

생물검정법을 이용한 하수슬러지 장기연용 토양의 독성평가

남재직* · 이승환 · 권순익 · 홍석영 · 임동규 · 고문환 · 송범현¹⁾

농업과학기술원, ¹⁾충북대학교 농학과
(2004년 11월 2일 접수, 2004년 12월 16일 수리)

Toxicity Assessment of the Soil by Bioassay Following a Long-Term Application of Sewage Sludge

Jae-Jak Nam*, Seung-Hwan Lee, Soon-Ik Kwon, Suk-Young Hong, Dong-Kyu Lim, Mun-Hwan Koh and Beom-Hun Song¹⁾ (National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea, ¹⁾Department of Agronomy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea)

ABSTRACT : Bioassay was employed to assess toxicity of soil which had been treated with sewage sludges for seven years. The Microtox[®] and root elongation test of lettuce (*Lactuca Sativa*) elucidated that the intensity of soil toxicity was closely related with the types and amount of sewage sludges applied. Both bioassay methods proved to be useful in an assessment of soil toxicity and were consistent to some extent with the conventional chemical analysis methods. EC₅₀ values resulted from Microtox[®] were highly correlated with concentration of heavy metals in soils amended with sewage sludges : Cu ($r^2 = 0.86^{**}$), Cr ($r^2 = 0.84^{**}$), Ni ($r^2 = 0.83^{**}$), and Zn ($r^2 = 0.69^{**}$). This demonstrated that both bioassay techniques could be employed as tools for soil toxicity assessment when the soil was exposed to solid wastes such as sewage sludge.

Key words: bioassay, sewage sludge, Microtox[®], root elongation, toxicity assessment.

서 론

농업적인 측면에서 부산물자원을 재순환하는 것은 일반적인 농경방법 중의 하나로 사용되어 왔다. 최근에는 유기농업의 가장 중요한 방법으로 유기자원의 재순환을 통한 토양의 물리성 및 화학성 향상도 그 중 하나이다. 예전에는 유기자원 또는 농업 부산물이라 하면 농업활동으로 발생한 볏짚류, 작물가공 부산물인 박(粕)류, 그리고 가축분뇨 등이 주로 해당되었지만, 근래에는 산업 활동으로 발생한 폐기물이 활용되고 있는 실정이므로 농업분야에서의 대책이 요구되고 있다.

현재까지 슬러지 사용에 대한 많은 연구는 주로 중금속에 대한 영향과 유기화합물에 대한 영향 등 화학적인 관점에서 연구가 주를 이루어 왔고, 근래에는 생물학적인 평가에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다¹⁻³⁾. 국내의 폐기물인 도시생활하수오니의 발생량은 연간 200만톤 정도이고, 이외에도 식품가공업체, 제약업체, 제지업체 등에서 발생하는 폐수처리오니에 대한 농경지 활용요구가 계속적으로 발생하고 있다.

그러나 이러한 유기물원은 농업적 사용을 위해 만들어진 것이 아니고 아직 사용에 대한 오랜 경험이 축적된 것도 아니기 때문에 이러한 자원의 농업적 활용을 위해서는 먼저 토양에 미치는 영향 및 작물 안전성에 대한 평가가 선행되어야 한다.

토양에 대한 영향평가는 화학적인 분석방법과 생태독성학적인 분석방법으로 나누어지고, 작물에 대한 평가는 작물의 화학적 분석과 생화학적, 생리학적인 분석방법에 따라 수행될 수 있다. Bioassay(생물검정법)에 의한 토양의 독성평가 방법도 널리 사용되고 있는데 이는 화학분석법의 한계를 보완하는 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 생물자체를 사용하여 환경영향에 대한 종합적인 영향평가가 가능하기 때문이다. 또한 bioassay 방법은 환경독성물질이 생태계에 미치는 총체적 영향을 평가하는데 유용한 수단을 제공하므로 미국 EPA에서도 독성시험이나 환경영향 평가에 중요한 도구로 사용되고 있다. 이러한 bioassay 방법의 사전 스크리닝 기능을 이용한다면 불필요한 화학분석에 대한 요구를 감소시키는데도 도움을 줄 수가 있을 것으로 기대된다⁴⁾. 화학적 평가방법은 중금속 등의 유해성분의 누적잔류도, 토양 내 양분의 불균형적 누적 등을 평가할 수 있으나, 유해물질의 식물체 흡수, 환경호르몬, 유해

*연락처:

Tel: +82-31-290-0226 Fax: +82-31-290-0206
E-mail: j.nam@lancaster.ac.uk

유기화합물의 발생, 유해 미생물의 활동 등을 평가 할 수 없으므로 하수슬러지의 실제적 환경영향평가를 위해서는 생물학적 검정법(bioassay)이 수반되어야 한다.

