

Toxicity, Uptake, and Transformations of Atrazine by Hybrid Poplar Tree

장순윤, 이재선, 송정훈, 이시진
경기대학교 환경공학과
swchang@kyonggi.ac.kr

요약문

국내에서 자생하는 포플러종 현사시, 양황철, 이태리포플러를 대상으로 제초제인 atrazine의 제거특성을 조사하였다. Atrazine이 포플러에 미치는 독성을 평가하고, 식물체에 의한 atrazine 제거효율 및 제거속도를 조사하였다. 또한 식물체의 체내로의 흡수에 의해 atrazine이 제거되므로 식물체로 흡수된 후의 생물학적 변환 과정에 대해서도 조사하였다.

현사시, 양황철, 이태리포플러 모두 실험이 진행된 전범위의 농도에서 황백화현상, 낙엽증가, 생체량 감소와 같은 식물독성을 나타냈으며, 현사시인 경우 양황철 및 이태리 포플러에 비해 상대적으로 민감한 반응을 나타내었다. Atrazine 독성여부 평가의 하나로 초기 atrazine 농도가 증가할수록 현사시, 양황철, 이태리포플러의 증산량은 상대적으로 감소함을 관찰하였다.

포플러에 의한 atrazine 생물학적 변환실험에서는 atrazine이 중간생성물질인 HA, DEA, DIA를 거쳐 ammeline을 포함한 HDAP로 전환되는 것을 확인하였다. 이 결과의 중요성은 atrazine 부산물은 상대적으로 독성이 적고, 미생물에 의해 어렵지 않게 완전 무기화할 수 있기 때문이다. 즉, 식물체내에서도 HDAP 이후 과정을 통한 분해가 이루어질 수 있는 가능성이 있다고 추측할 수 있다.

Key Word : poplar tree, atrazine, phytotoxicity, uptake, transpiration, transformation

1. 서론

식물을 이용한 정화기술은 유·무기화합물로 오염된 지역을 정화하기 위해 식물을 이용하는 방법으로 bioremediation보다 고농도의 오염물에 대해 내성을 가지면 경제적이고 친환경적인 공법이다. 특히 유기 독성물질로 오염된 수계 및 토양을 정화하기 위해 식물정화공정을 적용할 경우 오염물이 짧은 고리를 가지고 $\log K_{ow}$ (log octanol:water partition coefficients)가 0.5에서 3사이인 경우 식물 뿌리에 효과적으로 흡수된다. 또한 오염물이 지표로부터 5m 이내에 얇게 퍼져 있으며 유기물이 풍부한 지역인 경우 제거 효율이 더욱 더 향상된다. 여러 식물들이 실험적 연구를 통해 조사되고 있지만, 그 중에서도 포플러나무는 많은 장점을 지니고 있다. 포플러는 오염물질의 독성에 저항력이 강하며 상대적으로 다른 식물에 비하여 높은 농도의 오염물질의 존재시에도 생존하는 특성이 있다. 특히 전 세계적으로 25여종이 분포되어 있고 어떠한 조건에서라도 쉽게 적응되는 장점이 있고 성장도 매우 빨라 1년에 3~5m까지 성장하기도 한다. 그리고 뿌리는 지표면에서 약 3~4m까지 뻗어나간

다. 그리고 약 5년된 포플러 나무는 증산량이 100 L/day 정도로 상당히 많은 양의 물을 흡수함으로써 오염토양 및 지하수를 정화하는데 효율적으로 이용가능하며, 본 연구에서는 기초적인 연구단계로 국내에서 자생하는 3종류의 포플러 수종을 대상으로 제초제로 사용되는 atrazine을 대상으로 처리가능성을 조사하였다.

