

海洋深層水、表層水及びそれらの混合海水におけるフェノールの分解性

In vitro degradation test of phenol in surface, deep, and mixed seawater

岩崎 誠二

Seiji IWASAKI

Abstract

Some heterotrophic bacteria in surface seawater (SSW), living on natural organic compounds such as sugars and lipids, can decompose artificial chemical substances. The enriched nature of deep seawater (DSW) may facilitate the activities of these bacteria. In the present study, degradation of one, ten and one hundred mg ℓ^{-1} of phenol was compared *in vitro* among the four media, SSW, DSW, mixture of SSW and DSW (1 : 1) and distilled freshwater. The DSW and SSW were pumped from depths of 440 and 0 m, respectively, in the Pacific Ocean off Owase, Mie Prefecture. Tested concentrations of phenol were degraded in SSW and DSW (but not in distilled freshwater) as follows: 1 mg ℓ^{-1} of phenol was almost completely degraded in SSW, DSW and the mixture in two days; 10 mg ℓ^{-1} of phenol was almost completely degraded in two days in DSW and the mixture, while degradation rate was less than 60 % in SSW; although 100 mg ℓ^{-1} of phenol was not perfectly degraded in any seawater after five days, the degraded amounts of phenols increased unlike with lower phenol concentrations. Initial numbers of bacteria in SSW, DSW and the mixture were 89000, 530 and 41000 CFU $m\ell^{-1}$, respectively. The number increased most in the mixture, attaining 10^6 CFU $m\ell^{-1}$ during the period. These results suggested that the mixture of SSW (bacteria-rich, nutrient-poor) and DSW (bacteria-poor, nutrient-rich) was optimal and that the *in situ* release of DSW can be a good tool for enhancing bioremediation to degrade artificial chemical compounds.

Key Words: bioremediation, phenol, surface seawater, deep seawater, degradation, microbe

要 旨

深層水に含まれる窒素・リン等栄養塩を利用したバイオレメディエーションの基礎実験として、深層水、表層水及びそれらの1 : 1混合海水における1, 10及び100 mg ℓ^{-1} のフェノール分解性の比較検討を行った。その結果、上記の各種海水におけるフェノールの分解速度は、おおむね1 : 1混合海水>深層水>表層水であった。1 : 1混合海水では、10 mg ℓ^{-1} のフェノールは、1日間の分解試験で、90 %以上分解された。細菌数は、混合海水では初期値が 10^4 CFU $m\ell^{-1}$ のオーダーであったが、2日間で 10^6 CFU $m\ell^{-1}$ 程度まで上昇した。表層水は微生物数が多いが栄養塩類に乏しく、深層水は栄養塩類が豊富であるが微生物数は少ない。1 : 1混合海水では、微生物及び栄養塩類を相互に供給する結果となり、化学物質を分解する上で適切な系が形成されたと推測される。本結果から、深層水の新たな利用方法として、深層水を利用したバイオレメディエーションの可能性が示唆された。

キーワード：フェノール、表層水、深層水、分解性、微生物

1. はじめに

海洋深層水（以下、深層水）を海洋表層に散布することにより、海域の生産力を向上させる、いわゆる「海域の肥沃化」が検討されている（渡辺 2000；渡辺ら 2000；池谷ら 2001；池谷ら 2003；藤田 2001；藤田 2003；高月ら 2002；Takahashi and Ikeya 2003）。すなわち深層水に含まれる豊富な栄養塩を表層海域に供給することによって、植物性プランクトンの増殖及び海藻の生育を促進させ、魚介類等海域全体の生産力を向上させようとする試みである。深層水の供給に伴う窒素・リン等栄養塩類の増加によって、従属栄養細菌の生育も同時に促進される可能性がある。従属栄養細菌は、通常は糖類、脂質等、天然に存在する有機物を生育のためのエネルギー源として利用しているが、人工の化学物質を同様に利用できる種類も存在する。深層水および従属栄養細菌のこれらの性質を利用した環境改善技術が、深層水の新たな用途として期待できる。すなわち、当該技術は一種のバイオレメディエーション（経済産業省、2005）である。

そこで筆者は、深層水を利用したバイオレメディエーション実施の基礎実験として、まず深層水、表層水及びそれらの1：1混合海水におけるフェノールの分解性の比較検討を行った。

