

微生物によるBTEX汚染空氣の浄化

瀧 寛則、高畑 陽、有山 元茂*¹、大石 雅也*¹

Keywords :BTEX, volatile aromatic hydrocarbon, air, biodegradation, bacteria, VOC
BTEX, 揮発性芳香族炭化水素, 空氣, 生分解, 細菌, VOC

1. はじめに

1.1 揮発性芳香族炭化水素 (BTEX) による環境汚染とその対策

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BTEX (Benzene:ベンゼン、Toluene:トルエン、Ethylbenzene:エチルベンゼン、Xylene:キシレン) に代表され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20~50%でBTEXが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、一旦汚染が起きますと、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にまとめて示す。

* 1 土壌環境事業部技術グループ

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。さらに、環境、経済産業省が「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び環境の改善の促進に関する法律」(PRTR法)に基づき2003年3月20日に公表したデータ (<http://www.prtr-info.jp/>) によると、2001年度に環境へ排出された量が最も多いのはトルエン、キシレンである。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(シックハウス)と幅広く、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、コストが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⁾。しかしながら、BTEX汚染の微生物浄化に関する研究事例は少なく、効率的な浄化方法が確立されるには至っていない。

1.2 BTEXの生分解

表-2には、これまでにBTEX分解能を持つと報告されている各種分解菌をまとめた。表-2から分かるとおり、これまでに多数のBTEX分解菌が自然界から分離されている。このように、汚染空氣の微生物浄化に用いる微生物は、自然界から十分分離可能である。分解可能な濃度や基質特異性、分解速度は菌によって大きく異なることから、これらの特性を見極め、適切な分解菌を用いることにより、微生物を用いた効率的な汚染空氣の浄化が可能になると考えられる。

微生物によるBTEX汚染空気の浄化

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、廃酸及び廃アルカリ）

表-2 BTEX分解菌⁶⁾⁻²⁶⁾

BTEX degrading bacteria

Strain	B	T	E	o-X	m-X	p-X
Bacillus benzoovorans B1	+	+				
Burkholderia cepacia G4	+	+				
Burkholderia pickettii PK01	+	+				
Comamonas testosteroni R5	+	+				
Corynebacterium sp. C125				+		
Desulfobacula toluolica Tol2		+				+
Pseudomonas aeruginosa JI104	+					
Pseudomonas mendocina KR1		+				
Pseudomonas putida F1	+	+				
Pseudomonas putida mt-2		+			+	+
Pseudomonas putida PaW1		+				+
Pseudomonas sp. JS150	+	+	+			
Pseudomonas stutzeri OX1		+		+		
Ralstonia basilensis RK1	+	+				
Ralstonia eutropha E2	+	+				
Rhodococcus opacus R7				+		
Rhodococcus sp. B3	+	+		+		
Rhodococcus sp. DK17	+	+	+	+		
Rhodococcus zopfii T1		+				
Sphingomonas aromaticivorans F199	+			+		+
Sphingomonas paucimobilis Q1		+				+
Xanthobacter sp. Py2	+	+				

B: Benzene, T: Toluene, E: Ethylbenzene, o-X: o-Xylene, m-X: m-Xylene, p-X: p-Xylene

1.3 BTEX汚染空気の浄化

BTEXによる汚染は土壌や排水、室内環境（シックハウス）等、様々な形態があるが、その浄化はほとんどの場

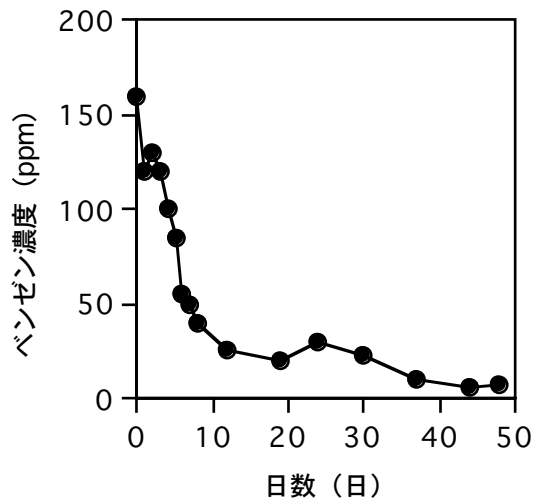


図-1 汚染土壌からの吸気中のベンゼン濃度の変化
Benzene concentration
in air extracted from contaminated soil

