

수생식물에서 산화아연 나노물질의 축적성 평가

조은혜 · 성화경 · 김은정 · 유선경 · 이재우 · 김경태 · 신유진 · 김지은 · 박선영 · 엄익춘[†]
국립환경과학원

Zinc Oxide Nanomaterial Toxicity Effects on Growth and Accumulation of the *Lemna perpusilla* Torr. and *Vallisneria natans* (Lour.) H. Hara

Eunhye Jo, Hwa Kyung Sung, Eunjeong Kim, Sun Kyoung Yoo, Jae-woo Lee, Kyung-tae Kim, Yu-jin Shin, Ji-eun Kim, Sun-Young Park, and Igchun Eom[†]

National Institute of Environmental Research, Incheon 22689, Korea

Received October 19, 2017/Revised October 26, 2017/Accepted October 30, 2017

Toxicity effect and bioaccumulation of zinc oxide nanomaterials (ZnO NPs) were investigated in the aquatic plants *Lemna perpusilla* Torr. and *Vallisneria natans* (Lour.) H. Hara, exposed over 14 days to 0, 0.5, and 5 mg/L of ZnO NPs. Growth inhibition was demonstrated by decreases in leaf length, root length, and leaf number in *Lemna perpusilla* Torr. but was not significant. Analysis of the zinc concentration using ICP-MS showed that the ZnO NPs in the water at the beginning of exposure moved into the soil over time. The concentration of zinc that remained constant in the soil indicated the accumulation potential. The concentration of zinc in *Vallisneria natans* (Lour.) H. Hara leaves and *Lemna perpusilla* Torr. was significantly increased in a time-dependent manner. The zinc content in the biofilm was increased by over 10 times as compared with the control. Overall, ZnO NPs caused an accumulation effect on aquatic plants, and that may represent a potential source of toxicity and a risk for the aquatic ecosystem.

Key words: Zinc oxide nanomaterials, Aquatic plant, Toxicity, Accumulation

1. 서 론

미국의 사회과학기관 연구단체인 우드로윌슨센터(WoodrowWilson)의 연구자료에 따르면, 2005년 54종이었던 나노물질 함유 소비재가 2013년에는 생활용품, 화장품, 향균제품 등 1,814종으로 다양하게 증가하고 있다¹⁾. 이러한 나노물질 함유 제품의 유통이 확대됨에 따라 환경 중으로 나노물질의 배출 가능성 또한 늘어나고 있다. 실제로 Guthenburg 등의 연구에 의하면 오스트리아 올드 다뉴브 레크리에이션(Old Danube recreational) 호수에서 1년 동안 조사한 결과 자외선차단제품에서 사용된 이산화티타늄의 티타늄 나노입자가 여름철에 증가

하였고²⁾ Hennebert 등은 프랑스의 25개의 폐기물 침출수 샘플에서 이산화티타늄, 유기 고분자 등의 제조나노입자를 발견한 바 있다³⁾.

생활제품 등에서 나노물질이 유출되면 대기, 수질, 토양 등의 환경매체로 거동되면 매체 내 다양한 생물개체에 영향을 미치거나 체내에 유입되어 축적될 수 있다. 산업 분야에서 널리 사용되고 있는 산화구리 나노물질은 벼에 축적되어 쌀의 품질이나 양이 감소될 수 있다고 발표된 바 있으며⁴⁾, 은 나노입자 또한 콩과 쌀에서 생체 축적이 유발되어 식물의 바이오매스량이 감소하고 식용 가능한 종자 및 과실 부분에 나노물질이 전이될 수 있음이 확인되었다⁵⁾.

[†]To whom correspondence should be addressed.