2. 材料及び方法

(1) 深層水及び表層水の採取位置等

本研究で使用した深層水は、三重県尾鷲市三木崎沖約5km（東経136°18'40''北緯33°54'10''、図1）、深度440mから揚水されている海水を用いた。深層水試料は、海洋深層水取水施設アクアステーション（三重県尾鷲市古江、図1）で採水した。水温は取水直後にガラス製棒温度計を用いて測定した。当該試料を滅菌した2.5l容の褐色ガラス瓶（パイレックス社製メジューム瓶）に瓶の口下数センチまで取水して、冷暗所に保存した。表層水は、深層水採水と同日に、三重県尾鷲栽培漁業センター（三重県尾鷲市古江、図1）桟橋北側にて表層～30

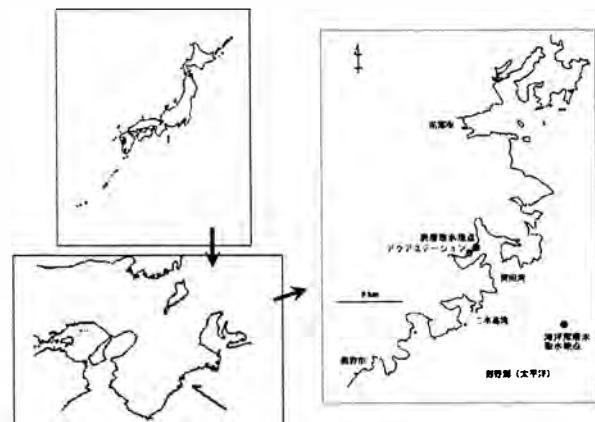


図1 表層水及び深層水の採水位置

cmまでの海水を5lの滅菌ステンレスバケツを用いて採水し、深層水の場合と同様に滅菌した瓶に取水した。なお、両検体とも取水後は冷蔵で保存・輸送して、すみやかに試験に供した。

(2) 試験方法

1) 分析項目

深層水及び表層水については、pH、実用塩分(PSU)、化学的酸素要求量(COD)、硝酸態窒素($\text{NO}_3\text{-N}$)、亜硝酸態窒素($\text{NO}_2\text{-N}$)、アンモニア態窒素($\text{NH}_3\text{-N}$)、リン酸態リン($\text{PO}_4\text{-P}$)、クロロフィルa及び細菌数の分析を行った。また、後述する化学物質分解試験では、フェノール及び細菌数の分析を行った。

2) 分析方法

pH、PSU、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 及び $\text{PO}_4\text{-P}$ は、海洋観測指針(1999)により分析を行った。なお、N- NO_3 以下4項目の分析には、Bran Luebbe社製Traacs 2000を使用した。COD及びフェノールは、工場排水試験方法JIS K 0102 17. 100°Cにおける過マンガン酸カリウムによる酸素消費量(COD_{Mn})及び同法JIS K 0102 28. フェノール類の4-アミノアンチピリン法により分析を行った。クロロフィルaは、アセトン抽出-吸光法で分析を行った(水の分析 1994)。ベンゼン、トルエン及びキシレンの分析は、JIS K 0125用水・排水中の揮発性有機化合物試験方法のヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析法で行った。使用機器は、横河ヒューレットパッカード社のHEWLETT

PACKERD 5890 SERIES Plus Gas Chromatograph 及び同社 5972 SERIES MASS SELECTIVE DETECTOR である。

細菌数の計数は次のとおり行った。まず、Difco 社製 MARINE BROTH 2216 37.4 g に、培地用寒天 15 g を加え、1 ℥ の脱イオン水で加熱溶解した。120 °Cで 15 分滅菌した後、シャーレに分注して平板培地とした。コロニーの形成数がおよそ 30-100 個程度となるように、滅菌生理食塩水で適宜段階希釈した検水 100 µl を塗抹して 25 °Cで 3 日間培養して生成したコロニーの計数を行った。また、1 検体につき 3 枚のシャーレを使用して、各シャーレのコロニー形成数の平均値から細菌数を算出した。

3) 分解試験方法

本研究で試験化学物質として用いたフェノールは、化学薬品等の原料として使用されている。本物質は、石油系化学工場の排水に含まれることがあるが、比較的汚染が進行した海域であっても検出されることはまれである。しかしながら、本実験は油流出事故等における環境修復を想定しているので、当該事態にあっては一時的に化学物質が高濃度で存在することも考えられることから、分解試験の初期濃度を最大 100 mg l⁻¹ に設定した。なお、フェノールの海産魚に対する 96 時間 LC₅₀ は 10 mg l⁻¹ である（平成 9 年度版化学物質と環境、1998）。