合、BTEXを一端気化させ、BTEXを含んだ空気を活性炭により吸着除去する方法を用いている。例えば、BTEX汚染土壌の浄化では、SVE法（真空抽出法）などにより土壌中のBTEXを揮発させ活性炭吸着させる。図-1には、BTEX汚染された工場跡地において、土壌中のBTEXを揮発させたときの吸気中のベンゼン濃度の変化を示す。図-1からわかるとおり、ベンゼン濃度は浄化初期が最も高く、その後、徐々に減少している。そのため、活性炭のかわりに微生物浄化を行う場合、浄化初期に最大の活性を持つ

ような方法を考える必要がある。これは、室内空気汚染（シックハウス）を考える場合も同様であり、浄化初期が最も汚染濃度が高い。一方、工場排水の場合、必ずしも浄化初期が汚染濃度最大とは限らないが、工場の運転開始と同時に浄化が行える状態にする必要がある。このような点を考慮すると、BTEX浄化に微生物処理を用いる場合、微生物の馴養に時間をかけることはできない。そのため、浄化システムの運転初期に分解菌を大量に投与し、システムを迅速に立ち上げるといった方策が必要である。そのためには、浄化システムに適した分解菌を探索し、その分解特性を把握しなければならない。BTEXの中で最も生分解が難しいのは α -キシレンである。そこで、本研究では、 α -キシレン分解菌を用いてその分解特性を把握し、浄化システム設計のための原単位を把握するとともに、コスト試算をおこなうことで、BTEX汚染空気の微生物浄化システムの実用化の可能性について検討することを目的として検討を行った。

2. 材料および方法

2.1 供試微生物

本実験には、土壌より単離された*Rhodococcus* sp. KN14株を用いた。本菌株は α -キシレンを単一炭素源として利用できる。

2.2 供試培地

実験には、無機塩培地としてmsm培地 (KH_2PO_4 ; 0.8g/L、

Na_2HPO_4 ; 5.58g/L、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 1.8g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.123g/L、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.5mg/L、 $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 1.54mg/L、 H_3BO_3 ; 2.86mg/L、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0.039mg/L、 ZnCl_2 ; 0.021mg/L、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.041mg/L、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.025mg/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 11.6mg/L) を用いた。

2.3 BTEX測定方法

BTEXの測定は、GC（島津製作所（株）製ガスクロマトグラフ分析計GC-14A）を用いて行った。カラムはJ&W社製のDB-624を用い、検出器としてはFIDを用いた。GCの分析条件は、InjectorTemp=150℃、DetectorTemp=160℃とし、カラム温度は初期温度を90℃で5分間保持した後、10℃/minで昇温し、100℃で1分間保持した。

2.4 実験方法

実験に用いた装置の概略図を図-2に、写真を写真-1に示す。本実験では、まず、1Lのガラス瓶にmsm培地720mlとOD=10に調製したKN14株80mlを添加した。次に、 α -キシレン原液を添加した100mlバイアルを通した α -キシレン汚染空気と空気を所定濃度となるように混合し、流量計で流量を調整した後、前記ガラス瓶に通気した。サンプルは、ガラス瓶の入口と出口からガスサンプルを採取すると共に、ガラス瓶から液体サンプルを採取した。温度は室温とし、約20～22℃で行った。入口ガス濃度および風量を調整し、負荷を変動させながら微生物による汚染空気の浄化実験を行い、適宜サンプリングした。また、コントロールとして、蒸留水を800ml添加した系の実験も行った。実験は実験1から実験3まで行った。それぞ