본 연구에서는 하수오니의 토양처리에 따른 영향평가를 위하여 화학적 평가 방법과 생물학적 평가방법을 병행하여 토양에 대한 독성평가를 수행하였다.

재료 및 방법

하수슬러지

이 실험에 사용된 하수슬러지는 활성슬러지법을 사용하는 하수처리장에서 처리된 후 가압벨트 방식으로 탈수된 탈수케익을 사용하였다. 하수슬러지는 오염도가 비교적 낮은 것으로 예상되는 주거중심 도시의 생활하수처리장에서 발생하는 것(Sludge I)과 중금속 오염도가 심각히 우려되는 공단 내 하수슬러지 처리장에서 발생하는 하수슬러지(Sludge II)를 사용하였으며 사용된 공시 슬러지의 특성은 Table 1과 같다. Sludge I은 유기물 함량은 약 77%정도이고 중금속 함량은 상대적으로 낮은 반면에, Sludge II는 유기물 함량이 65% 정도로 10% 정도 낮고 중금속 함량은 매우 높아 토양에 사용하기에는 부적당하지만 독성평가의 재료로서 선택하였다. 특히 이 슬러지의 경우에는 니켈 136, 구리 902 mg/kg 등으로 비료공정규격의 퇴비원료기준인 각각 50과 500 mg/kg을 크게 넘었다. 그리고 비슷한 pH조건임에도 불구하고 토양 EC 또한 Sludge I에 비해 약 4배 정도 높았다.

토양처리 및 작물재배

두 종류의 하수슬러지가 토양에 미치는 영향을 평가하기 위해 농업과학기술원내의 1 m²의 야외 무저 콘크리트 포트에서 실시하였다. 하수슬러지는 사양토가 채워진 각 포트에 건물량 기준 3수준(12.5, 25, 50 ton/ha/year)으로 봄철 및 가을철로 나누어 1년에 2번, 파종하기 2주일 전에 처리하였다. 이 토양에는 봄에는 총각무 (진미알타리무, *Raphanus sativus var. jinmi-altari*)를 재배하였고 가을에는 김장무(백경무, *Raphanus sativus var. baekkyoung*)를 재배하였다. 토양에 대한 독성평가는 이런 처리를 7년간 계속적으로 적용한 포트의 토양에 대해 실시하였다.

유·무기 화학분석

토양의 화학분석은 농촌진흥청 농업과학기술원의 토양 및

식물체분석법에 따라 분석하였으며⁵⁾, 하수슬러지는 비료분석 공정시험법의 퇴비관련 분석시험기준에 따라 분석하였다⁶⁾. 토양의 중금속은 0.1 N-HCl로 추출하는 추출법을 사용하였고, 하수오니는 ternary solution을 사용하여 분해하는 산분해법을 사용하였다. 이 시료들은 유도결합플라스마 발광광도계(ICP-AES, Integra XMP, GBS, Australia)를 사용하여 분석하였다. 노말핵산 추출물질(n-hexane extractable material, HEM)은 미국 EPA 9071B⁷⁾에 준하여 풍건 시료 10~20 g을 n-hexane을 사용하여 자동 Soxhlet추출기에서 추출한 후 용매를 증발시키고 그 무게차이를 통해 정량하였다. 다핵방향족탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 시료(5~20 g)를 Dichloromethane을 추출용매로 Soxhlet 추출기를 사용하여 추출하고 실리카 겔 칼럼을 이용해 정제한 후 GC-MS (Thermo-Finnigan, USA)를 사용하여 분석하였다. PAHs에 대한 분석방법과 분석성분에 대한 조건은 Nam 등⁸⁾이 발표한 논문에서와 같은 조건에서 분석하였다.

