

토착 야초류(어저귀, 자귀풀)의 수경재배를 이용한 2,4,6-trinitrotoluene(TNT) 분해 연구

권영석 · 김동일 · 정연규[†] · 배범한^{*} · 이인숙^{**} · 장윤영^{***}

연세대학교 토목공학과
^{*}경원대학교 토목환경공학과
^{**}이화여자대학교 생물학과
^{***}광운대학교 환경공학과

Removal of 2,4,6-trinitrotoluene(TNT) by Indigenous Grasses, *Abutilon Avicennae* and *Aeschynomene Indica*, in Hydroponic Culture

Young-seok Kwon · Dong-ill Kim · Youn-kyoo Choung[†] · Bum-han Bae^{*} · In-sook Lee^{**} · Yoon-young Chang^{***}

Department of Civil & Environmental Engrg. Yonsei University
^{*}Department of Civil & Environmental Engrg. Kyungwon University
^{**}Department of Biological Science, Ewha Womans University
^{***}Department of Environmental Engrg. Kwangwoon University

Abstract : In this study, uptake and translocation of 2,4,6-trinitrotoluene(TNT) by plant in a hydroponic culture was quantified with two indigenous plant species, *Aeschynomene indica* and *Abutilon avicennae* on various initial concentrations of TNT ranging from 20 to 80 mgTNT/L. Experiments were sterilized to exclude the activity of microorganisms and conducted in duplicate. Weight loss of two plant species in added TNT culture media was higher than in control. At over 20mgTNT/L, there appeared to be phytotoxicity from TNT as indicated by severe yellow-chlorosis and increase of falling leaves. TNT removal rate normalized(K) to the plant fresh weight of *Abutilon avicennae* and *Aeschynomene indica* was that the higher TNT concentrations resulted in lower TNT removal rate normalized(K) to the plant fresh weight. Approximately 96% of the TNT in viable microflora-hydroponic culture was removed after 96h of the experiments.

keywords : Phytoremediation, 2,4,6-trinitrotoluene(TNT), *Aeschynomene indica*, *Abutilon avicennae*, TNT removal rate normalized(K)

1. 서 론

질소 화합물은 자연적으로는 화석연료의 불안정한 연소에 의해 발생되기도 하고 인위적으로는 염료, 농약, 폭발물, 의약품 등 다양한 용도로 최근 산업적 중요성이 크게 대두되고 있으며 대량생산과 소비로 인해 환경생태계에 악영향을 미치고 있다.^{1,2)} 화약류는 유류나 기타 화학물질의 오염에 비해 큰 연구대상 물질이 아니었으나 최근 들어 대중적인 관심을 불러일으키고 있으며 미국의 경우 정부의 지원에 의하여 다양한 복원공법 연구가 진행되고 있다.

상업적 또는 군사적 목적으로 사용되는 화약류는 약 20여종이며 가장 위력적이고 널리 사용되는 것은 고성능 폭약(High Explosives)이다. 고성능 폭약에 의한 오염지역은 화약류를 제조, 저장, 충전, 폐기하였던 지역이나 군 사격장, 전장(戰場) 주변이며, 경우에 따라 고농도의 화약 폭발물이나 그 전환물질이 존재하는 것으로 보고되고 있다. 미 육군환경센터(USAEC)에서 지정한 주요 폭발물 오염지역은

1000여 곳, 캐나다는 100여 곳 이상으로 보고 되고 있으며 주로 탄약제조공장을 운영하였던 곳이다.^{3,4)} Iowa Army Ammunition Plant의 경우 2,4,6-trinitrotoluene(TNT) 9,290mg/kg, hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine(RDX) 2,950 mg/kg, octahydro-1,3,5,7-tetrazocine(HMX) 860 mg/kg로 주변 토양과 지하수가 심각하게 오염되어 있으며⁵⁾ 독일의 경우 2차 세계대전에서 대부분의 탄약제조 공장이 폭파되었기 때문에 인근지역의 오염도는 더욱 심각하다.³⁾

TNT, RDX는 미국 환경청(US EPA)에 C급 발암물질로 등재되어 있으며 독성이 강하여 자연환경계에 방출될 경우 인간 및 생태계에 영향을 주어 TNT는 곰팡이, 효모, 세균 등의 성장을 억제하고 돌연변이를 일으키며 피부자극, 호흡기계통 장애, 빈혈, 간에 대한 발암물질로 알려져 있다.^{2,6,7)}

