トリクロロエチレン分解細菌 *Methylocystis* sp. M株の 土壌カラム中における挙動のモデル化に関する研究

中 村 明 博* 栗 栖 太** 矢 木 修 身**

Modeling of Behavior of Trichloroethylene-degrading Bacteria *Methylocystis* sp. Strain M in Soil-Aquifer Column

Akihiro NAKAMURA*, Futoshi KURISU** and Osami YAGI**

* Department of Urban Engineering, School of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan

(Present Address: Ebara Corporation, 11-1 Asahi-tyo, Haneda, Oota-ku, Tokyo 144-8510, Japan)

** Research Center of Water Environment Technology, School of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan

Abstract

A Trichloroethylene(TCE)-degrading bacterium, *Methylocystis* sp. strain M, isolated from soil has a high TCE degradable activity. When we apply strain M for bioaugmentation, we have to know the behavior of this strain in the contaminant area. We investigated the movement of strain M in glass beads, sandy soil, andosol, and Kanuma soil using a soil-aquifer column. Strain M moved a little slower than NaCl through glass beads, sandy soil, and andosol. This indicated that the movement of strain M was not influenced by adsorption to such soils. In the case of Kanuma soil, strain M moved faster than NaCl. It seemed that the phenomenon was caused by the characteristic structure of Kanuma soil which results in a short-cut route for strain M. The breakthrough curves derived from the column experiments well fitted the one-dimensional transportation model, which reflected the advection, dispersion, and sorption. We can predict the movement of bacteria in groundwater using the transportation models.

Key words: bioaugmentation, transportation model, contaminated groundwater, column experiment, trichloroethylene

1. はじめに

トリクロロエチレン (TCE) 等の有機塩素化合物は、IC産業における洗浄剤や、ドライクリーニング等に広く利用されてきたが、廃棄物として貯蔵されていたものが地中に溶出し、地下水汚染を引き起こして問題になっている¹⁾。その対処法として、コストが安く広範囲の汚染に適しているという点で、外来の分解微生物を導入して汚染を浄化するバイオオーグメンテーション技術が注目されている²⁾。我々の研究室では、好気条件下でTCEを共代謝分解できる、*Methylocystis* sp. M株 (以下M株)³⁾を単離し、その諸性質を調べている。M株はバイアル瓶に砂質土壌とTCE溶液を封入した回分反応において、10ppmのTCEを24時間で90%以上分解できることを確認している。

バイオオーグメンテーション技術を効果的に行うためには、添加した微生物を汚染箇所が存在させることが重要になってくる。これまでに、土壌カラムや実土壌中の微生物の挙動に関する研究が行われ、地下水を移動する微生物は、土壌の粒径サイズ^{4)~6)}、比表面積⁴⁾、表面被覆物質

⁶⁾といった土壌由来の因子に影響を受けること、また、菌体サイズ^{5,7)}、運動性^{7,8)}、表面電荷^{9,10)}、濃度^{8,11,12)}、疎水性¹³⁾といった微生物由来の因子ならびに、地下水イオン強度^{5,6,12,14,15)}や、流速^{8,11,12)}等の現場条件由来の因子にも影響を受けることが報告されている。また、Corapciogluら¹⁶⁾は、地下水を移動する微生物の挙動を、移流・分散及び吸着を概念化した1次元物質移動モデルで表すことを試み、土壌カラム中及び実土壌中における微生物の挙動を表すことが可能であることを示した。しかし、各種の土壌を用いて、微生物の挙動について比較、検討した例はほとんど報告されていない。

本研究では、TCE分解細菌*Methylocystis* sp. M株を用いるバイオオーグメンテーション技術の適用に際して必要な基礎データを収集することを目的として、土壌カラムに3種類の土壌 (国内の典型的土壌である砂質土壌、黒ボク土壌、及び特殊な土壌である鹿沼土) を充填し、通過するM株の流出挙動を測定し、M株の挙動が1次元の物質移動挙動モデルで表現できるかを検討した。

* 東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻 〒113-8656 文京区本郷7-3-1 (現: (株)荏原製作所 〒144-8510 大田区羽田旭町11-1)

