

씨앗발아 및 발아지수에 근거한 나노입자 독성평가 Toxicity Assessment of Nanoparticles Based on Seed Germination and Germination Index

구본우 · 공인철[†]

Bonwoo Gu · In Chul Kong[†]

영남대학교 환경공학과

Department of Environmental Engineering, Yeungnam University

(2013년 10월 8일 접수, 2014년 5월 13일 수정, 2014년 5월 30일 채택)

Abstract : Nanomaterials have been widely used in many fields. This study investigates the effects of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, TiO₂, Fe₂O₃, Co₃O₄, ZnO) on germination and germination index (G.I.) of seeds, *Lactuca* and *Raphanus*. Under aqueous exposure, CuO on *Lactuca* shows the most significant impacts on activities compared to others, showing EC_{50s} for germination and G.I. as 0.46 mg/L and 0.37%, respectively. The effects of nanoparticle phytotoxicity on seed *Lactuca* was much higher than that of *Raphanus*. In general, the toxicities on seed germination and germination index were as following orders : CuO > ZnO > NiO >> TiO₂, Fe₂O₃, Co₃O₄. No measurable inhibition was observed at 1,000 mg/L (maximum exposure concentration) of TiO₂, Fe₂O₃, Co₃O₄.

Key Words : Bioassay, Germination Index, Nanoparticles, Seed Germination, Phytotoxicity

요약 : 나노물질은 다양한 분야에 널리 사용되고 있다. 본 연구에서는 *Lactuca*(상추)와 *Raphanus*(알타리무) 씨앗의 발아와 발아지수에 금속산화물 나노입자(CuO, NiO, Fe₂O₃, Co₃O₄, TiO₂, ZnO)가 미치는 영향을 조사하였다. 용액상 노출에서 CuO가 가장 큰 영향을 나타내었으며, 발아와 발아지수의 EC₅₀는 각 0.46 mg/L와 0.37%로 조사되었다. 씨앗 이용 식물독성 측정에서 상추가 알타리무보다 나노입자 노출에 대해 더욱 민감한 반응을 나타내었다. 일반적으로 나노입자의 씨앗발아와 발아지수에 근거한 영향은 다음의 순서로 조사되었다: CuO > ZnO > NiO > TiO₂, Fe₂O₃, Co₃O₄. 특히 TiO₂, Fe₂O₃와 Co₃O₄는 최대 노출 농도 1,000 mg/L 농도에서도 뚜렷한 영향을 나타내지 않았다.

주제어 : 생물검정법, 발아지수, 나노입자, 씨앗 발아, 식물독성

1. 서론

나노(nano)입자는 10억분의 1을 나타내는 단위로 1 nm에 해당되는 원자규모의 크기이며, 원자들의 배열 간격이 약 0.2 nm이고 원자 중 가장 작은 수소 원자의 직경이 0.1 nm 이므로 나노세계는 원자세계라 말할 수 있다.¹⁾ 나노에 대한 이야기는 B.C. 5세기 원자론에서부터 시작되었다고 볼 수 있겠지만 본격적 나노 과학은 80년대 초 STM (Scanning Tunneling Microscope), AFM (Atomic Force Microscope) 등의 고정밀 현미경들이 개발되면서부터이다. 국내에서도 세계적 추세와 같이 오래전부터 나노 기술이 도입, 개발 및 다양한 상업 목적으로 사용되고 있다. 나노입자는 보편적으로 다음과 같이 분류된다 : (1) 탄소 기반(대부분 탄소로 구성) (2) 금속 기반(양자입자, 나노골드, 나노실버, 금속산화물 등) (3) 덴드리머(가지구조 나노크기의 고분자) (4) 복합물(나노입자 혹은 거대물질을 혼합).^{2,3)} 나노입자는 촉매, 반도체, 화장품, 전자제품, 의약 등 다양한 분야에 사용되고 있으며, 나노입자를 이용한 기술은 앞으로도 계속 개발되어 우리 생활과 밀접한 연관성을 유지할 것이다.⁴⁾ 따라서 나노입자는 유익성과 함께 미칠 수 있는 유해한 영향에 대한 관심도 증가하고 있으며, 보편적으로 탄소기반과 금속 기반 입자에

