

자외선에 노출된 광반응성 나노물질의 생태독성 연구

Ecotoxicity Studies of Photoactive Nanoparticles Exposed to Ultraviolet Light

김신웅 · 이우미 · 신유진 · 안윤주[†]
Shin Woong Kim · Woo-Mi Lee · Yu-Jin Shin · Youn-Joo An[†]

건국대학교 환경과학과
Department of Environmental Science, Konkuk University

(2011년 11월 22일 접수, 2012년 1월 6일 채택)

Abstract : As nanotechnology is a key industry, there is growing concern relating to the potential risk of nanoparticles. They are known to be released into the environment via various exposure routes. When nanoparticles are present in water environments, they are supposed to be illuminated by ultraviolet light, and the ecotoxicity of photoactive nanoparticles may be changed. In this study, a review of the ecotoxicity of photoactive nanoparticles, including the mechanisms of phototoxicity, are presented. In order to address this issue, studies on the ecotoxicity to soil and water organisms exposed to photoactive nanoparticles were investigated. The photoactive nanoparticles chosen for this study were zinc oxide, titanium dioxide and fullerene. Microorganisms, nematode, earthworm, algae and fish, etc., were chosen to assess the toxicity of nanoparticles using diverse methods. However, studies on the phototoxicity potentially induced by nanoparticles on UV illumination have been reviewed in only 8 studies. From a few studies, photoactive nanoparticles have shown high dissolution rates under UV conditions, with the released ions observed to profoundly influence test organisms. In addition, NPs exposed to UV produced reactive oxygen species (ROS). These ROS can induce oxidative stress in exposed organisms. Evidence of phototoxicity by nanoparticles were found based on previous studies.

Key Words : UV, Ecotoxicity, Nanoparticle, Photoactive, Phototoxicity

요약 : 현대산업에서 나노기술의 이용성이 증가되면서 나노물질이 가질 수 있는 잠재적인 위해성에 대한 관심이 증가되고 있는 추세이다. 나노물질은 다양한 경로를 통해 환경으로 유출되고 있으며, 수생태계로 유출된 나노물질은 태양광에 포함된 자외선에 노출될 개연성이 높다. 광반응성 나노물질은 광활성 조건에서 생태독성이 변화할 가능성이 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 광반응성 나노물질이 생태계에서 자외선에 노출되었을 때 유발될 수 있는 생태독성 변화에 대한 연구동향을 파악하고자, 수서 및 토양생물을 대상으로 가용한 모든 자료를 조사하여 분석하였다. 본 연구에서 조사된 광반응성 나노물질은 zinc oxide, titanium dioxide, 그리고 fullerene이었으며, 미생물, 지렁이, 토양선충, 조류, 그리고 어류 등을 대상으로 한 나노물질 생태독성연구를 분석하였다. 그 결과, 자외선에 노출된 나노물질의 광독성영향에 대한 연구는 현재까지 매우 부족한 상태로, 현재까지 발표된 나노물질에 대한 광독성 연구는 8개였고, 일부 연구에서는 광반응성 나노물질의 광이온화와 나노물질로부터 유출된 이온독성을 함께 제시하였다. 광반응성 나노물질은 생체 내에서 산소활성종 생성을 유발하고 산화스트레스를 증가시키는 것으로 확인되었다.

주제어 : UV, 생태독성, 나노물질, 광활성, 광독성

1. 서론

나노기술은 반도체산업, 의료·생명공학, 재료·제조업, 의류, 화장품산업, 그리고 환경복원 공정 등 광범위한 분야에 활용되고 있으며 21세기의 핵심산업으로 급부상하였다. 또한, 나노기술이 적용된 제품개발의 가속화에 따른 안전성 확보가 세계적으로 이슈화되면서, 나노기술의 지속가능한 발전을 위해서는 나노물질의 독성에 대한 체계적이고 종합적인 연구가 필요하게 되었다. 2006년 세계적 학술저널인 Science 지에서 Andre Nel 박사는 나노물질의 안전한 제조와 상용화를 위해서 나노물질의 독성을 측정할 수 있는 기술의 필요성을 주장한바 있다.¹⁾ 한편, 나노제품의 사용 및 폐기 등의 과정에서 발생된 나노물질은 표면집적, 강우유출, 그리고 침출수 등의 물질 이동현상을 거쳐 생태계로 유입되어 독성을 야기할 가능성이 매우 높다.^{2,3)} 생태계로 유입된 나노물질은 매우

작은 크기로 인해, 침전되지 않고 대부분 지표수에 부유하면서 생태계에 영향을 미치게 된다. 또한, 부유하는 나노물질은 침전물이나 토양에 흡착되어 질 수 있으며,⁴⁾ 이는 토양생태계로의 매체이동으로 또 다른 영향을 야기할 수 있다. 지표수 표면은 태양광선이 쉽게 투과되기 때문에 나노물질 중 광반응(photoactivity) 특성을 가지는 입자는 태양광을 흡수하게 된다.^{1,3)} 태양광은 visible (> 400 nm) 영역 이외에도 UVA (320~ 400 nm), UVB (280~320 nm) 영역의 자외선 파장대를 포함하며, 최근에는 오존층 파괴로 인해 강한 에너지를 가지는 UVB가 증가하는 추세이다. 태양광을 흡수하는 나노물질은 전자에너지가 바닥상태에서 여기상태(excited state)로 도약하면서,⁵⁾ 물리·화학·생물학적 성질이 바뀌며, 독성이 변화하는 것으로 알려져 있다.⁶⁻¹⁰⁾ 예를 들어 다방향족탄화수소류는 빛을 흡수하면 독성이 증가한다는 기존연구들이 있다.¹¹⁾

[†] Corresponding author E-mail: anyjoo@konkuk.ac.kr Tel: 02-2049-6090 Fax: 02-2201-6295

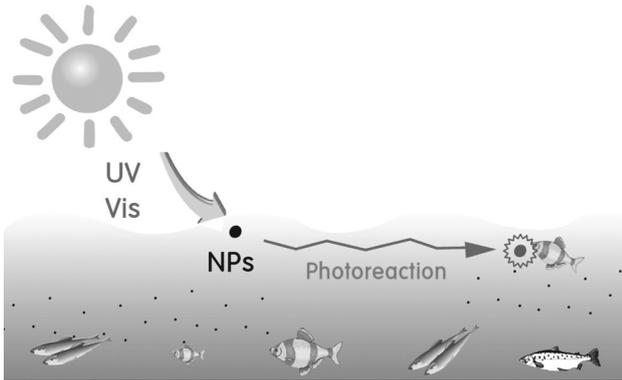


Fig. 1. Photoactivity of nanoparticles in water environment.

본 연구에서는 광활성 나노물질에 대한 생태독성연구를 SCI (E) 논문을 중심으로 조사하여 분석하였다. 산업, 의료, 그리고 가전 등 우리생활에 많이 활용되고 있으며 광활성 특성을 지닌 zinc oxide (ZnO) nanoparticles (NPs), titanium dioxide (TiO₂) NPs, 그리고 fullerene NPs를 이용한 생태독성연구가 가장 활발하였다. 위의 물질들을 대상으로 수행된 토양 및

수생태계 독성연구를 조사하였으며, 이 중 광독성에 관련된 연구를 분석하여 연구동향을 파악하고 향후 연구되어야 할 추가항목들을 평가하였다.