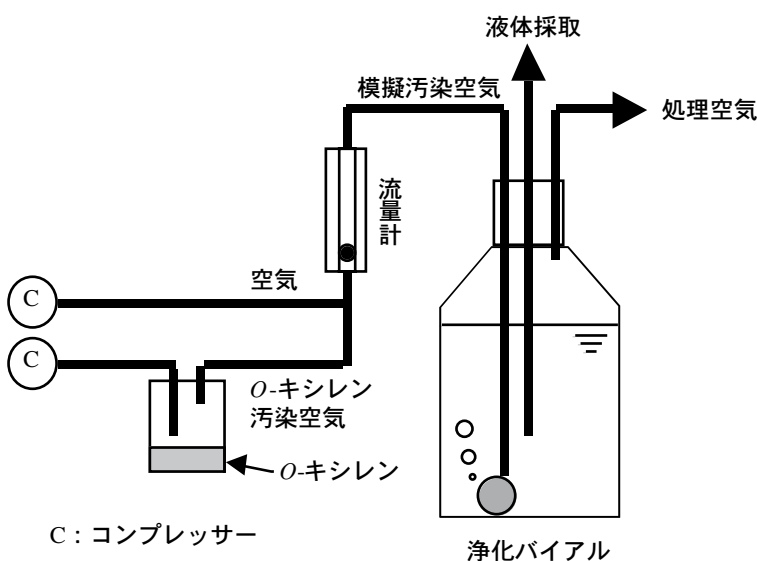


図-2 実験装置の模式図

Schematic diagram of experimental apparatus



写真-1 実験装置

Photograph of experimental apparatus

れの実験における設定風量を表-3に示した。

表-3 実験条件

Experimental conditions

番号	実験日数	風量
実験 1	1～14日目	40ml/min
実験 2	15～46日目	200ml/min
実験 3	47～92日目	10～70ml/min

3. 結果および考察

3.1 BTEX汚染空気の連続浄化試験

KN14株を用いて汚染空気の浄化実験を行った結果を図-3に、コントロール実験の結果を図-4に示す。実験1では、風量を40ml/min、入口濃度を150ppm以下とし、低風量での浄化特性を調べた。その結果、実験開始2日目には出口濃度は10ppm以下となり、負荷量の低い実験14日目まで、入口濃度150ppm以下、風量40ml/minに対して出口濃度は3ppm以下であった。

次に、実験2では、風量を200ml/minに増加させたときの浄化特性について検討した。実験20日目に入口濃度を1471ppm、200ml/minとすると、*o*-キシレンの減少が見られなくなった。そこで、実験25日目には16ppm、200ml/minまで負荷を低減したところ、徐々に出口濃度が低下し、実験28日目には入口濃度100ppm、200ml/minに対して出口濃度は5ppm以下まで低下した。しかし、入口濃度を621ppm、200ml/minまで増加させると再び分解率が大幅に減少した。以上の結果から、風量200ml/minでは、100ppmまでの汚染空気を5ppm以下まで浄化できることがわかった。

実験3では、500～1800ppmの高濃度汚染空気をどの程度の風量まで浄化できるかについて検討した。実験49日目では30ml/minの風量で、入口濃度720ppmが出口濃度220ppmまで低下した。さらに、実験70日目には20ml/minの風量で、入口濃度1000ppmが出口濃度0.1ppm以下まで低下した。以上の結果から、入口濃度が1000ppm以上となっても、処理風量を減らすことで0.1ppm以下まで浄化できることが分かった。

液中の*o*-キシレン濃度は、出口濃度が10ppm以下のときは1mg/L以下と非常に低濃度で推移していたが、出口濃度が高くなったときには高い液中濃度を示しており、分解しきれない*o*-キシレンが液中に残存していたと考えられた。

一方、コントロールの系では、図-4から分かるとお

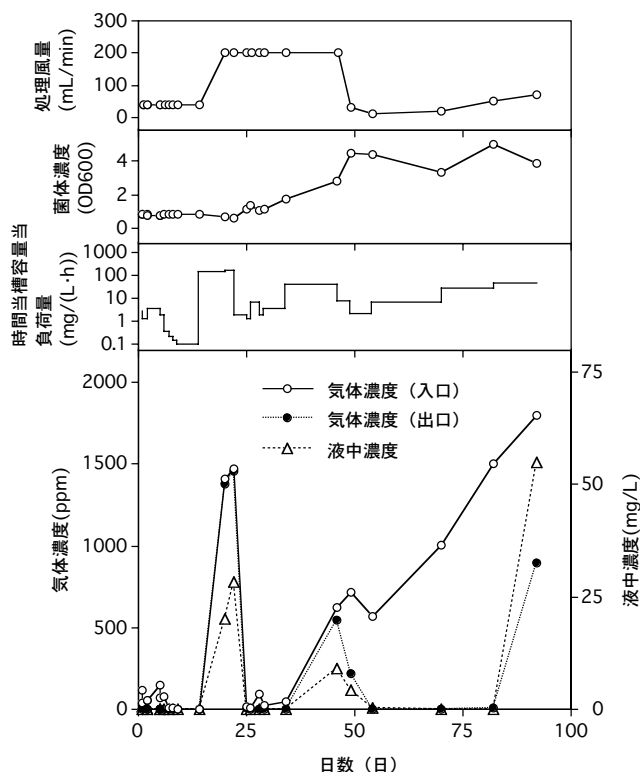


図-3 *o*-キシレン汚染空気の連続浄化試験結果
Continuous treatment of *o*-xylene
contaminated air by *o*-xylene degrading bacteria