** 東京大学大学院工学系研究科附属水環境制御研究センター 〒113-8656 文京区本郷7-3-1

2. 実験方法

2.1 土壌カラム実験装置

土壌・地下水中のモデル系として、小型のガラス製カラムを作製した (Fig. 1: 内径5cm, 長さ14 cm, 容量230ml)。カラム充填材として、ガラスビーズ, 砂質土壌, 黒ボク土壌, 鹿沼土を用いた。ガラスビーズは, 平均粒径が5, 1, 0.2, 0.05mmの4種類を用意し, 10% HClに一晩漬けて洗浄してから使用した。砂質土壌は広島県で採取した川砂で, 平均粒径は0.4mmであり, 有機物含量は0.1%以下で, 純水で洗浄してから使用した。黒ボク土壌は, 東大農学部圃場より採取した土壌であり, 2mmのふるいにかけて夾雑物を取り除いて使用した。鹿沼土は園芸用のものを購入し, ふるいにかけて粒径が1.2~2mmのものを選別して使用した。土壌の特性をTable 1に示した。カラム実験は, 土壌及びガラスビーズをカラムに充填し, 安定するまで十分に通水した後, トレーサーとしてのNaCl溶液, 及びM株懸濁液を連続的に導入し, カラムを通過してきた流出水中の濃度を測定した。カラム内部でのショートカットを防ぐため, 上向流とした。

NaCl濃度は, 電気伝導度計 (Twin Cond : 堀場製作所) を用い, M株は, 充填材がガラスビーズ, 砂質土壌, および鹿沼土の場合は吸光度計 (OD₅₈₀) により測定した。黒ボク土壌を充填した場合は, 流出水が懸濁していたため, M株濃度は, 後述のReal-time PCR法により測定した。

2.2 供試菌体

供試菌体として, メタン資化性細菌 *Methylocystis* sp. M株を用いた。M株は, 北茨城市の土壌から単離された, 運動性を持たないグラム陰性の桿菌で, 大きさは (0.6~1.0) × (1.0~5) μmである。580nmにおける吸光度が1のとき (光路長1cm) の懸濁液濃度は5 × 10⁸ cells · ml⁻¹で, そのときの重量は0.52mg · ml⁻¹である。155mlバイアル瓶に無機塩培地 (MM培地, Table 2) 30mlを加えオートクレーブで

Fig. 1 Experimental set up for soil aquifer column

Table 1 Parameters of Soils

Soil Samples	Sampling Point	Diameter (mm)	Porosity (-)
Sandy soil	River at Hiroshima	0.4	0.45
Andosol	Field in Tokyo Univ.	-	0.7
Kanuma soil	Marketed Production	1.2~2.0	0.95

Table 2 Contents of Mineral Medium

NH ₄ Cl	2140 mg	*Trace metals (1L)	
K ₂ HPO ₄	1170 mg	MnSO ₄ · 5H ₂ O	60 mg
KH ₂ PO ₄	450 mg	H ₃ BO ₃	5 mg
MgSO ₄ · 7H ₂ O	120 mg	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	10 mg
FeSO ₄ · 7H ₂ O	28 mg	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	1 mg
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	4.8 mg	Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	60 mg
Trace metals*	10 ml	NiSO ₄ · 6H ₂ O	6 mg
Deionized water (pH=7.0)	1 L	CuSO ₄ · 5H ₂ O	6 mg

滅菌処理 (121℃, 15分) したものに植菌し, プチルゴム栓を及びアルミシールで密閉し, 空気を20ml吸引して系内を陰圧にした後同量のメタンガスを注入し, 30℃, 150rpmで数日間振とう培養を行い, 増殖した菌体を遠心分離により集菌し使用した。

2.3 Real-time PCR法によるM株の計数

2.3.1 サンプル調製

黒ボク土壌を充填したカラムを通過した試料中のM株をReal-time PCR法で測定する場合, 土壌中のフミン質がPCR反応を阻害するために感度が低下する¹⁷⁾。そこで, 試料を10倍の純水で希釈した。つぎにT. Kikuchiら¹⁸⁾に従い, 希釈後100 μlを1.5mlマイクロチューブに入れてDNAの抽出効率を高めるため5分間煮沸した後, 氷冷し, Real-time PCR用の試料とした。

