

## 금속 입자 크기가 토양 미생물 군집과 메밀에 미치는 영향

김성현 · 김정은<sup>1)</sup> · 광영지<sup>1)</sup> · 김연지<sup>1)</sup> · 이인숙<sup>2)\*</sup>

연세대학교 토목환경공학과, <sup>1)</sup>이화여자대학교 분자생명과학부, <sup>2)</sup>이화여자대학교 에코과학부  
(2010년 11월 11일 접수; 2011년 2월 17일 수정; 2011년 3월 11일 채택)

## Effects of Size of Metal Particles on Soil Microbial Community and Buck Wheat

Sunghyun Kim, Jungeun Kim<sup>1)</sup>, Youngji Gwak<sup>1)</sup>, Yunji Kim<sup>1)</sup>, Insook Lee<sup>2)\*</sup>

School of Environmental Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

<sup>1)</sup>Department of Life Science, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

<sup>2)</sup>Division of Eco Science, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

(Manuscript received 11 November, 2010; revised 17 February, 2011; accepted 11 March, 2011)

### Abstract

This study was carried out to compare the toxicity of nano and micrometer particles with Cu and Zn on soil microbial community and metal uptake of buck wheat. In microcosm system, soil was incubated for 14 days after soil aliquots were artificially contaminated with 1,000 mg/kg Cu, Zn nano and micro particles, respectively. After then, buck wheat was planted in incubating soils and non incubating soils. After 14 days, we compared bioaccumulation of metal, and microbial carbon substrate utilization patterns between incubating soils and non-incubating soils. The enrichment factor (EF) values of incubating samples were greater than non-incubating soils. Dehydrogenase activity had been inhibited by Cu and Zn nanoparticles in non-incubating soil, as well as it had been inhibited by Zn micro particles in incubating soils. Results of biologic test, it was not significant different between nano particles and micro particles. It cannot be generalized that nanoparticles of metal are always more toxic to soil microbial activity and diversity than micrometer-sized particles and the toxicity needs to be assessed on a case-by-case basis.

**Key Words** : Nano particles, Soil microbial community, Buck wheat, Cu, Zn

### 1. 서 론

나노기술의 발달로 인해 나노 물질이 널리 사용되고 있으며 기하급수적으로 확대될 것으로 예상된다. 현재 미국 시장에서만 475 종류 이상의 나노물질이 이용되고 있다. Cu 나노입자는 자동차산업에서 냉각

성능을 개선하기 위한 라디에이터용 냉매첨가제로 사용되며 윤활유에 첨가되기도 한다. Zn 나노입자는 전자산업 분야에서 배리스터 (varistor) 등의 형광체 (phosphor), 광촉매 UV 반도체 레이저의 gain medium, 태양 전지, 도료, 플라스틱, 화장품 등의 자외선 차단 및 흡수제, 고무 산업에서의 가교 촉진제 역할을 하는 필터로도 사용되고 있다(Meulenkamp, 1998; Serpone 등, 2007).

$10^{-7} \sim 10^{-9}$  m의 크기인 나노입자는 빠른 확산 속도, 단위 부피 당 넓은 표면적, 액체 혹은 기체상에서

\*Corresponding author : Insook Lee, Division of Eco Science, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea  
Phone: +82-2-3277-2375  
Email: islee@ewha.ac.kr

의 탁월한 반응성, 생물 분자와의 비슷한 크기 등의 특징을 가지고 있다. 따라서 일반 금속보다 환경에 미치는 영향이 더 크지만 환경으로 방출된 나노 입자의 영향에 관해서는 거의 알려져 있지 않다(김과 송, 2008). 그러므로 나노 기술의 지속 가능한 발달을 위해 나노 입자의 잠재적인 위험을 평가하는 것은 매우 중요하다. 나노입자에 대한 독성 연구는 부족하며 특히 마이크로입자와 나노입자간의 크기에 따른 식물 성장에 미치는 연구도 절대적으로 부족하다.

