

## EDDS가 바이오에너지 작물의 중금속 흡수에 미치는 영향

이중현 · 성기준\*

국립부경대학교 생태공학과

## EDDS Effects on Heavy Metal Uptake by Bioenergy Plants

Junghun Lee · Kijune Sung\*

Department of Ecological Engineering, Pukyong National University

### ABSTRACT

Plants grown in metal-contaminated sites have to be managed and disposed of safely even in phytoremediation because heavy metals can be transferred to other organisms through the food chain, which could result in bioaccumulation in organisms of a higher trophic level. However, if the harvested plants could be used for bioenergy, the ecological risk is reduced and phytoremediation improves economic feasibility. This study researched the effects of EDDS (Ethylenediamine disuccinate) on the heavy metal uptake performance of *Brassica campestris* and *Sorghum bicolor*, both of which have potential as bioenergy plants. The results showed that EDDS could increase Pb, Cu, Ni, Cd, and Zn concentrations in the roots and shoots of both of these plants. Furthermore, EDDS reduced the metal inhibition of the *S. bicolor* length growth. The translocation factors (TF) of *S. bicolor* and *B. campestris* are smaller than one for all five heavy metals tested and decreased by the following order: heavy metal + EDDS > heavy metals only > uncontaminated soil. The results suggest that with regard to plant growth and metal accumulation, *S. bicolor* treated with EDDS is more suitable than is *B. campestris* for the phytoremediation of soils contaminated with multiple metal species.

**Key words :** Phytoremediation, Translocation factor, *Brassica campestris*, *Sorghum bicolor*

### 1. 서 론

중금속 오염 토양을 정화하기 위하여 적용되는 공법들 가운데 식물상치유법(phytoremediation)은 물리·화학적인 공법에 비하여 경제적이며, 정화 공법을 적용하는데 있어서 심미적인 효과를 얻을 수 있고, 오염 토양의 생물학적인 가능 또한 향상시킬 수 있는 다양한 장점을 가진다(Garbisu and Alkorta, 2001; Salt et al., 1998).

최근에는 식물상치유법의 정화 효율을 향상시키기 위하여 퀼레이트제를 적용하는 연구가 국외에서 많이 진행되었는데, 중금속의 식물이용성을 증가시키고 식물 지하부에 흡수된 중금속의 지상부 이동을 향상시킨다고 알려져 있다(Cooper et al., 1999; Huang et al., 1997; Shen et al., 2002). 현재 사용하고 있는 퀼레이트제 중 EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid)는 중금속 오염 토양

의 정화에 효율적이라고 보고되었지만(Nascimento et al., 2006), 환경에서의 잔류성과 독성으로 인하여 in-situ 공법에 적용할 경우 오히려 생태계의 교란을 가져올 수도 있으며(Grčman et al., 2001; Saifullah et al., 2009), 중금속의 침출 등 2차 오염을 유발시킬 수도 있다고 알려져 있다(Grčman et al., 2003; Evangelou et al., 2007). 이에 따라 최근에는 EDTA의 대안 물질로 생물분해가 가능한 APCAs(Aminopolycarboxylic acids)의 적용이 검토되고 있다. 이 중 미생물에 의하여 자연적으로 생성되기도 하고 인공적으로 합성하여 사용할 수 있는 EDDS (Ethylenediamine disuccinate)는 분해가 쉽고 분해과정 중에 난분해성 물질을 생성하지 않으며, 활성슬러지에 대한 분배계수가 40 L/kg로서 흡착성이 약하며 또한 독성도 낮은 물질로 알려져 있다(Jaworska et al., 1999). 따라서 EDTA와는 달리 자연 상태에서 쉽게 분해가 일어날 수

\*Corresponding author : ksung@pknu.ac.kr

Received : 2015. 1. 16    Reviewed : 2015. 2. 14    Accepted : 2015. 7. 19

Discussion until : 2015. 10. 31

있는 EDDS가 기존의 EDTA를 대체할 수 있을 것으로 주목받고 있다(Evangelou et al., 2007).

식물상치유법에는 토양이나 기후 또는 오염물질에 따라 다양한 식물을 사용할 수 있는데, 초본식물의 경우 생장 시기가 목본식물에 비하여 짧고, 뿌리를 포함한 전체 식물의 수확이 가능하므로, 단기간의 중금속 오염토양 정화에 적합한 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 EDTA의 대안물질로 제시되는 EDDS가 초본식물 특히 바이오에너지 작물로 관심을 받고 있는 유채(*Brassica campestris*)와 단수수(*Sorghum bicolor*)의 중금속 흡수능에 미치는 영향을 분석하여, 퀼레이트 적용이 중금속흡수능 향상이나 생태계에 미치는 영향에 중점을 둔 기존의 연구들(Lee and Sung, 2014; Saifullah et al., 2009)과 달리 식물상치유법에 사용된 식물을 재사용하여 바이오에너지원으로 사용할 수 있는 잠재성을 평가하고자 하였다. 오염토양에서 성장하는 식물은 먹이사슬을 통한 생태계의 중금속전이와 생물농축에 영향을 미칠 수도 있으며, 정화에 사용된 식물의 처리에도 어려움이 있을 수 있기 때문에, 오염된 식물을 수확하여 바이오에너지로 활용할 수 있다면 생태적 위험성을 낮추고 식물상치유법의 경제성도 확보할 수 있을 것으로 기대된다.

