

Research Article

Open Access

Total petroleum hydrocarbon에 의한 작물의 발아 및 유근생장 저해

임성진, 김진효, 최근형, 권유빈, 김두호, 박병준*

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과

Germination Rate and Radicle Growth Inhibition in Crops by Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)

Sung-Jin Lim, Jin-Hyo Kim, Geun-Hyoung Choi, Yu-bin Kwon, Doo-Ho Kim and Byung-Jun Park* (Chemical Safety Division, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea)

Received: 10 October 2013 / Revised: 26 November 2013 / Accepted: 2 December 2013

© 2013 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

BACKGROUND: Total petroleum hydrocarbons (TPH), which are main materials of soil contamination by oil, are a term used for any mixture of hydrocarbons. Korea Ministry of Environment established the maximum permissible level of TPH in farmland by 500 mg/kg, and reported that the TPH level of soil in 266 installation such as gas station, transport company, and military unit ranged from 1,356 to 55,117 mg/kg and were much higher than the maximum permissible level in 2011.

METHODS AND RESULTS: To determine the effect of TPH on crops, we investigated the effect of gasoline, kerosene, and diesel on the germination and radicle growth of mainly consumed crops. The germination rates of control in investigated all crops ranged from 80.0-100%. The germination and radicle growth in majority of investigated crops were not inhibited even at 2,500 mg/L. However, germination in onion, leek, and green perilla and radicle growth in leek, rape, tomato, and green perilla were significantly inhibited by increasing concentrations of

gasoline, kerosene and diesel treatment. Germination and radicle growth inhibition of green perilla by kerosene and diesel were the highest, the percent inhibition at the 500 mg/L were 100 and 98.6%, 100 and 88.2%, respectively. 50% inhibition of germination in green perilla by kerosene and diesel were 39.96 and 29.87 mg/L, and 50% inhibition of radicle growth were 52.76 and 177.96 mg/L, respectively.

Conclusion(s): These results suggest the possibility that the maximum permissible level of TPH might to be established general level with exception by crops.

Key words: Germination, Maximum permissible level, Radicle growth, Total petroleum hydrocarbons

서론

토양은 농약, 중금속, 폐기물, 유류 등 다양한 물질들에 의해 오염되고 있다. 이중 유류는 휘발성이 큰 가솔린(C₄-C₁₀), 등유(C₉-C₁₃) 및 경유(C₁₀-C₂₈)로 구분할 수 있고, 이들을 총칭하여 석유계총탄화수소(TPH, total petroleum hydrocarbons)로 분류하고 있다. TPH는 석유제품의 사용증가와 사고 등에 의해 토양에서 가장 쉽게 접할 수 있는 오염물질로(Samanta *et al.*, 2002), 식물, 미생물 및 무척추동물에 독성이 강한 것

*교신저자(corresponding author),
Phone: +82-31-290-0521; Fax: +82-31-290-0506;
Email: bjpark@rda.go.kr

으로 알려져 있다(Mendoza, 1998; Andereoni *et al.*, 2004). 이 때문에 TPH를 제트유, 등유, 경유, 병커C유, 운환유, 원유 등으로 인한 토양 오염 여부를 판단하는 기준으로 하고 있으며, 시료 중 탄소수가 짝수인 노말 알칸(C₈-C₄₀) 표준 물질과 시료의 크로마토그램 총면적을 비교하여 TPH를 정량한다(Pyo *et al.*, 1998).

우리나라 환경부는 토양환경보전법을 1996년에 제정하여 TPH를 유류에 의한 토양오염 분석항목으로 규정하였고, 2002년부터는 석유류 제조·저장 시설과 송유관 시설에 대해 TPH 분석을 실시하도록 하고 있으며, 농경지에 대한 TPH의 토양오염우려기준과 토양오염대책기준을 각각 500 및 2,000 mg/kg으로 규정하고 있다(KME, 2009).