2014년 환경부의 국내 나노물질 유통현황에 따르면 국내 나노물질별 제조 및 수입량은 카본블랙이 가장 많았고⁶⁾ 그 뒤를 탄산칼슘, 이산화규소, 산화아연이 조사되었다. 그 중 산화아연은 사용 용도가 다른 나노물질에 비해 자외선차단제 등 화장품, 코팅제, 태양전지 등 주변에서 쉽게 접할 수 있는 제품과 관련이 있다. 또한 2011년 산화아연 나노물질의 유통량이 36톤에 불과하였는데 2014년 1,244톤으로 약 40배 정도 증가하여 환경 중 배출량과 유해 가능성 역시 높다고 판단되었다. 산화아연 나노물질의 환경 중 유해성을 다양하게 연구된 바 있는데 리핑이 *Eisenia andrei*에서 산화아연 나노물질은 아연의 형태보다는 노출 농도 의존적으로 축적량이 증가하였고⁷⁾ 생식률이 50% 감소하는 경향을 보였다. 나노좁개구리밥(*Lemna minor* L.)에서 산화아연 나노입자에서 용해된 아연은 성장 감소를 유발하였다⁸⁾.

아연은 식물에 필수적인 요소이지만 저농도에서만 그러하고 높은 농도에서는 독성이 있고 더해서 생물 축적은 전체 먹이사슬에 위해를 미칠 수 있다고 알려져 있다⁹⁾. 그러나 산화아연 나노물질이 식물의 잎, 뿌리 중 어떠한 부분에 더 많이 축적이 되고 영향을 받는지 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구는 환경과 유사한 시험 조건에서 산화아연 나노물질이 수계에 노출되었을 때 토양으로 이동 분포 및 이에 따른 식물의 생체 내 축적성을 유도결합 플라즈마 질량분석기(ICP-MS)를 이용하여 평가하고자 하였다.

또한 나노물질이 수질 환경에 노출되었을 때 침수성 식물과 부유성 식물이 배출된 나노물질에 노출될 수 있으므로, 식물의 서식특성에 따라 나노물질의 축적가능성을 평가하고자 하였다. 대상 실험생물로는 국내 자생종인 침수성 여러해살이풀인 나사말(*Vallisneria natans* (Lour.) H. Hara)과 부유성 여러해살이풀인 좁개구리밥(*Lemna perpusilla* Torr.)을 선정하였다. 그리고 시험기간 중 자연적으로 발생할 수 있는 미생물막에서 아연의 농도를 유도결합 플라즈마 질량분석기(ICP-MS)를 이용하여 분석하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시험물질

시험 대상물질은 산화아연 나노물질, Zinc Oxide (CAS No. 1314-13-2, 평균입자크기 <35 nm)로 Sigma-Aldrich Korea Ltd에서 구매 사용하였고 시험 전 사육수에 정해진 농도로 분산시켜 노출시켰다. 용매에

분산된 나노입자의 입경을 확인하기 위하여 Bar-Ilan 등의 방법을 참고하여 투과전자현미경(JEM-1010, JEOL, Japan)으로 관찰하였다¹⁰⁾.

2.2. 시험 수생생물 및 산화아연 나노물질 노출

산화아연 나노물질의 환경 중 수생생물의 영향 및 축적성을 연구하기 위하여 시험 생물종으로 침수성 수생생물 나사말(*Vallisneria natans* (Lour.) H. Hara)과 부유성 수생생물 좁개구리밥(*Lemna perpusilla* Torr.)을 선정하였다. 국립생물자원관 생물다양성정보에 따르면 나사말은 우리나라의 저수지나 하천에서 서식하며 땅에서 뿌리를 내리지만 잎과 꽃이 물 속에 잠겨 생육하고 있다¹¹⁾. 좁개구리밥 또한 우리나라의 습지, 논, 우물 등에 자생하는 줄기와 잎이 구별되지 않는 엽상체로 몸체는 물 위에 떠있으며 무리를 이루어 서식한다.

