

## 2,4,6-Trinitrotoluene의 생물학적 분해 및 생물학적 전환

배 범 한

경원대학교 공과대학 토목환경공학과

### I. 서론

니트로계 방향족 화합물(Nitroaromatic compounds, NACs)은 살충제, 제약, 플라스틱, 염료 및 화약류의 생산에 광범위하게 사용되는 물질이다[1]. 그러나, 니트로계 방향족 화합물은 구조적으로 난분해성 물질일 뿐 아니라, 독성이 강하여 자연계로 방출될 경우 인간 및 생태계에 악영향을 준다[2, 3]. 이 중에서 2,4,6-Trinitrotoluene(TNT)은 가장 산화된 형태의 NACs로 화약류의 주성분으로 사용되나 독성이 매우 강하며, 미생물 혹은 포유류 세포에 대하여 세포화학적 및 유전독성이 있는 frame-shift 변이물질로 보고되고 있다[4, 5, 6]. 또한, TNT 생산공장에서 피부 및 호흡기를 통하여 TNT에 노출된 공장근로자 혈액에서 hemoglobin adducts가 발생하는 사실이 보고된 바 있다[7].

TNT는 사용 용도가 제한적이지만, 화약 제조창, 병기창, 병기폐기창 및 사격장 등에서 자연으로 방출되어 토양, 지하수 및 하천을 오염시킨다. 화약제조시 발생하는 폐수는 'red water'로, 병기창에서 화약류의 적재, 조립 및 포장공정에서 발생하는 TNT 함유폐수는 'pink water'로 칭하고 있다[8]. 이와 같은 TNT 함유 폐수로 오염된 하천에서는 평균 20mg/L, 최고 60mg/L가 검출되고 있다[9]. 더구나, TNT의 중간분해물질의 독성도 커서 소량으로도 하천이나 호소의 수생태계에 악영향을 미친다[4, 10]. 토양에서는 식물체의 발아 및 유식물(Seedling)의 발아를 저해하며[11, 12], 최소위해농도(The lowest observable adverse effect concentration, LOAEC)는 50 mg/Kg으로 보고되었다[13]. TNT는 미생물에 의하여 잘 분해되지 않고, 용해도가 122.6mg/L로 매우 낮아 자연환경으로 방출될 경우에 토양 및 저지에 흡착되어 오래 잔류한다[14, 15]. 이러한 독성 및 지속성으로 인하여 미국 환경청에서는 TNT를 C급의 발암물질로 규정하여 TNT 생산시 발생하는 'red water'를 위해 물질로[8], 음용수내 수질기준은 0.002mg/L로 엄격하게 규제하고 있다[16].

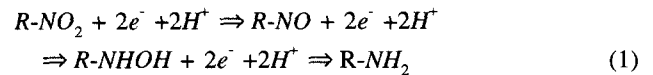
그러나, TNT의 미생물에 대한 저해 작용과 독성에도 불구하고 자연계에 존재하는 다양한 종류의 미생물들은 호기성 혹은 혐기성 상태에서 TNT를 생물학적으로 전환(Biotrans-

formation)하여 TNT의 독성을 감소시키거나[17, 18], 극히 일부분의 미생물은 TNT를 완전분해(Mineralization)하는 기질을 가지고 있다. 이에 본 고찰에서는 호기성 미생물에 의한 TNT의 분해 경로를 중심으로 기술하여 TNT로 오염된 하천, 지하수 및 토양의 처리 혹은 복원방법에 대한 이해와 방향설정에도 도움이 되고자 한다.

