〈論 文〉

嫌気性集積培養菌を用いた テトラクロロエチレン汚染土壌の修復

小 松 俊 哉* 土 肥 剛** 桃 井 清 至*

Anaerobic Bioremediation of Tetrachloroethylene-contaminated Soil by Using an Anaerobic Enrichment Culture

Toshiya KOMATSU*, Tsuyoshi DOHI** and Kiyoshi MOMONOI*

* Department of Civil and Environmental Engineering, Nagaoka University of Technology, 1603-1 Kamitomiokamachi, Nagaoka, Niigata 940-2188 Japan

** DIA Consultants Co., Ltd., 3-1-2 Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo 171-0014 Japan

Abstract

The solvent tetrachloroethylene (PCE), a common soil contaminant, can be completely dechlorinated to ethylene and ethane by microorganisms under anaerobic conditions. Ethylene and ethane are harmless and environmentally acceptable products. This study was conducted to investigate factors influencing on an anaerobic bioremediation of PCE-contaminated soil.

An anaerobic enrichment culture, which is capable of dechlorinating PCE completely, sustained its transformation ability in the presence of soil, although the activity was lowered. Addition of the enrichment culture was indispensable for progressing complete dechlorination of PCE in actual contaminated soils. PCE contained in soil was first leached to liquid-phase and then dechlorinated. Therefore, desorbing rate of PCE from soil was an important factor in the bioremediation. PCE was also dechlorinated to ethylene and ethane under the condition of low liquid/solid (L/S) ratio of 0.2 l·kg⁻¹ by adding the enrichment culture.

Key words: soil contamination, tetrachloroethylene, anaerobic bioremediation, enrichment culture, ethylene

1. はじめに

国内においてテトラクロロエチレン(PCE), トリクロロエチレン(TCE)等の塩化エチレン類による広範囲の地下水汚染が判明してから既に十数年以上が経過しているが、依然として汚染が継続している状況にある¹⁾。これらの物質による地下水汚染は、もとを辿れば土壌汚染に起因しており、汚染土壌の修復を行うことによって、土壌汚染の解決のみならず、地下水汚染の未然防止も図れると考えられる。

塩化エチレン類によって汚染された土壌の修復では、最終的には汚染物質を分解して無害な化合物に転換させる必要がある。種々の無害化技術の中で、微生物の持つ化学物質分解能を利用した環境修復技術(バイオレメディエーション)は、浄化に要するエネルギーが少なく経済的である、二次廃棄物の生成量が少ない、原位置で浄化を行える、等のメリットを持ち^{2~4)}、新たな対策技術として期待されている。

汚染物質の微生物分解プロセスには、好気性微生物による分解と嫌気性微生物による分解とがあるが、PCEは嫌気条件下でのみ微生物分解が可能であるため^{5,6)}、PCE汚染のバイオレメディエーションには嫌気プロセスの適用が不可欠である。PCEの嫌氣的生分解は分子中の塩素が順次水素で置換される還元的脱塩素反応で転換が進み、TCE、ジクロロエチレン(DCE)、塩化ビニル(VC)を経て無害なエチレンにまで完全に脱塩素される^{7~9)}。エチレンはさらに水素付加反応によってエタンに転換する^{10~12)}。この一連の反応にはエレクトロンドナーが必要であり、その直接のエレクトロンドナーは水素と推定されている^{9,13,14)}。

嫌気条件下において土壌中のPCE, TCEの転換を促進させるには、水素を生成する有機物の添加が必要である。さらに、土着微生物、すなわち土壌中に元来含まれていた微生物群がエチレンまでの転換能を有していたという報告は殆どないため、転換をエチレンまで進行させるには、エチレンまでの転換能を持つ培養微生物群を添

* 長岡技術科学大学環境・建設系 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1

** (株)ダイヤコンサルタント 〒171-0014 東京都豊島区池袋3-1-2

加する必要性も生じると考えられる。しかし、外部から添加した培養微生物群は、土着微生物との競合等が原因で土壌中では活性を保てない可能性もある。

本研究では、PCE 汚染土壌の嫌気性生物修復に及ぼす諸因子の影響を実際の汚染土壌を用いて検討した。とりわけ、上記の点に鑑み、独自に培養している PCE を高速度でエチレンまで転換する嫌気性集積培養菌¹¹⁾の添加の有効性について重点的に検討した。