2. 광활성 나노물질의 생태독성연구

2.1. 수서 생태독성 연구

광활성 나노물질을 이용한 수생태독성연구는 총 26건이 조사되었다(Table 1). 조류를 이용한 TiO₂ NPs의 독성영향평가에 대한 선행연구에서는, cadmium과 동시노출조건에서 독성영향 증가가 확인되었다.¹²⁾ 이밖에, TiO₂ NPs에 의한 조류독성영향에 관련된 다양한 연구가 조사되었다.¹³⁻¹⁵⁾ Franklin et al.¹⁶⁾은 각 사이즈별의 ZnO NPs에 대한 조류의 영향을 확인하였으며, 0.1 mg/L의 농도에서도 조류의 생장에 저해를 받는 것으로 평가되었다. 물벼룩에 대한 광활성 나노물질의 독성영향평가는 대부분 *Daphnia magna*가 이용되었으며, 나노물질에 대한 축적량,¹⁷⁻²⁰⁾ 산화스트레스,^{21,22)} 그리고 유영장애,

Table 1. Photoactive nanoparticles toxicity studies for aquatic organisms

Test species	Test NPs	Note	Reference
Algae	TiO ₂	Synergistic effects of TiO ₂ NPs with Cd.	Hartmann et al. ¹²⁾
	TiO ₂	Ecotoxicity of TiO ₂ NPs to algae	Sadiq et al. ¹⁵⁾
	TiO ₂ , WO ₃	Photocatalytic inhibition to algae	Linkous et al. ¹⁴⁾
	TiO ₂ , ZnO, Al ₂ O ₃ , SiO ₂	Toxicity of oxide nanoparticles to algae	Ji et al. ¹³⁾
	ZnO	Toxicity of nano/bulk ZnO and Zn (NO ₃) ₂	Franklin et al. ¹⁶⁾
Cladoceran	Fullerene	Assess the acute effects and oxidative stress	Spohn et al. ²²⁾
	Fullerene	Toxicity and accumulation of fullerene (<i>Daphnia</i> embryo)	Tao et al. ¹⁷⁾
	Fullerene	Fullerene accumulation and depuration	Tervonen et al. ¹⁹⁾
	Fullerene	Water characterization dependent toxicity and uptake rate	Tao et al. ¹⁸⁾
	Fullerene, TiO ₂	Application of various endpoint (heart, hopping, appendage beat)	Lovern et al. ³⁴⁾
	Fullerene, TiO ₂ , ZnO, Al ₂ O ₃ , SW-CNTs, MWCNTs, Carbon black,	Acute toxicity of six nanoparticles	Zhu et al. ³⁵⁾
	TiO ₂	Evaluation of reproduction and antioxidant enzyme	Kim et al. ²¹⁾
	TiO ₂	Evaluation of TiO ₂ uptake and depuration to <i>D. magna</i>	Zhu et al. ²⁰⁾
	TiO ₂	Toxicity of TiO ₂ (Biological coating)	Dabrunz et al. ²³⁾
	TiO ₂ , ZnO, CuO	Toxicity of nano, bulk, and ion toxicity	Heinlaan et al. ³⁶⁾
Cladoceran, Fish	Fullerene	Evaluation of survival rate and protein effects	Zhu et al. ³⁷⁾
Fish	Fullerene	Fullerene toxic effect and oxidative stress to embryo and protein of carp	Zhu et al. ²⁴⁾
	Fullerene	Evaluation of embryo and cellular death	Usenko et al. ³¹⁾
	Fullerene	Embryo development and adult/larva assay using killifish	Blickley and McClellan-Green ²⁹⁾
	Fullerene	Evaluation of embryonic toxicity and oxidative stress	Kim et al. ³⁰⁾
	Fullerene	Total RNA extraction	Herny et al. ²⁵⁾
	TiO ₂ , ZnO, Al ₂ O ₃	Size dependent effects of <i>D. rerio</i> early development	Zhu et al. ³²⁾
	TiO ₂ , ZnO, CeO ₂	Bioaccumulation of TiO ₂ , CeO ₂ , and ZnO	Johnston et al. ²⁷⁾
	ZnO	Toxicity of nano ZnO and ion to zebrafish embryo	Bai et al. ²⁸⁾
	ZnO	Evaluation toxicity of nano ZnO and ion using embryo assay and gene expression	Zhu et al. ²⁶⁾
Plant	TiO ₂ , Ag	Growth inhibition of lemna exposed to Ag, and TiO ₂ NPs	Kim et al. ³³⁾

생식물 저해 등의 급/만성 영향이 평가되었다. 또한, Dabrunz et al.²³⁾은 TiO₂ NPs에 의한 물벼룩의 “biological coating”이 유영 장애 등의 악영향을 미칠 수 있음을 이미지 관찰을 통해 확인하였다. 어류의 경우는 DNA 변형과 산화스트레스에 대한 연구가 가장 많았으며, 생체 내 축적량 평가가 다수 진행되었다. Zhu et al.²⁴⁾은 잉어를 이용한 fullerene NPs 독성영향연구에서, GSH, CAT, SOD등을 이용한 산화스트레스 확인법을 통해 나노물질과 산화스트레스와의 연관성을 확인하였다. 또한, Hery et al.²⁵⁾와 Zhu et al.²⁶⁾은 어류의 유전정보를 이용하여 각각 fullerene NPs과 ZnO NPs의 독성영향을 확인하고자 하였으며, Johnston et al.²⁷⁾은 TiO₂, CeO₂ NPs, 그리고 ZnO NPs의 축적량을 평가하였다. 또한, 어류의 수정란을 이용한 초기 발달 평가법은 광활성 나노물질의 어류독성 평가에서 전반적으로 사용되는 것으로 확인되었다.²⁸⁻³²⁾ 한편, 수서식물을 이용한 연구는 1건이 확인되었으며, OECD에서 제시하는 시험법에 따라 은나노 물질과 TiO₂ NPs에 노출된 *Lemma paucicostata*의 성장저해가 평가되었다.³³⁾

2.2 토양 생태독성 연구

광활성 나노물질로 잘 알려진 ZnO NPs와 TiO₂ NPs, 그리고 fullerene NPs은 토양생태생물을 대상으로 많은 독성연구가 진행되어 왔다(Table 2). 가장 많은 비율을 차지하고 있는 토양 생물은 미생물이었으며, fullerene NPs을 이용한 생태독성연구는 5건, TiO₂ NPs와 ZnO NPs의 경우는 각각 8건과 12건이 확인되었다. Fullerene NPs에 관련된 선행연구에서는 노출된 미생물의 산화스트레스를 평가하여 독성기작을 확인하였으며,^{38,39)} TiO₂ NPs의 경우도 나노물질 내의 OH radical의 농도에 따른 독성영향을 평가된 바 있다.⁴⁰⁾ 또한, 다