최근 연구결과에 따르면, 입자 크기에 따른 식물독성 연구로는 Al 나노입자(13 nm)가 토양에 유출되었을 때 옥수수, 오이, 콩, 양배추, 당근의 뿌리 성장을 저해한다는 보고가 있다(Yang 등, 2006). 나노입자가 박테리아에 미치는 연구로는 iron, Cu 나노입자가 peroxide와 반응해 radical을 생성함으로써 미생물에 강한 독성을 나타낸다고 보고된 바 있다(Franklin 등, 2007). 또한 ZnO 나노입자가 *Escherichia coli*와 *Bacillus* 등 박테리아의 성장과 활성을 저해한다는 보고도 있다(Zhang 등, 2007).

그러나 이러한 연구 결과는 단순히 식물과 미생물의 독성평가일 뿐이고 토양 환경에서 식물과 미생물의 독성평가 연구는 거의 없다(Shah과 Belozerova, 2009; Tong 등, 2007).

나노 입자의 생태독성학적 영향 연구를 수행하기 위해서는 실험조건이 자연환경과 흡사해야 할 필요가 있다. 따라서 본 연구에서는 마이크로코즘을 이용해, Cu, Zn의 입자 크기에 따른 메밀의 enrichment factor (EF)와 미생물 활성도, 기질 이용도를 이용해서 토양 미생물 군집에 미치는 영향을 분석하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험재료

채취한 자연 토양은 2 mm 체로 친 후 영양토(Sunshine mix 5)와 10 : 1 (w/w)비율로 섞어 경작지 토양과 유사하게 만든 후 사용하였다(Wei 등, 2009). Cu 나노입자, Cu 마이크로입자, Zn 나노입자, Zn 마이크로입자 모두 sigma에서 구입하였으며 크기는 Table 1과 같다.

### 2.2. 토양 마이크로코즘 실험 준비 및 시료 채취

Cu 나노입자, Cu 마이크로입자와 Zn 나노입자 및 Zn 마이크로입자를 1,000 mg/kg 씩 토양에 첨가하여 고르게 섞었다. 500 mL stericup filter system jars(Millipore, USA)에 오염시킨 토양을 110 g을 넣은 후 25°C, 습도 50±5%가 유지되는 배양실에서 14 일 동안 배양하였다. Cu 나노입자와 Zn 나노입자는 3차 증류수에 녹여 초음파 분해기 (100 W, 40 kHz, SH-2140, 새한초음파산업, Korea)로 30분간 분산시켜 사용하였다. Stericup의 습도는 증류수를 첨가하여 일정하게 유지하였고 실험은 3반복으로 수행하였다. 14일간 배양시킨 토양(day 14)과 배양시키지 않은 토양(day 0)을 각각 pot 당 50 g씩을 넣어 25°C, 습도 50±5%가 유지되는 배양실에서 메밀종자를 14일간 재배 하였다. Pot 당 메밀은 3개씩 식재하였으며 3반복으로 실험을 수행하였다 (n=9). 선행 연구에 의해 US EPA 권장 식물 중 평균 발아율이 90% 이상인 메밀을 실험생물로 선정하였다.

### 2.3. 중금속 분석

메밀은 수거하여 증류수로 씻은 후 왕수법을 이용해 토양과 식물체의 총 중금속을 분석하였다. 깨끗이

**Table 1.** Characteristics of nano Cu, micro Cu, nano Zn and micro Zn particles use for the experiments

| Particles | Description                                | Size       | Purity (%) |
|-----------|--|------------|------------|
| Nano Cu   | Copper, nanopowder, <50 nm (TEM)           | <50 nm     | 99.8       |
| Micro Cu  | Copper, powder, dendritic, 3 micron        | 3 micron   | 99.7       |
| Nano Zn   | Zinc, nanopowder, <50nm, 99+% metals basis | <50 nm     | 99+        |
| Micro Zn  | Zinc, dust, <10 micron                     | <10 micron | ≥98        |