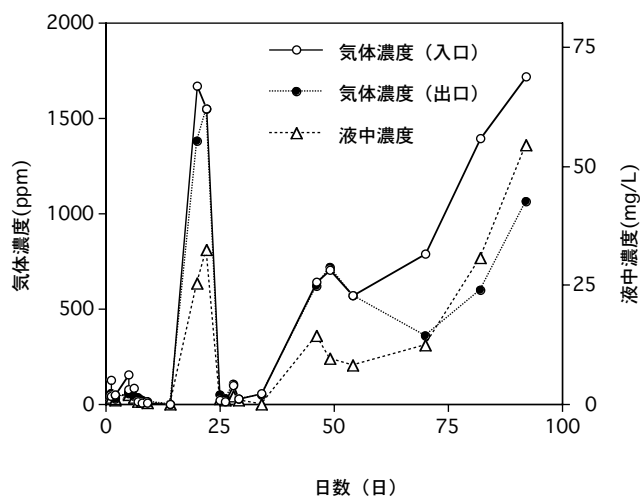


図-4 コントロール実験における*o*-キシレン濃度の変化
Exchange of *o*-xylene concentration
in control experiment

り、入口濃度の増減に伴って出口濃度および液中濃度が変動した。コントロールの系ではバイアル中に蒸留水が添加されているのみであり、入口の*o*-キシレンが増加したとき、一時的には*o*-キシレンが水に溶解するものの、一定の値で飽和し、その後は流入する汚染空気がそのまま流出したものと考えられる。