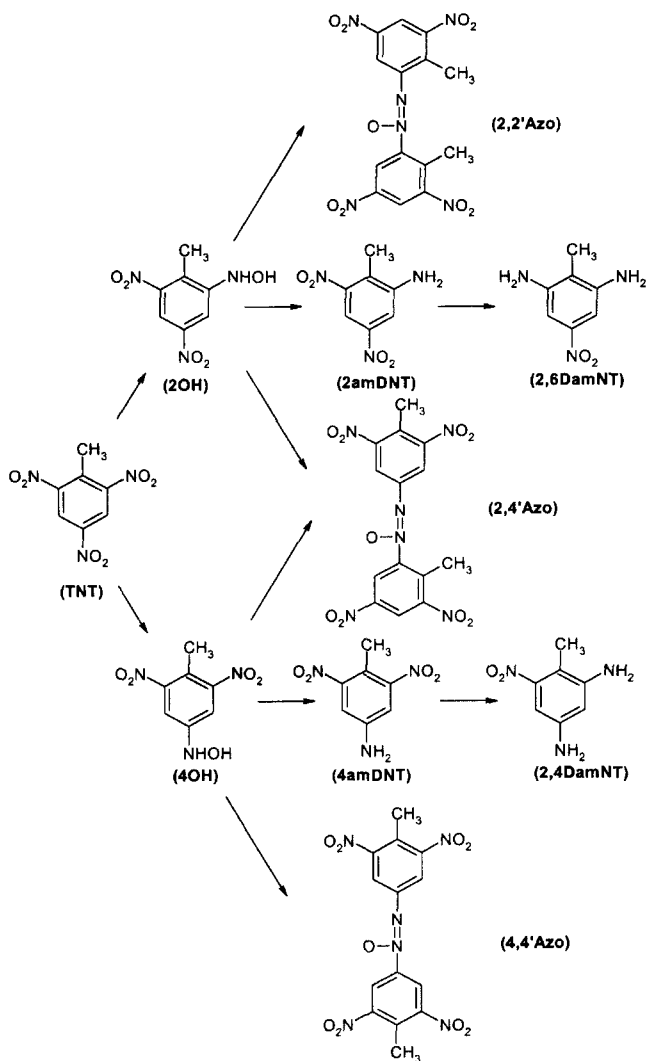
### II. TNT의 전환경로

#### II-1. 호기성 미생물에 의한 환원

이종화합물(Xenobiotic compounds)의 분해가 열역학적 순반응이 아닐 경우 생물학적 분해는 제한되며[18], TNT와 같은 이종화합물이 완전분해 되기 위해서는 미생물에 의하여 탄소원 혹은 질소원으로 사용되어 에너지를 생산하는 반응이 발생하여야 한다. 일반적으로 호기성 미생물에 의한 방향족 화합물의 분해는 산화효소로 벤젠고리의 hydroxylation을 통한 catechol 혹은 gentisate 형성으로 시작된다. 그러나, nitroaromatic compounds(NACs)의 NO<sub>2</sub>는 방향족 고리의 전자밀도를 감소시켜 산화효소에 의한 전자친화적 분해를 방해한다. 따라서, 산화도가 매우 높은 TNT는 생물학적으로 처리할 경우, nonspecific NAD(P)H dependent nitroreductase에 의한 NO<sub>2</sub>의 NH<sub>2</sub>로의 단계적 환원반응이 우선적으로 발생하는데, 1몰의 NO<sub>2</sub>를 환원하기 위해서는 6몰의 전자가 필요하며, 각 2몰씩의 전자가 전달될 때마다 다음과 같은 반응으로 환원된다(식 1). 또한, 일반적으로 *para*-위치에서 NO<sub>2</sub>가 선택적으로 먼저 환원되고, NO<sub>2</sub>의 수가 감소할수록 환원속도는 감소한다[19].



이와 같은 TNT의 환원은 *Arthrobacter* sp.[20], *Pseudomonad* sp., *E. Coli*, 및 *Clostridium pasteurianum*[21, 22], *Actinomycetes* strains[23], 등 거의 대부분의 미생물에서 관찰된다. 그러나, Fig. 1과 같이 호기성 조건에서의 생물학적 중간산물인 nitroso(NO)기 및 hydroxylamino(NHOH)기의 무생물학적



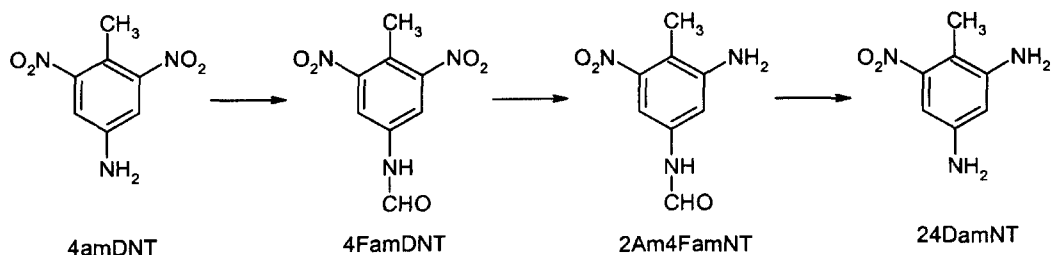
**Fig. 1.** Microbial Reduction of TNT and the Formation of Azoxy compounds under Aerobic Conditions (After Kaplan and Kaplan, 1982). 2OH(2-hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene), 4OH(4-hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene), 2amDNT(2-amino-4,6-dinitrotoluene), 4amDNT(4- amino-2,6-dinitrotoluene), 2,4DamNT(2,4-diamino-6-nitrotoluene), 2,6DamNT(2,6-diamino- 2-nitrotoluene), 2,2'Azo(2,2'-azoxytoluene), 4,4'Azo(2,2',6,6'-tetranitro- 2,2'-azoxytoluene), 2,4'Azo(2,4',6,6'-tetranitro-4,2'-azoxytoluene).

