



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

식물 및 세포 독성 평가 방법을
활용한 안티몬 (III) 산화물 나노
입자의 위험성 평가

제주대학교 대학원

생물학과

곽 상 은

2022년 02월



식물 및 세포 독성 평가 방법을
활용한 안티몬 (III) 산화물 나노
입자의 위험성 평가




지도교수 송 우 람

곽 상 은

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2022년 02월

곽상은의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장	<u>김 세 재</u>	
위 원	<u>고 석 찬</u>	
위 원	<u>송 우 람</u>	

제주대학교 대학원

2022년 02월

**Risk assessment of Antimony (III) oxide nanoparticles using
both phytotoxicity and cytotoxicity testing methods.**

SangEun Kwak

(Supervised by professor Uhram Song)

**A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the
degree of Master of Science**

2022. 02

This thesis has been examined and approved

Se Gae Kim

Chairperson of the Committee

Seok Chan Koh

Uhram Song

(Name and signature)

Dec. 2021

DEPARTMENT OF BIOLOGY

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSIT



ABSTRACT

Phytotoxicity and cytotoxicity are important considerations to understand the potential environmental impacts of manufactured nanomaterials. Nanoparticles (NPs) are increasingly being used in industry. NPs can produce some acute toxicities, but their overall effects on living organisms are mostly unknown. Whether antimony (III) oxide (antimony) NPs are toxic or beneficial to ecosystems is controversial because of limited research. In this study, we assessed the potential toxic effects of antimony NPs using phytotoxicity and cytotoxicity testing methods. The germination rates of *Lactuca sativa* L. and *Brassica campestris* L. (0, 1, 10, 100, 500, 1000 mg/L) were tested and only *Lactuca sativa* germination rates were significantly decreased after antimony NPs treatment. Furthermore, antimony NPs treatments at over 500 mg/L concentrations significantly affected root elongation. In pot experiments with semimature plants and mature plants (0, 1, 10, 100, 500, 1000 mg/kg in soil), significantly decreased chlorophyll content was detected in both species by antimony NPs treatment. Antimony NPs was taken up into plant stems, leaves and soils. Especially higher concentrations (500, 1000 mg/kg). In cytotoxicity tests, RAW 264.7 cells with antimony NPs showed a significant decline in cell viability (0, 1, 10, 50, 100, 250, 500 µg/mL). As a result, antimony NPs show phytotoxicity and cytotoxicity, and presented potential toxicity in the environment. Antimony nanomaterials are widely used and can be dangerous. Therefore, the use and disposal of antimony oxide nanoparticles should be carefully monitored.

Keywords; Nanoparticles, Antimony (III) oxide, Phytotoxicity, Cytotoxicity, *Brassica campestris* L., *Brassica campestris* L., RAW 264.7 cells

목 차

ABSTRACT	1
LIST OF TABLES.....	3
LIST OF FIGURES	5
I. 서 론.....	6
II. 재료 및 방법	10
1. 삼산화 안티몬 나노 물질의 식물 독성	10
1.1 식물 선정	10
1.2 나노 물질의 처리.....	10
1.3 발아율과 유근 생장	11
1.4 식물 생장	12
1.5 식물 및 토양 분석	13
2. 안티몬 산화물의 세포 독성.....	14
2.1 세포 배양	14
2.2 세포 독성	14
III. 결과 및 고찰.....	16
1. 삼산화 안티몬 나노 물질의 식물 독성	16
1.1 나노 물질 처리에 따른 발아율 및 유근 생장 결과	16
1.2 나노 물질 처리에 따른 상추와 유채의 유식물 생장 결과.....	21
1.3 나노 물질 처리에 따른 상추와 유채의 성체 식물 생장 결과	27
1.4 식물 및 토양 분석 결과	33
2. 삼산화 안티몬 나노 물질의 세포 독성	39
2.1 RAW 264.7 세포에서의 삼산화 안티몬 나노 물질의 독성 결과.....	39
IV. 요약.....	42
V. References.....	44

LIST OF TABLES

Table 1. Effects of Antimony (III) oxide on germination rates (%) of <i>Lactuca sativa</i> L. biennis	18
Table 2. Effects of Antimony (III) oxide on germination rates (%) of <i>Brassica campestris</i> L. biennis	18
Table 3. Effects of Antimony (III) oxide on root elongation of <i>Lactuca sativa</i> L.	20
Table 4. Effects of Antimony (III) oxide on root elongation of <i>Brassica campestris</i> L.	20
Table 5. Effects of Antimony (III) oxide on the height of semimature <i>Lactuca sativa</i> L.	23
Table 6. Semimature <i>Lactuca sativa</i> L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide...	23
Table 7. Effects of Antimony (III) oxide on the height of semimature <i>Brassica campestris</i> L.	25
Table 8. Semimature <i>Brassica campestris</i> L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide.	25
Table 9. Mean temperature during the experiment period in greenhouse	29
Table 10. Effects of Antimony (III) oxide on the height of mature <i>Lactuca sativa</i> L.	29
Table 11. Mature <i>Lactuca sativa</i> L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide.....	29
Table 12. Effects of Antimony (III) oxide on the height of mature <i>Brassica campestris</i> L..	31
Table 13. Mature <i>Brassica campestris</i> L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide	31
Table 14. Antimony (III) oxide uptake by plant leaves 4 weeks after exposure in mature <i>Lactuca sativa</i> L.....	36
Table 15. Antimony (III) oxide uptake by plant roots 4 weeks after exposure in mature <i>Lactuca sativa</i> L.....	36
Table 16. Antimony (III) oxide contents of soils in mature <i>Lactuca sativa</i> L.	37
Table 17. Antimony (III) oxide uptake by plant leaves 4 weeks after exposure in mature <i>Brassica campestris</i> L.	37
Table 18. Antimony (III) oxide uptake by plant roots 4 weeks after exposure in mature <i>Brassica campestris</i> L.	38

Table 19. Antimony (III) oxide contents of soils in mature *Brassica campestris* L. 38

LIST OF FIGURES

Figure 1. The Chlorophyll contents of semimature <i>Lactuca sativa</i> L. leaf.....	24
Figure 2. The Chlorophyll contents of semimature <i>Brassica campestris</i> L. leaf.....	26
Figure 3. The Chlorophyll contents of mature <i>Lactuca sativa</i> L. leaf.....	30
Figure 4. The Chlorophyll contents of mature <i>Brassica campestris</i> L. leaf.....	32
Figure 5. Effects of Antimony (III) oxide nanoparticles on cell viability in RAW 264.7cells	41

I. 서 론

나노 입자는 1에서 100 nm 사이의 크기를 갖는 원자 또는 분자 집합체로, 크기에 따라 매우 다른 성질을 가지게 된다. 이러한 물질을 활용한 나노 기술은 현재 각광받는 산업 기술 중 하나이며, 대표적으로 나노 기술을 활용한 화장품 (Gong *et al.* 2014), 농업용 비료 (Liu and Lal 2014), 각종 배터리 (Lee *et al.* 2010) 등에 사용된다. 그리고 나노 물질은 화학적 조합, 전해질 특성, 자기적 특성에서 비롯되는 고유한 기능적 특징을 가지며 이는 체내에 흡수 및 전달에 용이하다. 때문에 나노 물질을 활용한 식품을 제작하여 소화흡수력을 높이고 천연 성분을 본래의 특성에 변화 없이 전달하여 소량의 영양성분을 효율적으로 사용할 수 있다는 점으로 미래의 기능성 식품으로 선정되었습니다 (Kim and Lee 2006). 이 외에도 메모리 기술, 나노 촉매를 활용한 배기 처리 기술, 자연친화적인 에너지 생산을 위한 연료전지 기술 등도 포함할 수 있다 (Kim *et al.* 2007).

전세계적으로 나노 기술이 증대됨에 따라 나노 물질의 제조, 소비, 폐기 과정에서 생태계로 나노 물질이 유입될 가능성이 높아지고 있다. 또한 나노 물질은 그 자체로 반응성이 존재하기 때문에 생태계에도 영향을 끼칠 수 있다 (Maurer-Jones *et al.* 2013). 이전 연구에 의하면 나노 물질이 담수 생태계에 노출되어 이동한다면, 담수 환경 변화 및 수생 식물에도 영향을 끼칠 수 있다고 보고되었다 (Espinasse *et al.* 2018). 또 나노 물질에 의한 식물의 성장 저해 영향에 대하여 보고되었으며, 특히 뿌리에 축적되어 식물 서식지의 주요 오염 물질로 생태계 먹이사슬에 위협이 되는 것으로 나타났으며 (Hozhina *et al.* 2001), 식물과 박테리아 군집에 대해 저해 영향을 보이기도 하였다 (Yoon and An 2012).

나노 물질은 환경 뿐만 아니라 인체에도 문제가 될 수 있다. 나노 물질이 인간에게 노출될 수 있는 경로는 의도치 않은 흡입 및 작업 중 노출, 섭취, 피부 흡수 등 다양하다. 뿐만 아니라 방부제나 세정제 그리고 화장품 등에 자주 사용되는 나노 물질의 경우 노출되기 쉬우며, 이와 관련된 질병이 나타나면서 최근 나노 물질의 안정성에 대한 문제가 제기되었다 (Song and Kim 2016). 이에 따라 나노 물질 사용의 안정성 평가에 대한 인식이 변화되고 있으며, 나노 물질에 의해 발생할 문제는 현재 논쟁의 대상이 되고 있다. 그리하여 최근 몇 년간 나노 물질 독성에 대한 연구는 증가하고 있다 (Sung-Min *et al.* 2015).