Microtox[®] 독성시험

풍건토양 시료의 무게를 기준으로 약 4배 정도의 Microtox[®] 희석액(Diluent, 무독성의 2% NaCl용액)을 넣어 48시간 진탕한 뒤 약 10,000 rpm으로 20분간 4°C에서 원심분리 후 상정액을 이용하여 분석에 사용하였다. 이때 토양과 Microtox[®] 희석액의 혼합비율은 토양의 함유량에 따라 달라지며 간략한 공식을 표현하면 다음과 같다⁹⁾. 먼저 시료의 함유율(MF)을 계산하고(식 (2)), 첨가할 증류수량을 건조무게에 대비하여 산정한 후(식 (2)), 최종적으로 건조무게 대응 시료무게에다가 구해진 양 만큼의 증류수를 첨가하여 추출한다(식 (3)).

$$Moisture\ Fraction\ (MF) = \frac{initial\ wet\ weight\ (g) - final\ dry\ weight\ (g)}{subsample\ weight\ (g)} \quad (1)$$

$$Water\ added\ (ml) = 4x\ (ml) - (MF \times x\ (g)\ dry\ sample) \quad (2)$$

$$Sample\ weight\ (g) = x\ (g)\ dry\ sample + (MF \times x\ (g)\ dry\ sample) \quad (3)$$

Microtox[®] 독성시험은 Microtox[®] M500(Azur Environmental, USA)을 사용하여 Basic test for aqueous extract법으로 실시하였다(Microtox Manual). 토양 추출액을 2, 4, 8, 32배수 희석한 후 잘 혼합하여 제공된 Cuvette에 0.5 mL씩 넣고 4°C에서 보관하고 있는 미생물 배양액을 10 μL 넣은 후, 초기 발광량(I₀)을 측정하였다. 이 후 15분에 저해된 발광량(I_t)을 추출액 농도별로 측정하여 발광량이 50% 이하로 감소되는 때의 농도를 EC₅₀(Effective Concentration)으로 하였다. 미생물의 활성도에 대한 검증은 phenol과 zinc sulfate를 사용하여 표준 분석 매뉴얼 및 문헌상의 EC₅₀ 값과 비교하여 일정범위에 들 때 시료의 그 값을 인정하였다.

상추씨 유근신장법(root elongation test)

시료는 Microtox[®] 독성시험법에서 사용한 것과 같은 토양

Table 1. Physico-chemical properties of the experimental sewage sludges

Type	O.M. (g/kg)	pH (1:5)	EC (dS/m)	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
----- (mg/kg) -----									
Sludge I	767.1	7.43	0.55	0.29	6.08	39.8	7.76	2.40	135
Sludge II	652.0	7.23	1.89	1.16	214	902	136	21.6	654

추출액을 사용하였다. 직경 9 cm의 Petri dish 속에 여과지(Whatman No. 2) 2매를 놓고 그 위에 20립의 상추종자(*Lactuca Sativa*)를 고르게 놓은 후 대조구는 증류수 5 mL을 넣고 시험구는 토양 추출액 5 mL을 넣은 후 25°C 암 조건에서 5일간 성장시킨 후 발아율 및 뿌리길이를 구하였다. 대조구의 발아율이 80%를 넘어서는 경우에 한하여 시험구의 발아율 및 뿌리길이를 구하고 대조구와의 상대적 비교를 위해 대조구에 대한 상대뿌리길이(relative root elongation)를 구하였다⁹⁾.

결과 및 고찰

Table 2는 하수슬러지를 7년간 사용한 토양(토심 10 cm이내)의 화학적 특성을 보여주고 있다. 화학비료(N-P₂O₅-K₂O = 280-59-154 kg/ha)를 사용한 토양의 화학적 특성은 우리나라의 밭토양의 일반적 범위에 포함되었고, 이 경향은 Sludge I을 사용하였을 때 구리의 농도가 크게 증가하는 것 외에는 동일하였다. 그러나 구리의 농도 역시 전국적 밭토양 조사의 범위인 0.07~78.2 mg/kg(평균 2.77 mg/kg)과 유사한 수준이었다¹⁰⁾. 그러나 Sludge II를 장기간 처리한 토양에서는 Sludge I 처리 토양에 비해 Cr, Ni Cu 등이 수십 배에서 수백 배 까지 증가하였으나 Pb는 약 2배정도 증가하였다. 이것은 비록 10배가량 많은 Pb이 토양에 투입되었지만 토양의 pH 차이가 적었고 또 Pb의 화학적 특성상 토양과 강하게 흡착하여 0.1 N-HCl 추출법에 의한 추출이 쉽게 이루어지지 않았기 때문으로 추측된다. 그리고 Cr, Ni 등은 하수슬러지에 다량 존재함에도 불구하고 토양에서는 Cu에 비해 높게 검출되지 않았는데 이는 역시 0.1 N-HCl 추출법이 토양의 독성평가에 있어서 중금속의 농도를 너무 과소평가 하는 경향이 있으며 이를 보완하기 위해 산분해법을 이용한 토양분석으로 추후 검정이 필요하리라 판단된다¹¹⁾.

