

트리클로로에틸렌의 공동대사적 생분해를 위한 생물반응기 시스템

이 은 열

경성대학교 공과대학 식품공학과

(접수 : 2001. 12. 12., 계재승인 : 2001. 12. 20.)

Bioreactor Systems for the Cometabolic Biodegradation of Trichloroethylene

Eun Yeol Lee[†]

Department of Food Science and Technology, College of Engineering, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

(Received : 2001. 12. 12., Accepted : 2001. 12. 20.)

Trichloroethylene (TCE) has become a widespread contaminant in air, soil, and underground water due to extensive industrial uses and improper disposals. Since TCE is a suspected carcinogen and constitutes public health concerns, many treatment systems have been investigated to remove this hazardous waste. One of the most promising reactor systems for the treatment of TCE is trickling biofilter (TBF), in which monooxygenase (MO), the corresponding enzyme for initiating primary substrate oxidation, fortuitously degrades TCE via cometabolism. TCE, however, is not easily treated by simple TBF. This is mainly due to the toxicities of TCE and its degradation products to microbial film in TBF. In this paper, recent progresses on the development of bioreactor system for the treatment of TCE, especially gas-phase TCE, are reviewed. The potentials of novel biofilm reactor systems were also discussed for the long-term continuous treatment of TCE.

Key Words : biofilm, cometabolism, monooxygenase, trichloroethylene, trickling biofilter

서 론

Trichloroethylene (TCE)은 비연소성 특성으로 인하여 공업용 유기용매나 그리스 제거제, 드라이클리닝 제재로 널리 사용되어왔다. 그러나, 사용되어진 TCE에 대한 적절한 처리 방법이 개발되지 못하여 상당량이 대기, 토양 및 지하수 등으로 유출되는 등 광범위한 영역을 오염시키고 있는 실정이다 (1). TCE는 난분해성 물질로 vinyl chloride 등의 다른 독성 화합물로 전환될 수도 있으며(2), 유전자변이 및 암을 유발하는 것으로도 알려져 있어 인체에 대한 독성이 높은 물질이다 (3). 따라서, 미국환경보호국 (Environmental Protection Agency, EPA)에서는 TCE 등을 특정유해물질 (priority pollutants)로 규정하여 기존의 오염물질 (conventional pollutants)인 COD, BOD, SS 등과 구분하여 취급하고 있으며, SDWA (Safe Drinking Water Act)에 의해 규제되는 음용수 관련 유해물질 중에서 'Volatile Organic Chemicals (VOCs)' 항목으로 지정되어 관리되고 있다(4). 미국에서의 음용수 관리기준상의 TCE 허용 기준치는 5 µg/L이며, 국내의 경우 생활용수와 농업용

수는 0.03 ppm 이하, 공업용수는 0.06 ppm 이하로 TCE 농도를 제한하고 있다.

TCE는 25°C에서 증기압력이 77 mmHg 정도로 상당히 휘발성이 강한 물질이다. 국내에서 TCE는 전자기판 등의 세척을 위해 기상으로 많이 사용되고 있으며, 사용한 후 폐가스로써의 TCE에 대한 효율적인 처리기술의 부재로 인하여 광범위한 지역을 오염시키고 있는 실정이다. 또한, 지하수에 포함되어 있는 TCE를 air stripping을 통해 제거하는 경우 발생되는 기상의 TCE에 대한 사후 처리기술 개발도 요구되고 있다. VOC 형태의 TCE로 인한 발암위험성을 살펴보면, 도시 지역 대기에서의 농도가 2.43 µg/m³ 수준이면 흡입을 통한 암 발생률이 인구 백만명당 2.1명 정도로 평가되고 있다. 따라서, 국내에서는 '95년 대기환경보전법에 "휘발성 유기화합물 및 악취물질의 규제"에 관한 조항을 설치하였으며, '98년 5월 개정안을 통해 대상물질 선정 및 배출허용기준을 강화하여 VOC 및 악취를 규제하고 있다. 2000년에 특별 규제 대상으로 지정된 31종의 VOCs 물질에 TCE가 포함되어 있어 (Table 1). 산업 폐가스에 포함되어 있는 기상의 TCE를 효과적으로 처리할 수 있는 기술 개발이 요구되고 있다.