화약 폭발물로 오염된 토양이나 지하수의 복원은 빠른 효과성 때문에 물리적인 방법인 굴토 후 소각처리 방법이 광범위하게 이용되었지만 굴착 및 운송, 소각에너지 비용이 크고 2차 오염이 발생하기 때문에 최근에는 생물학적 복원 공법인 Bioremediation과 Phytoremediation 공법이 이용되고 있다.⁸⁾ 식물상복원공법은 식물과 근권미생물을 이용하여 오염토양, 지하수, 퇴적물 등을 정화하는 것으로 경제적이

[†] To whom correspondence should be addressed.
choung@yonsei.ac.kr

며 현장적용이 가능하고 심미적인 효과가 크기 때문에 빠른 복원과 오염원이 지속적으로 유입되는 현장에 적용하기에 가장 적합한 방법이라 할 수 있다. 특히 유기독성물질로 오염된 수계 및 토양을 정화하기 위해 식물정화공정을 적용할 경우 오염물이 짧은 고리를 가지고 logK_{ow}(log octanol:water partition coefficients)가 0.5에서 3사이인 경우 식물 뿌리에 효과적으로 흡수된다. 또한 오염물이 지표로부터 5m 이내에 얇게 퍼져 있으며 유기물이 풍부한 지역인 경우 제거 효율이 더욱 향상된다.⁹⁾ TNT 및 RDX의 식물상 복원공법에 대한 연구가 식물의 선정과 독성효과, 현장적용 등에 대해 진행되고 있으며, Scheidemann 등은 11종의 식물을 8주 동안 TNT로 오염된 토양에서 재배한 결과 500 mg/L의 TNT로 오염된 토양에서 bush beans(*Phaseolus vulgaris*)만이 성장하였고 일차 환원물질인 2ADNT와 4ADNT가 생성되었으며 낮은 농도의 TNT(10 mg/L)로 오염된 토양은 95% 이상 TNT가 환원되었음을 보고하였다.¹⁰⁾ Pavlostathis 등은 *Myriophyllum spicatum*을 49 μM TNT 배지에 노출하였을 때 식물 배양액에서 TNT가 빠르게 사라지며 ADNTs과 DANTs, HADNT, 2-2 Azy compound와 같은 TNT 환원물질이 미량 일시적으로 검출되었으나 식물 추출액에서는 단지 TNT와 ADNT만이 검출되어 흡수된 TNT 중 많은 부분이 추출이 불가능한 미지의 물질로 존재함을 가정하였다.¹¹⁾

본 실험에 이용된 식물은 발아율과 유식물 성장 실험을 통해 TNT를 가장 효과적으로 제거하는 것으로 판명된 어저귀와 자귀풀로써 어저귀는 척박한 토양조건에서도 잘 자라며 높이가 1.5m에 달해 초본류 중 생체중량이 매우 큰 특징을 가지고 있다. 자귀풀은 콩과의 1년 생 초본으로 우리나라 각처의 낮은 지대 밭둑이나 습지 등에서 높이가 120~130m까지 자라 오염토양이 습할 경우에 적당한 식물 종이라 사료된다. 이러한 어저귀, 자귀풀¹²⁾을 무균재배가 용이하며 대사 변환물질을 쉽게 확인할 수 있는 수경재배를 통하여 TNT농도에 따른 제거율과 비멸균 배지와외의 제거율 비교를 통해 화학류 오염토양 및 지하수의 복원에 사용할 수 있는 기초연구자료를 확보하고자 하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 식물 파종 및 무균 수경재배

토양에 종자를 파종한 후 2 개월 뒤에 수거한 자귀풀과 어저귀를 약 20, 40, 60, 80 mgTNT/L의 오염배지(Hoagland Solution)에 유사한 밀도로 무균 반응조(40mgTNT/L 반응조: 비멸균 반응조 추가)에 넣고 자귀풀과 어저귀를 168시간 수경 재배하였다. 각 노출 농도마다 TNT 용액만을 첨가한 무식물군(plant-free control)을 공시험군으로 하여 실험 장치에 의한 흡착과 광분해에 의한 TNT 손실을 측정하였다. 또한 TNT가 식물체에 미치는 독성 효과를 파악하기 위해 대조군(TNT-free solution)에서 동일시간 동안 두 식물을 수경 재배하여 노출구와 식물상태를 비교하였다. 식물 독성 효과에 대한 지표로는 백화 현