Bioassay를 이용한 하수슬러지 장기 사용 토양에 대한 독성 평가를 위해 상업화된 제품으로 판매되는 형광성 미생물 *Vibrio fishery*를 이용한 Microtox[®] 분석법과 미국 EPA에서 환경독성

평가 및 화학물질 독성시험에 사용되는 생물검정법 중 상추종자를 사용한 뿌리 신장법을 사용하여 분석하였다. 토양에 대한 Microtox[®] EC₅₀ 값과 뿌리신장법의 상대뿌리길이 측정 결과는 Table 3에 나타내었다.

Sludge I을 처리한 토양에서 Microtox[®] EC₅₀값은 256~267 g/L, 뿌리신장법은 84~89%로써 처리량에 따른 차이는 거의 없어 두 생물검정법 모두에서 처리량에 따른 독성의 증가를 확인할 수가 없었지만, Sludge II를 사용한 토양에서는 Microtox EC₅₀값은 96~205 g/L, 뿌리신장법은 14~75%로써 처리량이 증가할수록 독성이 증가하는 것을 볼 수 있다. 이 실험에서는 상추씨 뿌리신장법이 Microtox[®]법에 비해 감도가 더 우수한 것으로 나타났지만 실험 전반에 걸쳐 재현성과 감도는 Microtox[®]가 더 우수하였다. 이것은 Microtox[®]법에서는 pH를 6에서 8사이로 되도록 조정하여 주는데 반해, 뿌리신장법에서는 이러한 과정이 없으므로 낮은 pH 등의 영향을 받기 때문으로 생각된다. 이는 결국 중금속과 환경유해물질에 대한 정확한 평가를 어렵게 하는 요인이 될 수 있다. 그리고 Microtox[®] 생물검정법이 토양에 대해 감도가 우수하지 못한 것은 그 방법 자체보다는 추출 방법 때문인 것으로 생각된다. 그럼에도 불구하고 물로 추출하여 측정하는 방법으로도 어느 정도 독성의 평가가 가능함을 보였다. 그렇지만 물로 추출하는 방법은 대부분의 중금속과 유해물질의 추출에는 한계가 있으므로 산 추출법과 같은 좀 더 효과적인 방법이 필요할 것으로 판단되었다¹²⁾.

Microtox[®]와 중금속간의 상관관계를 나타낸 그래프는 Fig. 1에 그리고 유근 신장법과 중금속과의 상관관계는 Fig. 2에 각각 나타내었다. Microtox[®] 독성값과 중금속 농도와의 결정계수(r²)는 Cr, Cu, Ni, Pb, Zn에 대해 각각 0.84, 0.86, 0.83, 0.73, 0.69 이었고, 상추종자 뿌리 신장법에서는 각각 0.69, 0.65, 0.62, 0.52, 0.38이었다. 전반적으로 중금속의 농도에 따른 독성의 측정은 Microtox[®]법에서 더 우수한 경향이었고, 농도가 전반적으로 높아 추출이 용이한 Cr, Cu, Ni 등에서 결정계수가 0.8 이상으로 높았으며, 식물독성이 약한 Zn과 추출이 용이하지 않은 Pb에서는 상관관계가 낮게 나타났다. 그러나

Table 2. Heavy metals, pH and electric conductivity in the soils treated with the sewage sludge during the last 7 years

Treatment	Level (ton/ha)	pH (1:5)	EC (dS/m)	Ni	Cr	Cu	Pb
				--- mg/kg ---			
Fertilizer ^{a)}	-	5.0	1.22	0.31	0.34	1.40	4.77
Sludge I	12.5	5.4	0.38	0.21	0.14	5.34	6.35
	25	4.8	0.68	0.27	0.24	7.99	7.52
	50	4.5	1.18	0.31	0.54	10.8	7.22
Sludge II	12.5	4.9	1.00	4.20	2.34	138	10.3
	25	4.9	1.21	4.63	4.94	200	11.1
	50	4.6	1.78	8.21	10.4	330	13.6

^{a)}Only treated with fertilizer with N-P₂O₅-K₂O = 280-59-154 kg/ha.

