

수경재배조건에서 다년생 벼과식물(물억새 및 갈풀)에 의한 RDX 흡수 및 분해 Uptake and Transformation of RDX by Perennial Plants in Poaceae Family (Amur Silver Grass and Reed Canary Grass) under Hydroponic Culture Conditions

박지은 · 배범한[†]
Jieun Park · Bumhan Bae[†]

가천대학교 토목환경공학과
Department of Civil & Environmental Engineering, Gachon University

(2014년 2월 12일 접수, 2014년 3월 19일 채택)

Abstract : Amur silver grass (*Miscanthus sacchariflorus*) and reed canary grass (*Phalaris arundinacea*) were selected for RDX removal experiments in hydroponic culture conditions based on vegetation survey at three shooting ranges in northern Kyunggi province. Seedling of two plants were grown in 1/4 strength Hoagland solution in quadruplicates containing 10, 20, 30, 40 mg/L RDX for 15 days along with control and blank treatments. During the 15 days of incubation, pH and RDX concentration in medium were routinely analyzed and RDX contents in the shoot and the root were determined after solvent extraction at the end of the experiments. Both plant species showed no symptoms of RDX phyto-toxicity. The pseudo first order RDX-removal constants for amur silver grass and reed canary grass were in the range of 0.0143~0.0484 day⁻¹ and 0.0971~0.1853 day⁻¹, respectively. Plant biomass normalized RDX removal rates, which decreased with the increase of initial RDX concentration, were in the range of 0.27~1.01 mL·g⁻¹·day⁻¹ and 0.87~1.66 mL·g⁻¹·day⁻¹ for amur silver grass and reed canary grass, respectively. After 15 days of treatment, RDX removal from the medium decreased from 49.0% to 23.7% with increase in the initial RDX concentration in amur silver grass and 7.3% of the initial RDX remained in the plant. In reed canary grass planted medium, less than 16.8% and 5% of the initial RDX remained in the medium and in the plant, respectively. Large quantities of unidentified polar compound, which was not detected in amur silver grass, accumulated in the root and shoot of reed silver grass.

Key Words : Explosives, RDX, Phytoremediation, Perennial Plants, Uptake, Removal Rate

요약 : 경기도 북부에 위치한 3개 사격장 식생조사를 통해 우점 식물인 물억새와 갈풀을 수경재배조건에서의 RDX 흡수실험 대상 식물로 선정하였다. 화약물질 비오염토에서 재배한 두 종 식물의 유식물을 사용하여 대조군, 무처리군 및 RDX 농도 10, 20, 30 및 40 mg/L인 1/4 Hoagland 용액에서 4배수로 수경재배하였다. 실험기간 15일 동안 배양액을 주기적으로 채취하여 pH와 RDX 농도를 관측하고, 실험이 종료된 다음에는 식물체 내 RDX를 추출하여 지상부 및 지하부 내 함량을 측정하였다. RDX에 노출된 기간 동안, 두 종의 식물에서 RDX에 의한 어떤 식물독성도 보이지 않았다. RDX에 대한 유사1차반응 제거상수는 물억새와 갈풀에서 각각 0.0143~0.0484 day⁻¹ and 0.0971~0.1853 day⁻¹의 범위이었다. 식물체량에 평균화한 RDX 제거 상수는 RDX 초기농도에 따라 감소하였고, 물억새와 갈풀에서 각각 0.27~1.01 mL·g⁻¹·day⁻¹ and 0.87~1.66 mL·g⁻¹·day⁻¹의 범위에 있는 것으로 산정되었다. 처리 15일 후, 물억새 처리구에서 반응조 용액 내 RDX 제거비율은 초기 RDX 농도가 증가함에 따라 49.0%에서 23.7%로 감소하였고 평균 7.3%의 RDX는 식물체내 잔류하였다. 갈풀을 식재한 반응조에서 초기 RDX량의 16.8% 및 5%가 각각 반응조 내 용액과 식물체에 잔류하였다. 물억새에서는 발견되지 않았던 미확인 극성물질이 갈풀 지상부 및 지하부에서 다량 검출되었다.

주제어 : 화약물질, RDX, 식물상정화, 다년생 식물, 흡수, 제거율

1. 서론

화약물질은 화약 및 탄약 제조공장, 군사격장 및 폐탄 처리장 등과 같이 화약물질을 생산·사용·폐기하는 곳에서만 배출되는 특수한 화학물질이다. 현재 가장 널리 사용되는 화약물질은 Fig. 1과 같은 TNT (2,4,6-trinitrotoluene), RDX (1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine) 및 HMX (1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocane)로 폭발 시 발생하는 충격과 속도가 빨라 high explosives(고폭 화약)라고 하며, 포탄 용도에 따라 함량을 달리하여 포탄 장약 혹은 추진제(propellant)로 사용된다. 화약물질은 수생태계 생물, 토양 생물, 포유류 및 인체를 포함

하는 거의 모든 생물에 대하여 최기형성, 발암성을 가진 물질로 유전독성과 세포독성을 동시에 가지고 있어,¹⁻⁴⁾ 미국, 영국, 호주, 캐나다, 뉴질랜드 등의 외국에서는 상호 기술 협력 및 교류를 통해 해당 국가에 화약물질 환경기준을 설정하고 배출 저감 및 정화를 위한 기술개발 협력 사업을 수행하고 있다.⁵⁾

산업시설과 달리 사격장에서는 사격훈련과정에서 화약물질이 배출된다. 실사격 훈련에서 Composition B (RDX 59.5%, TNT 39.5% 및 1% wax 함유) 2,990 g으로 충전된 120 mm HE 박격포탄과 화약물질 358 g의 60 mm HE 박격포탄이 완전 폭발되어도 각각 19 mg과 50 ug의 화약물질이 토양 내 잔류하였고, 불완전 폭발이 되면 잔류 화약물질량은 300 g

[†] Corresponding author E-mail: bhbae@gachon.ac.kr Tel: 031-750-5429 Fax: 031-750-5344

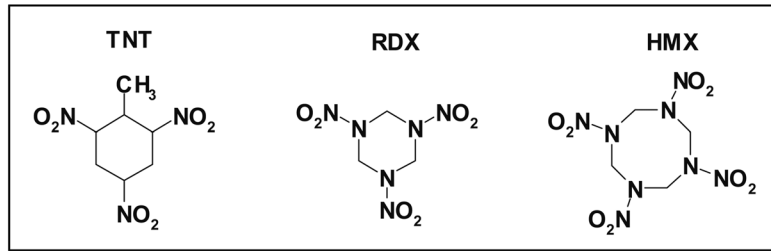


Fig. 1. The chemical structure of three major high explosive compounds.