(abiotic) 반응으로 생성되는 azoxy 화합물들은 TNT보다 난분해성이며 독성이 더욱 강하고 토양이나 생체에 흡착되어 환경 내에 오래 잔류한다[21, 24, 25]. 활성슬러지를 이용한 <sup>14</sup>C-TNT 분해 결과, <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>는 발생하지 않고 약 50%가 미생물의 지질과 단백질에 부착된 형태로 존재하였다는 결과는 이를 반증한다[26]. Azoxy 화합물의 생성은 배양액의 pH가 높아질수록 많이 생성된다[27]. 용액 내에서의 hydroxylamino기는 빛에는 큰 영향을 받지 않으나, 산소의 존재 하에서는 불안정해져 aryl-amino기로 산화된 뒤, azoxy 화합물을 생성하며, 특히 2,4DHA6NT(2,4-dihydroxylamino-6-nitrotoluene)이 가장 불안정하고, 4HA26DNT(4-hydroxylamino-2,6-dinitro-toluene), 2HA46DNT(2-hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene)의 순으로 안정하다[28]. 또한, azoxy 화합물로의 중합은 TNT에 대한 물질수지가 맞지 않는 주요한 원인이 되므로 실험 및 결과 분석 시에 매우 유의하여야 한다.

**II-2 TNT 환원 물질의 acylation 반응**

미생물에 의한 TNT의 분해 경로는 매우 다양하다. 상기의 환원반응이외에도 환원물질의 acylation반응이 발생한다. 호기성/무산소 조건의 반응조에서 박테리아에 의하여 2,4DamNT가 4-acetylamino-2,6-dinitrotoluen로, 순수 배양 *Enterobacter* sp.에 의하여 4amDNT는 4-acetylamino-2,6-dinitrotoluene으로 변환되었으며[29, 30], 토양칼럼을 이용한 실험에서 삼출액에서 4-N-acetylamino-2-amino-6-nitrotoluene(4-AcANT)이 [31] 흰색부후균인 *Phanerochaete chrysosporium* 배양액에서도 환원물질과 Fig. 2와 같은 4-formamido-2,6-dinitrotoluen 및 4-formamido-2-amino-6-nitrotoluene(4-FamANT)이 검출되었다[32, 33].

이와 같은 acylation 반응은 미생물에 의한 화합물의 독성감소 작용으로 추정되며[34], 상기의 연구들에서는 액체 배지내 acylation 반응생성물이 지속적으로 축적됨에 따라 dead-end 물질로 인식되었다. 최근 혐기성/호기성 퇴비화 공법에 의한 TNT 오염토양의 처리를 한 결과, 19일 동안 실시한 혐기성 퇴비화에서는 환원전환물이 축적되었고, 호기성 퇴비화로 전환하자 토양 내에서 4-acetylamino-2-hydroxylamino-6-nitrotoluene, 4-FamANT 및 4-AcANT이 검출되었으나 58일



**Fig. 2.** The formylation of amino group in *Phanerochaete chrysosporium*. (After Michels and Gottschalk, 1996).

이내 99% 이상 소멸되었다[35].

### II-3. 진균류에 의한 TNT의 분해

TNT의 완전분해는 진균류를 이용한 실험에서 최초로 보고되었다. 상기에서 기술한 바와 같이 산화력이 강한 효소를 생산하는 진균류에서도 TNT의 초기 환원은 관측된다. NO<sub>2</sub>기의 환원이 발생하여 NHOH-dinitrotoluenes 혹은 NH<sub>2</sub>-dinitrotoluenes 등이 생성되면 그만큼 벤젠고리의 전자밀도부족을 감소시킴으로써 산화효소에 의한 분해가 용이하게 된다. 흰색 부후균인 *Phanerochaete chrysosporium*을 이용한 액체(100 mgTNT/L) 및 토양칼럼(10,000 mgTNT / Kg-soil) 실험에서 배양 90일 후 초기 TNT량의 18.4%와 19.6%가 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>로 방출되었다[36]. 이후, 진균류에 의한 TNT 분해에 관한 연구가 광범위하게 수행되었다. 그러나, Malt extract 0.02%와 24 mg/L의 TNT를 함유한 배양액에서는 *Phanerochaete chrysosporium*가 성장을 멈추었고 포자를 식중 한 실험에서도 20 mgTNT/L까지는 분해가 일어났으나, TNT의 농도가 높아지면 mycelium을 식중하여도 환원 반응만 발생하고 완전분해는 저해되었다[37]. 이는 후일 TNT의 환원물질인 4HA26DNT가 TNT를 분해하는 nonspecific lignin peroxidase의 저해물질로 작용하기 때문에 기인한 것으로 밝혀졌다[38]. 이 때문에 TNT의 농도가 높아지면 환원반응에 의하여 기질저해물질인 4HA26DNT가 높아지고, 물질의 독성과 완전분해에 의한 에너지 대사를 차단하여 *Phanerochaete chrysosporium*의 성장이 중단된다.

