

Research Article

Open Access

## 다양한 질소화합물에 대한 황산화미생물 바이오센서의 응답 특성

황지훈,<sup>1</sup> 강우창,<sup>1</sup> 신범수,<sup>2</sup> 채규정,<sup>3\*\*</sup> 오상은<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 바이오자원환경학과, <sup>2</sup>강원대학교 바이오시스템공학과, <sup>3</sup>한국해양대학교 환경공학과

### Toxicity Response of Biosensor Using Sulfur-Oxidizing Bacteria to Various Nitrogenous Compounds

Ji-Hoon Hwang,<sup>1</sup> Woo-Chang Kang,<sup>1</sup> Beom-Soo Shin,<sup>2</sup> Kyu-Jung Chae<sup>3\*</sup> and Sang-Eun Oh<sup>1\*\*</sup> (<sup>1</sup>Department of Biological Environment, Kangwon national university, <sup>2</sup>Department of Biosystems Engineering, Kangwon national university, <sup>3</sup>Department of Environmental Engineering, Korea maritime and ocean university)

Received: 29 October 2014 / Revised: 24 November 2014 / Accepted: 8 December 2014

Copyright © 2014 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

#### Abstract

**BACKGROUND:** Run off from agricultural sites contaminates water bodies with nitrogen which is toxic and causes eutrophication when excessively accumulated. Hence, the interest in monitoring nitrogen toxicity in aquatic environment has been continuously increasing.

**METHODS AND RESULTS:** To detect a real time toxicity of various nitrogen compounds, we applied biomonitoring method (biosensor) based on sulfur-oxidizing bacteria (SOB). The toxicity biomonitoring test was conducted in semi-continuous mode in a reactor filled with sulfur particles (2~4 mm diameter) under aerobic condition. Relative toxicity was simply determined by measuring the change in electrical conductivity (EC). Various nitrogenous compounds at different concentrations were evaluated as a potential toxic substance. Nitrite was found to be very toxic to SOB with a 90% inhibition even when the concentration

as low as 3 mg/L. However, nitrate and ammonia have any inhibitory effect on SOB's activity.

**CONCLUSION:** The biosensor based on SOB responded sensitively to nitrite even at substantially low concentrations. Therefore, it can be used as a reliable biological alarm system for rapid detection of contaminants due to its simplicity and sensitive nature.

**Key words:** Biosensor, Electrical Conductivity, Nitrogen, Sulfur Oxidizing Bacteria, Toxicity Monitoring System

#### 서론

과거의 수질오염은 주로 사람이나 가축의 배설물에서 나온 병원성 미생물 또는 기생충 등에 의한 수인성 전염병이 주요 관심사였지만, 최근에는 유기물, 무기영양염, 중금속 및 화학물질의 유입으로 인한 수질오염이 더 중요하게 대두되고 있다. 부영양화는 질소, 인 및 유기영양물질의 수계로의 유입으로 인해 식물성플랑크톤 등이 대량번식 하는 현상을 말한다. 부영양화가 발생할 경우 수질의 악화로 이취미장에 및 응집장애, 정수장의 여과지 폐쇄 등 다양한 문제가 발생되어 수자원으로서의 이용 및 공급에 막대한 영향을 미치고 있다. 질소와 인은 생물의 생장에 필요한 필수영양소이지만 과다하게 존재할 경우 생태계에 악영향을 끼친다 (Kim *et al*, 2002).

\*교신저자(corresponding author): Sang-Eun Oh  
Phone: +82-33-250-4669; Fax: +82-33-243-4669;  
E-mail: ohsangeun@kangwon.ac.kr

\*\*공동교신저자(Co-corresponding author): Kyu-Jung Chae  
Phone: +82-51-410-4429; Fax: +82-51-410-4415;  
E-mail: ckjdream@kmou.ac.kr

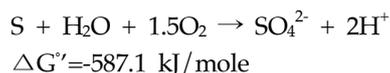
수계의 질소 농도 증가는 지질학적인 요인, 인공비료, 축산폐수 및 하수관거의 불량과 같은 다양한 요인에 기인한다 (Min and Kim, 2007).

환경부의 2013년 지하수 수질측정망 운영결과에 따르면, 총 조사지역 4,952개 지점 중 6.5%인 322개소가 수질기준을 초과하였으며, 초과항목 355개 중 질산성 질소의 기준 초과는 51개 지점(14.4%)으로 두 번째로 높은 수치를 나타냈다. 특히 질산이온과 아질산이온은 발암물질로 의심되고 있는 N-nitroso compounds를 형성할 가능성이 있기 때문에 안전한 수계 유지를 위해서도 지속적인 모니터링이 필요하다 (환경부, 2013).