Table 3. Data collected from the bioassays applied for the soils treated with two sewage sludges

Treatment (ton/ha/yr)	Microtox ^{®a)}	Root elongation ^{b)}	
Sludge I	12.5	256±0	89±18
	25	257±10	88±3
	50	262±3	84±34
Sludge II	12.5	205±31	75±20
	25	125±22	25±1
	50	96±22	14±6

^{a)}The Microtox toxicity was expressed as EC₅₀ which is equal to the calculated amount of soil extract by diluent(g), ^{b)}The toxicity by the root elongation test was depicted as relative root length of treated samples to the control.

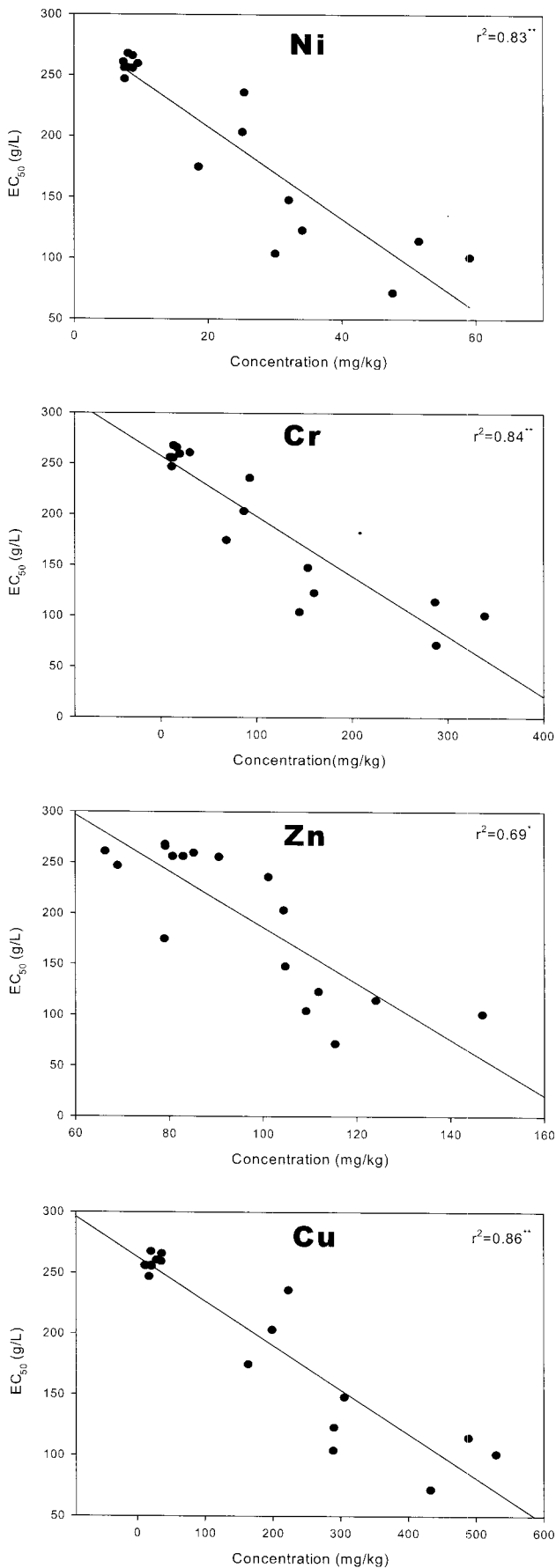


Fig. 1. Correlation between EC₅₀ and heavy metal concentration in soils treated with sewage sludges.

