

揮発性芳香族炭化水素の毒性と生分解

瀧 寛則

Keywords: Volatile aromatic hydrocarbon, toxicity, biodegradation, VOC, BTEX, bioremediation

揮発性芳香族炭化水素、毒性、生分解、VOC、BTEX、バイオレメディエーション

1. はじめに

近年、様々な化学物質が人間や動植物に及ぼす影響が明らかとなるにつれ、その環境汚染が問題となっている。特に石油は非常に広範囲の製品の原料となっており、世界中で使用されていることから、石油で汚染されたサイトおよび汚染物質も非常に広範囲にわたっている。その中でも図1に示した構造式を持つBTEX（ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレン）を代表とする揮発性芳香族炭化水素は、高い毒性とともに、その揮発性、水溶性から汚染が拡散しやすいことが指摘されている。

BTEXはガソリンや軽油の他にも塗料や工場排水に含まれており、土壌、排水、大気、室内環境等、非常に広範囲に汚染が広がる可能性がある。ガソリンや軽油等、BTEXを含む石油製品を使用する精油所やガソリンスタンド、化学工場等では石油製品の漏洩による土壌汚染が起きている。例えば、アメリカのEPAからは、汚染土壌サイトの22%でBTEXが主要汚染成分のひとつになっているとの推計が出されている¹⁾。また、BTEXは水溶性であるため、汚染は地下水を介して非常に広範囲に広がる場合がある²⁾。そのため、一端汚染が起きると、汚染現場だけではなく、その周辺の汚染状況調査と修復対策を行う必要が出てくる。さらに、BTEXは高い揮発性を持つことから、大気や室内環境の汚染源ともなっている。

このため、アメリカ³⁾やカナダ⁴⁾をはじめ、多数の国でBTEXの毒

性、危険性が認識されている。日本でもBTEXに対する危険性が認識され、様々な環境で規制が設けられている。それらを表-1にまとめて示した。

現在、BTEXの中ではベンゼンを中心に規制が設けられているが、トルエンやキシレンも環境基準では要監視項目とされている。今後、ベンゼン以外の化学物質も規制物質として規定される可能性がある。また、規制の対象も、排水、水道水、土壌、廃棄物、大気、室内環境と

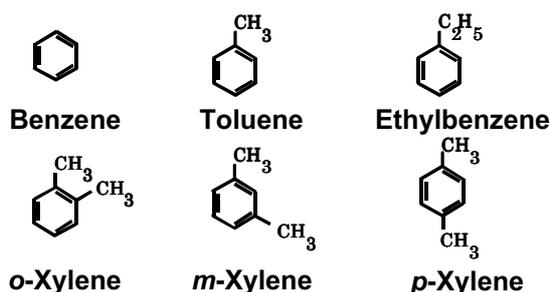


図-1 BTEXの構造式
Structural formula of BTEX

表-1 日本におけるBTEXの各種規制値
Various regulation of BTEX in Japan

基準	ベンゼン	トルエン	エチルベンゼン	キシレン
環境基準（水質）	0.01mg/L以下			
要監視項目（水質）		0.6mg/L以下		0.4mg/L以下
環境基準（大気）	0.003mg/m ³ 以下(年平均)			
環境基準（土壌）	検液1Lにつき0.01mg以下			
水道水水質基準	0.01mg/L以下			
排水基準（健康項目）	0.1mg/L以下			
下水道への排水基準	0.1mg/L以下			
産業廃棄物の判定基準 ¹⁾	0.1mg/L以下			
産業廃棄物の判定基準 ²⁾	0.01mg/L以下			
産業廃棄物の判定基準 ³⁾	0.1mg/L以下			
作業環境評価基準	10ppm	50ppm		100ppm
室内濃度に関する指針値		260 μg/m ³ (0.07ppm)以下	3800 μg/m ³ (0.88ppm)以下	870 μg/m ³ (0.20ppm)以下

1：埋立処分及び船舶からの埋立場所等への排出に関する判定基準（汚泥）

2：海洋投入処分に関する判定基準（非水溶性の無機性汚泥）

3：海洋投入処分に関する判定基準（有機性汚泥、腐酸及び廃アルカリ）

幅広く、BTEXによる汚染が様々な環境で問題となっている。

このような汚染に対する処理方法として、従来は活性炭による吸着除去が用いられてきた。しかし、活性炭による吸着除去では活性炭に吸着させた後のBTEX処理が問題となるとともに、コストも高いことが指摘されている。これに対して、近年、微生物の持つ化学物質の分解