2. 実験材料と方法

2.1 嫌気性集積培養菌

実験に用いた嫌気性集積培養菌は半連続培養によって得たものである。培養は、以前行った PCE 分解菌の集積培養を目的とした半連続培養¹¹⁾と同様に、培養量を 500 ml とし、培養量の 20% について適宜 fill & draw を行った。Table 1 に基質組成 (全液量を基準とした添加濃度) を示す。以前の基質組成と比べて、エタノール、酵母エキスの濃度は同一だが、PCE 濃度は 2 倍の $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ である。エレクトロンドナーとして用いたエタノールの COD 当量は、PCE を完全にエチレンに還元するために必要な理論的 COD 当量の約 13 倍に相当する。fill & draw の方法も全く同様であるが、その間隔は 10~14 日に 1 回とした。半連続培養において、添加した PCE は各バッチ期間内にほぼ完全にエチレンに転換した。一方、バッチ期間内でのエタンへの転換量は僅か (0.1mg as $\text{PCE}\cdot\text{l}^{-1}$ 程度以下) であった。なお、途中蓄積した DCE は、ほぼ全量 (95% 以上) が *cis*-1, 2-DCE であった。また、各バッチ期間内で、添加 COD は、PCE の転換に用いられた当量を除くと 90% 以上がメタンに転換し、培養液中に有機物の蓄積は殆ど見られなかった。実験時には培養は定常状態に達しており、用いた集積培養菌の VSS 濃度は約 $50\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ であった。

塩化エチレン類の嫌氣的生分解は、以前はメタン生成菌⁷⁾やホモ酢酸生成菌^{8,15)}などの共代謝反応によって進行すると考えられてきたが、現在では、水素をエレクトロンドナー、PCE 等を最終エレクトロンアクセプターとする還元的脱塩素反応によって増殖エネルギーを獲得する“Halorespiring bacteria” (有機ハロゲン呼吸菌) の存在も知られるようになった^{14,16,17)}。そのような機構で PCE

をエチレンまで単独で還元できる嫌気性細菌も分離されている¹⁷⁾。本集積培養系の脱塩素細菌群も、PCE 添加濃度を高くした場合に分解速度が上昇したことから¹⁸⁾、PCE 等を最終エレクトロンアクセプターとしていたと考えられる。

2.2 土 壤

非汚染土壌として、山林から採取した土壌 (土壌 A) および畑地から採取した土壌 (土壌 B) を用いた。汚染土壌として、いずれも PCE を使用していた工場敷地から採取した砂質土壌 (土壌 C)、および有機分に富むシルト状土壌 (土壌 D) を用いた。全ての土壌は地表面の数十 cm の深さの地点から採取したものである。各土壌の含水率および強熱減量は、土壌 A: 30%, 6.2%, 土壌 B: 19%, 6.3%, 土壌 C: 7.0%, 0.9%, 土壌 D: 20%, 17.3% であった。含水率と強熱減量の測定は一般的な土壌分析方法¹⁹⁾に従った。また、汚染土壌の PCE 含有量を浦野の方法²⁰⁾に基づき、抽出溶媒としてエタノールを用いて測定した。PCE 含有量は土壌 C では $90\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、土壌 D では $80\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ であった。ただし、低水分条件での修復実験に用いた際の土壌 C では、土壌の別部分を用いたため PCE 含有量は $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ であった。

2.3 土壌を用いた実験の手順

全ての実験において土壌は湿重を基準として投与した。実験は、内容積が 68ml のバイアルで行い、バイアルに土壌と集積培養菌混合液を入れた後に気相部を窒素ガスでパージし、テフロンコートブチルゴムで密栓した。集積培養菌を添加しない系の場合は、Table 1 に示した半連続培養での無機培地 (酵母エキスは含む) を土壌に添加した。全系において密栓後にエレクトロンドナーとしてエタノールをシリンジで注入し、 25°C で静置培養した。初期 pH は 7.5 程度となるように NaOH で調整した。

2.4 非汚染土壌を用いた実験

この実験は、土壌が存在した場合に集積培養菌の PCE 転換活性がどの程度影響を受けるのかを検討するために行ったもので、二種類の非汚染土壌 (土壌 A, B) を用いた。土壌が存在しない系を対照系とし、対照系では、集積培養菌混合液 (VSS 濃度: 約 $50\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) 50ml にエタノール $100\text{mgCOD}\cdot\text{l}^{-1}$ 、PCE $10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ を投与した。土壌添加系では、液相部基準のエタノール濃度、PCE 濃度、集積培養菌添加量を同一として、集積培養菌量に対する土壌添加量、すなわち土壌投与負荷を 3 段階 (0.8 , 4 , $20\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$) に変化させた。