이상으로 급증하였다.^{6,7)} 폭발 후 지표면에 강한 화약물질은 사격장 토양을 오염시키고, 지하수로 이동하거나, 강수 시 오염토사가 표면 유출되어 하천으로 유입된다.⁸⁾

현재 운영 중인 사격장은 화약물질이 지속적으로 유입되므로 정화보다는 유출 저감을 적용해야 하고, 사격장 주변의 넓은 부지, 불발탄 위해로 인한 작업자 안전문제 및 정화비용, 시설관리 등을 고려하면 능동적 공법보다는 현장 조건을 최대한 활용할 수 있는 식물상정화와 같은 자연적 유출저감시설이 적합하다. 화약물질의 Log Kow (TNT 1.86 및 RDX 0.86)은 식물상정화공법에 적합한 범위로,⁹⁾ 식물 잎 끝단이 타거나, 낙엽, 백화현상, 괴사 등의 식물독성이 있음에도 불구하고 수중식물, 수생식물, 초본 및 목본 등에 의한 흡수 및 분해가 보고되었는데, TNT는 식물이 흡수한 다음 뿌리에, RDX는 주로 지상부에 저장되었다.¹⁰⁾ 특히 잡종 포플러에 의한 화약물질 흡수, 저장 및 분해 기작에 대한 연구가 가장 광범위하게 수행되었는데, 포플러는 뿌리에서 RDX를 흡수한 다음 지상부로 운송하고, 운송과정에서 온전한 식물체에 의한 RDX의 환원이 발생하며, 지상부 앞에서 햇빛이 관여하는 식물광분해로 C1 부산물을 생성한 다음, 다시 온전한 식물체에 의해 C1 화합물이 무기화되었다.¹¹⁾

국내에서도 어저귀 및 자귀풀과 같은 일년생 초본과 목본인 잡종 포플러에 의한 화약물질 제거 공법이 연구되었다.¹²⁻¹⁴⁾ 상기의 일년생 초본은 다수의 경기도 북부지역 군사격장 화약물질 유출저감시설에 적용된 바 있으나, 적용하는 정화식물이 사격장 하단부의 초지에서 우점종이 될 때까지 매년 식재해야 하고, 작업자의 안전을 위해 식물 식재 전에 실시하는 불발탄 탐사비용이 식재비용보다 높은 문제점이 노출되었다. 이에 경기도 북부 3개 사격장 피탄지 인근의 식생조사를 실시하여 사격장에서 우점하는 다년생 초본을 실험 대상으로 선정하였다. 초본을 선정하는 이유는 사격장에서는 사격 훈련 중에 산불이 빈번히 발생하는데, 목본은 산불에 대해 회복하기 어려운 피해를 입은 다음 다시 성장하는데 수년의 시간이 필요한 반면에 초본은 이듬해 재생되기 때문이다.

현장 식생조사로부터 사격장에 우점하는 식물 중에서 우리나라 전역에서 잘 자라는 다년생 수변식물이며, 생체량이 높은 물억새(amur silver grass, *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Benth.)와 갈풀(Reed canary grass, *Phalaris arundinacea*)을 대상 식물로 선정하고, 수경재배 실험을 통해 화약물질 RDX에 대한 내성을 확인함과 동시에, 화약물질 제거

율을 정량화하여 기존에 연구된 정화식물과 비교하기 위한 실험을 수행하였다. 그 결과 두 식물 모두 RDX를 흡수제거하고 분해할 수 있었으며, RDX 최고 용해도에서도 식물독성이 관찰되지 않아 사격장 현장에서 화약물질 저감에 적합한 식물로 확인되었다.

2. 실험방법 및 분석방법

2.1. 수경재배 실험

수경재배 실험은 이상적인 조건에서 식물이 흡수할 수 있는 RDX의 최대농도를 관측하기 위하여 실시하였다. 실험에 사용된 식물들은 화약물질로 오염되지 않은 토양에 뿌리를 분지하여 약 3개월간 온실에서 재배하였다. 실험에 사용한 식물은 지상부 길이가 약 50 cm이었으며, 성장 상태가 양호한 24개체를 선정하여 실험에 사용하였다. 식물체는 온실에서 실험실로 이송한 다음, 뿌리가 상하지 않도록 주의하며 수돗물로 뿌리를 깨끗이 세척하고 마른 수건으로 수분을 제거한 다음 생체량을 측정하였다. 실험 시작 전에 식물체가 식물성장상에 잘 적응하도록 1/4 농도의 Hoagland 배양액에서 3일간 적응시켰다. 이후 식물체 뿌리를 70% ethanol 용액에 3분간, 3% NaOCl 용액에 3분간 담가 소독하고 멸균한 DIW (18.3 MΩ·cm)로 충분히 세척하였다. 플라스틱 재질의 원통형 1 L 반응조에 500 mL의 RDX 용액(1/4 Hoagland 용액 + RDX)을 넣고, 반응조 용액에서의 미생물 증식을 억제하기 위하여 항생제(streptomycin sulfate)를 250 mg/L로 첨가하였다. 그 다음 반응조에 물억새 혹은 갈풀을 정식하고 뚜껑과 식물체 줄기사이의 공간을 멸균 솜으로 막은 다음 수경재배를 시작하였다.

식물을 정식한 반응조는 식물성장상(Growth chamber)에서 낮/밤은 16시간/8시간, 온도 25 ± 1°C, 습도 70% 조건에서 15일간 배양하였다. 이 때 백색 및 주황색 형광등으로 구성된 광원에서 공급하는 광합성영역의 광자 flux는 300 μmol/m²/s(약 22,000 lux)로 하였다. 또한 반응조에는 3일 간격으로 항생제(streptomycin sulfate)를 추가로 주입하였으며, 필터(0.22 μm PTFE air filter)로 멸균된 공기를 반응조당 2 mL/min으로 하루 3시간씩 폭기하여 용액의 교반과 호기 상태가 유지되도록 하였다.

수경재배 실험은 RDX 농도 10, 20, 30, 40 mg/L의 조건에서 각각 4배수로 진행하였으며, 동일한 조건에서 식물체만

을 재배한 공시험균(Control)과 RDX 10 mg/L의 무식물균(Blank)을 운영하여 실험 장치에 대한 흡착, 광분해 및 미생물 오염에 의한 손실을 측정하였다. 실험 기간 15일 동안, 멸균 주사기로 시료를 채취하여 반응조 용액 내 RDX 농도를 측정하였고, 15일 뒤 식물체를 수확하여 지상부/지하부 생체량(fresh weight) 및 건조중량(dry weight)을 측정하였다. 또한 식물체 내 RDX 흡수량을 산정하기 위해 지상부/지하부로 나누어 식물추출을 실시하여 RDX와 분해산물의 농도를 측정하였다.

2.2. 분석방법

식물시료는 수거한 다음 깨끗한 종이 수건으로 수분을 제거하고 지상부와 지하부로 나누어 생체량을 측정하였다. 깨끗한 종이봉투에 가위로 길이 1 cm 이하로 잘게 썰어 넣은 다음, 약 2일 동안 동결건조하여, 건조중량을 측정하였다. 이후 스테인리스 사발에 건조식물체를 넣고 액체질소를 부은 다음, 스테인리스 막자로 잘게 분쇄하였다. 분쇄과정에서 액체질소로 동결된 식물체가 해동되는 과정에서 대기 중 수분을 흡수하여 분쇄 식물체 시료는 다시 1일간 동결건조하였다.

분쇄와 건조가 완료된 식물시료는 원심분리가 가능한 유리바이알에 2.0 g을 칭량하여 넣고, 내부 표준물질 1,3-DNB(dinitrobenzene)을 첨가한 다음 acetonitrile (ACN) 10 mL을 넣고 PTFE liner를 가진 마개로 밀봉하였다. 이 후, 바이알은 18시간 동안 초음파로 추출하였다. 이 때 수온을 30°C 이하(일반적으로 18°C 이하)로 유지하고 광분해를 방지하기 위해 빛도 차단하였다. 추출이 완료된 다음, 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상정액을 얻었다. 상정액은 99.990%의 초고순도 N₂ gas를 이용하여 2.0 mL로 농축하였는데, 식물체내 화약물질의 농도가 충분히 높으면 농축과정을 생략하였다.