## 2. 실험방법

EDDS가 초본 식물의 중금속 축적에 미치는 영향을 파악하기 우리나라에서 자생하는 식물인 십자화과(*Brassicaceae*)의 유채(*Brassica campestris*)와 화본과(*Gramineae*)의 단수수(*Sorghum bicolor*)를 중금속 오염토양에 적용하였다. 유채(*B. campestris*)는 두해살이풀로 꽃은 4월경에 총상꽃차례로 피며 가지 끝에 달린다. 국내 전역에 서식이 가능하지만 주로 남부지방에서 재배하고 있다. 또한 수확량이 많고 품질이 좋으며 빨리 성장하며 추위와 습기에 도 강하다(Lee, 2003). 식물상치유법에서 과축적종으로 알려져 있으며 종자를 이용하여 바이오연료를 생산할 수도 있다(Gripsen et al., 2006). 단수수(*S. bicolor*)는 온대지방에서 한해살이 식물로서 줄기는 912개의 마디가 있고 속이 차 있으며, 잎은 어긋나고 길이가 5060 cm이다. 성장하기에 가장 좋은 온도는 26.5°C이고 최저 온도는 15.5°C이며 가뭄에 대한 저항성이 매우 강하다. 이러한 단수수는 생육기간이 4개월로 짧아 2기작이 가능하며 최근 국내에서 바이오에탄올 원료작물로 단수수의 중요성이 부각되고 있다(Bang et al., 2009).

토양은 카드뮴, 구리, 니켈, 납, 아연 등 5가지 중금속

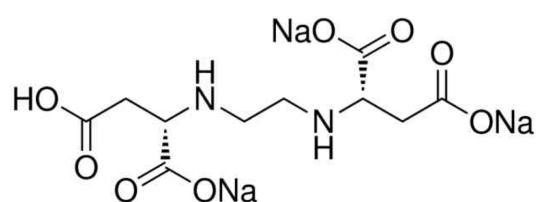


Fig. 1. Chemical structure of Na<sub>3</sub>EDDS used in the experiment.

을 인위적으로 오염시켜 사용하였는데, 먼저 균질화를 위하여 2 mm 체로 체질한 후 CdCl<sub>2</sub> · 2.5H<sub>2</sub>O(98%, Kanto), CuCl<sub>2</sub>(99%, Acros), NiSO<sub>4</sub> · 6H<sub>2</sub>O(99%, Kanto), PbCl<sub>2</sub>(99%, Kanto), ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O(99%, Junsei)를 토양과 균질하게 교반하여, Cd(4 mg/kg), Cu(150 mg/kg), Pb(200 mg/kg), Ni(100 mg/kg), Zn(300 mg/kg)의 농도를 갖도록 하였다. 또한 포화와 건조 상태로 순환시키며 총 4주간의 aging 기간을 가졌다.

비오염토양과 오염토양에 단수수와 유채를 stainless 화분(14.5 cm, φ10.5 cm)에 식물의 성장 정도와 뿌리의 분포를 고려하여 각각 7개와 10개의 종자를 파종한 후 온실에 넣어 광도 3500 ± 800 Lux, 광주기 16 h/8 h, 온도 25~28°C, 습도 30~40%로 유지되는 실내에 설치된 온실에서 실험을 진행하였다. 수분은 매일 한번 씩 화분 당 약 50 ml의 증류수를 공급하였으며, 종자를 파종한 20일 후에 오염토양에는 5 mmol/kg EDDS(as Na<sub>3</sub>EDDS salt, Aldrich)를 비오염토양에는 증류수를 각각 50 ml씩 첨가하였다. 사용한 Na<sub>3</sub>EDDS의 화학구조는 Fig. 1과 같다.

EDDS 적용 처리구의 경우 3번복으로 실험하였으며 총 35일간 진행하였다. 실험기간 동안 지상부의 길이성장 변화를 줄자를 이용하여 측정하였다. 퀼레이트제를 적용한 후 15일 경과 후 실험에 사용된 식물을 지상부와 지하부로 나누어 채집하여 중금속분석을 실시하였다. 식물의 지하부는 근권 토양이 모두 제거되도록 흐르는 증류수로 3~4회 세척한 후 중금속 분석을 실시하였다.