기상의 TCE를 물리적으로 처리하는 방법으로는 활성탄을 이용하여 흡착 제거시키는 방법이 있다. 이 방법은 짧은 체류시간 동안에서도 효과적으로 제거할 수 있다는 장점이 있는 반면, 단순히 기상의 TCE를 활성탄으로 이동시킨 것에 불과하므로 2차 처리가 요구되고 높은 설비투자비와 운영비

[†]Corresponding Author : Department of Food Science and Technology, College of Engineering, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

Tel : +82-51-620-4716, Fax : +82-51-622-4986

E-mail : eylee@star.ksu.ac.kr

Table 1. 국내의 규제대상 VOC 물질 (국립환경연구원, 환경자료집, 2000)

Acetaldehyde	Acetylene	Acetylene dichloride	Acrolein
Acrylonitrile	Benzene	1,3-Butadiene	Butane
1-Butene, 2-Butene	Carbon Tetrachloride	Chloroform	Cyclohexane
1,2-Dichloro ethane	Diethylamine	Dimethylamine	Ethyl Alcohol
Ethylene	Formaldehyde	n-Hexane	Isopropyl Alcohol
Methanol	Methyl Ethyl Ketone	Methylene Chloride	Methyl Tertiary Butyl Ether
Propylene	Propylene Oxide	1,1,1-Trichloroethane	Trichloroethylene
휘발유	납사	원유	

Table 2. Various microbial cells and enzymes for TCE biodegradation.

Organisms	Enzymes
<i>Burkholderia (Pseudomonas) cepacia G4</i>	Toluene 2-monoxygenase
<i>Pseudomonas putida</i> F1	Toluene dioxygenase
<i>Pseudomonas mendocina</i> KR-1	Toluene 4-monoxygenase
<i>Nitosomonas europaea</i>	Ammonia monooxygenase
<i>Methylosinus trichosporum</i> OB3b	Soluble methane monooxygenase

가 요구된다는 단점이 있다. 소각과 같은 화학적 처리방법은 고농도 및 높은 폐가스 공급 속도에서도 처리가 가능하고 재현성 있는 처리효율을 기대할 수 있다는 장점이 있는 반면, 독성 부산물이 발생될 수 있고 초기설비비 및 운전비도 높은 편이다. 이러한 물리·화학적 처리법에 비하여 생물학적 처리 방법은 TCE를 CO_2 등의 무해한 최종산물로 분해시킬 수 있으며 운전비 및 설비비도 낮은 것으로 평가되고 있어 대체 기술로써의 중요성을 인정받고 있다. 생물학적 VOC 처리 기술 중에 하나인 soil biofiltration의 경우 장기간 재현성 있는 처리효율을 기대할 수 있고, 현재 경제성 평가에 따르면 biofiltration의 경우 오염물질 kg 당 약 \$5 - \$10 수준의 비용이 요구되는 것으로 평가되고 있어 주로 nonhalogenated VOC, fuel hydrocarbon 및 암취 제거 등을 위해 대규모로 상업화가 진행되고 있다. 따라서, 이러한 biofilter 기반 기술을 이용한 기상의 TCE 처리 기술 개발은 의미가 있다. 본 총설에서는 미생물의 공동대사를 이용한 TCE 처리 기술개발에 대하여, 기상의 TCE 생분해를 위한 생물학적 반응기 시스템 개발을 중심으로 살펴보자 한다.

공동대사적 TCE 생분해

TCE 생분해 과정

'85년 Wilson 등에 의해 최초로 TCE 등의 염소화합물이 호기적 조건에서 미생물에 의해 무해한 물질로 완전 분해된다고 보고 된 이후로 많은 연구자들에 의해서 여러 종류의 미생물들에 의해 TCE 등의 염소화합물이 분해가 가능함이 밝혀졌다(5). 주로 메탄자화균, 톨루엔/페놀/크레졸 산화 미생물, 에틸렌 산화 미생물, 프로판 산화 미생물, 암모니아 산화 미생물 등이 TCE에 대한 생분해능을 가지는 것으로 알려졌다(6-11). 이들 미생물들은 TCE 자체를 성장기질로 사용하지 못하기 때문에 기질 특이성이 비교적 느슨한 산화효소(oxygenase)를 이용하여 성장기질을 산화시키며 동시에 TCE를 산화시키

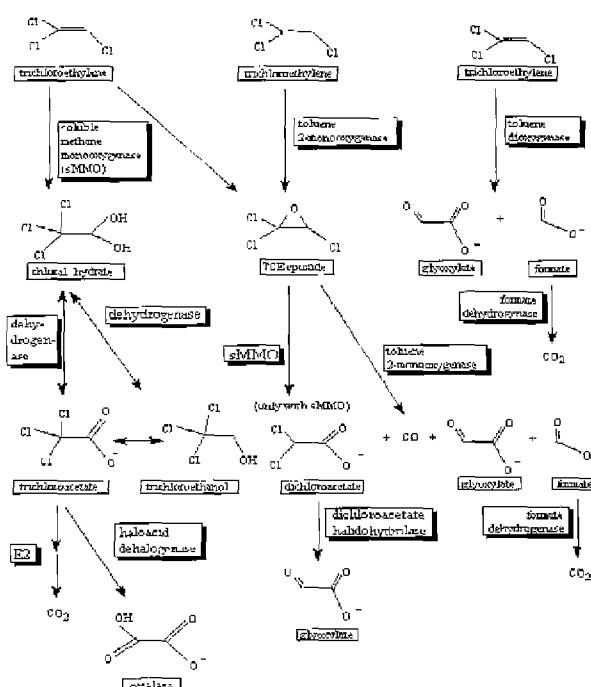


Figure 1. TCE biodegradation by soluble methane monooxygenase, toluene 2-monoxygenase and toluene dioxygenase.