최근에 환경부는 특정토양오염대상관리대상시설 현황 및 토양오염조사결과와 보고서에서 주유소, 운수회사 및 군부대 등 266 개소 토양 TPH 오염수준이 1,356 to 55,117 mg/kg으로 토양오염우려기준을 크게 초과하였음을 보고하였고, 환경통계연감에서 오염우려지역으로 지정된 2,470 곳 중 폐기물 적치·매립·소각 등 지역 410 곳과 교통관련시설지역 343 곳에서 최고 3,286.51 mg/kg의 TPH 오염사례를 보고하였다(KME, 2011, 2012).

한편 중국 광저우 석유화학공단 주변 농경지의 TPH의 오염수준이 1,179.3-6,354.9 mg/kg의 범위로 평균 2,676.6 mg/kg이고(Li *et al.*, 2012), 옥수수과 밀에 있어서의 TPH에 의한 발아 및 유근생장 50% 저해 농도가 3.04와 2.86%, 1.11과 1.64%로 보고된 바 있으나(Tang *et al.*, 2011), TPH에 의한 특정오염대상관리대상시설 주변 농경지에 대한 토양오염실태와 이들 농도에 따른 작물의 피해사례는 많이 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 농경지에서 재배되는 벼 등 13 개의 다소비 작물을 선정하여 TPH 농도에 따른 작물의 발아 및 유근생장에 끼치는 영향을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

본 연구에 사용된 다소비작물 대두(*Glycine max* L.), 강낭콩(*Phaseolus vulgaris* L.), 배추(*Brassica campestris* L.), 유채(*Brassica napus* L.), 상추(*Lactuca sativa* L.), 무(*Raphanus sativus* L.), 파(*Allium fistulosum* L.), 양파(*Allium cepa* L.), 브로콜리(*Brassica oleracea* var. *italica*), 들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* (Hassk.) Hara), 토마토(*Lycopersicon esculentum* Mill.) 및 고추(*Capsicum annuum* L.) 종자는 (주) 다농으로부터 구매하여 사용하였고, 벼(*Oryza sativa* L.) 종자는 농촌진흥청 답작과로부터 일품벼를 분양 받아 사용하였다. 휘발유, 등유 및 경유는 수원 소재 주유소에서 구매하여 사용하였다. 또한 휘발유, 등유 및 경유 희석을 위한 Tween 20과 80 및 polyethylene glycol (PEG) 6,000은 Junsei (Tokyo, Japan)로부터 구매하여 사용하였다.

계면활성제 및 종자침지시간 선정

휘발유, 등유, 경유의 농도에 의한 종자 발아 및 유근생장에 대한 영향을 평가하기 위해 소수성인 휘발유, 등유 및 경유의 희석이 필요하였다. 이를 위해 Tween 20과 80 및 PEG 6,000을 각각 1, 5 및 10% 용액으로 제조하여 계면활성능을 조사하고, 계면활성제의 종자발아에 대한 영향과 침지시간을 결정하기 위해 들깨 종자 50 립을 휘발유, 등유 및 경유 2,500 mg/L 용액에 3, 6, 9, 12 및 24 시간 침지한 후 솜을 깎 Petri dish에 옮겨 증류수 10 mL를 가하고, 항온기 (23±2°C, relative humidity 60%, dark condition)에서 발아시켰다. 발아의 기준은 싹이 튼 눈의 길이가 1 mm 이상인 것을 발아한 것으로 간주하여 발아율을 조사하였다(Shin *et al.*, 2010).

발아율 및 유근생장 조사

발아종자 50 립을 각각의 휘발유, 경유 및 등유 (0, 50, 100, 500 및 2,500 mg/L 10% PEG⁻¹) 용액에 6 시간 침지한 후 침지시간 결정 방법과 동일하게 발아시킨 후 발아율을 조사하였다. 이와 더불어 자라난 종자의 유근 길이를 Vernier Caliper로 측정하여 대조구 대비 백분율 (%)로 나타냈다 (Shin *et al.*, 2010). 본 시험에 사용된 작물의 발아온도 및 발아일수는 Table 1에 나타났다.

