2.2 무균 수정재배 및 추출

어저귀의 지상부 길이가 30-40cm 될 때까지 토양에서 키운 후 TNT 20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L로 준비한 배지에 어저귀를 11.5g/L(wet weight)의 밀도로 넣고 168시간동안 수정 재배하였다. 각각의 노출 농도마다 TNT 용액만을 넣은 반응조를 대조군으로 준비하여 흡착과 광분해에 의한 TNT 손실을 측정하였다. 배지 시료는 12 시간마다 채취하였으며 HPLC로 분석하였다. 또한 TNT가 미치는 식물독성효과를 알아보기 위해 TNT에 노출하지 않은 식물과 TNT에 노출된 식물의 성장상태를 비교하였다. 168시간 후 어저귀를 수거하여 세척한 후 뿌리, 줄기, 잎으로 나누어 액체질소로 냉동 후 갈아서 초저온 냉동고에 보관하였다. 식물의 뿌리, 줄기, 잎 1g 을 ultrasonicator에서 Acetonitril을 이용해 16시간 동안 TNT를 추출하였고 clean up 칼럼을 통과시켜 식물색소와 이물질을 제거한 후 HPLC를 이용해 대사산물을 분석하였다. 모든 실험은 3반복으로 실시하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 3.1 독성 실험(Phytotoxic Test)

어저귀는 80mg/L TNT 농도에서도 대조군과 같은 발아율을 보였으며(Fig. 1) TNT 농도가 증가함에 따라 뿌리의 길이가 급격히 감소하고 뿌리털이 발달하지 않았다. 또한 뿌리의 색깔이 대조군에 비해 갈색으로 변하였고 나선형으로 휘어지며 자랐으며 80mg/L에서는 뿌리의 괴사현상(necrosis)이 관찰되었다. 60mg/L TNT 농도에서 어저귀는 대조군과 비교해 뿌리 생장의 65%가 감소하였으며 지상부의 경우 34%, 생체량은 29%의 독성효과를 받았다. 따라서 TNT는 어저

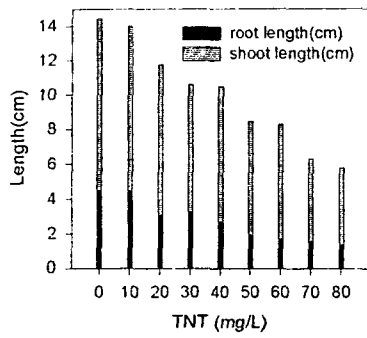


Fig. 1. Root and shoot length of *Abutilon avicennae* as affected by TNT for germination periods (14 days)

귀의 발아와 생장에 있어서 뿌리에 가장 큰 독성효과를 나타내고 지상부 > 생체량 > 발아율 순으로 저해를 주었다.

성체가 된 어저귀가 (발아 후 45일 경과) TNT에 의해 받는 식물독성효과를 알아보기 위해 TNT로 오염된 배지에서 7일 동안 수경 재배동안 TNT의 식물독성효과에 대한 지표로 황화현상(chlorosis), 잎 결실, 성장감소를 관찰하였다.

노출 후 48시간에는 TNT 63.2mg/L에 노출된 어저귀에서 잎의 결실이 일어났으며 72시간이 지나면서 대조군을 제외한 모든 노출 구에서 아래쪽 잎이 점점 황색에서 암갈색으로 변하며 낙엽이 생성되었다. 대조군은 식물독성효과를 보이지 않고 계속해서 생장을 보여주었으므로 21.1mg/L 이상의 TNT는 어저귀에게 독성물질로 작용함을 알 수 있었다.

### 3.2 배지에서의 TNT 거동

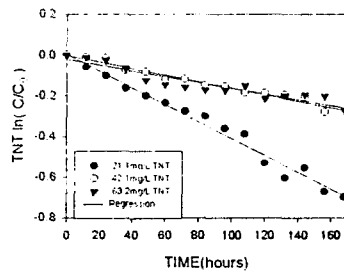


Fig. 2 Regression of TNT concentration data over the incubation periods in the triplicate plant sample media.