중금속 분석을 위하여 Method 3050B의 FLAA(Flame atomic absorption spectrometer)의 분석을 위한 전처리 방법으로 실행한 후(USEPA, 1996), Atomic Absorption Spectrometer(AAnalyst 800, Perkin elmer, U.S.A)로 분석하였다. 중금속 분석방법의 신뢰도는 NIST(National Institute of Standards and Technology) 표준물질인 SRM (Standard Reference Materials, 1570a Trace Elements in Spinach)을 이용하였는데, 실험결과 Cu, Zn, Cd, Ni의 경우 98.2, 99.1, 95.4, 97.9%의 회수율을 나타냈다.

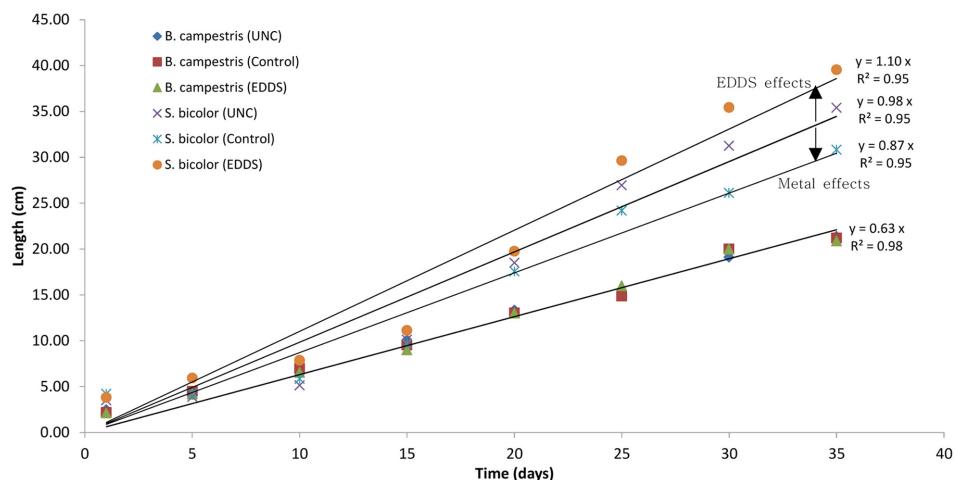


Fig. 2. Effects of EDDS and heavy metal contamination on shoot growth of *B. campestris* and *S. Bicolor*. UNC: uncontaminated soil, Control: heavy metal contaminated soil without EDDS.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 식물생장에 미치는 영향

비오염토양과 오염토양 모두 *B. campestris*에 비해 *S. bicolor*의 지상부 길이 생장이 큰 것으로 나타났다(Fig. 2). *S. bicolor*의 지상부 길이 생장은 중금속 오염토양에서 0.87 cm/day로 0.98 cm/day의 생장률을 보인 비오염토양에 비해 감소하여 중금속에 의한 생장 저해가 있는 것으로 나타났다. 하지만 EDDS를 첨가한 처리구에서는 1.10 cm/day의 생장률을 나타내어 EDDS가 중금속에 대한 생장저해를 완화시키며 *S. bicolor* 성장에 도움을 주는 것으로 관찰되었다. *B. campestris*의 경우 세 가지 조건에서 모두 0.63 cm/day의 생장률을 보여주어 중금속오염이나 EDDS에 의한 생장저해나 증진 효과가 관찰되지 않았다 (Fig. 2). 물론 지상부의 길이 생장으로 식물전체의 성장을 평가하기는 어렵다. 하지만 EDDS는 중금속 오염토양에서 잎의 엽록체 농도나 뿌리성장등에 있어서 EDTA 보다 식물의 건강성에 긍정적인 역할을 하는 것으로 보고된 바 있다(Lee and Sung, 2014). 이러한 식물 생장실험 결과는 두 식물 모두 중금속 복합오염 토양의 식물상치유에 적용할 수 있는 잠재력을 가지고 있음을 나타낸다. *B. campestris*의 경우 EDDS의 적용여부와 관계없이 중금속 오염 토양에서 잘 생장할 수 있는 것으로 나타났으므로, 중금속의 식물체내 흡수가 관찰된다면 식물상치유법에 적용이 가능하다. 실제로 *B. campestris*는 현재 다양한 중금속 오염토양에 적용되고 있는 것으로 알려져 있다(Gupta et al., 2010; Purakayastha et al., 2008). 이에 반해 *S. bicolor*는 EDDS의 중금속 흡수 향상 효과가 증명된다면

EDDS와 함께 사용함으로써 생장 및 중금속 흡수 증진효과를 기대할 수 있을 것이다.

#### 3.2. 식물 뿌리의 중금속 농도에 미치는 영향

실험에 사용한 두 식물 모두 중금속에 노출되면 비오염토양에 비해 식물뿌리의 중금속 농도가 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 이는 정도의 차이가 있지만 Fig. 2의 식물의 지상부생장 결과를 함께 고려할 때 두 식물 모두 오염토양에서의 중금속제거에 사용할 수 있는 잠재력을 가지고 있음을 보여준다.