산화아연 나노물질의 노출농도는 기존 연구결과를 바탕으로 수생식물의 치사에 영향을 미치지 않는 농도인 ZnO NPs 5 mg/L를 최고농도로 설정하고 고농도와 저농도에서의 축적성 경향을 비교하기 위하여 ZnO NPs 0.5 mg/L를 저농도로 설정하였다(photoxicity of NPs). 대조군은 사육수를 이용하였고 노출군은 해당 농도를 사육수에 희석시켜 3개씩 총 9개의 노출 수조를 이용하였다. 각 수조에는 표준토양인 Lufa soil 2.2 (Lufa Speyer, Germany) 7 kg으로 바닥을 덮고 산화아연이 노출된 사육수를 순환(100 L/h)시켜 노출 후 1, 2, 4, 7, 14일마다 각 노출군의 사육수, 토양, 나사말, 좁개구리밥을 채취하여 나노물질의 영향 및 이동과정을 살펴보고자 하였다. 또한 시험기간 동안 수조의 표면에 자생적으로 발생한 미생물의 총합인 미생물막에 시험물질이 미치는 영향을 관찰하기 위하여, 노출 14일 후 수조 벽면에 응집된 생물막을 샘플링하여 분석하였다.

2.3. 유도결합 플라즈마 질량분석기(ICP-MS)를 이용한 축적성 평가

물 시료는 수질오염공정시험기준(ES 04150.1)에 따라 시료 20 mL에 질산(conc. nitric acid) 0.5 mL을 가하고 1시간 동안 방치한 후 ICP-MS를 이용하여 아연 농도를 측정하였다. 나사말, 좁개구리밥, 바이오필름은 수질오염공정시험기준(ES 04150.1)에 따라 먼저 시료 무게를 측정하고 질산 10 mL을 가하여 마이크로웨이브를 이용하여 분해하고 방냉하였다. 방냉이 완료된 시료에 부유물이 존재할 경우 GF/C(Whatman, 0.45 μ m) 여과지로 시료를 여과하여 0.5 M 질산을 가하고 전량이 50

mL가 되도록 하였으며, 부유물이 존재하지 않을 경우 0.5 M 질산을 가하여 전량이 50 mL이 되도록 하고 ICP-MS를 이용하여 아연 농도를 측정하였다. 단, 미생 물막의 경우 시료가 소량임을 감안하여 0.5 M 질산을 가하여 전량이 25 mL이 되도록 하고 아연농도를 측정 하였다. 토양은 시료의 무게를 측정하여 질산과 염산의 비율을 1:3으로 혼합한 혼합액을 10 mL 주입하고 마이크로웨이브에 넣고 분해한 후 방냉하였다. 방냉이 완료 된 시료에 부유물이 존재할 경우 GF/C(Whatman, 0.45 μ m) 여과지로 시료를 여과하여 0.5 M 질산을 가하고 전 량이 50 mL가 되도록 하였으며, 부유물이 존재하지 않 을 경우 0.5 M 질산을 가하여 전량이 50 mL이 되도록 하고 ICP-MS를 이용하여 아연 농도를 측정하였다. 모 든 시료 내 아연농도 분석은 미국 PerkinElmer 사의 ICP-MS(DRC II)를 사용하여 수질오염공정시험기준(ES 04400. 4b)에 따라 실시하였다.

2.4. 통계처리

모든 분석시료는 세 개의 반복 샘플시료로 수행하였 고 통계분석(SPSS 18.0, SPSS Inc., USA)을 이용하였 으며 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다. 분석은 정규성 을 가정하고 모수적인 일원분산분석(One-way ANOVA) 을 적용하여 LSD로 사후검정을 실시 대조군과 유의한 차이를 보이는 노출군을 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 수생환경 중 산화아연 나노물질의 특성과 이동

산화아연 나노물질의 안정성을 확인하기 위해서 사육 수에 희석된 나노물질의 크기를 확인한 결과, 초기 입자

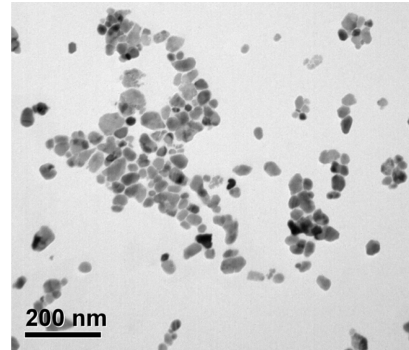


Fig. 1. Transmission electronic microscope (TEM) image of ZnO NPs in breeding water.

의 크기인 100 nm 이하를 유지하고 있는 것으로 확인 되었다(Fig. 1).