대한 연구가 많이 되어있다. 일부 연구자들은 fullerene, 탄소 튜브, 금속산화물 나노입자들이 인간세포, 세균, 설치류(rodoents) 등에 독성이 있다고 보고하고 있으며.^{5,6)} 다양한 유전적 변이에 미치는 영향에 보고도 있다.^{7,8)} 또한 나노입자가 식물 활성에 촉진 및 억제 영향을 나타낸다는 보고가 있다. 예를 들면 SiO₂와 TiO₂의 혼합물이 콩류의 발아와 성장을 촉진시키는 작용을 한다는 연구결과가 있다.⁹⁾ 따라서 다양한 종류 및 조건에서 나노입자가 생물계에 미칠 수 있는 영향에 대한 연구는 계속적으로 조사되어야 할 것이다. 미국 EPA의 ‘나노기술백서’에서는 나노 기술의 개발과 위해성 평가에 관한 구체적인 연구의 진행 방향을 제시하고 있고, EU에서는 나노 물질에 연구 결과 간의 차이로 인한 위해성 평가 시행에서 발생할 수 있는 문제점을 지적하고, 평가 시행의 한계성을 극복할 새로운 방법 모색이 중요함을 강조하였다. 따라서 환경에 노출 가능한 나노입자가 인체 및 생태계에 미치는 잠재적인 위해성 평가를 위해 독성 영향에 대한 적절한 평가와 해석 방법들이 필요하다.

위해성 평가의 일환으로 사용되는 생물검정법(bioassay)은 다양한 물리, 화학적 관리 방법들과 더불어 중요한 수단이며, 어떤 물질이 시험 유기체의 신진(물질)대사, 번식 감소, 생체기능 영향, 치사 등의 다양한 종말점(end-points)에 미치

[†] Corresponding author E-mail: ickong@ynu.ac.kr Tel: 053-810-2546 Fax: 053-810-4624

는 영향을 조사·분석함으로써 오염물질의 유해성을 결정하는 방법이다.^{10,11)} 오염지역 관리를 위한 오염물 화학적 분석은 환경에서의 오염성분과 정도(농도)에 대한 정보를 제공하지만 생태계 영향에 대한 생물이용 가능한 양에 대한 정보는 제공하지 않기 때문에, 생물학적(생태계) 독성에 대한 정보 도출은 관리 및 평가를 위해 매우 중요하다.¹²⁾ 생물검정법은 화학적 방법에 비해 측정 및 분석이 편리하고, 시간 단축 및 비용이 저렴하며, 특히 오염물의 생물이용성(bioavailability)에 대한 매우 중요한 정보를 제공하기 때문에 생태계에 잠재적으로 미치는 영향 평가에 중요한 역할을 할 것이다.

다양한 생물을 이용한 환경 독성 생물검정법 중 식물을 이용한 독성평가는 유용한 수단으로 이용되고 있다. 예를 들면 환경 노출 제초제에 의한 영향 등을 평가하는 방법으로 씨앗을 이용한 생물검정법이 유용한 것으로 알려져 있다.¹³⁾ 씨앗 발아 연구는 단기적이고, 초기 급성 독성 영향을 평가하기 위해 고려되는 방법이며, 오염물 혹은 오염시료에 씨앗을 노출 후, 일정 기간 배양하여 발아된 씨앗수와 대조군의 발아수를 비교하여 영향을 평가한다. 씨앗 발아는 특히 중금속과 유해물질로 오염된 토양의 적절한 평가 방법으로 알려져 있다.^{14,15)} 또한 발아 외에도 뿌리 및 줄기 성장, 효소 변화 등에 대한 다양한 측정종말점들을 이용하여 오염물에 대한 영향을 평가할 수 있다. Lin and Xing²⁾은 3종의 씨앗(radish, rape, ryegrass)에 Al과 Zn 중금속 및 금속산화 나노입자가 발아 및 뿌리 성장에 미치는 영향을 평가하였다.

본 연구에서는 독성 물질에 민감하고 취급이 간편하며, 씨앗발아법에 적합하여 U.S. EPA¹⁶⁾ 및 OECD 등의 공인기관에서 추천하는 식물 씨앗인 *Lactuca sativa L.*(상추), *Raphanus sativus L.*(알타리무) 두 종의 식물 씨앗을 이용하여, 씨앗발아와 발아지수에 근거하여 6종의 금속산화물 나노입자에 대한 민감도 및 입자별 영향 특성에 대해 조사하였다.