2. 본론

본 연구를 위하여 2001년 3월 초순 경기도 수원 소재 임업연구원 임목육종부 채수포에서 현사시(*Populus alba* × *glandulosa*), 양황철(*P. nigra* × *maximowiczii*), 이태리포플러(*P. euramericana*)의 1년생 삽수를 사용하였다. 포플러 삽목은 길이 15cm 정도로 일정하게 자른 후 모래로 채운 화분(30cm×10cm)에 식재한 후 하루에 한번 영양배지를 관수하는 방식으로 재배하는 방식으로 2개월간 온실에서 재배하였다. Atrazine 제거실험을 위해서 성장된 포플러 수종을 증류수로 2-3번 뿌리를 세척한 후 flask로 재이식하여 실험에 이용되었다.

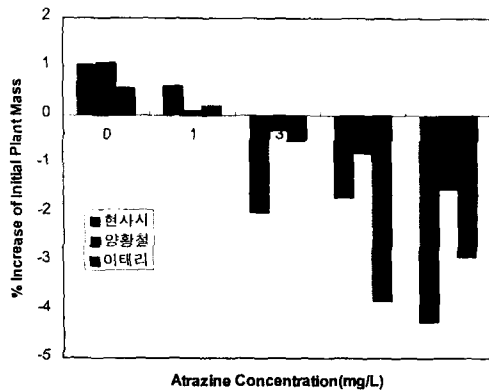
500 mL 플라스크에 2개월간 재배된 포플러수종을 이식한 후 농도별(0, 0.5, 1, 3, 5, 10 mg/L) atrazine이 함유된 영양배지(half-strength solution) 400 mL를 채운 후 atrazine 독성 실험, 제거특성 실험 등을 진행하였다. 모든 실험은 3개체본 반복실험을 진행하였으며 온실에서 진행되었다.

모든 실험은 3개체본 반복실험을 진행하였으며 온실에서 진행되었다. 각 실험마다 atrazine 용액만을 첨가한 무식물군(plant-free control)을 blank로 하여 실험장치에 의한 흡착 등의 손실을 보정하였으며 알루미늄 호일을 감싸 광분해에 의한 손실을 방지하였다. 실험종료 후 식물체를 수거하여 세척하고 뿌리, 줄기, 잎으로 나누어 액체질소로 동결시킨 후 균일화하였다. 120 mL vial에 분쇄된 뿌리, 줄기, 잎 2g에 10-20 mL acetonitrile을 넣은 후 teflon-lined caps으로 밀봉하였다. 바이얼은 50° C, 100rpm의 조건으로 water bath에서 48시간 추출하는 과정을 거쳤으며 vial의 시료는 원심분리한 후 상등액을 GF-C 필터로 여과하였다. 여과된 상등액은 다시 질소가스에 의해 농축시키는 단계를 거쳤다.

식물체에 흡수, 축적된 atrazine 및 분해산물은 추출과정을 거쳐 준비된 시료 100ul를 UV가 연결된 HPLC로 분석하였다. C-8 reverse phase column (Econosphere CS3U, 100mm×4.6mm, Altech)을 사용하였고, 용매는 증류수(용매 A), methanol:H₂O 90%:10%와 50 mM ammonium acetate(용매 B)로 구성되었다. 분해산물을 효과적으로 분리하고 정성, 정량분석하기 위해 운영된 HPLC 프로그램은 2% 용매 B로 시작해 8%까지 4분, 10분에 45%, 23분에 85%, 그리고 27분까지 85%를 유지했다. 또한 GC/MS 분석을 통해 분해산물을 재확인하였다.

3. 결과 및 고찰

현사시(*P. alba* × *glandulosa*), 양황철(*P. maximowiczii*), 이태리 포플러(*P. euramericana*) 3종류를 대상으로 Atrazine 농도 0, 0.5, 1, 3, 5, 10 mg/L에 노출되었을 때 atrazine에 의한 독성영향을 평가하였다. Atrazine에 의한 독성 여부 평가는 2주간의 단기간 노출에 의한 식물체의 성장상태, 증산량 비교등을 통해 검증하였다.



