地 球 化 学 **40**, 313–321 (2006)
Chikyukagaku (Geochemistry) **40**, 313–321 (2006)

報　文

湖沼堆積物中のフルボ酸の持つカルシウム錯化能力

長谷川　政　江*・臼　井　恵　次**・進　藤　晴　夫*,†

(2006年5月17日受付，2006年9月27日受理)

Calcium Complexing Abilities of Fulvic Acids Extracted from Lacustrine Sediments

Masae HASEGAWA*, Keiji USUI** and Haruo SHINDO*,†

* Faculty of Agriculture, Yamaguchi University
Yoshida 1677-1, Yamaguchi 753-8515, Japan
** Community Research Institute of Ube Frontier University
Bunkyo-dai 2-1-1, Ube 755-0805, Japan
† Corresponding author (shindo@yamaguchi-u.ac.jp)

It has been assumed that the metal complexing abilities of fulvic acids, which are one of the humic substances, play an important role for phosphorus releasing from sediments under aerobic condition in shallow lakes and internal bay. However, little information is available on the nature, properties, and structures of fulvic acids which can promote the phosphorus releasing from calcium phosphates in the sediments. In this study, fulvic acids extracted from 3 lake sediments were divided into hydrophilic and hydrophobic fractions with Amberlite XAD-2 resin, and then these fractions were subjected to a molecular weight fractionation by Sephadex G-15 gel. The calcium complexing abilities of the fractions obtained were examined by the reaction chromatography using a Ca-saturated gel column.

Both hydrophilic and hydrophobic fractions displayed the calcium complexing abilities at the low molecular weight fractions (less than 1,500 D). The abilities of the former fractions were 2.5 times higher than those of the latter fractions at a maximum level.

Key words: calcium complexing ability, fulvic acids, gel chromatography, phosphorus releasing, lacustrine sediments

1. はじめに

湖沼における富栄養化現象は，一般に，流域からの栄養塩の過剰な供給とそれに伴う植物プランクトンの増殖，その底泥への沈降と水柱，堆積物の直上および表層でのプランクトンの分解による栄養塩の底層への回帰が主要な原因になっていると考えられている。しかしながら，他方では，堆積物からのリンの溶出・負荷を無視しては霞が浦における夏期の藻類の異常増殖に伴う水中の全リンの増加を説明することができないという報告もある（Otsuki, *et al.*, 1980）。さらに，ある程度水深があって嫌気的環境を形成することができる湖沼の場合には，リン酸第二鉄の還元とリンの遊離が速やかに進行するので堆積物中のリン酸鉄の重要性が指摘されている（小山，1975; 小林ら，1988; 城，1983; 原田，2006）。これらの結果は，堆積物からのリンの溶出・負荷が湖沼の富栄養化に関わっていることを示唆する。

ところで，浅い湖あるいは沿岸域のような好気的条件下における堆積物からのリンの溶出の場合には，嫌気的環境下におけるリン酸第二鉄の還元の場合とは異

* 山口大学農学部
〒753-8515　山口市吉田1677-1
** 宇部フロンティア大学附属地域研究所
〒755-0805　宇部市文京台2丁目1-1
† 連絡先　shindo@yamaguchi-u.ac.jp

なり，リン酸塩を溶解する能力を持つ物質を考慮に入れなければならない。リン酸塩中のリンを溶解する錯形成物質の一つとして，堆積物および湖水中に多量に含まれている腐植物質が挙げられるが，なかでもフルボ酸は高い錯形成能力を持っている（Scheffer and Schachtschabel, 1979）。また，湖沼堆積物中のフルボ酸は，錯形成に関与することができる孤立電子対に富むカルボシキル基の含量が高いことも明らかにされている（Aiken, G. R. *et al.*, 1985; 長谷川ら，2004）。

著者らは，既報において，湖沼堆積物から抽出したフルボ酸を Amberlite XAD 樹脂で処理し，得られた疎水性の吸着画分と親水性の非吸着画分の金属錯化能力を比較した。その結果，従来，注目されていなかった非吸着画分にも高い金属錯化能力があることをはじめて見出した（臼井ら，1993）。さらに，この非吸着画分は，リン酸鉄やリン酸アルミニウムからリン酸イオンを遊離させる能力は持たないが，リン酸カルシウムからはリンを遊離させることができることを明らかにした（臼井ら，1994）。