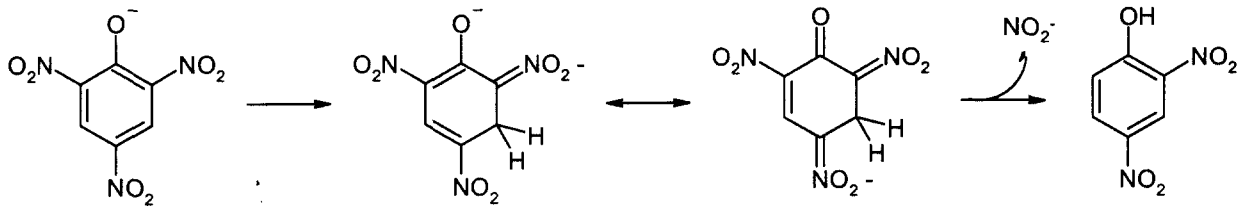
Scheibner et al.은 32속 91종의 진균류에 의한 TNT 분해를 연구하였는데, 대다수의 진균류에서 TNT의 monoamino-dinitrotoluenes로의 환원이 관측되었고, 특히 *Clitocybula dusenii* TMb12 및 *Stropharia rugosa-annulata* DSM11372는 100uM의 TNT를 64일 이내 각각 42% 및 36%를 완전분해하였다[39].

이외에도 *Phlebia radiata*에 의한 4HADNT의 생성과[40] *Ceratocystis coerulea*, *Lentinus lepideus* 및 *Trichoderma harzianum* 등의 진균류에 의한 TNT 및 DNT의 환원이 보고되었으나[41], 완전분해 및 관련 기전에 대하여는 명확히 제시하지 못하였다. 근래에 이르러, 흰색 부후균 *Bjerkandera adusta* DSM 3375에서(Mn II)-의존적 peroxidase의 발현은 충분한 질소원이 존재할 때 가능하며, <sup>14</sup>C-TNT의 완전분해율은 lignolytic peroxidase의 활성도에 비례하지 않는 것으로 보고하였다. 대신, TNT에 노출하지 않을 경우에는 cytochrome P-450이 검출되지 않고 저해기질인 piperonyl butoxide를 첨가할 경우 완전분해가 21%에서 0.9%로 급격히 감소하는 것이 관측되어 cytochrome P-450도 TNT의 분해에 직접적으로 연관되어 있음을 보였다[42].

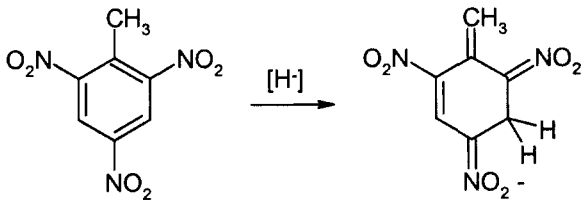
### II-4 미생물에 의한 TNT의 denitration 반응

박테리아에 의한 TNT 벤젠고리의 NO<sub>2</sub>기 제거에 대한 분해 기전은 드물게 보고되었다. *Pseudomonas fluorescens* B3468의 세포추출물에 NADP 및 FAD를 가하면 TNT가 2,4-DamNT로 전환되고, 2,4-DamNT로부터 phloroglucinol 및 pyrogallol이 생성되면서 30%의 질소가 배양액에서 검출되었다[43]. *Pseudomonas* sp. strain C1S1은 TNT를 단일 질소원으로 사용하여 성장하였으며, 또 다른 유사종 *Pseudomonas* sp. strain clone A에서는 NO<sub>2</sub>기가 제거된 2,4-dinitrotoluene, 2,6-dinitrotoluene, 및 2-nitrotoluene이 검출되었다[44]. 미국 Illinois주 Weldon Spring의 TNT로 오염된 토양 3g을 접종액으로 사용한 실험에서는 배양 후 35일내 초기농도 100 mgTNT/L의 11%가 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>로 검출되었다. 그러나, 초기에는 2amDNT 및 4amDNT가 검출되었고 4amDNT의 농도는 2amDNT 농도의 2배로 *para*-위치에서의 선택적 환원이 관측되어, 호기성 상태에서의 완전 분해시에도 TNT의 환원은 발생하는 것이 다시 확인되었다[45]. 동일한 혼합미생물을 사용한 계속되는 연구에서 배양액에 syringate 혹은 cellobiose를 첨가할 경우, TNT의 완전분해가 크게 감소하여 혼합미생물군은 TNT보다는 생물학적 분해가 쉬운 기질을 선택적으로 섭취하는 것을 보였다. 또한, 토양내 TNT 농도가 100mg/Kg 이상이거나, 혐기성 상태이거나, 반응조 상부의 head space를 순산소로 치환할 경우에도 완전분해가 저해되어, TNT의 분해는 호기성/혐기성 조건의 상호작용에 의하여 발생하는 것으로 제시하였다[46]. 이상과 같이 호기성 조건에서 TNT의 완전분해는 가능하고 이를 위해서는 denitration이 선행되어야 하지만, 이에 대한 명확한 분해 경로와 기전은 최근에야 밝혀지기 시작하였다.