各種海水によるフェノールの分解試験は、水環境における化学物質の分解試験法である River Die Away 法を準用した。すなわち、1.2 ℥ 容の褐色ガラスビン（パイレックス社製メジュームビン）に、1 ℥ 容の表層水、表層水と深層水の 1 : 1 混合海水（以下、1 : 1 海水という）、深層水及び滅菌蒸留水をそれぞれ 3 本ずつ調製した。これらに 1000 mg l⁻¹ または 10000 mg l⁻¹ のフェノール（関東化学（株）社製、水質試験用）水溶液を加えてそれぞれ 1 mg l⁻¹、10 mg l⁻¹ 及び 100 mg l⁻¹ フェノールを含む分解試験溶液を調製した。なお、細菌数の対照として、フェノールを含まない表層水、1 : 1 海水及び深層水の系列も別途調製した。各海水の種類及び各フェノールの濃度ごとに試験の本数は 1 本で行った。

表 1 表層水及び深層水の成分

分析項目	単位	表層水	深層水
水温	°C	16.5	12.0
pH		8.23	7.75
PSU		3.04	3.42
COD	mg l ⁻¹	1.5	0.8
NO ₃ -N	mg l ⁻¹	0.093	0.45
NO ₂ -N	mg l ⁻¹	<0.005	<0.005
NH ₄ -N	mg l ⁻¹	<0.005	<0.005
PO ₄ -P	mg l ⁻¹	0.011	0.065
Chlorophyll <i>a</i>	mg l ⁻¹	<0.001	<0.001
細菌数	CFU ml ⁻¹	89000	530
採水年月日		2006.11.29	

また、分解試験のばらつきを把握する目的で、10 mg l⁻¹ フェノールを含む 1 : 1 海水の系では 5 本で試験を行った。分解試験ビンにシリコ栓をつけ、試験溶液を浸とう培養器で 120 rpm の速度で攪拌した。分解試験の日数は 5 日間、培養温度は 25 °C で行われた。

分解試料は 0-5 日目まで毎日、10 ml ピペットマン（Gilson 社製）で 10 ml ずつ採取され、フェノール及び細菌数を分析した。

一般にフェノールの生分解経路は、まず水酸基のオルトの位置が水酸化されカテコールが生成して、次にカテコール 2, 3 オキシゲナーゼによってベンゼン環が開裂して完全分解に向かう（Cain 1981）。上記のフェノールの分析法ではフェノール及びクレゾール類に発色するが、フェノールの水酸基が離脱して、ベンゼンが生成した場合などでは発色しない。それゆえ、本研究における分解試験の分析法では、フェノール分解物の構造は不明であり、ベンゼン等の毒性物質が新たに生成している可能性も否定できない。そこで、分解試験の開始時及び終了時における各系列のベンゼン、トルエン及びキシレンを測定した。

なお、分解試験はクリーンルーム内に設置したクリーンベンチ（BIO CLEAN BENCH、三洋電機（株）製）内で行われ、ガラスビン、シリコ栓等の試験器具はすべて滅菌して使用した。また、1000 mg l⁻¹ 及び 10000 mg l⁻¹ フェノール水溶液は、滅菌セルロースアセテートフィルタ DISMIC-25S 0.20 µm (Advantec 社製) で除菌したのち使用し