이후에 농축 시료 2.0 mL은 분석에 방해가 되는 극성물질을 제거하기 위해 Florisil cartridge로 정제하였다. 이 때, Florisil cartridge는 ACN 5 mL을 2회 넣어 먼저 conditioning 하고, 추출시료 2.0 mL과 ACN 3.0 mL을 차례로 넣어 중력에 의해 용출하도록 한 다음, ACN 3 mL + ACN 2 mL로 2

회 용출시켜 정제시료를 얻었고, 0.2 µm PTFE syringe filter로 여과하여 최종적으로 분석시료를 얻었다. 배양액 내 RDX 농도는 0.2 µm PTFE syringe filter로 여과한 다음 곧바로 분석하였다.

화약물질은 Varian HPLC 시스템과 Shiseido Capcell PAK MG C-18 column으로 분석하였다. HPLC 분석조건은 유량 0.7 mL/min, 용매조성은 ACN/H₂O 45%:55%, 분석과장 230 nm으로 주입시료량은 20 µL이었다. 실험에 사용한 RDX(순도 >99%)는 국방과학연구소에서 제공해 주었으며, 배양액 준비에 사용된 물질은 ACS grade이었고, HPLC grade 용매로 추출 및 분석을 수행하였다. RDX 분해 산물인 MNX(mono-nitroso RDX), DNX(dinitroso-RDX) 및 TNX(trinitroso-RDX)의 SRI International (Menro Park, CA, USA)의 Dr. R. Spanggard가 제공하였다. 그러나 technical grade로 순도가 낮아 스펙트럼분석으로 정성은 가능하였으나, 물질 정량은 불가능하였다.

3. 결과 및 토의

3.1. 식물 생체량 및 증발산 변화

물억새와 갈풀의 수경재배는 각각 2011년 9월 24일~10월 9일까지, 2011년 10월 30~11월 14일까지 15일 동안 시행하였다. 물억새의 초기 생체량은 평균 25.7 g이었고, 갈풀은 생체량이 보다 많은 평균 61.7 g이었다. 실험 종료 시까지 갈풀과 물억새 모든 개체는 정상적으로 성장하였고, 식물 재배기간 동안 RDX 독성에 의해 잎의 황변화, 백화현상, 잎의 끝이 타는 현상 등과 같이 식물이 받는 스트레스가 외부로 표현되지는 않았다. 다만 식물생장상 통풍구 부근에 위치한 식물에서 일부 식물에서 잎이 마르는 현상과 갈변이 발생하였다(Fig. 2).

수경재배 실험 15일 후 물억새와 갈풀의 생체량은 각각 Table 1 및 2와 같다. 물억새는 초기 생체량에 비해 생체량의 변화가 크지 않았다. RDX를 넣지 않은 공시험균에서 생체량은 1.72 g 감소하였지만 총 생체량에 비해 5% 미만이었고, RDX 20 및 30 mg/L에서는 오히려 각각 0.20 및 0.72 g 증

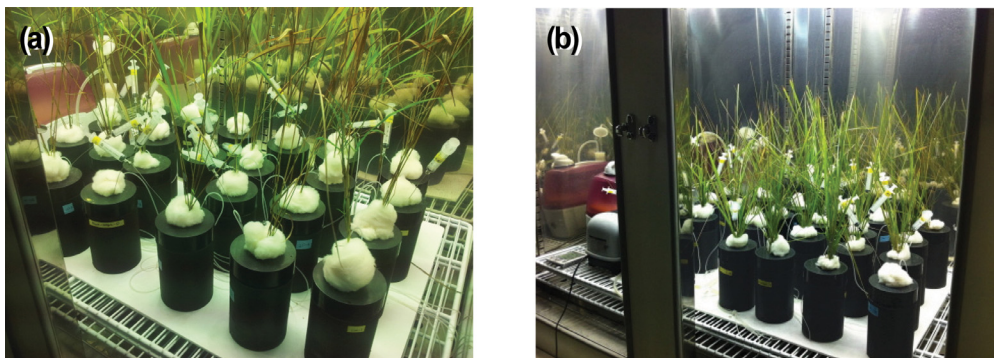


Fig. 2. Photographs of plants growing in the hydroponic culture system in a growth chamber: (a) amur silver grass(2011. 10. 5), (b) reed canary grass(2011. 11. 8).

Table 1. Changes in fresh weight of amur silver grass after 15 days of the hydroponic culture experiments

Fresh weight (g)	Control	RDX 10	RDX 20	RDX 30	RDX 40
Initial	24.90 (1.07)	26.00 (0.76)	25.23 (1.70)	25.74 (1.26)	26.64 (0.65)
Shoot	4.55	5.46	4.69	5.83	6.71
Final					
Root	18.63	17.89	20.74	20.63	19.86
Total	23.18 (2.36)	23.35 (0.68)	25.43 (1.66)	26.46 (0.56)	26.57 (1.15)
Increments (g)	-1.72	-2.64	0.20	0.72	-0.07

* Data represents the average of quadruplicate results with standard deviation in parenthesis

Table 2. Changes in fresh weight of reed canary grass after 15 days of the hydroponic culture experiments

Fresh weight (g)	Control	RDX 10	RDX 20	RDX 30	RDX 40
Initial	60.97 (2.95)	60.49 (3.22)	62.02 (2.73)	60.39 (2.31)	64.43 (2.44)
Shoot	13.05	14.59	12.90	13.46	17.27
Final					
Root	37.82	36.25	38.97	38.33	39.59
Total	50.88 (2.74)	50.83 (2.42)	51.86 (4.41)	51.79 (4.73)	56.86 (1.91)
Increments (g)	-10.09	-9.66	-10.15	-8.60	-7.57

* Data represents the average of quadruplicate results with standard deviation in parenthesis

가하였다. 따라서 RDX 노출로 인한 생체량 변화는 t-test로 평가하였을 때 유의적이지 않았다(data not shown). 이와는 대조적으로 갈풀에서는 전반적으로 약 15% 이상 생체량이 감소하였다. 공시험군에서 10.09 g이 감소하였고, RDX 20 mg/L 처리구에서 10.15 g이 감소하였으며 다른 처리구에서도 7.60~9.70 g이 감소하였다. 그러므로 갈풀 생체량이 감소한 것은 RDX 독성에 의한 스트레스가 아닌, 실험시기가 11월 초로 기온이 급감하함에 따라 온실에서 재배되던 갈풀이 이송 및 처리 중에 받은 온도 스트레스에 기인하는 것으로 판단된다.