能力を利用した処理方法が提唱されている。この方法は、BTEXを分解し、無毒化できるだけでなく、エネルギー的にも物理化学的方法より優れていると言われている⁵⁾。

そこで、本報では、汚染環境におけるBTEXの毒性についてまとめるとともに、汚染フィールドとして土壌を対象としたBTEXの生分解性と分解菌添加による浄化促進方法に関して検討した結果について報告する。

表-2 石油化合物に対する生物検定試験(bioassay)の実施例⁶⁾
Toxicity bioassay with petroleum products

生物群	検定対象	評価対象	文献番号
バクテリア	オイルサンド	遺伝毒性	7
	ベンゾ[a]ピレン	遺伝毒性	8
微細藻類	C重油	急性毒性	9
多毛類	C重油	急性毒性	9
甲殻類	ベンゼン	急性毒性	10,11
	ディーゼル油	急性毒性	11,12
	A重油	急性毒性	11
	B重油	急性毒性	13
	C重油	急性毒性	9
	ウェザード原油	亜急性毒性 急性毒性	14 15
貝類	ベンゼン	急性毒性	10
	C重油	急性毒性	16,17
	ベンゾ[a]ピレン	遺伝毒性	18
棘皮類	A重油	急性毒性	19
	B重油	急性毒性	20
	C重油	急性毒性	21
	ベンゼン	急性毒性	19
魚類	ベンゼン	急性毒性	10
	ナフタレン	急性毒性	22
	原油	急性毒性	14
	C重油	急性毒性	9
	ベンゾ[a]ピレン	遺伝毒性	23

2. 揮発性芳香族炭化水素 (BTEX) の毒性

石油成分の毒性に関しては、表-2に示したように、これまでに多くの検討がなされている。また、石油そのものだけではなく、石油の各成分に関する検討もなされている。表-3には、淡水および海水中に棲息する生物 (*Daphnia magna*, *Artemia*) を用いて測定した各化合物のLD50値を示した。LD50値は、試験した生物の半数が死亡する濃度を示しており、値が低い方が相対的に毒性が高い。表-3から分かるとおり、BTEXの毒性は他の化合物に比べて必ずしも高いとは言えない。しかし、実際の汚染状況を考慮すると、BTEXはその揮発性、水溶性という物理的性質と合わせて毒性を評価しなければならない。表-4には、BTEXの基本的物性値を示した。また、参考のため、毒性の高いフェナントレン、ベンゾ[a]ピレンの値もあわせて示した。ヘンリー定数は各物質の気液平衡時の気相部の割合を示しており、ヘンリー定数が大きいほど、揮発し、気中に拡散しやすいと考えられる。

表-3 *Daphnia magna* (淡水) および *Artemia* (海水) に対する石油成分の急性毒性^{24,25)}
Acute toxicity bioassay on *Daphnia magna* and *Artemia* with petroleum products

Hydrocarbon	<i>Daphnia magna</i>			<i>Artemia</i>		
	48h LC ₅₀		48h Exposure (ppm-h)	24h LC ₅₀		24h Exposure (ppm-h)
	(mmol/m ³)	mg/L(ppm)		(mmol/m ³)	mg/L(ppm)	
Alkanes						
Pentane	135.00	9.70	466.00	165.00	11.90	286.00
Hexane	45.00	3.87	186.00	41.00	3.52	84.00
Octane	3.30	0.38	18.00	3.50	0.40	10.00
Decane	0.20	0.03	1.30			
Monoaromatics						
Benzene	400.00	31.20	1498.00	1630.00	127.00	3048.00
Toluene	125.00	11.50	552.00	641.00	59.00	1416.00
Ethylbenzene	20.00	2.12	102	145.00	15.40	370.00
p-Xylene	80.00	8.50	408.00	232.00	24.60	590.00
m-Xylene	90.00	9.50	456.00	182.00	19.30	463.00
o-Xylene	30.00	3.18	153.00	223.00	23.60	566.00
Polyaromatics						
Naphtharene	36.90	4.72	227.00	83.00	10.60	254.00
Biphenyl	7.10	1.09	52.00	26.00	4.00	96.00
Phenanthrene	1.16	0.21	10.00	3.80	0.68	16.00
Anthracene	0.20	0.04	2.00	>0.28	>0.50	>12.00
Pyrene	0.45	0.09	4.00	>0.49	>0.10	>2.00

