

황산화미생물을 이용한 새로운 수(水)중 생태독성탐지 방법

A New Methodology of Measuring Water Toxicity using Sulfur Oxidizing Bacteria

오상은
Sang-Eun Oh

강원대학교 바이오자원환경학과
Department of Biological Environment, Kangwon National University

(2010년 5월 14일 접수, 2010년 6월 4일 채택)

ABSTRACT : For the rapid and reliable detection of toxic compounds in water, a novel toxicity detection methodology based on sulfur-oxidizing bacteria (SOB) has been developed. The methodology exploits the ability of SOB to oxidize elemental sulfur to sulfuric acid in the presence of oxygen. The reaction results in an increase in electrical conductivity (EC) and a decrease in pH. Using a synthetic stream water (EC=0.12 mS/cm and pH=7.2), the baseline steady-state EC and pH values were 0.5~1.2 mS/cm and ~2.5 over 7 days of testing at HRT 30 minutes. When nitrite compounds were added to the system, the effluent EC decreased and the pH increased due to the inhibition of the SOB. Optimum HRT was 30 min and this HRT could be decreased by using smaller sulfur particles.

Key Words : Biosensor, Toxicity, Electrical conductivity, Sulfur oxidizing bacteria, Sulfur particles

요약 : 수중의 독성을 탐지하기 위하여 황산화미생물을 이용한 새로운 형태의 생태독성탐지 방법이 연구되었다. 황산화미생물이 산소 존재 하에서 황입자를 산화하여 황산을 만들게 되고 이는 EC의 증가 및 pH의 감소를 가져온다. 독성물질이 들어오면 미생물의 저해로 황산을 적게 만들게 되므로 EC의 증가 정도가 감소하게 된다. 인공하천수(EC= 0.12 mS/cm and pH=7.2)를 이용하여 황산화미생물을 배양하고 반응조를 HRT 30분으로 연속 운전한 결과 유출 인공하천수의 EC=0.5~1.2 mS/cm, pH= ~2.5이었으며 7일 동안 일정하게 유지되었다. 이러한 유입수와 유출수의 EC의 차이는 인공하천수가 독성이 없는 조건에서 일정 속도로 황산을 만들었기 때문이다. 아질산성질소 2 mg/L를 함유한 인공하천수를 넣은 결과 인공하천수 주입 후 1.5시간 경과 후 EC 값이 급격하게 감소하고 pH 값은 상승하여 독성을 쉽게 탐지 가능하였다. 최적의 체류시간은 30분이었으며 이는 황입자의 크기를 줄임으로써 더 짧은 체류시간에서 운전이 가능할 것으로 판단된다.

주제어 : 바이오센서, 독성, 전기전도도, 황산화미생물, 황입자

1. 서론

생태계를 거스르는 산업 발전과 그로 인한 환경오염의 심화로 인간과 주변 환경이 위협을 받으면서, 환경 오염으로 인한 독성 및 위해성의 정확한 환경독성 탐지가 절실히 요구되고 있다. 환경독성탐지 방법으로는 물리화학적 방법을 이용해 정성적, 정량적으로 분석하는 화학적 수질 독성 탐지방법과 독성물질에 대한 생물체의 반응을 이용하는 생물학적 수질독성탐지방법이 있다. 화학적 수질독성탐지 방법의 경우 개별적인 독성물질을 탐지하는 것이기 때문

에 신속하게 대처하기 위하여 여러 예상 독성물질들을 현장에서 빠른 시간 내에 분석하여야 하나 현실적으로 어려움이 있다. 물론 특정 성분 분석을 통하여 정확한 데이터를 얻지만 생물체 혹은 생태계에 대한 위해성을 탐지하기 위하여 다양한 화합물의 복합적이며 직접적인 영향을 반영할 수 있는 생물체만한 도구는 없으며 이러한 이유 때문에 생물체를 이용한 생태독성탐지 장치가 많이 이용되고 있다.^{1,2)}

환경부의 '물환경관리 기본계획'에 따르면, 우리나라는 현재 전체 수계의 위해성 관리체계 강화를 위해 생태독성

†Corresponding author : E-mail : ohsangeun@kangwon.ac.kr TEL : 033-250-6449 FAX : 033-241-6640