자연계의 질소의 순환과정 중 유기성 질소인 단백질과 그 분해산물인 폴리펩티드 등은 수중에 존재하고 있는 미생물에 의해 생물화학적 또는 화학적으로 분해되어 암모니아성 질소를 생성한다. 또한 질소비료, 가축분뇨 등에 포함된 유기성 질소 및 무기성 질소도 분해과정을 거쳐 암모니아성 질소화된다. 암모니아성 질소는 질화균에 의해서 아질산성 질소( $\text{NO}_2^-$ )로 산화되고, 추가적인 산화과정으로 최종산물인 질산성 질소( $\text{NO}_3^-$ )가 생성된다 (Choi *et al.*, 2014). 질산성 질소가 유아의 체내에 흡수되었을 때 아질산성 질소로 환원되며, 이때 생성된 아질산성 질소가 인체 내 헤모글로빈의 작용을 방해하여 methemoglobinemia를 유발시킬 수 있고 체내에서 발암성물질인 나이트로아민(nitroamine)으로 환원되어 암을 유발할 수 있다 (Kim *et al.*, 2014; Duncan *et al.*, 1997).

산업 폐수는 중금속 등 다양한 유해물질을 포함하는 경우가 많아 이들의 수계 유입에 따른 피해가 점점 증가하고 있어 오염물질 유입 시 정확한 환경독성 탐지가 절실히 요구된다 (Oh *et al.*, 2006). 현재까지 다양한 독성모니터링 기법이 있으나 보다 보편적인 활용을 위해서는 미지의 독성물질에 대한 반응성이 우수할 뿐만 아니라 복잡한 장치구성 없이 쉽게 독성 판별이 가능한 기술개발이 필요하다. 기존의 물벼룩, 물고기와 같은 거대 종을 이용한 생물경보장치는 개체수가 커서 먹이를 자주 공급해줘야 할 뿐만 아니라 독성물질 유입으로 피해를 받은 이후에는 다음 사용을 위해 새로운 개체로 교체해 주어야 하는 번거로움이 있다.

따라서 본 연구는 황산화미생물(*Thiobacillus caldus*)을 이용하여 간단하면서도 검출특성이 우수한 독성모니터링시스템을 구현하기 위해 수행되었다. 아래 식에 나타난바와 같이 황산화미생물은 호기성 조건에서 최종전자수용체로 산소를 이용하여 황을 산화시키며 그 부산물로 황산염이온을 생성한다(Oh *et al.*, 2011). 즉, 황산화미생물은 황입자를 에너지원으로, 탄소원으로는 이산화탄소를 이용하여 호기 조건에서 황입자 표면에 붙어 생물막을 형성하며 자라게 된다.



따라서 황산화미생물의 활성이 좋을 때에는 황산염이온의

생성량은 증가한 반면 독성물질의 유입 시에는 황산화미생물의 활성이 감소하여 황산염이온의 생성량이 줄어들게 된다. 황산염이온의 농도는 이온크로마토그래피법을 이용해 측정가능하지만 분석이 복잡하고 많은 시간이 소요되어 신속성이 중요한 독성모니터링개발에는 사용하기 어렵다. 따라서, 본 연구에서는 황산화미생물의 독성물질에 대한 반응특성을 알아보기 위해 황산염이온의 직접 측정보다는 단시간에 측정이 가능한 전기전도도(electrical conductivity, EC)를 평가 지표로 이용하였다. 즉 독성물질에 반응하는 황산화미생물의 활성 변화에 의해 유발되는 황산염의 농도 변화를 전기전도도로 신속히 측정함으로써 독성물질 존재 유무를 판별할 수 있다. 게다가 황산화미생물의 부착 여재로 사용되는 황입자는 거의 반영구적으로 사용될 수 있기 때문에 기존의 거대종을 이용하는 생물경보장치에서 발생하는 먹이의 빈번한 공급과 같은 번거로움이 없는 장점이 있다.

본 실험에서는 수계로 다량 유입되었을 때 부영화와 같은 많은 문제를 유발하는 다양한 형태의 질소성분( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ )을 황산화균 생물경보장치를 통해 탐지가능성을 평가해보았다. 아울러 질소화합물 종류에 따른 황산화균의 응답특성과 검출한계 도출을 통해 범용 생물독성 모니터링 장치로서의 가능성을 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 공시 재료

황산화미생물이용 생물독성 모니터링장치 (바이오센서) 구성

황산화미생물(*Thiobacillus caldus*)을 이용한 생물독성 모니터링 장치는 유입수 공급펌프, 황산화미생물이 자라는 황반응조, 전기전도도 측정장치 및 데이터 모니터링 장치로 구성된다(Fig. 1a). 유입수는 정량펌프를 통해 황으로 채워진 황반응조에 유입 된다. 황입자가 들어 있는 반응조에 최종전자수용체인 산소 공급을 위해 공기가 주입이 되고 반응조 상단에 위치한 측정부에 전기전도도(EC)전극을 설치하여 유출수의 전기전도도를 측정하였다. 측정된 전기전도도 값은 컴퓨터를 통해 실시간으로 저장되고 독성도가 모니터링 되도록 하였다.