る。表-4から分かるとおり、BTEXのヘンリー定数はフェナントレンやベンゾ[a]ピレンの100~10000倍であり、沸点も低いことから、他の石油成分に比べて気中に拡散しやすいことが分かる。さらに、溶解度もBTEXはフェナントレンやベンゾ[a]ピレンの100~1000倍である。表-3において、*Artemia*を用いたときのアントラセンやピレンの毒性が測定できていないが、これは、アントラセンやピレンの毒性が低いということではなく、

表-4 BTEXの基本的物性値
Physical properties of BTEX

化合物名	分子量	融点 (°C)	沸点 (°C)	溶解度 (mg/L)	ヘンリー定数 (at 25°C in water)
ベンゼン	78.11	6	80	1780	0.2
エチルベンゼン	106.16	-95	136	169	0.3
トルエン	92.13	-95	111	526	0.3
o-キシレン	106.16	-25	144		
m-キシレン	106.16	-47	139	175	0.3
p-キシレン	106.16	13	138		
フェナントレン	178.23	101	340	0.82	0.002
ベンゾ(a)ピレン	252.31	179	310~312	1.62	0.00005

溶解度が低い場合、飽和濃度まで添加しても毒性が現れなかったためである。このことから、毒性を考慮するときに溶解度が重要となる。表-5には、各種石油を水と接触させたときの水への溶存量を示した。フェナントレンや短鎖のアルカンに比べ、BTEXの溶存濃度は高く、石油が水に接触したときの水溶画分のうち、30~80%がBTEX由来であることがわかる。地上や地下における石油流出事故では、漏洩した石油が地下水に接触する可能性が大きく、そのとき、BTEXは他の石油成分に比較して水への溶存量が大きいことから、汚染が拡大しやすいと考えられる。

このように、BTEXはそれぞれの持つ毒性そのものとともに、揮発性、水溶性が高いことから、非常に汚染が拡散し易く、一端汚染が起きれば、広範囲での対策が必要になる。このため、速やかに汚染を浄化する対策方法を保有しておく必要がある。

表-5 各石油からの水溶画分への溶存量 (単位はmg/L) ^{24,26-28)}
Hydrocarbons dissolved in water equilibrated with oil samples

Crude oil Water salinity Published Source Hydrocarbons	Murban	La Rosa	South Louisiana	Kuwait	Cook Inlet	Prudhoe Bay
	Sea	Sea	2%NaCl	2%NaCl	Sea	Sea
	McAuliffe ²⁶⁾		Anderson et al. ²⁷⁾		Rice et al. ²⁸⁾	
n-Pentane	1.34	0.60	0.49	1.31	1.11	0.56
n-Hexane	0.50	0.15	0.09	0.29	0.21	0.13
n-Heptane	0.33	0.10	0.06	0.09	0.16	0.11
Benzene	6.08	3.30	6.75	3.36	8.10	9.30
Toluene	6.16	2.80	4.13	3.62	4.10	6.58
Ethylbenzene	0.82	0.27	— ^{a)}	— ^{a)}	0.35	0.49
m-,p-Xylene	1.94	0.84	1.56	1.58	1.06	1.58
o-Xylene	1.01	0.35	0.40	0.67	0.45	0.52
Phenanthrenes	n.a.	n.a.	0.004	0.003	n.a.	n.a.
Benzene+Toluene	12.24	6.10	10.88	6.98	12.20	15.88
Dimethylbenzenes	3.77	1.46	1.96	2.25	1.86	2.59
Total Saturates	11.10	11.11	9.77	11.62	27.37	5.10
Total Aromatics	16.76	7.86	13.60	9.96	14.35	18.81
Total Hydrocarbons	27.87	19.97	23.37	21.72	41.72	23.90
<u>Total Aromatics</u> Total Hydrocarbons × 100	60	39	58	46	34	79