통합관리제도 도입을 추진하고 있다.³⁾ 이러한 시도는 유해화학물질의 양적팽창과 화학물질 간 상호작용(예: 상승효과, 타감효과 등), 그리고 먹이 연쇄에 따른 생물 축적의 잠재적 위험성 등을 파악함으로써 기존 이화학적 분석기법의 한계를 극복할 수 있을 것으로 예상된다.⁴⁾ Hernando에 따르면 환경위해성을 평가하기 위하여 기기 분석 자료만을 이용하는 것은 불충분하며 생물체를 이용한 생태독성 평가가 이루어져야 하며 독성물질들의 상승효과가 예상될 수 있으므로 개별 독성물질의 분석보다는 생물체를 이용한 생태독성이 필요하다고 보고하고 있다.^{5,6)}

현재 사용되고 있는 생물학적 독성 모니터링 기술로는 물고기, 물벼룩, 조류, 식물체 조직, 동물세포 외에 발광미생물, 질산화 미생물 등의 생물체를 이용하는 방법이 있으며 각각의 방법들은 나름의 장단점을 가지고 있다.⁷⁾ 미생물은 물고기, 물벼룩 등 고동물에 비하여 독성물질에 더 민감하며 빠른 시간 안에 반응하므로 독성을 탐지하는 이상적인 생물체이다.⁸⁾ 미생물을 이용한 생태독성은 미생물의 성장속도, 호흡율⁹⁾, 발광도¹⁰⁾, 전기전도도¹¹⁾ 변화로부터 탐지가 가능하며 생태독성에 이용되어 왔던 미생물로는 호기성미생물¹²⁾, 발광미생물¹³⁾, 질산화미생물^{2,14)}, 미생물연료전지 내 미생물¹⁵⁾, 철산화미생물¹⁶⁾이 있다.

새로이 황입자를 이용한 생태독성모니터링 방법이 개발되었으며 원리는 다음과 같다. 황산화 미생물이 호기 조건에서 황입자 표면에 붙어 자라며 황산화미생물이 산소를 최종 전자수용체로 이용하여 황입자를 산화시키고 황산염으로 변환시킨다. 따라서 황산염 농도가 증가한다는 것은 황입자에 붙어있는 미생물의 활성도가 있음을 의미하며 독성물질이 있으면 미생물 활성을 잃어 생성 황산염 농도는 감소하게 된다. 이 황산염 이온의 농도를 간편하게 pH 또는 전기전도도(EC)를 이용하여 측정하는 방법이다. 황산화미생물의 황산화 반응식은 다음과 같다.¹⁷⁾



본 연구에서 황산화미생물을 이용하여 생태독성을 탐지할 수 있는지 가능성을 파악하기 위하여 황산화미생물(mixed

culture)의 배양, 연속운전에서 모델 독성물질로 아질산성 질소를 연속으로 주입하여 전기전도도 측정을 통해 독성 탐지 가능성을 파악하였으며, 최적의 반응조 체류시간을 결정하기 위하여 HRT에 따른 pH, 전기전도도(EC), 황산염이온의 변화를 파악하였다.

2. 실험 장치 및 방법

2.1. 인공하천수의 조성

인공하천수는 아래에 나타난 일반적인 미생물 액체 배지를 100배 희석하여 조제하였다. 액체배지는 NaH_2PO_4 4.33 g/L, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 2.69 g/L, NH_4Cl 0.31 g/L, Minerals 12.5 mL/L를 증류수에 넣어 조제하였으며 미네랄의 조성은 증류수에 $MgSO_4$ 3g/L, NTA 1.5, $NaCl$ 1 g/L, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.5 g/L, $ZnCl_2$ 0.13 g/L, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.1 g/L, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.1 g/L, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 g/L, $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ 0.01 g/L, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.01 g/L, H_3BO_3 0.01 g/L, Na_2MoO_4 0.025 g/L, $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ 0.025 g/L, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.024 g/L로 조제하였다.¹⁸⁾ 초순수의 전기전도도 값은 $1 \mu S/cm$ 이며, 한강 상류 및 하류 하천수의 전기전도도는 $60 \sim 1300 \mu S/cm$ 이나, 주로 $100 \sim 300 \mu S/cm$ 의 범위를 보인다. 기존 국내 하천의 알칼리도와 EC 데이터를 근거로 액체 배지를 100배 희석하여 인공하천수로 사용하였다. 인공하천수의 pH와 알칼리도는 7.0 ± 0.2 , 158 mg/L as $CaCO_3$ 이었으며 EC값은 $130 \mu S/cm$ 이었다.

