

## ノート

# 廃棄物不法投棄現場地下水の揮発性有機化合物 (VOC) 微生物分解能力の検討

巽 正志, 岩出義人, 宇佐美 敦子, 秋永克三

## Biodegradation of volatile organic compound(VOC) in illegal waste dumping site

Masashi TATSUMI, Yoshito IWANE, Atsuko USAMI and Katsumi AKINAGA

揮発性有機化合物 (VOC) を含む廃棄物の不法投棄により, VOC 汚染の拡散が見られるサイトで, 周辺地下水中の, 微生物によるベンゼン, トルエンの分解傾向について検討した. 地下水を採取し, それらにベンゼン, トルエンを添加した系での好氣的, 嫌氣的条件での分解試験および温度条件を変えた分解試験を実施した. さらに, ベンゼン, トルエンの分解が見られた地下水から, それらの分解菌の単離・同定を行った. その結果, 好氣的条件でベンゼン, トルエンが微生物により分解されること, および一年を通じてサイト地下水の溶存酸素濃度は, ベンゼン等の好氣的分解に十分であることから, 当サイトの地下環境中では, ベンゼン, トルエンが微生物により分解されていると考えられた. また, 地下水からは, ベンゼン, トルエンの分解能を有する *Comamonas testosteroni* 等の菌株が単離され, これらの細菌により汚染地の浄化が進んでいると推察された.

キーワード: 廃棄物不法投棄, 地下水汚染, VOC, 微生物分解

### はじめに

大規模な廃棄物不法投棄が全国各地で問題となっている. 特に有害物質を含む廃棄物の不法投棄現場では, 地下水等を介して汚染が投棄地周辺に拡散する恐れがあり, 汚染拡散防止や浄化対策など, 早急な対応を必要とする事例がみられる<sup>1)</sup>. 高濃度汚染が存在するサイトの浄化対策などに関しては多くの方法が開発, 実用化されているが, 汚染現場周辺の低濃度汚染域に対しては, 自然減衰による効果を採用入れた浄化対策を適用することが費用対効果の点で有効であると考えられている<sup>2,3)</sup>. 自然減衰には幾つかの要因があるが, 揮発性有機化合物 (以下「VOC」とする) は, 微生物により分解されることが知られており<sup>4,5)</sup>, 低濃度の VOC 汚染サイトには, それら VOC 分解微生物の効果を取り入れた浄化対策の実施が有効であると考えられる. 三重県桑名市にある不法投棄現場は, 廃棄物中に高濃度の VOC が存在しており, 周辺地下水からは低濃度の VOC が検出されている.

このサイトでは, 2002 年度から遮水壁の設置による汚染物質の囲い込みおよび揚水循環浄化設備の稼働による環境修復を実施している. 遮水壁設置により VOC の拡散は防止されたが, 設置前に拡散したと見られる VOC の地下水汚染が問題となっている. 周辺地下水中の VOC 濃度は環境基準値の数倍程度で推移しており, 年々, 濃度が減衰する傾向にある. VOC が検出される地下水は, 適度な BOD 値を示し微生物活性が維持できる水質であると予測された. このことから, VOC が検出される地下水の浄化対策として, 当サイトへの科学的自然減衰 (Monitored Natural Attenuation; 以下「MNA」と略す) の適用は有効であると考えられた. 一般に MNA を修復対策として適用するには, 対象サイトでの自然減衰のメカニズムを科学的に証明することが必要とされているが<sup>2,3)</sup>, 当サイトでは, これまでに VOC の微生物分解傾向について調査されていない. そこで, 本報では, 微生物分解による MNA の適用可能性を判断す

るため、地下水を用いた試験により、サイト地下水の中で VOC の微生物分解について検討したので、その結果を報告する。

## 方 法

### 1. サンプルング

不法投棄地周辺は、主に、砂質土層および礫質土層で構成され、標高 40m (GL-14m) 付近に 1~2m 厚の粘土層、また、標高 32m (GL-22m) 付近に 10m 以上の厚みを有する凝灰質シルト層が確認されている<sup>6)</sup>。これら粘土層および凝灰質シルト層は、難透水層となり、当該場所の帯水層は粘土層を境に上部帯水層と下部帯水層に区分される。そこで、本研究の地下水サンプルング地点を、これまでの水質調査結果を参考に、上部および下部帯水層のそれぞれ 1 地点の計 2 地点とした。図 1 にサンプルング地点とそれぞれの帯水層地下水の流向を示す。投棄場所北側の上部帯水層地下水を観測井 B7-2 で、投棄地南側の下部帯水層地下水を観測井オ-2 で採取した。