Table 1. The most commonly consumed crops used in this study

Crops		Germinati on temp. (°C)	Germinat ion time (days)	Germinati on rate (%)
Grains and legumes	<i>O. sativa</i>		7	100.0±0.0
	<i>G. max</i>	23±2	3	99.0±1.7
	<i>P. vulgaris</i>		3	95.0±5.0
Vegetable	<i>B. campestris</i>		3	96.7±2.3
	<i>B. napus</i>		2	90.7±4.6
	<i>L. sativa</i>		4	80.0±0.0
	<i>R. sativus</i>		2	92.7±3.1
	<i>A. fistulosum</i>	23±2	5	88.0±4.0
	<i>A. cepa</i>		5	90.7±4.6
	<i>B. oleracea</i>		3	80.0±4.0
	<i>P. frutescens</i>		4	94.7±4.6
	<i>L. esculentum</i>		3	86.7±6.1
	<i>C. annuum</i>		12	93.3±6.1

The data represent the mean values ±SD of three replicates.

데이터 분석

모든 시험에서 얻어진 결과는 SPSS 12.0K (IBM Korea, Seoul, Korea)를 이용하여 휘발유, 등유 및 경유 처리구와 대조구간 유의차 검정을 신뢰도 95% 수준에서 Dunnett 검정으로 실시하였다. 또한 휘발유, 등유 및 경유의 발아 50% 저해 농도(50% inhibition of germination, GI₅₀)를 구하기

위하여 log-logistic model을 사용하여 SPSS Probit 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

처리수준 설정

우리나라 환경부는 토양오염공정시험법에서 농경지에 대한 TPH의 토양오염우려기준을 500 mg/kg로 설정하고 있다. 따라서 본 연구에서는 13 개 다소비작물에서의 발아와 유근생장 대한 휘발유, 등유 및 경유의 영향을 평가하고자 이 기준으로 부터 1/10-5 배에 이르는 50, 100, 500, 2,500 mg/L을 시험농도로 설정하였다.

계면활성제 및 침지시간 설정

휘발유, 등유 및 경유를 본 연구에서 사용된 최고수준 2,500 mg/L이 되도록 Tween 20과 80 및 PEG 6,000을 1, 5 및 10% 용액으로 각각 희석하였다. Tween 20과 80, PEG 6,000의 1과 5% 용액은 본 연구에서 사용된 최고농도인 2,500 mg/L 수준의 휘발유, 등유 및 경유를 혼화시키지 못했고, Tween 20과 80의 10% 용액은 종자발아를 현저히 저해하거나 종자를 부패시켰다. 따라서 종자발아에 영향이 없고 혼화도가 양호한 PEG 6,000 10% 용액을 희석용매로 하였다.

또한, 작물에 대한 휘발유, 등유 및 경유의 발아저해 시험

을 위한 종자침지시간을 결정하기 위해 10% PEG 6,000을 사용하여 2,500 mg/L 수준으로 희석하고, 각각의 용액에 들개 종자를 3-24 시간 동안 침지한 다음 Petri dish로 옮겨 4 일 후 발아율을 조사하였다. 대조구인 10% PEG 6,000에 침지한 종자는 침지시간의 경과와 무관하게 97.3-98.0%의 일정한 발아율을 보였다. 한편, 휘발유, 등유 및 경유에 침지한 종자는 침지 3 시간부터 96% 이상 발아가 저해되었고, 침지시간의 경과에 따른 차이는 없었다(Table 2). 이 결과로부터 발아와 유근생장 저해시험을 위한 종자 침지시간을 6시간으로 설정하였다.

TPH에 의한 발아와 유근생장 저해

본 연구에 사용된 다소비 13 작물은 대조구인 10% PEG 6,000 용액에서 작물 간 차이는 있었으나 80.0-100.0% 수준의 높은 발아율을 나타냈다. 배추, 무, 대두, 토마토, 브로콜리, 강낭콩, 양배추, 상추, 고추 및 벼의 발아율은 토양오염우려기준의 5 배 농도인 2,500 mg/L 수준에서도 휘발유, 등유 및 경유처리 모두 대조구와 현저한 차이를 나타내지 않았고, 2,500 mg/L 수준의 휘발유(유채, 무, 토마토 및 양배추), 등유(유채, 무, 양배추) 및 경유처리(유채)에서만 15.8-47.1% 발아가 저해되었다(Table 3).