2. 실험방법

2.1. 조사 대상 나노입자 및 씨앗 종

본 연구에서는 금속산화물인 나노입자 6종에 대한 독성평가를 실시하였다: CuO (30~50 nm), NiO (30 nm), Fe₂O₃ (20~40nm), Co₃O₄ (30 nm), TiO₂ (30~50 nm) (Nanostructured & Amorphous Materials Inc., USA), ZnO (40~100 nm) (Alfa Aesar, USA). 제조한 나노시료 용액내의 나노입자 분산(dis-

person) 향상을 위해 제조 후 초음파 세척기(Daihan, Korea)를 이용하여 30분간 초음파(sonication) 후 실험에 사용하였다.

오염물에 대해 민감성이 높은 씨앗종인 *Lactuca sativa L.*(상추), *Raphanus sativus L.*(알타리무) (농우바이오, Korea)를 사용하여 실험을 수행하였다. 씨앗의 크기는 대략 다음과 같다: *Lactuca* 0.1 × 0.3 mm, *Raphanus* 0.3 × 0.4 mm

2.2. 씨앗 활성에 근거한 나노입자 독성 평가

나노입자에 대한 독성 영향을 씨앗발아 활성과 발아지수에 근거하며 평가하였다. 씨앗 발아에 대한 영향은 US. EPA의 Trimmed Spearman-Kärber Methods를 이용한 프로그램으로 EC₅₀과 함께 신뢰구간(confidence interval)을 산출하였다. 또한 실험 결과 값들에 대해 graphpad software의 t-test 프로그램을 이용하여 통계 유의치(p-value)를 평가하였다(<http://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1.cfm>).

실험용 씨앗은 3% 과산화수소로 표면을 소독하고 증류수로 세 번 세척 후 사용하였다. 페트리 디쉬(90 × 15 mm) 내의 filter paper No. 2 (Advantec, Korea)에 상이한 농도의 시료 5 mL(대조군 5 mL 멸균수)와 전 처리한 씨앗 20개를 정렬 후 파라필름으로 밀봉하여 23°C 암소에서 배양하였다 (Fig. 1). 모든 실험은 3회 반복 수행하였다. 발아 양성은 3일

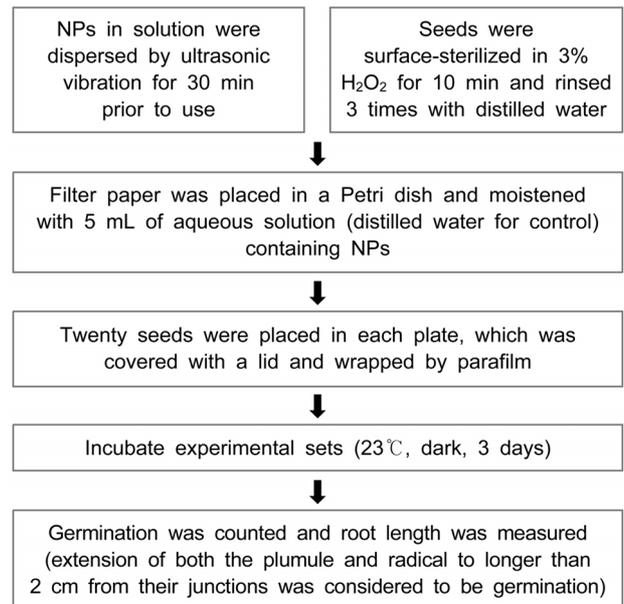


Fig. 1. Protocol for the seed germination bioassay.

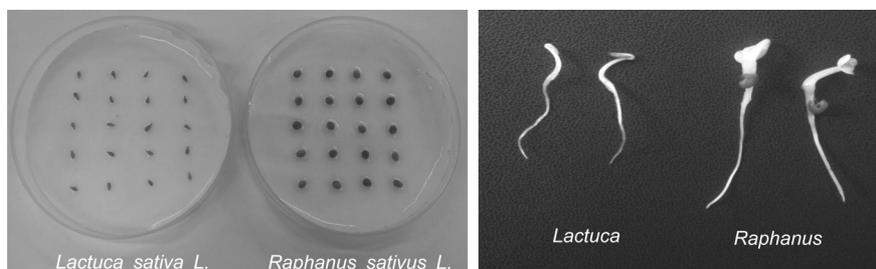


Fig. 2. Pictures of original seeds arrayed on Petri-dish and germinated seeds.