상(Chlorosis), 낙엽생성(Leaf loss) 및 성장 저해(무게 감소)를 관찰하였다. 배지 시료는 일정 시간마다 멸균된 300 mm stainless steel 주사기 바늘(I.D. 1.1mm, 23 gauge)을 이용하여 채취하였으며 HPLC로 분석하였다. 반응조를 비롯한 기구와 용액은 실험하기 전 모두 멸균하여 사용하였으며 배지 내 공기는 0.22μm PTFE air filter(Autoclavable, Millipore)를 이용해 미생물을 제거한 후 포기하였다. 또한 항생제(Streptomycin sulfate)를 100mg/L의 농도로 액체 배지에 24시간마다 주입하여 세균에 의한 반응조의 오염을 방지하였으며, 수경재배 실험은 plant growth chamber (Fitotron™, SANYO Inc, JAPAN)를 이용함으로써 습도와 온도를 일정하게 유지하여 외부의 환경조건 변화를 배제하였고 모든 실험은 2배수 실험을 실시하였다. 40mgTNT/L의 농도에서는 멸균하지 않은 반응조를 준비하여 멸균한 반응조와 그 결과를 비교하였다.

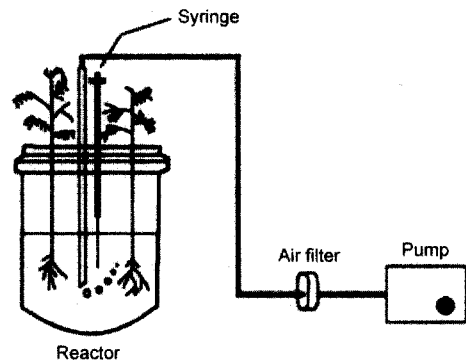


Fig. 1. Schematic diagram of hydroponic culture.

2.2. 식물체에서 TNT 추출

수경재배 후 식물은 뿌리, 잎, 줄기로 구분하여 각 2g을 분석용으로 사용하였다. 액체질소를 이용하여 균일하게 간 식물체 2g에 내부표준물질인 1,3-Dinitrobenzene을 첨가한 뒤, acetonitrile에 넣고 ultrasonicator에서 18시간 동안 추출하였고 clean up column을 통과시켜 식물 색소와 이물질을 제거한 후 HPLC로 분석하였다.¹³⁾ TNT는 Chem Service (USA)에서 구입하였고 그 순도는 99%+>로 AccuStandard, Inc.에서 구입한 표준 시료와의 retention time을 비교하여 정성하였다. 분석용매의 조성은 D.I.W와 Methanol 비가 50 : 50이며 유량은 0.8mL/min이었다. 분석은 영린기기의 HPLC(Pump : M930, UV Detector : M720)를 사용하였고 분석용 칼럼은 SHISEIDO사의 CAPCELL PAK C₁₈ column (5 μm particle size, 250 × 4.6 mm I.D.)이었으며 시료 주입량은 5 μL, 검출기의 파장은 UV 230 nm이었다.

2.3. TNT 제거율 산정

각각의 노출 농도에서 시간에 따른 TNT 농도를 측정하여 아래의 식에 의하여 유사 1차 TNT 제거율 (k)를 산정하였다.

$$dC/dt = -k \cdot C \quad (1)$$

$$K = -k/P \quad (2)$$

여기서, C는 TNT 농도(mg/L), t는 Time(hours), k는 pseudo-first order rate constant(d⁻¹), P는 식물습윤중량(plant wet weight, g/mL)이다. K는 plant normalized rate constant (mL·g⁻¹d⁻¹)로 식물 고유의 오염물 흡수능력을 반응조 당 식물 습윤중량에 대해 일반화시킨 값으로 서로 다른 두 식물의 오염물 제거효율을 비교하기 위한 지표로 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 독성효과

TNT가 식물체에 미치는 독성효과를 알아보기 위해 168 시간 동안 어저귀와 자귀풀을 수경 재배하여 노출군과 대조군(TNT-free solution) 간의 식물상태를 비교하였다.