Table 2. Germination changes of *Perilla frutescens* var. japonica (Hassk.) Hara by immersion times in 2,500 mg/L gasoline, kerosene, and diesel solution

Time (hr)	Control	Gasoline	Kerosene	Diesel
0	98.0±2.0	98.0±2.0	98.0±2.0	98.0±2.0
3	97.3±1.2	4.0±0.0*	1.3±1.2*	0.7±1.2*
6	97.3±2.3	2.7±1.2*	0.7±1.2*	2.0±2.0*
9	97.3±1.2	2.0±0.0*	0.7±1.2*	0.7±1.2*
12	98.0±2.0	1.3±1.2*	0.7±1.2*	0.7±1.2*
24	97.3±1.2	0.7±1.0*	1.3±1.2*	0.0±0.0*

The data represent the mean values ±SD of three replicates.

* Significantly different from non-immersed control ($P<0.05$).

Table 3. Germination and radicle growth inhibition by gasoline, kerosene, and diesel

Crop	Gasoline (mg/L)				Kerosene (mg/L)				Diesel (mg/L)			
	50	100	500	2,500	50	100	500	2,500	50	100	500	2,500
<i>O. sativa</i>	97.3	98.7	100.0	98.7	100.0	97.3	98.7	97.3	100.0	98.7	97.3	97.3
<i>G. max</i>	101.0	99.0	99.0	99.0	99.0	98.0	99.0	99.0	99.0	101.0	100.0	100.0
<i>P. vulgaris</i>	87.7	96.5	98.2	89.5	100.0	96.5	94.7	94.7	93.0	89.5	93.0	94.7
<i>B. campestris</i>	99.3	98.6	97.2	95.2	95.2	98.6	96.6	95.9	97.2	97.2	97.2	100.0
<i>B. napus</i>	97.6	98.0	96.4	84.2	91.2	102.9	98.5	88.2	86.8	77.9	77.9	52.9
<i>L. sativa</i>	103.3	100.0	95.0	81.7	103.3	105.0	101.7	95.0	108.3	106.7	95.0	100.0
<i>R. sativus</i>	101.4	100.0	98.6	84.2	102.2	98.6	94.2	87.1	99.3	99.3	100.0	100.0
<i>B. oleracea</i>	103.3	108.3	100.0	91.7	103.3	110.0	106.7	101.7	115.0	93.3	108.3	110.0
<i>L. esculentum</i>	101.5	96.9	97.7	83.1	104.6	103.1	95.4	107.7	98.5	109.2	101.5	103.1
<i>C. annuum</i>	97.1	101.4	95.7	100.0	98.6	100.0	90.0	101.4	104.3	101.4	88.6	97.1

	<i>O. sativa</i>	98.6	98.6	101.4	102.0	99.3	97.3	91.2	87.8	104.1	105.4	106.1	100.0
	<i>G. max</i>	89.0	96.3	97.0	101.2	99.4	93.3	98.2	100.6	97.0	92.7	97.0	100.0
	<i>P. vulgaris</i>	90.3	90.3	88.5	89.4	95.6	98.2	81.4	85.8	93.8	102.7	92.0	94.7
	<i>B. campestris</i>	93.7	94.4	94.4	88.7	93.7	94.4	94.4	88.7	98.6	101.4	95.1	95.1
Radicle growth	<i>L. sativa</i>	83.8	82.9	80.0	72.4	84.8	86.7	83.8	69.5	97.1	93.3	81.9	64.8
	<i>R. sativus</i>	102.5	99.2	102.5	83.1	102.5	106.8	96.6	91.5	101.7	97.5	98.3	84.7
	<i>A. cepa</i>	94.7	101.3	93.4	84.2	94.7	101.3	93.4	84.2	98.7	100.0	96.1	86.8
	<i>B. oleracea</i>	100.8	86.8	85.3	86.0	98.4	93.0	86.8	82.2	90.7	94.6	92.2	85.3
	<i>C. annuum</i>	103.4	97.7	98.9	98.9	100.0	94.3	97.7	97.7	100.0	97.7	88.5	87.4

The data represent % of the control.