堆積物中のリン酸塩としては，鉄，アルミウム，カルシウムおよびマグネシウム塩などが知られている（小林・西村，1988）が，富栄養化状態の異なる湖沼堆積物中のリンの形態別分析の結果によれば，一般に鉄態リンが多量に含まれ，ついでカルシウム態リンが多いことが報告されている（細見ら，1979; Shindo and Usui, 1995）。そこで，本研究では，どのようなフルボ酸画分がカルシウム錯化能力を有しているか，さらに知見を得ることを目的とした。この分野における研究の進展は，堆積物からのリンの溶出におけるフルボ酸の役割を適確に把握する上で役立つだけでなく，富栄養化現象のメカニズムを統一的に理解する上で有用な情報を提供してくれるものと考えられる。本研究では，まず，富栄養化状態の異なる３湖沼堆積物から抽出したフルボ酸を Amberlite XAD 樹脂によって疎水性の吸着画分と親水性の非吸着画分に分画した後，これらの両画分を Sephadex G-15（排除限界分子量1,500 D）カラムを用いて細分画した。さらに，細分画した全ての画分について，カルシウムとの反応ゲルクロマトグラフィーを行ない，錯体形成の有無を調べた。

2．試料および方法

2.1　湖沼堆積物

湖沼堆積物試料は，富栄養化状態の異なる３湖沼，すなわち，山口県宇部市の小野湖（ダム・富栄養湖），山口県山陽小野田市の江汐湖（ダム・中栄養湖）および鳥取県鳥取市の湖山池（汽水・富栄養湖）から採取

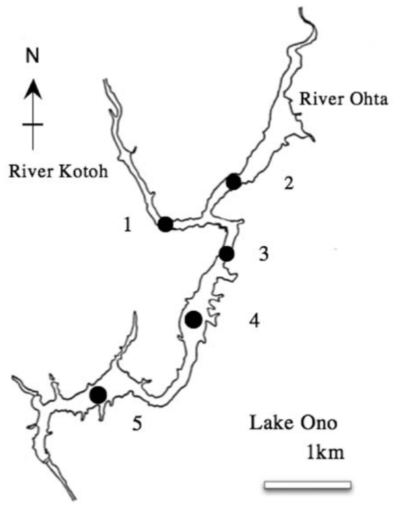

Fig. 1　Sampling stations of Lake Ono.

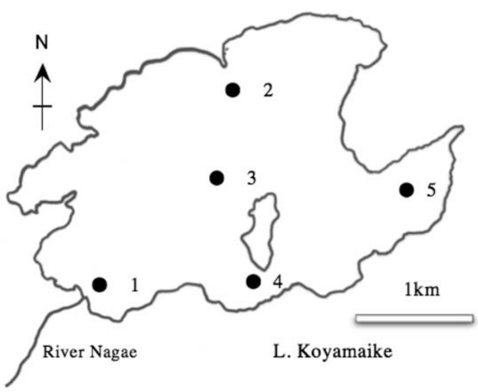

Fig. 2　Sampling stations of Lake Koyamaike.

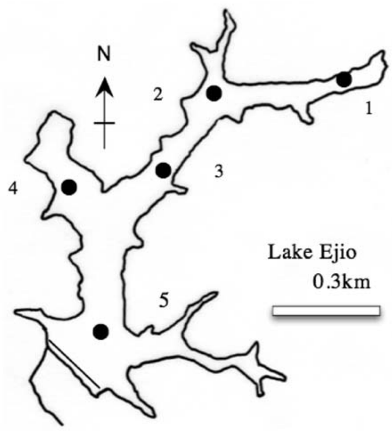

Fig. 3　Sampling stations of Lake Ejio.

Table 1　Brief description of physiographical properties and phosphorus concentration in Lakes Ono, Koyamaike and Ejio.

Lake	Catchment Area (km²)	Lake volume (X10⁶m³)	Lake area (km²)	Mean depth (m)	Maximum depth (m)	T-P concentration of water (mg・l⁻¹)
Ono	324	23.8	2.9	8.5	30	0.041
Koyamaike	46.3	19.2	7.0	2.8	6.5	0.035
Ejio	1.70	0.42	0.14	3.0	8.0	0.018

Table 2　Carbon content of fulvic acid fractionated by XAD-2 resin.

Lake	NAF 1) (mg・l⁻¹)	AF 2) (mg・l⁻¹)	NAF+AF (mg・l⁻¹)	BAS 3) (mg・l⁻¹)	Recovery (%)
Ono	67.3 (69.0)*	35.2 (36.1)	102	97.5	104
Koyamaike	53.4 (59.2)	34.1 (37.8)	87.5	90.1	97.2
Ejio	36.2 (46.0)	39.5 (50.2)	75.6	78.6	96.2

1) Non-adsorbed fraction of fulvic acids on XAD-2 resin
2) Adsorbed fraction of fulvic acids on XAD-2 resin
3) Original solution of fulvic acid
* values in parentheses express percentage of DOC distribution to BAS

した。いずれの湖沼でも，水温成層形成の境目となる水深4～5m域の比較的堆積物の豊富な5ヵ所を選択し，エックマンーバージ式採泥器を用いて，泥深10 cmの表層堆積物を採取した。採取した堆積物は混合し，風乾後，堆積物試料として供試した。各湖沼における試料採取地点をFigs. 1～3に，各湖沼の諸元と湖沼表層水中の年間平均リン濃度をTable 1に示した。