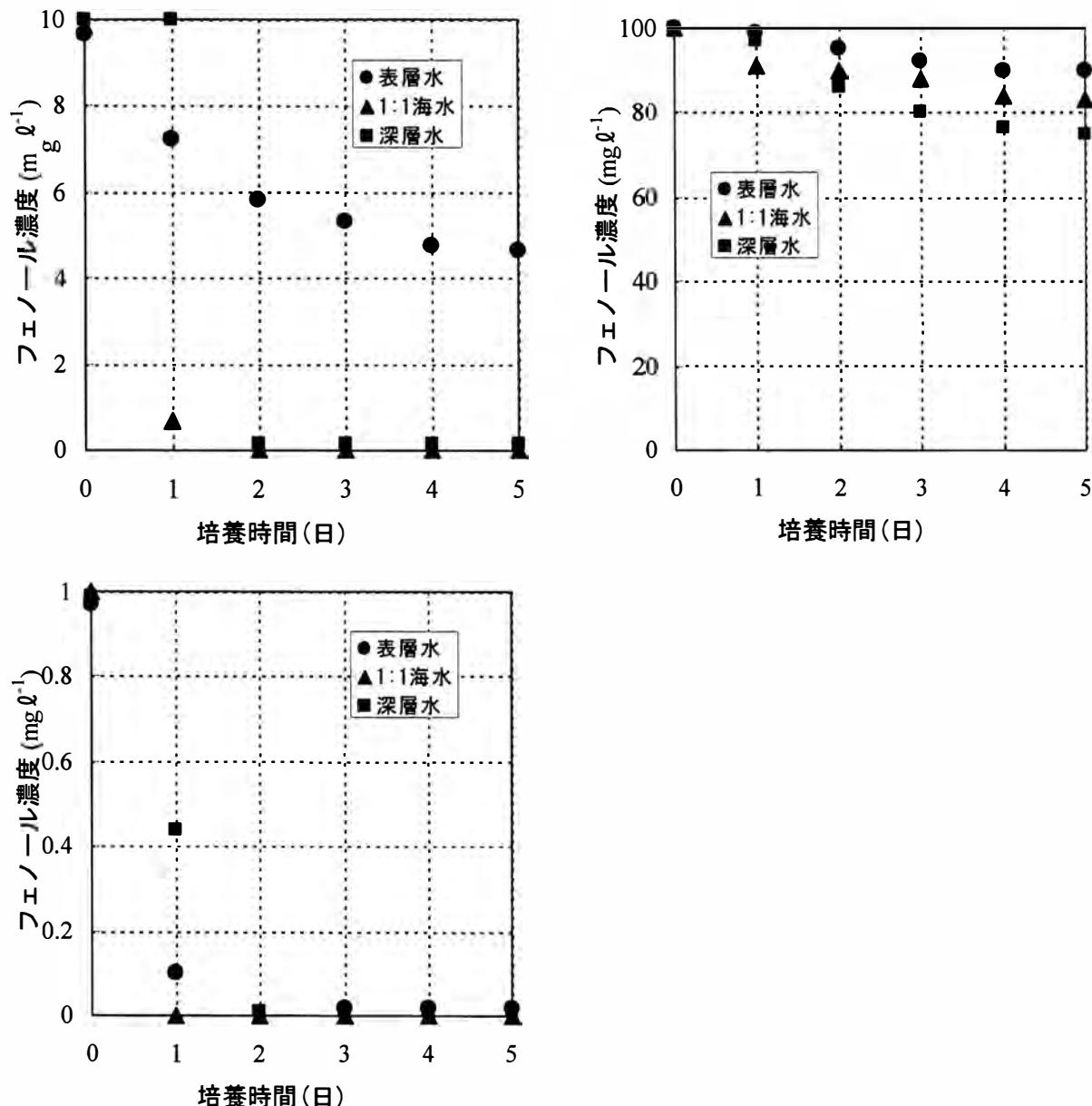


図2 表層水、1:1海水及び深層水におけるフェノールの分解性

た。

3. 結 果

本研究で使用した深層水及び表層水の水質は、表1に示すとおりである。深層水における $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度は表層水の4.8倍、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は5.9倍であった。また、細菌数は、深層水では 530 CFU m^{-3} 、表層水では 89000 CFU m^{-3} であった。

予備試験として滅菌蒸留水に1、10及び100 mg l^{-1} のフェノールを加え、分解試験と同様の処理を行った実験では、5日後でもフェノールの濃度

は各濃度系列とも初濃度とほとんど変わらなかった。この試験系では、フェノールの自然分解は起きないと推定される。また、1:1海水における初期濃度 10 mg l^{-1} の分解試験を5本で行ったところ、1日後の分解%値は、89-97%の範囲で、平均93%，変動係数3%であった。

本実験の表層水、1:1海水及び深層水による試験系列におけるフェノールの分解は図2に示すとおりである。フェノールを加えない系列では、5日間の培養で、表層水及び1:1海水では細菌数が減少し、深層水では逆に増加して、各海水とも最終的に 10^4 CFU m^{-3} 程度に収束した。