는 공동대사 (cometabolism; 공동산화, co-oxidation) 과정을 통해 TCE를 분해시킨다(12) (Figure 1). 예를 들어 pseudomonads 계열의 미생물에서는 toluene이 성장 기질로 제공될 때 유도 발현되는 toluene dioxygenase, toluene 2- 또는 4-monoxygenase에 의해 TCE가 분해된다. TCE 생분해에 이용될 수 있는 여러 종류의 미생물에 존재하는 주요 산화효소들이 Table 2에 제시되어 있으며, 주로 *Burkholderia cepacia G4*와 *Methylosinus trichosporum* OB3b에 대한 연구가 많이 진행되어 왔다(13,14).

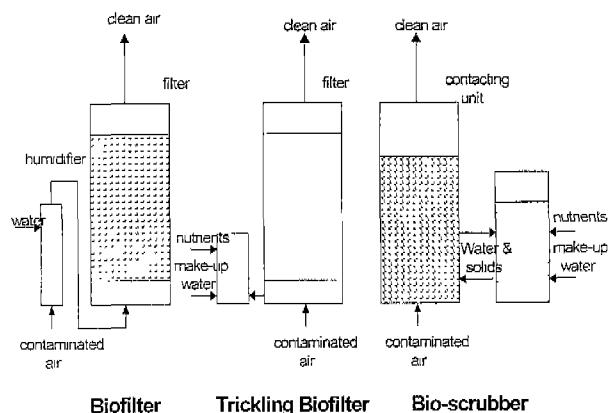


Figure 2. Schematics of three categories of bioreactor systems for VOC treatment.

Burkholderia (Pseudomonas) cepacia G4

일반적으로 pseudomonad들은 대부분의 경우 영양요구가 단순하고 중성 pH 및 중온(mesophilic temperature)에서 성장이 우수하다. *Burkholderia cepacia* G4는 그람 양성의 간균 형태의 세균으로 toluene, phenol 또는 cresol 등을 성장기질로 제공하면 TCE를 분해할 수 있는 toluene monooxygenase (TMO)가 유도발현된다. TMO는 aromatic degradation 대사과정의 첫 번째 산화반응에 참여하며, 이 때 공동대사적으로 TCE를 분해시킬 수 있다. TMO에 대한 동력학적 연구 결과, TCE 기질에 대한 V_{max} 과 K_m 은 각각 8 nmol/min · mg protein과 3 μM 로 결정되었다(15, 16). Pseudomonad와 메탄자화균을 비교해 보면, 최대 분해속도(V_{max})는 메탄자화균에 비해 10배정도 낮지만, K_m 값이 3~10 μM 정도로 메탄자화균의 145 μM 에 비해 낮다는 장점도 있다. *B. cepacia* G4는 특정 조건에서는 메탄자화균과 비슷한 속도로 TCE를 분해시킬 수 있다는 결과도 보고되었으며, TCE 독성에 덜 민감하다고 보고되기도 하였다(8). 또한, 메탄자화균의 경우 성장속도가 낮은 편이나 pseudomonad는 성장속도가 빠를 편어서 TCE 분해 과정에서 유발되는 효소 및 세포 불활성화를 빨리 극복할 수 있다는 장점도 있다.

메탄자화균

Methane monooxygenase (MMO)는 메탄에서 메탄올로 가는 첫 번째 산화단계를 촉매하는 효소로 메탄 이외에도 여러 종류의 탄화수소를 기질로 사용할 수 있으며, 공동대사적으로 TCE를 TCE epoxide로 전환시킨다. 대표적인 메탄자화균인 *Methylosinus trichosporium* OB3b 등과 같은 몇몇의 obligatory methanotroph는 배양액내에 구리이온이 존재하는 경우 particulate MMO (pMMO)가 생성되며, 구리이온이 없는 상태에서는 soluble MMO (sMMO)가 생성된다 (17). 세포 내에서의 MMO 발현형태는 TCE 분해효율에 큰 영향을 미친다. TCE 같은 염소화 유기용매에 대해서는 sMMO만이 높은 활성을 가지는 반면 pMMO는 거의 분해 활성을 나타내지 못한다(18,19). 메탄자화균에 의한 TCE 분해경로는 MMO에 의해 애록시화반응을 통해 TCE oxide로 전환된 후 분해되는 경우와 chloral을 거쳐 분해되는 두 가지 경로가 있는 것으로 보고되고 있다. 메탄자화균의 K_m 값은 145 μM 수준이며, 최