또한 두 식물 모두 EDDS를 적용함으로 중금속 흡수율이 증가한 것으로 관찰되었는데, *B. campestris*와 *S. bicolor* 뿌리의 Cd, Cu, Pb, Zn, Ni 농도는 각각  $50.7 \pm 19.7$ ,  $522.5 \pm 228.7$ ,  $251.8 \pm 108.3$ ,  $743.9 \pm 393.8$ ,  $131.4 \pm 43.4$  mg/kg과  $34.8 \pm 8.6$ ,  $806.8 \pm 56.6$ ,  $329.7 \pm 112.1$ ,  $1520.4 \pm 346.7$ ,  $176.2 \pm 28.7$  mg/kg으로 EDDS를 첨가하지 않은 처리구의 Cd, Cu, Pb, Zn, Ni 농도  $14.8$ ,  $235.4$ ,  $75.0$ ,  $302.1$ ,  $52.08$  mg/kg에 비해 *B. campestris*는  $247.6$ ,  $121.9$ ,  $235.7$ ,  $146.3$ ,  $152.3\%$  증가하였으며, *S. bicolor*도 각각  $85.7$ ,  $204.9$ ,  $68.4$ ,  $150.8$ ,  $134.9\%$  증가하여 EDDS가 두 식물의 중금속 흡수율 향상에 기여하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 특히 *B. campestris*의 경우 카드뮴 흡수 증가에, *S. bicolor*의 경우 아연 흡수 증가에 EDDS의 효과가 큰 것으로 분석되었다. 실제 식물 뿌리의 중금속 농도는 *B. campestris*가 *S. bicolor*에 비해 31.3% 높았던 카드뮴을 제외하고는 Cu, Pb, Zn, Ni 모두 *S. bicolor*에서 농도가 높은 것으로 나타나 *S. bicolor*가 이들 중금속의 흡수에 더 적합할 수 있음을 알 수 있었다.