a: included with m-,p-Xylene
n.a.: not analyzed

3. 揮発性芳香族炭化水素 (BTEX) の生分解

3.1 環境中におけるBTEXの生分解

BTEXを含むガソリン等が環境中に漏洩した場合、揮発による大気への拡散、地下水や海水、河川への浸透などのように、物理的形態を変えて汚染が広がる。このとき、一部は紫外線などにより分解を受けるが、その大部分はほとんど変化することはない。しかしながら、土壌をはじめ、環境中にはこれらBTEXを分解できる菌が存在することが知られている²⁹⁾。ただし、分解菌は存在するものの、通常は栄養が不足しているため、実際に石油成分の分解はほとんど起こらない。そこで、不足している栄養を補うことで環境中の微生物を活性化させ、汚染物質を分解する方法が提案されており、この方法はバイオスティミュレーション法と呼ばれている。

図-2には、人工的にガソリンで汚染した畑地の土壌に栄養塩として窒素、リンを添加し、20°Cで培養したときのBTEX濃度の変化を示した。図-2から分かるとおり、ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、m-キシレン、p-キシレンが約1週間で速やかに減少しているのに対して、o-キシレンは1ヶ月以上経ってもほとんど濃度に変化していない。このことから、石油成分は栄養塩が添加されることで土壌中に棲息する微生物により分解されるが、その分解特性は様々ではなく、特にo-キシレンは他のBTEX成分に比較して非常に分解されにくいことが分かった。ただし、ガソリン中に含まれるBTEXの各成分

の濃度は同じではないため、次に、BTEXを200µMづつ、河原から採取した土壌にそれぞれ加え、同じく栄養塩として窒素、リンを添加して20°Cで分解させる実験を行った。その結果を図-3に示す。図-3から分かるとおり、トルエン、エチルベンゼン、m-キシレンが約3日、ベンゼン、p-キシレンが約5日で分解したのに対して、o-キシレンは分解に10日を要しており、o-キシレンは土壌中で分解しにくいと推察された。