안티몬은 지각에서 발견되는 원소 번호 51번의 은백색 금속으로, 지각에 무기질 300 $\mu\text{g/L}$ 정도로 존재한다. 납 (15000 $\mu\text{g/L}$)과 비소 (1500 $\mu\text{g/L}$)보다 낮은 함량을 보이는 희귀 원소로 대부분 불용성인 황화합물 형태로 존재한다 (Shotyky and Krachler 2007). 안티몬은 주기율표 15족에 속하는 준금속으로 비소와 같은 족에 속한다. 비소는 독성을 가진 요소로 알려져 왔으며, 독극물로 사용되기도 하였다. 비소와 화학적으로 유사한 성질을 가지고 있지만 비소에 비하여 안티몬의 독성은 대중적으로 알려져 있지 않다 (Wilson *et al.* 2010). 미국 지질 조사에 따르면 토양에서의 안티몬 농도는 1000 ~ 8800 $\mu\text{g/L}$ 이며 평균 480 $\mu\text{g/L}$ 이고, 음식과 물에서 평균 섭취량은 대략 5 $\mu\text{g/day}$ 으로 일상 생활에서 낮은 수준의 안티몬에 노출되어 있음을 보여준다 (Sundar and Chakravarty 2010).

안티몬은 섬유와 플라스틱의 난연제, 납축전지, 금속접합체 등에 사용되며, 음료수 용기인 PET 제조시 촉매제, 구충제 등의 의약품으로도 사용되며, 인체에 노출 시 구토, 설사 등의 급성 독성과 암을 일으키는 발암물질로 국제암협회 (International Agency for Research on Cancer; IARC)에서 2B 물질로 지정하고 있으며

(IARC 1988), 호흡기 자극, 피부의 반점 및 위장 증상과 암을 일으킬 가능성이 있다. 또, 안티몬은 리슈만편모충증과 주혈흡충증의 치료에 사용되며, 치료 결과 부작용은 심장 독성과 췌장염을 일으킬 수 있다 (Khayyal 1964). 더불어 미국 Environmental Protection Agency (EPA)와 유럽연합에서는 우선 오염물질에 포함되어 있고, 안티몬을 자연 유래 유해물질로 먹는 샘물 (Natural mineral water)의 수질기준으로 운영하고 있으며, 세계 보건기구 (WHO)는 권고 기준을 20 µg/L, 유럽연합 (EU) 5 µg/L, 미국과 캐나다가 6 µg/L 등 국외 대부분의 국가에서 수돗물 및 먹는 샘물의 수질기준으로 관리하고 있다 (Kang *et al.* 2003, Park *et al.* 2011).

환경에서 나노 물질 독성에 대한 문제가 지속적으로 제기되고 있고 (Song and Kim 2016), 특히나 삼산화 안티몬 나노 물질에 대한 연구는 시작 당시 구글 학술 검색에서 발견되지 않았다. 하지만 나노 물질의 경우 다른 물질과 비교하였을 때 흡수와 전달이 더 빠르게 이루어지며, 환경에서의 거동을 파악하기 어렵기 때문에 미리 연구가 필요한 실정이다. 따라서 이번 연구에서는 안티몬 산화물이 식물과 세포 독성에 미치는 영향을 파악하기 위하여 기본적인 방법으로 종자의 발아, 유근 생장률 및 엽록소 함량 등의 방법으로 다양한 농도에서 식물의 물리적, 그리고 생리적 반응에 미치는 영향을 연구하였다. 식물 독성 실험은 비교적 간단하지만 민감한 결과를 보여주기 때문에, 환경에서 잠재되어 있던 독성 능력을 평가하는데 사용된다 (Kristen 1997).

이러한 독성은 환경에서 뿐만 아니라 인체에서도 문제가 되고 있다. 나노 물질 독성을 검증하는 연구에서도 다양한 세포주, 배양시간에 따라 다른 결과가 나타나며, 나노 물질의 농도와 크기, 노출 시간 등이 세포에 미치는 영향이 상이하다 (Lewinski *et al.* 2008). 이 때문에 다양한 세포주를 사용하여 나노 물질의 실험실

내 세포 독성 연구가 점점 더 많이 발표되고 있다. RAW 264.7 세포는 효율성과 정확성이 있어 많은 연구에서 독성을 테스트하는 데 사용된다 (Kim *et al.* 2019). 동물 세포에 대한 삼산화 안티몬 나노 물질의 독성을 시험하기 위하여 세포 실험을 진행하였다. 쥐의 대식세포에서 유래된 RAW 264.7 세포로 독성 실험을 진행하였다. 동물 세포에 대한 삼산화 안티몬 나노 물질의 독성을 시험하기 위하여 세포 실험을 진행하였다. 쥐의 대식세포에서 유래된 RAW 264.7 세포로 독성 실험을 진행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 삼산화 안티몬 나노 물질의 식물 독성

1.1 식물 선정

삼산화 안티몬 나노 물질 (Sb_2O_3 , < 250 nm particle size (TEM), Sigma, USA)의 독성을 확인하기 위하여 상추 (*Lactuca sativa* L.)와 유채 (*Brassica campestris* L.)를 사용하였고, 이는 일반적으로 구하기 쉬울 뿐만 아니라, 경제협력개발기구 (OECD) 지침 및 환경 영향평가 기준에서 화학물질 시험 권장 중에 포함되어있기에 선정하였다 (Song et al. 2013c).

1.2 나노 물질의 처리

나노 물질을 고루 시비하기 위해 증류수를 사용하여 1, 10, 100, 500, 1000 mg/kg로 맞추어 처리하였으며, 낮은 농도는 실제 환경과 비슷한 농도에서의 환경 독성을 알아보기 위하여 설정하였고, 고농도는 극심한 환경에서의 나노 물질 독성을 측정하기 위하여 설정하였다 (Song and Kim 2016).

1.3 발아율과 유근 성장

나노 물질이 식물의 발아와 초기 유근 성장에 어떠한 영향을 끼치는지 확인하기 위하여 상추와 유채의 종자를 사용하여 진행하였다 (Song et al. 2013c).

페트리디쉬에 필터페이퍼 (HYUNDAI Micro filter paper, No. 10)를 깔고, 상추와 유채의 종자를 각각 5개씩 넣고 농도별로 (1, 10, 100, 500, 1000 mg/L) 나노 물질을 6 mL씩 분주하여 온도 25°C, 습도 80%가 맞춰진 식물 성장 챔버 (JSPC-420C, JS Research Inc., Korea)에서 실험을 진행하였다. 각 페트리디쉬의 종자들은 5일에 한 번씩 발아율과 유근의 길이를 측정하여 기록하였으며 성장 시 빛의 영향을 최소화하기 위하여 2일에 한 번씩 무작위로 위치를 교환하고, 3일에 한 번씩 페트리디쉬에 1-2 mL씩 관수 해주었다.

1.4 식물 생장

식물 생장 실험은 시기를 나누어 유식물 시기와 유식물 시기가 지난 식물로 진행하였다. 먼저 유식물 시기의 나노 물질의 독성을 확인하기 위하여 상추와 유채의 종자를 50공 포트에 상토 (Shingi Industrial Co., KOR) 15 g을 넣고 심은 뒤, 3주가량 생장시킨 후 나노 물질을 1, 10, 100, 500, 1000 mg/kg의 농도로 처리한 후 온도 25°C, 습도 80%가 맞춰진 식물 생장 챔버에서 실험을 진행하였다. 생장량을 측정하기 위하여 7일에 한 번씩 식물체의 키와 SPAD- 502 meter (KONICA MINOLTA, INC., Japan)를 이용하여 엽록소 함량을 측정하였다. 관수는 3일에 한 번씩 50공 포트 물 받침대에 물 1 cm가 되도록 하였고, 빛에 의한 영향을 최소화하기 위하여 식물 생장 챔버 내부에서 무작위로 위치 교환을 진행하였다. 나노 물질은 최초에 1회 처리하였다.

유식물 시기가 지난 성체 식물에서의 나노 물질의 독성을 확인하기 위하여 상추와 유채 종자를 50공 포트에 심고, 유식물이 토양에서 올라온 후 한 달 후에 화분에 토양 200 g을 넣고 이식하여 10일 간의 안정기를 가진 뒤 나노 물질을 농도별로 (1, 10, 100, 500, 1000 mg/kg) 1회 처리하였다. 생장량을 측정하기 위하여 7일에 한 번씩 식물체의 키와 SPAD-502 meter를 이용하여 엽록소 함량을 측정하였으며 실험은 온실에서 진행하였다. 관수는 3일에 한 번씩 하였으며 관수 시 화분 받침에 나노 물질이 포함된 물이 용출되지 않도록 화분에 다시 넣어줘서 순환시켜주었으며, 나노 물질이 화분 받침에 침전되어 굳지 않도록 종종 화분 받침 안쪽을 긁어서 화분에 다시 넣어주어 나노 물질이 순환할 수 있게 하였다.