2.3.2 PCR条件

Real-time PCRには, ABI PRISM®7000 Sequence Detection Systemを用いた。使用したプライマー及びプローブはKikuchiらにより開発されたものであり, それらをTable 3に示した¹⁸⁾。PCR試薬は, ABI社の「TaqMan Universal PCR Master Mix」を用いた。アニーリング温度についてはKikuchiら¹⁸⁾の条件に従い, その他のPCR反応温度条件についてはTaqMan Universal PCR Master Mixのプロトコルに従った。

2.3.3 検量線

土壌成分を含まない蒸留水中のM株懸濁液 (10⁶ cells/ml), および土壌浸透水で調整したM株懸濁液をReal-time PCRで測定した際の蛍光増幅曲線をFig. 2に示した。土壌成分を含む試料の場合は, 希釈を行わないと, フミン質のPCR阻害を受けるため, Fig. 2の△のように, DNAが定量に十分なだけ増幅しない。しかし, 希釈操作を行うことで, Fig. 2の□に示すように, DNAが指数関数的に増幅されるようになり, 計数が可能になる。検量線をFig. 3に示すが, 土壌浸透水の場合でも直線関係を示したが, 蒸留水の検量線

Table 3 Primers and Probe¹⁸⁾

primer or probe	sequence (5'→3')	Tm (°C)	location within rnmC
primer			
SF-1	GCGTCACCAATTATGAGGAGCTC	62	743~765
SR-3	CCGAGITTCGTCCTGCAGCAA	63	880~899
probe			
c821	AGATTGCGGTCTGTAATGTTTCGGAGp	70	821~846

Fig. 2 PCR amplification curves of leachate treated with and without dilution

Fig. 3 Standard curves of strain M in leachate and distilled water

とは一致しなかった。そのため、土壌浸透水の試料を Real-time PCR法で計数する場合、検量線には、蒸留水ではなく土壌浸透水で調整したM株懸濁液を用いた。

2.4 1次元物質移動モデル

本研究では1次元物質移動モデルを用いてカラム実験から得られたデータのフィッティングを行った。物質移動モデルは元来溶質の挙動をモデル化するために開発されてきたが、これを微粒子である微生物の挙動をモデル化することにも応用されてきている。最も簡単なモデルは、移流と分散のみを考慮した移流・分散モデル (Advection Dispersion Model: ADモデル) で、(1) 式で示した¹⁹⁾。

$$\frac{\partial C}{\partial T} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C}{\partial X^2} - \frac{\partial C}{\partial X} \quad (1)$$

ここで、Cは物質濃度 ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)、Tは無次元時間 (—)、Xは無次元距離 (—)、Peはペクレ数 (分散に対する移流の効果を表現したもの: —) である。NaClのように吸着性

がない物質の挙動はこの式で表現できる。

移流と分散に加え、吸着が物質移動に与える影響を遅延と1次損失項で表現したものが、移流・分散・吸着・1次損失モデル (Advection Dispersion Sorption -sink Model: ADS-sinkモデル) で、(2)、(3) 式に示した¹¹⁾。

$$\begin{cases} R \frac{\partial C}{\partial T} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C}{\partial X^2} - \frac{\partial C}{\partial X} - \phi C \\ R = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_d \end{cases} \quad (2)$$

$$R = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_d \quad (3)$$

ここで、Rは遅延係数 (—)、 ϕ は1次損失係数 (—)、 ρ は土壌バルク密度 ($\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)、 θ は土壌空隙率 (—)、 K_d は分配係数 ($\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$) である。このモデルでは、移動物質が土壌粒子に吸着する速度が流速に対して非常に速く、瞬間的に吸着平衡状態になると仮定している。1次損失には、移動物質の不可逆的な損失、すなわち吸着、間隙への捕捉、分解が含まれる。