### 황반응조

황산화균의 성장을 위한 황반응조는 Polycarbonate로 제작되었으며 황반응부(D 3.5 cm ×W 3.5 cm ×H 9.2 cm)와 측정부(D 2.5 cm ×W 2.5 cm H 5.5 cm)가 있는 사각기둥 모양으로 반응부와 측정부의 유효용적을 각각 73.5 mL와 12.5 mL로 유지하였다(Fig. 1b). 반응조 하단에는 산기관을 설치하여 공기가 골고루 퍼지도록 하였고 에어펌프를 통한 공기의 유량은 100 mL/min 으로 주입하였다. 직경 2~4 mm의 황입자를 60 mL 반응조에 채운 후 상단에 cube형태의 커버를 두어 물과 황의 부피비를 낮추고 측정부까지 완전혼

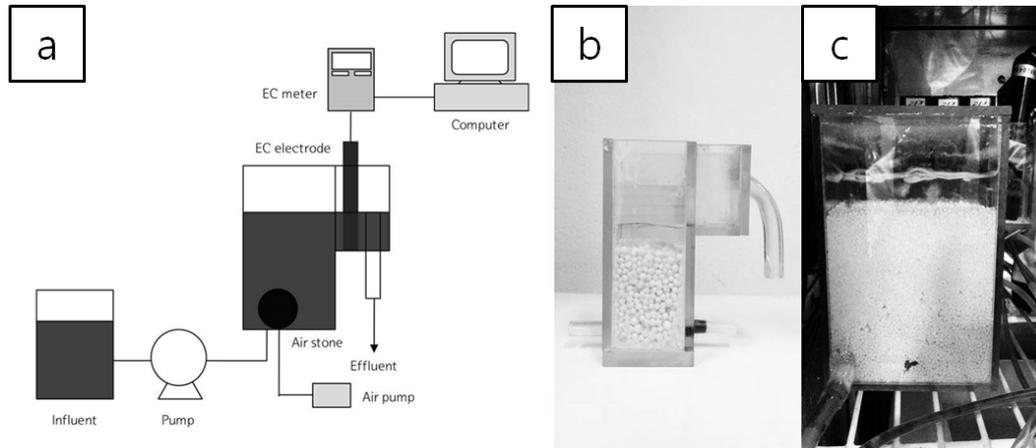


Fig. 1. Schematic diagram of a toxicity biomonitoring system using sulfur oxidizing bacteria (a), sulfur reactor filled with 2-4 mm sulfur particles (b), and MCR reactor (c).

합이 되도록 하였다.

#### Master Culture Reactor 운전

Master Culture Reactor(MCR)은 일정한 활성을 가지는 황산화미생물의 생물막이 형성된 황입자의 원활한 공급을 위해 운전되었다(Fig. 1c). MCR 반응조는 반응부(D 6.0 cm × W 6.0 cm × H 12.5 cm)와 측정부(D 2.5 cm × W 2.5 cm × H 5.5 cm)가 있는 사각기둥 모양으로, 유효용적은 각각 반응부 324 mL 측정부 12.5 mL를 유지하게 하였다. MCR의 운전은 2~4 mm 체를 이용하여 선별한 황입자 250 mL를 반응부에 채운 뒤, 포기와 활성탄(200 mg/L)으로 탈염소한 수돗물을 100 mL/min의 유량으로 10분간 자동으로 유입되게 하였으며 반응시간은 2시간으로 반연속식으로 운전되었다. MCR 반응조는 포기장치를 설치하여 안정적으로 황산화 미생물의 활성유지에 필요한 산소공급이 가능하도록 하였고 4~5°C 항온조에서 운전하였다. MCR 반응조내의 황산화미생물 활성 평가를 위해 1분 간격으로 전기전도도를 측정하여 Data logger를 통해 컴퓨터에 기록, 저장되도록 구성하였다 (Oh, 2010). 본 실험에 사용된 수돗물의 성상은 Table 1과 같다.

#### 실험방법

생물독성 평가는 MCR로부터 공급된 황산화균 생물막이 형성된 황입자로 채워진 황반응조에 탈염소한 수돗물을 70 mL/min 로 0.5분간 유입시키고, 독성물질을 주입하여 30분 동안 반응시키는 반연속식 운전으로 실험을 수행하였다. 생물독성 평가를 위한 대상으로는 아질산성 질소, 질산성 질소, 암모니아성 질소를 이용하였다. 대상 물질 각각의 농도는 아질산성 질소 1, 3, 5, 10 mg/L, 질산성 질소 10, 20, 30, 70

mg/L, 암모니아성 질소 5, 10, 20, 50 mg/L로 주입하였다. 질산성질소와 암모니아성 질소는 아질산성 질소와 같은 주입농도 조건에서는 전기전도도 값의 변화가 미미하여 주입농도를 높여서 실험하였다. 독성물질 존재 유무에 따른 독성 정도는 황산화미생물이 황을 산화시켜 생성된 황산염이온의 양을 전기전도도로 측정하여 독성도 계산식을 이용하여 평가하였다.

염소이온에 의한 독성유발 효과를 차단하기 위해 모든 실험의 희석수 및 유입시료는 공기폭기와 활성탄으로 탈염소한 수돗물을 사용하였다. 개별 농도에 대한 실험종료 후 다른 농도에 대한 평가는 독성물질에 노출되지 않은 신선한 황입자를 MCR 배양조에서 분취하여 황반응조에 주입하고 12시간 이상 반응시킨 뒤 실험을 진행하였다.