1.5 식물 및 토양 분석

유식물 시기가 지난 식물에서 나노 물질 처리에 따라 식물과 토양에서의 변화를 측정하기 위하여 성분 분석을 실시하였다. 실험 기간 후 식물은 지상부와 지하부로 나누어 채집하였고, 50°C로 dry oven (JEIO TECH TECH.CO.,LTD., Korea)에서 3일 건조시켜 수분을 증발시킨 후, 막자사발에 고루 갈아 0.1 g의 시료를 60% 질산 (DAEJUNG Chemicals & Metals Co., LTD., Korea)에 4 mL을 넣고 24시간 동안 상온에 두어 반응시켰다. 이후 70% 과염소산 (DAEJUNG Chemicals & Metals Co., LTD., Korea) 5 mL을 추가로 넣어 200°C Heating block (LI-HB111, LKLab Korea Inc., ROK, Korea)에서 식물체가 녹을 때까지 끓였다. 이후 시료를 실온에서 식힌 후, 증류수로 희석하여 여과지 (ADVANTEC No.2)에 여과하여 50 mL로 맞추어서 시료를 준비하였다(Song et al. 2013a). 토양은 화분에서 채집하여 50°C dry oven에서 3일간 건조시켜 수분을 증발시켜주었고, 2 mm 채로 거른 후 1 g의 시료를 Mehlich 3 기법을 통하여 전처리하였다 (Wendt 1995). 이후 ICP- AES (Inductively Coupled Plasma, ICP-730ES, Varian, Australia)로 Sb (안티몬), T-P (총 인), K (칼륨) 원소를 분석하였다.

2. 안티몬 산화물의 세포 독성

2.1 세포 배양

위의 대식세포인 RAW 264.7 세포는 한국 세포주 은행 (Korean Cell Line Bank)으로부터 구입하였다. RAW 264.7 세포는 10% fetal bovine serum (FBS; Gibco, Massachusetts, USA)와 1% penicilin/streptomycin (P/S; Gibco, Massachusetts, USA)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; Gibco, Massachusetts, USA) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 세포는 2일에 한 번 계대 배양하여 유지하였다.

2.2 세포 독성

세포 독성은 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyl-etrazolium bromide (MTT; Amresco, Ohio, USA) 방법을 이용하여 측정하였다 (Ferrari *et al.* 1990). RAW 264.7 세포를 96well cell culture plate에 1.5×10^5 cells/mL로 분주하여 24시간 동안 CO₂ 배양기에서 배양 후 시료를 농도별로 (1, 10, 50, 100, 250, 500 µg/mL) 처리하여 24시간 동안 반응시켰다. 그 후 MTT 용액을 각 well에 처리하여 3시간 동안 CO₂ 배양기에서 반응시킨 후 상층액을 제거하고 200 µL의 dimethyl sulfoxide (DMSO; VWR International, LLC., USA)를 첨가하여 formazan을 용해하여 570 nm에서 흡광도 (O.D)

를 측정하였다. 세포 독성은 시료를 처리하지 않은 대조구의 O.D 값과 비교하여 다음과 같이 계산하였으며, A_{control} 은 시료를 처리하지 않은 세포의 흡광도를 의미하며, A_{sample} 은 시료를 처리한 세포의 흡광도를 나타내었다.

$$\bullet \text{ Cell viability (\%)} = \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{control}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

3. 통계 분석

모든 실험 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타내었고, 통계학적 분석은 일원분산 분석 (ANOVA)를 수행하였으며 유의한 차이를 보일 경우 ($p < 0.05$) 사후검정으로 Duncan's Multiple Range Test를 수행하여 처리구 간의 관계를 나타내었다. 통계 처리는 SAS (SAS v.9.1, SAS Institute INC., USA)를 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 삼산화 안티몬 나노 물질의 식물 독성

1.1 나노 물질 처리에 따른 발아율 및 유근 성장 결과

나노 기술이 발달하면서 나노 물질을 사용 및 폐기 시 노출되어 생기는 위험성에 대한 연구가 증가하고 있는 추세이긴 하나, 아직 미흡한 수준이다 (Xu *et al.* 2011). 때문에 나노 물질의 독성이 종자 상태에서부터 영향을 미치는지, 만일 영향을 미친다면 성장 시 어떤 식으로 발현되는지 알아보기 위하여 나노 물질을 처리하여 종자의 발아율을 측정하였고, 나노 물질이 존재하는 환경에서 식물의 유근 성장에 어떠한 영향을 미치는지 판단하기 위하여 유근 성장 실험을 진행하였다.

상추의 종자에 나노 물질을 처리하고 발아율을 측정한 결과 (Table 1), 대조구는 5일차에 평균 80.0 ± 0.0 (%)의 발아율을, 20일차에는 평균 92.0 ± 4.9 (%)의 발아율을 보였다. 고농도 처리구인 500, 1000 mg/L 처리구에서 5일차에는 56.0 ± 9.8 , 52.0 ± 10.2 (%)에서 20일차에 평균 60.0 ± 8.9 , 56.0 ± 7.5 (%)의 발아율을 보였다. 모든 처리구에서 유의미한 차이를 보이며 고농도일수록 발아율이 감소하였다.

유채의 종자에 나노 물질을 처리하고 발아율을 측정한 결과 (Table 2), 전 기간 전 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이가 나타나지 않았다.

종자 발아실험 결과, 상추 종자에서는 고농도 처리구에서 대조구의 절반 정도의 발아율을 보이며 통계적으로 유의미한 차이를 보이며 종자의 발아율이 감소

한 반면, 유채 종자의 발아율은 전 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다. 이는 상추 종자는 종피가 얇기 때문에 나노 물질이 종자의 종피를 침투하여 독성에 의해 영향을 받아 발아율에 저해를 받은 반면 유채의 종피는 상추에 비하여 두께가 두껍기 때문에 나노 물질이 종피를 침투하여 독성 효과를 나타내지 못했을 것으로 사료된다 (Hozhina *et al.* 2001).

Table 1. Effects of Antimony (III) oxide on germination rates (%) of *Lactuca sativa* L. biennis

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	80.0 ± 0.0 ^a	92.0 ± 4.9 ^a	92.0 ± 4.9 ^a	92.0 ± 4.9 ^a
1 mg/L	64.0 ± 7.5 ^{ab}	84.0 ± 7.5 ^a	84.0 ± 7.5 ^a	84.0 ± 7.5 ^a
10 mg/L	52.0 ± 4.9 ^b	84.0 ± 7.5 ^a	84.0 ± 7.5 ^a	84.00 ± 7.5 ^a
100 mg/L	64.0 ± 11.7 ^{ab}	76.0 ± 4.0 ^{ab}	80.0 ± 6.3 ^{ab}	80.0 ± 6.3 ^{ab}
500 mg/L	56.0 ± 9.8 ^{ab}	60.0 ± 8.9 ^b	60.0 ± 8.9 ^{bc}	60.0 ± 8.9 ^{bc}
1000 mg/L	52.0 ± 10.2 ^b	56.0 ± 7.5 ^b	56.0 ± 7.5 ^c	56.0 ± 7.5 ^c

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level.

Table 2. Effects of Antimony (III) oxide on germination rates (%) of *Brassica campestris* L. biennis

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	80.0 ± 11.0	80.0 ± 11.0	80.0 ± 11.0	80.0 ± 11.0
1 mg/L	96.0 ± 4.0	96.0 ± 4.0	96.0 ± 4.0	96.0 ± 4.0
10 mg/L	96.0 ± 4.0	96.0 ± 4.0	96.0 ± 4.0	96.0 ± 4.0
100 mg/L	84.0 ± 11.7	84.0 ± 11.7	84.0 ± 11.7	84.0 ± 11.7
500 mg/L	84.0 ± 7.5	84.0 ± 7.5	84.0 ± 7.5	84.0 ± 7.5
1000 mg/L	92.0 ± 8.0	92.0 ± 8.0	92.0 ± 8.0	92.0 ± 8.0

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level.

상추의 종자에 나노 물질을 처리하고 종자의 발아 이후 유근의 길이를 20일간 측정된 결과 (Table 3), 5일차에서 대조구와 비교하였을 때, 농도에 의존적으로 유근의 길이가 감소하였다. 특히 고농도 처리구에서 저농도 처리에 비교해보았을 때 약 5배 정도의 차이를 보였다. 이는 나노 물질이 뿌리에 가장 먼저 영향을 주는 경향으로, 초기 유근 생장에 영향을 미쳤기 때문으로 사료된다 (Wierzbicka and Obidzińska 1998). 이후 20일차 까지도 실험 초기와 비슷한 결과를 보였으며, 실험 기간 중 고농도 처리구인 500과 1000 mg/L 처리구에서 대조구와 통계적으로 유의한 차이를 보임으로써 나노 물질에 의한 독성이 유근의 생장에 영향을 미칠 것으로 보인다.

유채의 종자에 나노 물질을 처리하고 종자의 발아 이후 유근의 길이를 측정된 결과 (Table 4), 전 기간 동안 전 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았다.

상추는 종자 발아실험 고농도 처리구에서 낮은 발아율을 보였고, 유근 성장 실험에서도 농도에 의존적으로 유근의 길이가 감소하였으며, 모든 수치에서 통계적으로 유의미한 차이를 보였다. 이에 상추의 초기 성장에서 나노 물질에 의한 독성의 영향을 받아 생장이 저하되었을 것으로 사료된다 (Lin and Xing 2007). 반면 유채의 종자 발아 실험과 유근 성장 실험에서 모두 전 기간 동안 전 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았다. 이에 유채가 나노 물질의 독성에 의한 영향을 적게 받은 이유를 두 가지로 나누어 보면, 유채의 종자가 무거워서 초기 발아에 종자 자체가 가진 수분과 에너지를 이용할 수 있기 때문에 독성에 대한 영향이 적게 나왔을 가능성이 있으며, 유채 자체가 나노 물질에 대한 민감성이 낮을 수도 있어 이와 같은 결과가 나타난 것으로 사료된다 (Song 2018).