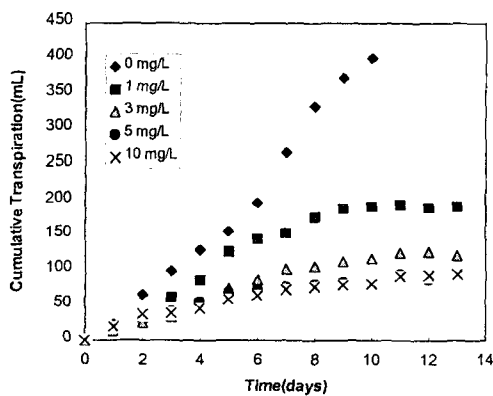
[Fig. 1] The change in overall plant mass



[Fig.2] The photograph of poplar root (*P. maximowiczii*) after exposure on atrazine

현사시의 경우는 노출 36시간이 지나면서 대조군(free-atrazine sample)을 제외한 모든 반응조에서 농도에 따라 다소 차이는 있으나 아래쪽 잎이 처지면서 시들기 시작했다. Atrazine의 농도가 10 mg/L 반응조 현사시는 잎이 황색에서 짙은 암갈색 형태로 변해 나무가 생존해 있지 않은 것으로 보였다. [Fig. 2]에서 보듯이 현사시 뿌리상태를 보면 단적으로 증명된다. 대조군에서의 뿌리는 건강한 상태로 실험기간중에도 지속적으로 성장했던 것을 볼 수 있는 반면, 10mg/L atrazine에 노출된 현사시 뿌리는 썩어들어가고 있음을 볼 수 있다. 양황철과 이태리포플러의 경우도 황백화 현상, 낙엽생성, 뿌리 썩음 등의 현상이 공통적으로 관찰되었다.

이러한 성장저해를 나타내기 위한 지표로 atrazine에 노출하기 전·후의 포플러수종의 건중량을 비교하였다([Fig.1]). 포플러 3종류 모두 정도의 차이는 있는 대조군에서는 식물체의 무게가 증가하였으나, atrazine이 함유된 경우는 전반적으로 식물체 중량이 감소함을 볼 수 있다. 또한 Atrazine의 농도가 높을수록 식물체 건중량 감소가 큰데 이는 식물체 잎의 낙엽생성, 황백화현상 등으로 인한 손실, 뿌리의 썩음 등으로 인한 손실이 요인으로 판단된다. 즉, atrazine의 독성이 포플러 성장에 상당한 저해를 미치고 있다고 판단할 수 있다.



[Fig. 3] Cumulative transpiration of poplar tree

나 전반적으로 atrazine 농도의 증가에 따라 증산율은 확연하게 감소하였다.

[Fig. 3]은 atrazine 0, 1, 3, 5, 10 mg/L에 2주간 노출시켰을 때 포플러중 양황철의 증산량 평균값을 보여주고 있다. 대조군 반응조에서는 평균 30.7 mL/day로 실험이 진행된 2주간 지속적으로 식물체에 의한 흡수가 이루어짐을 보여주고 있다. 반면에 초기 atrazine 농도가 증가할수록 양황철의 증산량이 감소함을 볼 수 있다. 이는 atrazine의 독성을 간접적으로 보여주는 결과이다. 양황철과 이태리포플러의 경우도 현사시의 결과와 유사하게 증산량에는 약간의 차이가 있으나

액상상태에서의 atrazine 제거실험결과 증산량과 비례하여 선형적인 관계로 atrazine이 제거되었으며, 예를들어 atrazine 농도가 0.5 mg/L인 경우 72hr 이내 현사시와 이태리포플러의

제거속도는 각각 0.0109/hr, 0.0108/hr로 매우 유사한 결과를 보이고 있고, 양황철은 0.0174/hr로 다소 빠른 제거속도를 보이고 있다. 본 연구에서의 실험은 2개월이라는 단기간 동안 성장된 포플러수종을 대상으로 한 실험결과이므로 장기간 성장된 포플러수종을 대상으로 한다면 다소 다른 결과를 예상할 수도 있다.

