

多摩川における有機汚濁物質の起源と削減に関する研究 (その5)

— 下水処理水中の腐植有機物の特徴と多摩川水質への影響 —

編 崎 実* 嶋 津 暉 之
(* 美作女子大学)

要 旨

下水処理水と多摩川調布堰河川水各々約200ℓから溶存腐植有機物をXAD-8樹脂による吸着法で分離し、その化学的特徴を比較することから下水処理水由来の腐植有機物の多摩川河川水への影響を考察した。

分離した腐植有機物(フルボ酸、フミン酸)は、有機炭素・窒素組成、炭素同位体比($\delta^{13}\text{C}$)を測定し、また、フーリエ変換型赤外分光光度計(FT-IR)および ^{13}C -NMRで化学構造の解析を行った。その結果、下水処理水と河川水の溶存腐植有機物の化学的類似性は、C/N比、 $\delta^{13}\text{C}$ 値、 ^{13}C -NMRスペクトル、FT-IRスペクトルで概ね認められた。このことは、調布堰河川水中の腐植有機物の主たる供給源が下水処理水であることを示唆している。

キーワード：多摩川、腐植有機物、河川水、下水処理水、XAD-8樹脂

Study on Origin and Reduction of Organic Pollution Substances in Tama-gawa (V)

—Characteristics of Humic Substances in Treated Sewage Water and the Influences on Water Quality of Tama-gawa —

Minoru Uzaki* and Teruyuki Shimazu
*Mimasaka Women's College

Summary

In order to elucidate the influences of treated sewage water on water quality of Tama-gawa, dissolved humic substances, which have been thought to be main source of trihalomethanes in tap water, were taken up in this paper. Dissolved humic substances (fulvic acid and humic acid) were isolated by using XAD-8 resin as a sorbent from ca. 200 ℓ of treated sewage water and river water of Tama-gawa (Denenchofu-seki). The humic substances were analyzed by measuring carbon/nitrogen ratio and carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$), and by examining the spectrum of ^{13}C -NMR and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The chemical similarity between humic substances in treated sewage water and river water was observed in C/N ratio, $\delta^{13}\text{C}$ value, and spectrum patterns of ^{13}C -NMR and FT-IR. The result seems to suggest the contribution of treated sewage water to water quality of Tama-gawa.

Keywords: Tama-gawa, humic substances, river water, treated sewage water, XAD-8 resin

1 はじめに

東京都水辺環境保全計画では、多摩川田園調布堰（以下、調布堰）で、環境基準を早期に達成し、より上位のB類型の環境基準をめざすとしており、水道原水としての水質を確保できるよう施策を展開することになっている。一般に都市河川下流では、河川水量のかなりの部分が下水処理場放流水から供給されると考えられており、前報¹⁾の検討では、調布堰全流量の2~5割が下水処理場放流水に由来すると推定された。この割合を考えると、調布堰の水質も下水処理場放流水の影響をかなり受けているものと想像される。

水道原水の重要な水質項目の一つにトリハロメタン生成能（THMFP）がある。浄水場で加える塩素と原水中の有機物が反応してトリハロメタンを生成することはよく知られている。溶存腐植有機物はトリハロメタン等の全有機ハロゲンの生成における主要な前駆物質と見られている。このことを最初に指摘したのは、Rook²⁾であった。彼はハロホルムの発生量が水の色度と相関があることから、色素物質であるフミン酸が塩素と反応しハロホルムを生成すると推定した。溶存腐植有機物のソースは、土壌のみならず、下水処理水、生活排水や河川で生産される藻類など様々な可能性が考えられる。丹保ら³⁾は活性汚泥処理の室内シミュレーション実験から、フミン酸、フルボ酸に類似した難分解性有機物が生成することを示し、下水処理場が河川の腐植有機物の供給源となる可能性を示した。

本研究は、多摩川調布堰の水質、特に溶存腐植有機物に注目し、下水処理場放流水の寄与を明らかにすることを目的として実施した。そのために、水中溶存腐植有機物の分離の代表的な分離法である XAD-8 樹脂吸着法を用いて、下水処理場放流水および調布堰河川水から分離を行い、分離した溶存腐植有機物（フルボ酸、フミン酸）の化学的特徴の比較から、下水処理場放流水の影響の評価を行った。なお、溶存腐植物質は通常、酸性溶液に可溶性フルボ酸と酸性溶液に不溶性フミン酸に分けて扱われるので、本研究もそれに従った。フルボ酸は一般に分子量1000~500以下、フミン酸は1500以上のものが多いとされている。