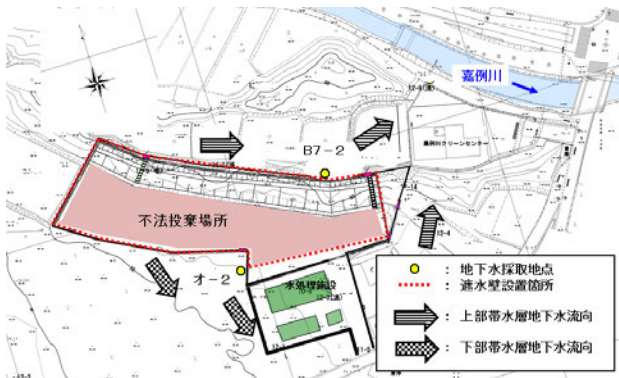


図 1 地下水サンプルング地点

地下水の採取および現場での水質測定は、観測井内に滞留している地下水を取り除いた後に、浸出してきた地下水で行った。

### 2. 水質理化学分析

採水時の水質は、水温、pH、溶存酸素 (DO)、酸化還元電位 (ORP)、電気伝導度 (EC) については、YSI/Nanotech INc. 556Multi-Probe-System を用いて現場で測定した。ベンゼンおよびトルエンは、JIS K0125.5.2 に従いヘッドスペース-ガスクロマトグラム質量分析法 (HSS/GC/MS : Agilent Technologies G1888/6890N/5975C, Column : Agilent J&W DB-624) により測定した。その他、各水質項目については、JIS K 0102 に従い採取後、実験室内にて分析を

行った。

### 3. 好氣的条件での VOC 分解試験

B7-2 およびオ-2 の観測井で採取した地下水に VOC (ベンゼンおよびトルエン) を加え、好氣的条件で培養後、VOC の分解程度を調べた。B7-2 およびオ-2 地下水での試験系列をそれぞれ表 1、表 2 に示す。ガラス製 5L 瓶に現場から採取した地下水 (B7-2 またはオ-2) を 4.5L 分取し、各 VOC 成分をほぼ 5mg/L の濃度になるように添加した。シリコン栓で密栓後、酸素 50cc を添加し、25°C で振とう培養を行った。ブランク (BL) には、B7-2 の系ではオートクレーブ滅菌 (121°C, 15min) した地下水、オ-2 の系ではオートクレーブ滅菌した蒸留水に、VOC 成分を添加したのを用いた。さらに、地下水 (B7-2 またはオ-2) そのものをコントロールとした。12 時間毎に培養液をサンプルングし、各水質項目を測定した。

表 1 地下水 B7-2 の好氣的条件での VOC 分解試験

	試料水	VOC 添加
ブランク	滅菌地下水 B7-2	ベンゼン, トルエン
コントロール	地下水 B7-2	無し
試験区	地下水 B7-2	ベンゼン, トルエン

表 2 地下水オ-2 の好氣的条件での VOC 分解試験

	試料水	VOC 添加
ブランク	滅菌蒸留水	ベンゼン, トルエン
コントロール	地下水オ-2	無し
試験区	地下水オ-2	ベンゼン, トルエン

### 4. 好氣的条件における各種温度条件での VOC 分解試験

地下水 B7-2 を用いて、好氣的条件下で培養温度を変えて VOC 分解能を調べた。培養は ADVANTEC 社製 TN-2148 型振とう温度勾配培養装置を用い、図 2 に示した温度条件 (8.4~38.7°C) で行った。地下水 B7-2 に、VOC (ベンゼンまたはトルエン) をほぼ 5mg/L となるように添加し、培養用 L 型試験管 (内容積 45ml) に 25ml ずつ分取し、シリコン栓で密栓後、培養機に装着した。培養操作による VOC の揮散を確認するため、地下水 B7-2 をオートクレーブ滅菌した試料水に VOC を添加したものを 40.5°C

(ブランク 1) と 42.4°C (ブランク 2) の培養機にセットした。サンプルは 8.4°C から 38.7°C まで 22 段階とし、8 日間振とう培養した。適宜、サンプリングし、ヘッドスペースガスクロマトグラム質量分析法のスキャン測定で、ベンゼン、トルエンの TIC (トータルイオンクロマト) ピークの確認を行った。