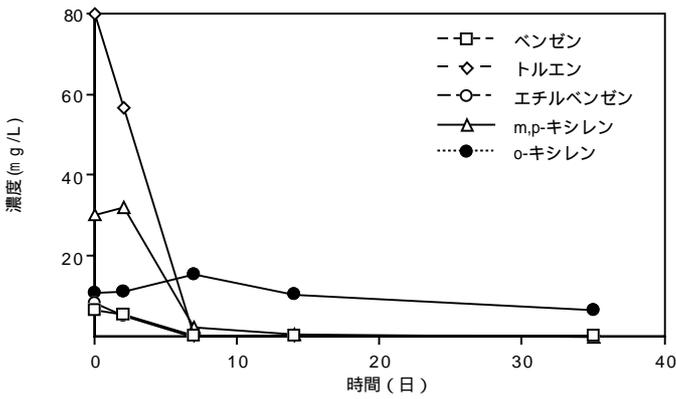


図-2 土壌中におけるガソリン (BTEX) の生分解
Biodegradation of gasoline(BTEX) in soil

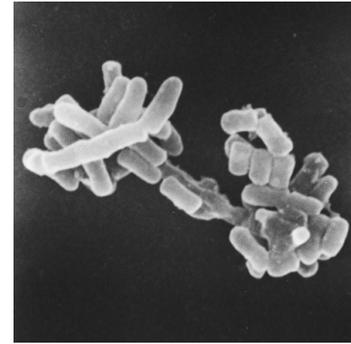


写真-1 o-キシレン分解菌の電子顕微鏡(SEM)写真
Photograph of o-xylene-degrading bacteria

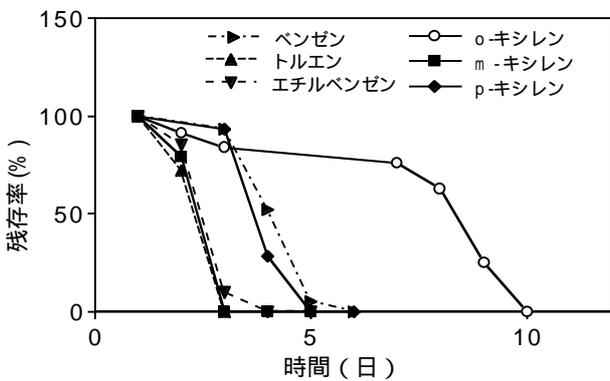


図-3 土壌中におけるBTEXの生分解
Biodegradation of BTEX in soil

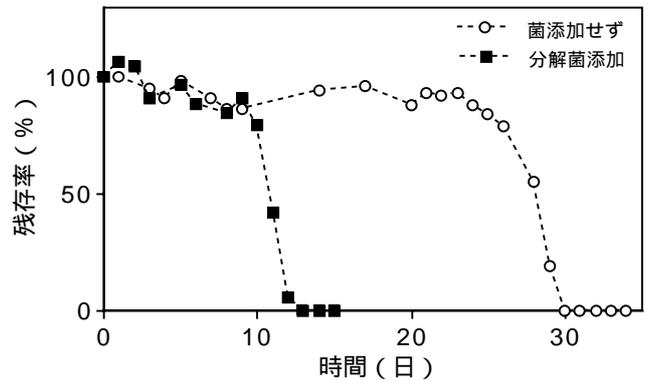


図-4 o-キシレン分解における分解菌の添加効果
Effect of seeding with o-xylene-degrading bacteria on bioremediation of o-xylene contaminated soil

3.2 分解菌添加によるo-キシレンの分解促進

前節の結果から、土壌中におけるBTEX分解において、o-キシレンが残存しやすく、速やかな浄化を行うためには、o-キシレンの分解促進を図る必要のあることが分かった。そこで、まず、o-キシレン分解能を持つ細菌の単離を試みた。その結果、*Rhodococcus*属に属するo-キシレン分解菌を得ることができた。電子顕微鏡写真を写真-1に示す。次に、ここで得られたo-キシレン分解菌を浄化初期に添加することで、o-キシレンの分解促進が図れるかどうかを検討した。o-キシレン濃度は1000 μM、分解温度は20 °Cである。その結果を図-4に示す。図-4から分かるとおり、栄養塩のみを添加した場合は分解に約1ヶ月を要したが、分解菌を添加した場合は12日と、分解に要する期間を約1/3にまで減少させることができた。以上の結果から、有用な分解菌を獲得し、これを浄化初期に添加する方法(バイオオーグメンテーション法)はo-キシレンのような微生物分解の難しい物質の早期浄化に有効である可能性が示された。しかしながら、バイオオーグメンテーション法に関しては、有効に機能しなかった例も報告されている³⁰⁾。その原因としては、原生

動物による補食³¹⁾や他の細菌による阻害³²⁾等が指摘されているが、必ずしも明確ではない。逆に、今回のように、菌の添加が浄化に有効であった例もあり³³⁾、今後、分解菌を環境中へ導入するときに影響する因子の解明と、有効な添加方法の開発が望まれる。

3.3 微生物によるo-キシレンの分解経路

前節で、分解菌の添加がo-キシレン汚染土壌の浄化を促進させるのに有効であることが分かった。しかし、分解菌を環境中に導入する場合、その安全性を十分検討しなければならない。安全性の確認方法としては、用いる細菌の病原性ととも、分解過程における中間代謝物の毒性の変化について検討する必要がある。そのためには、対象となる物質の分解経路・分解遺伝子を明らかにする必要がある。BTEXの中でもトルエンの分解経路・分解遺伝子については詳しく研究がなされている²⁹⁾。また、m-,p-キシレンはトルエンと同様の分解経路・分解遺伝子により分解されることが知られている³⁴⁾。さらに、ベンゼンについてもその分解経路は明らかとされている⁶⁾。これに対して、o-キシレンについてはその分解経路・分解遺伝子についての情報が非常に少ない。図-5には、