2.2. Sulfur Master Culture Reactor(SMCR)의 운전

1 L 반응조에 2-4 mm 크기의 황입자 500 mL 가량 넣고 상기의 액체배지 500 mL를 부가한 후 반응조에 하수종말처리장의 활성슬러지 20 mL로 식중하였다. 산소 공급을 위하여 에어펌프를 이용하여 연속적으로 폭기하였고 운전온도는 반응조에서 $30^{\circ}C$ 를 유지하였다. 반응조 배지의 pH 감소, EC 증가 및 황산 생성이 확인 된 후부터는 7일에 한번씩 황입자 이외의 용액을 모두 버리고 다시 인공하천수를 넣어주는 반연속식 운전을 하였다. 반응조 내 황산화미생물의 활성 분석은 EC와 pH 변화로 활성을 분석하였다.

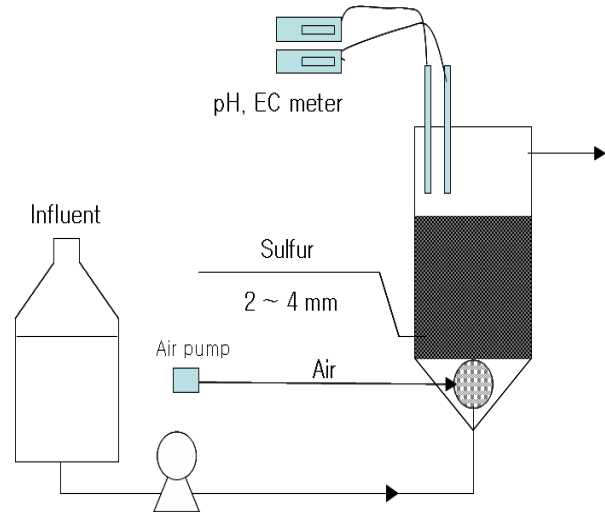


Fig. 1. A Sulfur master culture reactor (SMCR) and schematics of the sulfur toxicity monitoring system.

2.3. 연속식 생태독성 장치의 운전

100 mL 크기의 아크릴 반응조 내에 MCR로부터 취한 황 입자 50 mL를 충전하였다. 반응조 상단에는 pH와 EC 전극을 설치하여 유출 pH와 EC를 측정하였으며 pH와 전기전도도 값은 PLC (programmable logic controller) 및 RS232를 통해 컴퓨터에 실시간으로 저장되어 컴퓨터 모니터에 나타나도록 하였다. 측정 주기는 인위적으로 조절이 가능하도록 하였으며 본 실험에서는 10분으로 맞추어 실험하였다. 반응조 하단으로부터 폭기하여 공기를 연속으로 공급 하였으며, 공기유량은 150 - 250 mL/min이었다. 30°C에서 2일간 회분식으로 배양하였고 이후 연속식 운전을 위해 인공하천수를 Up-flow 방식으로 유입되도록 하였다. 연속운전 초기 HRT는 2~3일간 10시간으로 하였고 반응조가 안정화된 이후, 즉 pH와 EC가 안정화된 이후, HRT 영향 및 독성물질을 함유한 인공하천수를 넣어 생태독성평가를 수행하였다. 독성물질로는 아질산성질소(NaNO_2)를 이용하였으며 인공하천수에 2, 10 mg/L가 되도록 조절하여 유입수로 주입하였다. 여기서 HRT는 공극을 포함한 황입자가 차지하는 부피 50 mL를 유량으로 나누어 계산하였다. 생태독성장치는 30°C 항온배양기 안에서 운전되었다.