According to the manufacturer Sigma-Aldrich

씻은 메밀은 60°C 건조기에서 항량이 될 때까지 건조하였다. 건조된 메밀 유묘 0.5 g에 37% HNO<sub>3</sub> 5 mL을 가하여 microwave에서 분해시킨 후, 10 mL로 희석하여 Flame-AAS를 이용하여 구리와 아연의 농도를 측정하였다. 중금속 분석 방법의 신뢰도는 일본의 NIES(National Institute for Environmental Studies)에서 공인된 표준물질인 No.10-c(Rice Flour)의 분석을 통해 확인하였다. 토양의 총 중금속 농도분석을 위해 건조토양 0.5 g에 aqua regia (65% HCl 1.8 mL + 37% HNO<sub>3</sub> 0.6 mL) 2.4 mL을 가한 후 가열하여 시료를 산 분해하여, 증류수 10 mL로 희석하고 Whatman filter paper No.44로 여과하였다. 이 시료를 Flame-AAS(AAS analysis 100, Perkin elmer, Germany)를 이용하여 Cu와 Zn의 농도를 측정하였다. 식물체와 토양의 중금속 농도의 비를 enrichment factor(EF)로 나타내었다(Wei 등, 2009).

#### 2.4. Dehydrogenase activity (DHA) 분석

CaCO<sub>3</sub> 0.03 g을 넣은 멸균된 15 mL test tube에 fresh 토양 3 g, 0.1% iodonitrotetrazolium (INT)-chloride 용액 1 mL, 멸균수 1.5 mL을 첨가하고 37°C에서 24시간 배양 하였다. 배양이 끝난 시료에 에탄올 5 mL를 넣고 교반하여 발색을 관찰하고, 상등액을 50 mL 시험관에 여과시키는데 발색이 사라질 때까지 위 과정을 반복하였다. 발색된 시료는 spectrophotometer (DR/3000 Spectrophotometer, HACH, USA)를 이용하여 495 nm에서 측정하였다(Trever 등, 1982).

#### 2.5. 기질 이용도 분석

Ecoplate는 96개의 microwell로 구성 되어 있는데, 각각의 well에 31개의 서로 다른 탄소원과 control well이 3개씩 반복 되어있다. 각각의 토양 1 g을 증류수 10 mL에 섞어 200 rpm으로 10분간 교반한 후 Eco plate (Biolog, USA)의 각 well에 100 µl씩 토양 현탁액을 넣었다. 그리고 25°C에서 72시간 동안 배양한 후 Microplate reader (Multiskan Ascent, Thermo Labsystems, Finland)를 이용해 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 처리구별 well의 평균 색 발달 정도인 average well colour development (AWCD)값을 다

음과 같이 계산하였다.

$$AWCD = \sum(C-R)/n$$

$$C = \text{각 well의 OD}_{595nm} \text{ 값}$$

$$R = \text{Control well의 OD}_{595nm} \text{ 값}$$

$$n = \text{기질의 수}$$

#### 2.6. 통계분석

실험한 결과는 평균±표준오차로 나타내었다. 통계 처리는 student T-test와 one-way ANOVA를 이용하였으며 95% 유의수준 (p<0.05)에서 분석하였다. 모든 통계분석에 SPSS (Statistical Package for Social Science Statistical Software, 17.0) 프로그램을 사용하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 금속 입자의 특성

입자크기별 특성을 살펴보기 위해 Cu, Zn 마이크로입자와 Cu, Zn 나노입자를 SEM으로 촬영하였다 (Fig. 1). SEM 사진 결과 나노입자의 크기는 제조사에서 제공한 정보와 차이가 있는 것으로 나타났다. Cu 나노입자는 50 nm-100 nm 크기였고 Zn 나노입자는 약 100 nm로 제조사의 정보보다 크게 나타났다. Zn 마이크로입자와 Cu 마이크로입자는 각각 <10 µm, <3 µm의 크기로 나타나 제조사의 정보와 일치했다. 관찰 결과 Cu, Zn 나노입자의 모양은 돌기가 돋은 구형이었고 Cu 마이크로입자는 다각형, Zn 마이크로입자는 구형이었다. 또한 Cu 나노입자보다 Zn 나노입자에서 큰 응집이 관찰되었다. 이것은 작은 입자크기 외에도 표면의 돌기에 영향을 받았을 것으로 사료된다. 나노입자의 위해성을 평가할 때 입자 상호간의 엉김 및 응집은 입자의 용해도에 영향을 미치며 이는 독성과 관련된다(Richard 등, 2008). 나노입자는 다양한 환경 조건 하에서 응집 또는 침전되면 고유한 물리화학적 성질이 변화하게 되며, 변화된 물리화학적 특성은 생체 독성과 밀접한 관련을 갖고 있다(Nowack와 Bucheli, 2007). 따라서 다양한 인자에 의하여 변화된 나노입자의 응집 또는 침전의 물리화학적 특성 연구가 중요하다.