른 물질과의 혼합사용으로 항균작용을 극대화하기 위한 연구가 진행되었고,^{41,42)} 나노물질에 대한 독성기작을 확인하기 위해 미생물을 이용한 연구도 확인되었다.⁴³⁾ 미생물 시험의 용이성을 바탕으로, 다양한 금속계열 나노물질의 전반적인 독성연구가 있었으며,⁴⁴⁻⁴⁶⁾ 나노물질의 크기에 의존한 독성 영향이 평가된 바 있다.⁴⁷⁾ 토양 공극수에 서식하는 것으로 알려져 있는 *Caenorhabditis elegans*을 이용한 ZnO NPs 독성연구는 1건이 조사되었고, TiO₂ NPs의 경우 2건의 연구가 수집되었다. 이들 연구에서는 나노물질에 노출된 *C. elegans*의 생존율과 생식률을 평가하였다. Wang et al.⁴⁸⁾은 나노물질로부터 유출되어질 수 있는 이온을 정량화하였으며, 이에 대한 독성평가를 통해 나노물질의 독성기작을 확인하고자 하였다. 또한, *C. elegans*의 유전학적 정보를 이용하여 gene expression을 확인하는 독성연구도 진행된 바 있다.⁴⁹⁾ 식물의 경우 ZnO NPs가 식물의 뿌리생장에 영향을 미치는 것을 확인하였으며⁵⁰⁾ 또한 생체량 감소와 세포변화를 관찰하였다.⁵¹⁾ Lee et al.⁵²⁾은 *Arabidopsis thaliana*의 발아저해영향이 micro size의 ZnO보다 nano size의 ZnO에서 더 높음을 확인하였다. 앞서 ZnO NPs가 식물에 영향을 준다는 연구결과와 달리 Stampoulis et al.⁵³⁾은 유의한 악영향이 관찰되지 않았다고 보고하고 있다. TiO₂ NPs에 대한 식물연구는 질소고정과 시금치 성장과의 영향⁵⁴⁾과 TiO₂ NPs가 식물뿌리의 물 수송에 미치는 영향을 관찰한 연구⁵⁵⁾가 있다. Seeger et al.은 willow tree를 대상으로 TiO₂ NPs 급성독성실험을 수행하였으나 유의한 독성영향은 관찰되지 않았다.⁵⁶⁾ Lin et al.⁵⁷⁾은 C₇₀의 rice plant로의 축적, 분포, 그리고 생체 내 이동을 관찰하고 food safety에 있어 잠재적 영향을 고려해야 함을 언급하였다. 지렁이를 대상으로 진행된 독성영향평가는 fullerene NPs, TiO₂ NPs, 그리고 ZnO NPs가 각각 2건, 4건, 그리고 4건이 확인되었다. 자연

Table 2. Photoactive nanoparticles toxicity studies for soil organisms

Test species	NPs	Note	Reference
Collembola	ZnO	Toxicity of nano ZnO, bulk ZnO, and ZnCl ₂ on soil media	Kool et al. ⁵³⁾
	Fullerene	Fullerene bioaccumulation to earthworm	Li et al. ⁵⁸⁾
	Fullerene	Implications for population dynamics	van der Ploeg et al. ⁵⁹⁾
Earthworm	TiO ₂	Bioaccumulation and apoptosis by TiO ₂	Lapied et al. ⁶⁰⁾
	TiO ₂ , ZnO	Acute and chronic toxicity of ZnO and TiO ₂	Qi ⁶¹⁾
	TiO ₂ , ZnO, Ag, Cu, Ni, Al ₂ O ₃ , SiO ₂	Toxicity of inorganic nanoparticles to earthworm	Heckmann et al. ⁶⁴⁾
	TiO ₂ , ZnO	Toxicity of TiO ₂ and ZnO to earthworm	Hu et al. ⁶²⁾
	ZnO	Chronic toxicity of ZnO and Zn ion	Hooper et al. ⁶⁵⁾
Plant	ZnO	Phytotoxicity of six plant species (rape, radish, ryegrass, lettuce, corn, cucumber)	Lin and Xing. ⁵⁰⁾
	ZnO	Uptake and toxicity of ZnO on <i>Lolium perenne</i>	Lin and Xing. ⁵¹⁾
	ZnO	ZnO NP and ZnO bulk particle toxicity to <i>Arabidopsis thaliana</i>	Lee et al. ⁵²⁾
	ZnO	ZnO NP and ZnO bulk particle effect to <i>Cucurbita pepo</i> seed germination, root elongation, and biomass	Stampoulis et al. ⁵³⁾
	TiO ₂	Effect of N ₂ fixation in spinach by TiO ₂	Yang et al. ⁵⁴⁾
	TiO ₂	Investigation of TiO ₂ on root of <i>Zea may</i> L, root water transport	Asli and Neumann ⁵⁵⁾
	TiO ₂	Acute toxicity of TiO ₂ on willow trees	Seeger et al. ⁵⁶⁾
Fullerene (C ₇₀)	Uptake, translocation, and transmission of C ₇₀ in rice plant	Lin et al. ⁵⁷⁾	

	Fullerene	Time dependent toxicity of fullerene	Tang et al. ⁵⁸⁾
	Fullerene	Assay of activity, DNA, and enzyme	Tong et al. ⁵⁹⁾
	Fullerene	Interaction of fullerene toxicity and ROS	Lyon et al. ³⁹⁾
	Fullerene	Antibacterial activity of Ozonated fullerene	Cho et al. ³⁸⁾
	Fullerene	Assessment of membrane integrity	Aquino et al. ⁵⁹⁾
	TiO ₂	Antibacterial activity of TiO ₂	Amezaga-Madrid et al. ⁶⁹⁾
	TiO ₂	Antibacterial activity of OH radical in TiO ₂	Cho et al. ⁴⁰⁾
	TiO ₂	Additive effect of antibiotics with TiO ₂	Roy et al. ⁴²⁾
	TiO ₂ , ZnO, Al ₂ O ₃ , La ₂ O ₃ , Fe ₂ O ₃ , SnO ₂	Toxicity of metal oxide nanoparticles	Hu et al. ⁴⁵⁾
	TiO ₂ , ZnO, Al ₂ O ₃ , SiO ₂	Size dependent toxicity of oxide nanoparticles	Jiang et al. ⁴⁷⁾
Micro-organisms	TiO ₂ , ZnO, CuO	Toxicity of ZnO, CuO, and TiO ₂	Kasemets et al. ⁶²⁾
	TiO ₂ , ZnO, NiO, Fe ₂ O ₃ , Co ₃ O ₄ , CuO	Toxicity of metal oxide nanoparticles	Wang et al. ⁴⁶⁾
	TiO ₂ , ZnO, SiO ₂	Toxicity of nanoscale TiO ₂ , SiO ₂ , ZnO	Adams et al. ⁶³⁾
	ZnO	Additive toxic effect of antibiotics with ZnO	Banoee et al. ⁴¹⁾
	ZnO	Antibacterial effects of ZnO and morphological test of <i>E. coli</i>	Liu et al. ⁶⁴⁾
	ZnO	Antibacterial and antifungal activity of ZnO	Sharma et al. ⁶⁵⁾
	ZnO	Toxicity of ZnO micro-flowers	Wahab et al. ⁴³⁾
	ZnO	Antibacterial effects of ZnO, Ag nanoparticles	Sinha et al. ⁶⁶⁾
	ZnO QD, ZnO films, PVP ZnO	Liquid culture, agar diffusion, coating/release test using ZnO QD, ZnO films, PVP ZnO.	Jin et al. ⁶⁷⁾
	ZnO, CuO, NiO, Sb ₂ O ₃	Inhibition of colony forming on three microbial species	Baek and An ⁴⁴⁾
Nematode	TiO ₂ , CeO ₂	Measurement of gene expression, growth, reproduction, and mortality	Roh et al. ⁴⁹⁾
	TiO ₂ , ZnO, Al ₂ O ₃	Toxicity and dissolution of TiO ₂ , ZnO, Al ₂ O ₃	Wang et al. ⁴⁸⁾
	ZnO	Toxicity of zinc oxide nanoparticles	Ma et al. ⁶⁸⁾