수경재배 15일 후 물억새 및 갈풀에 의한 반응조 증발산량은 Fig. 3과 같다. 물억새에서는 무식물군에서는 폭기로 인해 수경재배 용액이 10.5 mL 감소하였고, 식물만 식재한 공시험군에서는 50.0 mL 감소하여 식물에 의한 증발산량은 39.5 mL로 산정되었다. RDX를 처리한 경우 증발산량이 훨씬 증가하였는데, RDX 농도 10, 20, 30 및 40 mg/L 반응조에서 각각 55.5, 53.0, 69.3 및 74.3 mL로 RDX 농도가 높아질수록 증발산량이 증가하였다. 갈풀에서도 물억새에서와 같이 화학물질을 처리할 경우 증발산량이 증가하는 경향이 관측되었다. 무식물군에서는 폭기로 인해 수경재배 용액이 39.0 mL 감소하였고, 식물만 식재한 공시험군에서는 70.0 mL 감소하여 식물에 의한 증발산량은 31.0 mL로 산정되었다. 수경재배 용액의 감소량은 RDX 농도 10, 20, 30 및 40 mg/L 반응조에서 각각 125.3, 127.8, 129.0 및 212.8 mL로 RDX 농도가 높아질수록 증발산량도 증가하였다.

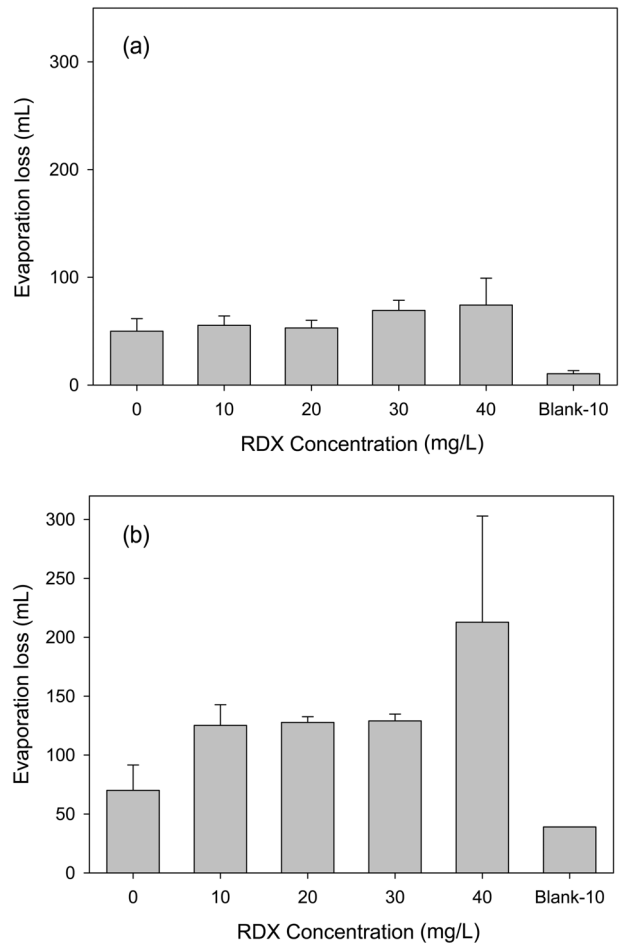


Fig. 3. The amount of evaporation loss in the hydroponic culture medium after 15 days of incubation in a growth chamber: (a) amur silver grass, (b) reed canary grass.

일반적으로 식물이 스트레스를 받으면 증산작용이 감소한다. Trapp 등¹⁵⁾은 화학물질에 대한 식물의 급성독성실험법으로 버드나무에 의한 증산량을 지표로 사용하였다. 잎의 증산이 식물 광합성과 성장에 밀접한 관계에 있어 유용한 지표로 사용될 수 있으며, 조류에 대한 실험결과와 추세가 동일하여 증산량은 유용한 급성독성 지표라 하였다. Thomson 등¹⁶⁾은 TNT를 첨가한 수경재배 반응조에 포플러 가지를 배양한 결과, TNT 농도가 5 mg/L 이상에서 잎의 백화현상과 낙엽 증가를 수반한 증산작용 감소를 보고하였다. 본 연구에서 상기 연구와 반대로 증산량이 오히려 증가하였다.

실험이 종료될 때의 두 식물체 배양액의 pH도 동일한 추이로 변화하였다. 무식물군에서 초기 pH 6.0이 그대로 유지된 반면, 물억새 배양액은 공시험군, RDX 10, 20, 30 및 40 mg/L에서 pH가 각각 6.6, 6.7, 6.9, 7.1, 7.2로 증가하였다. 갈풀에서도 무식물군에서는 초기 pH 6.0이 유지되었지만, 공시험군, RDX 10, 20, 30 및 40 mg/L에서 pH가 각각 7.0, 7.3, 7.6, 7.7, 7.6로 증가하였다. Lin¹⁷⁾은 벼(*Oryza sativa* L) 뿌리 1 g당 2.25 mg의 citric, malic, succinic 및 lactic acid로 구성되는 유기산, 1.27 mg의 glucose, fructose 및 sucrose로 구성되는 탄수화물, 2.61 mg의 15종 아미노산 및 미량의 식

물성장 호르몬 gibberellin-GA3이 배출되는 것으로 보고하였다. 물억새와 갈풀은 모두 다년생 벼과 식물에 속하며 수염 뿌리를 가지고 있는데, 상기와 같은 뿌리에서의 삼출물 배출 혹은 반응조에서의 선택적 이온 흡수로 배양액 pH가 변화한 것으로 판단된다. 그러나 삼출물 분석을 실시하지 않았고 RDX 농도와의 연관성에 대하여는 차후에 심층 연구가 필요할 것이다.

3.2. 반응조에서의 RDX 흡수 동역학 상수 산정

수경재배 배양액내 RDX 농도 변화는 Fig. 4(a)에 유사 1차반응으로 도식하였다. 물억새 배양 15일 후, RDX 10, 20, 30 및 40 mg/L 처리구에서 초기 농도 대비 각각 49.9, 65.0, 75.5 및 78.6%가 잔류하였다. 수경재배에서 사용한 각각의 노출 농도에서 시간에 따른 RDX 농도를 측정하여 아래의 식에 의하여 유사 1차 RDX 제거율(k)을 산정하였다.

$$dC/dt = -k \cdot C \tag{1}$$

$$K = -k/P \tag{2}$$

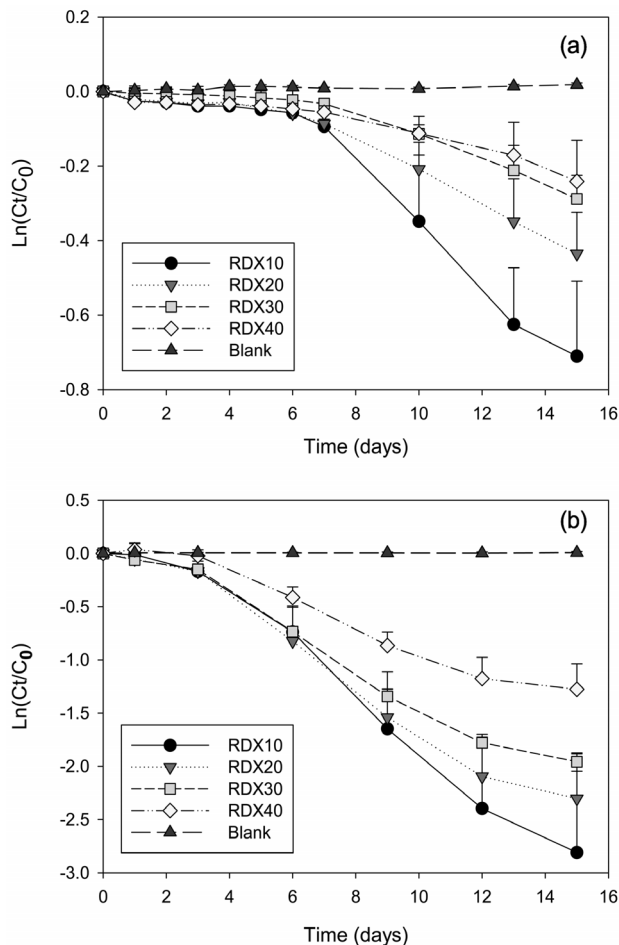


Fig. 4. Decrease of RDX concentrations in the culture medium expressed as a pseudo-first order reaction: (a) amur silver grass, (b) reed canary grass.