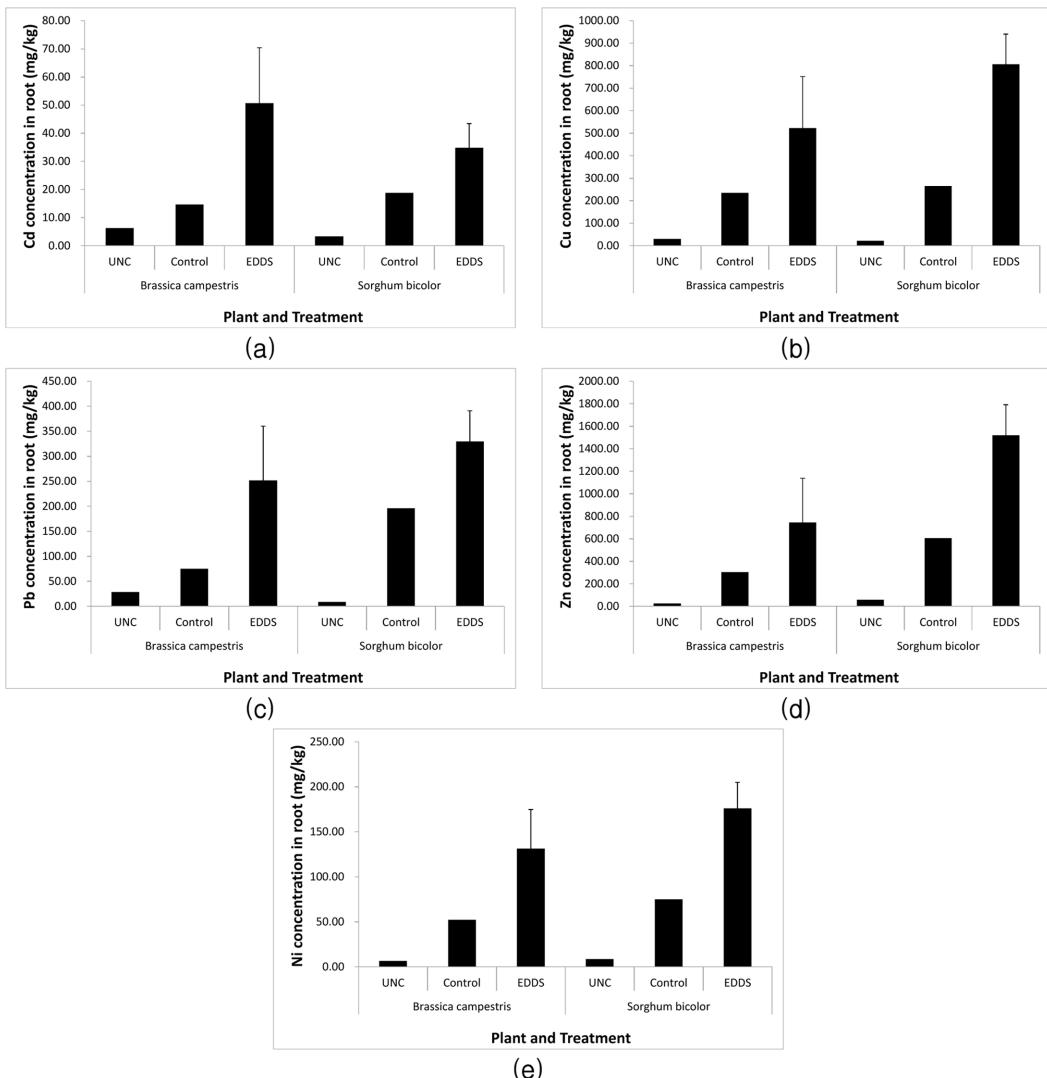
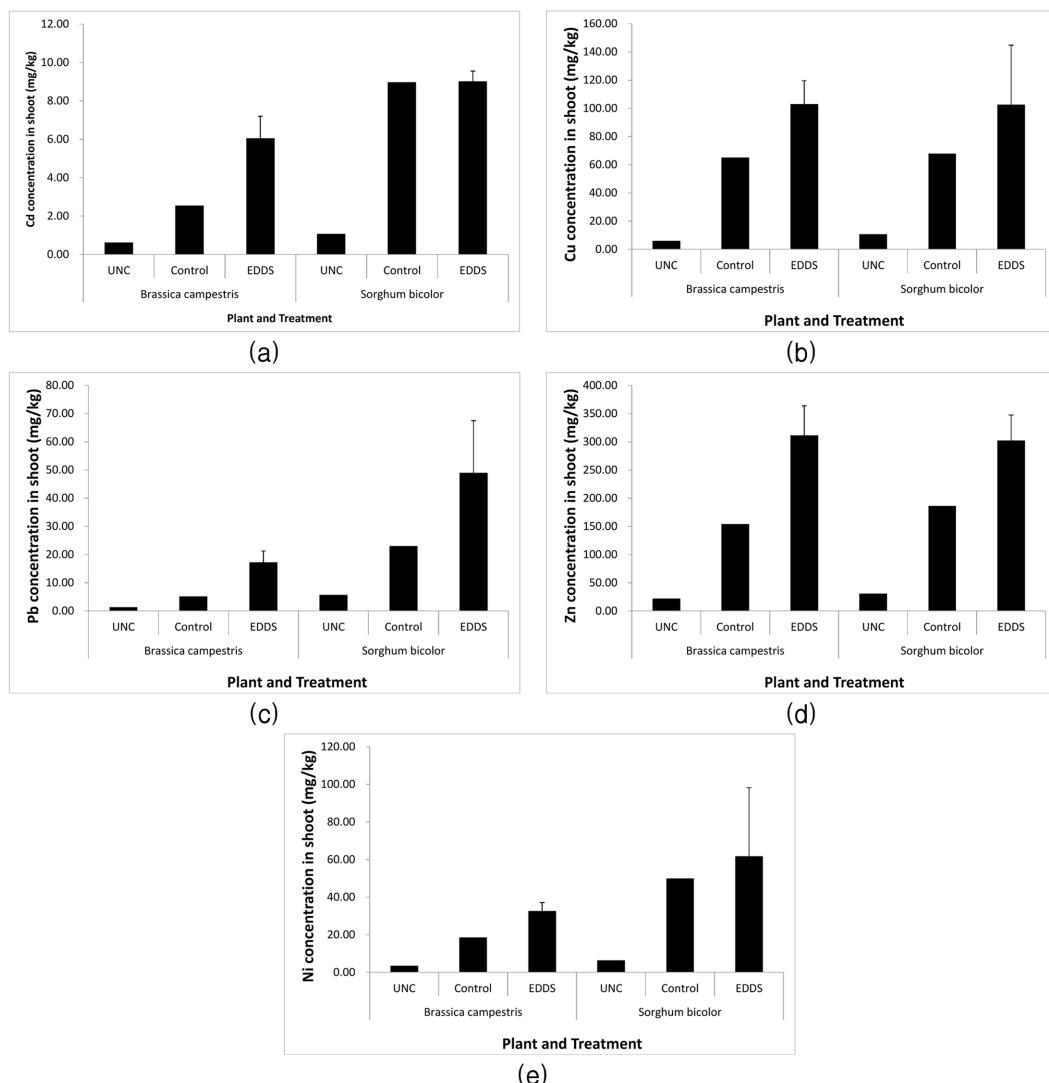


Fig. 3. Heavy metal concentrations in roots of bioenergy plants (a) Cd, (b) Cu, (c) Pb, (d) Zn, (e) Ni. UNC: uncontaminated soil, Control: heavy metal contaminated soil without EDDS.