Spain은 호기성 미생물에 의한 NACs의 분해 기전을 다음과 같은 5가지로 분류하였다[47]. i) amino-기로 환원되는 경우, ii) 일산소효소에 의한 epoxide 형성시 NO<sub>2</sub>기가 nitrate로 분리되며, 이에 해당되는 NACs는 2-nitrophenol, 4-nitrophenol, 4-chloro-2-nitrophenol 등과 같이 하나의 NO<sub>2</sub>기가 존재하는 화합물에 한한다. iii) 이산소효소에 의한 dihydroxy 중간산물이 형성되면서 NO<sub>2</sub>기가 nitrate로 분리된다. 이에 해당하는 화합물은 mononitrotoluene, dinitrobenzene 및 dinitrophenol이 있다. iv) 환원에 의하여 hydroxylamino-화합물이 형성되고, mutase의 작용에 의하여 암모니아가 방출되는 경우 및 v) Hydride-Meisenheimer 복합체의 형성에 의하여 denitration 되는 경우로 2,4-dinitrotoluene, trinitrophenol(picric acid) 및 TNT가 이에 속한다. Hydride-Meisenheimer 복합체의 형성은 TNT가 아닌 2,4-DNT 및 picric acid에서 먼저 발견되었다[48, 49]. 2,4DNT를 단일 질소원으로 사용하는 *Rhodococcus* strain의 변종이 2,4,6-trinitrophenol을 탄소원 및 질소원으로 사용하는 것이 발견되었는데, 배양액 내에 대사 산물인 붉은



**Fig. 3.** The Formation of H--Meisenheimer-σ-Complex from 2,4,6-trinitrophenol by *Rhodococcus erythropolis* HLP-1. (After Lenke et al., 1992).



**Fig. 4.** Formation of the H-TNT Complex. (After Vorbeck et al., 1994).

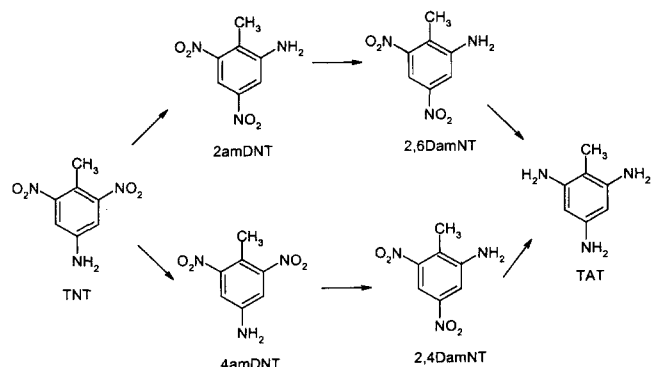
색 화합물이 Fig. 3과 같은 반응에 의해 발생하는 의한 H--Meisenheimer-σ-복합체인 것으로 추정되었으며 추가 연구에서 최종적으로 확인되었다[49, 50].

*Mycobacterium* sp. strain HL 4-NT-1은 원래 nitrotoluene을 단일질소원으로 이용하는 미생물이었으나 TNT 분해에 적용한 결과, 호기성 상태에서 TNT를 분해하였으며 대사산물로 검은 적갈색의 물질이 축적되었는데, <sup>13</sup>C-NMR 분석 결과 Fig. 4.과 같은 TNT의 hydride-Meisenheimer 복합체임이 확인되었다[51]. 이후에도 TNT의 denitration이 처음으로 보고되었던 *Pseudomonas* sp. clone A의 배양액에서도 H-Meisenheimer 복합체가 확인되었고, 화약류 오염토양에서 분리한 *Pseudomonas savastanoi*, Pentaerythritol trinitrate를 분해하는 미생물 *Enterobacter cloacae* PB2, picric acid 분해 미생물 *Rhodococcus erythropolis* HLP-1 및 *Pseudomonas* sp. JLR11 등도 동일한 기전을 가지고 있음이 확인되어 호기성 분해에서의 denitration 반응은 NACs를 이용하는 미생물들이 가지는 공통 기전으로 확립되었다[52, 53, 54, 55, 56]. 그러나, 상기에서 기술한 모든 연구에서도 2amDNT 및 4amDNT와 같은 TNT의 환원물질이 발견되었으며, 아직까지 TNT의 환원물질이나 azoxy 화합물을 미생물의 에너지 대사에 사용한다는 보고는 없었다. 그러므로 호기성 denitration은 미생물이 가지고 있는 다양한 대사 경로중의 일부에 속하며, 전체는 아닌 것에 유의하여야 할 것으로 사료된다.