어저귀와 자귀풀을 약 20, 40, 60, 80mgTNT/L에 노출시켰을 때 두 종의 식물 모두 24시간 이후 약 60mgTNT/L 이상의 농도에서 지상부의 아래쪽 잎이 시든 구가 관찰되었다. 자귀풀은 팽압운동을 통해 낮에는 잎이 활짝 펼쳐졌다가 밤이 되면 오므라져 접히는 식물이나 약 80mgTNT/L의 노출군에서는 낮에도 오므라져 접히는 현상이 발생하였다. 48시간이 지나면서 모든 노출군에서 낙엽이 생성되었고 96시간 이후에는 식물독성이 더 심해져 80mgTNT/L 군에선 줄기가 마르는 개체도 관찰되었다. 168시간 이후 초기생체량과 비교했을 때 TNT에 노출하였던 어저귀와 자귀풀은 대조군에 비해 모두 생체량의 감소율이 현저히 증가하였다(Table 1, 2). 이와 같은 결과는 Best 등의 TNT 오염 지하수를 이용한 화약류 내성식물 선정실험 결과와 일치하는 것으로 유입수내 TNT 농도가 2.123mgTNT/L에 불과하였으나 실험에 사용된 10종의 식물 중 parrot-feather 만이 생체가 증가하였고 9종은 생체가 감소하였다.¹⁴⁾ 또한 Thomson 등이 hybrid poplar를 1mgTNT/L와 5mgTNT/L의 배지에 이식하여 증산율의 증감으로 독성실험을 한 결과

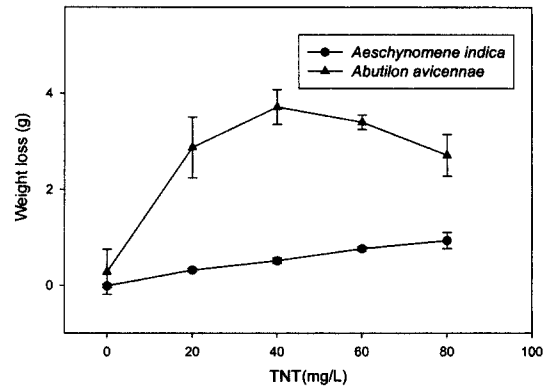


Fig. 2. Comparison of weight loss (g) for *Aeschynomene indica* and *Abutilon avicennae* treating four TNT concentrations ranging from 20 to 80mg/L.

1mgTNT/L 배지에 이식한 poplar hybrid는 대조군에 비해 증산량이 감소하지 않았지만 5mgTNT/L 배지에서는 잎의 황백화 현상 및 낙엽량의 증가로 인해 증산량이 감소하여 5mgTNT/L 농도 이상에서는 TNT에 의한 식물독성이 나타남을 보여주었다.¹⁵⁾ 본 연구에서는 20mgTNT/L 이하에 대한 결과는 없으나, 상기와 유사한 농도에서 어저귀 및 자귀풀에 독성효과를 나타내는 것으로 판단된다.

3.2. 식물에 의한 TNT 제거율

식물상 복원 공법은 현장적용 시 미생물과의 상호작용을 배제할 수 없으며 근권미생물등에 의해 식물상복원공법의 효과를 증대시키는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾ 본 실험에서는 모든 배지 및 실험기구를 멸균하고 미생물 거름 필터를 통해 공기를 주입하였으며 streptomycin sulfate를 주입하여 멸균상태를 유지하였다. 실험 종료 후 멸균 여부를 확인하기 위해 배지의 CFUs를 측정된 결과 미생물이 검출되지 않아 수경재배 용액내에서 미생물에 의한 TNT농도감소를 배제하였다.

어저귀와 자귀풀을 동일한 조건으로 수경재배 하였을

Table 1. Extent of initial and final biomass in *Aeschynomene indica* at four initial TNT concentration for 168hr

Initial TNT concentration(mg/L)	Initial Biomass(g)	Final Biomass(g)	Weight Loss(%)
0	3.93±0.17	3.94±0.21	-0.14±0.34
20.00±0.02	4.04±0.13	3.73±0.09	3.83±0.19
35.72±2.19	4.11±0.04	3.63±0.01	6.11±0.44
53.62±2.80	3.96±0.16	3.20±0.18	9.60±0.92
84.88±0.51	3.84±0.01	2.91±0.03	12.11±1.58