#### 독성도 계산식

독성도는 다음과 같은 식에 의해 계산되어졌다.

$$\text{Toxicity}(\%) = \left(1 - \frac{\text{EC}_{\text{slope},t}}{\text{EC}_{\text{slope}}}\right) \times 100$$

when Toxicity < 0%, Toxicity = 0%

EC<sub>slope,t</sub> : Increasing EC slope at time t

EC<sub>slope</sub> : Increasing EC slope at toxicity 0

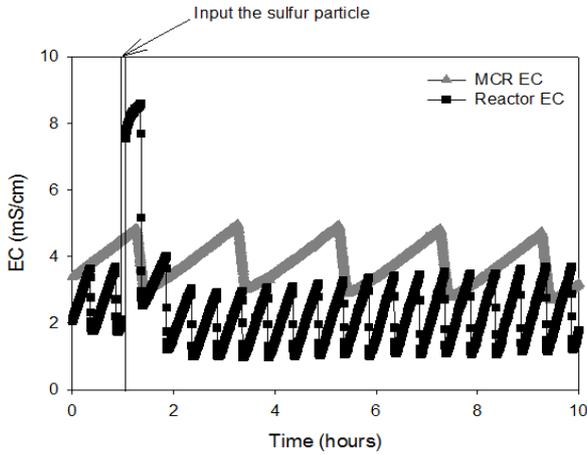
#### 결과 및 고찰

##### Master Culture Reactor과 황반응조의 활성도 검증

MCR과 황반응조에 투입된 황입자에서 자라는 황산화미생물의 활성도 검증은 다양한 독성물질을 이용한 평가를 위

Table 1. Characteristics of dechlorinated tap water used in this study

pH	EC (μS/cm)	Cl <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)
7.11	99.2	5.9834	N.A.	1.2823	0.0972	13.381	0.159



**Fig. 2. Electrical conductivity (EC) of MCR and sulfur particle packed reactor under repeated batch injection of tap water.**

해 필수적으로 요구된다. 따라서 MCR과 황반응조의 활성은 조건에 따라 전기전도도 반응 양상을 평가함으로써 검증하였다. 독성물질이 없는 수돗물(Table 1)을 이용해 반면속식으로 MCR을 운전한 결과 유입 초기 전기전도도 3.0 mS/cm에서 황산화미생물의 활성으로 생성된 황산염이온에 의해 전기전도도 값이 1.5시간 반응 후 약 5.0 mS/cm까지 증가하였다(Fig. 2). 이후 독성물질이 포함되어 있지 않은 수돗물이 다시 유입되면 희석효과에 의해 전기전도도 값이 약 3.0 mS/cm으로 내려갔다가 다시 황산화미생물에 의한 황산염 생성으로 5.0 mS/cm까지 상승하는 패턴이 10시간동안 반복되었다. MCR의 황입자를 황반응조로 투입하였을 경우 지체시간 없이 전기전도도 값이 증가하는 것을 알 수 있고, 수돗물의 유입에 대응하여 전기전도도 값이 1.0~3.5 mS/cm의 범위 안에서 상승과 하강을 반복 하였다. 이와 같은 안정적인 전기전도도 값의 패턴 유지는 투입된 황입자에 자라는 황산화미생물이 안정화되어 있음을 의미한다.

**황산화미생물 바이오센서의 아질산성 질소에 대한 응답성**

황산화미생물 바이오센서는 미량의 아질산성 질소에 대해서도 매우 신속하고 정확한 검출이 가능한 것으로 나타났다. 아질산성 질소의 농도에 따른 황반응조의 전기전도도 변화를 평가하기 위해 탈염소 수돗물로 아질산성 질소 농도가 1, 3, 5, 10 mg/L가 되도록 조제하여 정상상태의 황반응조에 유입시켰다. 정상적인 상태에서 황반응조의 전기전도도 값은 2~3.5 mS/cm 범위 내에서 안정적으로 유지되었다. 반면 아질산성 질소 10 mg/L가 유입된 경우 황산화균의 활성저하에 의해 즉시 전기전도도 값이 감소하였으며 4시간 만에 유입수의 전기전도도 값인 0.1 mS/cm까지 떨어졌다(Fig. 3). 아질산성 질소 3, 5 mg/L를 유입한 경우도 10 mg/L를 유입하였을 때와 마찬가지로 전기전도도 값이 감소하였으며 전기전도도 변화를 독성도로 계산한 결과 유입 후 약 30분 안에 85% 이상의 독성도가 계산되었다. 그리고 아질산성 질소 농도가 1 mg/L 인 경우에는 약 10% 정도의 독성도를 보였다.

본 결과를 통해 황산화미생물이 적용된 바이오센서는 1 mg/L 수준의 저농도 아질산성 질소에 대해서도 신속하게 유입 여부를 판단할 수 있는 것으로 나타났다.