여기서, C는 RDX 농도(mg/L), t는 시간(hours), k는 유사 1차 제거속도상수(day⁻¹), P는 식물생체량(plant fresh weight, g/mL)이다. K는 plant-normalized rate constant (mL·g⁻¹·day⁻¹)로 식물의 화약물질 흡수량을 반응조 당 생체량으로 나눈 값으로 식물 화약물질흡수능을 비교하기 위한 지표이다.

물억새 처리군에서 Fig. 4(a)에서와 같이 유사1차반응으로 RDX 농도감소를 표현한 결과, 7일을 기점으로 변곡점이 관측되었다. 반응조를 관찰한 바에 의하면 7일을 전후하여 미생물 발생에 의해 용액이 탁해지는 현상이 발생하였다. 탄소원을 넣지 않았음에도 불구하고 미생물이 성장한 것은 물억새 뿌리에서 배출되는 삼출물에 의한 성장으로 판단된다. 장기간 실험에 의해 미생물이 발생하였지만 항생제 streptomycin 250 mg/L을 넣어주어 그 값은 OD₆₀₀에서 0.06으로 낮게 유지되었다. 이에 전체 실험 자료로 k값을 산정하였다. 그 후 식물의 초기와 최종 생체량 평균값을 식물생체량으로 하여 K 값을 산정한 결과는 Table 3과 같다. 식물 생체량에 일반화한 RDX 제거상수 K는 수경재배시 초기 RDX 농도에 반비례하였다. 즉 RDX 농도가 증가할수록 화약물질의 독성에 의해 식물에 의해 제거되는 화약물질 흡수속도는 감소함을 의미하고 있다.

갈풀 수경재배 반응조에서 RDX는 물억새보다 훨씬 빠르게 제거되었다. 식물 식재 15일 후 무처리구에서는 RDX가 전혀 분해되지 않은 반면, RDX 10, 20, 30, 및 40 mg/L에서는 각각 7.9, 10.7, 14.1 및 28.6%의 RDX만이 잔류하였다 (Fig. 4(b)). 갈풀 식재구에서는 물억새와 달리 초기 3일의 적응기간을 제외하고 유사 1차반응으로 RDX 농도가 감소하였고 미생물 성장도 발견되지 않았다. 유사1차반응을 가정하고 산정한 동역학 상수는 Table 4와 같다. 반응조 용액에서의 제거상수 k값은 RDX가 증가할수록 감소하였고, 식물 생체량에 일반화한 RDX 제거상수 K도 초기 RDX 농도에 반비례하였다. 즉 RDX 농도가 증가할수록 화약물질의 독성에 의해 식물에 의해 제거되는 화약물질 흡수속도는 감소함

Table 3. Estimated RDX removal rates by amur silver grass based on the quadruplicate results of hydroponic culture experiments

	RDX10	RDX20	RDX30	RDX40
k (day ⁻¹)	0.0484	0.0285	0.0183	0.0143
r ²	0.87	0.91	0.87	0.90
P (g/mL)	0.0481	0.0493	0.0507	0.0522
K (mL·g ⁻¹ ·day ⁻¹)	1.01	0.58	0.36	0.27

Table 4. Estimated RDX removal rates by reed canary grass based on the quadruplicate results of hydroponic culture experiments

	RDX10	RDX20	RDX30	RDX40
k (day ⁻¹)	0.1853	0.1667	0.1450	0.0971
r ²	0.98	0.98	0.98	0.7
P (g/mL)	0.1118	0.1113	0.1139	0.1122
K (mL·g ⁻¹ ·day ⁻¹)	1.66	1.50	1.27	0.87

을 보이고 있다. 물억새와 비교해 보면, 초기 RDX농도가 10 mg/L인 경우, 갈풀의 K 값은 $1.66 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ 로 물억새의 1.01에 비해 약 60% 빠른 것으로 나타났다. 다른 농도에서도 갈풀 K 값은 물억새 K 값에 비해 큰 것으로 나타났다.

다른 수경재배 연구에서 RDX 40 mg/L에서의 자귀풀과 어저귀에 의한 RDX 제거상수 K 는 각각 1.926 및 $1.625 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ 로 보고되었다.¹³⁾ 이 값은 물억새 K 값에 비해 6배 이상, 갈풀 K 값에 비해 약 2배 높다. 그러나 자귀풀과 어저귀에 비해 갈풀과 물억새의 생체량이 훨씬 높고, 다년생인 점을 고려하면 상기 연구와 거의 동등한 수준의 화학물질 제거능을 갖는다고 사료된다.

3.3. 식물체내 화학물질 분포 및 물질수지 산정

수확한 물억새를 지상부와 지하부로 나누어 RDX의 농도를 분석한 결과는 Table 5와 같다. 이 때 내부표준물질의 회수율은 지상부 96~99%, 지하부 89~105%로 매우 높았다. 지상부내 RDX 농도는 초기 RDX 농도에 비례하여 증가하였고, 지하부도 RDX 20 mg/L을 제외하고 지상부와 유사한 추이로 증가하여, 물억새 지상부 및 지하부에서 각각 최고 266.76 ug/g 및 300.49 ug/g-DW의 RDX가 검출되었다. 또한 식물체 지상부 및 지하부에는 RDX 이외에도 환원물질인

MNX (nitroso-RDX)가 동시에 검출되었다(Fig. 5(a)). MNX의 표준물질이 합성되지 않아 정량을 할 수는 없었지만, 그 농도는 높지 않았다. 포플리를 RDX 첨가반응조에서 수경재배한 결과, 빛의 유무에 상관없이 RDX가 MNX 및 DNX (Dinitroso-RDX)로 환원되었고, 전환된 물질이 분해되기 위해서는 빛이 필요하였다.¹¹⁾ 따라서 물억새 생체에서 MNX가 검출된 것이 식물에 의하여 발생할 수도 있지만, 물억새가 RDX를 직접 환원하였는지 아니면 수경재배 용액에서 미생물에 의해 환원된 물질을 흡수하였는지는 확인되지 않았다.