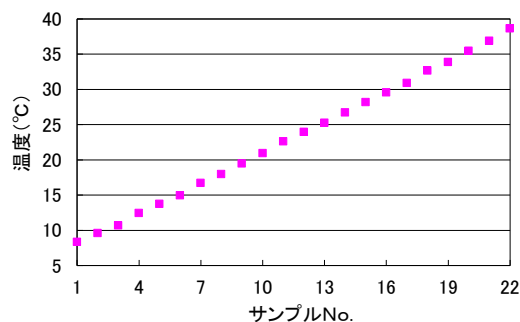


図 2 温度勾配試験における培養温度

### 5. 嫌氣的条件での VOC 分解試験

地下水 B7-2 およびオ-2 にベンゼン、トルエンを加え、嫌氣的条件で培養試験を行った。試験系列を表 3 に示す。

表 3 嫌氣的条件での VOC 分解試験

	試料水	VOC 添加
地下水 B7-2		
ブランク	滅菌地下水 B7-2	ベンゼン, トルエン
試験区	地下水 B7-2	ベンゼン, トルエン
地下水 オ-2		
ブランク	滅菌地下水 オ-2	ベンゼン, トルエン
試験区	地下水 オ-2	ベンゼン, トルエン

採取した地下水を窒素ガスで十分曝気し、溶存酸素を除去した後、VOC (ベンゼンおよびトルエン) を約 5mg/L となるように添加した。調製した検液を、滅菌済みのガラス製バイアル瓶 (内容積 75ml) に 50ml ずつ分注し、窒素置換した嫌氣性インキュベータ (SNYO MIP-1025) 内にしばらく静置後、PTFE 被覆シリコンセプタム付きクリップキャップで密栓した。また、オートクレーブ滅菌 (121°C, 15min) した地下水を試料水に用い、同様に調製したサンプルをブランクとした。各系列の検体調製後、25°C で静置培養を行った。ベンゼン、トルエンの濃度測定は 7 日ごとに 35 日後まで行った。

### 6. VOC 分解微生物の単離・同定

ベンゼン、トルエンの分解能が確認された地下水で、それら分解微生物の単離を行った。100ml 三角フラスコ (滅菌済み) にオートクレーブ滅菌 (121°C, 15min) した BSM (1L 中に K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.2g, FeCl<sub>3</sub> 0.01g, NaCl 0.05g, CaCl<sub>2</sub> 0.05g 含有) 液体培地を 40ml 分取し、VOC 成分としてベンゼンとトルエンをそれぞれ 10mg/L となるように添加した。栄養源として 0~4mg の酵母エキスを添加し、現場から採取した地下水 400μl を加えて密栓した後、25°C で振とう培養を行った。培養開始から 2~6 日後に検液を採取し、ヘッドスペースガスクロマトグラム質量分析法でスキャン測定を行い、TIC ピークによりベンゼン、トルエン分解能を調べた。分解が確認された系の検液を、ベンゼン、トルエンを加えた BSM 寒天培地に塗布した。培地上に成長したコロニーを釣菌し、SCD (1L 中に 15.0g トリプトン, 5.0g ソイペプトン, 5.0g 塩化ナトリウム, 15.0g カンテン含有) 寒天培地にて継体培養を行った。SCD 寒天培地上に成長した単コロニーを釣菌し、単離菌株を得た。それら単離した菌株を、VOC を添加した BSM 液体培地 40ml が入った三角フラスコ (内容積 100ml) 中に接種し、密栓後、25°C で 3 日間振とう培養した後、スキャン測定により培養液中のベンゼン、トルエンを確認した。ベンゼン、トルエンの分解能を示した菌株は DNA 抽出した後、27F と 1492R Primer で 16S rDNA を増幅した。増幅した遺伝子を精製した後、シーケンス用 Primer を用いて遺伝子解析を行い<sup>7)</sup>、得られたシーケンスデータをデータベースと照合することにより分解菌の同定を行った。

### 結果および考察

#### 1. 地下水採取時の水質

培養試験に用いた地下水 B7-2 およびオ-2 の水質測定結果を表 4 に示す。投棄地北側の上部帯水層の地下水である B7-2 からは地下水環境基準値 (0.01mg/L) を上回るベンゼンが、また、トルエンについても要監視項目の指針値 (トルエン : 0.6 mg/L) 以下ではあるが、0.19mg/L 検出された。試験に用いた地下水の DO はサンプリング時 1.4~1.6mg/L であり、ベンゼン等の好氣的分解には十分な濃度であった。さらに、こ

れまでの調査で地下水 B7-2 は 2~5mg/L, 地下水オ-2 は 2~3mg/L 程度の DO 濃度を示し, 好気的な環境にあることが確認されている<sup>8)</sup>.