한편 양파는 TPH의 토양오염우려기준인 500 mg/L 수준부터 발아가 저해되었고, 파와 들깨는 이 기준의 1/10에 해당하는 50 mg/L 수준부터 발아가 저해되었다(Fig. 1). 이들은 처리농도가 증가함에 따라 발아저해율도 증가하였고, 양파의 경우 500 mg/L 경유처리에서 36.8% 저해되었다(Fig. 1). 파와 들깨는 각각 50 mg/L 등유, 등유와 경유처리에서부터 발아가 현저히 저해되어 500 mg/L의 등유와 경유처리에서 각각 대조구 대비 62.1과 57.6%, 100과 98.6% 저해되었고, 그 정도는 파보다 들깨에서 더 크게 나타났다(Fig. 1). 또한 들깨는 4-5 일에 발아하여 유근이 13 mm 이상 성장하지만 등유와 경유처리로 인해 발아하지 않은 종자는 15 일이 경과하여도 발아하지 않았고, 발아저해가 가장 현저한 들깨로부터 산출한 발아 50% 저해 농도는 등유와 경유처리에서 각각 39.96과 29.87 mg/L 이었다.

휘발유, 등유 및 경유처리에 의한 유근생장은 발아의 결과와 동일하게 토양오염우려기준의 5 배 농도인 2,500 mg/L 에서도 대부분의 작물은 저해되지 않았고(Table 3), 파, 유채, 토마토 및 들깨에서만 현저히 저해되었다. 유채는 TPH의 토양오염우려기준인 500 mg/L 부터 유근생장이 저해되었고, 파, 토마토 및 들깨는 이 기준의 1/10에 해당하는 50 mg/L 에서도 유근생장이 저해되었다(Fig. 2). 유근생장 저해율은 처리농도가 증가함에 따라 증가하였고, 시험작물 중 유채는 500 mg/L 등유와 경유처리에서 각각 25.6과 31.7% 저해되었다(Fig. 2). 파와 들깨는 각각 50 mg/L 등유처리, 토마토는 동일 수준의 휘발유, 등유 및 경유처리에서 현저히 유근생장이 저해되었고, 500 mg/L 에서 파와 토마토는 휘발유, 등유 및 경유처리에서 각각 대조구 대비 31.2, 45.3 및 53.1%와 42.6, 42.6 및 40.4%, 들깨는 등유와 경유처리에서 각각 100과 88.2%가 저해되었다(Fig. 2). 또한 유근생장이 가장 현저한 들깨로부터 산출한 유근생장 50% 저해 농도는 등유와 경유처리에서 각각 52.8과 178.0 mg/L 이었다.

이상의 TPH에 의한 발아저해와 유근생장저해는 옥수수과 밀에서의 발아 및 유근생장 50% 저해 농도 3.0와 2.9%, 1.1과 1.6%에 비해 현저히 낮았다(Tang et al., 2011). 이러한 차이는 본 연구의 들깨 등 13 개 종자 발아율, 등유에 의한 옥수수 등 62 개 종자 발아율(Sharonova and Breus, 2012.) 및 경유에 의한 유채 등 25 개 종자 발아율(Adam