산화아연 나노물질을 0, 0.5 mg/L 및 5 mg/L 농도 로 조성한 수조 내 사육수와 토양의 아연농도 변화를 ICP-MS를 이용하여 측정하였다(Fig. 2). 노출 전 모든 시료에서 비슷한 아연 농도가 관찰되어 시험의 정확성 을 입증하였다. 노출 후 1, 2, 4, 7, 14일 후 사육수의 아연의 농도는 초기에 저농도에서 0.39 ± 0.12 mg/L, 고 농도에서 3.63 ± 0.23 mg/L로 실제 노출된 0.5 mg/L 및 5 mg/L와 유사하였으나 노출 시간이 경과할수록 감소하여 14일 후에는 저농도에서 0.11 ± 0.04 mg/L, 고농 도에서 0.62 ± 0.10 mg/L로 관찰되었다. 토양 내 아연 의 농도는 노출 1일 후 저농도에서 0.11 ± 0.47 mg/L로 대조군과 차이가 없었으나, 고농도에서 19.84 ± 4.15 mg/L로 유의적으로 증가하였다. 노출 시간이 경과할 수록 사육수와 달리 토양 내 아연 농도는 14일에 고농

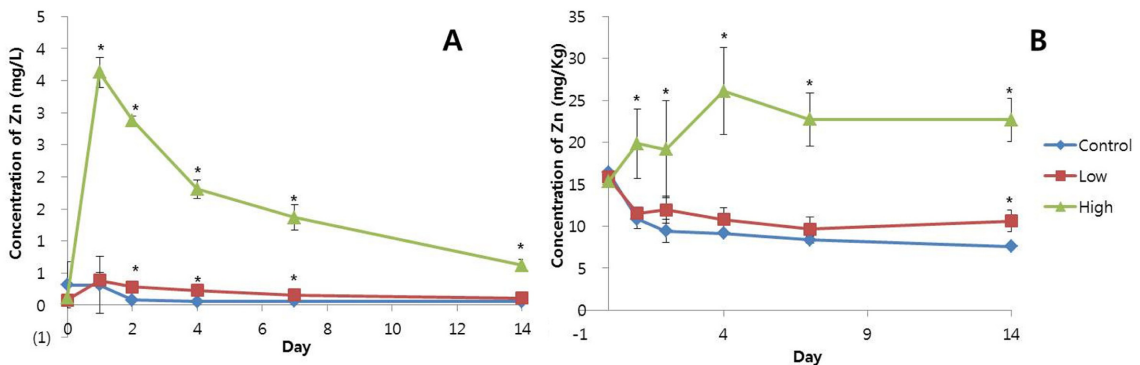


Fig. 2. The Zinc concentration of (A) breeding water and (B) soil exposed ZnO NPs.

도 군은 $22.68 \pm 2.59 \text{ mg/L}$ 으로 일정하게 유지되었고 저농도에서도 $10.63 \pm 1.28 \text{ mg/L}$ 으로 대조군과 유의적인 변화를 보였다. 이러한 결과는 산화아연 나노물질이 수계 내 노출이 된다면 노출 초기에 일부가 수질에서 침강하여 토양으로 이동될 수 있으며 수질 내 농도는 시간이 갈수록 농도가 감소하지만 토양 내 나노물질은 일정하게 유지되어 축적 가능성이 있다는 것을 확인시켜 주었다.

3.2. 산화아연 나노물질에 노출된 수생생물의 아연농도 변화

산화아연 나노물질의 수생생물 내 이동을 관찰하기 위하여 ICP-MS로 나사말의 뿌리와 잎, 좁개구리밥의 아연 농도를 측정하였다. 유도결합 플라즈마 질량분석방법은 무기물질에 대한 정밀한 분석기술로 환경 시료 중 나노 입자의 검출에도 유용하다고 알려져 있다¹²⁾. 또한 나노물질이 수계에서 미생물막으로의 이동이 일어나는지 평가하고자 노출 14일 후 미생물막 내 아연 농도 또한 측

정하였다.