表 4 地下水 B7-2 およびオ-2 の水質

	B7-2	オ-2
水温 (°C)	17.2	17.0
pH	8.5	7.2
ORP (mV)	17	-3
DO (mg/L)	1.4	1.6
ベンゼン (mg/L)	0.011	<0.001
トルエン (mg/L)	0.19	<0.001

## 2. 好気的条件下での VOC 分解試験

### 1) 地下水 B7-2

培養時の, ベンゼン, トルエン濃度を図 3 に示す.

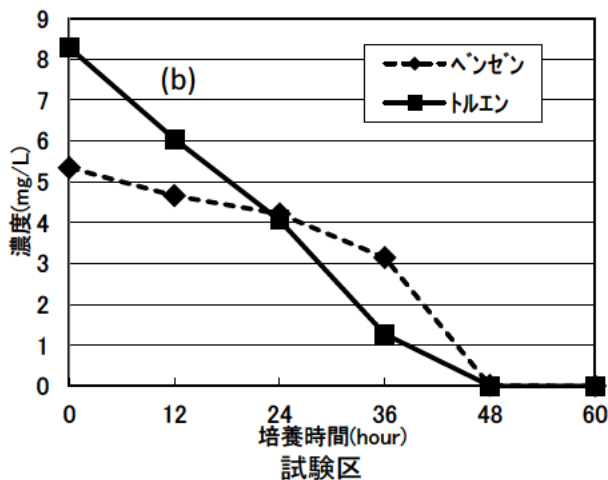
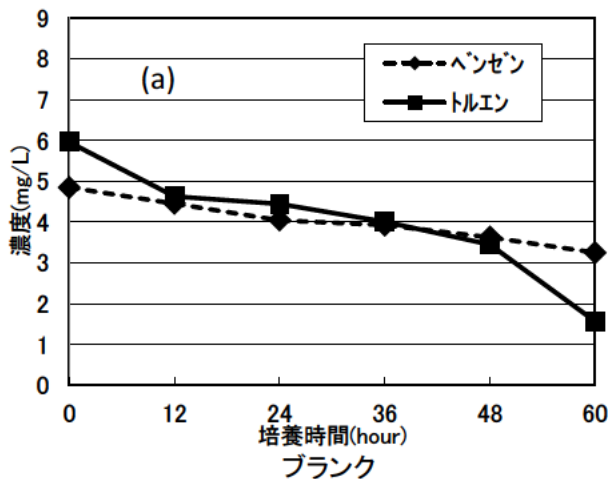


図 3 地下水 B7-2 の好気的培養における VOC 濃度の変化

滅菌した系のブランクでは培養期間中, 培養液中にはベンゼン, トルエンが残存していることが確認できる (図 3(a)). 一方, 滅菌していない試験区では, 培養開始からベンゼン, トルエンが減少し, 48 時間後にはほぼ全て分解された (図 3(b)). このことから, 地下水 B7-2 中に生息している微生物により, ベンゼン, トルエンが分解されたと考えられる. 培養中のコントロールと試験区の濁度測定結果を図 4 に示す. コントロールと試験区では濁度の顕著な差は見られず, また, 培養中の大幅な濁度変化もなかった. このことから, VOC 添加による菌数への影響は小さく, また, 培養中の菌数変化も少なかったと考えられる.