Table 2. Extent of initial and final biomass in *Abutilon avicennae* at four initial TNT concentration for 168hr

Initial TNT concentration(mg/L)	Initial Biomass(g)	Final Biomass(g)	Weight Loss(%)
0	7.30±0.09	7.02±0.17	3.82±4.57
20.28±0.68	7.65±0.21	4.78±0.25	37.51±5.67
42.39±0.62	8.10±0.31	4.38±0.21	45.85±3.14
64.40±0.52	8.72±0.51	4.75±0.49	45.56±0.22
84.72±0.15	8.49±0.62	5.09±0.84	40.01±1.42

Table 3. Extents of TNT removal and rate constants in *Aeschynomene indica* cultures at four initial TNT concentration

Initial TNT concentration (mg/L)	TNT removal(%)	Mass of TNT removals ($\mu\text{g} \cdot \text{F.W.} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	First order rates constant (k, d^{-1})	Plant normalized rate constant ($K, \text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)
20.00±0.02	37.0±1.34	141.67±1.56	0.066±0.003	14.424±0.286
35.72±2.19	17.8±0.63	124.74±2.99	0.028±0.001	6.284±0.259
53.62±2.80	12.4±2.42	149.77±12.28	0.019±0.0007	4.838±0.449
84.88±0.51	12.1±0.38	252.58±17.23	0.018±0.0003	5.173±0.394

Table 4. Extents of TNT removal and rate constants in *Abutilon avicennae* cultures at four initial TNT concentration

Initial TNT concentration (mg/L)	TNT removal(%)	Mass of TNT removals ($\mu\text{g} \cdot \text{F.W.} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	First order rates constant (k, d^{-1})	Plant normalized rate constant ($K, \text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)
20.28±0.68	31.1±3.1	189.32±21.78	0.062±0.007	11.416±1.883
42.39±0.62	19.0±2.8	261.34±22.03	0.035±0.006	7.106±0.750
64.40±0.52	16.6±2.2	321.45±69.65	0.031±0.004	5.652±0.003
84.72±0.15	16.6±0.1	408.56±76.27	0.030±0.003	5.382±0.910

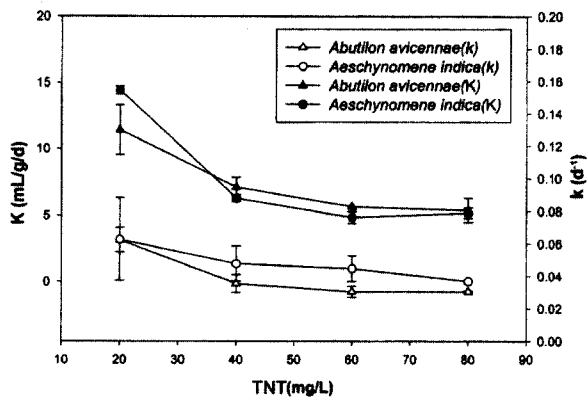


Fig. 3. Comparison of pseudo-first-order rate constants(k) and normalized TNT removal rate(K) for *Aeschynomene indica* and *Abutilon avicennae* treating four TNT concentrations ranging from 20 to 80mg/L.

때 시간에 따른 TNT의 감소는 일 차반응을 나타내었다. 배지에서 사라진 TNT의 양은 어저귀 16.7~31.1%, 자귀풀 12.1~37.0% 이었으며 식물에 의한 제거율 (k)은 어저귀 $0.030 \sim 0.062 \text{d}^{-1}$ 자귀풀 $0.018 \sim 0.066 \text{d}^{-1}$ 이었고 저농도(약 20mgTNT/L)에서 큰 값이 산출되었다(Table 3, 4). parrot feather를 이용한 실험에서 TNT 제거율(k)도 TNT 농도가 높을수록 낮아져 본 실험과 유사한 경향을 보여주었으며 이것은 고농도의 오염물질에 의해 식물의 대사작용(광합성, 호흡, 증산작용, 효소반응, 뿌리의 수분흡수 등)을 방해하는 독성효과 때문으로 판단된다.¹⁷⁾ 식물 고유의 오염물 흡수능력을 반응조 당 식물밀도(plant density)에 대해 일반화시킨 K 값은 어저귀 $5.382 \sim 11.416 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 자귀풀 $5.173 \sim 14.424 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 로 약 20mgTNT/L의 배지에서는 어저귀보다 자귀풀의 K 값이 21% 높았다(Fig. 3). 따라서 독성효과가 크지 않은 저농도에서 자귀풀이 어저귀보다 TNT 제거능력이 우수한 종이라 할 수 있다.