중금속 성분간에 높은 상관관계가 있기 때문에 Lee 와 Hwang⁴⁾의 연구에서 Microtox[®]법이 중금속에 대해 높은 상관 관계가 있음에도 불구하고 이 자체만으로는 개별성분의 상관을 측정할 수 있다기보다는 중금속에 의한 영향을 분석할 수 있다는 방향으로 해석해야 할 것이다. 이에 비해 뿌리 신장법에서는 전반적으로 중금속과 독성과의 상관관계가 상대적으로 낮는데 이는 앞에서 설명한 바와 같이 Microtox[®]법에서와는 달리 pH 보정 등이 이루어지지 않아 중금속 자체에 대한 영향보다는 다른 화학적 요인이 뿌리신장에 관여했기 때문이다(Fig. 2). 이런 이유 때문에 재현성도 Microtox[®]법에 비해 많이 떨어졌다.

유기화합물질에 대한 영향을 평가하기 위해 유기화합물을 선택적으로 추출할 수 있는 방법을 사용하였다. 토양시료 20 g 을 n-hexane으로 추출 후 DMSO (Dimethylsulfoxide)에 재용해 하여 Microtox[®]분석을 실시하였다. PAHs (Polycyclic aromatic hydrocarbons)와 HEM (Hexane extractable materials)의 양과 Microtox[®] EC₅₀값과의 관계는 Fig. 3에 나타내었다. HEM에 대해서는 결정계수 0.78로 높은 상관관계를 보였으나, PAHs에 대해서는 결정계수 0.58로 상대적으로 낮았다. 이는 하수오니가 PAHs라는 단일 유기화합물만 존재한다기보다는 그 외에 다른 많은 유기화합물과 함께 존재한다는 것을 의미한다^{13,14)}. 그러므로 생물검정법이 개별 화합물을 분석하는 화학분석법보다는 종합적인 영향을 평가하는데 매우 유용함을 보여주었다. 이는 Silva 등¹⁵⁾의 연구에서와 같이 개별 화합물에 대한 측정에서는 영향이 없게 나타났지만 독성평가에 있어서 무시할 수 없는 영향을 나타내는 복합적인 영향평가를 위해서도 생물학적 평가방법은 중요한 역할을 할 것으로 예상된다.

이 실험을 통하여 토양의 독성을 화학적 분석방법과 생물학적 분석방법의 조합을 통하여 효과적으로 평가할 수 있음을 확인하였다. 하지만 생물검정법은 화학분석법과는 달리 시료의 특성에 많은 영향을 받을 수 있으므로 결과의 해석에 있어서는 많은 주의가 필요하였으나 시료의 특성이 일정한

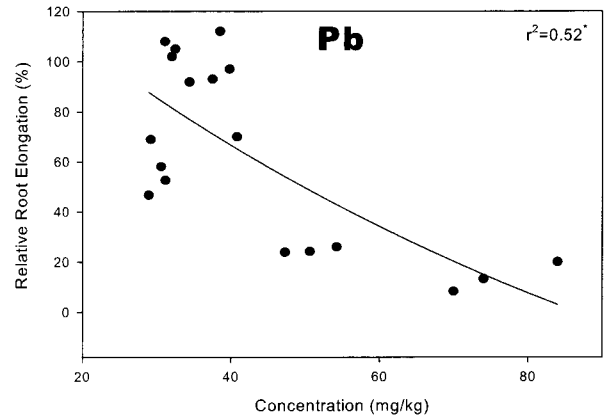
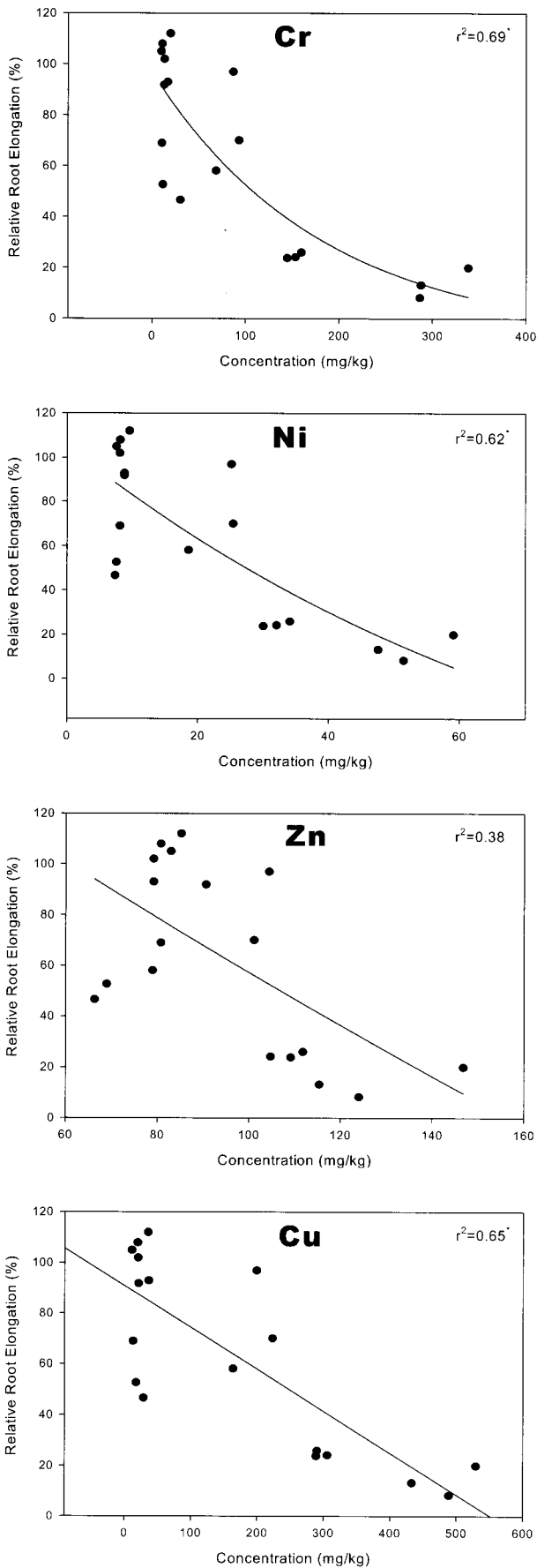