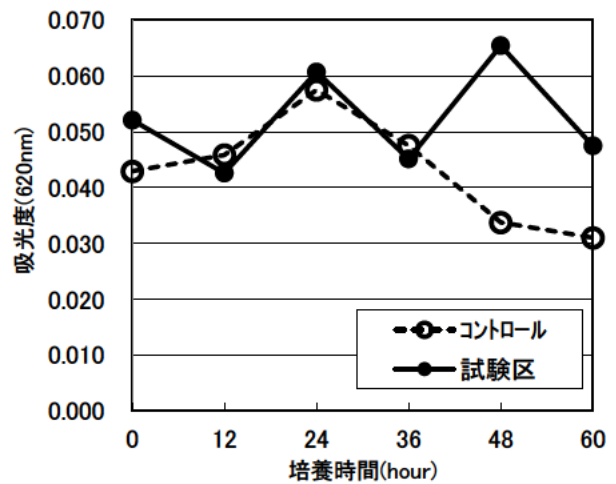


図 4 地下水 B7-2 の好気的培養における濁度の変化

### 2) 地下水オ-2

培養中の, ベンゼン, トルエン濃度を図 5 に示す. ブランクでは, 培養期間中, 培養液内にベンゼン, トルエンが保持されていたことが分かる (図 5(a)). 試験区では, 培養開始後 36 時間までは大きな減少は見られなかったが, 36~48 時間でベンゼン, トルエン濃度の顕著な減少が見られ, 48 時間後にはそれらはほぼ全て分解され, 60 時間後には, ベンゼン, トルエン共に全く検出されなくなった (図 5(b)). このことから, 地下水オ-2 中に生息している微生物により, ベンゼン, トルエンが分解されたと考えられる. 培養中のコントロールと試験区の濁度測定結果を図 6 に示す. コントロールでは, 培養中に濁度変化は見られないが, 試験区では,



ベンゼン，トルエンの濃度減衰が見られた（図 5 (b)参照）培養開始後 36～48 時間の間に大幅な濁度増加が見られ，この時間帯に菌数が増加したことが分かる．コントロールとの濁度測定結果の比較から，地下水オ-2 は好気的条件下でベンゼン，トルエンを添加すると，菌数が増加し，添加したベンゼン，トルエンが分解される結果となった．

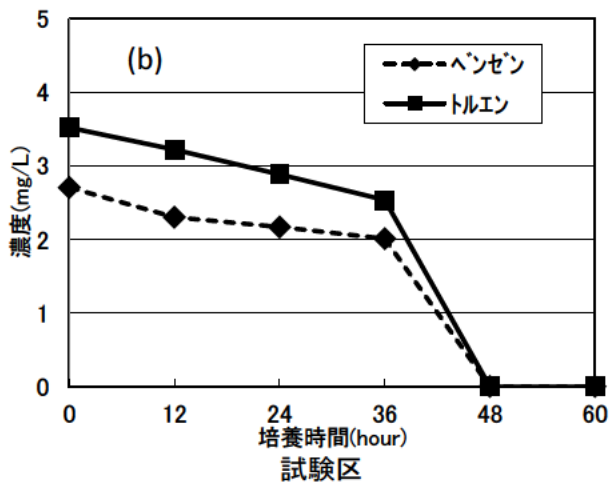
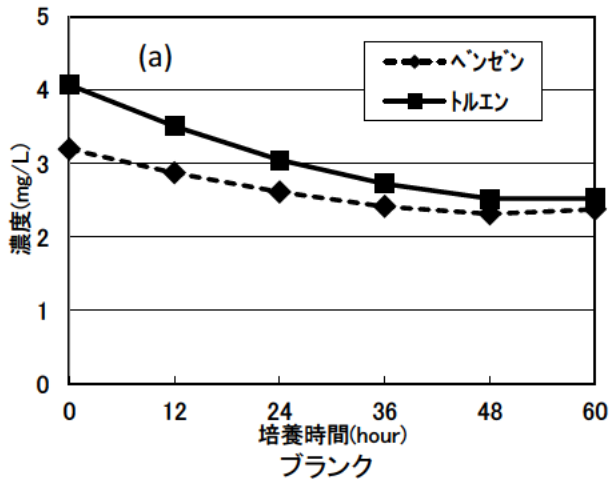