배양 후 뿌리 길이가 2 cm 이상 자란 것을 발아 양성으로 간주하였으며 발아 양성 씨앗 계수와 동시에 뿌리 생장도 측정하였다(Fig. 2). 나노입자가 *Lactuca*, *Raphanus* 씨앗 발아에 미치는 영향은 대조군과 비교한 백분율을 이용하여 EC₅₀으로 나타내었고, 다른 평가 지표인 발아지수(germination index, G.I)는 상대 발아율과 뿌리 성장에 근거하여 다음의 식으로 평가하였다.

$$G.I (\%) = \frac{(\text{Relative seed germination}) \times (\text{Relative root elongation})}{100} \quad (1)$$

3. 결과 및 고찰

3.1. 씨앗 발아에 근거한 나노입자 독성 평가

선행 연구에 근거하여 결정한 다양한 농도의 범위에서 나노입자가 씨앗발아에 미치는 영향을 조사하였다.¹⁷⁾ 각 나노입자 별 조사 농도 범위는 다음과 같다: CuO (0~15 mg/L), NiO (0~30 mg/L), ZnO (0~30 mg/L), 1,000 mg/L Fe₂O₃, Co₃O₄, TiO₂. 기초 조사에서 Fe₂O₃, Co₃O₄, TiO₂ 나노입자에 의한 영향은 미미하였기에 1,000 mg/L에 대해서만 조사하였다. 나노입자에 의한 영향은 씨앗 발아 EC₅₀ 값에 근거하여 비교하였다. *Lactuca*, *Raphanus* 씨앗 모두 공통적으로 나노입자 CuO, ZnO, NiO에 대해서는 뚜렷한 발아 억제 영향을 나타내었다. 대조적으로 Fe₂O₃와 TiO₂는 씨앗 두 종 모두에 대해 조사 최대 농도 1,000 mg/L 조건에서 발아에 대한 영향을 관찰할 수 없었다(Fig. 3). 그러나 씨앗 *Raphanus*와는 달리 *Lactuca*는 1,000 mg/L Co₃O₄ 농도 노출에 약 63% (37% 억제)의 발아율을 나타내었고, CuO, ZnO, NiO에 대해서도 상대적으로 높은 발아 억제 영향을 나타내었다. 따라서 씨앗 종류에 따라 상이한 영향이 관찰될 수 있음을 확인하였다.

나노입자 종류에 따라 다양한 범위의 영향을 나타내었지만, CuO, ZnO, NiO 입자의 씨앗 *Lactuca*에 대한 EC₅₀의 범위는 0.4~20 mg/L였으며 *Raphanus* 씨앗의 경우 EC₅₀이 25~

115 mg/L 범위 영향을 나타내었다. *Lactuca*에 비해 *Raphanus*의 나노입자에 대한 EC₅₀ 값은 CuO 58배, ZnO 4배, 그리고 NiO 7배 높은 값, 즉 낮은 씨앗 발아 영향이 관찰되었다. 따라서 나노입자 오염에 대해 *Lactuca* 씨앗이 *Raphanus* 씨앗보다 매우 높은 민감도(영향)와 오염물과 상이한 민감도 차이를 나타낼 수 있었다. 씨앗 종류별 동일 오염물에 대한 민감도 차이는 다양한 요인들이 관여할 수 있지만, 특히 씨앗 크기, 즉 표면적 차이가 주요 원인 중의 하나일 것이다. 또한 CuO가 다른 나노입자에 비해 매우 높은 발아 억제 영향을 나타내었으며, 예를 들면 조사 나노입자 중에서 두 번째로 높은 독성을 나타낸 ZnO에 비해 CuO 영향은 *Lactuca* 씨앗은 23배, *Raphanus*는 1.7배 낮은 EC₅₀(높은 발아 억제 영향)값을 나타내었다(Table 1). 그러나 나노입자에 대한 독성(mg/L EC₅₀)은 두 씨앗 중 모두 비슷한 순서로 관찰되었다. 독성도는 *Lactuca*는 CuO (0.46) >> ZnO (10.84) > NiO (17.17) > Co₃O₄ > TiO₂ > Fe₂O₃, *Raphanus*는 CuO (26.84) > ZnO (46.54) > NiO (114.2) > Co₃O₄, Fe₂O₃, TiO₂으로 조사되었다. 따라서 두 씨앗종에 대한 결과에 근거할 때, 적절한 평가를 위해서는 씨앗 종에 따라 상이한 민감도 및 영향 정도 등에 대한 해석 및 분석이 필요함을 알 수 있었다.