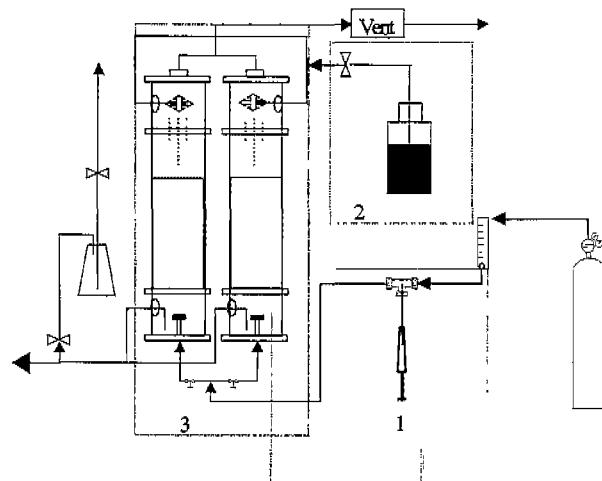


Figure 3. Schematics of parallel trickling biofilter system for the continuous degradation of TCE.

대 TCE 분해속도(V_m)는 약 450 nmol/min · mg protein으로 높은 편이며 고농도의 TCE를 함유하고 있는 산업폐가스 처리에 효율적으로 사용될 수 있다(20,21).

TCE 처리용 생물반응기 시스템

폐가스 처리를 위한 생물반응기

TCE 등의 VOC 처리에는 biofilter, trickling biofilter, bioscrubber 등의 세 가지 형태의 생물반응기가 많이 사용되고 있다 (Figure 3). Biofilter는 compost, soil, plastic media, granular activated carbon, ceramic media 등의 충진층에 형성되어 있는 미생물막에 VOC를 통과시키면 미생물에 의해 탄소원으로 사용되면서 분해된다. 미생물 활성 유지 및 폐가스 성분의 물질전달을 높이기 위하여 일반적으로 폐가스는 가습기를 통과하면서 수분이 공급된다. Trickling biofilter (TBF)는 필터 상단에서 미생물막 활성을 위하여 영양분과 수분을 공급해준다는 점이외에는 biofilter와 유사하게 운전된다. Bioscrubber은 contacting unit과 degradation unit로 구성되어 있으며, contacting unit에서 기상에서 액상으로 폐가스 성분의 물질전달이 일어나고 분해장치로 이동되어 생분해된다. 일반적으로 폐가스 중에 포함되어 있는 VOC를 처리하기 위한 시스템 선정에 있어서 각각의 처리 기술의 장·단점을 고려하고, 동시에 VOC 농도, VOC 종류, VOC loading, 수분 함유도, 기체 공급속도 및 폐가스 온도 등 처리 폐가스의 제반 특성을 분석한 후 적절히 선정해야 한다 (Table 3).

TCE 처리용 생물막 반응기 시스템

일반적으로 TCE 처리를 위한 시스템으로는 생물막(biofilm)을 이용하는 것이 유리하다(22-26). 그 이유로는 첫째, 생물막을 통해 높은 세포 농도를 얻을 수 있으므로 단위 부피당 처리 효율이 높다. 둘째, 특성이 높은 TCE 등의 shock loading에 대해서도 생물막의 외부에서만 세포 사멸 현상이 일어나고 차후에 내부에 있는 세포들에 의해 다시 생물막이 형성되므로 안정된 반응기 운전을 기대할 수 있기 때문이다. TCE의 경우 물에 대한 용해도가 낮으므로 bioscrubber를 사용하

Table 3. Relative advantages and disadvantages of bioreactor systems for VOC treatment.

Biofilter	Trickling biofilter	Bioscrubber
<i>Advantages</i>		
Simple operation	Simple operation	Good process control possible
Low investment costs	Low investment costs	Suitable for highly contaminated waste air
Low running costs	Low running costs	Suitable for process modelling
Degradation of less water soluble pollutants	Suitable for moderately contaminated waste air	High operational stability
Suitable for reduction of odorous pollutants	Ability to add nutrients	Ability to add nutrients
<i>Disadvantages</i>		
Low waste-air volumetric flow rate	Limited process control	High investment cost
Only low pollutant concentration	Channeling can be a problem	High running costs
Channeling of air flow is normal	Limit service life of filter bed	Production of excess biomass disposal of water
Limited service life of filter bed	Excess biomass not disposable	Possible plugging in adsorption stage
Excess biomass not disposable		