토양을 이용하여 fullerene NPs의 독성과 생체 내 축적량을 평가한 연구가 있었으며,^{58,59)} 다양한 노출법으로 *Lumbricus terrestris*에 대한 TiO₂ NPs의 독성영향을 평가한 연구가 확인되었다.⁶⁰⁾ 또한, ASTM과 OECD에서 제시하는 인공토양을 이용하여 TiO₂ NPs와 ZnO NPs에 대한 지렁이의 급/만성 독성과,⁶¹⁾ 미토콘드리아 영향을 평가한 연구도 확인되었다.⁶²⁾ 특토기류를 이용한 연구는 1건이 확인되었으며, 토양에 분포된 nano-, bulk ZnO와 ZnCl₂에 대한 독성연구가 진행되었다.⁶³⁾

2.3. 광활성 독성 연구

ZnO NPs, TiO₂ NPs, 그리고 fullerene NPs를 대상으로, 광활성이 유도되는 조건에서 생태독성영향평가는 전체 연구에서 큰 비율을 차지하지 않았다(Fig. 2). 토양생물종을 이용하여 광활성이 유도된 나노물질에 대한 독성평가는 5건으로 확인되었으며, 대부분 미생물을 이용한 항균작용연구였다. Dutta et al.⁷⁷⁾은 광조건과 암조건에서의 ZnO 독성영향을 평가하였고, Benabbou et al.⁶⁾는 광세기 등의 다양한 조건을 이용하여 TiO₂/*E. coli* 슬러리에 대한 영향을 확인하였다. 또한, Prasad et al.¹⁰⁾은 TiO₂ NPs와 미생물의 혼합물에 광반응기를 이용하여 UV를 조사한 후, 광활성 나노물질에 의한 항균작용을 시험한 바 있다. Fullerene NPs의 경우는 다양한 용매를 이용하여 분산액을 제조할 수 있으며, 이에 따른 독성영향과 UV 조사에 의존하는 변화를 관찰한 연구도 진행되었다.⁷⁾ 한편, Ma et al.⁹⁾은 토양선충인 *C. elegans*를 태양광과 인공광 조건에서 나노물질과 동시노출하여 생활사의 변화를 관

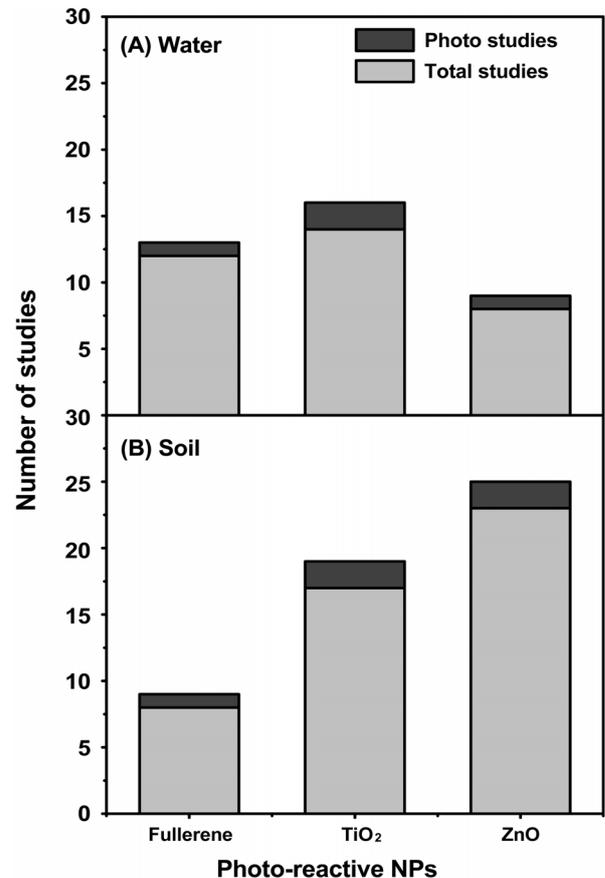


Fig. 2. Studies of photoactive nanoparticles toxicity using (A) aquatic and (B) soil organisms.

Table 3. Studies of phototoxicity to soil and water organisms.

Media	NPs	Species	Note	Reference
Soil	Fullerene	Microorganisms	Fullerene preparation method and UV exposure dependent effects, measurement of oxidative stress	Brunet et al. ⁷⁾
	TiO ₂	Microorganisms	Relation of radiation intensity and bacterial inactivation exposed to TiO ₂	Benabbou et al. ⁶⁾
	TiO ₂	Microorganisms	Additive effects of titania nanoparticles existing as a mixture of anatase and rutile on UV conditions	Prasad et al. ¹⁰⁾
	ZnO	Microorganisms	Evaluation of growth on dark and light conditions	Dutta et al. ⁷⁶⁾
	ZnO	Nematode	Measurement of adverse effects and oxidative stress on nature and artificial light conditions	Ma et al. ⁹⁾
Water	Fullerene	Cladoceran	Mechanisms of the protective effect of fullerene on UV toxicity	Yang et al. ⁷⁸⁾
	TiO ₂	Algae, Cladoceran	Toxicity of size different TiO ₂ on UV illumination conditions,	Hun-Rinke and Simon ⁸⁾
	TiO ₂ , ZnO, CuO	Algae	Toxicity of nanoparticles, and light shading -dependent effects	Aruoja et al. ⁷⁹⁾

Table 4. Definite information of phototoxicity studies

Study	Increased toxicity ^{a)}	Dissolved ion toxicity ^{b)}	Oxidative stress	Physical effects ^{c)}	Note
Brunet et al. ⁷⁾	○		○		Preparation method dependent
Benabbou et al. ⁶⁾	○				Intensity, UV species dependent
Prasad et al. ¹⁰⁾	○				Rutile, anatase dependent
Dutta et al. ⁷⁶⁾				-	
Ma et al. ⁹⁾	○		○		Size, irradiation conditions dependent
Yang et al. ⁷⁸⁾				○	Protective effects
Hun-Rinke and Simon ⁸⁾	○				Pre-illumination
Aruoja et al. ⁷⁹⁾		○			Shading of light by nanoparticles

a) Test condition dependent on each study
 b) Photo-dissolved ion toxicity
 c) Morphological effect, nano-bio interaction, biological coating etc.