Fig. 2. Correlation of relative lettuce root elongation with heavy metal concentration in soil treated with sewage sludges.

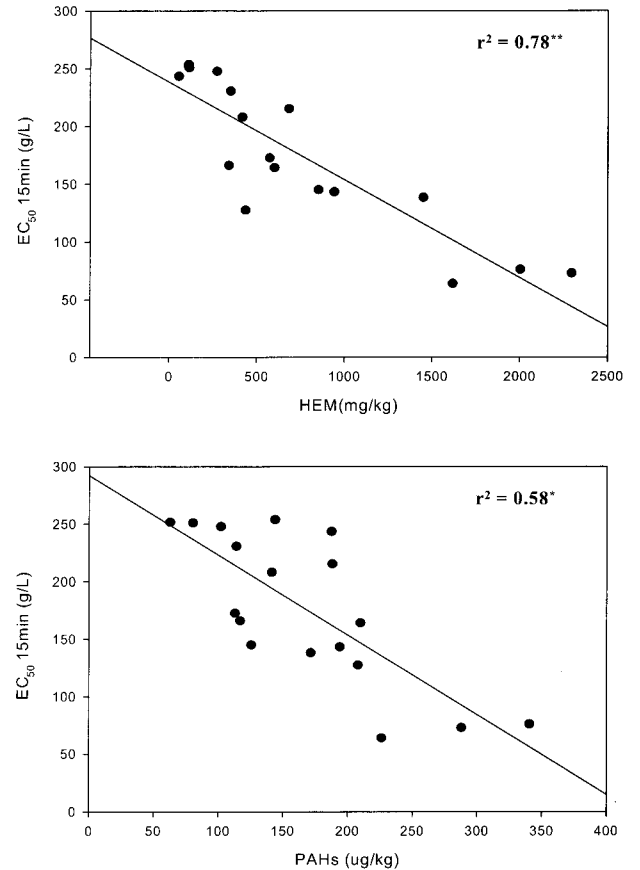


Fig. 3. Correlation between Microtox toxicity and concentrations of the PAHs and HEM in soils treated with sewage sludges.

경우에는 태조구 시료의 결과에 주의를 기울인다면 좋은 결과를 제공할 수 있을 것으로 판단되었으며, 생물검정법에 있어서 중금속과 유기화합물을 안정적으로 추출할 수 있는 추출법에 대한 연구가 지속적으로 수행된다면 자료의 신뢰성과

재현성을 높이는데 기여할 것이다.