Table 1. Effects of NPs on the seeds (*Lactuca*, *Raphanus*) germination and G.I

NP	EC ₅₀ (mg/L)		EC ₅₀ of G.I (%)	
	<i>Lactuca</i>	<i>Raphanus</i>	<i>Lactuca</i>	<i>Raphanus</i>
CuO	0.46 (0.40~0.53) ^{a)}	26.8 (22.84~31.54)	0.37 (0.33~0.41) ^{a)}	9.8 (7.56~12.62)
ZnO	10.8 (8.68~13.54)	46.5 (39.08~55.42)	10.3 (8.86~12.08)	22.7 (19.17~26.84)
NiO	17.2 (16.29~18.10)	114.2 (98.87~131.93)	16.4 (15.65~17.20)	67.1 (51.49~87.57)
Fe ₂ O ₃				
Co ₃ O ₄	> 1,000	> 1,000	> 1,000	> 1,000
TiO ₂				

^{a)}Value is the range of the 95% confidence level (low limit~high limit).

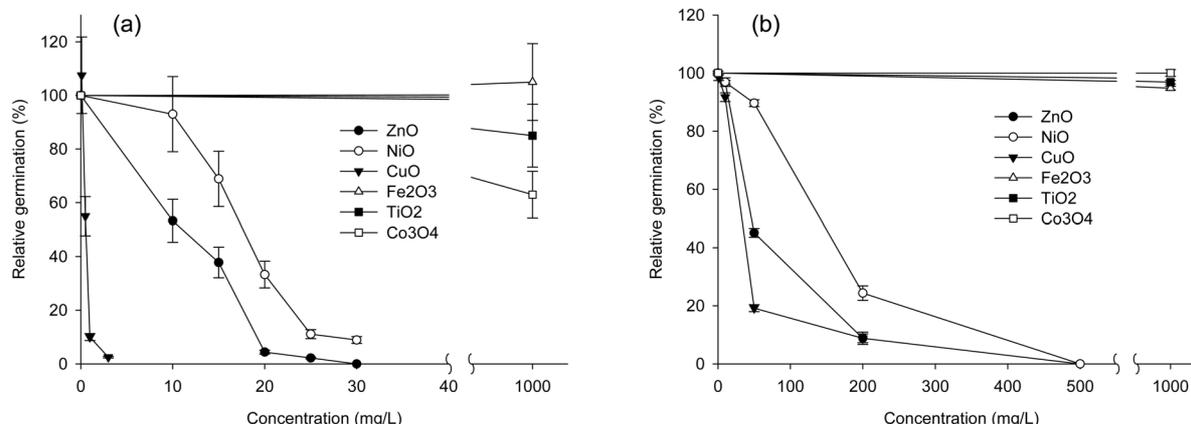


Fig. 3. Effects of NPs on the relative germination (%) of (a) *Lactuca* and (b) *Raphanus*.

*Lactuca*와 *Raphanus*의 씨앗 발아 활성에 대한 CuO, ZnO, NiO 나노입자의 영향 차이 여부를 EC₅₀간 통계적 유의치 (probability value)에 근거하여 평가하였다. *Lactuca*에 대한 CuO, NiO, ZnO의 EC₅₀ 값들은 나노입자 간 차이가 통계적으로 매우 유의(상당한 영향) 것으로 조사되었다($p < 0.009$). *Raphanus* 역시 나노입자 간 통계적으로 유의한 차이($p < 0.03$)를 나타내었다. 따라서 영향이 크지 않는 Ti, Co, Fe 금속 산화물을 제외한 나노입자들은 두 씨앗 중 모두에 대해 나노입자 간 씨앗 발아에 뚜렷한 차이의 영향을 나타냄을 알 수 있었다. Lin and Xing²⁾의 연구 결과에 의하면 ZnO 나노입자의 씨앗 발아 EC₅₀은 radish 50 mg/L, 그리고 rape과 ryegrass는 20 mg/L로 조사되었다. 본 연구에서 사용한 두 씨앗종과 비슷한 결과를 나타내었다. Wu et al.¹⁸⁾에 의하면 Co₃O₄, Fe₂O₃, TiO₂의 *Lettuce* 씨앗 발아에 대한 EC₅₀ 값은 5,000 mg/L 이상으로 매우 낮은 영향이 관찰되었다.

생물을 이용한 오염물 영향 평가에서 오염물에 대한 독성 정도 및 민감도 순서는 식물종과 측정 종말점 등에 따라 매우 다양한 특성을 나타낼 수 있기 때문에 시료 특성에 적합한 방법이나 다양한 방법들의 결과를 통합한 해석을 통하여 더욱 적절한 평가가 이루어질 수 있을 것이다.