아질산성 질소는 유동성 환경오염지표로서 주로 분뇨, 하수 등의 혼입에 의한 암모니아성 질소의 질산화과정에서 발생하여 헤모글로빈에 산소 결합을 방해하면서 청색증 등을 일으키는 유독한 물질이지만 신속한 분석이 어렵다. 우리나라의 경우 아질산성 질소는 먹는물 수질기준에 포함되어 있지는 않지만, WHO 3 mg/L, 미국 1 mg/L, 영국 0.1 mg/L, 호주 3 mg/L, 독일 mg/L, 프랑스 0.1 mg/L 등 해외에서는 아질산성 질소를 먹는물 수질기준으로 설정하여 철저히 관리하고 있어 우리나라도 곧 이에 대한 관리가 새롭게 대두될 것으로 보인다 (NIER, 2000). 현재, 아질산성 질소의 분석방법으로는 습식분석법과 이온크로마토그래피법이 개발되어 있으나 습식분석법의 경우 전처리 과정이 복잡하여 실험자가 숙련되지 못한 경우 오차가 상당히 크며 분석시간 또한 오래 걸리는 한계가 있다. 반면에 이온크로마토그래피법은 소량의 시료만으로도 재현성 있는 결과를 얻을 수 있지만 장비가 고가이기 때문에 운영에 상당한 어려움이 있다. 또한 최근에는 비색법을 이용한 키트가 제작되어 사용되어지고 있는데 비색법의 특성상 실험자마다 개인적인 오차의 발생 요인을 무시할 수 없다(Lee *et al.*, 2001). 하지만 황산화미생물을 이용한 온라인 독성탐지장치의 경우 3 mg/L 정도의 낮은 농도에서도 독성탐지가 가능하며 자동으로 유입수가 유입되고 독성여부가 측정되는 등 간단하고 쉬운 방법으로 신속하게 수계 내 독성을 탐지할 수가 있는 장점이 있다. 따라서 수계 내 아질산성 질소와 같은 독성물질 유입 여부를 판단하고 모니터링하는 기술로 타 방법에 비해 많은 효용성이 있을 것으로 사료된다.

생물독성탐지 장치의 경우 독성물질 유입 이후 독성물질이 제거 되었을 때는 빠른 시간에 성능이 회복되어 다음 분석을 위한 준비가 되어야 한다. 본 연구에 사용된 황산화미생물 바이오센서는 아질산성 질소에 의한 미생물 활성 저하 후 독성이 없는 수돗물을 주입했을 때는 황산화 반응이 10시간 이내에 다시 회복되는 것을 볼 수 있다. 그러나 Cr<sup>6+</sup> 2 mg/L를 주입했을 경우에는 독성물질에 의해 미생물의 활성이 저해 된 후 다시 수돗물을 주입하더라도 24시간 이내에 다시 회복하는 모습을 확인할 수가 없었다 (Fig. 4). 이는 중금속의 독성이 매우 커서 한번 피해를 받은 황산화미생물이 다시 활성을 회복하는데 상대적으로 긴 시간이 필요하기 때문이다. 아질산성 질소와 중금속 뿐만아니라 농경지에서 수계로 유출 가능성이 높은 농약에 대해서도 황산화미생물은 민감하게 반응하는 것으로 나타났다 (Data were not shown). 따라서 황산화미생물을 이용한 생물경보장치는 다양한 종류의 독성물질에 대해 응답성이 뛰어나기 때문에 범용 생물경보장치로 활용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 황산화미생물의 주요 활성 평가지표로 전기전도를 고려하였으나, 황산염 발생에 따른 pH감소 경향 역시 지표로 이용이 가능할 것으로 생각되었다. 그러나 전기전