2.5 汚染土壌の修復実験

2.5.1 集積培養菌の投与効果の検討

実際の汚染土壌である土壌 C、土壌 D を用いて、土壌に集積培養菌を添加した条件 (培養菌添加系) と土壌のみを添加した条件 (培養菌無添加系) の 2 系列を各々設定した。2 g の土壌に 50ml の集積培養菌混合液 (VSS 濃度: 約 $50\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) または無機培地 (酵母エキスは含む) を添加した。エタノールは $100\text{mgCOD}\cdot\text{l}^{-1}$ 添加した。この条件は、非汚染土壌を用いた実験における土壌投与負荷 $0.8\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ の場合の条件と同一である。

2.5.2 低水分条件での修復実験

低水分条件における転換の進行程度を検討するため、汚染土壌 C 50g に対して液量 10ml の条件とした (固液比

Table 1 Medium constitutions of a completely-PCE-dechlorinating enrichment culture ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	100 (as COD)
PCE	20
yeast extract	5
NaHCO_3	200
K_2HPO_4	280
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	29
KCl	30
NH_4Cl	35
$\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	33
$\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	17
$\text{CoCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.8
$\text{CaCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	6

$0.2/\text{kg}^{-1}$)。この実験は集積培養菌を添加した条件のみで行った。集積培養菌は混合液を遠心分離(3500rpm, 10 min)して上澄みを除去後に投与した。集積培養菌, エタノールの添加量は土壌量に対して各々 $50\text{mgVSS}\cdot\text{kg}^{-1}$ (土壌投与負荷 $20\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ に相当), $400\text{mgCOD}\cdot\text{kg}^{-1}$ とした。

2.6 分析方法および物質収支のとり方

土壌を用いた実験での主な分析項目は塩化エチレン類, エチレン及びエタン, ガス組成である。これらの分析方法は既報¹³⁾と概ね同様であり, バイアルの気相部の一定量をガスクロマトグラフで測定した。

土壌を用いた実験では, バイアル内で固相(土壌部分), 液相, 気相が存在するが, 固相が存在しても塩化エチレン類は気相・液相間において Henry 型の平衡が成立する²¹⁾と仮定した。この仮定をもとに, 汚染土壌を用いた実験では気相部, 液相部を合計した塩化エチレン類及びエチレン・エタンの存在量を求め, 元の含有量と直接比較できるように土壌重量当たりの量に換算して表した。一方, 非汚染土壌を用いた実験では測定濃度を液相部基準に換算した。

土壌中の塩化エチレン類の含有量(または残存量)は, エタノール抽出後の試料をヘキサンに転溶した後, ガスクロマトグラフにより測定した(検出器 ECD, キャピラリーカラム DB-608)。

3. 結果および考察

3.1 集積培養菌の PCE 転換活性に及ぼす土壌の存在の影響

Fig. 1 に対照系, 及び土壌 A を用いた場合の各土壌投

与負荷での PCE の転換を対数表示濃度で示す。土壌投与負荷が $0.8\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ では, 対照系と比較すると僅かにエチレン(ETY)への転換速度が低下したものの, ほぼ同レベルと言える。一方, 土壌投与負荷が高くなるにつれて, 転換物質の生成量が少なくなり, 土壌の存在によって集積培養菌の活性が低下したことがわかる。また, 土壌投与負荷が高い場合, 初期において PCE の濃度低下が大きい, これは土壌への吸着に起因すると考えられる。図示はしないが, 土壌 B を添加した場合も同様の活性低下傾向を示した。

実験結果をまとめて, Fig. 2 に PCE 転換活性を, Fig. 3 にエチレン生成活性を示す。PCE 転換活性, エチレン生成活性は, 各々 2 日, 4 日までのデータを用いた。なお, 上述したように土壌への吸着があるため, 土壌投与負荷が 4, $20\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ の場合の PCE 転換活性は, PCE の転換物質の合計量を PCE 転換量とみなして算出した。土壌 A の場合, 土壌投与負荷が $0.8\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ では, 対照系と殆ど変わらないのに対して, $4\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ になると, 両活性ともに 10%程度に低下し, さらに $20\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ では, PCE 転換活性, エチレン生成活性は, 各々約 1%, 約 2%となった。また, 土壌 B についても近い結果が得られたことがわかる。

以上から, 本集積培養菌は, 土壌投与負荷が高くなるほど活性が低下するものの, $20\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ の高負荷条件の場合においてもエチレンまでの転換能力は失われないことが判明した。しかし, 土壌添加系での転換は土着微生物の働きによる可能性もあるため, 集積培養菌を投与しない土壌単独の系も設定し(土壌投与負荷 $20\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ に相当する条件), PCE の転換を比較した。

Fig. 1 Effect of soil A addition on PCE dechlorination by the enrichment culture.