Table 3. Effects of Antimony (III) oxide on root elongation of *Lactuca sativa* L.

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	2.2 ± 0.4 ^{ab}	3.9 ± 0.7 ^{ab}	4.3 ± 0.7 ^{ab}	4.9 ± 0.7 ^{ab}
1 mg/L	3.0 ± 0.6 ^a	4.7 ± 0.7 ^a	5.6 ± 0.8 ^a	6.0 ± 0.8 ^a
10 mg/L	2.9 ± 0.3 ^a	4.0 ± 0.6 ^{ab}	4.0 ± 1.0 ^{ab}	5.0 ± 0.9 ^{ab}
100 mg/L	2.0 ± 0.2 ^{ab}	3.4 ± 0.5 ^{abc}	3.6 ± 0.5 ^{ab}	3.9 ± 0.5 ^{ab}
500 mg/L	1.6 ± 0.4 ^{bc}	2.8 ± 0.5 ^{bc}	3.1 ± 0.5 ^b	3.5 ± 0.5 ^b
1000 mg/L	0.6 ± 0.2 ^c	2.0 ± 0.5 ^c	2.6 ± 0.7 ^b	3.2 ± 0.8 ^b

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: cm

Table 4. Effects of Antimony (III) oxide on root elongation of *Brassica campestris* L.

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	5.0 ± 0.9	6.5 ± 1.2	7.3 ± 1.3	8.0 ± 1.4
1 mg/L	5.2 ± 0.3	6.8 ± 0.4	7.5 ± 0.7	8.1 ± 0.5
10 mg/L	5.4 ± 0.4	7.1 ± 0.6	7.7 ± 0.5	8.1 ± 0.6
100 mg/L	3.9 ± 0.4	5.6 ± 0.7	6.4 ± 0.6	6.5 ± 0.8
500 mg/L	4.0 ± 0.3	6.2 ± 0.6	6.7 ± 0.7	7.2 ± 0.7
1000 mg/L	3.5 ± 0.2	5.5 ± 0.5	6.3 ± 0.5	6.7 ± 0.5

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: cm

1.2 나노 물질 처리에 따른 상추와 유채의 유식물 성장 결과

유식물 시기 식물이 환경에 존재하는 나노 물질에 노출되었을 때 현실에 존재하는 저농도의 나노 물질 함량과 (1, 10 mg/kg), 극한 환경에서의 나노 물질 함량에서 (100, 500, 1000 mg/kg) 나타날 수 있는 독성에 대한 영향을 알아보기 위하여 식물체 키의 성장과 엽록소 함량을 측정하였다.

상추 유식물에서의 키 성장의 결과 (Table 5), 전 기간 동안 전 실험구에서 통계적으로 유의미한 차이는 나타나지 않았으며, 실험 기간이 끝난 후 수확한 생중량에서도 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Table 6). 하지만 엽록소 함량 측정 결과에서는 (Figure 1), 7일차에서 대조구와 저농도 1 mg/L 처리구와 고농도 처리구에서의 엽록소 함량이 유의미한 차이가 나타나기 시작하며 감소하였다. 이후 21일차에서도 고농도 처리구에서 대조구와 비교하였을 때, 통계적으로 유의미한 차이를 나타내며 감소하였다.

유채의 유식물에서의 키 성장에서 전 기간 동안 전 실험구에서 통계적으로 유의미한 차이는 나타나지 않았으며 (Table 7), 실험 기간이 끝난 후 수확한 생중량에서도 전 실험구에서 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았다 (Table 8). 유채 유식물에서의 엽록소 함량 측정 결과에서 14일차 이후부터 대조구와 고농도 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이를 나타내기 시작하였으며 (Figure 2), 21일차에는 더 큰 차이를 보이며 고농도 처리구에서의 엽록소 함량이 감소하였다.

유식물 시기 식물의 성장 실험에서 물리적 요소로 판단될 수 있는 키 성장에서는 두 식물 모두 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았다. 이는 상토에는 소량의 양분이 포함되어 있어 실내 실험을 진행할 경우 7-10일에 한 번씩 새

상토를 공급해주어야 식물에 안정적으로 영양분을 제공할 수 있다 (Park 2015). 하지만 실험 시 나노 물질을 처리해야 하며, 나노 물질이 상토나 비료에 있는 영양분과 결합하여 고르게 분포하지 않고 한 곳에 뭉쳐 제대로 작용하지 못할 것을 우려하여 비료와 상토를 새로 공급해주지 않았다. 때문에 가장 많이 성장해야 할 시기인 유식물 시기에 키와 식물체 무게의 성장량이 높지 않았던 것으로 사료된다.

하지만 생리적 요소로 판단될 수 있는 엽록소 함량 측정에서는 상추와 유채 두 식물 모두 14-21일차에서 낮은 농도에서 식물에 영향을 주지 않지만, 높은 농도에서는 엽록소 함량이 감소하였으며 독성을 나타냈다고 사료된다. 이전 연구에 따라 안티몬은 식물에서 광계 II를 표적으로 하여 독성을 나타낸 보고가 있어 본 연구에서도 마찬가지로 실험 기간동안 유식물 성장에서 광계 II를 표적으로하여 독성을 나타내어 고농도 처리구에서 엽록소 함량이 감소하였을 것으로 사료된다 (Pan *et al.* 2011).

Table 5. Effects of Antimony (III) oxide on the height of semimature *Lactuca sativa* L.

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	12.02 ± 0.37	12.42 ± 0.37	12.76 ± 0.38	13.12 ± 0.47
1 mg/kg	11.74 ± 0.69	12.10 ± 0.70	12.56 ± 0.57	12.70 ± 0.46
10 mg/kg	10.78 ± 0.46	11.72 ± 0.24	11.92 ± 0.26	12.66 ± 0.16
100 mg/kg	11.60 ± 0.37	12.00 ± 0.40	12.52 ± 0.53	12.82 ± 0.59
500 mg/kg	11.88 ± 0.80	12.36 ± 0.94	12.78 ± 0.92	13.56 ± 0.57
1000 mg/kg	9.62 ± 0.63	11.04 ± 0.57	11.56 ± 0.61	12.56 ± 1.14

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: cm

Table 6. Semimature *Lactuca sativa* L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide

Concentrations/Days	Leaves	Root
Control	3.49 ± 0.56	2.46 ± 0.44
1 mg/kg	2.49 ± 0.36	1.63 ± 0.16
10 mg/kg	2.98 ± 0.25	2.43 ± 0.32
100 mg/kg	3.60 ± 0.86	2.65 ± 0.89
500 mg/kg	3.30 ± 0.45	1.93 ± 0.32
1000 mg/kg	2.19 ± 0.20	1.33 ± 0.31

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: g

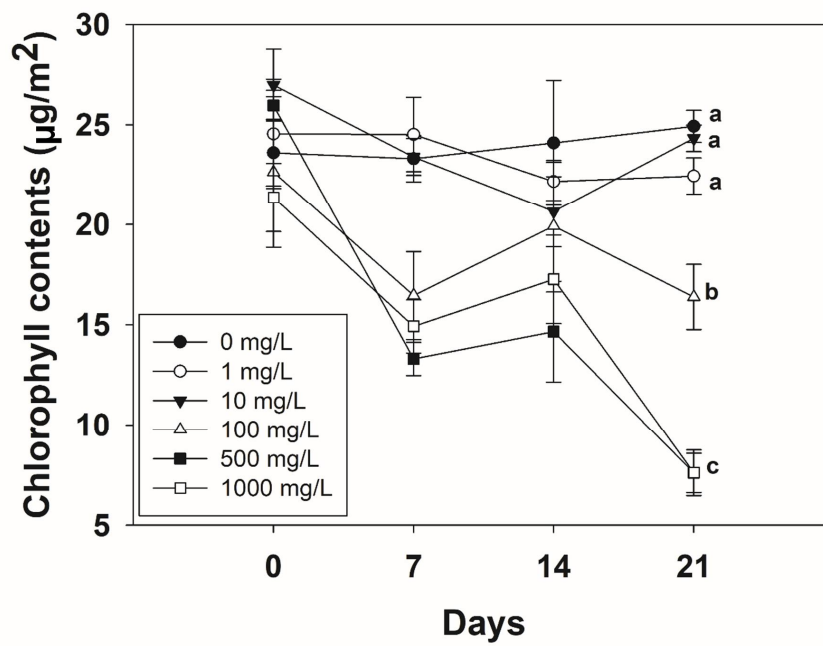


Figure 1. The Chlorophyll contents of semimature *Lactuca sativa* L. leaf

Symbols and error bars represent means \pm SE (n=5). Symbols having the same letter are not significantly different at the 0.05 level.

Table 7. Effects of Antimony (III) oxide on the height of semimature *Brassica campestris* L.