移動物質が土壌粒子に吸着する速度がそれほど速くなく、流速による影響を無視できない場合は、(4)、(5) 式の吸着動力学モデル (Adsorption Kinetics Model: AKモデル) で表現できる²⁰⁾。

$$\begin{cases} \frac{\partial C}{\partial T} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C}{\partial X^2} - \frac{\partial C}{\partial X} - \frac{\rho}{\theta} \frac{\partial S}{\partial T} \\ \frac{\partial S}{\partial T} = \alpha (K_d C - S) \end{cases} \quad (4)$$

$$\frac{\partial S}{\partial T} = \alpha (K_d C - S) \quad (5)$$

ここで、Sは土壌表面に吸着している物質濃度 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、 α は吸着速度係数 (—) である。

これらいずれの式においても、Fig. 3のようなカラム実験装置に連続的に物質を添加したときの境界条件は、以下のように表せる。

$$C = 0 \quad (T=0) \quad (6)$$

$$C = C_0 \quad (T>0, X=0) \quad (7)$$

$$\left. \frac{\partial C}{\partial X} \right|_{X \rightarrow \infty, T} = 0 \quad (8)$$

各モデルの計算方法は、ADモデルとADS-sinkモデルは一般解が得られるため、一般解を用いた。ADモデルの一般解を(9)式に¹⁹⁾、 $\phi \neq 0$ のときのADS-sinkモデルの一般解を(10)式に示した²¹⁾。なお、 $\text{erfc}(x)$ は相補誤差関数であり、(11)式のように定義される。AKモデルは一般解が得られないため、差分法を用いて数値計算を行った。

モデルフィッティングは、カラム実験から得られたデータとモデル計算値から、最小二乗法によってモデルパラメータを決定した。

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{2} \left\{ \text{erfc} \left[\frac{X-T}{2\sqrt{\frac{T}{Pe}}} \right] + \exp(Pe \cdot X) \cdot \text{erfc} \left[\frac{X+T}{2\sqrt{\frac{T}{Pe}}} \right] \right\} \quad (9)$$

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \sqrt{1 + \frac{4\phi}{Pe}}} \times \exp\left(-\frac{1 - \sqrt{1 + \frac{4\phi}{Pe}}}{2} Pe \cdot X\right) \times \operatorname{erfc}\left(\frac{RX - T\sqrt{1 + \frac{4\phi}{Pe}}}{2\sqrt{\frac{RT}{Pe}}}\right) + \frac{1}{1 - \sqrt{1 + \frac{4\phi}{Pe}}} \times \exp\left(\frac{1 + \sqrt{1 + \frac{4\phi}{Pe}}}{2} Pe \cdot X\right) \times \operatorname{erfc}\left(\frac{RX + T\sqrt{1 + \frac{4\phi}{Pe}}}{2\sqrt{\frac{RT}{Pe}}}\right) + \frac{Pe}{2\phi} \times \exp\left(Pe \cdot X - \frac{\phi T}{R}\right) \times \operatorname{erfc}\left(\frac{RX + T\sqrt{1 + \frac{4\phi}{Pe}}}{2\sqrt{\frac{RT}{Pe}}}\right) \quad (10)$$

$$\operatorname{erfc}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x (-y^2) dy \quad (11)$$

3. 結果及び考察

3.1 ガラスビーズ中の流出挙動

ガラスビーズをカラムに充填し、NaCl及びM株懸濁液を流通した場合の流出液濃度の時間変化をFig. 4に示した。横軸はpore volumes (PV, カラム内充填材の空隙体積量に対する流入水量の比)、縦軸は相対濃度（流入濃度に対する流出濃度の比）で表示した。なお、カラム内部以外の空隙を考慮し、時間軸の補正を行った。NaClについては、どの粒径においても同一の結果であったため、Fig. 4には粒

Fig. 4 Breakthrough curves of NaCl and strain M through glass beads. The solid lines indicate ADS-sink model.