Table 5. RDX concentrations in the shoot and the root of amur silver grass with internal standard recovery

Initial RDX conc. (mg/L)	RDX 10	RDX 20	RDX 30	RDX 40	
Shoot	RDX (ug/g)	46,59 (1,25)	112,85 (0,05)	185,16 (1,16)	266,76 (1,17)
	1,3-DNB recovery (%)	96	98	96	99
Root	RDX (ug/g)	44,88 (0,55)	38,54 (2,84)	218,23 (0,23)	300,49 (0,49)
	1,3-DNB recovery (%)	94	105	89	89

* Data represents the average of duplicate analysis with standard deviation in parenthesis

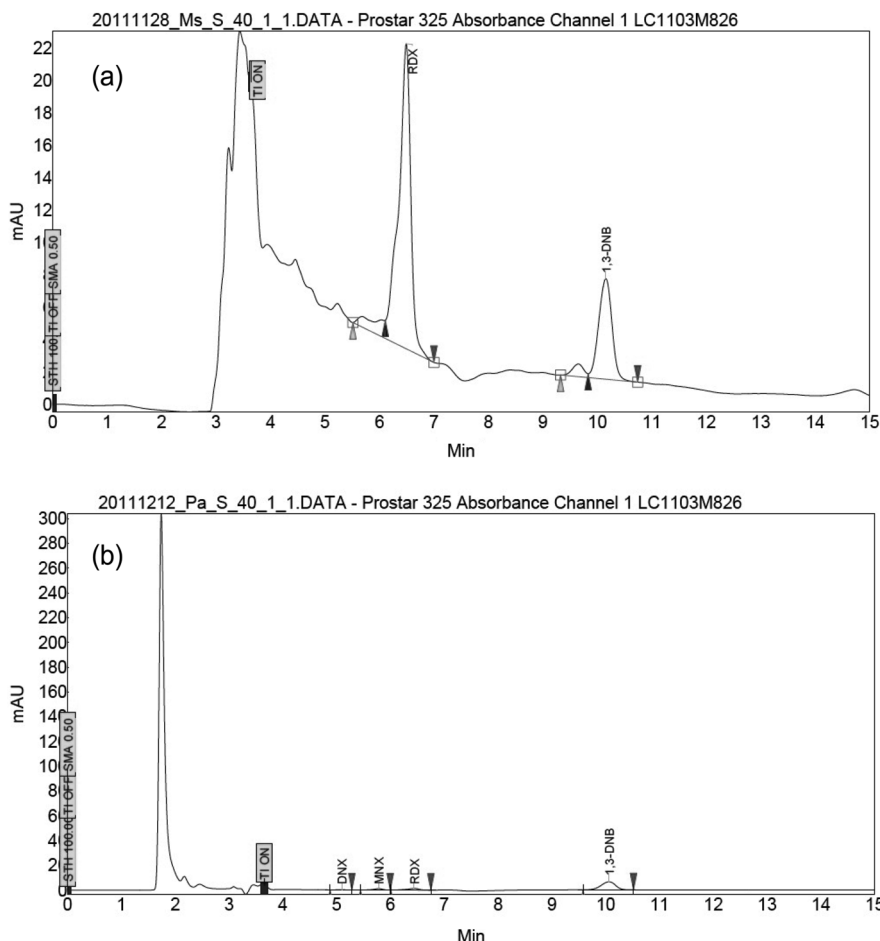


Fig 5. HPLC chromatograms of the shoot extracts: (a) amur silver grass, (b) reed canary grass.

갈풀 내 RDX의 농도를 분석한 결과는 Table 5와 같다. 내 부표준물질 1,3-DNB의 회수율은 지상부에서 80~96%로 조금 낮았고, 지하부에서는 94~101%이었다. 뿌리 RDX 농도는 반응조 RDX 증가에 비례하여 증가하였으나, 지상부내 RDX 농도는 고농도인 RDX 40 mg/L을 제외하고 용액 내 초기 RDX 농도에 비례하여 증가하였다. 이 결과는 Chen 등¹⁸⁾이 4종의 농작물을 재배하며 RDX에 노출한 결과, 저농도에서는 지상부 RDX농도가 반응조 용액 농도에 비례하였으나 고농도에서는 지상부 RDX가 반응조 용액 농도에 비례하지 않은 결과와 동일하다.

갈풀에서도 RDX 분해산물인 미량의 MNX가 검출되었지만, 물억새와는 달리 지상부 RDX 농도가 지하부 RDX 농도보다 높았다. 다른 연구에서 식물이 흡수한 RDX는 초기 2 시간에는 뿌리에 50%가 잔류하였지만, 7일 후에는 거의 대부분이 원형 그대로 지상부로 이송되고 20%만이 잔류하였다.¹⁹⁾ 또한 뿌리보다 지상부에서의 RDX 농도가 높았고, 일부 극성물질은 지상부에서 더 많이 검출되었다.^{18,20)} RDX를 흡수한 갈풀 잎을 빛에 노출시키면 극성물질인 NDAB (4-nitro-2,4-diazabutanol)로 분해되었고, 추출 불가능한 물질이 축적되어 생체로의 편입되었다는 것이 증명되었다. 이 결과에서 Just²¹⁾는 지상부로 이송된 RDX가 잎을 통과하는 UV에 의해 직접적으로 광분해되거나, 빛에 의해 여기된 엽록소에서 전자를 공급받아 환원되는 분해경로를 가정하였다.

상기한 바와 같이 갈풀에서 RDX 초기 농도가 높을수록 증산량도 증가하였고, 잎에서 RDX 환원물질인 MNX와 DNx가 검출되었다. 식물 증산작용은 지상부와 뿌리사이 포텐셜 차이에 의한 수동적 이동으로 광합성에 필요한 CO₂ 확산흡수를 위해 다량의 물이 필요하기 때문에 일어난다.²²⁾ Just²¹⁾가 가정한 것과 같이 식물 잎에서 광합성으로 생성된 전자로 RDX 환원이 발생한다면, RDX 분해를 위해 광합성이 필요하고, 광합성 증가는 증산작용 증가로 나타날 것이다. 또한 Best 등²³⁾은 초본 2종과 광엽식물 4종으로 화약물질(TNT 및 RDX)을 처리하는 포트실험에서 건강한 식물체에서 큰 증발산이 관측되었고, 화약물질 흡수량도 높았다고 보고하였다. 그러므로 본 연구 결과에서 물억새와 갈풀은 RDX에 한 악영향을 받지 않음을 의미할 뿐 아니라, 잎에서 RDX

의환원물질이 검출된 것은 지상부로 이동한 RDX를 능동적으로 분해한다는 것을 의미하고 있다.

본 연구 결과, 갈풀 처리구에서 물억새 처리구보다 많은 RDX가 반응조에서 제거되었으나, 갈풀 식물체내 RDX 농도가 낮은 반면, 갈풀 잎의 추출 크로마토그램에서 2분경에 용리되는 다량의 미지극성물질이 검출되었다(Fig. 5(b)). 극성물질을 정성하지는 못하였으나, 갈풀 잎에서 RDX가 분해되어 RDX 농도는 감소한 반면, 전환산물이 축적된 것으로 판단된다.