図 5 地下水オ-2 の好気的培養における VOC 濃度の変化

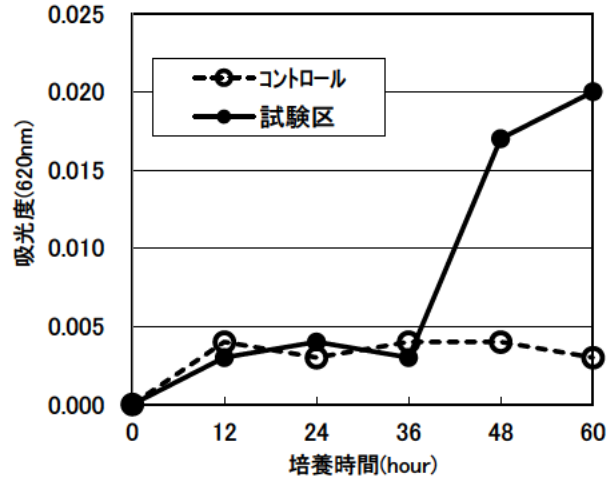


図 6 地下水オ-2 の好気的培養における濁度の変化

### 3. 好気的条件下における各種温度条件での VOC 分解試験

好気的条件下における各種温度条件での VOC 分解状態を表 5 に示す．培養開始 1 日経過時点では，ヘッドスペースガスクロマトグラム質量分析法でのスキャン測定の結果，全てのサンプルでベンゼン，トルエンの明瞭な TIC のピークが確認された．培養 2 日後に，ベンゼン添加系では 25.3～36.9℃，トルエン添加系では 22.6℃と 23.9℃にピーク残留が見られるが 19.5～36.9℃の温度範囲で TIC ピークが消滅し，8 日後にはベンゼン添加系，トルエン添加系共に 10.7～38.7℃で TIC ピークが消滅していた．一方，プランクとしてセットした培養温度 40℃以上の 2 サンプルでは，培養期間中，明瞭なベンゼン，トルエンの TIC ピークが保持されていた．これらの結果から，10.7～38.7℃の温度範囲でベンゼン，トルエンの微生物分解が進むことが分かった．現場の地下水温は，13～23℃の範囲であることから，一年を通じて地下水中で，ベンゼン，トルエンの微生物分解が進む温度条件にあることが分かった．

表5 地下水 B7-2 の好氣的条件における各種培養温度とベンゼン，トルエンの TIC ピーク出現状況

ベンゼン								トルエン							
サンプル	培養温度 (°C)	培養日数						サンプル	培養温度 (°C)	培養日数					
		1	2	3	4	5	8			1	2	3	4	5	8
1	8.4	○	○	○	○	○	○	1	8.4	○	○	○	○	○	○
2	9.6	○	○	○	○	○	○	2	9.6	○	○	○	○	○	△
3	10.7	○	○	○	○	○	×	3	10.7	○	○	○	○	○	×
4	12.5	○	○	○	○	○	×	4	12.5	○	○	○	○	△	×
5	13.7	○	○	○	○	△	×	5	13.7	○	○	○	○	×	×
6	15.0	○	○	○	○	×	×	6	15.0	○	○	○	○	×	×
7	16.7	○	○	×	×	×	×	7	16.7	○	○	×	×	×	×
8	18.0	○	○	○	×	×	×	8	18.0	○	○	△	×	×	×
9	19.5	○	○	×	×	×	×	9	19.5	○	×	×	×	×	×
10	20.9	○	△	×	×	×	×	10	20.9	○	×	×	×	×	×
11	22.6	○	○	×	×	×	×	11	22.6	○	○	×	×	×	×
12	23.9	○	△	×	×	×	×	12	23.9	○	△	×	×	×	×
13	25.3	○	×	×	×	×	×	13	25.3	○	×	×	×	×	×
14	26.7	○	×	×	×	×	×	14	26.7	○	×	×	×	×	×
15	28.2	○	×	×	×	×	×	15	28.2	○	×	×	×	×	×
16	29.6	○	×	×	×	×	×	16	29.6	○	×	×	×	×	×
17	30.9	○	×	×	×	×	×	17	30.9	○	×	×	×	×	×
18	32.7	○	×	×	×	×	×	18	32.7	○	×	×	×	×	×
19	33.9	○	×	×	×	×	×	19	33.9	○	×	×	×	×	×
20	35.5	○	×	×	×	×	×	20	35.5	○	×	×	×	×	×
21	36.9	○	×	×	×	×	×	21	36.9	○	×	×	×	×	×
22	38.7	○	○	△	×	×	×	22	38.7	○	○	△	×	×	×
ブランク1	40.6	○	○	○	○	○	○	ブランク1	40.6	○	○	○	○	○	○
ブランク2	42.4	○	○	○	○	○	○	ブランク2	42.4	○	○	○	○	○	○

TICピーク : ○;ピークあり, △;痕跡, ×;ピーク無し

#### 4. 地下水 B7-2 およびオ-2 の嫌氣的条件での VOC 分解試験

培養試験中のベンゼン，トルエン濃度をそれぞれ図7，図8に示す。嫌氣的条件で約1ヶ月間培養を行ったが，測定値に若干のバラツキが見られるものの，ベンゼン，トルエンの減少は見られなかった。このことから，現場地下環境中では，嫌氣的条件でベンゼン，トルエンの微生物分解による減衰は，ほとんど起こっていないと考えられる。