2.2　フルボ酸の抽出とXAD-2樹脂による分画

フルボ酸は，平田の提案した方法で調製した（平田，1979; Hirata, 1983）。堆積物試料100 gを30倍量の0.5 M NaOHで抽出し，抽出液を6 M塩酸でpH 2.0に調製後，可溶画分を0.45 μmのメンブランフィルターでろ過し，ろ液をフルボ酸原液（BAS, basic solution）とした。このBASをAmberlite　XAD-2樹脂で分画し，親水性の樹脂非吸着画分（NAF, non-adsorbed hydrophilic fraction）と，吸着画分を0.5 M NaOHで溶出させた疎水性の吸着画分（AF, adsorbed hydrophobic fraction）を得た。BASとNAFはNaOHで，AFは塩酸でそれぞれpH 6.0に調製した後，Sephadex G-15ゲルクロマトグラフィーに供した。BASとNAFおよびAF画分中の炭素含量は島津社製TOC-5000で測定し，BASに占めるNAFおよびAF画分の炭素割合を算出した（Table 2）。この表から明らかなように，BAFに対するNAF＋AFの割合は96～105%であり，XAD樹脂による分画が正常に行われたことが確認された。

2.3　BAS，NAFおよびAF画分のSephadex G-15ゲルクロマトグラフィー

BAS，NAFおよびAF画分の各5.0 mlをSephadex G-15（内径16 mm，長さ60 cm）を充填したカラムに加え，溶離液として有機物を除去した超純水（紫外線処理後，活性炭を通過させた比抵抗値18 MΩ・cm以上の水）を用いて分画した。

有機物の検出は，2種類の方法，すなわち，無機塩の影響が少ないといわれる260 nmでの紫外部吸収（E_{260}）を測定する方法（Tanbo and Kamei, 1978）と全有機態炭素計で直接炭素を定量する方法で行なった。E_{260}は，1 mmフローセル装備のTOSOH社製UV-8000型分光光度計で，溶存有機態炭素濃度（DOC）は，島津社製TOC-5000で，カルシウム量は，日製産業製170-50 A型原子吸光光度計で，それぞれ測定した。

2.4　カルシウムとフルボ酸の錯体形成の確認

本研究では，反応ゲルクロマトグラフィーを用いて，カルシウムとフルボ酸の錯体形成の確認を行った。この方法は，従来，銅などの金属錯体形成反応における錯化容量や条件安定度定数の測定に用いられている方法である（Mantoura and Riley, 1975; 平田, 1979)。すなわち，金属飽和ゲルカラムに錯形成物質を添加すると，錯体の生成反応は速いので注入部位において即座にゲル中の金属と反応し，錯体を形成する。ゲルを通過する際に錯体部分と金属が欠落した部分とに分かれ，分子篩い効果により，分子量の高い錯体部分が先に，欠落した金属部が後へと完全に分離されてくる。したがって，フラクションコレクターによって分取した溶液の金属濃度を測定すれば，錯体に取り込まれた金属とゲルから欠落した金属が定量的に測定できるわけである。この反応が起きていれば，錯体の形成が確認されたことになる。この原理図をFig. 4に示した。

本研究では，フルボ酸の平均分子量に関する既往の知見および予備実験の結果から，反応ゲルクロマトグラフィーには，下記の条件で作製したカラムを用いた。すなわち，Sephadex G–15（排除限界分子量1,500 D）を約500～1,000 mg・l^{-1}という高濃度のカルシウム溶液で飽和させ，それを直径1.6 cm，長さ22 cm のガラスカラムに充填した。

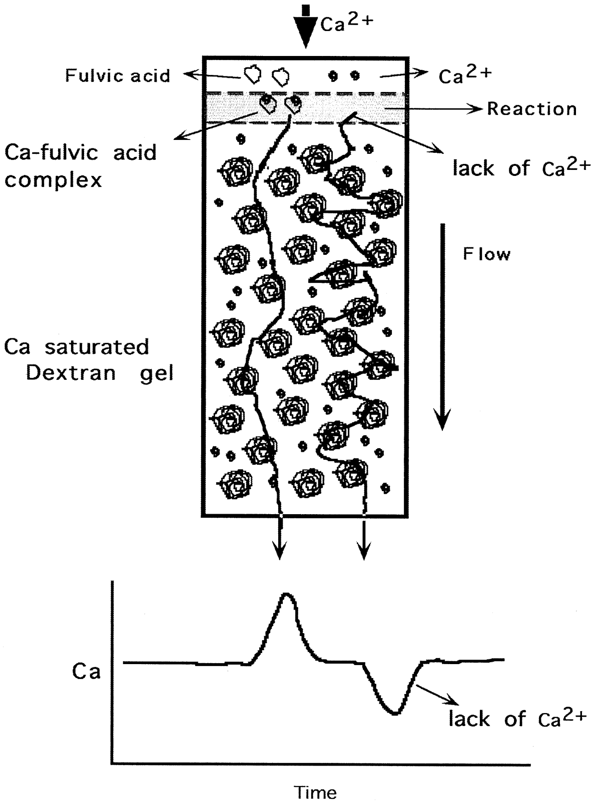

Fig. 4　Basic scheme for the reaction of gel chromatography in Ca-saturated gel column.