반응조 용액과 식물체내 잔류한 RDX 농도를 바탕으로 두 식물체 처리군에 대한 물질수지를 산정한 결과는 Table 7, 8 및 Fig. 6과 같다. 물억새 재배군에서 RDX 총 흡수량은 2.95 mg에서 7.01 mg으로 RDX 초기농도에 비례하여 증가하였지만, 초기대비 흡수율은 RDX 10, 20, 30 및 40 mg/L에서 각각 55.6, 41.9, 37.4 및 33.1%로 반응조 초기농도에 반비례하여 감소하였다. 반응조 용액 내 잔류량은 RDX 10 mg/L에서 44.4%로 가장 낮았고, RDX 40 mg/L에서 66.8%로, 초기농도에 비례하여 증가하였다. 식물체에 잔류한 RDX량은 4.21~9.46%로 평균 7.27%가 잔류하였다. 갈풀처리군에서도 RDX 총 흡수량은 0.37 mg에서 14.36 mg으로 RDX 초기농도에 비례하여 증가하였고, 초기대비 흡수율은 RDX 10, 20, 30 및 40에서 각각 94.3, 92.1, 89.5 및 83.4%로 반응조 용액 초기농도에 반비례하여 감소하였다. 총 RDX 흡수량은 증가하지만, 초기대비 흡수비율이 감소하는 것은 식물체량에 평

Table 6. RDX concentrations in the shoot and the root of reed canary with internal standard recovery

Initial RDX conc. (mg/L)	RDX 10	RDX 20	RDX 30	RDX 40	
Shoot	RDX (ug/g)	28.72 (0.05)	69.67 (0.25)	109.28 (0.27)	39.18 (1.32)
	1,3-DNB recovery (%)	81	80	80	96
Root	RDX (ug/g)	9.90 (0.26)	11.78 (0.22)	22.44 (0.25)	31.25 (2.08)
	1,3-DNB recovery (%)	96	101	98	94

* Data represents the average of duplicate analysis with standard deviation in parenthesis

Table 7. Material balance on RDX taken up by amur silver grass in the hydroponic culture system

RDX (mg)	Blank	RDX 10	RDX 20	RDX 30	RDX 40
Initial	5.53 (0.04)	5.31 (0.08)	10.75 (0.24)	15.54 (0.62)	21.15 (0.71)
	5.51 (0.04)	2.36 (0.50)	6.24 (0.67)	10.12 (1.52)	14.14 (0.63)
Uptake	0.02 (0.05)	2.95 (0.49)	4.50 (0.70)	5.42 (1.76)	7.01 (0.96)
	% uptake / initial	0.30 (0.98)	55.60 (9.30)	41.90 (6.44)	34.72 (10.61)

* Data represents the average of quadruple analysis with standard deviation in parenthesis

Table 8. Material balance on RDX taken up by reed canary grass in the hydroponic culture system

RDX (mg)	Blank	RDX 10	RDX 20	RDX 30	RDX 40
Initial	5.12 (0.22)	4.88 (0.14)	9.41 (0.47)	14.08 (0.39)	17.25 (0.45)
	4.76 (0.18)	0.29 (0.27)	0.75 (0.27)	1.48 (0.11)	2.89 (1.40)
Uptake	0.37 (0.06)	4.60 (0.17)	8.66 (0.32)	12.61 (0.43)	14.36 (0.99)
	% uptake / initial	7.11 (0.91)	94.25 (5.25)	92.13 (2.65)	89.50 (0.88)

* Data represents the average of quadruple analysis with standard deviation in parenthesis

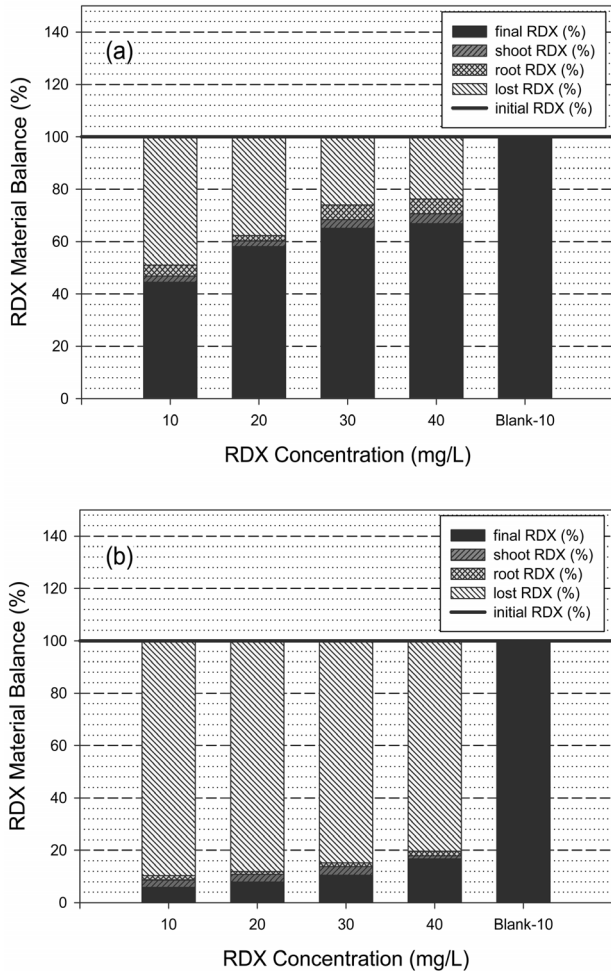


Fig. 6. Material balance of the hydroponic culture system: (a) amur silver grass, (b) reed canary grass.

균화한 제거상수, K값이 감소하는 것과 일치하며, 식물에 의한 RDX 흡수가 뿌리에서의 물 흡수에 의한 수동적 흡수인 점을 고려한다면, 고농도 RDX에서는 독성 효과와 같은 의견상 나타나지 않은 식물생리변화에 기인하는 것으로 판단된다. 반응조 용액 내 잔류한 물질량은 5.85~16.75%로 농도 증가에 따라 증가하는 경향을 보였고, 식물체(지상부 + 지하부) RDX량은 2.89~4.69%로 초기량의 5% 이하이었다.

4. 결론

경기도 북부 3개 군 사격장 피탄지 하류부에서 우점하는 2종의 벼과식물(물억새 및 갈풀)로 식물에 의한 RDX 흡수 및 분해를 수경재배로 실험하여 다음과 같은 결과가 산출되었다.

1) 수경재배 조건에서 두 종의 식물을 RDX 10, 20, 30, 40 mg/L 용액에 노출한 결과, 최대 용해도(40 mg/L)에서도 RDX에 의한 백화현상, 낙화현상 및 잎이 타는 현상 등과 같은 식물독성은 두 식물 모두에서 관측되지 않았다. 또한 물

억새와 갈풀 처리군 모두에서 RDX 농도가 높아질수록 증산량도 증가하였고, 배양액 pH도 초기 6.0에서 중성으로 증가하는 경향을 보였다.

2) 유사 1차반응으로 RDX 제거에 동역학 상수를 산정한 결과, 물억새는 0.0143~0.0484 day⁻¹, 갈풀 처리군에서는 0.0971~0.1853 day⁻¹로 RDX 농도가 증가할수록 감소하였다. 식물생체량에 평균화한 제거상수 K는 물억새가 0.27~1.01 mL·g⁻¹day⁻¹, 갈풀 처리군에서는 0.87~1.66 mL·g⁻¹day⁻¹으로 초기 RDX 농도가 증가할수록 감소하였고, 갈풀이 물억새보다 60% 높은 값을 보였다. 그러나 물억새 처리군 배양액에서 미생물이 성장하여 물억새 처리군 제거상수는 미생물과 물억새에 의한 제거상수이다.

3) 식물체를 용매로 추출하여 RDX 함량을 분석한 결과, 물억새 지상부 및 지하부 RDX 농도는 40 mg/L 처리구에서 각각 266.76 ug/g-DW 및 300.49 ug/g-DW로, 초기 배양액 RDX 농도에 비례하여 증가하였다. 반면, 동일 처리구에서 갈풀의 지상부 및 지하부 RDX 농도는 각각 39.18 ug/g-DW 및 31.25 ug/g-DW로 물억새에 비해 낮았으나, 극성 물질이 축적되는 것이 관측되었다.