### 3.3. 식물 지상부의 중금속 농도에 미치는 영향

EDDS를 적용함에 따라 두 식물 모두 중금속의 지상부 농도도 함께 증가하는 것으로 나타났다. *B. campestris* 지상부의 Cd, Cu, Pb, Zn, Ni 농도는 2.6, 65.0, 5.1, 154.0, 18.6 mg/kg에서 EDDS를 첨가한 처리구에서 각각  $6.1 \pm 1.1$ ,  $103.1 \pm 16.5$ ,  $17.3 \pm 4.0$ ,  $311.5 \pm 52.2$ ,  $32.6 \pm 4.5$  mg/kg으로 증가하였다. Meers et al.(2005)도 *Helianthus annus*를 이용한 실험에서 Cd와 Cu의 지상부 중금속 농도 증가에 대한 EDDS의 효과를 확인한 바 있으며, Luo et al.(2005)은 *Zea mays*를 이용한 실험에서 EDDS가 구리의 지상부 이동에 효과적이라 발표한 바 있다. 하지만 본 연구에서 EDDS 효과는 특히 237.8%의 증가를 보인 납에서 가장 크게 나타났는데(Fig. 4), 이러한 결과는 사용

한 식물종의 차이에 의한 것으로 판단된다. 한편 *S. bicolor* 지상부의 Cd, Cu, Pb, Zn, Ni 농도는 9.0, 67.9, 23.1, 185.9, 50.0 mg/kg에서 EDDS를 첨가한 처리구에서  $9.0 \pm 0.5$ ,  $102.7 \pm 42.1$ ,  $49.0 \pm 18.6$ ,  $302.3 \pm 45.3$ ,  $61.7 \pm 36.6$  mg/kg으로 카드뮴을 제외한 다른 중금속의 지상부 농도 증가에 긍정적인 영향을 미친 것으로 나타났다(Fig. 4). EDDS 첨가에 따라 납이 112.2%로 가장 큰 농도 증가를 보였지만, *B. campestris*에 비해서 증가율은 낮았으며, 구리와 아연에 대한 *S. bicolor*의 지상부 농도 증가율도 *B. campestris*에 비해 작은 것으로 분석되었다. 하지만 실제 EDDS를 첨가한 처리구에서 두 식물 모두 유사한 농도 수준을 보인 구리와 아연을 제외한 카드뮴, 납, 니켈의 경우 *S. bicolor*가 *B. campestris*에 비해 48.9, 183.7, 89.0%



**Fig. 4.** Heavy metal concentrations in shoot of bioenergy plants (a) Cd, (b) Cu, (c) Pb, (d) Zn, (e) Ni. UNC: uncontaminated soil, Control: heavy metal contaminated without EDDS.

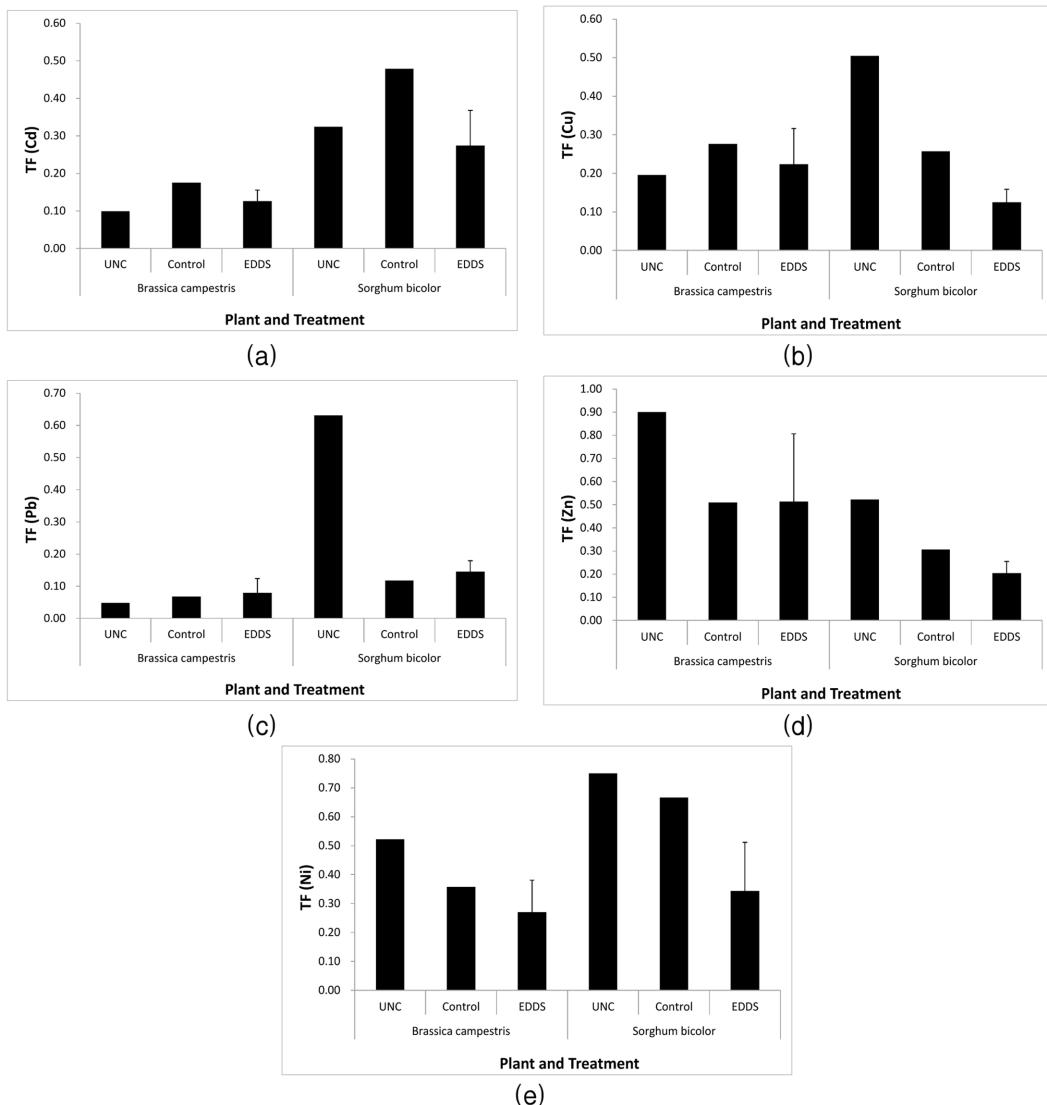
높은 것으로 나타나 이들 중금속의 정화에 있어서 EDDS를 함께 사용할 수 있다면 *S. bicolor*가 더 적합할 수 있음을 보여주었다.