2.4. 분석 방법

시료수의 pH는 시료용액 10 mL를 취한 후 pH 전극 (Orion 91-05/06, Thermo, USA)을 이용하여 측정하였고 전기전도도(EC) 측정은 EC 전극(Inlab 737, Mettler Toledo, USA)을 이용하였다. 알칼리도 측정은 수질오염공정시험법의 측정방법을 이용하였고 황산이온 농도는 이온크로마토그래피 (ICS-900, Dionex, USA)를 이용하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 황산염이온 농도에 따른 EC의 변화

전기전도도 값은 증류수에 넣어 준 황산염이온 농도에 비례하여 증가하였고 전기전도도 증가 치로부터 황산염이온의 증가를 간접적으로 예측할 수 있었다(Fig. 2). 버퍼능이 없는 초순수에 1,000 mg/L의 황산을 희석하여 0, 5, 10, 30, 50 mg/L가 되도록 조절한 후 전기전도도를 측정하였다. 그 결과 Fig. 2에서와 같이 전기전도도가 황산농도와 비례하여 증가함을 확인할 수 있었다. 황산농도 1 mg/L 당 전기전도도 8.6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 이 증가하였다. 전기전도도는 용액

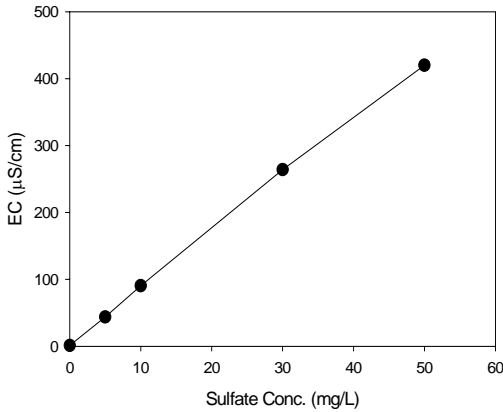


Fig. 2. The relationship between sulfate concentrations and electric conductivity values.

이 전류를 운반할 수 있는 정도를 말하며 용액 중의 이온세기를 신속하게 평가할 수 있는 항목으로서 측정방법이 간편하고, 수치의 오차가 적고, 값의 범위가 크기 때문에¹⁹⁾ 본 연구에서 황산화미생물이 생성하는 황산염이온을 탐지하는데 용이하다.

3.2. 회분식 반응

회분식 실험에서 황산화미생물이 산소 존재하에 황을 산화하여 황산을 생성하므로 EC가 증가하고 pH는 시간에 따라 감소하였다(Fig. 3). 1 L의 반응조에 500 mL를 황입자로 채우고 500 mL의 액체배지를 넣고 하수종말처리장의 활성슬러지 20 mL를 식중독 후 공기로 폭기를 하면서 시간에 따른 pH와 EC값을 측정하였다. 식중 후 50 시간 동안 pH는 7.8에서 3으로 떨어지고 EC 값은 1,500에서 1,800 μS/cm로 서서히 증가함을 알 수 있다. 50시간 이후에는 pH 2-3의 범위에서 pH의 감소하는 정도가 아주 낮았으나 EC값은 시간에 따라 급하게 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 미생물 액체 배지의 알칼리도가 1,580 mg/L as CaCO₃로 상당히 높고 버퍼가 pH 7에 맞게 조제된 용액이므로 초기 pH 3까지 감소하는데 좀 긴 50시간이 걸렸다. 황산화미생물은 낮은 pH를 좋아하는 미생물이므로 pH 3 이하로 감소하고 황산화미생물이 순화되면서 EC 값은 급한 속도로 증가하였다고 판단된다. 대조구로 미생물 접종이 없을 시는 황이 산화가 되지 않아 시간에 따른 EC 및 pH의 변화가 없었다.

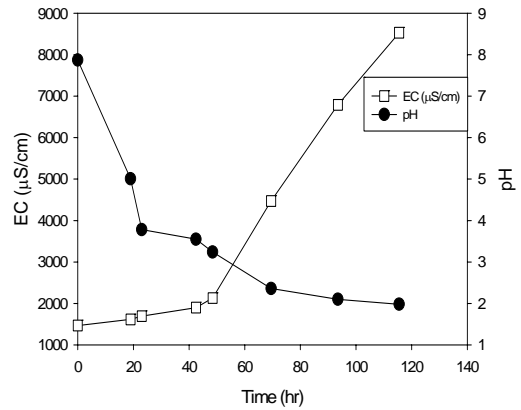


Fig. 3. The change of EC and pH over time in the MCR after the addition of inoculum of aerobic return sludge.