Fig. 4(A)에 의하면 나사말의 뿌리 내 아연양은 농도 의존적으로 증가하는 양상을 보이나 유의성이 없었고 노출 1일부터 14일 동안 고농도군이 $109.25 \pm 44.96 \text{ mg/L}$ (1일 후)에서 $94.93 \pm 34.94 \text{ mg/L}$ (14일 후)으로 유지되는 것이 관찰되었다. 이러한 결과는 뿌리가 성장하는 토양 내 나노물질의 양이 노출 1일부터 14일까지 일정하게 관찰되는 것과 연관성이 있다고 판단된다. Fig. 4(B)는 나사말의 잎에서 분석된 아연의 농도변화인데 5 mg/L 고농도 노출군에서는 모든 시료에서 시간의존적으로 아연의 양의 유의성 있는 증가가 관찰되었다. 0.5 mg/L 저농도군에서도 잎 내 아연의 농도가 대조군에 비해 증가하는 경향은 있으나 7일 후 결과만 유의성이 관찰되었다. 뿌리에 비해 나사말의 잎에서 아연의 농도가 증가한 이유는 Dietz 등이 밝힌 나노물질 뿌리에서 잎으로의 이동과 관련이 있다고 추측되나¹³⁾ 이는 나노물질의 크기, 농도 그리고 표면물질에 의해 결정되기 때문에 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

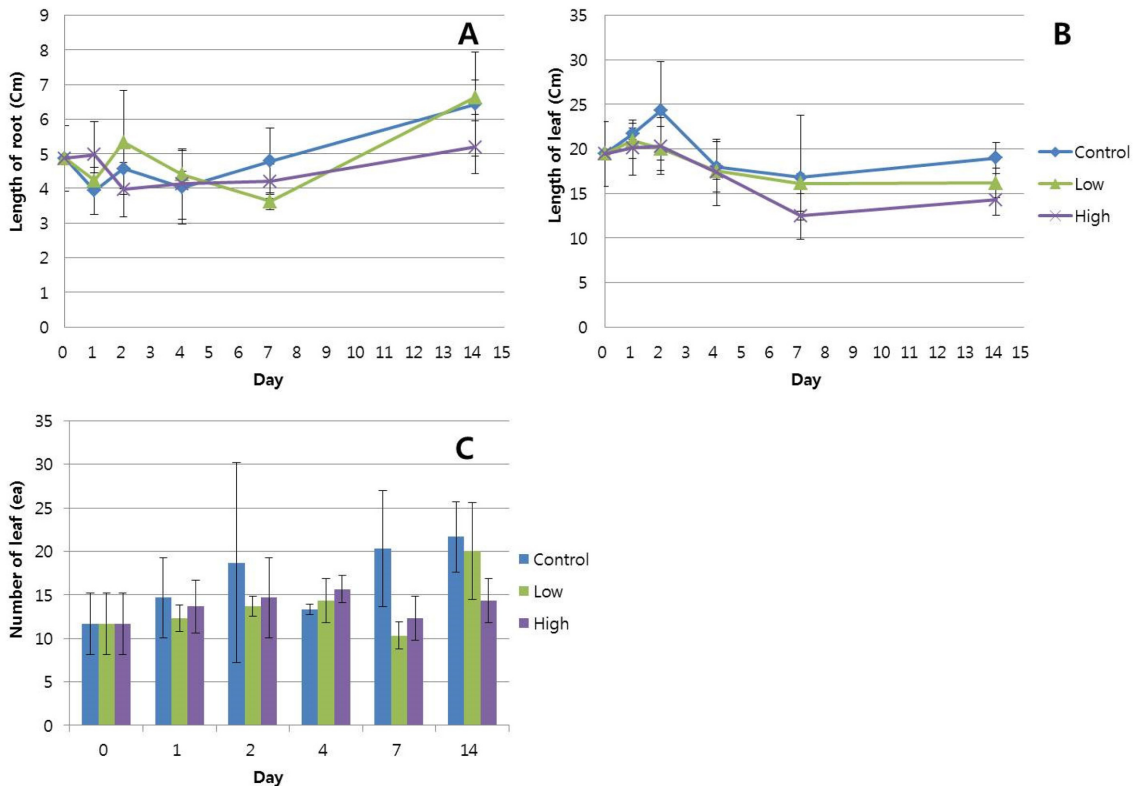


Fig. 3. Changes for (A) root length, (B) leaf length and (C) leaf no. of *Vallisneria natans* (Lour.) H. Hara exposed to ZnO NPs.