2 方法

(1) 試料

多摩川調布堰左岸から河川水（1993年11月17日、1994年8月15日）と、H下水処理場の放流水（1993年7月28日、1993年11月17日）を採取した。なお、この下水処理水は、多摩川支流浅川に放流され、多摩川に流下している。また、下水処理場放流水の影響の少ない河川水試料として、浅川のH下水処理場放流口の上流側で河川水を採取（1994年8月15日）した。採水試料は、研究室に持ち帰った後、直ちにグラスファイバーフィルター（GB100R：孔径0.6 μ m、アドバンテック）でろ過し、溶存態の腐植有機物を以下に述べる方法で分離した。

(2) XAD-8 樹脂による溶存腐植有機物の濃縮分離

分離方法の概要を図1に示す。ろ過した試料水を塩酸性（約pH 2）とし、Amberlite XAD-8 樹脂を充填したガラスカラム（内径55mm、全長700mmの内、220~300mmに樹脂を充填）に流速80 l/minで、180~205 lの試料水を流した。

試料水

ろ過 (0.45~1.2 μ m フィルター)

塩酸で pH2 に調整する

XAD-8 カラムを通し、溶存腐植有機物を吸着する

0.1N NaOH で溶離する

溶離後酸化を避けるため直ちに塩酸酸性化 (pH1) し、沈殿したフミン酸を遠心分離する

溶液を小型の XAD-8 カラムに再吸着させる

0.1N NaOH で逆溶離 (back-elution) で溶離する

溶離液を再び直ちに塩酸酸性化 (pH1) し、沈殿したフミン酸を遠心分離する

フルボ酸溶液を陽イオン交換樹脂に通し、

Na⁺ を除く

凍結乾燥

フルボ酸
(fulvic acid)

フミン酸
(humic acid)

図1 XAD-8 による水中溶存腐植有機物の分離法

吸着させた有機物を、0.1N水酸化ナトリウム溶液約200mlで溶離した後、塩酸性（pH 2）とし、沈殿するフミン酸（Humic Acid）画分を遠心分離した。沈殿物（フミン酸）は、純水に塩酸を加え、pH 2に調整した溶液で2回洗浄した後、凍結乾燥した。一方、上澄み液は、

小型のXAD-8樹脂カラムに再吸着させ、少量の0.1N水酸化ナトリウム溶液で逆溶離した。溶離液を再び塩酸酸性 (pH2) にし、フミン酸を上記と同様の方法で沈殿させ、凍結乾燥した。上澄み液は、陽イオン交換樹脂 (Dowex 50W-X8) に通し、Na⁺を除いた後、凍結乾燥した。これをフルボ酸 (Fulvic Acid) とした。

(3) 溶存腐植有機物 (フルボ酸、フミン酸) の諸分析方法

ア 有機炭素量、窒素量、炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$)

有機炭素量、窒素量の測定：柳本製CHNコーダMT-3を用いた。

炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) の測定：フルボ酸、フミン酸試料を酸化銅、銀箔とともに石英管に減圧下で封入し、850℃で2時間燃焼し生成したCO₂を真空ライン中で精製したあと、同位体分析用質量分析計 (フィニガンマツト社製デルタS) で測定した。炭素同位体比は、 $\delta^{13}\text{C} (\%) = \{ (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1 \} \times 1000$ で表わした。Rは¹³C/¹²C、標準試料はPDB (Pee Dee Belemnite) を用いた。以上の測定は、東京都立大学理学部分析化学研究室で実施した。

イ ¹³C-NMR、FT-IR法の測定

FT-IR測定には、Bio-Rad製 FTS-65Aを使用し、KBr錠剤法により実施した。¹³C-NMRは、JEOL製 EX200を使用し、固体分析用プローブで測定した。これらの測定には、石油開発公団技術センターの協力を得た。