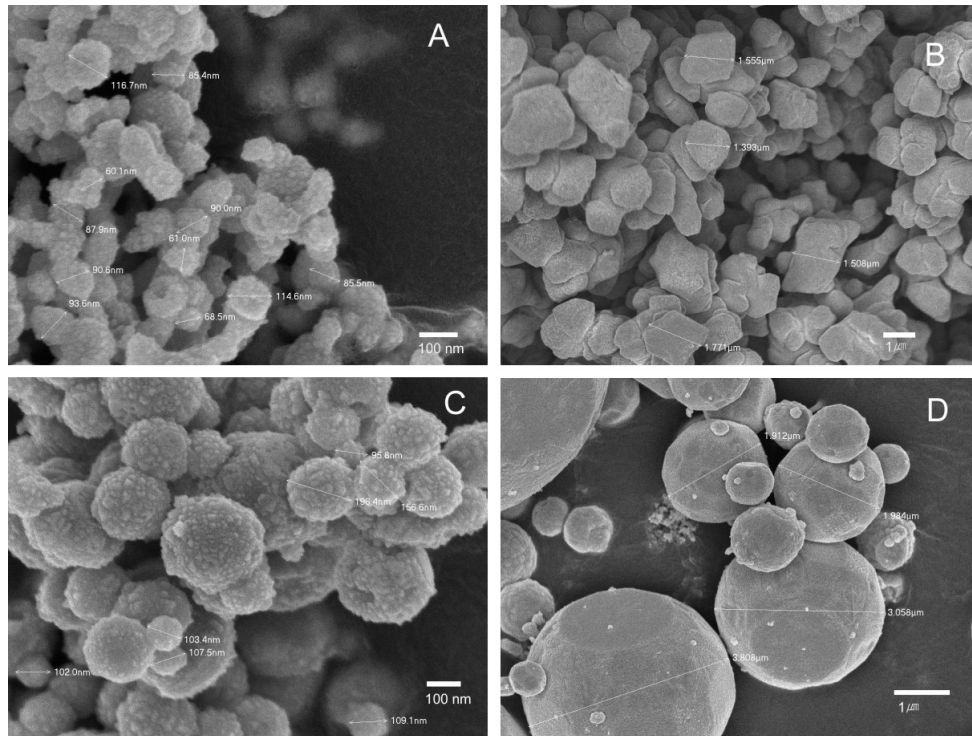


Fig. 1. Scanning electron microscopic image of metal particles (A: nano Cu, B: micro Cu, C: nano Zn, D: micro Zn).

### 3.2. 금속 입자의 생물 축적

토양과 메밀에서 총 중금속량은 Table 2에 나타내었다. Cu 입자 크기에 따른 메밀의 중금속 축적량은 day 0 에서는 차이가 나타나지 않았으며 14일간 배양한 토양에서만 유의적인 차이가 나타났다. 14일간 배양한 토양에서 메밀의 Cu 축적은 마이크로 입자로 오염된 토양에서 2배 이상 높게 나타났다. Day 14의 경우, 미리 오염시켜 14일간 배양하였기 때문에 그 기간 동안 생물이용가능 (bioavailable)한 금속 이온이 용출

되어 식물체 내에 쉽게 흡수, 축적된 것으로 보인다.

Zn 입자 크기에 따른 메밀의 중금속 축적량은 day 0, day 14 모두 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 본 연구에서는 Zn 나노 입자가 Cu 나노 입자에 비해 영김과 뭉침이 큰 것으로 나타나 (Fig. 1) Zn은 입자 크기에 따라 영향이 나타나지 않은 것으로 보인다.