3.2. 발아 지수(G.I.)에 근거한 나노입자 영향

발아 기간 중 발아와 함께 뿌리생장에 미치는 영향을 결합한 평가방법이 될 수 있는 발아지수(G.I.)를 이용하여 나노입자의 영향을 평가하였다. 조사 대상 6종 나노입자 노출 농도에 대한 *Lactuca*, *Raphanus* 씨앗 종의 발아지수에 미치는 영향을 Fig. 4에 나타내었다. 발아 기간 중 뿌리의 생장은 씨앗종에 따라 상이하게 관찰되었으며, 대조군의 경우 *Raphanus* (3.7 ± 0.6 cm)의 뿌리 생장이 *Lactuca* (1.8 ± 0.3 cm)에 비해 2배 정도의 높은 뿌리 성장을 나타내었다. 이러한 차이는 씨앗 크기 및 종 특성 때문이다(씨앗 크기: *Lactuca* 0.1×0.3 mm, *Raphanus* 0.3×0.4 mm) (Fig. 2). 씨앗 발아 영향과 같이 *Raphanus*는 *Lactuca*에 비해 낮은 영향(높은 G.I. 값)을 나타내었지만, 두 씨앗간의 차이는 씨앗 발아에 비해 낮게 조사되었다. 예를 들면 영향이 뚜렷한 3

종의 나노입자에서 두종의 씨앗 간 발아는 4~58배 범위 차이가 관찰되었으나, 발아지수는 2~26배로 적은 영향 차이가 관찰되었다. 이러한 결과는 나노입자가 두 종의 씨앗 발아에 미치는 영향이 뚜렷한 차이를 보이는 반면에, 뿌리 생장에 대한 영향은 두 종간 적기 때문일 것이다. 따라서 생물검정에서 평가에 이용하는 씨앗 종뿐 만 아니라 측정종 말점에 따라서도 상이한 결과가 도출될 수 있음을 알 수 있으며, 적절한 영향 평가를 위해서는 이러한 현상에 대한 고려가 있어야 할 것이다. 나노입자별 씨앗 종에 대한 영향을 비교하면, 가장 높은 독성을 보인 CuO 노출에 *Lactuca*과 *Raphanus* 씨앗은 상이한 농도(각 0.5 mg/L과 10 mg/L)에서 발아지수가 동일한 영향수준인 7% 정도로 급격한 감소를 나타내었다. ZnO와 NiO입자의 경우에는 동일한 농도 15 mg/L에서 *Lactuca* 발아지수가 각 2%와 27%로 상이한 영향을 나타내었지만, *Raphanus* 발아지수는 나노입자 ZnO와 NiO 50 mg/L 농도에서 *Lactuca*와 동일한 영향이 관찰되었다. 따라서 동일한 나노입자에 대해서 씨앗별 상이한 경향의 영향을 확인하였다. 씨앗 발아 활성과 동일하게 Fe, Co, Ti 금속 산화 나노입자는 발아지수에 뚜렷한 영향을 나타내지 않았다.

Lactuca, *Raphanus* 씨앗 중 별 나노입자 CuO, ZnO, NiO에 대한 발아율과 발아지수에 대한 영향을 비교하였다. *Lactuca*의 발아지수 EC₅₀은 씨앗 발아율 EC₅₀값의 0.8~1.0배로 비슷하게 조사되었지만, *Raphanus* 씨앗의 발아지수는 씨앗 발아 EC₅₀값의 0.4~0.6배로 조사되어, 씨앗 종에 따라 발아율과 발아지수에 미치는 영향 차이가 있음이 관찰되었다 (Table 1). 이러한 결과의 원인 중 하나는 *Raphanus* 씨앗이 *Lactuca* 씨앗에 비해 나노입자에 의한 높은 뿌리성장 억제 영향을 받기 때문일 것이다. 상대적으로 큰 씨앗크기와 긴 뿌리생장을 나타내는 *Raphanus*가 *Lactuca* 보다는 나노입자에 용이하게 노출되는 결과 때문일 것이다. 보편적으로 동일한 씨앗종이라 하더라도 발아, 줄기 및 뿌리의 생장에 따라 오염물이 미치는 독성은 상이한 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾ 상대적으로 내성이 강한 식물은 민감종에 비해 오염물에 대한 방어기작이 활발하게 이루어져 식물체내 축적을 줄이