3 結果及び考察

(1) 溶存腐植有機物の分離と回収率

水中から溶存腐植有機物を分離する方法には、蒸発乾固 (減圧濃縮、凍結乾燥) 法、共沈法、限外ろ過法 (Ultrafiltration)、溶媒抽出法、吸着分離法 (アルミナ、ナイロン粉末、ポリアミド粉末、活性炭、陰イオン交換樹脂、非イオン系巨網状吸着材) などの数多くの方法がある⁴⁾。本研究に用いたXAD法は、非イオン系巨網状吸着剤による吸着分離法の一つである。この方法は、1970年代半ば以降、しばしば河川水、海水中の溶存有機物の分離に用いられるようになった^{5),6),7)}。理想的な分離法は、①回収率が高く、②無機成分を除去でき、③短時間で分離でき、また、④大量の試料水の処理に適していることであるが、XAD樹脂吸着分離法は、大量の試料

水の処理に適し、したがって、多くの溶存有機物を分離することが可能であり、塩分を残さないの、その後の分析にとって都合が良いなど、多くの優れた特徴がある。このXAD樹脂には様々なタイプがあり、非極性有機物の分離に適した スチレン-ジビニルベンゼンの共重合体であるXAD-2、中間的な極性を持った有機物の分離に適したアクリルエステルからなる XAD-7およびXAD-8が代表的なものである。その中で、XAD-8は、河川等から腐植有機物を効率良く回収することが知られている^{4),8)}。そこで、本研究ではXAD-8樹脂を用いることにした。

本研究で用いた吸着分離方法は、Aiken⁴⁾の方法に大方準じているが、表1に示すように、下水処理場放流水、多摩川調布堰、浅川河川水のいずれも腐植有機物の回収量は、期待した程高くなかった。下水処理場放流水で分離された腐植有機物量 (炭素量換算) は、全溶存有機炭素量の8-12%、多摩川調布堰河川水で8%、浅川河川水で5%となった。

表1 XAD-8樹脂吸着分離法による下水処理場放流水、多摩川調布堰および浅川河川水中の腐植有機物の分離結果

	試水量 (g)	全溶存有機 炭素量 (mg-C)	分離した 溶存腐植有機物量 (mg-C)
下水処理場放流水 (930728)	180	600	フルボ酸 49 フミン酸 23
下水処理場放流水 (931117)	205	968	フルボ酸 47 フミン酸 29
多摩川調布堰(931117)	195	404	フルボ酸 19
多摩川調布堰(940815)	204	638	フルボ酸 41 フミン酸 9
浅川 (940815)	192	479	フルボ酸 18 フミン酸 5

また、XAD-8吸着分離法の第1段として行われる大型カラムによる吸着操作における有機炭素の吸着率を測定したところ、下水処理水および河川水で大きな差はなく、24%~34%となり、2/3~3/4が吸着されていないことがわかった。このことは、従来の報告から考えると、下水処理水、多摩川、浅川河川水はいずれも腐植有機物の含有率が低いことを示している。しかし、本研究で用いた吸着条件は、Aiken⁴⁾の方法を無条件に適用し、あらためて濃縮分離方法を十分検討していないので、吸着率の低い理由の解明は今後の検討にかかる。フルボ酸、

フミン酸の回収量は、フルボ酸の方が多いが、回収率については、フルボ酸は、2回のXAD-8カラム吸着操作を行っているので、回収率が低くなっていると思われる、フミン酸は、吸着操作が少ないので、フルボ酸より高い回収率になっていると思われる。

本法で分離したフルボ酸、フミン酸のC/N比、炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$)、 ^{13}C -NMR、FT-IRの測定結果は、腐植有機物の従来知られている値の範囲であることや、同一試料水の値が同程度の数値を示していることから、分離された溶存腐植有機物は、各試料水の溶存腐植有機物を概ね表していると判断した。

(2) 溶存腐植有機物の特徴の比較

C/N比、炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$)、 ^{13}C -NMR、FT-IR法の各測定項目について、下水処理場放流水と多摩川調布堰および浅川河川水中の溶存腐植有機物の特徴の比較を行い、下水処理場放流水の調布堰への影響を考察した。

ア C/N比、炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$)