Table 4 Model parameters of ADS-sink model for grass beads experiment

Diameter (mm)	v (m·day ⁻¹)	Pe (-)	ϕ (-)	K_d (ml·g ⁻¹)	θ (-)
5	2.5	31.6	0.18	0.009	0.42
1	2.6	100	0.05	0.025	0.40
0.2	2.7	104	0.09	0.014	0.39
0.05	2.8	560	0.11	0.009	0.37

径0.2mmの場合を表示した。M株の流出挙動がNaCl（ADモデルで表せる）よりも遅れて破過し、また濃度が1に達しなかったため、ガラスビーズ中を移動する際に、M株はガラスビーズに吸着・脱着して遅延し、ガラスビーズの表面または隙間に捕捉されていると考えられた。そのため、ガラスビーズ中を移動するM株の挙動には、遅延と1次損失を表したADS-sinkモデルが適用できた。モデルパラメータをTable 4に示した。

M株の流出挙動は粒径によって変化し、ガラスビーズの粒径が大きいほど、流出が始まってから破過するまでの時間が長くなり、充填材による分散効果が高くなっていると考えられた。Bengtssonら (2001)⁴⁾ やHornbergerら (1992)⁶⁾ は、ふるいわけした砂質土壌を用いて、土壌細菌の挙動を測定し、土壌粒子が大きいほど分散が大きくなることを示した。M株の場合も同様の結果が得られた。

また、Bengtssonら (2001)⁴⁾ は、カラム実験から得られた破過曲線にADS-sinkモデルをフィッティングし、平均粒径350 μ mの砂質土壌において、分配係数 K_d は0.44 (ml·g⁻¹) という値が得られている。本研究と比較すると吸着による遅延効果が大きいことがわかる。

3.2 砂質土壌中の流出挙動

砂質土壌をカラムに充填し、NaCl及びM株懸濁液を流通した場合の流出液濃度の時間変化をFig. 5に示した。ガラスビーズのときと同様に、NaClとM株がほぼ同時に流出し始めたが、NaClが先に破過し、M株はおくれて徐々に破過していく傾向を示した。Bengtsson(2001)⁴⁾ が湖の底質で採取した砂質土壌と土壌細菌を用いたカラム実験の結果では、微生物の破過はNaClと比較して大幅に遅れ、平衡に達するまでに5PVを要した。本研究でM株がNaClと比較して大きく遅れなかったのは、本研究で使用した砂質土壌の付

Fig. 5 Breakthrough curve of NaCl and strain M through sandy soil. The solid line indicates AK model.

Table 5 Model parameters of AK model for sandy soil experiment

v (m·day ⁻¹)	Pe (-)	α (-)	K_d (ml·g ⁻¹)	θ (-)
2.4	140	0.81	0.1	0.45

着有機物が非常に低く、吸着性が少なかったためと、M株自身の吸着性が低かったためではないかと考えられた。砂質土壌中のM株の流出挙動は、破過曲線のカーブがADS-sinkモデルのように、立ち上がってすぐに定常濃度になるのではなく、徐々に定常濃度に近付いていたことから、吸着反応が瞬間反応ではなく動力学反応であることが考えられた。そのため、砂質土壌中のM株の流出挙動は、吸着を動力学反応で表したAKモデルが適用できた。モデルパラメータをTable 5に示した。本研究においては吸着の影響は小さかったが、吸着の影響が大きくなると、吸着速度係数 α と分配係数 K_d の値が大きくなる。

3.3 黒ボク土壌中の流出挙動

黒ボク土壌をカラムに充填し、NaCl及びM株懸濁液を通水した場合の流出液濃度の時間変化をFig. 6に示した。Real-time PCR法で測定したために、吸光度計による測定に比べデータのばらつきが大きい、NaClとほとんど同様の挙動を示した。有機物を多量に含んでいるため、M株が吸着することを予想したが、NaClと同様な挙動を示した。ポンプ圧によって黒ボク土壌の充填度が低くなったことも要因と考えられたが、M株の吸着性が非常に低い可能性があると考えられた。

M株の流出挙動は、NaClと同様であったことから、ADモデルで表現できた。モデルパラメータをTable 6に示した。他の土壌での結果と比較してペクレ数(Pe)が小さく、分散の影響が大きかったことを示している。

3.4 鹿沼土中の流出挙動

鹿沼土をカラムに充填し、NaCl及びM株懸濁液を通水した場合の流出液濃度の時間変化をFig. 7に示した。M株の流出がNaClと比較して非常に速くなる現象が見られた。こ

Fig. 6 Breakthrough curve of NaCl and strain M through andosol. The error bars indicate standard deviations of Real-time PCR method.