(A) control (soil not added) (B) soil load $0.8\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ (C) soil load $4\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ (D) soil load $20\text{kg}\cdot\text{soil}\cdot\text{gVSS}^{-1}$

Fig. 2 Effect of soil load on PCE transformation activity by the enrichment culture.

Fig. 3 Effect of soil load on ethylene production activity by the enrichment culture.

その結果、土壌単独系では、7日後において添加 PCE に対して0.5%未満の TCE、DCE が生成したのみであった。従って、エチレンまでの転換の進行には集積培養菌の添加が不可欠であったことが確認された。

3.2 汚染土壌の修復における集積培養菌の投与効果

土壌 C を用いた場合の PCE の転換結果を Fig. 4 に、土壌 D での結果を Fig. 5 に示す。土壌 C を用いた場合、培養菌無添加系では、汚染土壌中の PCE は徐々に土壌間隙水中に溶出したが、転換は全く進行しなかった。これに対して、培養菌添加系では実験初期から PCE の転換により TCE、DCE、VC が生成し、さらに数日目以降は殆どエチレン (ETY) しか検出されなかった。土壌 D を用いた場合にも、分解菌添加系では、土壌 C の場合と比べると PCE の溶出速度は遅いものの、溶出した PCE はすぐに転換され、6 日目以降からエチレン (ETY) が生成し、さらに20日目以降からはエタン (ETA) も若干生成した。一方、培養菌無添加系においても DCE (ほぼ全量が *cis*-1, 2-DCE) までの転換は進行したことから、土壌 D 中には DCE までの分解微生物が含まれていたと考えられる。なお、DCE までの転換能を有する土壌が頻繁に見出されることは多数報告されている^{5,22~24)}。

培養菌添加系において、土壌 C の場合は21日目までに約58mg·kg⁻¹ (含有量の約64%)、土壌 D の場合は31日目までに約38mg·kg⁻¹ (含有量の約48%) の PCE が無害化

Fig. 4 Effect of the enrichment culture addition on PCE transformation in a PCE-contaminated soil C. PCE content of the soil was 90mg·kg⁻¹. (A) the enrichment culture added (B) the enrichment culture not added

されたことになり、本集積培養菌は実際の汚染土壌の修復にも有効であることがわかった。しかし、土壌 C を用いた実験で、21日目にバイアルを開封して土壌中の残存量を測定した結果、PCE、TCE、DCE について各々約34, 0.4, 0.1 (mg as PCE·kg⁻¹) であったことから、水中に溶出しにくい状態では転換が殆ど進行しないことが判明した。

土壌 C を用いた実験と土壌 D を用いた実験では、実験条件(土壌量、液量、培養菌量、エレクトロドナー量)が同じであり、PCE 含有量も同レベルにもかかわらず、20日前後までのエチレンの生成速度(土壌 D ではエタンを含めた生成速度)は土壌 C の方が2倍程度大きくなっている。これは前述のように PCE の溶出速度の差に起因していると考えられる。従って、実際の汚染土壌の修復では、土壌からの汚染物質の溶出挙動も修復効率に大きく影響を与えることが示唆される。なお、土壌 D は強熱減量が非常に大きい土壌である。一般に土壌中の有機炭素量が多いほど PCE 等の吸着量が増加することが報告されており²⁵⁾、また強熱減量と有機炭素量は正の相関関係がある¹⁹⁾。従って、土壌 D は PCE の吸着性が大きく、土壌中の PCE が水中に溶出しにくいものと考えられる。

次に、培養菌無添加系と培養菌添加系の全溶出量を比較すると、土壌 C、土壌 D とともに、培養菌添加系の方が

Fig. 5 Effect of the enrichment culture addition on PCE transformation in a PCE-contaminated soil D. PCE content of the soil was 80mg·kg⁻¹. (A) the enrichment culture added (B) the enrichment culture not added

溶出量が多かったことがわかる。この原因として、培養菌添加系ではPCEの転換が進行したことにより、PCEが土壌から水中に溶出されやすい状態になったことが考えられる。このように、転換の進行によって溶出量が増大することは半連続の土壌カラム試験においても報告されている⁵⁾。