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	8.4 ± 1.1	13.1 ± 4.0	14.4 ± 3.8	15.3 ± 4.3
1 mg/kg	8.2 ± 1.1	11.5 ± 1.4	12.7 ± 1.6	14.0 ± 1.1
10 mg/kg	8.8 ± 1.0	9.6 ± 1.0	9.9 ± 1.0	10.2 ± 1.0
100 mg/kg	10.6 ± 0.8	11.0 ± 0.8	11.3 ± 0.7	11.5 ± 0.7
500 mg/kg	8.0 ± 1.1	12.9 ± 3.1	16.7 ± 6.5	18.1 ± 7.6
1000 mg/kg	7.8 ± 0.9	8.0 ± 0.9	8.5 ± 0.8	8.7 ± 0.7

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: cm

Table 8. Semimature *Brassica campestris* L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide.

Concentrations/Days	Leaves	Root
Control	0.49 ± 0.11	0.37 ± 0.10 ^{ab}
1 mg/kg	0.48 ± 0.12	0.10 ± 0.04 ^b
10 mg/kg	0.38 ± 0.12	0.45 ± 0.17 ^{ab}
100 mg/kg	0.73 ± 0.11	0.64 ± 0.18 ^a
500 mg/kg	0.49 ± 0.17	0.31 ± 0.11 ^{ab}
1000 mg/kg	0.40 ± 0.15	0.23 ± 0.08 ^b

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: g

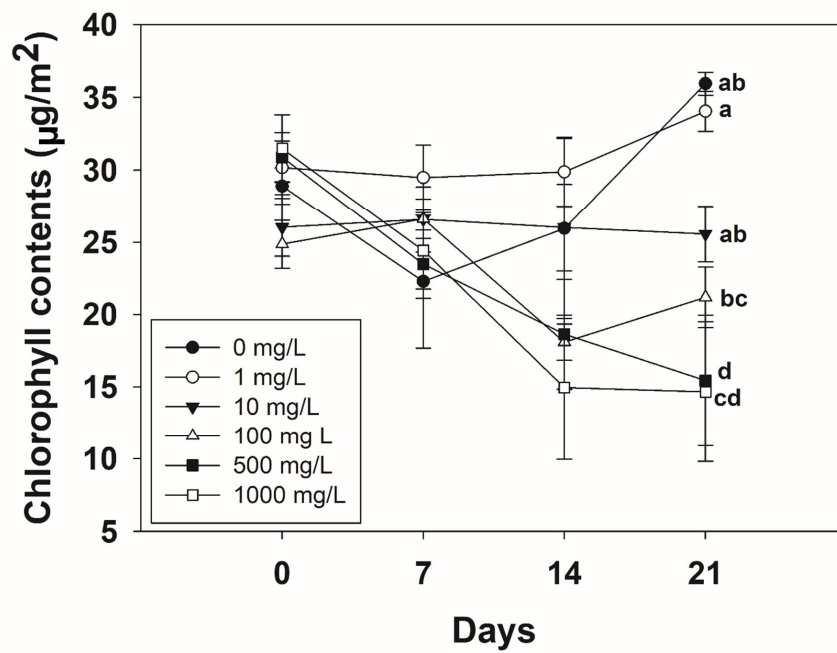


Figure 2. The Chlorophyll contents of semimature *Brassica campestris* L. leaf

Symbols and error bars represent means \pm SE (n=5). Symbols having the same letter are not significantly different at the 0.05 level.

1.3 나노 물질 처리에 따른 상추와 유채의 성체 식물 성장 결과

유식물 시기를 지난 성체 식물에서 삼산화 안티몬 나노 물질 처리에 따른 독성 영향으로 엽록소 함량이 감소됨을 확인하여, 성체 식물에서 나노 물질의 독성 효과를 알아보기 위하여 식물의 키와 엽록소 함량을 측정하였으며, 실험 기간이 종료된 후에 지상부와 지하부, 화분에 있는 토양으로 나누어 수확하여 안티몬과 총 인 함량, 칼륨 함량에 대한 분석을 진행하였다. 50 공 포트에서 식물을 키워 화분으로 이식 후 온실로 옮겨 실험을 진행하였으며, 실험 기간 동안 온실 내 평균 온도는 23.9°C이다 (Table 9).

상추의 키 성장 측정 결과 (Table 10), 전 기간 동안 전 실험구에서 통계적으로 유의미한 차이는 나타나지 않았다. 이는 이미 실험 전에 성체 상태의 식물을 사용하였기 때문에 유식물 시기보다 성장량의 증가 폭이 작을 것으로 예상하였다. 실험 기간이 끝난 후 수확한 식물체의 생중량에서도 전 실험구에서 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았다 (Table 11). 하지만 상추의 엽록소 함량 측정 결과에서 (Figure 3), 14 일차 이후부터 통계적으로 유의미한 차이를 보이며 엽록소 함량이 농도에 의존적으로 감소하였다.

유채의 키 성장 측정 결과 (Table 12), 전 기간 동안 전 실험구에서 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았으며, 실험 기간이 끝난 후 수확한 식물체의 생중량에서도 전 실험구에서 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았다 (Table 13).

유체의 엽록소 함량을 측정한 결과 (Figure 4), 14 일차부터 고농도 처리구에서 엽록소 함량이 저농도 처리구와 비교하였을 때, 통계적으로 유의미한 차이를 보이며 감소하였다.

온실에서 진행한 성체 식물에서도 유식물 시기 실험과 마찬가지로 식물이 50 공포트에서 유식물 시기를 거쳐 화분으로 이식했을 때 추가된 상토를 제외하고는 나노 물질이 한 군데 응집되어 있는 것을 피하기 위하여, 비료나 새로운 상토를 추가로 시비해주지 않았다. 때문에 화분에 이식할 때 새로운 상토를 시비한 후, 안정화를 거치는 기간에서 영양분을 섭취하여 성체 상태로 자랐고 이후에는 양분이 부족하여 실험 기간 동안 키와 생물량에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 못한 것으로 사료된다 (Park 2015). 하지만 엽록소 함량에서 유식물 시기 식물 성장 실험과 마찬가지로 고농도 처리구에서 엽록소 함량이 감소하였으며, 이 원인이 나노 물질에 있을 것으로 사료된다 (Lin and Xing 2007). 더불어 성체 식물 성장 실험에서는 14 일차 이후부터 고농도 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이를 보이며 엽록소 함량이 크게 감소한다. 이에 실험 기간 이후에 성체 식물에서 나노 물질의 독성에 의한 영향이 더 크게 나타날 것으로 사료된다.

Table 9. Mean temperature during the experiment period in greenhouse

Experiment period	Mean Temperature
2021.05.16 – 2021.06.08	23.9°C

Table 10. Effects of Antimony (III) oxide on the height of mature *Lactuca sativa* L.

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	15.1 ± 0.4	15.9 ± 0.5	17.0 ± 0.3	18.5 ± 0.3
1 mg/kg	13.9 ± 0.6	16.2 ± 0.5	16.7 ± 0.6	17.9 ± 0.3
10 mg/kg	13.2 ± 0.8	15.1 ± 0.7	16.1 ± 0.9	17.4 ± 1.1
100 mg/kg	15.2 ± 0.3	16.6 ± 0.5	17.3 ± 0.2	18.7 ± 0.6
500 mg/kg	13.1 ± 1.2	14.3 ± 1.0	15.7 ± 0.8	18.3 ± 0.6
1000 mg/kg	14.6 ± 0.5	16.2 ± 0.2	16.6 ± 0.2	17.7 ± 0.4

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: cm

Table 11. Mature *Lactuca sativa* L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide

Concentrations/Days	Leaves	Root
Control	20.71 ± 3.17	26.75 ± 3.44
1 mg/kg	21.38 ± 3.84	23.32 ± 3.67
10 mg/kg	19.46 ± 2.72	31.09 ± 5.08
100 mg/kg	24.54 ± 3.73	21.40 ± 4.76
500 mg/kg	17.49 ± 5.50	27.75 ± 10.96
1000 mg/kg	20.69 ± 2.01	24.59 ± 3.27

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: g

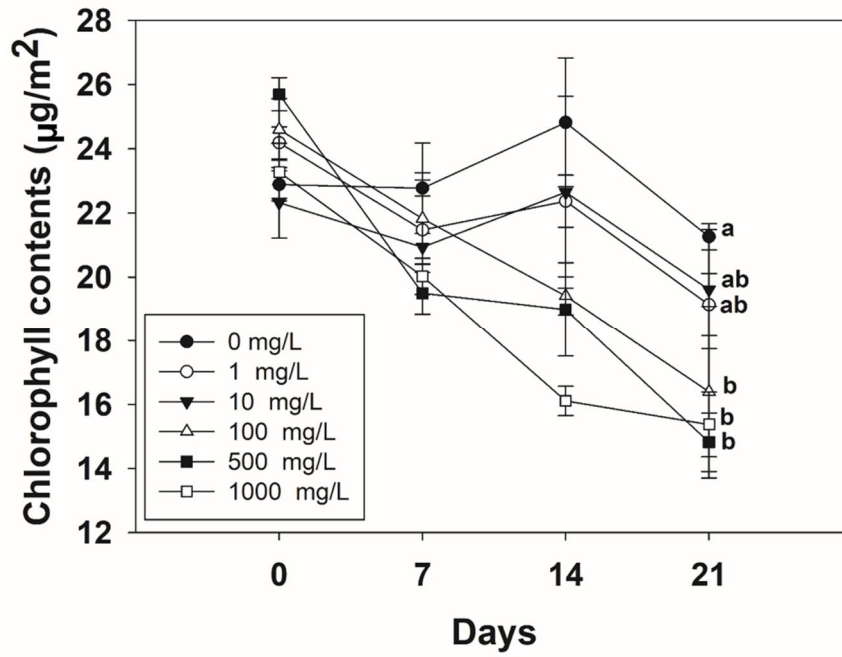


Figure 3. The Chlorophyll contents of mature *Lactuca sativa* L. leaf

Symbols and error bars represent means \pm SE (n=5). Symbols having the same letter are not significantly different at the 0.05 level.