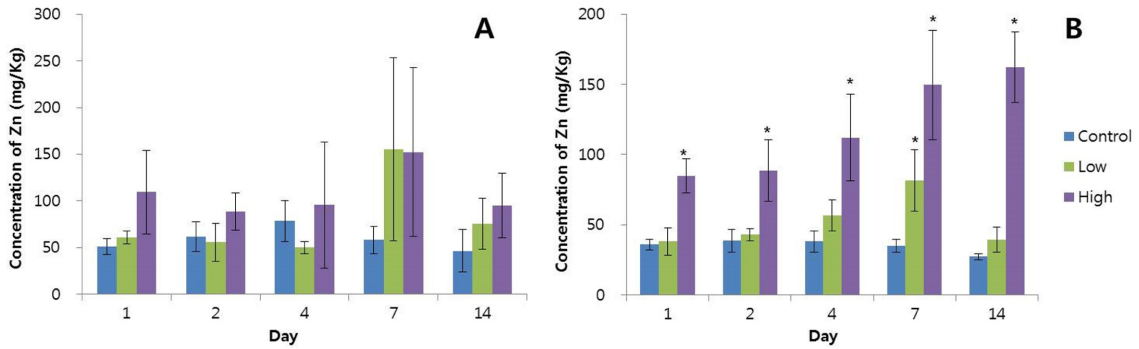


Fig. 4. The Zinc concentration for (A) root and (B) leaf of *Vallisneria natans* (Lour.) H. Hara exposed ZnO NPs.

좁개구리밥 내 아연 농도는 노출 1일 후에는 대조군에 비해 변화가 관찰되지 않았으나 노출 2후 2일부터 시간 및 농도의존적으로 아연의 농도가 증가하였다 (Fig. 5). 아연이 식물에 독성이 나타날 때 증상은 잎의 황백화와 뿌리 성장의 감소라고 알려져 있는데¹⁴⁾ 이번 실험에서 좁개구리밥 잎의 색 변화나 무게 감소가 관찰되지 않은 것은 노출 농도가 좁개구리밥에서는 독성이 없지만 나노물질의 축적만이 일어났음을 판단할 수 있었다.

노출 14일 후 샘플링한 미생물막 내 아연의 농도는 0.5 mg/L 노출 수조에서는 대조군과 큰 변화를 관찰할 수 없었지만 5 mg/L의 농도에서 약 10배 정도 증가되었다. 이 결과는 논 환경 모사 미생태계에서 이산화티타늄 나노물질이 미생물막에 가장 많이 축적되었다는 결과와 유사하다¹⁵⁾.

3.3. 산화아연 나노물질의 수생식물의 성장 영향

산화아연 나노물질이 환경 중에서 식물에 미치는 영

향으로 옥수수의 뿌리와 어린싹의 생물체량 감소¹⁶⁾, 콩의 뿌리와 어린싹의 성장을 감소¹⁷⁾, 동부콩 뿌리의 표면 축적성 등이 보고되었다¹⁸⁾. 이러한 연구는 대부분 외래 경작 식물에 국한되어 있어 본 연구는 우리나라의 자생 식물인 나사말과 좁개구리밥을 이용하여 수계 환경에서 산화아연 나노물질이 노출에 의해 수생생물에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

산화아연 나노물질을 0.5 및 5 mg/L 노출 1, 2, 4, 7, 14일 후 수생식물의 성장영향을 평가하기 위하여 나사말의 경우 뿌리와 잎을 분리 길이를 측정한 결과 시간 의존적으로 고농도에서 나사말의 뿌리와 잎의 길이가 대조군에 비하여 감소하는 경향이 관찰되었으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 3). 산화아연 나노물질이 나사말의 어린잎의 성장에 영향을 미치는 지 평가하기 위하여 나사말의 잎의 개수를 기간 별로 관찰한 결과 길이와 동일하게 노출 14일 후 농도의존적으로 잎의 개수가 감소하였으나 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다