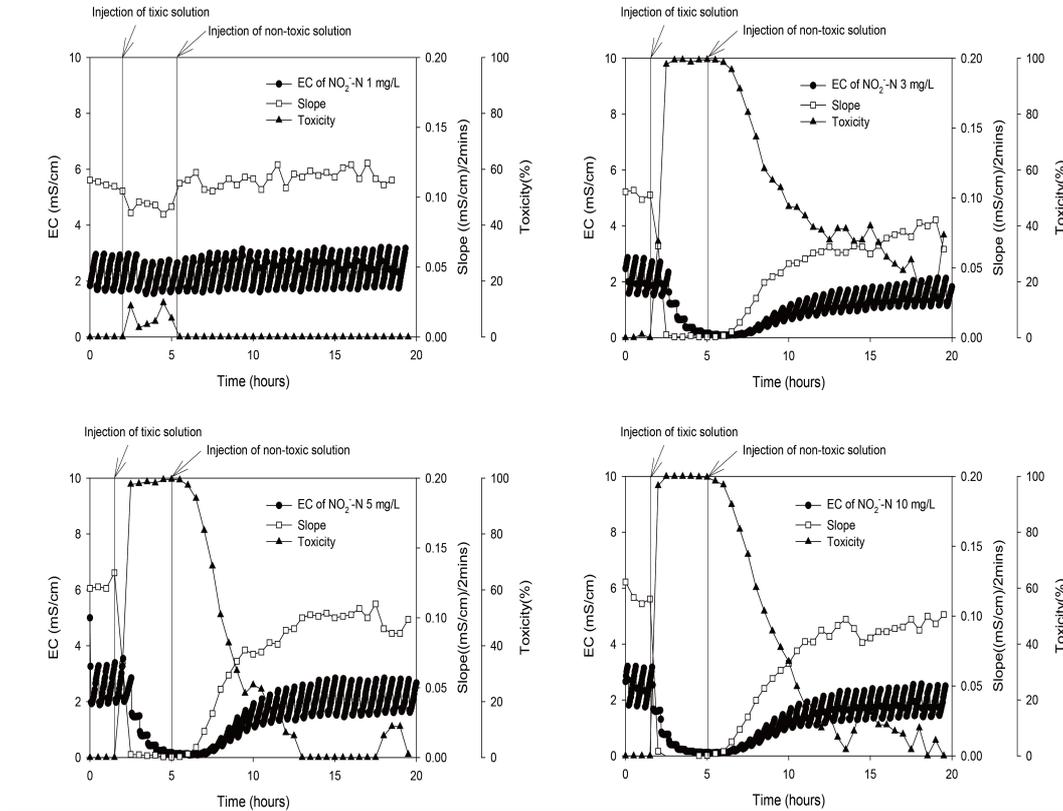


Fig. 3. Electrical conductivity and toxicity response to varying nitrite concentrations in the sulfur particle packed reactor.

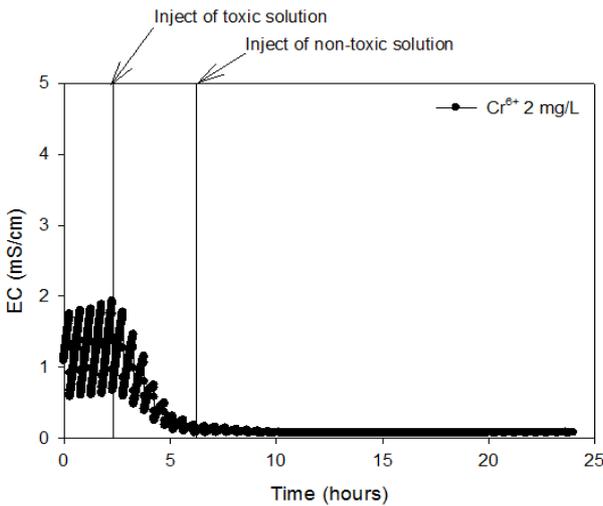


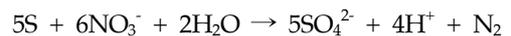
Fig. 4. Electrical conductivity and toxicity response to hexavalent chrome (injection concentration = 2 mg/L) in the sulfur particle packed reactor.

도도가 황산염이온 농도의 증가에 따라 일정한 증가율을 보 인 반면, pH는 황산염이온 농도가 증가함에 따라 일정하게 감 소하지 않을 뿐만 아니라 실제 수계에 적용할 경우 현장별로 알칼리도가 다르기 때문에 황산화균의 활성 평가지표로는 적 합하지 않은 것으로 나타났다.

황산화미생물 바이오센서의 질산성 질소에 대한 응답성

질산성 질소는 10, 20, 30, 70 mg/L가 되도록 아질산성 질소 실험과 마찬가지로 탈염소 처리한 수돗물로 제조하였 으며 정상적으로 운전되고 있는 반응조에 유입하였다. 질산성 질소의 농도가 높아짐에 따라 이온의 양이 증가하고 이에 따 라 유입 초기 전기전도도가 올라가는 현상을 보였다. 아질산 성 질소에 비해 훨씬 고농도로 질산성 질소를 주입하였으나 황산화미생물은 저해를 받지 않는 것으로 나타났다. 즉, 70 mg/L 까지 질산성 질소의 농도를 높였을 때에도 질산성 질소에 의한 전기전도도 감소는 보이지 않았으며 독성도는 0%로 계산되었다 (Fig. 5).

이는 암모니아성 질소와 질산성 질소는 화학합성 자가영 양미생물인 *Thiobacillus* 종의 성장에 필요한 질소원으로 이 용될 수 있기 때문에 독성이 없는 것으로 판단된다(Brierley and Brierley, 1968). *Thiobacillus denitrificans*와 같은 자 가영양형 황이용 탈질균(Autotrophic sulfur-oxidizing bacteria)은 아래반응과 같이 황을 전자공여체로 질산성 질소 를 최종 전자수용체로 이용하여 탈질이 가능한 것으로 보고 되었다.