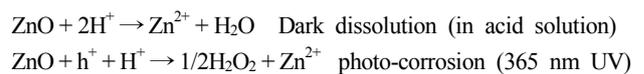
찰하고 산화스트레스와의 연관성을 확인하였다. 토양생물종과 마찬가지로, 수생태에 대한 광활성나노물질의 광독성연구는 매우 제한적이었으며 일부 물벼룩과 조류를 이용한 연구⁸⁾와 fullerene NPs 관련 연구,⁷⁸⁾ 그리고 조류를 이용한 light shading 연구가 확인되었을 뿐이다.⁷⁹⁾ 특히, Yang et al.⁷⁸⁾은 적은양의 fullerene NPs은 오히려 광에 의한 악영향으로부터 물벼룩을 보호할 수 있다고 평가한 바 있다. 대부분의 광독성과 관련된 선행연구는 나노물질 특성에 따른 독성영향을 평가하고 있으며, 전반적으로 광활성된 나노물질이 독성증가에 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 이에 따른 독성변화여부는 각 연구의 시험 조건에 의존하였으며, 일부 연구에서는 독성발현 기작은 산화스트레스와 광반응 이온화, 혹은 물리적 요인과 연관성이 있는 것으로 평가하였다(Table 4).

3. 광활성 나노물질의 독성발현 기작연구

3.1. 광반응 이온화

금속계열 나노물질은 대부분 일부 조건에서 해당 이온으로 이온화되는 경향이 보고된 바 있다. 나노물질의 이온화는 크기, 표면적, 그리고 나노물질의 형태에 따라 달라질 수 있으며,⁴⁸⁾ 시험에 사용되는 매체에 따라 이온화량의 변화가 발생

될 수 있는 것으로 알려져 있다.^{80,81)} Han et al.⁵⁾은 ZnO의 광반응 이온화에 대하여 발표하였으며, UV 조건에서의 에너지가 Zn-O 결합을 파괴하여 이온화를 증가시키는 것을 확인하였다. 이 연구에서 제안하는 반응은 다음과 같다.



또한, 이러한 나노물질의 이온화의 증가는 독성발현에 중요한 기작으로 발현된다. Kasemets et al.⁷⁰⁾은 *Saccharomyces cereisiae*를 이용하여 nano와 bulk 크기의 ZnO의 독성영향을 평가한 바 있으며, ZnO NPs 농도의 63~79%가 Zn²⁺로 이온화되었으며 대부분의 독성기작이 이온독성에 의한 것이라 평가하였다. 또한, Farkas et al.⁸²⁾은 rainbow trout 내의 세포에 흡착된 은나노 물질이 확산에 의한 제한점이 없이 이온화영향을 줄 수 있다고 평가하였다. 반면, TiO₂ NPs의 경우는 이온화될 수 있는 양이 매우 적은 것으로 알려져 있고, titanium ion 자체의 독성도 현저히 낮아 이온독성에 대한 평가는 거의 이루어지지 않고 있다.²³⁾

3.2. 산화스트레스

광활성 나노물질은 reactive oxygen species (ROS)을 생성

하는 것으로 알려져 있으며, 반응성이 강한 ROS는 대상 생물에 강한 산화스트레스를 유발하는 것으로 알려져 있다.⁴⁰⁾ 광활성 나노물질의 경우는 강한 빛을 받아 여기상태에 이르게 되면, hole-electron pair가 형성되고, 이는 중간체과 반응하기 위하여 높은 산화력을 가지는 전위를 구성하게 된다.⁶⁾ ZnO NPs와 TiO₂ NPs의 경우는 빛에 노출될 경우, (1) 전자구멍쌍인 h_{VB}^+ (hole in the valence band)와 e_{CB}^- (electron in the conduction band)가 생성된다. (2) h_{VB}^+ 은 organic species와 직접산화가 가능하며, (3) 물과의 반응을 통해 hydroxyl radical ($\cdot OH$)를 생성한다. 또는, (4) hydroxyl group과 반응하여 $\cdot OH$ 을 생성하기도 한다. (5) e_{CB}^- 의 경우는 molecular oxygen (O₂)를 superoxide anion ($\cdot O_2^-$)으로 변화시키며, 조건에 따라 (6) hydrogen peroxide (H₂O₂)을 생성하는 것으로 알려져 있다.^{7,83)}

- (1) ZnO or TiO₂ + hν → ZnO or TiO₂ ($e_{CB}^- + h_{VB}^+$)
- (2) $h_{VB}^+ + dye \rightarrow$ oxidation of the dye
- (3) $h_{VB}^+ + H_2O \rightarrow H^+ + \cdot OH$
- (4) $h_{VB}^+ + OH^- \rightarrow \cdot OH$
- (5) $e_{CB}^- + O_2 \rightarrow \cdot O_2^-$
- (6) $\cdot O_2^- + HO_2\cdot + H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

Fullerene NPs의 경우는, 광반응도에 따라 singlet (¹C₆₀) 혹은 triplet fullerene (³C₆₀)으로 활성화되고, 산소와 결합하여 $\cdot O_2^-$ 을 생성하는 것으로 알려져 있다.⁷⁾ 위와 같은 과정을 통해, 광활성 나노물질은 광반응을 통해 3종류의 ROS를 생성하며($\cdot O_2^-$, $\cdot OH$, H₂O₂), 이는 산화스트레스 유발을 통해 생태 독성영향에 변화를 가져올 수 있게 된다. Cho et al.⁴⁰⁾은 TiO₂ NPs에 의한 OH radical의 생성과 ROS와의 상관관계를 확인하였으며, Benabbou et al.⁶⁾도 TiO₂ NPs의 ROS 생성에 대한 연구를 발표한 바 있다. 또한, fullerene NPs를 이용한 대부분의 연구에서 ROS 생성과 독성영향에 대한 상관성을 찾기 위해서 노력하였으며, 많은 연구에서 그에 대한 긍정적인 결과를 관찰하였다.^{7,22,30,32)} 하지만, 최근 연구동향에는 약간 변화가 있는 것으로 확인되었다. Lyon et al.³⁹⁾은 노출된 미생물과 NPs suspension을 이용하여 다양한 인자를 통해 ROS를 확인하였으며, 일부 인자를 제외하고는 ROS를 생성하지 않는다고 평가하였다. Brunet et al.⁷⁾은 다양한 분산법에 의해 제조된 fullerene을 이용한 광활성 독성영향평가를 진행하였으며, light 조건과 ROS 생성은 서로 연관성이 없음을 확인하였다. 하지만 이와 같은 경향성은 일부 연구였으며, 명확한 확인을 위해서는 추가연구가 필요할 것이라 사료된다.