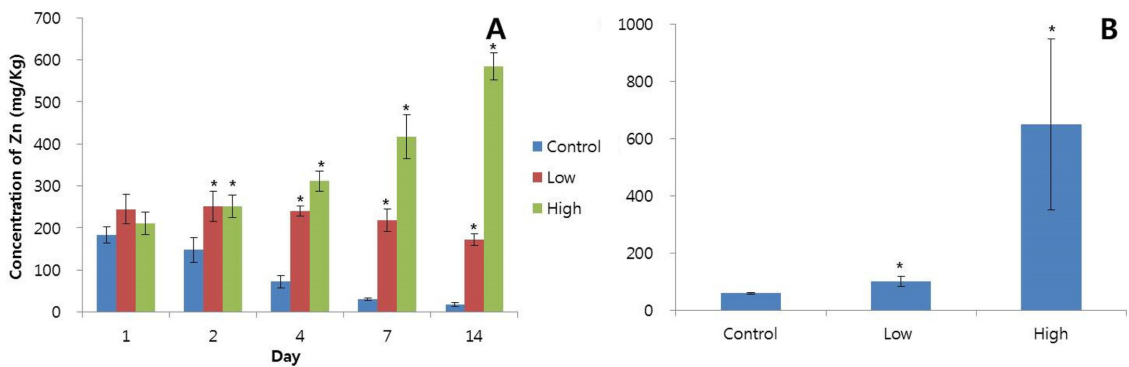


Fig. 5. The Zinc concentration of (A) *Lemna perpusilla* Torr. and (B) biofilm exposed ZnO NPs.

(Fig. 3). 유의적인 결과는 아니지만 산화아연 나노물질이 나사말의 성장에 미치는 영향은 콩, 옥수수 등에서 관찰된 유사한 결과를 보이는 것으로 확인할 수 있었다^{16,17}).

부유생물인 좁개구리밥의 성장을 관찰하기 위하여 각 노출 수조에서 좁개구리밥 5개를 채취 생물량을 측정하였다. 좁개구리밥은 1개의 잎이 1개의 뿌리를 가지는 식물로 잎의 크기와 색으로 성장 양상을 판단할 수 있다. 좁개구리밥은 나사말과 달리 노출농도나 시간에 관련없이 동일하게 대조군 및 노출군에서 모두 약 0.5 g이 측정되어 시험물질에 의한 어떠한 영향도 관찰할 수 없었다(data not shown). 두 식물의 산화아연 나노물질의 영향을 비교하여 보면 부유성 식물보다는 침수성 식물에 미치는 영향이 크지만 종 특이적이고 매질 내 나노물질의 크기 등 물리적 특성에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

4. 결 론

산화아연 나노물질이 수생식물인 나사말과 좁개구리밥에 노출되었을 때 미치는 독성영향과 생체 내 축적 가능성을 유도결합 플라즈마 분석방법을 이용하여 연구한 결과 다음과 같은 결론을 도출하였다. 사육수에 노출된 산화아연 나노물질은 초기에 수환경 내에 존재하다가 1일 이후 토양으로 침강 또는 이동되는 것으로 확인되었다. 따라서 나노물질은 수계에 방출될 경우 시간이 경과할수록 퇴적물 또는 토양으로 축적되어 관련 생물에 전이될 가능성이 있다. 침수성 식물인 나사말과 부유성 식물인 좁개구리밥 내 아연의 농도는 시간의존적으로 고농도에서 유의성 있게 증가하여 두 식물 모두 산화아연 나노물질의 축적성을 확인할 수 있었다. 또한 미생물막에서 대조군보다 10배 이상의 아연 농도가 측정되었다. 이러한 결과는 식물뿐만 아니라 미생물막과 같은 생산자 단계에서 축적된 나노물질이 1차 소비자로 이동될 수 있는 잠재적인 유해인자가 될 수 있어 향후 환경 중 나노물질의 방류를 최소화할 수 있는 규제가 필요하다고 생각된다.