一方、エレクトロンドナーとして添加したエタノール(100mgCOD·l⁻¹)の転換状況であるが、先ずメタン生成については、培養菌添加系では初期から進行し10日目頃までにほぼ完了したが、培養菌無添加系ではメタン生成が起きなかった。培養菌添加系での実験終了時における累積のメタン生成量は、土壌Cでは約52mgCOD·l⁻¹、土壌Dでは約30mgCOD·l⁻¹であった。一方、実験終了時に上澄み部分のCODを実測した結果、土壌C、土壌Dともに約10mgCOD·l⁻¹であった。従って、添加したCODに対する収支が低く、特にそれが土壌Dの場合に顕著であったことがわかる。この原因として、土壌への有機物の吸着、あるいは無機物の還元によるCOD消費(例えば硫酸還元菌の作用)などが考えられる。

3.3 低水分条件での汚染土壌の修復効果

Fig. 6に低水分条件での修復実験におけるPCEの転換結果を示す。溶出したPCEは10日程度でDCEに転換され、VCを経て、50日目以降エチレン(ETY)が、80日目以降エタン(ETA)が生成した。実験終了時までの

Fig. 6 PCE transformation in a PCE-contaminated soil C under the condition of low liquid/solid (L/S) ratio of 0.2l·kg⁻¹. PCE content of the soil was 5mg·kg⁻¹.

エチレン、エタンの生成量は約1.4mg as PCE·kg⁻¹であった。従って、低水分条件においても、集積培養菌を添加することにより、溶出したPCEは、エチレン、エタンへ転換可能であることがわかった。しかし、土壌投与負荷が高かったために転換に長期間要したと考えられる。

実験終了時において土壌中のPCE残存量を測定した結果、約3.7mg·kg⁻¹であり、また転換物質は検出されなかった。このように低水分条件では、水中に溶出したPCEの絶対量が少なかったことがわかる。この実験に用いた土壌Cは、前述の修復実験に用いた土壌CとはPCE含有量が大幅に異なるため、溶出挙動に及ぼす固液比の影響を考察することはできない。今後、各種の汚染土壌からのPCEの溶出されやすさを予測する指標の検討とともに、固液比が溶出挙動に及ぼす影響について検討が必要であると考えられる。

4. ま と め

PCE汚染土壌の嫌気性生物修復に影響を及ぼす諸因子を、PCEを高速度でエチレンに転換する嫌気性集積培養菌(VSS濃度:約50mg·l⁻¹)の添加の有効性を中心に検討した結果、以下のことが明らかになった。

1) 集積培養菌のPCE転換活性及びエチレン生成活性は、土壌投与負荷が高くなるほど低下したが、20kg-soil·gVSS⁻¹の高負荷条件の場合にもエチレンまでの転換能力は失われなかった。

2) 実際の汚染土壌を用いた場合にも、集積培養菌無添加系ではDCE以降の転換が全く起きなかったのに対して、集積培養菌添加系ではエチレン、エタンへの転換が進行した。

3) 土壌中のPCEの転換は、PCEが土壌間隙水中に溶出後に進行した。従って、土壌からの汚染物質の溶出挙動も修復効率に大きく影響を与えることが示唆された。

4) 固液比が0.2l·kg⁻¹の低水分条件においても、集積

培養菌を添加することにより、汚染土壌から溶出したPCEはエチレン、エタンへ転換した。

以上の結果より、塩化エチレン類によって汚染された土壌の嫌気性生物修復を行う場合、汚染土壌に水を加えてスラリー状にした後に生物反応を行わせるスラリーバイオリアクターの適用が効果的であると予想される。今後、汚染土壌の種類、及びリアクターにおける固液比条件が塩化エチレン類の溶出挙動に及ぼす影響について検討することが重要と考えられる。

(原稿受付 1999年8月31日)

(原稿受理 2000年1月27日)