는 경우 contacting unit에서 효과적인 물질전달을 기대하기가 어렵다. 또한, TCE 및 독성 분해 산물로 인하여 생물막의 불활성화가 필연적으로 일어나며, 이를 극복해 줄 수 있는 알맞은 영양분의 공급이 요구되므로 biofilter보다는 trickling biofilter 시스템이 가장 적합하다고 할 수 있다. Trickling biofilter에서는 지속적으로 영양분이 공급되므로 경우에 따라서는 과도한 미생물의 성장으로 인하여 생물막의 clogging 및 compaction 현상이 발생되어 반응기 운전이 중단될 수 있다. 따라서, 이를 예방하기 위하여 다공성이 큰 담체를 충진층으로 사용한다.

단순 trickling biofilter를 이용한 TCE 처리의 경우 TCE 분해과정에서 미생물막의 TCE 분해능감소로 인하여 연속적 분해에는 한계가 있으며, 생물막 재활성화를 위해 성장기질을 공급해 준 경우 TCE와의 경쟁적 저해로 인하여 TCE 분해속도가 급격히 저하되는 결과가 보고되었다(22).

연속적 TCE 처리를 위한 생물막 반응기 시스템

TCE 공동대사의 문제점

TCE 자체는 성장기질로 사용되지 못하므로 공동대사 과정을 거쳐 분해된다. 공동대사의 문제점은 환원력 재생산 및 TCE 과정에서 저하된 세포를 재활성시키기 위하여 성장기질을 공급하는 경우 성장기질과 TCE 사이에서 경쟁저해가 일어나서 TCE 생분해 속도가 저하되어 반응기 운전에 상당한 악영향을 줄 수 있다는 점이다(27). sMMO에 의한 TCE 분해의 경우, TCE 분해과정에서 분해 산물인 TCE epoxide 등의 독성으로 인한 sMMO 활성 저하 방지 및 NADH 재생산 문제를 메탄 등의 성장기질 공급 등으로 해결해줄 수 있으나, 효소 재활성화를 위해 성장 기질인 메탄 공급시 극심한 경쟁 저해가 유발된다는 상반된 특성을 가지고 있다. 또한, TMO의 경우에서도 phenol 또는 toluene 등이 성장기질로 공급되는 경우 TCE 분해효소인 TMO 발현 및 재활성화 등의 궁정

적 효과를 기대할 수 있는 반면, 이 경우 역시 성장기질과 TCE 사이에 경쟁저해가 유발되어 분해 속도 저하가 일어난다. 효소 및 환원력 재생산을 위해서 포도당 등과 같은 경쟁 저해를 주지 않는 성장 기질을 공급하는 경우 TCE 분해효소인 TMO가 발현되지 못하므로 TCE 분해능을 기대하기 어렵다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 경쟁적 저해를 최소화하면서 TCE 분해효소 발현 및 재활성화를 유도할 수 있는 최적 농도의 성장기질을 공급하여 TCE 분해능을 향상시킨 연구 결과들이 보고되었으나, 이를 반응기 시스템을 이용하여 장기간 연속적으로 TCE를 처리한 결과들을 보여주지는 못했다(28-30). 단순 trickling biofilter의 경우 실제 현장에서 TCE가 반드시 연속적으로 계속 공급되는 것만은 아니므로, 공급이 중단되는 기간 동안 재빨리 세포의 활성을 회복시키는 방법도 고려할 수는 있으나, 일반적으로 안정되게 장기간 운전을 기대하기는 어렵다.

연속적 TCE 처리 시스템

단순 trickling biofilter의 불안정성을 극복하기 위해 두 개의 trickling biofilter를 병렬로 연결하여, 한 쪽에서는 TCE를 처리하고 다른 쪽에서는 미생물막을 재활성시키는 시스템이 개발되었다(Figure 3). 병렬로 연결된 두 개의 trickling biofilter를 일정 간격을 통해 역할을 서로 변경시켜줌으로써 장기간 연속적으로 TCE를 처리한 결과가 보고되었다(31,32).