그러나 Table 2를 이용하여 EF를 측정한 결과, 금속 간 차이를 보면 Cu보다 Zn에서 더 높게 축적하는 것으로 나타나 메밀은 Zn 축적에 더 효과적인 것으로

Table 2. Concentration of Cu and Zn in soil, buck wheat, and enrichment factor (P value compared 'day 0' to 'day 14')

| Treatment | Copper                   |                           |              | Zinc                     |                           |                |      |
|-----------|--------------------------|---------------------------|--------------|--------------------------|---------------------------|----------------|------|
|           | Soil ( $\mu\text{g/g}$ ) | Plant ( $\mu\text{g/g}$ ) | EF           | Soil ( $\mu\text{g/g}$ ) | Plant ( $\mu\text{g/g}$ ) | EF             |      |
| Day 0     | Nano                     | 678 $\pm$ 101             | 120 $\pm$ 29 | 0.18                     | 901 $\pm$ 48              | 1227 $\pm$ 107 | 1.36 |
|           | Micro                    | 694 $\pm$ 38              | 131 $\pm$ 36 | 0.19                     | 626 $\pm$ 22              | 1697 $\pm$ 242 | 2.71 |
| Day 14    | Nano                     | 642 $\pm$ 64              | 125 $\pm$ 39 | 0.19                     | 723 $\pm$ 23              | 1582 $\pm$ 527 | 2.19 |
|           | Micro                    | 712 $\pm$ 12              | 289 $\pm$ 16 | 0.41                     | 655 $\pm$ 14              | 1993 $\pm$ 168 | 3.04 |
| P value   | Nano                     | 0.780                     | 0.919        | -                        | 0.028                     | 0.545          | -    |
|           | Micro                    | 0.687                     | 0.017        | -                        | 0.322                     | 0.371          | -    |

EF; Enrichment factor (plant metal concentration/soil metal concentration).

나타났다. 나노입자의 식물 세포 기관 내 축적은 입자 크기와 입자 모양에 따라 좌우되는데(Nowack and Bucheli, 2007) 나노 입자의 돌기가 다각형 보다는 구형의 Zn이 세포 내 축적을 더 용이하게 한 것으로 사료된다. 따라서 메밀의 Zn 나노 입자축적은 사이즈와는 관련이 없고 Zn의 입자 모양과 용해도에 따른 것으로 보인다.

3.3. 토양의 dehydrogenase(DHA) 활성

Table 3. Values of dehydrogenase activity (P value: P value compared 'day 0' to 'day 14')

| Treatment | Dehydrogenase activity ( $\mu\text{g TPF/ g/ 24 h}$ ) |                |         |
|-----------|---|----------------|---------|
|           | Day 0   | Day 14         | P value |
| Control   | 18.0 $\pm$ nd   | 20.5 $\pm$ 5.0 | -       |
| Nano Cu   | 10.3 $\pm$ 6.0  | 12.3 $\pm$ 4.3 | 0.796   |
| Micro Cu  | 27.0 $\pm$ 1.1  | 11.9 $\pm$ 7.1 | 0.102   |
| Nano Zn   | 5.8 $\pm$ 1.9   | 8.6 $\pm$ 5.4  | 0.641   |
| Micro Zn  | 15.6 $\pm$ 3.1  | 4.5 $\pm$ 1.2  | 0.029   |

토양 미생물의 일반적인 효소활성도를 나타내는 탈수소활성도(DHA)를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 토양 미생물은 오염물질이 함유된 토양 입자, 토양 공극수와 직접적으로 접촉하기 때문에 토양 오염을 평가하기 위한 좋은 지표이다(Muhammad 등, 2005; Sukul, 2006; Yao 등, 2000). Day 0에서는 나노입자가 마이크로입자보다 유의적으로 낮은 활성을 나타냈으며 Cu보다 Zn의 활성이 더 낮게 나타났다. 반면, day 14에서는 입자 크기에 따라 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 day 0에서와 마찬가지로 Cu보다 Zn