### III. 혐기성 상태에서의 TNT의 환원

TNT의 혐기성 미생물에 의한 생물학적 전환경로는 Fig. 5와 같이 NO<sub>2</sub>기의 순차적 환원에 의한 2,4,6-triaminotoluene 생물산업

(TAT)의 생산 및 TAT에서의 Bamber rearrangement에 의한 NH<sub>2</sub>기 분리여부로 귀결된다[57]. TNT가 고도로 산화되어 있는 물질이므로 혐기성 미생물에 의하여 빠르게 환원된다. 그 중에서 황산염 환원균 *Desulfovibrio* sp. strain B가 TNT를 질소원으로 사용할 수 있는 것으로 보고되었으며, 배양액 내에서 toluene이 검출되었다[58]. 다른 황산염 환원균, *Clostridium pasteurianum* 및 *Clostridium thermoaceticum*에 의한 TNT의 환원 연구와 호소의 퇴적오니에서 분리한 *Methanococcus* sp. strain B에 의한 연구에서는 각각 TAT 및 2,4-DamNT의 검출이 보고되었다[59, 60]. 또 다른 혐기성 미생물에 의한 TNT 분해에서는 methyl-phloroglucinol 및 *p*-cresol이 검출되었다고 보고되었으나, 완전무기화는 미미하였으며, 추적자로 사용한 <sup>14</sup>C-TNT의 순도에 대한 보고가 없었다[27]. 이 연구에서 *p*-cresol의 발생은 Bamberger rearrangement에 의한 것으로 가정하였으며, *Clostridium bifermentans*를 이용한 연구에서는 TNT의 TAT로의 환원뿐 아니라, TAT의 가수분해에 의한 페놀 화합물 및 TAT와 pyruvic aldehyde의 중합체가 형성되는 것이 확인되었다[61]. 최근 *Clostridium acetobutylicum*을 이용한 TNT의 혐기성 분해에서 2,4-dihydroxylamino-6-nitrotoluene 이 검출되어 Bamberger rearrangement의 가능성을 확인하였다[62]. 그러나, 혐기성 조건에서도 완전분해는 드물게 보고되고 있다. Boopathy와 Kulpa는 *Desulfovibrio* spp.를 이용한 실험에서 <sup>14</sup>C-TNT의 28%가 acetic acid로 전환되었고, 49.6%가 trichloroacetic acid를 첨가하였을 때 침전하는



**Fig. 5.** Reduction of TNT under anaerobic conditions.

미생물내 생체물질로 전환되었으나  $^{14}\text{CO}_2$ 로는 전환되지 않았다고 하였다[60]. Hawari et al.에 의하면 혐기성 슬러지를 이용한 TNT의 환원실험에서 TAT가 생성되었으나 완전분해는 0.1%이하로 미미하였다[63]. 이와 더불어, TAT에서의 hydroxylation에 의한 페놀 화합물의 검출은 상온에서 배양액의 pH를 3으로 조절하거나, 호기성 조건으로 전환하였을 경우에만 가능하였으며, trihydroxytoluene의 생성은 100°C로 가열하여야만 일어난다고 보고하였다. 그러나, toluene 혹은 *p*-cresol은 전혀 검출되지 않아, 혐기성 슬러지에 대하여 TAT는 dead-end product라고 결론지었다. 호기성 TNT 전환에서 문제가 되는 azoxy-화합물 및 2,2',4,4'-tetraamino-6,6'-azotoluene과 2,2',6,6'-tetraamino-4,4'-azotoluene 등과 같은 azo-화합물은 혐기성 조건(pH 7.2)에서도 검출되는 것이 계속 보고되고 있다[27, 63]. 그러므로, 혐기성 조건에서도 가능하면 pH의 상승을 억제하는 것이 필요하다.

#### IV. 결론

이상과 같이 호기성 및 혐기성 미생물에 의한 TNT의 분해 경로를 간단히 살펴보았으나, 본 고찰에서 다루지 못한 많은 부분, 특히 토양내 입자 및 유기물과 TNT 및 TNT 전환산물과의 흡·탈착, 환원 및 sequestration 등에 대하여도 많은 연구가 진행되었다. 그러나, TNT의 구조적 특성으로 인하여 환원반응이 항시 발생하며 환원된 물질의 무생물학적 혹은 생물학적으로 매개된 중합반응이 발생하는 점과 TNT의 생물학적 불응성(recalcitrance)으로 인하여 호기성 조건에서는 acylation 및 denitration 반응이 혐기성에서는 Bamber rearrangement 및 dydroxylation 반응이 일어나는 등, 매우 다양한 분해 경로와 전환기전이 발생한다. 그러므로 특정 조건하에서 특정 미생물을 사용한 TNT의 완전분해 혹은 완전 무독화를 기대하기가 어렵다.