TCE 분해 반응기와 미생물 성장반응기로 구성된 2단계 CSTR/TBF 반응기를 이용한 연속적 TCE 처리 결과도 보고되었다(33-36). TCE 분해과정에서 불활성화된 세포 및 효소를 재활성화시키는 역할을 하는 미생물 성장반응기를 CSTR로 구성하여 연결시켜줌으로써 장기간의 안정된 TCE 처리를 도모할 수 있었다. 성장기질은 미생물 성장반응기에서만 공급되므로 성장기질에 의한 경쟁저해 현상을 막을 수 있어 효과적인 TCE 분해가 가능한 생물반응기 시스템이 될 수 있

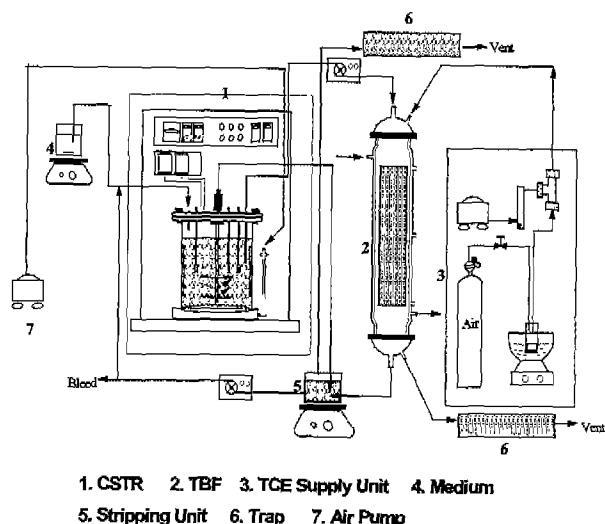


Figure 4. Schematics of two-stage CSTR/TBF system for the continuous degradation of TCE.

다. 2단계 CSTR/TBF 시스템의 구성은 TBF 단위 반응기에서는 폐가스에 포함된 기상의 TCE를 공기와 함께 공급되어 미생물막에 의해 분해되며, 이때 불활성화된 미생물은 탄소원과 공기 및 배지가 연속적으로 공급되는 CSTR에서 재활성화된 후 다시 TBF 단위 반응기로 재순환될 수 있도록 구성되어 있다(Figure 4). CSTR에서는 미생물 성장 및 TCE 분해효소인 TMO 또는 sMMO를 효율적으로 발현할 수 있는 배지가 사용되었으며, CSTR은 미생물 농도를 높이고 TCE 분해효소의 활성을 최대화시킬 수 있는 조건에서 운전되었다. *B. cepacia* G4를 이용한 2단계 CSTR/TBF 시스템에서 기상의 TCE를 처리한 결과, critical elimination capacity는 약 25.3 mg TCE/l · day 수준이었으며 1달 이상의 장기간 동안 안정된 운전이 가능하였다. *M. trichosporium* OB3b를 이용한 경우에서는 1년 이상의 장기간 운전 기간 동안 기존 문헌 결과에 비해 매우 높은 525 mg TCE/l · day 정도의 최대 TCE 분해속도를 얻을 수 있었으며, 2단계 CSTR/TBF 시스템을 이용하여 고효율로 장기간 안정적으로 TCE 처리가 가능함을 보여주었다.

결 론

공업용 유기용매나 그리스 제거제, 전자기판 세척제 등으로 널리 사용되는 TCE에 대한 생물학적 처리 기술 개발은 중요한 연구분야이다. 특히, 기상으로 산업 폐가스속에 포함되어 배출되는 TCE의 경우, 궁극적으로 토양 및 지하수 등 광범위한 영역에서 환경 오염 문제를 유발하므로 이에 대한 처리방법 개발도 중요하다. 미생물의 공동대사를 이용한 TCE 생분해는 궁극적으로 무해한 최종산물까지 완전히 분해되므로 물리·화학적인 방법에 비해 환경친화적인 방법이다. 그러나, TCE 및 TCE 분해산물로 인한 미생물 분해능 저하, 지속적인 NADH 재생산 문제, 성장기질 공급시 유발되는 경쟁저해 등으로 인하여 안정적으로 장기간 TCE를 처리할 수 있는 산업용 규모의 기술은 개발되지 못하고 있는 실정이다. 또한, TCE 등과 같은 비교적 난분해성이며 독성이 높은 오염물질이 기상으로 고농도로 배출되는 경우, 물리·화학적인 방법과 적절하게

결합하여 처리하는 것이 필요하다. 보다 효과적인 기상의 TCE 처리를 위해서는 폐가스의 특성에 적합한 미생물을 선정과 반응기 시스템 개발이 필요하다. 2단계 CSTR/TBF 시스템의 경우 모델링을 통한 CSTR과 TBF의 상대적 크기 결정 등에 대한 추가적인 연구가 필요하며, CSTR에서 메탄자화균의 재활성화를 위한 성장기질은 메탄보다 저렴한 기질을 사용할 필요가 있으며, pseudomonad의 경우 toluene 또는 phenol 등 환경오염 문제가 있는 성장기질 이외에 탄수화물을 제공하여도 TCE 분해효소를 죄적 발현 및 효과적으로 재활성화를 시킬 수 있는 균주 개량 등의 기술개발을 성공하면 TCE 처리용 생물반응기 시스템을 현장에 적용시킬 수 있는 실용화가 가능할 것이다.