참고문헌

1. M. E. Vance, T. Kuiken, E. P. Vejerano, S. P. McGinnis, M. F. Hochella, D. Rejeski, and M. S. Hull, "Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nano-material consumer products inventory", *Beilstein Journal of Nanotechnology*, **2015**, 6, 1769-1780.
2. A. P. Gondikas, F. von der Kammer, R. B. Reed, S. Wagner, J. F. Ranville, and T. Hofmann, "Release of TiO₂ nanoparticles from sunscreens into surface waters: A one-year survey at the old Danube recreational Lake", *Environmental Science & Technology*, **2014**, 48, 5415-5422.
3. P. Hennebert, A. Avellan, J. Yan, and O. Aguerre-Chariol, "Experimental evidence of colloids and nanoparticles presence from 25 waste leachates", *Waste Management*, **2013**, 33, 1870-1881.
4. J. Liu, B. Dhungana, and G. P. Cobb, "Environmental behavior, potential phytotoxicity, and accumulation of copper oxide nanoparticles and arsenic to rice plants", *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2017**.
5. C. C. Li, F. Dang, M. Li, M. Zhu, H. Zhong, H. Hintelmann, and D. M. Zhou, "Effects of exposure pathways on the accumulation and phytotoxicity of silver nanoparticles in soybean and rice", *Nanotoxicology*, **2017**, 11, 699-709.
6. 환경부, "나노물질 유통량 조사(IV) 및 산업계 안전관리 지원 시범사업", **2015**, 29-50.
7. Z. M. Swiatek, C. A. M. van Gestel, and A. J. Bednarska, "Toxicokinetics of zinc-oxide nanoparticles and zinc ions in the earthworm *Eisenia andrei*", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2017**, 143, 151-158.
8. X. Chen, J. O'Halloran, and M. A. Jansen, "The toxicity of zinc oxide nanoparticles to *Lemna minor* (L.) is predominantly caused by dissolved Zn", *Aquatic Toxicology*, **2016**, 174, 46-53.
9. E. Lahive, J. O'Halloran, and M. A. Jansen, "A marriage of convenience; a simple food chain comprised of *Lemna minor* (L.) and *Gammarus pulex* (L.) to study the dietary transfer of zinc", *Plant Biology*, **2015**, 17, 75-81.
10. O. Bar-Ilan, R. M. Albrecht, V. E. Fako, and D. Y. Ferguson, "Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos", *Small*, **2009**, 5, 1897-1910.
11. 국립생물자원관, <https://species.nibr.go.kr/index.do>, Oct **2017**.
12. 이병태, "실시간 모드의 유도결합플라즈마 질량분석기술을 이용한 금속나노입자의 분석", *한국환경분석학회지*, **2013**, 16, 256-265.
13. K. J. Dietz and S. Herth, "Plant nanotoxicology", *Trends in Plant Science* **2011**, 16, 582-589.
14. J. Ren, D. I. Stuart, and K. R. Acharya, "Alpha-lactalbumin possesses a distinct zinc binding site", *The*

- Journal of Biological Chemistry*, **1993**, 268, 19292-19298.
15. M. K. Yeo and D. H. Nam, "Influence of different types of nanomaterials on their bioaccumulation in a paddy microcosm: A comparison of TiO₂ nanoparticles and nanotubes", *Environmental Pollution*, **2013**, 178, 166-172.
 16. L. Zhao, J. A. Hernandez-Viezcas, J. R. Peralta-Videa, S. Bandyopadhyay, B. Peng, B. Munoz, A. A. Keller, and J. L. Gardea-Torresdey, "ZnO nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate", *Environmental Science, Processes & Impacts*, **2013**, 15, 260-266.
 17. S. J. Yoon, J. I. Kwak, W. M. Lee, P. A. Holden, and Y. J. An, "Zinc oxide nanoparticles delay soybean development: a standard soil microcosm study", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2014**, 100, 131-137.
 18. P. Wang, N. W. Menzies, E. Lombi, B. A. McKenna, B. Johannessen, C. J. Glover, P. Kappen, and P. M. Kopittke, "Fate of ZnO nanoparticles in soils and cowpea (*Vigna unguiculata*)", *Environmental Science & Technology*, **2013**, 47, 13822-13830.