최근의 연구에 의하면 TNT로 오염된 토양을 혐기성 생물학적 공법을 적용하여 TNT를 완전히 환원시킨 뒤, 호기성 공법으로 처리할 경우, 토양입자에 물리적으로 부착된 TNT 대사물질의 양을 감소시킬 수 있으며, 혐기-호기 공법을 적용하였을 경우 84%가 humification 이 된 반면[64], 혐기성 공법만 적용하였을 경우에는 57%만이 humification되었다[65]. 그러므로 TNT로 오염된 자연환경의 복원을 위해서는 완전분해보다는 무독성화 혹은 인간 및 자연 생태계에 대한 위해도(risk) 감소의 방향으로 정책을 설정하는 것이 보다 효과적일 수 있다. 또한, 고농도로 오염된 경우, treatment train의 개념을 적용하여 물리화학적 방법을 사용하여 TNT의 구조를 변화시킨 후, 생물학적 복원공법을 사용하는 것도 매우 바람직할 것으로 사료된다.

#### 참고문헌

- Schackmann, A., and Muller, R.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **34**, 809 (1991).
- Bruhn, C., Lenke, L., and Knackmuss, J.J.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 208 (1987).
- Patterson, J. W. and P. S. Kodukala.: *Chem. Eng. Prog.*, **77**, 48 (1981).
- Won, W.D., Disalvo, L.H., and Ng, J.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **31**, 576 (1976).
- Lachance, B., Robidoux, P.Y., Hawari, J., Ampleman, G., Thiboutot, S., and Sunahara, G.I.: *Mutation Research*, **444**, 25 (1999).
- Klausmier, R.E., Osmon, J.L., and Walls, D.R.: *Develop. Indus. Microbiol.*, **15**, 309 (1973).
- Sabbioni, G., Wei, J., and Liu Y.-Y.: *Journal of Chromatography B*, **682**, 243 (1996).
- Tsai, T.S., Turner, R.J., and Saville, C.J. *Biotreatment of red water with fungal systems*, Department of Energy Report DE 91-00650, USA (1990).
- Roberts, W.C.: *Data Summary for Trinitrotoluene*, US Army Medical Bioengineering Research and Development Laboratory, Technical Report 8611, (1986).
- Smock, L.A., Stoneburner, D.L., and Clark, J.R.: *Water Research*, **10**, 537 (1982).
- Pallazzo, A.J. and Leggett D.C.: *J. Environ. Qual.*, **15**, 49 (1986).
- Peterson, M.M., Horst, G.L., Shea, P.J., Comfort, S.D., and Peterson, R.K.D.: *Environ. Pollut.*, **93**, 57 (1996).
- Gong, P., Wilke, B.-M., and Fleischmann: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **36**, 152 (1999).
- Spanggord, R.J., Mills, T., Chou, T.-W., Maybe, W.R., Smith, J.H., and Lee S. *Environmental fate studies on certain munition wastewater constituents: Final report, phase I-literature review*, SRI International Project No. LSU-7934, USA (1980).
- Pennington, J.C.: *Adsorption and Desorption of 2,4,6-trinitrotoluene by Soils*, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, WESTREL 8717, (1987).
- U.S. EPA: *Drinking water standards and health advisories*, EPA 822-B-00-001, USA (2000)
- Urbanski, T.: *Chemistry and Technology of Explosives*, Pergamon Press Ltd, London (1963).
- Bartha, R.: *Isolation of Microorganisms That Metabolize Xenobiotic Compounds in Biotechnological Organisms in Nature*, Labeda, D.P. Eds., McGraw-Hill Inc., New York (1990).
- Lenke, H., Achtnich, C., and Knackmuss, H.-J.: *Biodegradation of Nitroaromatic Compounds and Explosives*, Spain, J.C. Eds., Lewis Publishers, Boca Raton (2000).
- Tope, A.M., Kaiser J., and Baggi, T.R.: *J. of Haz. Sub.* Vol. 14, No. 4 (2001)