황산화미생물 바이오센서의 암모니아성 질소에 대한 응답성

암모니아성 질소를 5, 10, 20, 50 mg/L가 되도록 탈염소

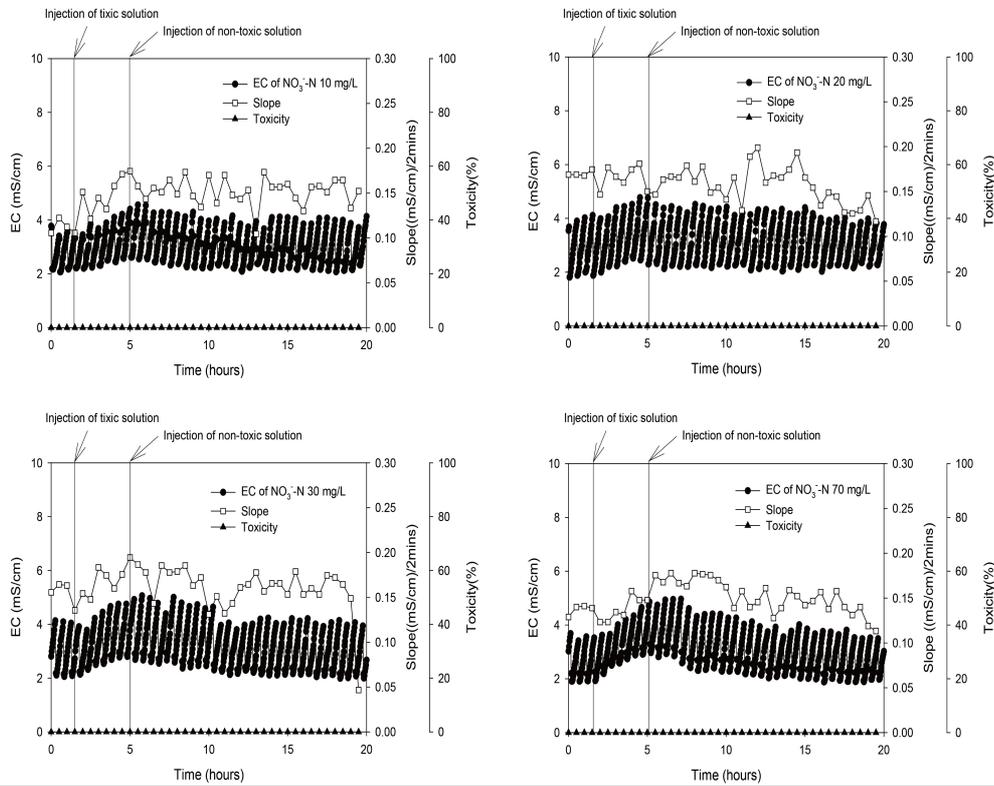


Fig. 5. Electrical conductivity and toxicity response to varying nitrate concentrations in the sulfur particle packed reactor.

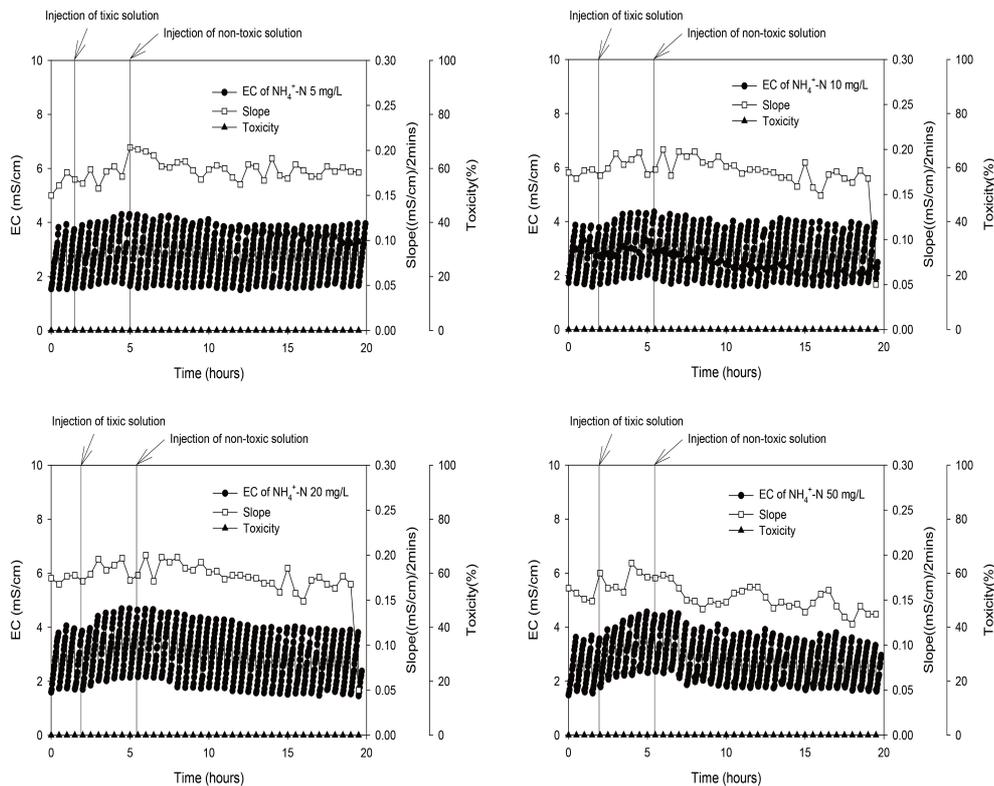


Fig. 6. Electrical conductivity and toxicity response to varying ammonia concentrations in the sulfur particle packed reactor.