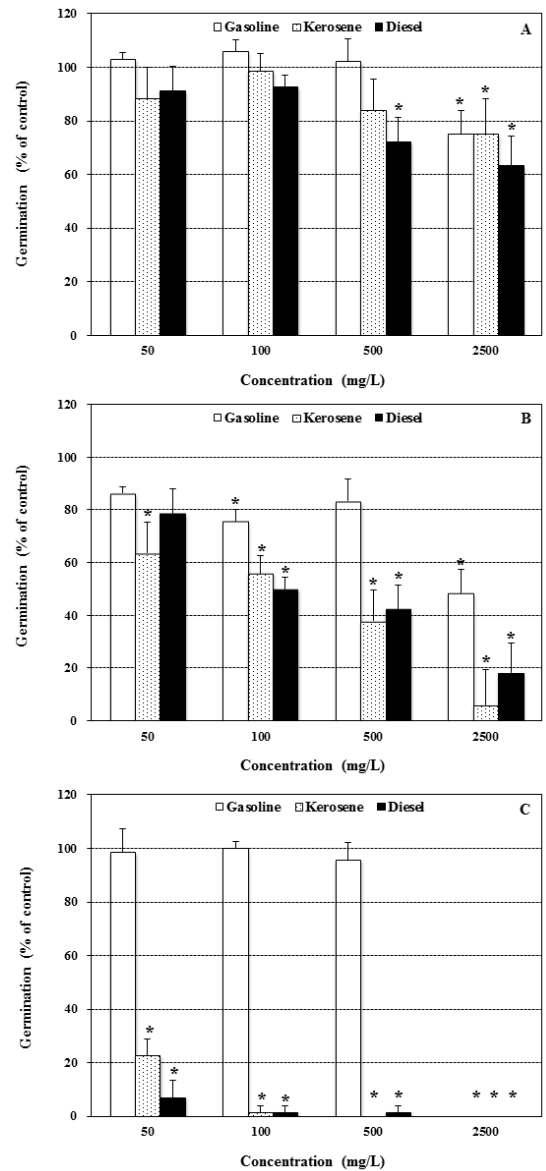


Fig. 1. Germination inhibition by gasoline, kerosene, and diesel in *Allium cepa* L. (A), *Allium fistulosum* L. (B), and *Perilla frutescens* var. japonica (Hassk.) Hara (C). Vertical bars \pm SD of the means. *Significantly different from control (P<0.05)