Table 6 Model parameters of AD model for andosol

v ($m \cdot day^{-1}$)	Pe (-)	θ (-)
1.6	3.1	0.7

の現象には、鹿沼土の団粒構造が関与していると考えられた。鹿沼土は、Fig. 8のように微小なサイズの粒子が集まり一つの粒子を形成する団粒構造をとっており、密度も非常に小さく、空隙率(θ)は0.95であり、団粒内部の空隙も非常に大きい。NaClは、溶解しているため、空隙全てを通過することが出来るが、M株は懸濁物質であり、 $1 \mu m$ という大きさにより、団粒構造の内部にはほとんど入ることができず、主に団粒外部の空隙を通過するものと考えられる。その結果、見かけ上の空隙率が減少し、M株は水道を通過してNaClよりも早く流出してきたと考えられた。

山下ら (2003)²²⁾ が、M株とほぼ同サイズである粒径 $1 \mu m$ のPSL (ポリスチレンラテックス) 球粒子を懸濁させた溶液を鹿沼土に通水した実験において、PSL球粒子がNaClより早く流出してくるという現象を報告しているが、同様の現象と考えられた。

鹿沼土を充填したカラムの内部に水道が出来て、M株が早く流出してくることを表現するために、ADS-sinkモデル中の遅延係数の代わりに、全空隙に対してM株が移動できる空隙の比であるパラメータ β (-)を加味したモデル (Short-Cut model) を考案し、(12) 式に示した。

$$\beta \frac{\partial C}{\partial T} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C}{\partial X^2} - \frac{\partial C}{\partial X} - \phi C \quad (12)$$

鹿沼土中を移動するM株の挙動は、このShort-Cutモデル

Fig. 7 Breakthrough curve of NaCl and strain M through Kanuma soil.

Route of strain M Route of NaCl

Fig. 8 Structure of Kanuma soil

Table 7 Model parameters of Short-Cut model for Kanuma soil experiment

v (m·day ⁻¹)	Pe (-)	φ (-)	β (-)	θ (-)
1.2	35.9	0.43	0.52	0.95

で表現することができた。モデルパラメータをTable 7に示した。パラメータβは0.52であり、これは、カラム内の空隙のうち約半分しかM株が通過できなかったことを表している。また、1次損失係数φが0.43と大きく、団粒内部の細孔にM株が多く捕捉されたことを示している。

3.5 カラム充填材による比較

分散の効果を表すペクレ数と充填材とについて比較すると、ガラスビーズのときは、粒径が大きいとペクレ数が小さくなり分散の影響が大きくなる傾向を示した。砂質土壌の粒径は0.4mm、ペクレ数は140であり、鹿沼土の粒径は1.2～2mm、ペクレ数は35.9と、どちらもガラスビーズの粒径とペクレ数の関係と同程度の値を示した。黒ボク土壌はこれらの結果とは異なったが、土壌の種類によっては粒径からペクレ数を推定することができるかもしれない。

土壌によるM株の吸着や捕捉の影響は、充填材により異なる特徴を示すが、微生物の挙動をモデル化できるものと考えられた。

4. まとめ

各種土壌を移動するM株の挙動を1次元物質移動モデルで表現できた。砂質土壌、黒ボク土壌、鹿沼土において、M株が吸着の影響をほとんど受けずに移動したことから、M株を汚染箇所を送り込んでTCEを分解させることが可能であることが示唆された。

今後は、実際の汚染現場のように様々な要因が絡んだ複雑な系における挙動モデルの適応性を検討していきたい。

(原稿受付 2004年10月21日)

(原稿受理 2005年 4月28日)

参考文献

1) 平田健正 (1997) 土壌・地下水汚染と対策, pp.43-66, 日本環境測定分析協会, 東京.

2) 矢木修身, 岩崎一弘 (1998) 揮発性有機塩素化合物分解微生物, *Microbes and Environments*, 日本微生物生態学会報, 13(3), 165-170.

3) 矢木修身, 内山裕夫 (1999) バイオレメディエーション技術の現状と今後の課題, *環境科学会誌*, 12(4), 413-420.