3.3. 평균하지 않은 배지의 TNT 제거율
 식물상복원공법에서 식물 고유의 오염물질 제거능력을

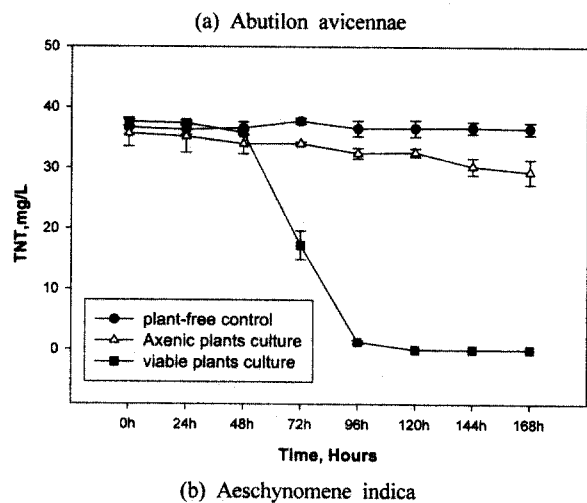
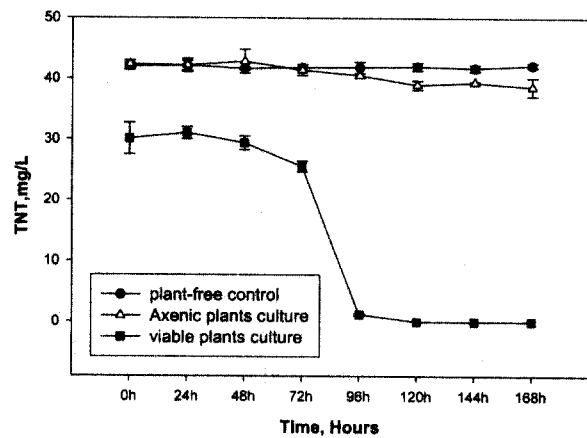


Fig. 4. Results of temporal medium sampling from experiments with *Abutilon avicennae* and *Aeschynomene indica*.

확인하기 위하여 모든 실험 절차에서 평균한 값과 평균하지 않은 배지에서의 TNT 제거율을 비교하였을 때 어저귀와 자귀풀 모두 실험 시작 후 72시간까지는 평균한 배지와 거의 변화가 없지만 72시간에서 96시간까지 24시간 동안 대부분의 TNT는 미생물에 의해 제거되었다. 평균배지에서

96시간동안 TNT가 10%정도 제거된 반면 멸균하지 않은 배지에서는 96.2~96.6%가 제거되어 미생물에 의해 대부분의 TNT가 소멸되어짐을 알 수 있다. 72시간까지 멸균한 배지와 멸균하지 않은 배지의 제거량이 비슷한 것은 미생물을 첨가하지 않은 자연상태에서 배지내의 미생물이 지연기와 대수성장기를 거치기 때문으로 사료된다. 이러한 결과는 Manning 등이 슬러리 반응조를 이용한 복합미생물 실험에서 최초 100mgTNT/L의 TNT가 복합미생물에 의해 100시간 후 반응조에서 완전히 사라진 결과와 일치한다.¹⁸⁾ 실험 후 비멸균 배지를 동정 분석한 결과 우리나라 자연생태계에 널리 분포하는 *Cedecea davisae*, *Salmonella typhimurium*, *Kluyvera ascorbata* 등이 가장 많이 발견되어 TNT에 노출되지 않았던 미생물도 적응기간을 거친 후 TNT 제거능력을 보유하는 것을 알 수 있다.