4. 현재의 제한점 및 향후 연구 방향 제시

나노물질에 대한 생태독성연구에서, 광활성 나노물질이 가지는 광독성에 대한 평가연구는 매우 미흡한 것을 확인하였다. 일부 광독성에 관련된 선행연구의 대부분에서는 광활성

된 나노물질이 독성영향을 증대시킨다고 평가하였으며, 지구 온난화에 의한 UV 조사량의 증가와 밀접한 연관성을 가질 가능성이 있다. 빛에 노출된 나노물질은 입자의 표면에서 강한 활성을 띠게 되며, 이에 따라 암조건에서 보다 이온화가 증대되게 된다. 이는 금속계열 나노물질의 독성영향 변화에 지대한 영향을 가져올 수 있으며, 이온독성과 나노입자 독성의 상가효과를 야기할 가능성이 있다. 따라서 나노물질 독성평가의 항목 중에 하나인 이온독성평가가 광활성나노물질 평가에서는 그 중요성이 더 강조되어야 할 것이다. 또한, 많은 선행연구에서 광활성에 의한 세 종류의 ROS 생성에 주목하였으며, 이에 대한 평가항목이 필요할 것이라 사료된다. 한편, 토양에서의 광독성평가는 미생물을 이용한 연구가 대부분이었다. 토양생태계에서의 광조건을 고려하여 토양 표면의 광노출 조건과, 이미 광활성된 나노물질이 토양생태계로 매체이동을 했을 가능성에 대한 평가는 전무하였다. 토양을 매체로 한 다양한 시험종에 관련된 연구와, 추가적인 광활성 나노물질의 독성영향 연구가 필요하다고 사료된다. 광활성 나노물질은 생태계에서 독성이 증가될 가능성은 매우 크며, 이에 대한 평가로 향후 나노물질 위해성 평가의 지표를 구축할 필요성이 있다.

사 사

This work was supported by the National Research Foundation Grant funded by Korean Government (NRF 2009-0079204).

KSEE

참고문헌

1. Nel, A., Xia, T., Mädler, L. and Li, N., "Toxic potential of materials at the nanolevel," *Sci.*, **311**, 622-627(2006).
2. Wienser, M. R., Lowry, G. V., Alarez, P., Dionysiou, D. and Biswas, P., "Assessing the risks of manufactured nanomaterials," *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 4336-4337(2006).
3. Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M., Li, D. and Alarez, P. J. J., "Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implication," *Water Res.*, **42**, 4591-4602(2008).
4. Oberdorster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D. and Yang, H., A report from the ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Nanomaterial Toxicity Screening Working Group. "Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy," *Part Fibre. Toxicol.*, **2**, 8(2005).
5. Han, J., Qiu, W. and Gao, W., "Potential dissolution and photodissolution of ZnO thin films," *J. Hazard. Mater.*, **178**, 115-122(2010).

6. Benabbou, A. K., Derriche, Z., Felix, C., Lejeune, P. and Guillard, C., "Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* Effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation," *Appl. Cata. B-Environ.*, **76**, 257~263(2007).
7. Brunet, L., Lyon, D. Y., Hotze, E. M., Alvarez, P. J. J. and Wiesner, M. R., "Comparative photoactivity and antibacterial properties of C₆₀ fullerenes and titanium dioxide nanoparticles," *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 4355~4360(2009).
8. Hund-Rinke, K. and Simon, M., "Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO₂) on algae and daphnids," *Environ. Sci. Pollut. R.*, **13**, 225~232(2006).
9. Ma, H., Kabengi, N. J., Bertsch, P. M., Unrui, J. M., Glenn, T. C. and Williams, P. L., "Comparative phototoxicity of nanoparticulate and bulk ZnO to a free-living nematode *Caenorhabditis elegans*: The importance of illumination mode and primary particle size," *Environ. Pollut.*, **159**, 1473~1480 (2011).
10. Prasad, G. K., Agarwal, G. S., Singh, B., Rai, G. P. and Vijayaraghavan, R., "Photocatalytic inactivation of *Bacillus anthracis* by titania nanomaterials," *J. Hazard. Mater.*, **165**, 506~510(2009).
11. Arfsten, D. P., Schaeffer, D. J. and Mulveny, D. C., "The effects of near ultraviolet radiation on the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in animals and plants: a review," *Ecotox. Environ. Safety.*, **33**, 1~24(1996).
12. Hartmann, N. B., der Kammer, F. V., Hofmann, T., Baalousha, M., Ottoduellling, S. and Baun, A., "Algal testing of titanium dioxide nanoparticles-Testing considerations, inhibitory effects and modification of cadmium bioavailability," *Toxicol.*, **269**, 190~197(2010).
13. Ji, J., Long, Z., and Lin, D., "Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella* sp.," *Chem. Eng. J.*, **170**, 525~530(2010).
14. Linkous, C. A., Carter, G. J., Locuson, D. B., Ouellette, A. J., Slattery, D. K. and Smitha, L. A., "Photocatalytic inhibition of algae growth using TiO₂, WO₃, and cocatalyst modification," *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 4754~4758(2000).
15. Sadiq, I. M., Dalai, S., Chandrasekaran, N. and Mukherjee, A., "Ecotoxicity study of titania (TiO₂) NPs on two microalgae species: *Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp.," *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **74**, 1180~1187(2011).
16. Franklin, N. M., Rogers, N. J., Apte, S. C., Batley, G. E., Gadd, G. E. and Casey, P. S., "Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a fresh water microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility," *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 8484~8490 (2007).
17. Tao, X., Fortner, J. D., Zhang, B., He, Y., Chen, Y. and Hughes, J. B., "Effects of aqueous stable fullerene nanocrystals (nC₆₀) on *Daphnia magna*: Evaluation of sub-lethal reproductive responses and accumulation," *Chemosphere*, **77**, 1482~1487(2009).
18. Tao, X., He, Y., Zhang, B., Chen, Y. and Hughes, J. B., "Effects of aqueous stable fullerene nanocrystals (nC₆₀) on *Daphnia magna*: Evaluation of hop frequency and accumulations under different conditions," *J. Environ. Sci.*, **23**, 322~329(2011).
19. Tervonen, K., Waissi, G., Petersen, E. J., Akkanen, J. and Kukkonen, J. V., "Analysis of fullerene-C₆₀ and kinetic measurements for its accumulation and depuration in *Daphnia magna*," *Environ. Toxicol. Chem.*, **29**, 1072~1078(2010).
20. Zhu, X., Chang, Y., and Chen, Y., "Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticles aggregates in *Daphnia magna*," *Chemosphere*, **78**, 209~215(2010).
21. Kim, K. T., Klaine, S. J., Cho, J., Kim, S.-H. and Kim, S. D., "Oxidative stress responses of *Daphnia magna* exposed to TiO₂ nanoparticles according to size fraction," *Sci. Total Environ.*, **408**, 2268~2272(2010a).
22. Spohn, P., Hirsch, C., Hasler, F., Bruinink, A., Krug, H. F. and Wick, P., "C₆₀ fullerene: A powerful antioxidant or a damaging agent? The importance of an in-depth material characterization prior to toxicity assays," *Environ. Pollut.*, **157**, 1134~1139(2009).
23. Darbrunz, A., Duester, L., Prasse, C., Seitz, F., Risenfeldt, R., Schilde, C., Schaumann, G. E. and Schulz, R., "Biological surface coating and molting inhibition as mechanisms of TiO₂ nanoparticle toxicity in *Daphnia magna*," *Plos One*, **6**, e20112(2011).
24. Zhu, X., Zhu, L., Lang, Y. and Chen, Y., "Oxidative stress and growth inhibition in the freshwater fish *Carassius auratus* induced by chronic exposure to sublethal fullerene aggregates," *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, 1979~1985 (2008a).
25. Henry, T. B., Menn, F.-M., Fleming, J. T., Wilgus, J., Compton, R. N. and Sayler, G., "Attributing effects of aqueous C₆₀ nano-aggregates to tetrahydrofuran decomposition products in larval zebrafish by assessment of gene expression," *Environ. Health Perspect.*, **115**, 1059(2007).
26. Zhu, X., Wang, J., Zhang, X., Chang, Y. and Chen, Y., "The impact of ZnO nanoparticle aggregates on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*)," *Nanotechnology*, **20**, 195103(2009b).
27. Johnston, B. D., Scown, T. M., Moger, J., Cumberland, S. A., Baalousha, M., Linge, K., van Aerle, R., Jarvis, K., Lead, J. R. and Tyler, C. R., "Bioavailability of Nanoscale Metal Oxides TiO₂, CeO₂, and ZnO to Fish," *Environ. Sci. Technol.*, **44**, 1144~1151(2010).
28. Bai, W., Zhang, Z., Tian, W., He, X., Ma, Y., Zhao, Y. and Chai, Z., "Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism," *J. Nanopart. Res.*, **12**, 1645~1654(2010).
29. Blckley, T. M. and McClellan-Green, P., "Toxicity of aqueous fullerene in adult and larval *Fundulus heteroclitus*," *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, 1964~1971(2008).
30. Kim, K.-T., Jang, M.-H., Kim, J.-Y. and Kim, S. D., "Effect of preparation methods on toxicity of fullerene water suspensions to Japanese medaka embryos," *Sci. Total Environ.*, **208**, 5606~5612(2010b).
31. Usenko, C. Y., Harper, S. L. and Tanguay, R. L., "In vivo evaluation of carbon fullerene toxicity using embryonic zebrafish," *Carbon*, **45**, 1891~1898(2007).