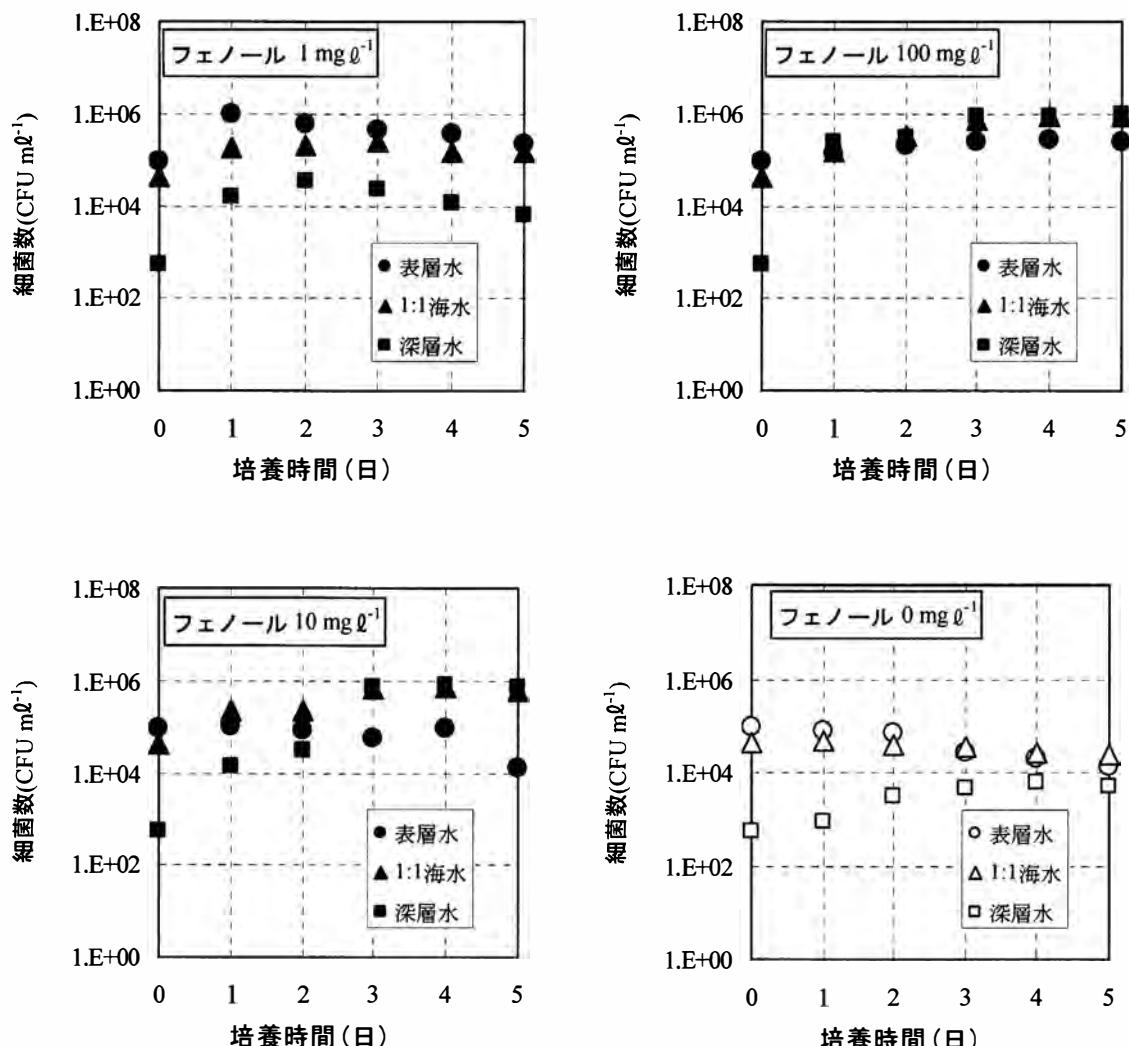


図3 フェノールの分解試験系における細菌数の変動

初期濃度 1 mg l^{-1} の系列では、試験開始後 1 日目で 1 : 1 海水ではほぼ 100 % 分解が終了し、表層水でも 90 % が分解した。これに対し、深層水は、1 日目では 56 % 分解であった。なお、表層水及び深層水も 2 日目ではほぼ 100 % 分解した。

初期濃度 10 mg l^{-1} の系列では、1 : 1 海水では、1 日目で 90 % を上回り、2 日目では、ほぼ 100 % 分解された。深層水では、1 日目ではほとんど分解されなかつたが、2 日目で 1 : 1 海水と同様にほぼ 100 % 分解された。一方、表層水では 5 日間の培養でも 54 % の分解率にとどまった。