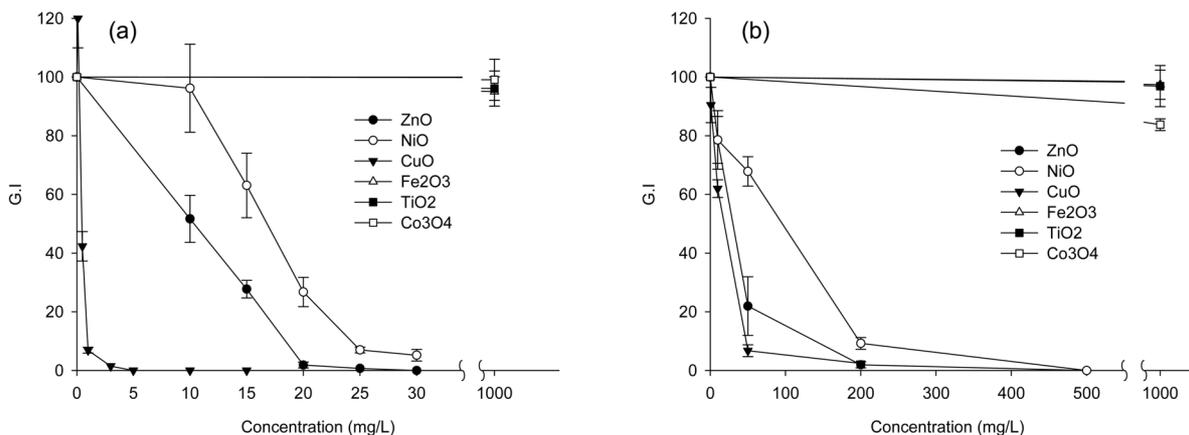


Fig. 4. Effects of NPs on the G.I. of the (a) *Lactuca* and (b) *Raphanus*.

고 생장을 감소가 적게 나타내는 것으로 사료된다. 따라서 식물종과 측정 종말점에 따라 나노입자별 상이한 영향을 미침을 알 수 있었다. 특히 나노입자에 의한 유전자 변이에 대한 영향 여부는 인간 건강 및 생태계 위해성 평가에 매우 중요한 과정이다.⁷⁾ 유전독성에 대해서도 통합 독성(battery of assay)과 상이한 측정종말점의 결과를 통하여 적절한 평가를 할 수 있다고 연구자들은 보고하고 있다.^{20,21)}

4. 결론

본 연구에서는 나노입자가 생태계에 미칠 수 있는 영향을 *Lactuca*와 *Raphanus* 씨앗 활성(씨앗 발아 및 발아지수)에 근거하여 평가하였으며 다음과 같은 결론을 도출할 수 있었다.

1) 씨앗을 이용한 평가에서는 나노입자 뿐만 아니라 씨앗 종류에 따라서 다양한 범위의 독성을 나타내었고, 본 조사의 경우 씨앗 크기가 작은 *Lactuca*이 *Raphanus* 보다 매우 민감한 반응을 나타내었다.

2) 나노입자 CuO, ZnO, NiO는 씨앗발아에 대해 뚜렷한 억제 영향을 나타내었으나, Fe₂O₃, Co₃O₄, TiO₂는 최대 시험농도(1,000 mg/L)에서도 씨앗 활성에 거의 영향을 나타내지 않았다.

3) 씨앗발아와 발아지수 간의 상대적 변화를 씨앗별 비교할 때 *Lactuca*는 비슷한 영향을 보인 반면에, *Raphanus* 씨앗은 상대적으로 2~3배 낮은 발아지수를 나타내었다. 따라서 오염물에 대해 대조군에서 높은 뿌리 생장을 나타낸 씨앗 *Raphanus*가 낮은 뿌리생장의 씨앗 *Lactuca*보다 더욱 큰 영향을 받는 것으로 조사되었다.

씨앗 활성을 이용한 검정법은 과정이 간편하고, 오염물에 대한 민감성 및 측정에 소요되는 시간 등의 관점에서 타 시험법보다 상대적으로 용이한 생물검정 평가 수단이다. 하지만 평가 결과를 해석하는 과정에서 씨앗별 상이한 민감도와 측정 종말점에 따른 영향 차이 등에 대한 이해 및 해석이 필요하다. 또한 단일 검정법에 근거한 평가가 내포하고 있는 제약점들이 있기 때문에, 실제적인 평가는 다양한 검정법과 측정 종말점의 통합 결과에 대한 해석을 통하여 접근해야 할 것이다. 따라서 본 검정법의 결과를 기초자료로 하여 향후 다양한 통합 검정법과 측정종말점을 이용한 나노입자 환경 노출에 대한 평가가 필요하다고 사료한다.