Table 12. Effects of Antimony (III) oxide on the height of mature *Brassica campestris* L.

Concentrations/Days	5 days	10 days	15 days	20 days
Control	20.4 ± 1.5	22.9 ± 0.7	23.8 ± 0.9	25.5 ± 1.1
1 mg/kg	20.2 ± 1.1	23.2 ± 0.8	24.1 ± 1.0	24.6 ± 1.2
10 mg/kg	19.3 ± 1.2	23.2 ± 1.8	23.9 ± 1.8	24.8 ± 1.7
100 mg/kg	21.6 ± 2.2	24.7 ± 2.5	25.6 ± 2.5	27.5 ± 2.2
500 mg/kg	19.9 ± 1.4	23.3 ± 1.1	24.3 ± 1.2	25.1 ± 1.1
1000 mg/kg	20.3 ± 1.9	24.3 ± 1.3	25.2 ± 1.5	25.7 ± 1.3

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: cm

Table 13. Mature *Brassica campestris* L. biomass in the presence of Antimony (III) oxide

Concentrations/Days	Leaves	Root
Control	10.76 ± 1.83	6.82 ± 0.95
1 mg/kg	11.35 ± 1.66	4.50 ± 0.61
10 mg/kg	8.98 ± 1.67	6.94 ± 2.03
100 mg/kg	12.50 ± 2.68	7.22 ± 0.42
500 mg/kg	10.21 ± 1.41	4.95 ± 1.34
1000 mg/kg	13.22 ± 1.92	3.89 ± 1.02

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: g

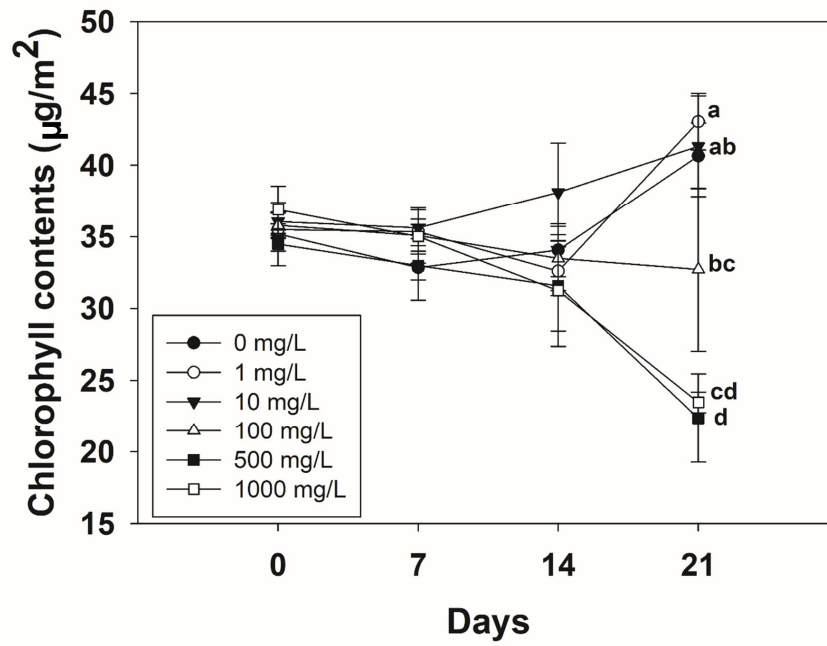


Figure 4. The Chlorophyll contents of mature *Brassica campestris* L. leaf

Symbols and error bars represent means \pm SE (n=5). Symbols having the same letter are not significantly different at the 0.05 level.

1.4 식물 및 토양 분석 결과

유식물 시기가 지난 식물에서 안티몬 처리 후 식물 지상부와 지하부 및 화분에 남아있는 토양의 총 인 및 칼륨 함량과, 축적된 안티몬의 함량을 알아보기 위하여 원소 분석 ICP-AES 를 진행하였다. 토양 내 유기원소 인 (P)과 칼륨 (K)은 세포 골격을 형성하는 중요한 원소이며 동시에 식물을 구성하는 미량 원소로, 부족 시 생장 저하와 대사 저하를 일으킬 수 있기 때문에 주변 환경으로 인한 독성의 영향인지 알아보기 위하여 위의 원소 분석을 시행하였다.

상추의 성체 식물 지상부에서의 원소 분석 결과 (Table 14), 고농도 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이를 보이며 안티몬의 함량이 증가하였다. 대사 활동을 원활히 하는지 확인하기 위하여 분석을 실행한 총 인과 칼륨의 함량에서는 전 처리구에서 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다.

상추의 성체 식물 지하부에서의 원소 분석 결과 (Table 15), 지상부와 비교하였을 때, 약 10 배 이상 많은 양의 안티몬이 축적되어 있었으며, 고농도에서의 안티몬 함량이 높아짐에 따라 토양에 시비한 이후 실험 기간 동안 뿌리에 흡수되어 줄기로 이동한 것으로 사료된다.

상추의 토양에서의 원소 분석 결과 (Table 16), 지상부와 지하부에 비해 적은 양의 안티몬이 검출되었다. 이는 관수 시 나노 물질을 순환시켜 주기 위하여 화분 받침을 긁어 다시 화분으로 넣어주었기 때문에 용출에 의해 토양에서 소량의 안티몬이 검출된 것은 아닌 것으로 사료되며, 나노 물질은 본래 반응성이 강한 물질로 토양에 존재하는 유기물질과 반응하였거나 화분 벽에 흡착되어

원소 분석 시 상추의 지상부와 지하부에서 검출된 양에 비해 소량인 것으로 사료된다 (Hozhina *et al.* 2001).

유채의 지상부 안티몬 함량 측정 결과 (Table 17), 고농도일수록 많은 양의 안티몬이 검출되었으며, 500 mg/kg의 처리구에서 1000 mg/kg 처리구 보다 많은 양의 안티몬이 검출되었는데, 이는 응집하여 한 군데 뭉쳐 있는 나노 물질의 일반적인 특성 때문일 것으로 사료된다. 이는 시료의 양이 상대적으로 2배가량 많은 1000 mg/kg 처리구에서 시비한 파우더가 뭉친 상태로 처리되었을 가능성이 있고, 그 결과 안티몬 검출량에서 오차가 발생하게 된 것으로 보인다.

유채의 지하부 에서의 안티몬 함량 측정 결과 (Table 18), 농도의존적으로 안티몬 함량이 증가하는 것을 볼 수 있고, 통계적으로 유의한 차이를 보이며 고농도에서 많은 양의 안티몬이 검출되었다. 또, 지상부와 비교하였을 때 지하부에서 더 많은 양이 축적되었다. 이는 상추와 마찬가지로 토양에 시비한 나노 물질이 식물체의 뿌리로 흡수되어 줄기로 전이된 것으로 사료된다.

유채의 토양에서의 안티몬 함량 측정 결과 (Table 19), 식물체의 지상부 지하부와 비교하였을 때, 매우 소량의 안티몬이 검출되었다. 이는 토양에 있는 나노 물질이 식물의 뿌리에 주로 흡착되고, 나노 물질 자체의 반응성으로 인하여 화분의 벽면이나 받침대에 흡착되어서 검출량이 지하부나 지상부에 비하였을 때 적은 것으로 보인다 (Song *et al.* 2013b).

원소 분석 실험 결과를 종합하면, 토양에 시비된 안티몬은 식물체의 뿌리를 통해 흡수되어 식물체의 줄기 및 잎으로 전이되었으며, 흡수된 후 식물에 독성 영향으로 작용하였을 것으로 사료된다. 토양에 남은 안티몬은 매우 소량이며,

나노 물질의 반응성 때문에 환경에 노출되었을 시 주변의 유기물이나 식물의 뿌리에 흡착되거나 흡수되었을 것으로 사료된다.

식물 독성 실험을 통하여 나노 물질이 식물에서 독성 영향을 미치는 것으로 사료되며, 나노 물질이 식물의 독성 영향을 미치는 기작에 대한 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

Table 14. Antimony (III) oxide uptake by plant leaves 4 weeks after exposure in mature *Lactuca sativa* L.

Concentrations/Column	Sb	T - P	K
Control	ND	2685.5 ± 1201.0	40917.6 ± 18298.9
1 mg/kg	ND	3591.6 ± 1606.2	45014.9 ± 20131.3
10 mg/kg	1.40 ± 0.63 ^b	2937.5 ± 1313.7	36010.9 ± 16104.6
100 mg/kg	8.88 ± 3.97 ^b	2867.2 ± 1282.3	33828.4 ± 15128.5
500 mg/kg	18.80 ± 8.41 ^{ab}	4741.5 ± 2120.5	47319.6 ± 21162.0
1000 mg/kg	38.80 ± 17.35 ^a	2474.0 ± 1106.4	37270.3 ± 16667.8

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: mg/kg, Sb; Antimony, ND; Not Detected

Table 15. Antimony (III) oxide uptake by plant roots 4 weeks after exposure in mature *Lactuca sativa* L.