3.3. 연속식 실험

MCR로부터 황입자를 50 mL 취하여 연속독성탐지 장치에 넣은 후 인공하천수를 넣고 회분식으로 운전하였을 때의 pH, EC의 변화를 나타내었다(Fig. 4). 초기 인공하천수의 pH는 7.0이며 알칼리도가 158 mg/L as CaCO₃로서 매우 낮기 때문에 30분 안에 pH가 4.0까지 급격하게 감소하였으며 전기전도도 값은 초기 0.13 mS/cm에서 18시간 이후 13.5 mS/cm까지 선형적으로 증가하였다.

2일간의 회분식 운전 후 연속식으로 독성물질이 없는 인공하천수를 반응조에 HRT 30분으로 7일 가량 연속적

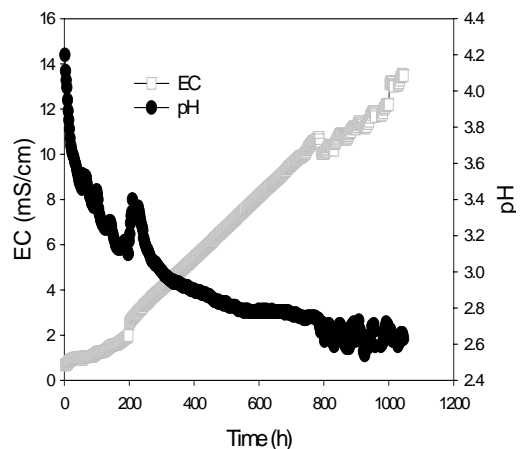


Fig. 4. The pH and EC changes in a batch mode after addition of stream water without toxicity into the continuous sulfur reactor.

으로 유입시킨 결과 pH 2.9, EC 0.76 mS/cm 정도로 일정하게 유지됨을 알 수 있었다(Fig. 5). MCR로부터 황입자를 취하여 연속탐지반응조로 투여시 마다 HRT 30분에서 pH와 EC는 일정하게 안정화 되었으나 안정화된 pH와 EC 값은 (0.5~1.2 mS/cm) 달랐으며, 이는 황입자의 크기 및 표면적에 따른 바이오매스의 양의 차이에 기인한 것으로 보인다. 그러나 독성물질을 검출하기 위해서는 독성물질이 없을 때, 시간에 따라 pH와 EC 값이 일정하게 유지되면 되므로 독성 검출에는 문제가 없을 것으로 판단된다.

반응조 내에 유입되는 물 시료에 독성물질이 있을 시, 독성물질에 의해 황산화미생물은 활성이 떨어져 생성되는 황산의 농도는 낮아지게 되고, 이에 따라 전기전도도 값 또한 일정하게 유지되던 EC값 보다 감소하게 된다. 즉, 물 시료의 전기전도도를 측정함으로써 황산의 농도를 예측할 수 있고, EC의 감소로 부터 물 시료에 독성물질이 유입되었는지에 대한 여부를 확인할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 다음 실험에서 실제 아질산성질소 2 mg/L를 조제하여 연속으로 주입하는 실험을 실시하였다.

연속생태독성탐지 장치에 체류시간 30분으로 독성물질이 없는 인공하천수를 연속으로 주입하다가 5시간에 아질산성질소 2 mg/L이 되도록 조제된 인공하천수를 연속으로 주입하였다(Fig. 6). 그 결과 아질산성질소 함유 인공하천수 주입 1.5시간 경과 후 EC 값이 급격하게 감소함을 알 수 있었으며 동시에 pH 값이 상승하였다. 이는 황산화

실제 독성물질의 주입

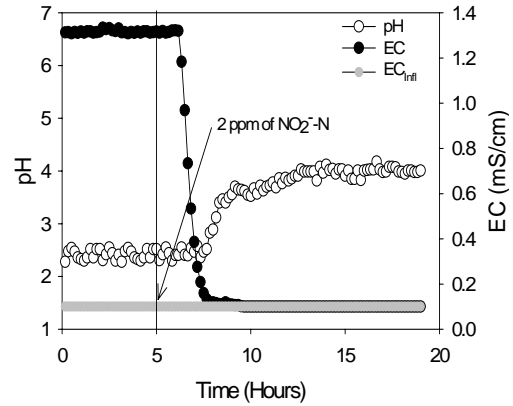


Fig. 6. pH and EC changes after addition of 2 mg/L of NO_2^- -N at 5 hr in the continuous operation (Influent EC=0.13 mS/cm, pH=7.0)