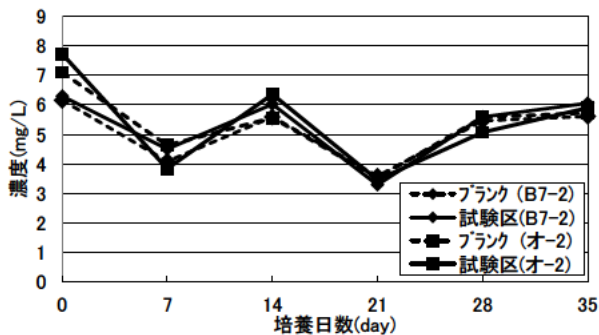


図7 地下水 B7-2 およびオ-2 の嫌氣的培養におけるベンゼン濃度の変化

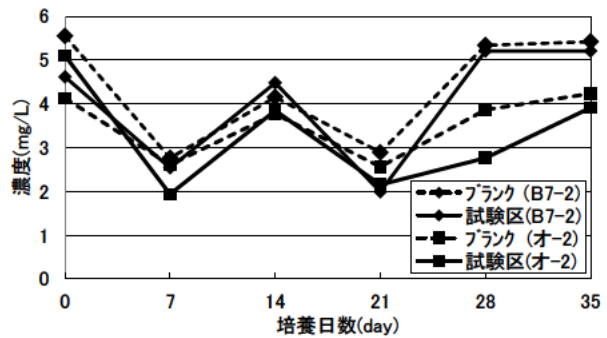


図8 地下水 B7-2 およびオ-2 の嫌氣的培養におけるトルエン濃度の変化

#### 5. VOC 分解微生物の単離・同定

##### 1) 地下水 B7-2 からの分解菌の単離・同定

表6に示すように，培養開始2日後に菌の増殖による液体培地の白濁化がみられた。酵母エキスの添加量が多く，ベンゼン，トルエンの添加量が多いほど，培養液の白濁化が強く認められた。培養により，ベンゼン，トルエンを分解する菌の増加が予測された。培養開始6日後に，ヘッドスペースーガスクロマトグラム質量分析法でスキャン測定を行ったところ，表6に示す

全ての培養液で、ベンゼン、トルエンを示す TIC ピークが消滅していた。また、データは省略したが、地下水を添加しなかった系では、培養 8 日後でもベンゼン、トルエンの明瞭な TIC ピークが確認できた。次に、培養液から、VOC 分解微生物の単離を行ったところ、単コロニー 63 個を得た。得られた 63 の菌株をベンゼン、トルエンを加えた BSM 液体培地中に添加し、ベンゼン、トルエンの分解能の確認を行い、ベンゼン、トルエン分解能を有する菌 6 株と、ベンゼン分解能を有し、トルエン分解能を持たない菌 1 株を得た。これらの菌の同定結果を表 7 に示す。

表 6 BSM 液体培地中の VOC 濃度と白濁程度

添加 VOC種 / 濃度(mg/L)	酵母エキス (mg/L)			
	0	1	10	100
ベンゼン / 10	透明	微白濁	薄白濁	白濁
トルエン / 10	微白濁	薄白濁	白濁	白濁
ベンゼン / 10 + トルエン / 10	微白濁	薄白濁	白濁	白濁

表 7 地下水 B7-2 からの VOC 分解菌の単離・同定結果

菌株No.	ベンゼン分解	トルエン分解	同定された菌
B7-2_2	+	+	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
B7-2_4	+	-	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
B7-2_13	+	+	<i>R. erythropolis</i>
B7-2_14	+	+	<i>Burkholderia cenocepacia</i>
B7-2_37	+	+	<i>Comamonas testosteroni</i>
B7-2_38	+	+	//
B7-2_58	+	+	//

## 2) オ-2 地下水からの分解菌の単離・同定

採取したオ-2 地下水について、VOC 分解微生物の単離を行ったところ、単コロニー 75 個を得た。それら 75 菌株のベンゼン、トルエン分解能を確認し、ベンゼン、トルエン分解能を有する菌株 7 個を得た。オ-2 地下水から単離した VOC 分解菌の同定結果を表 8 に示す。地下水 B7-2 とオ-2 から VOC 分解菌を単離・同定した結果、得られた 14 菌株中 7 株が *Comamonas testosteroni* であった。*C.testosteroni* は、好氣的条件で芳香族化合物類を分解することが報告されている<sup>9)</sup>。さらに、地下水 B7-2 から 2 株単離された *Rhodococcus erythropolis* は、

アルカン類や芳香族化合物類など、重軽油の主成分である化学物質を分解できる細菌として知られている<sup>10,11)</sup>。このことから、当汚染現場では、*C.testosteroni* を主し、地下水から単離・同定された複数の細菌により、好氣的条件下でベンゼン、トルエンなどの汚染物質が分解されていることが明らかとなった。