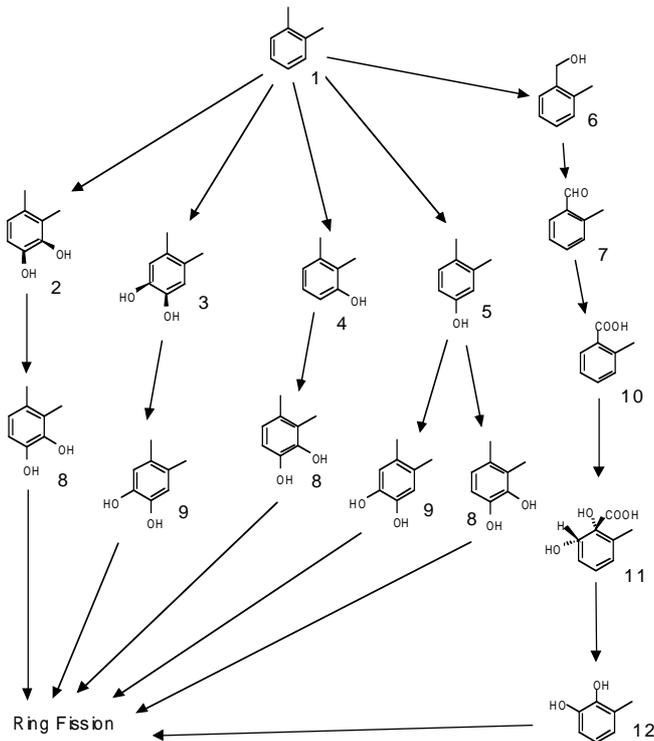


図-5 推定されるo-キシレン分解経路³⁵⁾

Possible metabolic pathway for the metabolism of o-xylene (1, o-xylene; 2, 1,2-dihydroxy-3,4-dimethylcyclohexa-3,5-diene; 3, 1,2-dihydroxy-4,5-dimethylcyclohexa-3,5-diene; 4, 2,3-dimethylphenol; 5, 3,4-dimethylphenol; 6, 2-methylbenzyl alcohol; 7, 2-methylbenzaldehyde; 8, 3,4-dimethylcatechol; 9, 4,5-dimethylcatechol; 10, 2-methylbenzoic acid; 11, 1,2-dihydroxy-5-methylcyclohexa-3,5-diene carboxylic acid; 12, 3-methylcatechol)

推定されるo-キシレンの分解経路を示したが、この中で、遺伝子レベルで分解経路が明らかとされているのは、2,3-dimethylphenol、3,4-dimethylphenolをとる経路 [1 4 8、1 5 8,9] のみである。そのほかの経路については明らかとなっていない。そこで、筆者らは、単離したo-キシレン分解菌の中間代謝物を調べた。その結果、2-methylbenzyl alcohol、2-methylbenzaldehyde、2-methylbenzoic acidの生成が見られた。このことからメチル基から酸化される経路 [1 6 7 10] によりo-キシレンを分解しているものと推定された。今後、この分解経路および分解遺伝子を明らかとし、BTEX汚染環境の微生物浄化に有用な情報を提供していく必要がある。

4. おわりに

石油成分の中でもBTEXは高い毒性とともに、水溶性を持つことから漏洩現場付近の地下水等に汚染が広がり

やすい。さらに、揮発性も高いうえに工業原料、塗料としても使用されていることから、周辺の大気あるいは、室内環境へも汚染が広がりやすい。従来は活性炭等による物理的吸着により処理されてきたが、コストが高いうえに回収したBTEXをさらに何らかの方法で処理する必要があった。これに対して微生物を用いた浄化では、コストが安いうえにBTEXの分解、無毒化が期待できる。しかしながら、微生物による分解では、必ずしも全ての物質が一様に分解するとは限らない。本報では、土壌細菌を用いたBTEX分解を試みた。その結果、BTEXの中でもo-キシレンは生分解されにくいことがわかった。そこで、o-キシレン分解菌を単離し、これを土壌に添加することを試みた。その結果、分解菌の添加により、浄化期間は約1/3に短縮された。ただし、分解菌を添加するバイオオーグメンテーション法は、成功した場合は非常に有効な方法であるが、失敗した例も報告されている。今後、バイオオーグメンテーション法に影響を与える因子を解明し、安定した浄化を行うための手法の開発が必要である。

また、安全性の面から、汚染物質の分解経路の検討は重要であるが、単離した分解菌は新しい分解経路を持つ可能性が示唆され、今後、分解経路および分解遺伝子に関する詳しい検討を行う必要がある。

BTEXの微生物処理においては、マクロ的観点からは浄化対象が土壌、大気、排水等に別れていても、ミクロ的にはすべて水中に溶けた物質が分解されると考えられる。そのため、水中での効率的な浄化方法を確立できれば、土壌、排水、大気、室内環境に関わらず、適用できる可能性が高い。今後は、o-キシレンを中心として、効率的で迅速なBTEX浄化方法の開発を行う予定である。