カルシウム飽和ゲルカラムを作製する場合の問題点は，G–15のようなアガロースゲルとカルシウムは親和性が強く，ゲルに収蔵されるので銅のように簡単に飽和できないことである。そこで，検討した結果，カラムに約500～1,000 mg・l^{-1}の高濃度カルシウム溶液を加え，24時間放置することによってカルシウム飽和ゲルカラムを作ることに成功した。飽和したことはカラム通過液の濃度が溶離液のカルシウム濃度と同じ濃度になったことで確認した。また，溶離液としては，カルシウムとして50 mg・l^{-1}濃度の塩化カルシウム溶液を用い，排出される液濃度が50 mg・l^{-1}を維持し，ゲルからの乖離がないことを見極め，このカルシウム飽和カラムの有効性も確認した。

前述した2.3節のBAS，NAFおよびAF画分のSephadex G–15ゲルクロマトグラフィーの実験において，フラクションコレクターで回収した各画分5.0 ml を水で50倍に希釈し，その1.0 ml を上記のカルシウム飽和ゲルカラムに通過させ，フラクションコレクターで2.0 ml 毎採取した時のカルシウム濃度の経時変化を測定した。

3．結果と考察

1982年に設立された国際腐植物質学会（IHSS）で定義されたフルボ酸は，従来のフルボ酸の定義（アルカリ可溶であるが，酸で沈澱しない有機物画分）とは異なり，従来のフルボ酸のうち，XAD–8あるいはSpelco DAX–8に吸着され，その後アルカリで溶出される有機物を指している。しかしながら，湖沼堆積物のフルボ酸をXAD–2およびXAD–8樹脂で処理し，その吸着画分と非吸着画分の炭素量を比較すると，吸着画分に50～60%，非吸着画分には40～50%もの炭素が確認され，非吸着画分の重要性が示唆されている（箕浦ら，1988; 臼井ら，1993)。また，土壌のフルボ酸でも非吸着画分を見過ごすことができない結果が得られている（渡辺，1994)。さらに，本研究でも，非吸着画分に46～69%もの炭素が存在していることが示された（Table 2)。したがって，本研究では，従来使われてきたように，アルカリ可溶であるが，酸で沈澱しない有機物画分をフルボ酸と呼ぶこととした。

3.1　Sephadex G-15ゲルクロマトグラフィー

フルボ酸をゲルクロマトグラフィーによって分子量分画する場合に問題となるのは，溶離液の種類とイオン強度（Tanbo and Kamei, 1978），無機陰イオンの影響などである。本研究では，予備実験の結果，後述するように抽出されたフルボ酸（塩化物イオンが1.5 M と高い）をそのまま供試することによって，溶離液に水のみを用いても紫外部に鋭い分離ピーク，すなわち，塩化物イオンに対応したピーク（Kurokawa, 1980; 松原ら，1988）を得ることができた。図として示さなかったが，これと全く同様な結果が，分画分子量500 D の限外濾過膜で繰り返し限外濾過して脱塩したフルボ酸に，新たに塩化物イオンを添加して溶離液のイオン強度を上げた場合でも観察された。これらの結果は，湖沼堆積物から得られたフルボ酸をSephadex G-15を用いたゲルクロマトグラフィーで分画するときには，あらかじめフルボ酸を脱塩する必要がないことを示す。

Fig. 5は，各堆積物から得られたBAS，NAF および AF（いずれも塩化物イオンを多量に含む）について，水を溶離液にしたゲルクロマトグラフィーに供した場合の E_{260}の変化を示した。いずれの試料でも，溶離液が V_0付近と80 ml のところで E_{260}の吸光度が0.5前後を示す２つの鋭いピークが示された。ゲルクロマトグラフィーによって分離された有機物画分を E_{260}で測定すると，芳香族炭化水素など，いわゆるπ結合に富む化合物は紫外線を吸収し，高いピークを示す。一方，π結合の割合が少ない脂肪族炭化水素などを持つ画分は紫外部の吸収が少ないため低いピークを示す。したがって，画分の炭素量については直接定量して E_{260}によるクロマトグラムと比較することが必要である。溶存有機態炭素（DOC）を定量したクロマトグラムは Fig. 6に示した。この図と Fig. 5を比較して明らかになったことは，DOC の場合，いずれのフルボ酸試料でも溶離液量が70 ml のところに新たに３つ目のピークが出現していることである。これらの結果に基づくと，Fig. 6における溶離液量が70 ml でのピークは，脂肪族炭化水素の割合が高い画分の存在を示し，一方，80 ml でのピークは，芳香族炭化水素の割合が高い画分の存在を示しているものと考えられる。