Concentrations/Column	Sb	T - P	K
Control	ND	4018.8 ± 1797.3	14962.2 ± 6691.3
1 mg/kg	ND	4416.0 ± 1974.9	16755.8 ± 7493.4
10 mg/kg	2.50 ± 1.12	5384.9 ± 2408.2	22980.0 ± 10277.0
100 mg/kg	299.20 ± 133.81	4032.3 ± 1803.3	14644.9 ± 6549.4
500 mg/kg	311.88 ± 139.47	4417.1 ± 1975.4	15532.5 ± 6946.4
1000 mg/kg	481.50 ± 215.33	5209.7 ± 2329.9	21051.3 ± 9414.4

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: mg/kg, Sb; Antimony, ND; Not Detected

Table 16. Antimony (III) oxide contents of soils in mature *Lactuca sativa* L.

Concentrations/Column	Sb	T - P	K
Control	ND	391.11 ± 174.9	2898.77 ± 1296.4
1 mg/kg	ND	274.39 ± 122.7	2807.29 ± 1255.5
10 mg/kg	ND	278.24 ± 124.4	3674.16 ± 1643.1
100 mg/kg	0.20 ± 0.09	335.90 ± 150.2	3405.44 ± 1523.0
500 mg/kg	3.85 ± 1.72	401.78 ± 179.7	4076.10 ± 1822.9
1000 mg/kg	11.10 ± 4.96	303.58 ± 135.8	3339.48 ± 1493.5

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: mg/kg, Sb; Antimony, ND; Not Detected

Table 17. Antimony (III) oxide uptake by plant leaves 4 weeks after exposure in mature *Brassica campestris* L.

Concentrations/Column	Sb	T - P	K
Control	ND	59982.4 ± 26824.9	248331.1 ± 111057.0
1 mg/kg	ND	56214.2 ± 25139.8	265009.3 ± 118515.8
10 mg/kg	35.30 ± 15.79 ^b	63834.6 ± 28547.7	328668.6 ± 146985.1
100 mg/kg	21.90 ± 9.79 ^b	61328.9 ± 27427.1	302431.5 ± 135251.5
500 mg/kg	141.50 ± 63.28 ^a	56171.9 ± 25120.8	329453.2 ± 147336.0
1000 mg/kg	92.38 ± 41.31 ^b	54428.5 ± 24341.2	209303.6 ± 93603.4

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: mg/kg, Sb; Antimony, ND; Not Detected

Table 18. Antimony (III) oxide uptake by plant roots 4 weeks after exposure in mature *Brassica campestris* L.

Concentrations/Column	Sb	T - P	K
Control	ND	2942.0 ± 1315.7 ^{cd}	13741.0 ± 6145.2 ^a
1 mg/kg	ND	3297.8 ± 1474.8 ^{bcd}	17590.1 ± 7866.5 ^{ab}
10 mg/kg	3.70 ± 1.65 ^b	2753.6 ± 1231.5 ^d	16578.3 ± 7414.0 ^{ab}
100 mg/kg	42.50 ± 19.01 ^b	4638.0 ± 2074.2 ^{ab}	16646.8 ± 7444.7 ^{ab}
500 mg/kg	554.63 ± 248.04 ^a	4802.5 ± 2147.7 ^a	16207.7 ± 7248.3 ^{ab}
1000 mg/kg	714.60 ± 319.58 ^a	4412.5 ± 1973.3 ^{abc}	18280.5 ± 8175.3 ^a

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: mg/kg, Sb; Antimony, ND; Not Detected

Table 19. Antimony (III) oxide contents of soils in mature *Brassica campestris* L.

Concentrations/Column	Sb	T - P	K
Control	ND	381.8 ± 170.8	4586.4 ± 2051.09
1 mg/kg	ND	471.0 ± 210.6	4706.8 ± 2105.0
10 mg/kg	ND	420.0 ± 187.9	4193.5 ± 1875.4
100 mg/kg	0.07 ± 0.03	456.3 ± 204.1	4600.9 ± 2057.6
500 mg/kg	2.72 ± 1.22	399.5 ± 178.7	4309.1 ± 1927.1
1000 mg/kg	4.41 ± 1.97	498.6 ± 223.0	4362.1 ± 1950.8

Values represent means ± SE (n=5). Values having the same letter are not significantly different at the 0.05 level. Unit: mg/kg, Sb; Antimony, ND; Not Detected

2. 삼산화 안티몬 나노 물질의 세포 독성

2.1 RAW 264.7 세포에서의 삼산화 안티몬 나노 물질의 독성 결과

나노 물질이 식물에 있어서 독성을 나타낸다고 사료되어 세포 수준에서 독성이 나타나는 지를 확인하기 위하여 RAW 264.7 세포에서 MTT assay 를 사용하여 농도에 따라 세포의 생존도를 확인하였다 (Figure 5).

그 결과, 대조구와 저농도 처리구에서는 세포 생존도가 감소하지 않았으나, 10 $\mu\text{g/mL}$ 이후 처리구부터 농도에 의존적으로 세포 생존도가 감소하였다. 특히 고농도인 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ 처리구부터 세포 생존도가 급격하게 감소되어, 대조구와 비교하였을 때 절반 이하의 세포 생존도를 보였으며, 이는 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. 이에 나노 물질이 RAW 264.7 세포에 독성 영향을 끼친 것으로 보인다.

나노 물질의 세포 독성을 확인하기 위해 RAW 264.7 cells 을 사용한 선행 연구에서 기초적인 세포 독성 실험을 통한 나노 물질의 독성 연구가 기본적인 정보와 지표가 되는 것이 매우 중요하며, 세포가 나노 물질에 노출된 시간 보다 나노 물질의 크기가 세포 독성을 일으키는 결정적인 요인이 된다는 보고가 있었으며 (Choi et al. 2009), 고농도의 나노 물질에서 세포의 표면 뿐만 아니라 세포 내의 침투가 가능하기 때문에 나노 물질이 세포 내부로 침투하였을 때 존재하는 위치와 독성을 일으키는 기작에 대한 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

나노 물질은 세포에서 높은 독성이 나타났으나, 일상 생활에서의 삼산화 안티몬 나노 물질의 농도는 일반적으로 매우 적은 수준이므로 쉽게 간과할 수 있다. 하지만 안티몬 나노 물질을 사용하는 물질이 점점 더 많아지고 있으며, 노출될 수 있는 경로는 매우 다양하기 때문에 세포 독성을 나타내는 안티몬 나노 물질의 사용에 더 주의해야 한다고 사료된다 (IARC 1988).

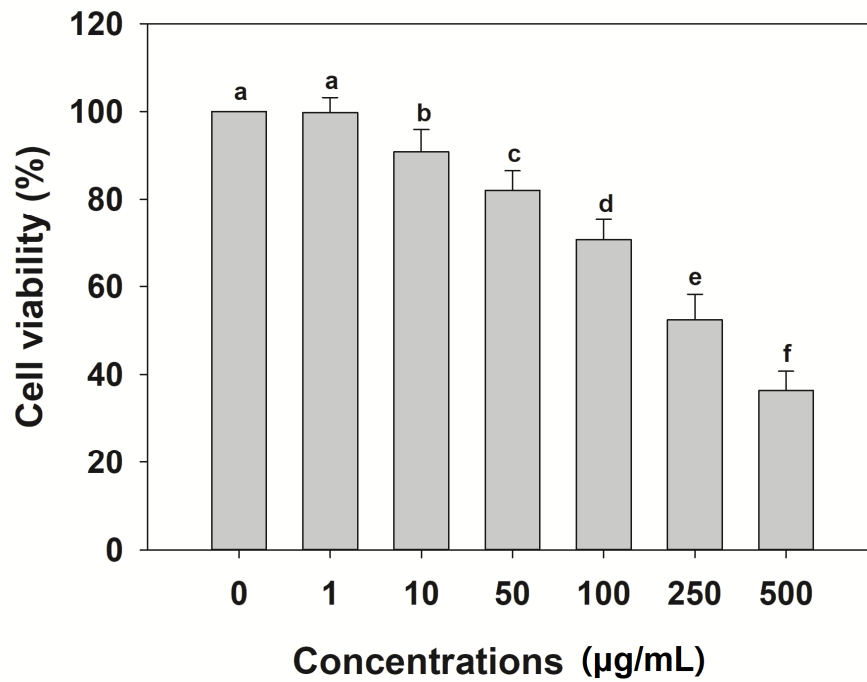


Figure 5. Effects of Antimony (III) oxide nanoparticles on cell viability in RAW 264.7 cells

Symbols and error bars represent means \pm SE (n=5). Symbols having the same letter are not significantly different at the 0.05 level.