引用文献

- 1) 環境庁編 (1999) 平成11年版環境白書-総説, 大蔵省印刷局。
- 2) 菊地亮一 (1994) 有機塩素化合物で汚染された地下水の修復技術, 用水と廃水, **36**, 693-702。
- 3) 矢木修身, 内山裕夫 (1995) 新しい環境浄化技術-バイオレメディエーション, 造水技術, **21**, 28-34。
- 4) 西村実 (1997) 有機塩素化合物汚染土壌・地下水のバイオレメディエーション, 水環境学会誌, **20**, 81-85。
- 5) 徳永隆司, 花嶋正孝, 松藤康司, 世良暢之, 永淵義孝, 北森成治, 古川謙介 (1998) テトラクロロエチレン汚染土壌の生物処理実験, 廃棄物学会誌, **9**, 198-207。
- 6) 沼田雅彦, 松浦健一, 結城由美子 (1999) 嫌気・好気直列バイオリアクターを用いたテトラクロロエチレンの連続分解, 水環境学会誌, **22**, 485-490。
- 7) Freedman, D.L. and Gossett, J.M. (1989) Biological reductive dechlorination of tetrachloroethylene and trichloroethylene to ethylene under methanogenic conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, **55**, 2144-2151。
- 8) DiStefano, T.D., Gossett, J.M. and Zinder, S.H. (1991) Reductive dechlorination of high concentrations of tetrachloroethene to ethene by an anaerobic enrichment culture in the absence of methanogenesis, *Applied and Environmental Microbiology*, **57**, 2287-2292。
- 9) DiStefano, T.D., Gossett, J.M. and Zinder, S.H. (1992) Hydrogen as an electron donor for dechlorination of tetrachloroethene by an anaerobic mixed culture, *Applied and Environmental Microbiology*, **58**, 3622-3629。
- 10) de Bruin, W.P., Kotterman, M.J.J., Posthumus, M.A., Schraa, G. and Zehnder, A.J.B. (1992) Complete biological reductive transformation of tetrachloroethene to ethane, *Applied and Environmental Microbiology*, **58**, 1996-2000。
- 11) 小松俊哉, 島崎晴一, 桃井清至, 原田秀樹 (1996) テトラクロロエチレンの分解除去を目的とした嫌気性汚床のスタートアップと処理特性, 水環境学会誌, **19**, 465-472。
- 12) Komatsu, T., Shinmyo, J. and Momonoi, K. (1997) Reductive transformation of tetrachloroethylene to ethylene and ethane by an anaerobic filter, *Water Science and Technology*, **36**(6-7), 125-132。
- 13) 小松俊哉, 桃井清至, 松尾友矩, 花木啓祐 (1995) *cis*-1,2-ジクロロエチレン分解嫌気性菌の集積培養, 水環境学会誌, **18**, 396-404。
- 14) Holliger, C., Schiraa, G., Stams, A.J.M. and Zehnder, A.J.B. (1993) A highly purified enrichment culture couples the reductive dechlorination of tetrachloroethene to growth, *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 2991-2997。
- 15) 小松俊哉, 桃井清至, 松尾友矩, 花木啓祐 (1995) *cis*-1,2-ジクロロエチレン分解嫌気性集積培養菌の水素利用機構, 水環境学会誌, **18**, 569-575。
- 16) MaCarty, P.L. (1997) Breathing with chlorinated solvents, *Science*, **276**, 1521-1522。
- 17) Maymo-Gtell, X., Chien, Y., Gossett, J. M. and Zinder, S. H. (1997) Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethane, *Science*, **276**, 1568-1571。
- 18) 小松俊哉, 新明淳, 桃井清至 (1996) 嫌気性微生物によるテトラクロロエチレンの無害化に影響を及ぼす因子について, 廃棄物学会第7回研究発表会講演論文集, 896-898。
- 19) 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命科学専攻・応用生命工学専攻編 (1995) 実験応用生命科学。
- 20) 浦野紘平 (1994) 土壌・地下水汚染の調査・測定方法, 水環境学会誌, **17**, 81-85。
- 21) 渡邊隆史, 神子直之, 浦野紘平 (1997) 揮発性有機化合物の土壌-空気間, 土壌-水間平衡の解析, 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会第5回講演集, 197-200。
- 22) 矢口久美子, 渡辺学, 平田一郎, 伊藤武, 濱田昭 (1991) 嫌気性土壌細菌によるテトラクロロエチレンの生分解に関する研究, 水質汚濁研究, **14**, 479-486。
- 23) 二宮勝幸, 酒井学, 柏木直久 (1992) テトラクロロエチレンの分解反応モデルを用いた地下水汚染解析方法, 水環境学会誌, **15**, 822-827。
- 24) 水嶋香織, 伊東清実, 山本淳, 近藤基一, 内山裕夫 (1999) 土壌より分離したPCE分解混合微生物系の継代培養とその諸性質, 水環境学会誌, **22**, 139-144。
- 25) 平田健正 (1989) 土壌中の揮発性有機塩素化合物の挙動, 水質汚濁研究, **12**, 693-698。