미생물이 아질산성질소에 의해 저해를 받아 생성되는 황산의 생성이 줄어들었기 때문이다. 아질산성질소 함유 인공하천수를 주입하자마자 EC 값이 감소하지 않은 이유는 주입전 반응조에 독성이 없는 인공하천수로 채워져 있었으며 독성물질이 반응조로 유입 되고 희석되기 때문에 감지를 못하다가 일정시간이 경과 후 일정농도가 되자 독성이 감지된 것으로 판단된다. 고농도 10 mg/L의 아질산성질소를 주입한 경우는 10분 이내에 독성이 감지되었다 (data not shown). 빠른 시간 안에 독성을 파악하기 위해서는 HRT를 줄이는 방법이 있을 수 있지만 체류시간이 짧아질수록 유입과 유출 EC의 변화가 적어지므로 무한정 짧

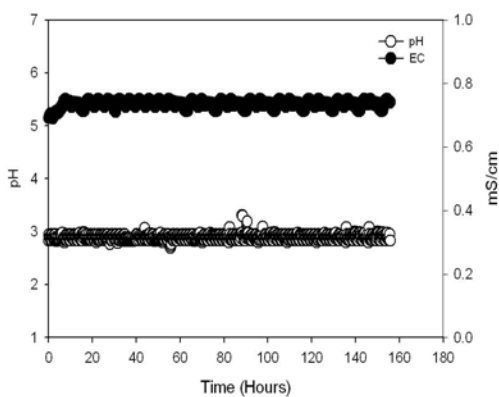


Fig. 5. Stable EC and pH in the continuous reactor at an HRT of 30 min (influent EC=0.13 mS/cm).

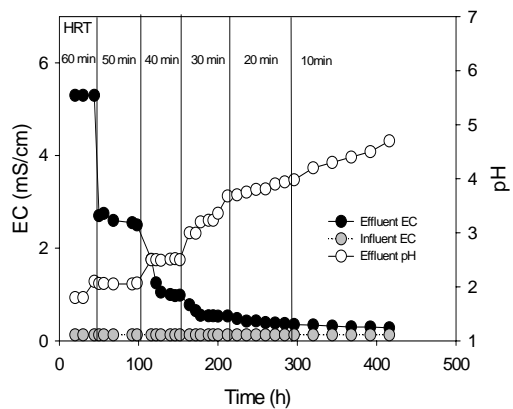


Fig. 7. The effect of HRT on EC and pH in the continuous reactor (Influent EC=0.13 mS/cm, pH =7.0).

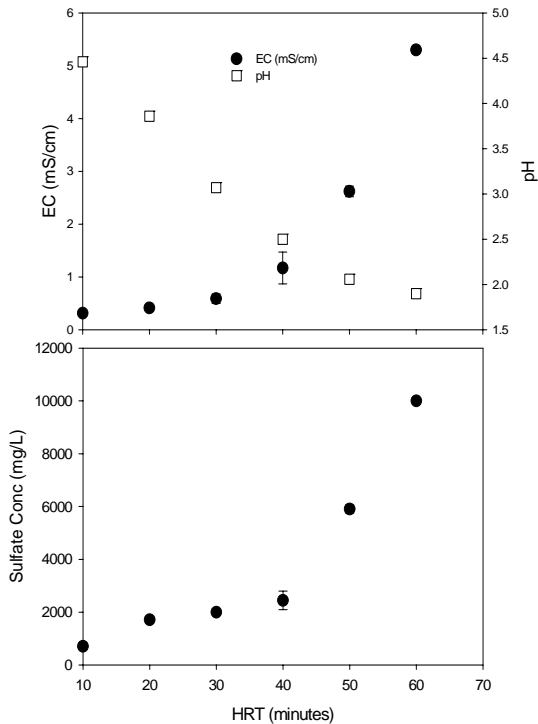


Fig. 8. The effect of HRT on sulfate concentration in the continuous reactor.