32. Zhu, X., Zhu, L., Duan, Z., Qi, R., Li, Y. and Lang, Y., "Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage," *J. Environ. Sci. Heal. A*, **43**, 278~284(2008b).
33. Kim, E., Kim, S.-H., Kim, H.-C., Lee S. G., Lee, S. J. and Jeong, S. W., "Growth inhibition of aquatic plant caused by silver and titanium oxide nanoparticles," *Toxicol. Environ. Health*, **3**, 1~6(2011).
34. Lovern, S. B., Strickler, J. R. and Klaper, R., "Behavioral and physiological changes in *Daphnia magna* when exposed to nanoparticle suspensions (Titanium dioxide, Nano-C₆₀, and C₆₀HxC₇₀Hx)," *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 4465~4470(2007).
35. Zhu, X., Zhu, L., Chen, Y., and Tian, S., "Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna*," *J. Nanopart Res.*, **11**, 67~75(2009a).
36. Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H. C., and Kahru, A., "Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*," *Chemosphere*, **71**, 1308~1316(2008).
37. Zhu, S., Oberdorster, E. and Haasch, M. L., "Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C₆₀) in two aquatic species, *Daphnia* and fathead minnow," *Mar. Environ. Res.*, **62**, S5~S9(2006).
38. Cho, M., Fortner, J. D., Hughes, J. B. and Kim, J.-H., "*Escherichia coli* inactivation by water-soluble, ozonated C₆₀ derivative: kinetics and mechanisms," *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 7410~7415(2009).
39. Lyon, D. Y., Brunet, L., Hinkal, G. W., Wiensner, M. R. and Alvarez, P. J. J., "Antibacterial activity of fullerene water suspension (nC₆₀) is not due to ROS-mediate damage," *Nano Lett.*, **8**, 1539~1543(2008).
40. Cho, M., Chung, H., Choi, W. and Yoon, J., "Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection," *Water Res.*, **38**, 1096~1077(2004).
41. Banoee, M., Sief, S., Nazari, Z. E., Jafari-Fesharaki, P., Shahverdi, H. R., Moballegh, A., Moghaddam, K. M. and Shahverdi, A. R., "ZnO nanoparticles enhanced antibacterial activity of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*," *J. Biomed Mater Res. B.*, **93**, 557~561(2010).
42. Roy, A. S., Parveen, A., Koppalkar, A. R. and Prasad, M. V. N. A., "Effect of nano-titanium dioxide with different antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*," *J. Biomat Nanobiotechnol.*, **1**, 37~41(2010).
43. Wahab, R., Kim, Y. S., Mishra, A., Yun, S.-I. and Shin, H.-S., "Formation of ZnO micro-flowers prepared via solution process and their antibacterial activity," *Nanoscale Res. Lett.*, **5**, 1675~1681(2010).
44. Baek, Y.-W. and An, Y.-J., "Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*," *Sci. Total Environ.*, **409**, 1603~1608(2011).
45. Hu, X., Cook, S., Wang, P. and Hwang, H., "In vitro evaluation of cytotoxicity of engineered metal oxide nanoparticles," *Sci. Total Environ.*, **407**, 3070~3072(2009).
46. Wang, Z., Lee, Y.-H., Wu, B., Horst, A., Kang, Y., Tang, Y. J. and Chen D.-R., "Anti-microbial activities of aerosolized transition metal oxide nanoparticles," *Chemosphere*, **80**, 525~529(2010).
47. Jiang, W., Mashayekhi, H. and Xing, B., "Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles," *Environ. Pollut.*, **157**, 1619~1625(2009).
48. Wang, H., Wick, R. L. and Xing, B., "Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al₂O₃ and TiO₂ to the nematode *Caenorhabditis elegans*," *Environ Pollut.*, **157**, 1171~1177(2009).
49. Roh, J.-Y., Park, Y.-K., Park, K. and Choi, J., "Ecotoxicological investigation of CeO₂ and TiO₂ nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using gene expression, growth, fertility and mortality as endpoints," *Environ. Toxicol. Phar.*, **29**, 167~172(2010).
50. Lin, D. and Xing, B., "Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth," *Environ. Pollut.*, **150**, 243~50(2007).
51. Lin, D. and Xing, B., "Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles," *Environ. Sci. Technol.*, **42**, 5580~5585(2008).
52. Lee, C. W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y.-C., Braam, J. and Alvarez, P. J. J., "Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*," *Environ. Toxicol. Chem.*, **29**, 669~675(2010).
53. Stampoulis, D., Sinha, S. K. and White, J. C., "Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants," *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 9473~9479(2009).
54. Yang, F., Liu, C., Gao, F., Su, M., Wu, X., Zheng, L., Hong, F. and Yang, P., "The improvement of spinach growth by nano-anatase TiO₂ treatment is related to nitrogen photo-reduction," *Biol. Trace Elem. Res.*, **119**, 77~88(2007).
55. Asli, S., Neumann, P. M., "Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport," *Plant Cell Environ.*, **32**, 577~584(2009).
56. Seeger, E. M., Baun, A., Kästner, M. and Trapp, S., "Insignificant acute toxicity of TiO₂ nanoparticles to willow trees," *J. Soil. Sediment.*, **9**, 46~53(2009).
57. Lin, S., Reppert, J., Hu, Q., Hudson, J. S., Reid, M. L., Ratnikova, T. A., Rao, A. M., Luo, H. and Ke, P. C., "Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants," *Small*, **5**, 1128~1132(2009).
58. Li, D., Fortner, J. D., Johnson, D. R., Chen, C., Li, Q. and Alvarez, D. J. J., "Bioaccumulation of ¹⁴C₆₀ by the earthworm *Eisenia fetida*," *Environ. Sci. Technol.*, **44**, 9170~9175(2010).
59. van der Ploeg, M. J. C., Baveco, J. M., van der Hout, A., Bakker, R., Rietjens, I. M. C. M., van den and Brink, N. W., "Effects of C₆₀ nanoparticle exposure on earthworms (*Lumbricus rubellus*) and implications for population dynamics," *Environ. Pollut.*, **159**, 198~203(2011).
60. Laped, E., Nahmani, J. Y., Moudilou, E., Chaurand, P., Labille, J., Rose, J., Exbrayat, J.-M., Oughton, D. H. and