IV. 요약

현대 산업에서 주요 산업 중 하나 인 나노 기술의 발전으로 인하여 나노 물질의 사용이 급증하면서 이에 대한 위험성 또한 증가하였다. 그리하여 나노 물질에 노출된 환경에서 식물 혹은 사람에게서 예측할 수 없는 환경 문제나 질병이 생기며, 나노 물질에 대한 위험성이 보고되고 있다. 이에 따라 본 연구를 통하여 삼산화 안티몬 나노 물질의 독성 여부를 밝혀내는데 기여하고자 하였다. 삼산화 안티몬 나노 물질의 독성을 확인하기 위한 실험으로 식물에서는 종자의 발아와 유근 성장 실험을 진행하였고, 상추 (*Lactuca sativa* L.)의 종자에서는 농도 의존적으로 고농도에서의 발아율이 통계적으로 유의미한 차이를 나타내며 감소하였으며, 유근 성장 역시 고농도에서 유의미한 차이를 나타내며 생장이 저해되었다. 반면, 유채 (*Brassica campestris* L.)의 종자 발아와 유근 성장에서는 통계적으로 유의한 수준의 차이를 보이지 않았으며, 이는 두 종 종자의 종피 두께 차이로 인하여 상대적으로 종피가 얇은 상추에서는 나노 물질의 독성 영향으로 생장이 저해되었을 것이라 사료된다. 유식물 시기의 식물에서 두 종 모두 키에 대한 성장에서는 독성에 대한 차이를 보이지 않았으나, 엽록소 함량 측정 결과에서는 실험 기간 동안 고농도에서 엽록소 함량이 감소하는 결과를 보였다. 이후 성체 식물에서도 유식물 시기와 비슷한 결과로 식물의 키 성장량에는 유의한 차이를 보이지 않았으나, 엽록소 함량에서 통계적으로 유의한 차이를 보이며 고농도에서 엽록소 함량이 감소하였다. 이에 식물의 성장실험에서 실험 기간 동안 엽록소 함량이 감소하는 것에 나노 물질에 의한 독성 영향이 원인일 것으로 사료된다. 식물과 토양의 나노 물질 원소 분석 결과를 통해 토양에 처리된 나노 물질은 식물의 뿌리에 흡수되어 식물의 지상부로 이동하여 축적되었다. 세포 독성 실험에 사용된 동

물 세포 RAW 264.7 세포에서도 나노 물질의 독성 효과가 높게 나타났으며, 일상 생활에서 인체에 나노 물질에 노출되었을 시 질병이나 중독 증세 등의 위험성을 가져올 수 있을 것으로 사료된다. 결론적으로, 상추, 유채 두 종에서 나노 물질에 의한 독성 영향이 나타났으며, 식물의 지하부 및 지상부에 흡수 및 축적된다. 두 종 모두 식용이 가능하고, 나노 물질에 노출된 식물을 인간이 섭취할 시 인간에게도 독성 영향을 가져올 수 있기 때문에 삼산화 안티몬 나노 물질에 대한 관리 및 규제가 필요하다고 사료되며, 추가로 삼산화 안티몬 나노 물질이 식물과 인간에 독성 영향을 끼치는 기작에 대하여 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

V. References

- Choi, J., Q. Zhang, V. Reipa, N. S. Wang, M. E. Stratmeyer, V. M. Hitchins, and P. L. Goering. 2009. Comparison of cytotoxic and inflammatory responses of photoluminescent silicon nanoparticles with silicon micron-sized particles in RAW 264.7 macrophages. *Journal of Applied Toxicology* **29**:52-60.
- Espinasse, B. P., N. K. Geitner, A. Schierz, M. Therezien, C. J. Richardson, G. V. Lowry, L. Ferguson, and M. R. Wiesner. 2018. Comparative Persistence of Engineered Nanoparticles in a Complex Aquatic Ecosystem. *Environ Sci Technol* **52**:4072-4078.
- Ferrari, M., M. C. Fornasiero, and A. M. Isetta. 1990. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *Journal of immunological methods* **131**:165-172.
- Gong, J. Y., Y. C. Chen, Y. T. Huang, M. C. Tsai, and K. P. Yu. 2014. For the inactivation of mold spores by UVC irradiation, with ozone acting as a promoter, TiO₂ nanoparticles may act better as a "sun block" than as a photocatalytic disinfectant. *Photochemical & Photobiological Sciences* **13**:1305-1310.
- Hozhina, E., A. Khramov, P. Gerasimov, and A. Kumarkov. 2001. Uptake of heavy metals, arsenic, and antimony by aquatic plants in the vicinity of ore mining and processing industries. *Journal of Geochemical Exploration* **74**:153-162.
- IARC, I. A. f. R. o. C. 1988. Some organic solvents, resin monomers and related compounds, pigments and occupational exposures in paint manufacture and painting. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans **47**.
- Kang, M., T. Kamei, and Y. Magara. 2003. Comparing polyaluminum chloride and ferric chloride for antimony removal. *Water Res* **37**:4171-4179.
- Khayyal, M. T. 1964. The Effects of Antimony Uptake on the Location and Pairing of *Schistosoma Mansoni*. *Br J Pharmacol Chemother* **22**:342-348.

- Kim, D.-M., and G.-D. Lee. 2006. Introduction to the technology, applications, products, markets, R&D, and perspectives of nanofoods in the food industry. *Preventive Nutrition and Food Science* **11**:348-357.
- Kim, M.-S., K. Choi, Y. Kim, and J. Yi. 2007. Risk Assessment for Health and Environmental Hazards of Nanomaterials. *The Korean Society Of Clean Technology* **13**:161-172.
- Kim, Y., S. D. Hwang, J. H. Lim, M. Y. Kim, E. N. Kim, B. S. Choi, Y.-S. Kim, H. W. Kim, and C. W. Park. 2019. Attenuated lymphatic proliferation ameliorates diabetic nephropathy and high-fat diet-induced renal lipotoxicity. *Scientific reports* **9**:1-11.
- Kristen, U. 1997. Use of higher plants as screens for toxicity assessment. *Toxicology in vitro* **11**:181-191.
- Lee, J. K., K. B. Smith, C. M. Hayner, and H. H. Kung. 2010. Silicon nanoparticles-graphene paper composites for Li ion battery anodes. *Chemical Communications* **46**:2025-2027.
- Lewinski, N., V. Colvin, and R. Drezek. 2008. Cytotoxicity of nanoparticles. *small* **4**:26-49.
- Lin, D., and B. Xing. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental pollution* **150**:243-250.
- Liu, R. Q., and R. Lal. 2014. Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (*Glycine max*). *Scientific Reports* **4**.
- Maurer-Jones, M. A., I. L. Gunsolus, C. J. Murphy, and C. L. Haynes. 2013. Toxicity of engineered nanoparticles in the environment. *Anal Chem* **85**:3036-3049.
- Pan, X., D. Zhang, X. Chen, A. Bao, and L. Li. 2011. Antimony accumulation, growth performance, antioxidant defense system and photosynthesis of *Zea mays* in response to antimony pollution in soil. *Water, Air, & Soil Pollution* **215**:517-523.
- Park, H. 2015. [Indoor Garden] Vines plant full of moisture, Growing cucumbers. *SAMTOH*:82-83.
- Park, J., H. Kim, J. Lee, K. Ahn, and Y. Lee. 2011. Antimony Contamination from PET of Bottled Tap Water. Pages 291-292 *in* Proceedings of the 2011 Spring Co-Conference

- of the Korean Society on Water Environment and Korean Society of Water and Wastewater.
- Shotyk, W., and M. Krachler. 2007. Contamination of bottled waters with antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) increases upon storage. *Environmental science & technology* **41**:1560-1563.
- Song, U. 2018. Selecting plant species for landfill revegetation: a test of 10 native species on reclaimed soils. *Journal of Ecology and Environment* **42**:1-6.
- Song, U., H. Jun, B. Waldman, J. Roh, Y. Kim, J. Yi, and E. J. Lee. 2013a. Functional analyses of nanoparticle toxicity: a comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Ecotoxicology and environmental safety* **93**:60-67.
- Song, U., H. Jun, B. Waldman, J. Roh, Y. Kim, J. Yi, and E. J. Lee. 2013b. Functional analyses of nanoparticle toxicity: a comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Ecotoxicol Environ Saf* **93**:60-67.
- Song, U., and H. E. Kim. 2016. Assessing the phytotoxicity of cetrimonium bromide in plants using eco-physiological parameters. *Journal of Ecology and Environment* **40**:1-5.
- Song, U., M. Shin, G. Lee, J. Roh, Y. Kim, and E. J. Lee. 2013c. Functional analysis of TiO₂ nanoparticle toxicity in three plant species. *Biol Trace Elem Res* **155**:93-103.
- Sundar, S., and J. Chakravarty. 2010. Antimony toxicity. *International journal of environmental research and public health* **7**:4267-4277.
- Sung-Min, Y., C. Kyu-seok, B. Min-Ji, K. Kyu-Bong, L. Byung-Moo, and S. Chan-Young. 2015. Investigation Method for Toxicity Profile of Cosmetics Ingredients and Trends in Safety Evaluation. *The Korean Society of Food, Drug and Cosmetics Regulatory Sciences* **10**:131-139.
- Wendt, J. 1995. Evaluation of the Mehlich 3 soil extractant for upland Malawi soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **26**:687-702.

- Wierzbicka, M., and J. Obidzińska. 1998. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant science* **137**:155-171.
- Wilson, S. C., P. V. Lockwood, P. M. Ashley, and M. Tighe. 2010. The chemistry and behaviour of antimony in the soil environment with comparisons to arsenic: a critical review. *Environmental pollution* **158**:1169-1181.
- Xu, W., H. Wang, R. Liu, X. Zhao, and J. Qu. 2011. The mechanism of antimony (III) removal and its reactions on the surfaces of Fe–Mn binary oxide. *Journal of colloid and interface science* **363**:320-326.
- Yoon, S.-J., and Y.-J. An. 2012. Microcosm Studies of Nanomaterials in Water and Soil Ecosystems. *Environmental Engineering Research* **34**:288-294.