요 약

생물검정법에 의한 토양 내 독성평가의 유용성을 확인하기 위해 두 종류의 하수슬러지를 7년간 연용한 토양을 Microtox[®] 생물검정법과 상추종자 뿌리 신장법을 사용하여 독성을 평가하였다. 이 방법들은 하수오니의 종류나 시용량에 따른 토양의 독성 정도를 잘 평가 할 수 있었다. 상추종자 뿌리 신장법은 특별한 장비나 복잡한 처리 없이도 유의성 있는 결과를 구할 수 있었고 Microtox[®] 검정법은 전반적으로 재현성과 감도에서 유의성이 있었으며 또한 유기화합물에 대한 종합적인 평가도 가능하였다.

하수오니와 같이 다양한 화합물이 혼재되어 있는 유기성 자원의 토양 사용시 기존의 제한된 화학성분의 토양 분석법만으로는 독성평가에 한계가 있고 또 개별적으로는 별 영향이 없더라도 여러 화합물이 복합적으로 존재할 때 나타나는 독성작용에 대한 평가는 더욱이 어렵다. 그러므로 이러한 영향을 종합적으로 평가할 수 있는 생물검정법이 토양의 독성 평가에서 화학분석법을 보완하는 평가방법으로서의 중요성은 충분하다고 할 수 있다. 그리고 생물독성법의 유용성을 높이기 위해서는 생물검정법의 시료 추출방법 개선과 실험의 재현성을 높이기 위한 노력이 필요하리라 생각된다. 따라서 이런 생물검정법의 많은 제약에도 불구하고 환경의 종합적인 평가에 있어서 생물검정법의 중요성은 대단히 크며 직접적으로 생물을 이용하는 방법뿐만 아니라 유전독성 평가 방법 등 다양한 방법들이 환경독성 평가에 응용될 수 있을 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Obbard, J. P. (2001) Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amended soils, *Applied Geochemistry* 16, 1405-1411.
2. Campbell, C. D., Warren, A., Cameron, C. M. and Hope, S. J. (1997) Direct toxicity assessment of two soils amended with sewage sludge contaminated with heavy metals using a Protozoa (*Colpoda steinii*) bioassay, *Chemosphere* 34(3), 501-514.
3. Farré, M. and Barceló, D. (2004) Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22(5), 299-310.
4. Lee, J. N. and Hwang, I. Y. (1999) Evaluation of environmental toxicities for priority water pollutants in a

- small watershed by bioassays, *Kor. J. Environ. Toxicology* 14(4), 135-144.
5. National Institute of Agricultural Science and Technology (2000) Soil and Plant Analysis, Rural Development Administration, Korea.
6. National Institute of Agricultural Science and Technology (2003) Standard Methods of Fertilizers, Rural Development Administration, Korea.
7. U. S. Environmental Protection Agency (1994) Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods(SW-846), Method 9071B, EPA, Washington D.C., USA.
8. Nam, J. J., Song, B. H., Eom, K. C., Lee, S. H. and Smith, A. (2003) Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in South Korea, *Chemosphere* 50(10), 1281-1289.
9. U. S. Environmental Protection Agency (1988) Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites, EPA/600/3-88/029, EPA, Washington D.C., USA.
10. Jung, G. B., Kim, H. J., Jung, K. Y., Jung, B. K. and Kim W. I. (1998) Heavy metal contents in upland soils and crops of Korea, *J. Korean Soc. Soil Sci. Fert.* 31(3), 225-232.
11. Houba, V. J. G., Lexmond, Th. M., Novozamsky, I. and van der Lee, J. J. (1996) State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment, *Science of the Total Environment* 178, 21-28.
12. Filipic, M. (1995) Mutagenicity and toxicity of water extracts from the Sora river area, *Mutation Research/Genetic Toxicology* 342, 1-8.
13. Schnaak, W., Kuchler, Th., Kujawa, M., Henschel, K. P., Süßenbach, D. and Donau, R. (1997) Organic contaminants in sewage sludge and their ecotoxicological significance in the agricultural utilization of sewage sludge, *Chemosphere* 35, 5-11.
14. Bodzek, D., Janoszka, B., Dobosz, C., Warzecha, L. and Bodzek, M. (1997) Determination of polycyclic aromatic compounds and heavy metals in sludges from biological sewage treatment plants, *Journal of Chromatography A*, 774, 177-192.
15. Silva, E., Rajapakse, N. and Kortenkam, A. (2002) Something from "nothing" - eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effect, *Environ. Sci. Technol.* 36, 1751-175.