菌体濃度は、OD₆₀₀により測定を行ったが、実験14日目

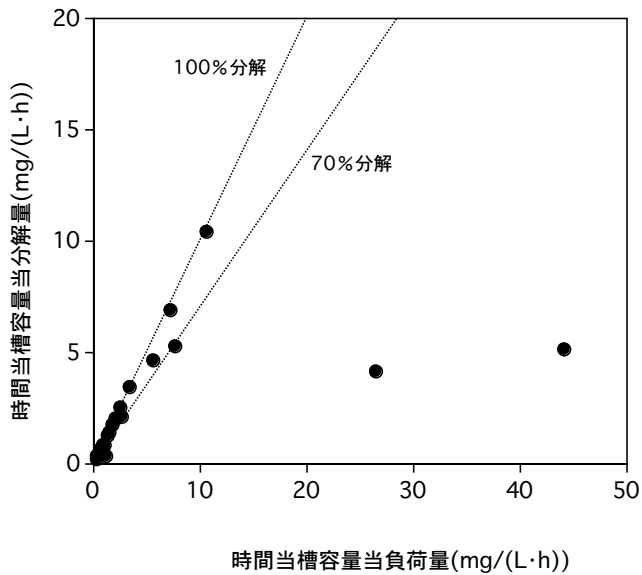


図-5 浄化槽容積当たりの負荷がo-キシレンの微生物分解に与える影響

Volumetric performance for o-xylene biodegradation

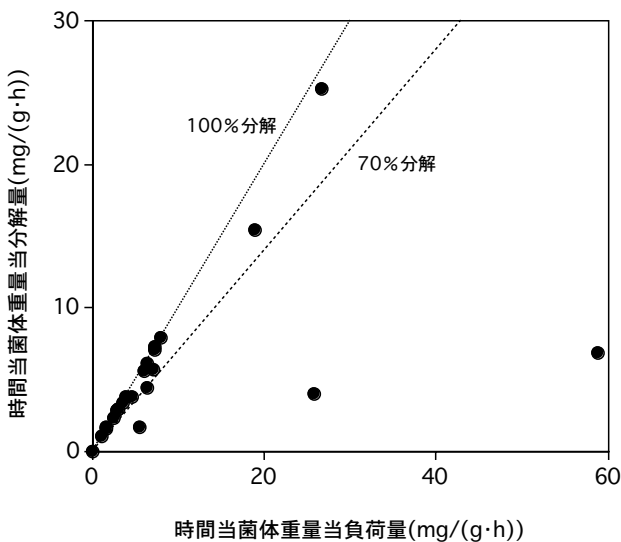


図-6 菌体重量当たりの負荷がo-キシレンの微生物分解に与える影響

Bacterial gravimetric performance for o-xylene biodegradation

まではあまり大きく変動しなかったものの、その後は負荷を上げることによって増加し、最大で5まで増加した。

以上の結果から、汚染空気の微生物浄化には一定の負荷限界があることが分かった。そこで、図-5には時間当槽容量当の負荷量と分解量の関係を示した。ただし、コントロールにおいて、出口濃度は必ずしも入口濃度と同一ではなかったことから、実験器具への吸着等の影響を排除するため、負荷量と分解量はコントロールの出口濃度をもとに計算した。さらに、図-6には時間当菌体重量

当負荷量と分解量の関係を示した。

図-5から分かるとおり、負荷量10.7 (mg/(L·h)) までは70～100%の分解率を示しているが、それ以上の負荷量になると分解率が低下する。しかしながら、4 (mg/(L·h)) 以上の分解量は維持しており、浄化装置の設計に当たっては、4～10 (mg/(L·h)) の負荷量に設定する必要があることが分かった。

次に、菌体重量当たりの負荷について考察する。図-6から分かるとおり、26.6 (mg/(g·h)) まで70～100%の分解率を示した。ただし、25.8 (mg/(g·h)) の負荷で分解量が4.1 (mg/(g·h)) まで減少した例もあり、菌体当たりの負荷量は4～20 (mg/(g·h)) とすることが適当と考えられた。

3.2 現場への適用可能性

これまでの検討により、BTEX汚染空気の微生物浄化が可能であることがわかった。そこで次に、実験的に求めた許容容積負荷に基づいて、本技術の土壤浄化への適用可能性について検討する。

土壤浄化では様々な場面が想定されるが、ここではBTEX汚染水を汲み上げ、原位置で浄化する方式を想定する。処理システムとしては、汚染水を一度曝気槽に導入し、BTEXを全て気化させ、このBTEXを含む汚染空気を微生物浄化槽で浄化する方式が想定できる。システムの概略を図-7に示す。

汚染浄化工事的前提として、以下の条件とする。

- ・ BTEX汚染濃度=100mg/L
- ・ BTEX汚染水量=5m³/h
- ・ 浄化期間=30ヶ月

容積負荷を4 (mg/(L·h))、生物処理槽の槽容量をX(m³) とすると、

$$(100\text{mg/L} \times 1000\text{L/m}^3 \times 5\text{m}^3/\text{h}) / (X\text{m}^3 \times 1000\text{L/m}^3) = 4 \text{ mg/(L} \cdot \text{h)}$$

$$X = 125\text{m}^3$$

これをもとに浄化にかかる費用を概算すると、微生物処理は活性炭処理の約35%のコストで浄化できると試算された。その結果、本技術はコスト面からも実用化技術として十分耐えうるものであると考えられた。