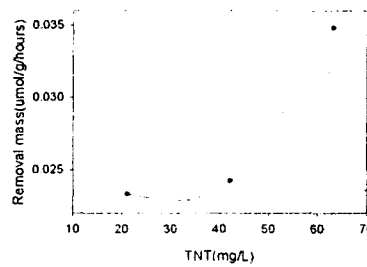


Fig. 3 Mass of TNT removal at three initial concentration in plant sample media

TNT에 오염된 배지에서는 시간이 지남에 따라 연속적으로 TNT 양이 감소하였다. 어저귀에 의한 TNT 일차 제거 속도상수는 TNT 농도가 21mg/L 일 때 0.0041, 42.1 mg/L 에서는 0.0016, 63.2mg/L 에 노출되었을 경우는 0.0014로 노출 농도가 높을수록 낮은 TNT 제거속도상수를 나타내었다. 이는 TNT의 농도가 높아질수록 어저귀의 수분 uptake 능력을 저하시켜 오염물 제거 속도가 감소한 것으로 보인다.(5) 비록 TNT 농도가 높을수록 TNT 제거속도상수는 작아지지만 농도가 높을수록 더 많은 양의 TNT가 제거되었다.(Fig. 3) 식물배지에서는 TNT 외 다른 물질은 검출되지 않았으며 실험기간 동안 TNT의 광분해 및 반응조에 의한 흡착은 일어나지 않았다.

### 3.3 식물 내에서 TNT 거동

유기용매를 이용한 식물 뿌리 추출액에서 다량의 TNT가 발견되어 배지에서 어저귀에 의해 흡수되었음을 알 수 있었다. 또한 수경재배 배지에서는 나타나지 않았던 TNT 일차환원물질(4ADNT, 2ADNT)이 발견되어 어저귀는 식물 내부에서 TNT를 환원시키는 무독화 기작을 가졌음을 증명할 수 있었다.(Fig. 4)

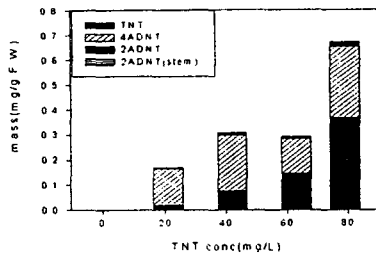


Fig. 4. Mass of TNT and metabolites in roots of *Abutilon avicennae*

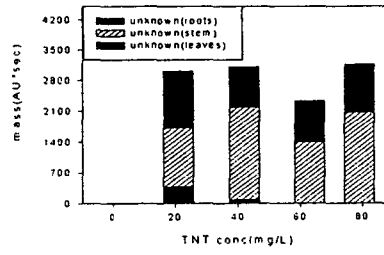


Fig. 5. Mass of unknown product in roots, stems and leaves

줄기 추출액에서는 79.2mg/L TNT에 노출되었던 어저귀에서 소량의 2ADNT가 검출되었고 다른 노출 식물의 지상부에서는 TNT 및 TNT 환원물질이 발견되지 않았다. 하지만 극성의 미지 물질이 뿌리에 비해 줄기와 잎에서 2-10배 과량으로 발견되어 뿌리로부터 흡수된 TNT가 일차적으로 뿌리에서 환원된 후 지상부로 올라오면서 새로운 물질을 형성하였음을 알 수 있었다. (Fig. 5)

#### 참고문헌

1. Collie.S.L. *et al.* (1995) Degradation of 2,4,6-trinitrotoluene(TNT) in an aerobic reactor. *Chemosphere* 31(4), 3025-3032.
2. Nair D.R., Burken L.A., Licht L.A. and Schnoor J.L.(1992) Mineralization and uptake of triazine pesticide in soil-plant system. *J. Environ. Eng.* 119, 842-854
3. Wilson P. C., Whitwell T. and Klaine S. J.(2000) Metalaxyl and Simazine Toxicity to and Uptake by *Typha latifolia*. *Arch Environ. Contam. Toxicol.* 39, 282-288
4. Jordahl J.L., Foster L., Schnoor J.L. and Alvarez P.J.J.(1997) Effect of hybrid poplar tree on microbial populations important to hazardous waste bioremediation. *Environmental Toxicology and Chemistry*.16(6), 1318-13214.
5. Medina V. F., Larson S. L. Bergstedt A.E. and McCutcheon S. C.(2000) Phyto-removal of trinitrotoluene from water with batch kinetics studies. *Wat. Res.* 34, 2713-2722