요 약

공업용 유기용매나 그리스 제거제, 전자기판 세척제로 널리 사용되어 온 TCE는 적절한 처리 방법이 개발되지 못하여 환경오염을 일으키고 있으며, 유전자변이 및 암을 유발하는 것으로도 알려져 효율적인 처리기술 개발이 요구된다. 미생물막을 이용한 처리 방법은 TCE를 무해한 최종산물로 분해시킬 수 있으며, 운전비 및 설비비도 낮아 경쟁력 있는 처리기술로 평가되고 있다. TCE 자체는 미생물의 성장기질로 사용되지 못하므로 공동대사 과정을 거쳐 분해된다. TCE 및 TCE 분해산물의 높은 독성으로 인하여 TCE 분해효소 및 세포 불활성화가 일어나서 장기간 안정된 반응기 운전이 어렵다는 단점과 성장기질을 공급하는 경우 유발되는 경쟁저해로 인한 분해효율 감소를 막을 수 있는 여러 종류의 생물반응기 시스템들이 개발되었다. 이러한 생물반응기 시스템의 개발과 우수한 분해능을 가지는 균주 선별 및 개량 등을 통해 실제 현장에 적용시킬 수 있는 생물학적 TCE 처리 기술의 실용화가 가능할 것이다.

감 사

본 논문은 한국과학재단 지정 환경기술·산업개발연구센터(RRC-IETI)의 지원 (과제번호 : 99-10-03-02-A-3)에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다. 연구과제 실험 및 자료정리를 도와 준 윤성준, 예병대, 설은희, 배현철, 김현숙 연구원들에게도 감사드립니다.

REFERENCES

- Westrick, J. J., J. W. Mello, and R. F. Thomas (1984), The groundwater supply survey, *J. Am. Water Works Assoc.*, **5**, 52-59.
- Vogel, T. M. and P. McCarty (1985), Biotransformation of tetrachloroethylene to trichloroethylene, dichloroethylene, vinyl chloride, and carbon dioxide under methanogenic conditions, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 1080-1083.
- Fan, A. M. (1988), Trichloroethylene: water contamination and health risk assessment, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Vol. 101*, G. W. Ware, Eds., Springer-Verlag, New York.