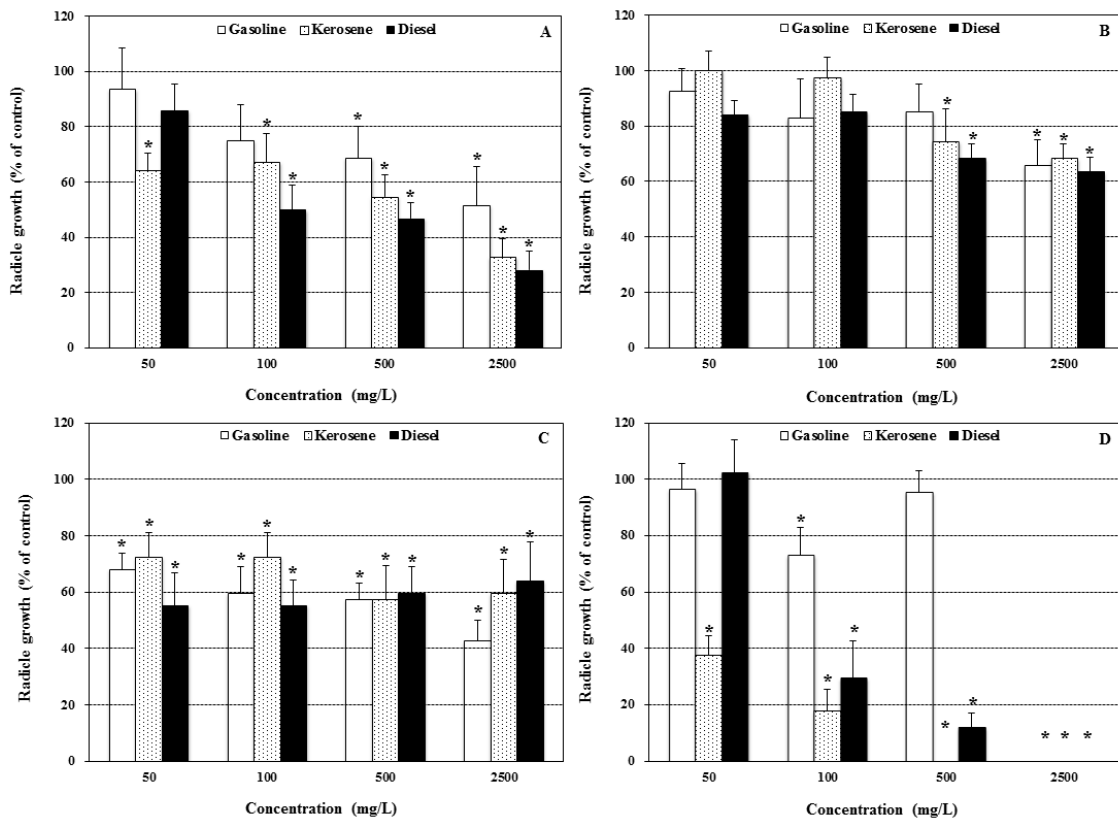


Fig. 2. The inhibition of radicle growth by gasoline, kerosene, and diesel in *Allium fistulosum* L. (A), *Brassica napus* L. (B), *Lycopersicon esculentum* Mill. (C), and *Perilla frutescens* var. japonica (Hassk.) Hara (D). Vertical bars \pm SD of the means. *Significantly different from control ($P < 0.05$).

and Duncan, 2002)의 차이가 현저했던 점에서 TPH에 대한 작물들의 감수성 차이에 기인한 것으로 사료된다.

이상의 결과는 몇몇 작물에서 발아율과 유근생장이 TPH의 토양오염우려기준 이하의 농도에서 현저히 저해됨을 나타냈다. 또한, TPH의 작물발아와 유근생장에 대한 영향은 작물마다 다르고, 동일 작물에서도 휘발유보다 탄소수가 많은 TPH를 함유한 등유와 경유처리에서 저해정도가 더 크게 나타났다. 따라서 이에 대한 감수성 차이의 원인 규명과 실제 토양에서의 TPH 농도에 따른 작물생육 평가 등 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (PJ 009219)", Rural Development Administration and "Research Program for Agricultural Science & Technology Development (PJ009301)" and "Postdoctoral Fellowship Program of Chemical Safety Division", National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Adam, G., Duncan, H., 2002. Influence of diesel fuel on seed germination, *Environ. Pollut.* 120, 363-370.
- Andreoni, V., Cavalca, L., Rao, M.A., Nocerino, G., Bernasconi, S., Dell'Amico, E., Colombo, M., Gianfreda, L., 2004. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils, *Chemosphere.* 57, 401-412.
- Li, J., Zhang, J., Lu, Y., Chen, Y., Dong, S., Shim, H., 2012. Determination of total petroleum hydrocarbons (TPH) in agricultural soils near a petrochemical complex in Guangzhou, China, *Environ. Monit. Assess.* 184, 281-287.
- Mendoza, R.E., 1998. Hydrocarbon leaching, microbial population, and plant growth in soil amended with petroleum, *J. Biorem.* 3, 223-231.
- KME, 2009. *Soil Environment Conservation Act*, Korea Ministry of Environment, Sejong, Korea.
- KME, 2011. *Current of Special Soil Contamination Management Facility*, Korea Ministry of Environment, Sejong, Korea.
- KME, 2012. *Environmental Statistics Yearbook*, Korea

- Ministry of Environment, Sejong, Korea.
- Pyo, H.S., Park, S.J., Park, S.S., Hong, J.E., Lee, K.J., 1998. A study of analytical methods for oils in contaminated soil, *J. Soil Groundwa. Environ.* 3, 3-12.
- Samanta, S.K., Singh, O.V., Jain, R.K., 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation, *Trends Biotechnol.* 20, 243-248.
- Sharonova, N., Breus, I., 2012. Tolerance of cultivated and wild plants of different taxonomy to soil contamination by kerosene, *Sci. Total Environ.* 424, 121-129.
- Shin, W.J., Lee, Y.J., Son, B.G., Kang, J.S., Lee, Y.J., Park, Y.H., Lee, Y.G., Kim, Y.C., Choi, I.S., Kim, S.T., Choi, Y.W., 2010. Effect of lignans from *Schisandra chinensis* Baillon on seed germination in pepper, *J. Life Sci.* 20, 430-436.
- Tang, J., Wang, M., Wang, F., Sun, Q., Zhou, Q., 2011. Eco-toxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil, *J. Environ. Sci.* 23, 845-851.