初期濃度 100 mg l^{-1} の系列では、5 日後でも表層水では 10 %、1 : 1 海水では 17 %、深層水では 25 % であり、分解の割合で見る限り、いずれも低率にとどまった。しかしながら、初期濃度 10

mg l^{-1} の場合と比較して、分解量はいずれの系でも多くなった。

各種海水におけるフェノールの分解速度は、初期濃度 1 mg l^{-1} 及び 10 mg l^{-1} では、1 : 1 海水 > 深層水 > 表層水であり、 100 mg l^{-1} では、深層水 > 1 : 1 海水 > 表層水の傾向が見いだされた。

一方、細菌数は、初期濃度が表層水では $89000 \text{ CFU ml}^{-1}$ 、1 : 1 海水は $41000 \text{ CFU ml}^{-1}$ 、深層水は 530 CFU ml^{-1} であった。図3に示すように、初期濃度 1 mg l^{-1} の系列では、各種海水とも 1 日目で顕著に上昇した後は横ばいか、徐々に減少して、最終的に表層水及び 1 : 1 海水では 10^5 CFU ml^{-1} のオーダー、深層水では 10^4 CFU ml^{-1} のオーダーであった。

フェノール初期濃度 10 mg l^{-1} の系列では、5 日

間の培養で、表層水は横ばいかやや減少傾向に対し、 $1 : 1$ 海水及び深層水では 3 日目まで顕著に上昇したのち、 10^6 CFU ml^{-1} 近くの値で推移した。

フェノール初期濃度が 100 mg l^{-1} の系列では、各海水とも、1-2 日目で 10^5 CFU ml^{-1} 程度まで上昇した後、3 日目以降は 10^6 CFU ml^{-1} 近くまで上昇した。また、深層水の系列が最も増殖細菌数が多くかった。

本分解試験の全海水系列及び濃度系列におけるベンゼン、トルエン及びキシレンをガスクロマトグラフ質量分析計で測定したところ、3 物質とも全ての検体において検出されなかった（定量下限界値 0.001 mg l^{-1} ）。

4. 考 察

本研究で使用した深層水及び表層水の水質は、表層水の実用塩分濃度がやや低い値であった。これは、表層水を取水した数日前に尾鷲市周辺で大規模な降雨があったため、陸水が大量に海域に流入したことによる。栄養塩については、本研究と同様の試験培地を使用した富山湾の深層水等の計数を行った清水ら（2004）の値と比較して、表層水、深層水とも桁数は、同じレベルであった。

フェトル、海水とも同条件とした 5 本の分解試験の結果、今回使用した分解試験方法では、フェノール分解の変動係数が小さかったことから、1 本の測定系でも信頼性の高い値が得られると考えられた。また、各種海水を用いた本実験では、増殖した細菌数が多い系列ほど、フェノール分解性が高い傾向が見いだされたことから、主に細菌による生分解と推測される。

海水の表層水には、フェノール分解細菌が存在することが知られている（岩崎ら、2005）。一方、矢田ら（2003）は、深層水中の細菌種の分析し、深層水の細菌の中から石油資化性細菌及び油分解細菌を見いだしている。フェノール初期濃度が 1 mg l^{-1} の系列では、各海水とも窒素、リンの濃度に対し、フェノールの濃度が低かったので、フェノールを分解するために十分な細菌が増殖することができた結

果、短期間で分解されたと推測される。また、培養 3 日目以降は各海水とも細菌数が減少に転じた原因として、菌体を維持するエネルギー源（炭素源）が枯渇したと推察される。さらに、1 日目の分解率で深層水が最も低かった理由としては、深層水と他の 2 種類の海水では、試験開始時の細菌数の差が 10^2 倍程度あり、試験開始後 1 日後でも 10 倍以上の開きがあった。これらの差が深層水における初期の分解性の遅れとなったと考えられる。