なお、本報は、筆者が(株)海洋バイオテクノロジー研究所へ出向中に実施した研究内容の一部であることを付記する。

参考文献

- 1) U.S. Environmental Protection Agency : Cleaning up the nation's site : markets and technology trends 1996 edition, Washington, D.C. 20460, (1996)
- 2) Schäfer, W., Therrien, R. : Simulating transport and removal of xylene during remediation of a sandy aquifer, J. Contam. Hydrol., 19, pp.205-236, (1995)
- 3) U.S. Environmental Protection Agency : List of Lists, July(1987)
- 4) Fingas, M., Laroche, N., Sergy, G., Mansfield, B., Cloutier, G., Mazerolle, P. : Proceedings of the 8th technical seminar on chemical spills, Environment Canada : Ottawa, pp.223-332 (1991)
- 5) Dewulf, J., Langenhove, H. V., Dirckx, J. : Exergy analysis in the

- assessment of the sustainability of waste gas treatment systems :
Sci. Total. Environ., 273, pp.41-52(2001)
- 6) 渡辺一哉, 萩原清司 : 石油汚染のバイオレメディエーションの安全性, 環境技術, 30 (6), pp.420-425(2001)
- 7) Madill, R. E. A., Brownlee, B. G., Josephy, P. D., Bunce, N. J. : Comparison of the Ames *Salmonella* assay and assessing the mutagenicity of polycyclic aromatic compounds in porewater from Athabasca oil sands mature fine tailings. Environ. Sci. Technol., 33, pp.2510-2516 (1999)
- 8) Oda, Y., Nakamura, S., Oki, I., Kato, T. : Evaluation of the new system (umu-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens, Mutat. Res., 147, pp.219-229 (1985)
- 9) 小山次朗, 角埜彰, 奥村裕, 池田久美子, 清水昭男, 山田久 : 流出油の海洋生物に対する毒性, 月刊海洋, 30 (10), pp.622-630 (1998)
- 10) 河野堅二, 田畑健二 : 水中に溶解したベンゼンが水産生物に及ぼす影響, 水処理技術, 7 (5), pp.7-16 (1966)
- 11) 大久保勝夫 : 油処理剤 (乳化分散剤) の影響. 石油汚染と水産生物, 日本水産学会編, 恒星社厚生閣, pp.128-147 (1976)
- 12) Fisher, W. S., Foss, S. S. : A simple test for toxicity of number 2 fuel oil and oil dispersants to embryos of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, Mar. Pollut. Bull. 26 (7), pp.385-391 (1993)
- 13) 日本海難防止協会 : 油, 油処理剤および油/油処理剤混合物の海産生物に対する影響, 昭和50年度海洋汚染防止の調査研究, pp.95-109 (1976)
- 14) Gundersen, D. T., Kristanto, S. W., Curtis, L. R., AlYakoob, S. N., Metwally, M. M., Al-Ajmi, D. : Subacute toxicity of the water-soluble fractions of Kuwait crude oil and partially combusted crude oil on *Menidia beryllina* and *Palaemonetes pugio*, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 31(1), pp.1-8 (1996)
- 15) Shelton, M. E., Chapman, P. J., Foss, S. S., Fisher, W. S. : Degradation of weathered oil by mixed marine bacteria and the toxicity of accumulated water-soluble material to two marine Crustacea. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 36, pp.13-20 (1999)
- 16) 南西海区水産研究所 : 油分が水産生物の生理生態に及ぼす影響, 水島重油流出事故漁業影響調査昭和50年度調査報告書第2号, Pp.162-171 (1976)
- 17) 兵庫県水産試験場 : 脱硫TC油が斧足類の卵発生期とその仔貝に及ぼす影響, 水島重油流出事故漁業影響調査昭和50年度調査報告書第2号, Pp.151-161 (1976)
- 18) Harvey, J. S., Parry, L. M. : The detection of genotoxin-induced DNA adducts in the common mussel *Mytilus edulis*, Mutagenesis, 12(3), pp.153-158 (1997)
- 19) 小林直正 : 水生無脊椎動物による水汚染の生物検定, サイエンティスト社 (1985)
- 20) Sawada, N., Ohtsu, H. : Poisonous effect of some detergents on the fertilization and on the spicule formation of sea urchin larvae, Mem. Ehime Univ. Sci. Ser. Biol., 7, pp.101-107 (1975)
- 21) Kobayashi, N. : Comparative toxicity of various chemicals, oil extracts and oil dispersant extracts to Canadian and Japanese sea urchin eggs, Publ. Seto. Mar. Biol. Lab., 26, pp.123-133 (1981)