게 운전할 수는 없으나 황입자 크기를 작게 하여 운전하는 방법을 통해 체류시간을 짧게 유지할 수 있을 것으로 판단된다.

반응조 체류시간을 짧게 할수록 독성물질 탐지가 빠른 시간 내에 가능하다. 따라서 체류시간에 따른 EC, pH의 변화를 확인하기 위하여 연속식 생태독성장치에서 반응조의 체류시간(HRT)을 60분, 50분, 40분, 30분, 20분, 10분 순으로 변화를 주며 운전 하였다. 각 HRT에서 2-3일 동안 운전하였으며, 유출수의 pH 및 전기전도도, 황산염 이온 값을 측정하였다(Fig. 7). 유입수의 pH와 EC는 7.0, 0.13 mS/cm로 일정하게 유지하였다. 체류시간을 60분에서 10분으로 줄어나감에 따라 유출 pH 값은 1.8에 4.8로 증가하였고 EC 값은 5.5에서 0.3 mS/cm로 감소하였다. 체류시간을 60분으로 하였을 때 유출수의 EC값은 5.3 mS/cm로 유입수에 비하여 아주 높았으며(유입 EC=0.13 mS/cm) 40시간 가량 동안 큰 변화없이 안정적인 EC 값을 나타내었다. Fig. 7에 의하면 체류시간 30분만으로도 충분히 유입수와 유출수의 EC 값의 변화를 뚜렷하게 확인이 가능할 것

으로 사료된다.

각 체류시간에서 황산염이온과 EC 값은 비례적인 관계를 보였으며 pH와 EC 값은 매우 안정적으로 측정이 되었다(Fig. 8). 황산염 이온 농도의 경우는 HRT를 60분으로 하였을 때 아주 높은 황산염 이온농도(10,000 mg/L)를 보였다. 각 HRT에서 안정적으로 황산염이온농도의 변화는 없었으며 HRT 값을 줄임에 따라 황산염이온 농도는 감소하였다.

4. 결론

황산화미생물을 이용한 생태독성 탐지 가능성을 탐색하기 위하여 황산화미생물을 배양하고 연속식 운전을 통하여 실제 독성물질을 넣어 전기전도도 변화로부터 독성을 탐지하였으며 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 전기전도도가 황산농도와 비례하여 증가함을 확인할 수 있었다. 황산농도 1 mg/L 당 전기전도도 8.6 μ S/cm이 증가하였고 수중의 이온의 농도는 거의 비슷하므로 EC변화 측정만을 통해 대략적인 황산염이온의 증가 농도를 파악할 수 있다.
- 2) 연속 운전을 통하여 매우 안정적인 EC, pH baseline을 나타내었다.
- 3) 연속탐지 장치에 아질산성질소 2 mg/L를 함유한 인공하천수를 넣은 결과 인공하천수 주입 후 1.5시간 경과 후 EC 값이 급격하게 감소하고 pH 값은 상승하여 독성을 쉽게 탐지 가능하였다.
- 4) 최적의 체류시간은 30분이었으며 이는 황입자의 크기를 줄임으로써 더 짧은 체류시간에서 운전이 가능할 것으로 판단되며 이에 따라 독성의 탐지 시간 또한 짧아질 것이다.

또한, 이러한 새로운 개념의 황산화미생물을 이용한 생태독성탐지 장치의 장점을 열거한다면 다음과 같다. pH가 낮

은 조건에서 독성을 판정하기 때문에 중금속들의 complex 형성이 적어져 아주 낮은 농도의 독성을 측정 가능할 것으로 판단된다. 카드뮴의 경우 5 ppb 까지 탐지가 가능하였다 (data not shown). 또한 하천수를 일정속도로 유입시키고 유입, 유출수의 pH와 EC를 측정하므로 운전이 간편하며 측정오류가 거의 없으며, 수계에 흔히 존재하는 황산화미생물을 이용하며, 미생물이 수계로 유출되더라도 생태계에 영향을 주지 않으며, pH, EC meter를 주기적으로 보정할 필요 없다는 장점을 가지고 있다.