4. U. S. EPA (1984), National Primary Drinking Water Standard, *Proposed Fed. Regist.*, **49**, 24329.
5. Wilson, J. T. and B. H. Wilson (1985), Biotransformation of trichloroethylene in soil, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 242-243.
6. Tsien, H. C., G. A. Brusseau, R. S. Hanson, and L. P. Wackett (1989), Biodegradation of trichloroethylene by *Methylosinus trichosporium* OB3b, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 3155-3161.
7. Nelson, M. J., S. O. Montgomery, W. R. Mahaffey, and P. H. Pritchard (1987), Trichloroethylene metabolism by microorganisms that degrade aromatic compounds, *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 604-606.
8. Wackett, L. P. and S. R. Householder (1989), Toxicity of trichloroethylene to *Pseudomonas putida* F1 is mediated by toluene dioxygenase, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2723-2725.
8. Oldenhuis, R., J. Y. Oedzes, J. J. van der Waarde, and D. B. Janssen (1991), Kinetics of chlorinated hydrocarbon degradation by *Methylosinus trichosporium* OB3b and toxicity of trichloroethylene, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 7-14.
9. Wackett, L. P., G. A. Brusseau, S. R. Householder, and R. S. Hanson (1989), Survey of microbial oxygenases: Trichloroethylene degradation by propane-oxidizing bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2960-2964.
10. Folsom, B. R., P. J. Chapman, and P. H. Pritchard (1990), Phenol and trichloroethylene degradation by *Pseudomonas cepacia* G4; kinetics and interactions between substrates, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1279-1285.
11. Vannelli, T., M. Logan, D. Arciero, and A. B. Hopper (1990), Degradation of halogenated aliphatic compounds by the ammonia-oxidizing bacterium, *Nitrosomonas europaea*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1169-1171.
12. Ensley, B. D. (1991), Biochemical diversity of trichloroethylene metabolism, *Annu. Rev. Microbiol.*, **45**, 283-299.
13. Mars, E. A., J. Houwing, J. Dolffing, and D. B. Janssen (1996), Degradation of toluene and trichloroethylene by *Burkholderia cepacia* G4 in growth-limited fed-batch culture, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 886-891.
14. vink Oldenhuys, R. L., D. B. Janssen, and B. Withholt (1989), Degradation of chlorinated aliphatic hydrocarbons by *Methylosinus trichosporium* OB3b expressing soluble methane monooxygenase, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2819-2826.
15. Sun, A. K. and T. K. Wood (1996), Evaluation of trichloroethylene degradation and mineralization by pseudomonads and *Methylosinus trichosporium* OB3b, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **45**, 248-256.
16. Kelly, C. J., P. R. Bienkowski, and G. S. Sayler (2000), Kinetic analysis of a *tod-lux* bacterial reporter for toluene degradation and trichloroethylene cometabolism, *Biotechnol. Bioeng.*, **69**, 256-265.
17. Park, S., M. L. Hanna, R. T. Taylor, and M. W. Droege (1991), Batch cultivation of *Methylosinus trichosporium* OB3b. I: Production of soluble methane monooxygenase, *Biotechnol. Bioeng.*, **38**, 423-433.
18. Jahng, D. and T. K. Wood (1994), Trichloroethylene and chloroform degradation by a recombinant pseudomonad expressing soluble methane monooxygenase from *Methylosinus trichosporium* OB3b, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2819-2826.
19. Brusseau, G. A., H.-C. Tsien, R. S. Hanson, and L. P. Wackett (1990), Optimization of trichloroethylene oxidation by methanotrophs and the use of a colorimetric assay to detect soluble methane monooxygenase activity, *Biodegradation*, **1**, 19-29.
20. Lu, C. J., C. M. Lee, and M. S. Chung (1998), The comparison of trichloroethylene removal rates by methane- and aromatic-utilizing microorganisms, *Wat. Sci. Tech.*, **38**, 19-24.
21. Chu, K. H. and L. Alvarez-Cohen (1998), Effect of nitrogen source on growth and trichloroethylene degradation by methane-oxidizing bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3451-3457.
22. Sun, A. K. and T. K. Wood (1997), Trichloroethylene mineralization in a fixed film bioreactor using a pure culture expressing constitutively toluene *ortho*-monooxygenase, *Biotechnol. Bioeng.*, **55**, 674-685.
23. Shin, H. S. and J. L. Lim (1996), Performance of a packed-bed bioreactors for the cometabolic degradation of trichloroethylene by phenol-oxidizing microorganism, *Environ. Technol.*, **17**, 1351-1359.
24. Speitel, G. E. Jr and D. S. McLay (1993), Biofilm reactors for treatment of gas stream containing chlorinated solvents, *J. Environ. Eng.*, **119**, 658-678.
25. Speitel, G. E. Jr and J. M. Leonard (1992), A sequencing biofilm reactor for the treatment of chlorinated solvents using methanotrophs, *Water Environ. Res.*, **64**, 712.
26. Jean, P. A. and E. Arvin (1997), Modeling of the cometabolic biodegradation of trichloroethylene by toluene-oxidizing bacteria in a biofilm system, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 3044-3052.
27. Chang, H.-L. and L. Alvarez-Cohen (1995), Model for the cometabolic biodegradation of chlorinated organics, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2357-2367.
28. Yoon, S. J., B. D. Ye, S. Park, and E. Y. Lee (2000), Optimization of cometabolic trichloroethylene degradation conditions by response surface analysis, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 393-397.
29. Ye, B. D., S. J. Yoon, S. Park, and E. Y. Lee (2000), Effect of growth substrates on cometabolic biodegradation of trichloroethylene by *Burkholderia cepacia*, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 474-481.
31. Ye, B. D (2001), Development of trickling biofilm reactor system using *Burkholderia cepacia* G4 for the treatment of gas-phase trichloroethylene (TCE), M. S. Thesis, Dept. of Chemical Engineering, Pusan National Univ., Pusan.
32. Tschantz, M. F., J. P. Bowman, T. L. Donaldson, P. R. Bienkowski, J. M. Strong-Gunderson, A. V. Palumbo, S. E. Herbes, and G. S. Sayler (1995), Methanotrophic TCE biodegradation in a multi-stage bioreactor, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2073-2082.
33. McFarland, M. J., C. M. Vogel, and J. C. Spain (1992), Methanotrophic cometabolism of trichloroethylene (TCE) in a two stage bioreactor system, *Wat. Res.*, **26**, 259-265.
34. Sipkema, E. M., W. de Koning, J. E. Van Hylckama Vlieg, K. J. Ganzeveld, D. B. Janssen, and A. A. Beenackers (1999), Trichloroethylene degradation in a two-step system by *Methylosinus trichosporium* OB3b. Optimization of system performance: use of formic acid and methane, *Biotechnol. Bioeng.*, **63**, 56-68.
35. Lee, E. Y. and S. Park (2001), Development of two-stage CSTR/TBF system for the cometabolic degradation of gas-phase TCE by *Burkholderia cepacia* G4, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**, 511-515.
36. Choi, Y. B., E. Y. Lee, and S. Park (1999), Gas-phase TCE degradation in a two-stage CSTR/TBR system using *Methylosinus trichosporium* OB3b, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **14**, 452-459.