4. 결론

본 연구에서는 어저귀(*Abutilon avicennae*)와 자귀풀(*Aeschynomene indica*)의 TNT 내성 및 제거율을 검증하기 위한 연구를 수행하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 어저귀 및 자귀풀 모두 20 mgTNT/L 이상의 농도에서 황백화 현상, 낙엽량 증가 등 독성현상을 보였으며, 대조군보다 높은 생체량 손실을 나타내었다.
2. 어저귀와 자귀풀 배지 모두 시간에 따른 TNT 감소는 유사일차반응을 나타내었으며 유사 1차 TNT 제거율(k)는 TNT 농도가 증가함에 따라 감소하였다.
3. 어저귀와 자귀풀의 TNT 제거율을 식물습윤중량으로 일 반화한 K값은 저농도에서 자귀풀이 어저귀보다 약 20% 높아 자귀풀의 TNT 오염제거능력이 어저귀보다 높은 것으로 판단할 수 있다.
4. 멸균하지 않은 배지는 96시간 이후 배지내 TNT가 약 96% 제거되었으며 배지 시료를 동정분석 한 결과 *Cedecea davisae*, *Salmonella typhimurium*, *Kluyvera ascorbata* 등의 미생물이 주류이었다.

참고문헌

1. Spain, J. C., Biodegradation of nitroaromatic compounds, *Annu. Rev. Microbiol.*, **49**, pp. 523-555 (1995).
2. Yinon, J., Toxicity and metabolism of explosives, CRC Press (1990).
3. Hawari, J., Biodegradation of RDX and HMX, *Biodegradation of Nitroaromatic compounds and Explosives*, Spain, J. C., Hughes, J. B. and Knackmuss, H. J.(Eds), Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 277-310 (2002).
4. Juck, D., Driscoll, B. T., Charles, T. C. and Greer, C. W., Effect of experimental contamination with the explosive hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine on soil bacterial communities, *Micorbiology Ecology*, **1453**, pp. 1-8 (2002).
5. George, S. E., Huggins-clark, G., and Brooks, L. R., Use of a salmonella microsuspension bioassay to detect the mutagenicity of munitions compounds at low concentrations, *Mutation Research*, **490**, pp. 45-46 (2001).
6. U.S. EPA 2002 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories, EPA/822/R-02/038. (2002).
7. U.S. Department of Health and Human Services Toxicological Profile for 2,4,6-Trinitrotoluene, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (1995).
8. Boopathy, R., Bioremediation of explosives contaminated soil, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **46**, pp. 29-36 (2000).
9. U.S. EPA, Introduction to Phytoremediation, EPA/600/R-99/107. (2000).
10. Frische, T., Ecotoxicological evaluation of in Situ bioremediation of soils contaminated by the explosive 2,4,6-Trinitrotoluene(TNT), *Environmental Pollution*. (2002).
11. Lachance, B., Robidoux, P. Y., Hawari, J., Ampleman, G., Thiboutot, S. and Sunahara, G. I., Cytotoxic and genotoxic effects of energetic compounds on bacterial and mammalian cells in vitro, *Genetic Toxicology and environmental mutagenesis*, *Mutation Research*, **444**, pp. 25-39 (1999).
12. 배범한, 김선영, 이인숙, 장운영, 수경재배 토착 야초류에 의한 2,4,6-trinitrotoluene의 제거 및 식물내의 생물학적 전환에 관한 동역학, *대한환경공학회지*, **24**, pp. 675-687 (2002).
13. U.S. EPA, SW-846, Method 8330. (1994).
14. Best, E. P. H., Sprecher, S. L., Fredrickson, H. L. Zappi, M. E. and Larson, S. L., Screening Submersed Plant Species for Phytoremediation of Explosives-Contaminated Groundwater from the Milan Army Ammunition Plant, Milan, Tennessee, U.S. Army Corps, Technical Report EL-97-24. (1997).
15. Thompson, P. L., Ramer, L. A. and Schnoor, J. L., Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine translocation in poplar trees, *Environ. Sci. Technol.*, **18**, pp. 279-284 (1999).
16. Schnoor, J. L., Licht, L. A., Mccutcheon, S. C., Wolfe, N. L. and Carreira, L. H., Phytoremediation of organic and nutrient contaminants, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, pp. 318-323 (1995).
17. Medina, V. F., Larson, S. L. Bergstedt, A. E. and McCutcheon, S. C., Phyto-removal of TNT from water with batch kinetics studies, *Wat. Res.*, **34**, pp. 2713-2722 (2000).
18. Manning, J. F., Boopathy, R. and Kulpa, C. F., A laboratory study in support of the pilot demonstration of a biological soil slurry reactor, U.S. Army Environmental Center, Technical Report SFIM-AEC-TS-CR-94038. (1995).