- 22) Levitan, W. M., Taylor, M. H. : Physiology of Salinity-Dependent Naphthalene Toxicity in *Fundulus heteroclitus*, J. Fish. Res. Board Can., 36 (6), pp.615-620 (1979)
- 23) 青木康展, 天沼喜美子 : 環境水中の変異原物質をいかにして検出するか?, 化学と生物, 38(10), pp.642-644 (2000)
- 24) McAuliffe, C. D. : Organism exposure to volatile/soluble hydrocarbons from crude oil spills - field and laboratory comparison, Proceedings of the 1987 Oil Spill Conference, pp.275-288(1987)
- 25) Abernethy, S., Bobra, A. M., Shiu, W. Y., Wells, P. G., Mackay, D. : Acute lethal toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to two planktonic crustaceans: The key role of organism-water partitioning, Aquatic Toxicology, 8, pp.163-174 (1986)
- 26) McAuliffe, C. D. : Evaporation and solution of C₂ to C₁₀ hydrocarbons from crude oils on the sea surface. Proceedings of Symposium on Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms, D. A. Wolfe et al., eds., Pergamon Press, Inc., Elmsford, New York, pp.363-372 (1977)
- 27) Anderson, J. W., Neff, J. M., Cox, B. A., Tatem, H. E., Hightower, G. M. : Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude oil and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish, Marine Biology, 27, pp.75-88 (1974)
- 28) Rice, S. D., Short, J. W., Bordersen, C. C., Mecklenburg, T. A., Moles, D. A., Misch, C. J., Cheatham, D. L., Karinen, J. F. : Acute toxicity and uptake-depuration studies with Cook Inlet crude oil, Prudhoe Bay crude oil, No. 2 fuel oil, and several subarctic marine organisms, Processed report, Northwest Fisheries Center Auke Bay (Alaska) Fisheries Laboratory, May (1976)
- 29) Gülensoy, N., Alvarez, P. J. J. : Diversity and correlation of specific aromatic hydrocarbon biodegradation capabilities, Biodegradation, 10, pp.331-340(1999)
- 30) Goldstein, R. M., Malloy, L. M., Alexander, M. : Reasons for possible failure of inoculation to enhance biodegradation, Appl. Environ. Microbiol., 50(4), pp.977-983(1985)
- 31) Veen, J. A. V., Overbeek, L. S. V., Elsas, J. D. V. : Fate and activity of microorganisms introduced into soil, Microbiol. Mol. Biol. Rev., 61(2), pp.121-135(1997)
- 32) Soda, S., Watatani, H., Ike, M., Fujita, M. : Factors affecting the survival of exogenous bacteria in microbial ecosystems : existence of indigenous bacteria with antagonistic activity, Biocontrol Science, 3, pp.63-72(1998)
- 33) Tchelet, R., Meckenstock, R., Steinle, P., Meer, J. R. V. D. : Population dynamics of an introduced bacterium degrading chlorinated benzenes in an oil column and in sewage sludge, Biodegradation, 10, pp.113-125(1999)
- 34) Salto, R., Delgado, A., Gallegos, M., Manzanera, M., Marañón, S., Ramos, J. L. : Fine control of expression of catabolic pathways of TOL plasmid of *Pseudomonas putida* for mineralization of aromatic hydrocarbons, Molecular biology of *pseudomonads* : Chapter 17, Nakazawa, T. et al., eds, ASM Press, Washington, DC 20005, pp.207-216(1996)
- 35) Bickerdike, S. R., Holt, R. A., Stephens, G. M. : Evidence for metabolism of *o*-xylene by simultaneous ring and methyl group oxidation in a new soil isolate, Microbiology, 143, pp.2321-2329 (1997)