KSEE

사 사

이 논문은 환경부 수생태복원사업단의 지원을 받아 수행된 연구결과이며 기기분석은 강원대학교 농업생명과학연구원의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. Rogers, K. R., Williams, L. R., "Biosensors for environmental monitoring: a regulatory perspective," *Trends in Analytical Chemistry*, **14**(7) 289-294(1995).
2. Eilersen, A.M., Arvin, E., and Henze, M., "Monitoring toxicity of industrial wastewater and specific chemicals to a green alga, nitrifying bacteria and an aquatic bacterium," *Water Sci. Technol.*, **50**(6), 277-283(2004).
3. 환경부. "물환경관리 기본계획 4대강 대권역 수질보전 기본계획," ('06-'15)(2006).
4. 남선화, 양창용, 안윤주, 이재관. "국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구 : (I) 어류," *Korean J. Limnol.*, **40**(2), 173~183(2007).
5. Hernando, M. D., Fernandez-Alba, A. R., Tauler, R., Barcelo, D., "Toxicity assays applied to wastewater treatment," *Talanta*, **65**(3), 58-366(2005).
6. Eaton, J. G., "Chronic toxicity of a copper, cadmium and zinc mixture to the fathead minnow (*Pimephales promelas rafinesque*)," *Water Res.*, **7**, 1723-1736(1973).
7. Palma, P., Palma, V. L., Matos, C., Fernandes, R. M., Bohn, A.,

- Soares, A.M.V.M., and Barbosa, I. R., "Effects of atrazine and endosulfan sulphate on the ecdysteroid system of *Daphniamagna*," *Chemosphere*, **74**, 676-681(2009).
8. Hsieh, C.-Y., Tsai, M.-H., Ryan, D.K., and Pancorbo, O. C., "Toxicity of the 13 priority pollutant metals to *Vibrio fischeri* in the Microtox? chronic toxicity test," *Sci. Total Environ*, **320**, 37-50(2004).
9. Tzoris, A., Fernandez-Perez, V., and Hall, E. A. H., "Direct toxicity assessment with a mini portable respirometer," *Sens. Actuators, B: Chemical*, **105**, 39-49(2005).
10. Gu, M. B., and Gil, G. C., "A multi-channel continuous toxicity monitoring system using recombinant bioluminescent bacteria for classification of toxicity," *Biosens. Bioelectron.*, **16**, 661-666(2001).
11. Liu, Y., Qin, Z., Wu, X., and Jiang, H., "Immune-biosensor for aflatoxin B1 based bio-electrocatalytic reaction on micro-comb electrode," *Biochemi. Eng. J.*, **32**, 211-217 (2006).
12. Kong, Z., Vanrolleghem, P. A., and Verstraete, W., "An activated sludge-based biosensor for rapid IC50 estimation and on-line toxicity monitoring," *Biosens. Bioelectron.*, **8**, 49-58 (1993).
13. Steinberg, S. M., Poziomek, E. J., Engelmann, W. H., and Rogers, K. R., "A review of environmental applications of bioluminescence measurements," *Chemosphere*, **30**, 2155-2197 (1995).
14. Inui, T., Tanaka, Y., Okayasu, Y., and Tanaka, H., "Application of toxicity monitor using nitrifying bacteria biosensor to sewerage systems," *Water Sci. Technol*, **45**(4-5), 271-278(2002).
15. Tront, J. M., Fortner, J. D., Pl?ze, M., Hughes, J. B., and Puzrin, A. M., "Microbial fuel cell biosensor for in situ assessment of microbial activity," *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 586-590 (2008).
16. Zlatev, R., Magnin, J.-P., Ozil, P., and Stoytcheva, M., "Bacterial sensors based on *Acidithiobacillus ferrooxidans*: Part I. Fe²⁺ and S₂O₃²⁻ determination," *Biosens. Bioelectron.*, **21**, 1493-1500 (2006).
17. Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J., Brock biology of microorganisms, 10th ed., Pearson Education Inc., New York(2003).

18. Liu, H. and Logan, B. E., "Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane," *Environ. Sci.*

Technol. **38**(14), 4040-4046(2004).

19. Lake Access Home Page, <http://lakeaccess.org/russ/conductivity.htm>(2010).