의 활성이 낮게 나타났다. 따라서 토양 미생물 활성도는 Cu 나노입자보다 Zn 나노입자에 의한 독성이 큰 것으로 나타났다. 본 연구에서는 나노 입자의 독성이 Zn 나노입자 때문인지 토양 내 이온 때문인지 확인하기 위해 Zn 나노입자 1,000 mg/L에서 용해되는 Zn 이온 양을 측정하였다. 우리의 이전연구(김 등, 2009)와 같이 threshold보다 낮은 5  $\mu\text{g/g}$ 으로 나타나 직접적인 용해에 의한 것이 아닌 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 Zn 나노 입자의 영향 때문인 것으로 판단된다. 기존 연구 결과에서도 Zn 나노입자는 다른 금속에 비해 미생물에 강한 독성을 보이는 것으로 나타났다. 특히 Zn 나노입자는 *E.coli*에 가장 높은 독성을 보여 거의 100% 사망률을 나타냈다(Wei 등, 2009).

3.4. 기질 이용도

Cu, Zn 입자 크기별로 Biolog를 이용해 기질이용패턴을 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. 그림에 나타난 바와 같이 AWCD 값이 day 0, day 14 토양 모두, Zn 마이크로 입자 처리 토양에서 가장 높게 나타나 미생물 기질 이용도에 저해를 덜 받는 것으로 나타났다. 또한 Zn 보다 Cu 입자에 의한 저해가 큰 것으로 나타났다. 그러나 day 0, day 14 토양 모두 AWCD값과 각 기질의 AWCD값과 shannon index는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 김 등 (2009)의 연구에서도 ZnO 나노 입자 처리된 토양과 control 토양 간 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Shah와 Belozeroва (2009)의 연구에서는 Pd 나노 입자를 첨가한 경우 3가지 기질 이용도가 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 모든 나노

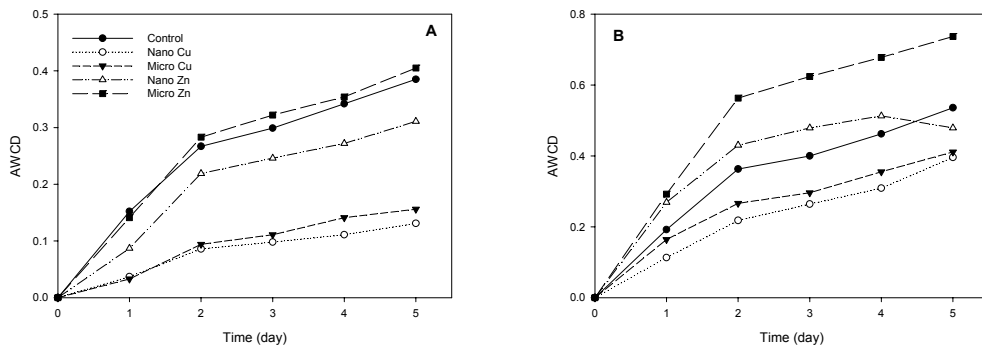


Fig. 2. Comparison of average well colour development (AWCD) curves(A: Day 0 AWCD, B: Day 14 AWCD).

입자가 미생물 탄소 이용도를 감소시키는 것은 아니며 높은 독성을 나타내는 것은 아닌 것으로 나타났다. 일반적으로 중금속 오염은 토양 미생물 군집에 악영향을 미친다(Lori 등, 2005). 그러나 금속의 크기에 상관없이 짧은 기간에서는 미생물 군집에 미치는 영향이 크게 나타난 연구결과가 있다(Shah와 Belozeroва, 2009). 이는 토양에서 나노입자의 응집성과 부동성 때문인 것으로 사료되며 짧은 기간 내에서는 탄소원 이용도를 이용한 군집 수준의 생체 수집(community level physiological profiling)은 토양 미생물 다양성의 정확한 지표로 사용할 수 없을 것으로 사료된다.