- Joner, E. J., "Ecotoxicological effects of an aged TiO₂ nano composite measured as apoptosis in the anecic earthworm *Lumbricus terrestris* after exposure through water, food and soil," *Environ. Int.*, **37**, 1105~1110(2011).
61. Qi, B., "Acute and reproductive toxicity of nano-sized metal oxides (ZnO and TiO₂) to earthworms (*Eisenia fetida*)," Environmental Toxicology, Texas Tech University, p. 85(2009).
 62. Hu, C. W., Li, M., Cui, Y. B., Li, D. S., Chen, J. and Yang, L. Y., "Toxicological effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil on earthworm *Eisenia fetida*," *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 586~591(2010).
 63. Kool, P. L., Ortiz, M. D., van and Gestel, C. A. M., "Chronic toxicity of ZnO nanoparticles, non-nano ZnO and ZnCl₂ to *Folsomia candida* (Collembola) in relation to bioavailability in soil," *Environ. Pollut.*, **159**, 2713~2719(2011).
 64. Heckmann, L.-H., Hovgaard, M., Sutherland, D., Autrup, H., Besenbacher, F. and Scott-Fordsmand, J., "Limit-test toxicity screening of selected inorganic nanoparticles to the earthworm (*Eisenia fetida*)," *Ecotoxicol.*, **20**, 226~233(2011).
 65. Hooper, H. L., Jurkschat, K., Morgan, A. J., Bailey, J., Lawlor, A. J., Spurgeon, D. J. and Svendsen, C., "Comparative chronic toxicity of nanoparticulate and ionic zinc to the earthworm *Eisenia veneta* in a soil matrix," *Environ. Int.*, **37**, 1111~1117(2011).
 66. Tang, Y. J., Ashcroft, J. M., Chen, D., Min, G., Kim, C.-H., Murkhejee, B., Larabell, C., Keasling, J. D. and Chen F. F., "Charge-associated effects of fullerene derivatives on microbial structural integrity and central metabolism," *Nano Lett.*, **7**, 754~760(2007).
 67. Tong, Z., Bischoff, M., Nies, L., Applegate, B. and Turco, R., "Impact of fullerene (C₆₀) on a soil microbial community," *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 2985~1991(2007).
 68. Aquino, A., Cham, J., Giolma, K., and Loh, M., "The effect of a fullerene water suspension on the growth, cell viability, and the membrane integrity of *Escherichia coli* B23," *JEMI*, **14**, 13~20(2010).
 69. Amezaga-Madrid, P., Sileyra-Morales, R., Cordoba-Fierro, L., Nearez-Moorillon, G. V., Miki-Yoshida, M., Orrantia-Borunda, E. and Solis, F. J., "TEM evidence of ultrastructural alteration on *Pseudomonas aeruginosa* by photocatalytic TiO₂ thin films," *J. Photochem. Photobiolo. B: Biolo.*, **70**, 45~50(2003).
 70. Kasemets, K., Ivask, A., Dubouguier, H.-C. and Kahru, A., "Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae*," *Toxicol. in Vitro.*, **23**, 1116~1122 (2009).
 71. Adams, L. K., Lyon, D. Y., and Alvarez, P. J. J., "Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspension," *Water Res.*, **40**, 3527~3532(2006).
 72. Liu, Y., He, L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z. Q. and Lin, M. "Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7," *J. Appl. Microbiol.*, **107**, 1193~1201(2009).
 73. Sharma, D., Rajput, J., Kaith, B. S., Kaur, M. and Sharma, S., "Synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antibacterial and antifungal properties," *Thin Solid Films*, **519**, 1224~1229(2010).
 74. Sinha, R., Karan, R., Sinha, A., and Khare, S. K., "Interaction and nanotoxic effect of ZnO and Ag nanoparticles on mesophilic and halophilic bacterial cells," *Bioresour. Technol.*, **102**, 1516~1520(2011).
 75. Jin, T., Sun, D., Su, J. Y., Zhang, H. and Sue, H.-J. "Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, and *Escherichia coli* O157:H7," *J. Food Sci.*, **74**, M46~M52(2009).
 76. Ma, H., Bertsch, P. M., Glenn, T. C., Kabengi, N. J. and Williams, P. L., "Toxicity of manufactured zinc oxide nanoparticles in the nematode *Caenorhabditis elegans*," *Environ. Toxicol. Chem.*, **28**, 1324~1330(2009).
 77. Dutta, R. K., Sharma, P. K., Bhargava, R., Kumar, N. and Pandey, A. C., "Differential susceptibility of *Escherichia coli* cells toward transition metal-doped and matrix-embedded ZnO nanoparticles," *J. Phys. Chem.*, **114**, 5594~5599(2010).
 78. Yang, X. Y., Edelmann, R. E. and Oris, J. T., "Suspended C₆₀ nanoparticles protect against short-term UV and fluoranthene photo-induced toxicity, but cause long-term cellular damage in *Daphnia magna*," *Aquat. Toxicol.*, **100**, 202~210 (2010).
 79. Aruoja, V., Dubourguier, H.-C., Kasemets, K. and Kahru, A., "Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*," *Sci. Total Environ.*, **407**, 1461~1468(2009).
 80. Meyer, J. N., Lord, C. A., Yang, X. Y., Turner, E. A., Badireddy, A. R., Marinakos, S. M., Chilkoti, A., Wienser, M. R. and Auffan, M., "Intracellular uptake and associated toxicity of silver nanoparticles in *Caenorhabditis elegans*," *Aquat. Toxicol.*, **100**, 140~150(2010).
 81. Lee, W.-M., Ha, S.-W., Yang, C.-Y., Lee, J.-K. and An, Y.-J., "Effect of fluorescent silica nanoparticles in embryo and larva of *Oryzias latipes*: Sonic effect in nanoparticle dispersion," *Chemosphere*, **82**, 451~459(2011).
 82. Farkas, J., Christian, P., Urrea, J. A. G., Roos, N., Hasselov, M., Tollefsen, K. E. and Thomas, K. V., "Effects of silver and gold nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes," *Aquat. Toxicol.*, **96**, 44~52(2010).
 83. Nagy, L. N., "Preparation and characterization of functional nanostructured thin layers composed of silica, ZnO and core/shell silica/ZnO particles," *Natural Science, Budapest University of Technology and Economics*, p. 126(2008).