#### 3.4. 중금속의 지상부와 지하부 분배에 미치는 영향

킬레이트제는 식물의 중금속 흡수율 증가에도 영향을 미치지만, 식물이나 중금속의 종류에 따라 그 효과가 뿌리와 지상부에 각각 다르게 나타나므로 식물의 지상부와 지하부의 중금속 분배가 달라지게 된다. 이러한 식물체내에서의 중금속 분배를 지상부농도와 지하부농도의 비인 TF(translocation factor)로 표현하여 상대적인 중금속 분배도를 이해하는데 이용할 수 있다(Sung et al., 2013). TF가 1보다 작을 경우에는 뿌리의 중금속 농도가, TF가 1

보다 클 경우에는 지상부의 중금속 농도가 더 높음을 나타낸다. TF가 큰 경우 상대적으로 수확이 쉬운 지상부의 제거만으로도 토양에서의 중금속 제거 효과가 더 클 수 있음을 보여준다.

본 실험결과 두 식물 모두 실험에 사용한 다섯 가지 중금속에 대한 TF가 1보다 작은 것으로 나타났는데, 비오염토양과 비교하여 오염토양이 또한 오염토양에 비교하여 EDDS 첨가 처리구에서 TF 값이 더 작게 나타났다(Fig. 5). 특히 중금속 흡수가 많이 일어난 EDDS 처리구에서 TF가 실험에 사용한 5가지 중금속에 대하여 *B. campestris*의 경우 0.1에서 0.5, *S. bicolor*의 경우 0.1에서 0.3으로 나타나, EDDS를 적용하지 않은 처리구와 비교할 때 납을 제외한 다른 중금속에서 모두 18.9%에서



**Fig. 5.** Translocation factors (TF) of bioenergy plants (a) Cd, (b) Cu, (c) Pb, (d) Zn, (e) Ni. UNC: uncontaminated soil, Control: heavy metal contaminated without EDDS.

51.5%까지 감소한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 식물체의 중금속 흡수가 늘어날수록 지상부로의 중금속 이동이 감소하여, EDDS의 처리로 인하여 증가된 식물체내 중금속 중 지상부로 이동한 양이 뿌리에 남아있는 양에 비해 상대적으로 작기 때문인 것으로 판단된다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 EDDS가 바이오에너지 작물로 관심을 받고 있는 유채(*B. campestris*)와 단수수(*S. bicolor*)의 중금속 흡수능에 미치는 영향을 평가하여 다음과 같은 결과를 도출하였다.

1. EDDS가 *S. bicolor*의 중금속에 의한 지상부 생장 저해를 완화시키며 *S. bicolor* 질이생장에 도움을 주는 것으로 나타났으며, *B. campestris*는 중금속오염이나 EDDS에 의하여 영향을 크게 받지 않는 것으로 관찰되었다.

2. EDDS가 *S. bicolor*와 *B. campestris*의 중금속 흡수율 향상에 기여하는 것으로 나타났는데, 특히 *B. campestris*의 경우 카드뮴 흡수에 *S. bicolor*의 경우 아연 흡수 증가에 효과가 있는 것으로 분석되었다.

3. EDDS의 처리가 *S. bicolor*와 *B. campestris* 지상부의 중금속 농도 증가에도 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났으며 EDDS 적용에 따른 지상부농도 증가율은 *B. campestris*> *S. bicolor*에 비해 큰 것으로 나타났다.