- Res.*, **2**, 1 (1999).
21. McCormick N.G., Cornell, J.H., and Kaplan, A.M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 945 (1978).
  22. Won, W.D., Heckly, R.H., Glover, D.J., and Hoffsommer, J.C.: *Appl. Microbiol.*, **27**, 513 (1974).
  23. Pasti-Grifsby, M.B., Lewis T.A., Crawford, D.L., and Crawford, R.L.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 1120 (1996).
  24. Kaplan, D.L. and Kaplan, A.M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, pp. 757-760 (1982).
  25. Kaplan, D.L. and Kaplan, A.M.: *Analytica Chimica Acta.* **136**, 425 (1982).
  26. Carpenter, D.F., McCormick, N.G., Cornell, J.H., and Kaplan A.M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 949 (1978).
  27. Funk, S.B., Roberts, D.J., Crawford, D.L., and Crawford, R.L.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 2171 (1993).
  28. Wang, C.Y., Zheng, D., and Hughes, J.B.: *Biotechnol. Letters*, **22**, 15 (2000).
  29. Gilcreze, P.C. and Murphy, V.G.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 4209 (1995).
  30. Bae, B., Autenrieth, R.L., and Bonner, J.S.: *Aerobic Biotransformation of Recalcitrant Organics*, Hinchee, R.E. Eds, Battelle, Columbus (1995).
  31. Bruns-Nagel, D., Breitung, J., Von Low, E., Steinbach, K., Gorontzy, T., Kahl, M., Blotevogel, K.-H., and Gemsa, D.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 2651 (1996).
  32. Michels, J. and Gottschalk, G.: *Biodegradation of Nitroaromatic Compounds*, Spain J.C. Eds., Plenum Publishing Co., New York (1995).
  33. Stahl, J.D. and Aust, S.D.: *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **192**, 471 (1993).
  34. Hsu, L., Jackowski, S., and Rock, C.O.: *Journal of Bacteriology*, **171**, 1203 (1989).
  35. Bruns-Nagel, D., Drzyzga J., Steinbach, K., Schmidt, T.C., Von Low, E., Gorontzy, T., Blotevogel, K.-H., and Gemsa, D.: *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 1676 (1998).
  36. Fernando, T., Bumpus, J.A., and Aust S.D.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1666 (1990).
  37. Spiker, J.K., Crawford, D.L., and Crawford, R.L.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 3199 (1992).
  38. Michels, J. and Gottschalk, G.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 187 (1996).
  39. Scheibner, K, Hofrichter, M., Herre, A., Michels, J., and Fritsche, W.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **47**, 452 (1997).
  40. Von Aken, B., Skubisz, K., Naveau, H., and Sgathos S.N.: *Biotechnology Letters*, **19**, 813 (1997).
  41. Samson, J., Langlois, E., Lei, J., Piche, Y., and Chenvert, P.: *Biotechnology Letters*, **20**, 355 (1995).
  42. Eilers, A., Rungeling, E., Stundl, U.M., and Gottschalk, G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **53**, 75 (1999).
  43. Naumova, R.P., Selivanovskaya, S.Y., and Mingatina, F.A.: *Mikrobiologiya*, **157**, 218 (1988).
  44. Duque, E., Haidour, A., Godoy, F., and Ramos, J.L.: *Journal of Bacteriology*, **175**, 2278 (1993).
  45. Bradley, P.M. Chaplle, F.H., Landmeyer, J.E., and Schumacher, J.E.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 2170 (1994).
  46. Bradley, P.M. and Chapelle, F.H.: *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 802 (1995).
  47. Spain, J.C.: *Biodegradation of Nitroaromatic Compounds and Explosives*, Spain, J.C. Eds., Lewis Publishers, Boca Raton (2000)
  48. Lenke, H., Pieper, D.H., Bruhn, C., and Knackmuss, H.-J.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2928 (1992).
  49. Lenke, H., and Knackmuss, H.-J.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2933 (1992).
  50. Rieger, P.-G., Preuss, A., Sinnwell, V., Francke, W., and Knackmuss, H.-J.: *Abstr. 94th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol.*, **Q-120**, 409 (1994).
  51. Vorbeck, C., Lenke, H., Fischer, P., and Knackmuss, H.-J.: *Journal of Bacteriology*, **176**, 932 (1994).
  52. Haidour, A. and Ramos, J.L.: *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 2365 (1996).
  53. Martin, J.L., Comfort, S.D., Shea, P.J., Kokjohn, T.A., and Drijber, R.A.: *Can. J. Microbiol.*, **43**, 447 (1997).
  54. French, C.E., Nicklin, S., and Bruce, N.C.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 2864 (1998).
  55. Vorbeck, C., Lenke, H., Fischer, P., Spain, J.C., and Knackmuss, H.-J.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 246 (1998).
  56. Esteve-Nunez, A. and Ramos, J.L.: *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 3802 (1998).
  57. Boopathy, R., and Kulpa, C.F., and Manning, J.: *Bioresources Technology*, **63**, 81 (1998).
  58. Boopathy, R. and Kulpa, C.F.: *Current Microbiology*, **25**, 235, (1992).
  59. Preuss, A., Fimpel, J., and Diekert, G.: *Arch. Microbiol.*, **159**, 345 (1993).
  60. Boopathy, R., and Kulpa, C.F.: *Can. J. Microbiol.*, **40**, 273 (1994).
  61. Lewis, T.A., Goszczynski, Crawford, R.L., Korus, R.A., and Admassu, W.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 4669 (1996).
  62. Hughes, J.B., Wang, C., Yesland, K., Richardson, A., Bhadra, R., Bennett, G., and Rudolph, F.: *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 494 (1998).
  63. Hawari, J., Halasz, A., Paquet, L., Zhou, E., Spencer, B., Ampleman, G., and Thiboutot, S.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 2200 (1998).
  64. Achtnich, C., Lenke, H., Klaus, U., Spiteller, M., and Knackmuss, H.-J.: *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3698 (2000).
  65. Drzyzga, O., Bruns-Nagel, D., Gorontzy, T., Blotevogel, K.-H., Gemsa, D., and Von Low, E.: *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 3529 (1998).