10 mg l^{-1} の系列では、窒素、リンの濃度及び細菌数の初期値による分解の特性の差違が顕著に表れていた。すなわち、表層水は深層水と比較して窒素、リンが乏しいことが原因で、細菌数が増加せず、むしろ減少傾向にあったことが、最終的な分解率が 5 割程度に留まった理由と考えられる。 $1 : 1$ 海水は、初期の細菌数、窒素、リン濃度とも高かったのでフェノールの分解性は良好で、フェノールは 1 日でほぼ 9 割以上分解し、細菌数も 3 日目までは増加し続けた。深層水の 1 日目の分解は、 1 mg l^{-1} の系と同様に表層水及び $1 : 1$ 海水の系に比べて劣ったが、2 日目でほぼ 100 % 分解し、細菌数も $1 : 1$ 海水同様、3 日目まで増加傾向が継続した。深層水は、初期の細菌数は少ないが、窒素、リンが表層水よりも豊富であるため、次第に細菌が増殖した結果、分解量が表層水を上回ったと考えられる。

100 mg l^{-1} の系列では、1 日目は 1 及び 10 mg l^{-1} の系と同様に深層水の分解率が低かったが、2 日目以降は他の海水と比較して高い分解率を示した。最終的な分解の割合は、各海水が有する窒素、リンの濃度を反映した結果と考えられる。増殖した細菌数についても、5 日目では深層水が最も多く、表層水の約 4 倍であった。

また、フェノールを加えない各種海水の系列の細菌数では、表層水及び $1 : 1$ 海水は、菌体を維持するエネルギー源、すなわち有機物が不足したため減少したと考えられる。一方、深層水で細菌数が増加した理由としては、深層水には元々細菌数は少ないと、加温及び通気攪拌の影響で、深層水中にわずかに存在していた有機物を利用して増殖したことが推察される。

なお、フェノールの分解による新たな毒性物質生成の懸念が考えられたが、フェノールからの水酸基の離脱によるベンゼン、及びメチル基の置換によるトルエン及びキシレンの3物質に関しては、生成されていないと考えられた。しかしながら、物質の分解代謝によりこれ以外の毒性物質が生成している可能性も存在するので、今後、これらの毒物生成及びフェノール自身の毒性の消長を含めた検証が必要と考えている。

本研究で採水したような水質の良好な外海域では、表層水は微生物数が多いが栄養塩類に乏しい。一方、深層水は栄養塩類が豊富であるが微生物数は少ない。このため、表層水の深層水の混合によって、微生物生育において不足する部分、すなわち微生物及び栄養塩類を相互に供給する結果となり、化学物質を分解する上で最適の系が形成されたと推測される。

石油などで汚染された土壤を改善する手段として、窒素・リン等の栄養塩及び酸素源として過酸化水素を土壤に浸透させて、微生物の働きで石油系化合物を分解除去する、いわゆるバイオレメディエーションが知られている。本実験結果で、海洋の表層水に深層水を加えることで、表層水単独の場合よりも化学物質が効率的に分解されることが示唆された。今後それらの分解代謝物の性状、特に代謝産物の安全性、分解の程度などの検討を加えることにより、化学物質により汚染された海域の環境改善の一手段として、深層水の散布の有効性を示すことができると考えられる。すなわち、化学物質の分解除去に深層水を利用しようという試みは、一種のバイオレメディエーションであり、本手法が確立することによって、深層水の新たな利用方法の道が開ける可能性がある。

深層水の海域への放流が海域環境に及ぼす影響についてはまだ十分には明らかにされておらず、現在、研究が行われているところである（古谷 2000；伊藤 2003, 2004；吉本ら 2005）。それゆえ、深層水を利用した環境改善技術は、現時点ではまず油流出事故等の一時的な措置としての活用が適当と考えている。深層水を取水している海域は、国内では、全般的に水質が良好であり、化学物質で汚染されていることは少ないと考えられる。しかしながら、石

油貯蔵所や車両、船舶等の燃料流出事故で、一時的に海域が汚染される可能性は存在する。海洋汚染に對し深層水の散布が有効であると仮定すると、深層水を取水している海域では、潜在的に事故に対する備えがあるという見方もできる。

深層水によるバイオレメディエーションを行うにあたり必要なパラメータは、除去対象となる汚濁物質濃度の他、微生物数、栄養塩類濃度、溶存酸素、水温等が挙げられる。そのため、バイオレメディエーションを利用した水質改善をスムースに行うための基礎データとして、これらの項目の地域特性及び年間の変動を把握することも不可欠となる。また、微生物を利用した処理等の弱点として、低温における効率の低下が挙げられる。しかしながら、深層水の細菌相から低温細菌が数多く見いだされている（矢田ら 2003）ことから、深層水を利用したバイオレメディエーションは、冬期においても有効である可能性があり、検討の価値があると考える。また、海域における環境汚染質の一次分解は細菌が主役と考えられるが、水質浄化機能全般ではプランクトン、小動物、魚類や、海藻、底生生物など海域の生態系全体の働きであると考えられる。従って、当該海域における水質浄化機能を理解して、向上させるためには、湾内における生態系に注意を向けることも不可欠である。