#### 4. 결론

- 1) 나노입자들의 크기는 제조사의 정보보다 약 2배가량 차이가 나고 같은 금속 간 나노입자와 마이크로입자 간의 크기는 10배 이상 차이가 나는 것으로 나타났다.
- 2) 토양과 식물의 총 중금속량의 비인 Enrichment factor (EF)값은 Cu 마이크로 입자에서 day 0보다 day 14에서 유의적으로 높게 나타났다. 금속 간 차이를 보면 Cu보다 Zn에서 더 높게 축적하는 것으로 나타나 메틸은 Zn 축적에 더 효과적인 것으로 나타났다.
- 3) Dehydrogenase activity의 경우 나노입자가 마이크로입자보다 유의적으로 낮은 활성을 나타냈다. 또한 Cu 나노입자보다 Zn 나노입자에 의한 독성이 큰 것으로 나타났다.
- 4) 기질 이용도와 Shannon index 분석 결과 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 그러므로, 짧은 기간 내에서는 탄소원 이용도를 토양 미생물 다양성의 정확한 지표로 사용할 수 없을 것으로 사료된다.

#### 감사의 글

본 연구는 한국과학연구재단의 2010년 일반연구자 지원 사업(2010-0021911)과 한국과학창의재단의 2010년 학부생 연구프로그램(URP)의 지원으로 수행 하였으며 이에 감사드립니다.

#### 참고 문헌

- 김성현, 정미애, 이인숙, 2009, 산화 금속 입자 크기가 옥수수의 성장과 토양 미생물 군집에 미치는 독성, 대한환경공학회지, 31, 1069-1074.
- 김용진, 송동근, 2008, 나노에어로졸 입자의 환경분야 응용: 나노기술의 발전과 환경적용, 첨단환경기술, 16(12), 4-10.
- Fraklin, N. M., Rogers, N. J., Apte, S. C., Batley, G., Gadd, G. E., Casey, P. S., 2007, Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl<sub>2</sub> to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella supracapitata*): The importance of particle solubility, Environ. Sci. Technol., 41, 8484-8490.
- Lori, R. J., Nicholans, L. A., Jhon, M., Steven, T. R., Nancy, C. T., Jhon, J. K., 2005, Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> alters soil microbial communities associated with trembling aspen (*Populus tremuloides*) roots, Microbiol. Ecol., 50, 102-109.
- Meulenkamp, E. A., 1998, Synthesis and growth of ZnO nanoparticles, J. Phys. Chem. B, 102, 5566-5572.
- Muhammad, A., Xu, J., Li, Z., Wang, H., Yao, H., 2005, Effects of lead and cadmium nitrate on biomass and substrate utilization pattern of soil microbial communities, Chemosphere, 60, 508-514.
- Nowack, B., Bucheli, T. D., 2007, Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment, Environ. Pollut., 150, 5-22.
- Richard, D. H., Richard, O., Eugenia, V., 2008, The ecotoxicology of nanoparticles and nano-materials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs, Ecotoxicology, 17, 315-325.
- Serpone, N., Dondi, D., Albin, A., 2007, Inorganic and organic UV filters: their role and efficacy in sunscreen and sun care products, Inorg. Chim. Acta, 360, 794-802.
- Shah, V., Belozeroва, T., 2009, Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds, Water Air Soil Pollut., 197, 143-148.
- Sukul, P., 2006, Enzymatic activities and microbial biomass in soil as influenced by metal residues, Soil Biol. Biochem., 38, 320-326.
- Tong, Z., Bischoff, M., Nies, L., Applegate, B., Turco, R. F., 2007, Impact of Fullerenes (C<sub>60</sub>) on a soil

- microbial community, *Environ. Sci. Technol.*, 41, 2985-2991.
- Trever, J., Mayfield, J., Inniss, W. E., 1982, Measurement of electron transport system (ETS) activity in soil, *Microbiol. Ecol.*, 8, 163-168.
- Wei, S., Zhou, Q., Xiao, H., Yang, C., Hu, Y., Ren, L., 2009, Hyperaccumulative property comparison of 24 weed species to heavy metals using a pot culture experiment, *Environ. Monit. Assess.*, 152, 299-307.
- Yang, Z., Xie, C., 2006, Zn<sup>2+</sup> release from zinc and zinc oxide particles in stimulated uterine solution, *Colloid Surface B*, 47, 140-145.
- Yao, H., Xy, J., Huang, C., Campell, C. D., 2000, Microbial biomass and community structure in a accumulation in soils increasing fertility and changing land use, *Microbiol. Ecol.*, 40, 223-237.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, Y., York, D., 2007, Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids), *J. Nanoparticles Research*, 9, 479-487.