처리한 수돗물로 제조하였으며 정상상태의 반응조에 유입시켜 전기전도도 변화를 관찰하였다. Fig. 6에 나타난 것과 같이 유입 초기 전기전도도 값이 암모니아성 질소의 농도가 증가함에 따라 소폭 증가하였을 뿐 독성현상에 의한 전기전도도 감소는 관찰되지 않았다. 암모니아성 질소에 의한 황반응조의 전기전도도 변화가 없는 것은, 질산성 질소와 마찬가지로 본 실험에 이용된 미생물인 *Thiobacillus* 종의 성장에 이용될 수 있는 질소원이기 때문이라 사료된다(Brierley and Brierley, 1968).

본 연구에서는 수계로 다량 유입되어 부영양화를 유발하는 질소화합물에 대한 생물독성 평가를 주로 수행하였으나, 향후 내분비계장애물질이나 의약품, 유기용제 등 다양한 오염물질에 대한 평가가 진행되어야 한다. 이를 통해 적용 가능한 오염물질의 종류와 검출한계농도에 대한 정확한 정보가 확보된다면 황산화미생물 바이오센서의 활용가능성은 매우 높아질 것으로 사료된다.

## 결론

황산화미생물 바이오센서를 이용하면 독성물질 유입에 따른 황산화균의 활성변화와 관계된 전기전도도의 간단한 측정만으로도 오염물질의 신속하고 정확한 생태독성 탐지가 가능하였다. 다양한 종류의 질소화합물을 대상으로 하여 평가한 결과, 황산화미생물은 아질산성 질소에 대해서는 매우 낮은 농도에서도 민감하게 반응한 반면 질산성 질소나 암모니아성 질소에 대해서는 저해를 받지 않는 것으로 나타났다. 질산성 질소와 암모니아성 질소의 유입농도가 100 mg/L 까지 높아져도 황산화미생물 바이오센서가 독성을 나타내지 않은 이유는 황산화균으로 사용된 *Thiobacillus* 종들이 질소원과 전자수용체로 이들 질소성분을 대사과정에 이용할 수 있기 때문으로 사료된다. 황산화미생물 바이오센서는 아질산성 질소가 3 mg/L로 낮은 농도조건에서도 30분 이내에 90%이상의 독성도를 보였고 아질산성 질소 1 mg/L에서는 10% 정도의 독성도를 보였다. 또한 독성물질이 제거되었을 때에는 신속히 정상상태로 활성이 회복되었다. 따라서 황산화미생물을 이용한 기술은 운전이 간단하면서도 민감도가 높아 효율적인 생물경보장치로 활용이 가능할 것이며 오염여부를 신속히 탐지하여 수자원 보호에 기여할 것으로 판단된다.

## Acknowledgement

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea(NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (NRF-2012R1A1A2041985) and also was supported by 2013 Research Grant from Kangwon National University (No. C1009870-01-01)

## References

- Brierley, J.A., Brierley, C.L., 1968. Urea as a nitrogen source for thiobacilli, *J. bacteriol.* 96, 573.
- Chio, K.S., Seo, B.S., Ko, S.H., 2014. Nitrate nitrogen reduction technology for safe groundwater drinking, *Food Eng. Prog.* 18, 36~41.
- Duncan, C., Li, H., Dykhuizen, R., Frazer, R., Johnston, P., MacKnight, G., Smith, L., Lamza, K., McKenzie, H., Batt, L., Kelly, D., Golden, M., Benjamin, N., Leifert, C., 1997. Protection against oral and gastrointestinal diseases: Importance of dietary nitrate intake, oral nitrate reduction and enterosalivary nitrate circulation. *Comp. Biochem. Phys.* 118, 939-948.
- Kim, M.S., Chung, Y.R., Suh, E.H., Song, W.S., 2012. Eutrophication of Nakdong river and statistical analysis of environmental factors, *KSP.* 17, 105-115.
- Kim, M.S., Lee, J.Y., Lee, K.Y., 2014. Catalytic nitrate reduction in water over nanosized TiO<sub>2</sub> supported Pd-Cu catalysts, *Clean Technol.* 20, 28-34.
- Lee, J.S., Lee, W., Tung, N.V., Kim, Y.J., 2001. System constitution and field application of FIA for measurement of the low level of nitrite, *KSFEA.* 4, 109-112.
- Min, J.H., Kim, H.S., 2008. The removal of nitrate-nitrogen from ground water by electro dialysis, *J. Korean Soc Water Wastewat.* 22, 307-314.
- Oh, K.T., Kim, J.W., Kim, W.K., Lee, S.A., Yun, H.G., Lee, S.K., 2006. Ecotoxicity assessment of industrial effluent in Korea, *J. Korean Soc. Water Environ.* 22, 37-44.
- Oh, S.E., 2010. A new methodology of measuring water toxicity using sulfur oxidizing bacteria, *J. Kor. Soc. Environ. Eng.* 32, 555-562.
- Oh, S.E., Hassan, S.H.A., Van Ginkel, S.W., 2011. A novel biosensor for detecting toxicity in water using sulfur-oxidizing bacteria, *Sensor. Actuat. B-Chem.* 154, 17-21.