文 献

- Cain, R. B. (1981) Microbial Degradation of Xenobiotic and Recalcitrant Compounds, pp. 338, Academic Press, Inc., New York
 藤田大介 (2001) 海洋深層水をかけ流した磯焼け地帯転石の植生回復. 海深研, 2, 57-64.
 藤田大介 (2003) 海洋深層水をかけ流した磯焼け地帯転石の植生回復 II. 海深研, 4, 1-9.
 古谷研 (2000) 海洋深層水利用で考えられる富栄養化の問題. 月刊海洋号外, 22, 234-238.
 環境庁環境保健部環境安全課編 (1998) 平成9年度版化學物質と環境, p. 52.
 池谷透・中谷誠治・深堀芳雄・西岡純・武田重信・川延京子・高橋正征 (2001) 海洋深層水による亜熱帯表層水の肥沃化効果の屋外メソコスム実験による検証. 海深研, 2, 73-86.
 池谷透・川延京子・高橋正征 (2003) 亜熱帯表層植物ア

- ランクトン群集に対する海洋深層水の肥沃化効果.
海深研, 4, 29-37.
- 伊藤良栄 (2003) 深層水利用の環境評価. 三重大学生物資源学部編地域研究開発促進拠点事業 海洋深層水の利用に関する可能性試験 平成14年度成果報告書 (三重県及び尾鷲市の委託事業), 44-55.
- 伊藤良栄 (2004) 深層水利用の環境評価. その2. 三重大学生物資源学部編地域研究開発促進拠点事業 海洋深層水の利用に関する可能性試験平成15年度成果報告書 (三重県及び尾鷲市の委託事業), 64-71.
- 岩崎誠二・木村哲哉・栗冠真紀子・栗冠和郎・大宮邦雄 (2005) 藻場の水質浄化能力の定量的評価. 環境科学総合研究所年報 24, 123-127.
- 気象庁編 (1999) 海洋観測指針 (第1部) pp. 31-104.
- 経済産業省 (2005) 微生物によるバイオレメディエーション. 利用指針の解説 平成17年7月経済産業省製造産業局生物化学産業課環境省環境管理局総務課環境管理技術室. (www.meti.go.jp/policy/bio/Cartagena/bairemekaisetsu.pdf)
- 日本分析化学会北海道支部編 (1994) 水の分析 (第4版) 東京化学同人, pp. 273-277.
- 清水美和子・香取幸治・磯部順子・嶋智子・木全恵子・田中大祐・刑部陽宅・南条暢聰・松永明信・綿引正則・永井美之 (2004) 富山湾の深度別性菌数調査. 第8回海洋深層水利用研究会全国大会海洋深層水2004 入善大会講演要旨集, 15-16.
- Takahashi, M. and Ikeya, T. (2003) Ocean fertilization using deep ocean water (DOW), Deep Ocean Wat. Res., 4, 73-82.
- 高月邦夫・林成年・足達康行 (2002) 海洋深層水の新しい放水方式の検討. 海洋深層水研究, 3(1), 31-40.
- 渡辺貢 (2000) 深層水を使用した魚類飼育. 月刊海洋号外 22, 62-63.
- 渡辺貢・谷口道子・池田知司・小松雅之・高月邦夫・金巻精一 (2000) 海洋深層水による沿岸海域の肥沃化. 月刊海洋号外, 22, 160-169.
- 矢田修一・大場雅行・榎本恵一 (2003) 「室戸海洋深層水」中の細菌種の分析. 海洋深層水研究, 4, 47-56.
- 吉本典生・深見公雄・大関直幸・高橋正征 (2005) 海洋深層水の大量排水が日本の沿岸海域に出現する有害・有毒プランクトンを増殖促進させる可能性. 第9回海洋深層水利用研究会全国大会海洋深層水2005室戸大会講演要旨集, 9-10.

(2006. 9. 15 受付, 2006. 12. 28 受理)