溶離液量が70 ml の時の３湖沼の DOC 値についてみると，BAS と NAF および AF 画分いずれも小野湖で最も高い傾向を示し，NAF 画分で9.3 mg・l^{-1}，AF 画分で3.1 mg・l^{-1}，BAS で12.2 mg・l^{-1}であった。一方，湖山池の場合，NAF 画分で5.7 mg・l^{-1}，AF 画分で3.2 mg・l^{-1}，BAS で9.0 mg・l^{-1}，さらに，江汐湖では NAF 画分で2.9 mg・l^{-1}，AF 画分で2.6 mg・l^{-1}，

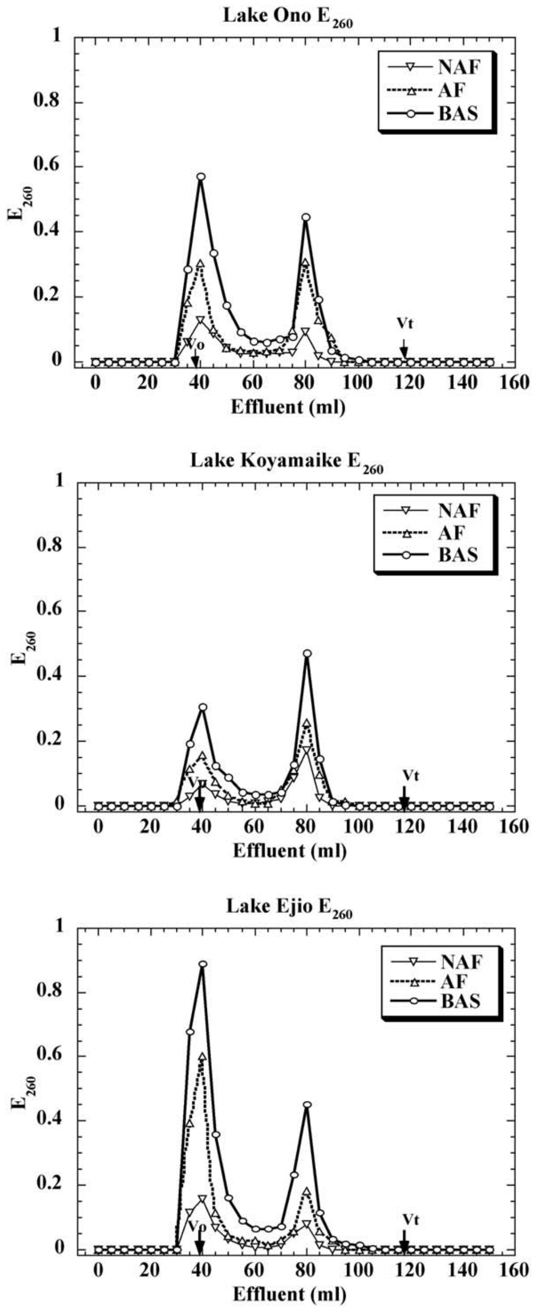

Fig. 5　Gel chromatograms of fulvic acids extracted from lacustrine sediments (revealed by E_{260}).
NAF: hydrophilic fraction
AF: hydrophobic fraction
BAS: Basic solution