4. まとめ

微生物によるBTEX汚染空気浄化の実用化可能性に関する検討を行うため、o-キシレン汚染空気の微生物による連続浄化実験を行った。その結果、以下の知見を得た。

- ・ 40ml/minの低風量では、150ppmまでの負荷を3ppm以下の低濃度に浄化できる。

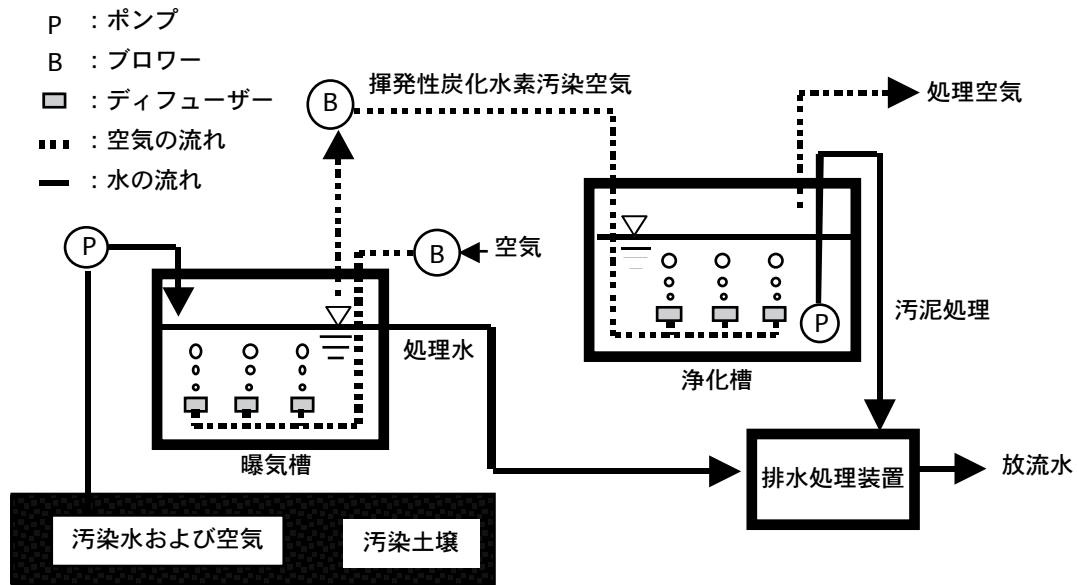


図-7 BTEX汚染空気浄化システムの模式図

Schematic diagram of treatment system of BTEX polluted air

- ・風量200ml/minでは、100ppmまでの汚染空気を10ppm以下まで浄化できる。
- ・汚染濃度が1000ppm以上となっても、処理風量を減らすことで0.1ppm以下まで浄化できる。
- ・浄化装置の設計に当たっては、時間当槽容量当負荷量を4～10 (mg/(L・h))、あるいは時間当菌体重量当負荷量を4～20 ((mg/(g・h)))に設定することが適当である。
- ・実験結果をもとにフィージビリティ・スタディーを行った結果、本技術は従来法である活性炭処理法より約65%のコストダウンを図れる可能性があり、十分実用化可能な技術であると考えられた。

5. 今後の展開

BTEX汚染空気は従来、活性炭により処理されてきたが、コストが高い、吸着した汚染物質の処理が必要といった問題が指摘されてきた。一方、微生物を用いたBTEX浄化法はこれらの問題を解決出来る可能性があるが、実用化にはいたっていない。

本研究では、実験室レベルでBTEXの微生物による連続浄化実験を行い、浄化性能、コストの両面で十分実用化に耐えうる技術であるとの結論を得た。

今後は、実施への導入を行うためのシステムおよび設計条件をさらに詳細に検討するとともに、処理性能を向上させるために、有用な分解菌の獲得や菌の高密度化について検討していく必要がある。また、分解菌の製剤

化に関する検討等を通して、システムの迅速立ち上げのための方法についてもさらに検討していきたい。

参考文献

- 1) U.S. Environmental Protection Agency. 1996. Cleaning up the nation's site : markets and technology trends 1996 edition. Washington, D.C. 20460.
- 2) Schäfer, W., and R. Therrien. 1995. Simulating transport and removal of xylene during remediation of a sandy aquifer. J. Contam. Hydrol. 19:205-236.
- 3) U.S. Environmental Protection Agency. 1987. List of Lists, July .
- 4) Fingas, M., N. Laroche, G. Sergy, B. Mansfield, G. Cloutier, and P. Mazerolle. 1991. Proceedings of the 8th technical seminar on chemical spills. Environment Canada : Ottawa. 223-332.
- 5) Dewulf, J., H. V. Langenhove, and J. Dirckx. 2001. Exergy analysis in the assessment of the sustainability of waste gas treatment systems. Sci. Total. Environ. 273:41-52.
- 6) Baggi, G., P. Barbieri, E. Galli, and S. Tollari. 1987. Isolation of a Pseudomonas stutzeri strain that degrades o-xylene. Appl. Environ. Microbiol. 53: 2129-2132.
- 7) Bickerdike, S. R., R. A. Holt, and G. M. Stephens. 1997. Evidence for metabolism of o-xylene by simultaneous ring and methyl group oxidation in a new soil isolate. 143:2321-2329.
- 8) Di Gennaro, P., E. Rescalli, E. Galli, G. Sello, and G. Bestetti. 2001. Characterization of Rhodococcus opacus R7, a strain able to degrade naphthalene and o-xylene isolated from a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. Res Microbiol. 152: 641-51.