KSEE

사사

이 논문은 2013년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(No. 212-C-000-460).

Reference

1. Lowry, G. L., Gregory, K. B., Apte, S. C. and Lead, J. R., "Transformations of nanomaterials in the environment," *Environ. Sci. Technol.*, **46**, 6893~6899(2012).
2. Lin, D. and Xing, B., "Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth," *Environ. Pollut.*, **150**, 243~250(2007).
3. Klaire, S. J., Alvarez, P. J. J., Batley, G. E., Fernandes, T. F., Handy, R. D., Lyon, D. Y., Mahendra, S., McLaughlin, M. J. and Lead, J. R., "Nanomaterials in the environment; behaviour, fate, bioavailability, and effects," *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, 185~1851(2008).
4. Biswas, P. and Wu, C. Y., "Critical review: nanoparticles and the environment," *J. Air Waste Manage. Assoc.*, **55**, 708~ 46(2005).
5. Brunner, T. J., Wick, P., Manser, P., Spoha, P., Grass, R. N., Limbach, L. K., Bruinink, A. and Stark, W. J., "In vitro toxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility," *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 4374~4381(2006).
6. Lam, C. W., James, J. T., McCluskey, R., Arepalli, S. and Hunter, R. L., "A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risk," *Crit. Rev. Toxicol.*, **36**, 189~217(2006).
7. Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G. J. S., Griffiths, S. M., Williams, P. M., Maffei, T. G. G., Wright, C. J. and Doak, S. H., "NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials," *Biomaterials*, **30**, 3891~3914 (2009).
8. Landsiedel, R., Kapp, M. D., Schulz, M., Wiench, K. and Oesch, F., "Genotoxicity investigations on nanomaterials: Methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations-Many questions, some answers," *Mutat. Res.*, **681**, 241~258(2009).
9. Lu, C. M., Zhang, C. Y., Wen, J. Q., Wu, G. R. and Tao, M. X., "Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism," *Soybean Sci.*, **21**, 168~172(2002).
10. Maeng, S. H. and Yu, I. J., "The concepts of nanotoxicology and risk assessment of the nanoparticles," *J. Toxicol. Pub. Health*, **21**(2), 87~98(2005).
11. Kong, I. C., Kwon, H. J. and Ko, K. S., "Bioassessment and comparison of toxicity of arsenics based on the results of various bioassays," *J. Kor. Soc. Environ. Eng.*, **32**(8), 795~801(2010).
12. Dreher, K. L., "Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles," *Toxicol. Sci.*, **77**, 3~5(2004).
13. Cabrera, G. L. and Rodriguez, D. M. G., "Genotoxicity of soil from farm land irrigated with wastewater using three plant bioassays," *Mutat. Res.*, **426**, 211~214(1999).
14. Adam, G. and Duncan, H., "Influence of diesel fuel on seed germination," *Environ. Pollut.*, **120**, 363~370(2002).
15. Maila, M. P. and Cloete, T. A., "Germination of *Lepidium*

- sativum* as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal from contaminated soil,” *Internat. Biodet. Biodegrad.*, **50**, 107~113(2002).
16. US. EPA., “Ecological Effects Test Guidelines-seed germination/root elongation toxicity test,” 712-C-96-154(1996).
 17. Ko, K-S., Han, J. and Kong, I. C., “Assessment of arsenite, arsenate, and chromate phytotoxicity based on the activity of seed germination and growth (root & shoot) of various plant seeds,” *Human Ecol. Risk Ass.*, **19**, 742~753(2013).
 18. Wu, S. G., Huang, L., Head, J., Chen, D-R., Kong, I. C. and Tang, Y., “Phytotoxicity of metal oxide nanoparticles in related to both dissolved and metal ions and adsorption of particles on seed surfaces,” *J. Petroleum Environ. Biotechnol.*, **3**(4), 2~5(2012).
 19. Liu, X., Zhang, S., Shan, X. and Zhu, Y-G., “Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amylolytic activity of wheat,” *Chemosphere*, **61**, 293~301 (2005).
 20. Gonzalez, L., Lison, D. and Kirsch-Volders, M., “Genotoxicity of engineered nanomaterials: a critical review,” *Nanotox.*, **2**, 252~273(2008).
 21. Landsiedel, R., Kapp, M. D., Schulz, M., Wiench, K. and Oesch, F., “Genotoxicity investigations on nanomaterials: methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations-many questions, some answers,” *Mutat. Res.*, **681**, 241~258(2009).