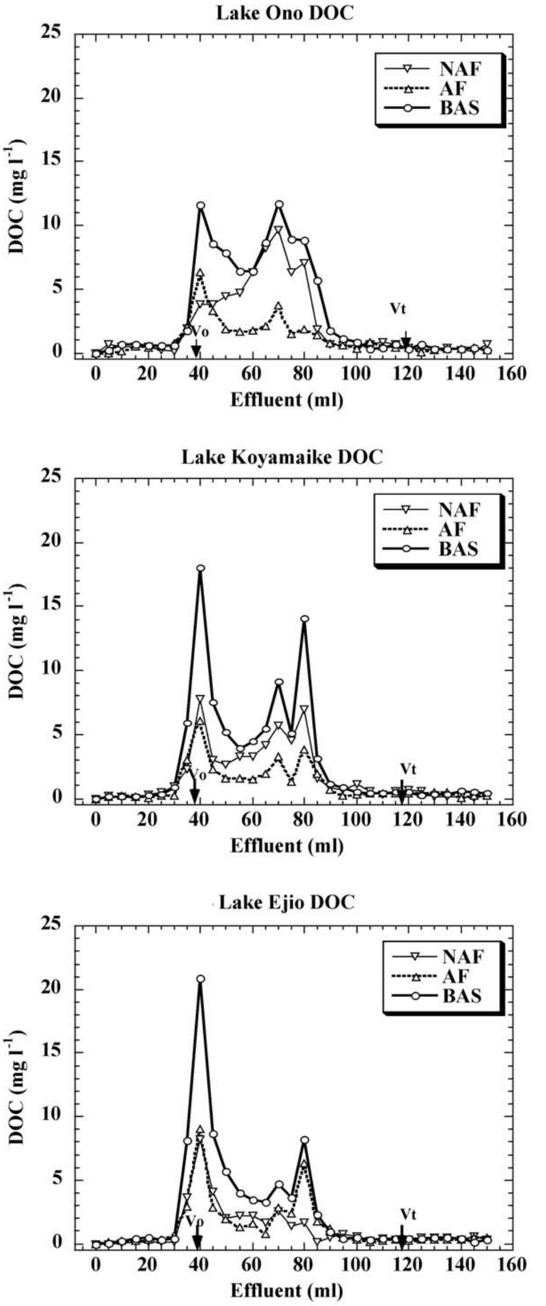

Fig. 6　Gel chromatograms of fulvic acids extracted from lacustrine sediments (revealed by DOC).
NAF: hydrophilic fraction
AF: hydrophobic fraction
BAS: Basic solution

BAS で5.2 mg・l^{-1}を示した。

溶離液量が80 ml の時の DOC 値は，小野湖の場合，NAF 画分で7.0 mg・l^{-1}，AF 画分で2.2 mg・l^{-1}，BAS で9.2 mg・l^{-1}であった。湖山池の場合，NAF 画分で6.9 mg・l^{-1}，AF 画分で4.0 mg・l^{-1}，BAs で14.1 mg・l^{-1}を示し，江汐湖では NAF 画分で6.2 mg・l^{-1}，AF 画分で1.6 mg・l^{-1}，BAS で8.0 mg・l^{-1}を示した。

溶離液量が70 ml および80 ml の DOC 値に共通していえることは，NAF の値が高かったことである。この順は，小野湖，湖山池，江汐湖の順であり，Table １に示した湖水の T-P 濃度の順と一致した。一方，AF 画分の炭素含量は T-P 濃度とは全く関係がなかった。これらのことは，フルボ酸の NAF 画分が湖水の T-P 濃度と何らかの関係があることを示すものと考えられる。

3.2　カルシウムとフルボ酸の錯体形成

３つの湖沼堆積物から調製したフルボ酸の NAF および AF 画分を Sephadex G-15で細分画し，どの画分にカルシウム錯化能力があるかを明らかにするため，カルシウム飽和ゲルカラムを用いて反応ゲルクロマトグラフィーを行った。その結果，いずれの NAF および AF 画分を供試した場合でも，溶離液量が70から90 ml の範囲で回収された画分でカルシウムとの反応が認められ，最も高い値は75～80 ml の画分で得られた。Fig. ７には，各湖沼堆積物の NAF および AF 画分の溶離液量が80 ml の時の反応ゲルクロマトグラムをそれぞれ示した。いずれの場合もフルボ酸とカルシウムが反応し，カルシウム錯体を形成したと考えられるフルボ酸と，錯化されたために減少したと考えられるカルシウム量のピークの面積比は１：１で対応した。一般に，反応ゲルクロマトグラムでは錯化剤によって錯化された金属の増加分（プラスピーク）と，カラムから遅れて出てくる欠乏金属イオン分（マイナスピーク）の面積が１：１で対応していれば錯体が形成されているものと考えられるので，フルボ酸がカルシウムと錯体を形成しているのは明らかである。

一方，溶離液量70～90 ml 以外のすべての画分ではカルシウム濃度の増減はなく，錯化能力は全く認められなかった。とくに，溶離液量40 ml（V_0付近）の画分には DOC および E_{260}値の高いピークにかかわらず，カルシウム錯化能力がなかったことは興味深い。これらの結果は，供試したフルボ酸の場合，それらの低分子量画分（1,500 D 以下）に特異的にカルシウム錯化能力があることを示すとともに，脂肪族炭化水素含量の多いと考えられるフルボ酸画分および芳香族炭化水素含量の多いと考えられるフルボ酸画分の両方ともカルシウム錯化能力があることを示している。また，NAF および AF 画分のカルシウム錯化量は，い