4. *S. bicolor*와 *B. campestris* 모두 실험에 사용한 5 가지 중금속에 대한 TF가 1보다 작은 것으로 나타났으며, 비오염토양과 비교하여 오염토양에서 그리고 오염토양에 비교하여 EDDS를 첨가한 처리구에서 TF 값이 더 작게 나타났다.

5. 식물 뿌리의 중금속 농도는 카드뮴을 제외하고는 *S. bicolor*에서 높았으며, 지상부의 중금속 농도도 EDDS 처리구에서 유사한 수준을 보였던 구리와 아연을 제외하고는 *S. bicolor*의 농도가 높았다. 따라서 식물의 지상부생장과 식물체내 중금속 농도를 함께 고려할 때 *S. bicolor* 가 EDDS를 적용한 복합 중금속 오염토양의 식물상치유법에 더 적합할 수 있을 것으로 판단된다.

## 사    사

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2014년)에 의하여 연구되었음.

## References

- Bang, J.K., Nam, S.S., Ahn, S.H., and Suh, S.J., 2009, Current research on sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) to bio-ethanol in China, *J. Kor. Soc. Int. Agri.*, **21**(3), 183-188.
- Cooper, E.M., Sims, J.T., Cunningham, S.D., Huang, J.W., and Berti, W.R., 1999, Chelate-Assisted phytoextraction of lead from contaminated soils, *J. Environ. Qual.*, **28**, 1709-1719.
- Evangelou, M.W.H., Bauer, U., Ebel, M., and Schaffer, A., 2007, The influence of EDDS and EDTA on the uptake of heavy metals of Cd and Cu from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*, *Chemosphere*, **68**, 345-353.
- Garbisu, C. and Alkorta, I., 2001, Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment, *Bioresour. Technol.*, **77**, 229-36.
- Grčman, H., Velikonja-Bolta, S., Vodnik, D., and Lestan, K.D., 2001, EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity, *Plant and Soil*, **235**, 105-114.
- Grčman, H., Vodnik, D., Velikonja-Bolta, S., and Lestan, D., 2003, Heavy metals in the environment: ethylenediaminedisuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction, *J. Environ. Qual.*, **32**, 500-506.
- Gripsen, V.M.J., Nelissen, H.J.M., and Verkleij, J.A.C., 2006, Phytoextraction with *Brassica napus* L. : A tool for sustainable management of heavy metal contaminated soils, *Environ. Pollut.*, **144**, 77-83.
- Gupta, A..K., Mishra, R.K., Sinha, S., and Lee, B., 2010, Growth, metal accumulation and yield performance of *Brassica campestris* L. (cv. Pusa Jaikisan) grown on soil amended with tannery sludge/fly ash mixture, *Ecol. Eng.*, **36**, 981-991.
- Huang, J.W., Chen, J., Berti, W.R., and Cunningham, S.D., 1997, Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 800-805.
- Jaworska, S.S., Schowanek, D., and Feijtel, T.C.J., 1999, Environmental risk assessment for trisodium [S,S]-ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications, *Chemosphere*, **38**, 3597-3625.
- Lee, C., 2003, Illustrated Guide to Korean flora, Hyangmunsa, Seoul.
- Lee, J. and Sung, K., 2014, Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants, *Ecol. Eng.*, **73**, 386-394.
- Luo, C., Shen, Z., and Li, X., 2005, Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS, *Chemosphere*, **59**, 1-11.
- Meers, E., Ruttens, A., Hopgood, M.J., Samson, D., and Tack, F.M.G., 2005, Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals, *Chemosphere*, **58**, 1011-1022.
- Nascimento, C.W.A., Amarasinghe, D., and Xing, B., 2006, Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi metal contaminated soil, *Environ. Pollut.*, **140**, 114-123.
- Purakayastha, T.J., Viswanath, T., Bhadraray, S., Chhonkar, P.K., Adhikari, P.P., and Suribabu, K., 2008, Phytoextraction of Zinc, Copper, Nickel and Lead from a Contaminated Soil by Different Species of *Brassica*, *Int. J. Phytorem.*, **10**, 61-72.
- Salt, D.E., Smith, R.D., and Raskin, I., 1998, Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **49**, 643-668.
- Saifullah, E.M., Qadir, M., de Caritat, P., Tack, F.M.G., Laing, G.D., and Zia, M.H., 2009, EDTA-assisted Pb phytoextraction, *Chemosphere*, **74**, 1279-1291.
- Shen, Z., Li, X., Wang, C., Chen, H., and Chua, H., 2002, Lead Phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species, *J. Environ. Qual.*, **31**, 1893-1900.
- Sung, K., Kim, K.S., and Park, S., 2013, Enhancing degradation of total petroleum hydrocarbons and uptake of heavy metals in a wetland microcosms planted with *Phragmites communis* by humic acid addition, *Int. J. Phytorem.*, **15**, 536-549.
- USEPA, 1996, Test methods for evaluating solid waste (SW-846).