Atrazine이 포플러나무에 의해 흡수·제거됨이 관찰하였고, atrazine의 식물체에 흡수된 후 분해경로를 파악하고자 뿌리, 줄기, 잎 시료를 추출하여 HPLC 및 GC/MS로 분석한 결과, 모든 식물체 시료에서 HA 및 DEA는 atrazine 부산물로 가장 많이 검출되었으며, 배지 내에서는 atrazine이 $96.0 \pm 4.7\%$ 를 차지하였고, HA 및 DEA가 각각 $2.1 \pm 0.4\%$, $1.9 \pm 0.6\%$ 로 검출되었다. 배지에서의 HA 및 DEA의 검출은 가수분해 및 미생물에 의한 atrazine이 일부 분해된 것으로 추측된다.

뿌리에서 추출된 시료 분석결과를 보면, atrazine $64.1 \pm 3.4\%$, HA $21.3 \pm 2.7\%$, DEA $11.4 \pm 2.8\%$, 그리고 HDAP $4.0 \pm 0.6\%$ 로 관찰되었다. 이때 HDAP는 atrazine 분해시 N-dealkylated 화합물인 ammeline 및 기타 ammeline과 유사한 시간대에 검출된 미지의 화합물의 합계를 나타낸 것이다. 본 실험에서 관찰된 ammeline은 ammelineide(2,4-hydroxy-6-amino-s-triazine), cyanuric acid, 또는 기타 분해산물의 형태로 전환된다. Ammeline과 유사한 시간대에 검출된 미지 화합물은 HPLC 분석에서는 효과적으로 분리되지 않아 HDAP로 표기하였다. 배지에서의 추출액과의 결과를 비교하면 atrazine의 비율이 다소 감소하였고, HA 및 DEA의 농도가 각각 18.9%, 9.1% 증가하였다. 또한 배지내에서는 검출되지 않았던 HDAP가 관찰되었다.

줄기에서 추출된 분석결과는, atrazine의 비율이 $56.6 \pm 3.4\%$ 로 뿌리조직보다 다소 감소하고 있고, 상대적으로 HA, DEA, DIA, HDAP가 각각 $18.2 \pm 2.4\%$, $19.4 \pm 3.1\%$, $4.2 \pm 0.3\%$, $3.7 \pm 0.4\%$ 로 증가함을 볼 수 있다. 특히 뿌리조직에서 검출되지 않았던 DIA가 관찰되었다.

잎 추출액에서는 atrazine의 함유비가 $46.4 \pm 3.7\%$ 로 감소하였고, HA, DEA, DIA, HDAP가 각각 $14 \pm 1.9\%$, $16 \pm 2.5\%$, $10 \pm 1.2\%$, $14 \pm 1.1\%$ 로 증가함을 볼 수 있다. 특히, ammeline을 포함한 HDAP가 $14 \pm 1.1\%$ 로 증가한 결과는 atrazine의 포플러나무에 흡수된 이후 뿌리, 줄기를 통해 잎까지 이송되는 과정에서 식물체내에서의 생물학적 변형이 이루어짐을 증명하는 결과이다. 특히 초기 오염원인 atrazine의 감소와 더불어 부산물의 축적은 atrazine이 분해가 이루어짐을 뒷받침하고 있다.

4. 참고문헌

- 1) Burkin, J. G., Schnoor, J. L. (1998), "Predictive relationships for uptake of organic contaminants by hybrid poplar trees", *Environ. Sci. Technol.*, Vol.32, No.21, pp.3379~3385
- 2) Nair D. R., Burken J. G., Associate Members, ASCE, Licht L. A., and Schnoor J. L., Member, ASCE (1993), "Mineralization and Uptake of Triazine Pesticide in Soil-Plant Systems", *J. Environ. Eng.*, Vol.119, No.5, pp.842~854