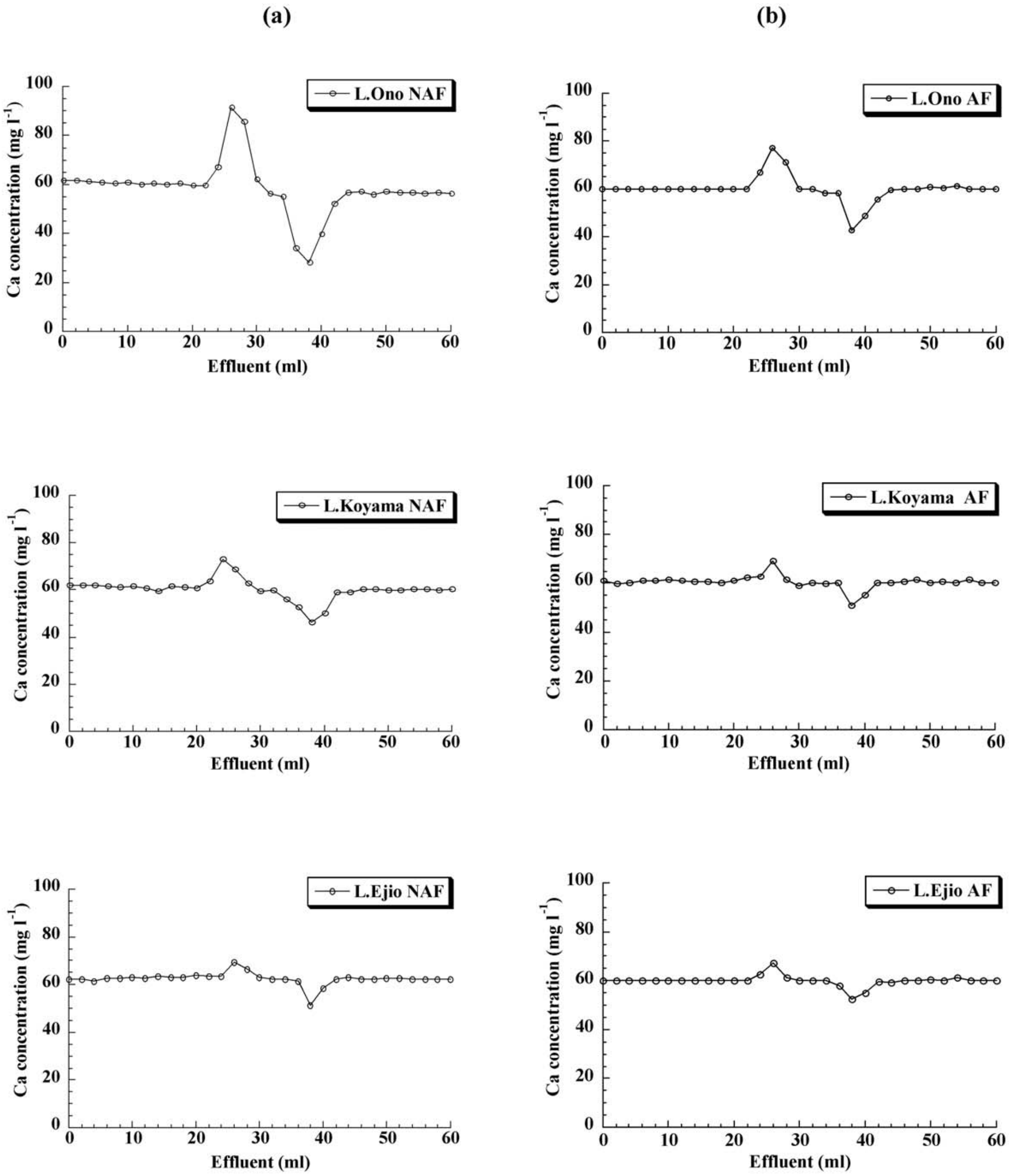

Fig. 7　Chromatograms of Ca complexing abilities of fulvic acids determined using Ca -saturated Sephadex G-15 gel column.
(a) : 80 ml subfraction in gel chromatography of hydrophilic fraction (NAF)
(b) : 80 ml subfraction in gel chromatography of hydrophobic fraction (AF)

ずれも湖水の T-P 濃度に準じた小野湖，湖山池，江汐湖の順であった。最もカルシウム錯化能力が高かった小野湖堆積物の場合は，クロマトグラムの面積比で AF 画分に比べて約2.5倍高い能力を持つことが示された。

以上，本研究で得られた結果は，好気的条件下における堆積物からのカルシウム態リンの溶出において，分子量1,500 D 以下の低分子量フルボ酸の持つカルシウム錯化能力は注目に値することを示唆する。今後，これらの画分のカルシウム－フルボ酸錯体の条件安定度定数測定や成分の同定を行うことによって富栄養化現象との関係をさらに検討していく予定である。

4. ま と め

好気的条件下で生じる堆積物からのリンの溶出を，カルシウムとフルボ酸の錯体形成によるカルシウム態リン酸からのリンの溶離という観点から検討した。試料には富栄養化状態の異なる3湖沼堆積物から抽出したフルボ酸を供試し，Amberlite XAD-2樹脂によって親水性および疎水性画分に分画後，さらにSephadex G-15（排除限界分子量1,500 D）で水を溶離液とするゲルクロマトグラフィーをそれぞれの画分に適用した。また，新たにカルシウム飽和ゲルカラムを作成し，反応ゲルクロマトグラフィーによって，各フルボ酸画分の持つカルシウム錯化能力を調べた。得られた結果は以下の通りである。