- 9) Furukawa, K., J. R. Simon, and A. M. Chakrabarty. 1983. Common induction and regulation of biphenyl, xylene/toluene, and salicylate catabolism in *Pseudomonas paucimobilis*. *J. Bacteriol.* 154:1356-1362.
- 10) Gibson, D. T., G. J. Zystra, and S. Chauhan. 1990. Biotransformations catalyzed by toluene dioxygenase from *Pseudomonas putida* F1. In (eds., S. Silver, A. N. Chakrabarty, B. Iglewski, S. Kaplan) *Pseudomonas: Biotransformations, Pathogenesis, and Evolving Biotechnology*. ASM Press, Washington DC. 121-132.
- 11) Johnson, G. R., and R. H. Olsen. 1995. Nucleotide sequence analysis of genes encoding a toluene/benzene-2-monooxygenase from *Pseudomonas* sp. strain JS150. 61:3336-3346.
- 12) Kim, D., Y. S. Kim, S. K. Kim, S. W. Kim, G. J. Zylstra, Y. M. Kim, and E. Kim. 2002. Monocyclic aromatic hydrocarbon degradation by *Rhodococcus* sp. strain DK17. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:3270-3278.
- 13) Kitayama, A., E. Suzuki, Y. Kawakami, and T. Nagamune. 1996. Gene organization and low regiospecificity in aromatic-ring hydroxylation of a benzene monooxygenase of *Pseudomonas aeruginosa* JI104. *J. Ferment. Bioeng.* 82:421-425.
- 14) Kukor, J. J., and R. H. Olsen. 1996. Catechol 2,3-dioxygenases functional in oxygen-limited (hypoxic) environments. *Appl Environ Microbiol.* 62:1728-1740.
- 15) Lang, E. 1996. Diversity of bacterial capabilities in utilizing alkylated benzenes and other aromatic compounds. *Lett. Appl. Microbiol.* 23:257-260.
- 16) Massol-Deya, A., R. Weller, L. Rios-Hernandez, J. Z. Zhou, R. F. Hickey, J. M. Tiedje. 1997. Succession and convergence of biofilm communities in fixed-film reactors treating aromatic hydrocarbons in groundwater. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:270-276.
- 17) Rabus, R., and F. Widdel. 1995. Conversion studies with substrate analogues of toluene in a sulfate-reducing bacterium, strain Tol2. *Arch. Microbiol.* 164:448-451.
- 18) Romine, M. F., L. C. Stillwell, K. K. Wong, S. J. Thurston, E. C. Sisk, C. Sensen, T. Gaasterland, J. K. Fredrickson, and J. D. Saffer. 1999. Complete sequence of a 184-kilobase catabolic plasmid from *Sphingomonas aromaticivorans* F199. *J. Bacteriol.* 181:1585-1602.
- 19) Schraa, G., B. M. Bethe, A. R. van Neerven, W. J. Van den Tweel, E. Van der Wende, and A. J. Zehnder. 1987. Degradation 1,2-dimethylbenzene by *Corynebacterium* strain C125. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 53:159-170.
- 20) Shields, M. S., S. O. Montgomery, P. J. Chapman. 1989. Novel pathway of toluene catabolism in the trichloroethylene-degrading bacterium G4. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1624-1629.
- 21) Steinle, P., G. Stucki, R. Stettler, and K. W. Hanselmann. 1998. Aerobic mineralization of 2,6-dichlorophenol by *Ralstonia* sp. strain RK1. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2566-2571.
- 22) Stoecker, M. A., R. P. Herwig, J. T. Staley. 1994. *Rhodococcus zopfii* sp. nov., a toxicant-degrading bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44:106-110.
- 23) Teramoto, M., H. Futamata, S. Harayama, and K. Watanabe. 1999. Characterization of high-affinity phenol hydroxylase from *Comamonas testosteroni* R5 by gene cloning and its expression in *Pseudomonas aeruginosa* PA01c. *Mol. Gen. Genet.* 262:552-558.
- 24) Whited, G. M., and D. T. Gibson. 1991. Toluene-4-monooxygenase, a three-component enzyme system that catalyzes the oxidation of toluene to p-cresol in *Pseudomonas mendocina* KR1. *J. Bacteriol.* 173:3010-3016.
- 25) Williams, P. A., and K. Murray. 1974. Metabolism of benzene and the methylbenzoates by *Pseudomonas putida* (arvilla) mt-2: evidence for the existence of a TOL plasmid. *J. Bacteriol.* 120:416-423.
- 26) Zhou, N. Y., A. Jenkins, C. K. N. Chan Kwo Chion, and D. J. Leak. 1999. The alkene monooxygenase from *Xanthobacter* strain Py2 is closely related to aromatic monooxygenases and catalyzes aromatic monohydroxylation of benzene, toluene, and phenol. 65:1589-1595.