4) 수경재배로 15일 배양한 이후 초기 RDX량 대비 물억새에서는 최대 49.00%, 갈풀에서는 최대 89.70%가 제거되었다. 이 때 식물체 지상부 및 지하부 RDX 잔류량은 물억새에서는 초기량 대비 평균 7.72%인 반면, 갈풀에서는 모든 처리구에서 5% 이하로 잔류하였다. 전반적으로 RDX 제거속도 및 제거량에서는 물억새보다 갈풀이 효과적이었으나, 현장에서는 물억새 생체량이 갈풀보다 높은 점을 고려하면 두 식물 모두 현장 적용시 효과적인 RDX 제거가 가능할 것으로 예상된다.

사 사

본 연구는 환경부 환경산업기술원 GAIA Project No.173-111-036 지원으로 수행되었습니다. 또한 RDX를 제공해주신 국방과학연구소와 전환산물을 주신 Dr. Ronald Spandord께 감사드립니다.

KSEE

Reference

1. Bruns-Nagel D, Scheffer, S., Casper, B., Garn, H. and Drzyzga, O., on Lop, E. and Gemsa, D., "Effects of 2,4,6-trinitrotoluene and its metabolites on human monocytes," *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 2566~2570(1999).
2. Robidoux, P. Y., Svendsen, C., Caumartin, J., Hawari, J., Ampleman, G., Thiboutot, S., Weeks, J. M. and Sunahara, G. I., "Chronic toxicity of energetic compounds in soil determined using the earthworm (*Eisenia andrei*) reproduction test," *Environ. Toxicol. Chem.*, **19**(7), 1764~1773(2000).

3. Sunahara, G. I., Dodarda, D., Sarrazin, M., Paquet, L., Hawari, J., Greer, C. W., Ampleman, G., Thiboutot, S. and Renoux, A. Y., "Ecotoxicological characterization of energetic substances using a soil extraction procedure," *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **43**(2), 138~148(1999).
4. Talmage, S. S., Opresko, D. M., Maxwell, C. J., Welsh, C. J., Cretella, F. M., Reno, P. H. and Daniel, F. B., "Nitroaromatic munition compounds: environmental effects and screening values," *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **161**, 1~156 (1999).
5. TTCP (The Technical Cooperation Program), Development of Environmental Tolerance Values for Defense Sites Contaminated with Energetic Materials, Annual Report for KTA 4-32-04(2008).
6. Walsh, M. R., Walsh, M. E., Collins, C. M., Saari, S. P., Zufelt, J. E., Gelvin, A. B. and Hug, J. W., Energetic Residues from Live-Fire Detonations of 120-mm Mortar Rounds, U.S. Army Engineer Research and Development Center Cold Regions Research and Engineering Laboratory, ERDC/CRREL TR-05-15(2005).
7. Michael R., W., Marianne, E. W., Charles, A. R., Richard, J. R., Jon, E. Z., Charles, M. C., Arthur, B. G., Nancy, M. P. and Stephanie, P. S., Energetic Residues Deposition from 60-mm and 81-mm Mortars, Cold Regions Research and Engineering Laboratory U.S. Army Engineer Research and Development Center, ERDC/CRREL TR-06-10, May(2006).
8. Park, S. H., Bae, B., Kim, M. and Jang, Y. Y., "Distribution and behavior of mixed contaminants, explosives and heavy metals, at a small scale military shooting range," *J. Kor. Soc. Water Environ.*, **24**(5), 523~532(2008).
9. Walsh, M. E., Jenkins, T. F. and Thorne, P. G., "Laboratory and field analytical methods for explosives residues in soil," *Proc. Symposium Alternatives Incinerat. Disposal Chem. Mun. Energetics*, **2**, 17(1995).
10. Brentner, L. B., Mukherji, S. T., Walsh, S. A. and Schnoor, J. L., "Localization of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) and 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in poplar and switch-grass plants using phosphor imager autoradiography," *Environ. Pollut.*, **158**, 470~475(2010).
11. Van Aken, B., Yoon, J. M., Just, C. L. and Schnoor, J. L., Metabolism and mineralization of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine inside poplar tissues (*Populus deltoides nigra* DN-34), *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 4572~4579(2004).
12. Bae, B., Kim, S. Y., Lee, I. S. and Chang, Y. Y., "Kinetics and uptake and phytotransformation of 2,4,6-trinitrotoluene by indigenous grasses in hydroponic culture," *J. Kor. Soc. Environ. Eng.*, **24**(4), 675~687(2002).
13. Bae, B., Kwon, Y. S., Kim, D. I., Lee, I. S. and Choung, Y. K., "Reduction of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) by indigenous grasses, *Abutilon avicennae* and *Aeschynomene indica*, in hydroponic culture," *J. Kor. Soc. Environ. Eng.*, **25** (9), 1100~1107(2003).
14. Lee, S. Y., Lee, S. S. and Gong, S. H., "New microbial species with explosive compounds degradation capability and method for treatment of explosives contaminated soils with the microbial species," Korean Patent, 10-2006-0027651 (2007).
15. Trapp, S., Zambrano, K. C., Kusk, K. O. and Karlson, U., "A phytotoxicity test using transpiration of willows," *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **39**(2), 154~160(2000).
16. Thompson, P. L., Ramer, L. A., Guffey, A. P. and Schnoor, J. L., "Decreased transpiration in poplar trees exposed to 2, 4,6-trinitrotoluene," *Environ. Toxicol. Chem.*, **17**(5), 902~906 (1998).
17. Lin M. and You C., "Root exudates of rice *Oryza sativa* L and its interaction with *Alcaligenes faecalis*," *Sci. Agric. Sinica.*, **22**(6), 6~12(1989).
18. Chen, D., Lewis Liu, Z. L. and Banwart, W., "Concentration-dependent RDX uptake and remediation by crop plants," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **18**, 908~917(2011).
19. Cataldo, D. A., Harvey, S., Fellows, R. J., Bean, R. M. and McVeety B. D., An Evaluation of the Environmental Fate and Behavior of Munitions Materiel (TNT, RDX) in Soil and Plant Systems: Environmental Fate And Behavior of RDX, U.S. DOD Project Order No. 88PP8853, Pacific Northwest Laboratory, PNL-7529(1990).
20. Best, E. P. L., Sprecher, S. L., Larson, S. L., Fredrickson, H. L. and Bader, D. F., "Environmental behavior of explosives in groundwater from the Milan Army Ammunition Plant in aquatic and wetland plant treatments: Uptake and fate of TNT and RDX in plants," *Chemosphere*, **39**(12), 2057~2072(1999).
21. Just, C. L. and Schnoor, J. L., "Phytophotolysis of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) in leaves of reed canary grass," *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 290~295(2004).
22. Taiz, L. and Zeiger, E., Plant Physiology, 4th edition, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MS, USA(2006).
23. Best, E. P. H., Smith, T., Hagen, F. L., Dawson, J. O. and Torrey, A. J., Capacities of Candidate Herbaceous Plants for Phytoremediation of Soil-based TNT and RDX on Ranges, U.S. Army Corps of Engineers, ERDC TR-08-8(2008).