4) Bengtsson G., Ekere L. (2001) Predicting sorption of groundwater bacteria from size distribution, surface area, and magnetic susceptibility of soil particles, *Water Resour. Res.*, 37(6), 1795-1812.

5) D. E. Fontes, A. L. Mills, G. M. Hornberger, and J. S. Herman (1991) Physical and Chemical Factors Influencing Transport of Microorganisms through Porous Media, *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(9), 2743-2481.

6) Hornberger G. M., A. L. Mills, and J. S. Herman (1992) Bacterial

transport in porous media: evaluation of a model using laboratory observations, *Water Resour. Res.*, 28, 915-938.

7) Anne K. Camper, Jason T. Hayes, Paul J. Sturman, Warren L. Jones, and Alfred B. Cunningham (1993) Effects of Motility and Adsorption Rate Coefficient on Transport of Bacteria through Saturated Porous Media, *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(10), 3455-3462.

8) Terri A. Camesano and Bruce E. Logan (1998) Influence of Fluid Velocity and Cell Concentration on the Transport of Motile and Nonmotile Bacteria in Porous Media, *Environ. sci. Technol.*, 32, 1699-1708.

9) Gang Chen and Keith A. Strevett (2001) Impact of surface thermodynamics on bacterial transport, *Environmental Microbiology*, 3, 4, 237-245.

10) Gang Chen, Mark Rockhold, Keith A. Strevett (2003) Equilibrium and kinetic adsorption of bacteria on alluvial sand and surface thermodynamic interpretation, *Research in Microbiology*, 154, 175-181.

11) Bengtsson G. and R. Lindqvist (1995) Transport of soil bacteria controlled by density-dependent sorption kinetics, *Water Resour. Res.*, 31, 1247-1256.

12) John Gannon, Yunhu Tan, Phillip Baveye, and Martin Alexander (1991) Effect of Sodium Chloride on Transport of Bacteria in a Saturated Aquifer Material, *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(9) 2497-2501.

13) Roland Lindqvist, and Goran Bengtsson (1991) Dispersal Dynamics of Groundwater Bacteria, *Microbial Ecology*, 21, 49-72.

14) Li Q, Logan B E (1999) Enhancing bacterial transport for bioaugmentation of aquifer using low ionic strength solutions and surfactants, *Water research*, 33(4), 1090-1100.

15) Mark J. Gross and Bruce E. Logan (1995) Influence of Different Chemical Treatment on Transport of *Alcaligenes paradoxus* in Porous Media, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61,5, 1750-1756.

16) Sookyun Wang and M.Yavuz Corapcioglu (2000) 第7章 地下水中における微生物移動のモデル化, 「地下水の微生物汚染」(Suresh D. Pillai編, 金子光美監訳), pp.95-110, 技報堂出版, 東京.

17) 藤田正憲, 池道彦, 清和成 (1997) DNAを指標とする微生物生態学ことはじめ, 用水と廃水, 39(4), 5-11.

18) T. Kikuchi, K. Iwasaki, H. Nishihara, Y. Takamura, O. Yagi (2001) Quantitative and Specific Detection of a Trichloroethylene-degrading Methanotroph, *Methylocystis* sp. Strain M, by a Most Probable Number-Polymerase Chain Reaction Method, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65(12), 2673-2681.

19) 中野政詩, 宮崎毅, 塩沢昌, 西村拓 (1995) 土壌物理環境測定法, pp.159-176, 東京大学出版会, 東京.

20) D. R. Cameron, A. Klute (1977) Convection-Dispersion Solute Transport With a Combined Equilibrium and Kinetics Adsorption Model, *Water Resour. Res.*, 13(1), 183-188.

21) Van Genuchten MTh, Alves WJ (1982) Analytical solutions of the one-dimensional convective-dispersive solute transport equation, US Department of Agriculture Technical Bulletin No 1661, pp.151.

22) 山下祐司, 足立泰久 (2004) ガラスビーズ及び鹿沼土カラムを通過するモデルコロイド粒子の輸送に対するコロイド安定性及び間隙径の影響, 農業土木学会論文集, 233, 75-81.