表 8 地下水オ-2 からの VOC 分解菌の単離・同定結果

菌株No.	ベンゼン分解	トルエン分解	同定された菌
オ-2.23	+	+	<i>Comamonas testosteroni</i>
オ-2.28	+	+	//
オ-2.30	+	+	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>
オ-2.45	+	+	<i>C. testosteroni</i>
オ-2.50	+	+	<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i>
オ-2.57	+	+	<i>C. testosteroni</i>
オ-2.72	+	+	<i>S. maltophilia</i>

## 謝辞

本研究は、環境省環境研究総合推進費補助金の助成を受け行った。また、現場にて地下水をサンプリングする際に、株式会社クボタ桑名作業所の職員に多大なご協力を頂いた。ここに記して謝意を表す。

## まとめ

桑名市五反田の廃棄物不法投棄現場の地下水を用いて、現場地下水中に存在する微生物のベンゼン、トルエン分解能に関する試験を実施したところ、次のことが明らかとなった。

- ・投棄地の周辺地下水中には、好気性条件下でベンゼン、トルエンを分解する微生物が存在する。
- ・嫌氣的条件では、ベンゼン、トルエンの微生物分解は見られない。
- ・各種温度条件下での培養の結果、現場地下水の温度条件では一年を通じて、ベンゼン、トルエンの微生物分解が進む。
- ・現場地下水中には、*C.testosteroni* を主として、*R.erythropolis* など、複数の細菌によりベンゼン、トルエンが分解されていることが明らかとなった。

当現場の不法投棄地周辺の地下水は、好氣的な条件であることが確認されており、遮水壁外側の地下水中に残留しているベンゼン、トルエンは、微生物分解による濃度減衰が期待できる

と考えられる。

## 文 献

- 1) 古市 徹, 西 則雄: 不法投棄のない循環型社会づくり(2009), 環境新聞社.
- 2) 谷口 紳, 中杉修身: MNA(Monitored Natural Attenuation)~自然の回復力を活用して~, 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会第 10 回講演集, 317-320 (2004).
- 3) 前川統一郎, 中杉修身: MNA (科学的自然減衰) の定義と基本的考え方, 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会第 7 回講演集, 13-14(2001).
- 4) E.JINDROVA, M.CHOCOVA, K.DEMNEROVA, V.BRENNER : Bacterial Aerobic Degradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylene, *Folia Microbiologica* , 47,83-93 (2002).
- 5) B.Hendrickx, H.Junca, J.Vosahlova, A.Lindner, I.Ruegg, M.BucheliWitschel, F.Faber, T.Egli, M.Mau, M.Schlomann, M.Brennerova, V.Brenner, D.H.Pieper, E.M.Top, W.Dejonghe, L.Bastiaens and D.Springael : Alternative primer sets for PCR detection of genotypes involved in bacterial aerobic BTEX degradation : Distribution of the genes in BTEX degrading isolates and in subsurface soils of a BTEX contaminated industrial site , *Journal of Microbiological Methods*, 64, 250-265(2006).
- 6) 西田憲一, 古市 徹, 石井一英: 不法投棄現場の VOC 汚染地下水の浄化プロセスの評価とその対策に関する研究, *土木学会論文集 G (環境)*, 67, No.6 (環境システム研究論文集 第 39 卷) ,II\_489-II\_499(2011).
- 7) 篠田吉史, 加藤暢夫, 森田直樹: 16S rRNA 遺伝子解析による細菌の系統分類, *島津評論*, 57, 121-132(2000).
- 8) 巽 正志: 不法投棄により VOC 汚染サイトの環境修復技術・評価に関する研究, 平成 23 年度環境総合推進費補助金研究事業総合研究報告書(2012).
- 9) A.K.Goyal and G.J.Zylstra : Genetics of naphthalene and phenanthrene degradation by *Comamonas testosteroni*, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 19, 401-407 (1997).
- 10) HISAE AOSHIMA, TATSUAKI HIRASE, TAKAKIYO TADA, NAOYA ICHIMURA, HIDEUKI YAMAGUCHI, MITSURU TAGUCHI and TAKESHI MYOENZONO : Improvement of Heavy Oil Degradation by *Rhodococcus erythropolis* C2, *Journal of Environmental Biotechnology*, 15(2), 107-109 (2006).
- 11) F.Peng, Z.Liu, L.Wang and Z.Shao : An oil-degrading bacterium : *Rhodococcus erythropolis* strain 3C-9 and biosurfactants, *Journal of Applied Microbiology* 102, 1603-1611(2007).