⑴ 塩化物イオン濃度の高いフルボ酸抽出液をそのままゲルクロマトグラフィーに用いることで，純水を溶離液としても塩化物イオンに対応した鋭いピークを持つクロマトグラムを得ることができた。

⑵ 疎水性および親水性の画分に分けられたフルボ酸を用いて，E_{260}およびDOC測定によるゲルクロマトグラフィーを行った結果，フルボ酸の分子構造の相違を反映したと考えられるピークが観察された。

⑶ 親水性フルボ酸および疎水性フルボ酸の両方にカルシウム錯化能力があることをカルシウム飽和ゲルカラムにおいて反応フロマトグラフィーを用いて確認した。また，湖水のT-P濃度と関係の高いのは親水性フルボ酸であることが示唆された。

⑷ 好気的条件下における堆積物からのカルシウム態リンの溶出において，分子量1,500 D以下の低分子量フルボ酸の持つカルシウム錯化能力は注目に値することが示唆された。

謝 辞

本研究を実施するにあたり，山口大学農学部生物資源環境科学科土壌科学（進藤晴夫）研究室および鳥取大学農学部生物資源環境学科本名俊正教授，長谷川紘一助教授および学生諸氏に協力を得た。ここに記して謝意を表する。また，貴重なご意見を賜った2名の匿名の査読者に謝意を表する。

引 用 文 献

Aiken, G. R., Mcnight, D. M., Wershaw, R. L. and Maccarthy, P. (Edi.) (1985) Humic substances in soil, sediment and water, Geochemistry, Isolation and Characterization, pp. 105–180, A Wiley-Interscience Publication, New York.

長谷川政江，臼井恵次，藤嶽暢英，本間洋美，進藤晴夫（2004）土壌科学的手法を用いた小野湖（ダム湖）堆積物のキャラクタリゼーション．水環境学会誌，**27**，597–603.

Hirata, S. (1983) Speciation of dissolved metals associated with organic matter in coastal seawater. *J. Oceangr. Soc. Jpn.*, **39**, 211–219.

平田静子（1979）広島県広湾堆積物中の重金属と有機物．日本化学会誌，⑽，1316–1321.

細見正明，須藤隆一（1979）湖沼底泥からのリン溶出に関する研究．水質汚濁研究，**2**，157–162.

小林節子，西村肇（1988）好気下における底質からのリンの溶出に及ぼす錯形成物質の影響．水質汚濁研究，**11**，693–701.

小山忠四郎（1980）生物地球化学．pp. 219–241，東海大学出版会，東京.

Kurokawa, Y. (1980) Master thesis Investigation on gel chromatografie desalting and flow injector analyses of phosphate, Kyshu Univ., 1–27.

Mantoura, R. F. C. and Riley, J. P. (1975) The use of gel filtration in the study of metal binding by humic acids and related compounds. *Anal. Chim. Acta* **78**, 193–200.

松原英隆，椿松洋一（1988）下水処理水中の有機物のゲルクロマトグラフィーにおよぼす無機塩の影響．水質汚濁研究，**11**，783–789.

箕浦加穂，福島和夫（1988）銅滴定―イオン選択電極検出による河川水の錯体形成能力の評価．地球化学，**22**，47–54.

Otsuki, A., Kasuga, S. and Kawai, T. (1981) Seasonal changes of the total phosphorus standing crop in a highly eutrophic lake: the importance loading for shallow lake restoration, Verh. Int. *Verein. Limnol,* **21**, 634–639.

Scheffer and Schachtschabel著，佐々木清一，長谷川寿喜訳（1979）土壌学．博友社，東京.

Shindo, H. and Usui, K. (1995) Humus and phosphorus composition of 3 lake sediments in Yamaguchi prefecture. *Soil Sci. Plant Nutr.* **41**, 383–387.

Tanbo, N. and Kamei, T. (1978) Treatability evaluation of general organic matter. Matrix concertino and its application for a regional water and waste water system. *Water Res.* **12**, 931–950.
臼井恵次，岸野拓男，東俊雄，進藤晴夫，丸本卓哉（1993）湖沼堆積物中から抽出されたフルボ酸のXAD-8樹脂吸着による分画と錯化容量．水環境学会誌，**16**，690–695.
臼井恵次，進藤晴夫，丸本卓哉，岸野拓男（1994）湖沼堆積物中から抽出されたフルボ酸によるリン酸カルシウムからのリンの溶出．水環境学会誌，**17**，596–599.
渡辺彰（1994）土壌構成成分解析法（III）．日本土壌肥料学会編，pp. 59–83，博友社，東京.