C/N比および炭素同位体比の測定結果を表2に示す。

表2 下水処理場放流水、多摩川調布堰および浅川河川水から分離した腐植有機物の有機炭素含有量、炭素/窒素(C/N)比、炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$)

		炭素量 (%)	C/N	^{13}C (‰)
下水処理場放流水 (930728)	フルボ酸	20.2	12.4	-25.1
	フミン酸	17.8	6.6	-23.7
下水処理場放流水 (931117)	フルボ酸	51.3	15.6	-26.4
	フミン酸	46.3	8.4	-25.4
多摩川調布堰(931117)	フルボ酸	49.5	19.6	-26.5
多摩川調布堰(940815)	フルボ酸	17.6	11.2	-25.9
	フミン酸	37.0	6.7	-24.6
浅川 (940815)	フルボ酸	15.5	13.8	-25.7
	フミン酸	39.9	5.7	-24.3

フルボ酸のC/N比は、下水処理水、河川水とも夏期が11~14、冬期が16~20であり、一方、フミン酸のC/N比は夏期、冬期とも6~8ある。このようにC/N比に関しては、下水処理水、多摩川調布堰河川水、浅川河川水の差は小さく、フルボ酸、フミン酸のC/N比が、それぞれほぼ同じような値を示している。

フミン酸のC/N比は、主に藻類などの自生性有機物由来の堆積物フミン酸で11程度、高等植物を主な起源とする土壌フミン酸で18程度の値である⁹⁾。それから考え

ると、今回の下水処理水、多摩川調布堰河川水、浅川河川水のフミン酸の6~8の値は、きわめて特徴的な値で、窒素の組成比が相対的に高いという特性がこれらのフミン酸に共通に認められた。なお、この高い窒素比率は、蛋白質に由来する成分がこれらのフミン酸には多く含まれるためと考えられる。この点については、後に述べるFT-IRスペクトルのバンド特性からも確認された。また、フルボ酸とフミン酸のC/N比の大きな差は、フルボ酸は、フミン酸に比べ蛋白質に由来する成分を含んでいないことによるものと考えられる。

フルボ酸は分離が難しいためフミン酸ほど研究が行われていないが、土壌有機物から分離されたフルボ酸について測定されたものでは、C/N比11~43の広範囲の値が報告されている¹⁰⁾。フルボ酸のC/N比は、環境条件によってその値が大きく変化する傾向がある。下水処理水、多摩川調布堰河川水、浅川河川水のフルボ酸は、同時期においてほぼC/N比が一致することは、それらのフルボ酸の同一性を示しているように思われる。また、夏期と冬期のフルボ酸のC/N比の差は、夏期において水温の上昇で微生物の自己酸化が進みやすいことと関係していると思われるが、その詳細は不明である。

次に、炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) は、下水処理水、河川水とも、フルボ酸が-25‰~-26‰、フミン酸が-24‰~-27‰であり、ほとんど差がなく、季節的变化もみられない。炭素同位体比は、陸上由来有機物 (-26‰~-29‰) と海生由来有機物 (-20‰~-23‰) を区分するのにしばしば用いられる。Nissenbaum and Kaplan¹¹⁾は、海生有機物由来および陸上有機物由来の腐植有機物 (フルボ酸、フミン酸) の $\delta^{13}\text{C}$ 値の測定を行い、腐植有機物についてもそれぞれ起源有機物の $\delta^{13}\text{C}$ 値に近い値となることを示した。したがって、下水処理水と河川水の腐植有機物の $\delta^{13}\text{C}$ 値の一致は、それらの腐植有機物の由来が同じであることを示唆し、その $\delta^{13}\text{C}$ 値は、陸上有機物に由来することを示した。

イ 固体 ^{13}C -NMR、FT-IR法による化学構造の解析

図2に、下水処理水、河川水のフルボ酸、フミン酸の代表的な固体 ^{13}C -NMRスペクトルを示した。また、 ^{13}C -NMRスペクトルの化学シフトの帰属を表3に示した。

本研究で用いた固体 ^{13}C -NMRは、溶解度の低い腐植有機物のNMRスペクトルを得るのに適した方法である。腐植有機物へのこの方法の適用は、主として芳香族と脂

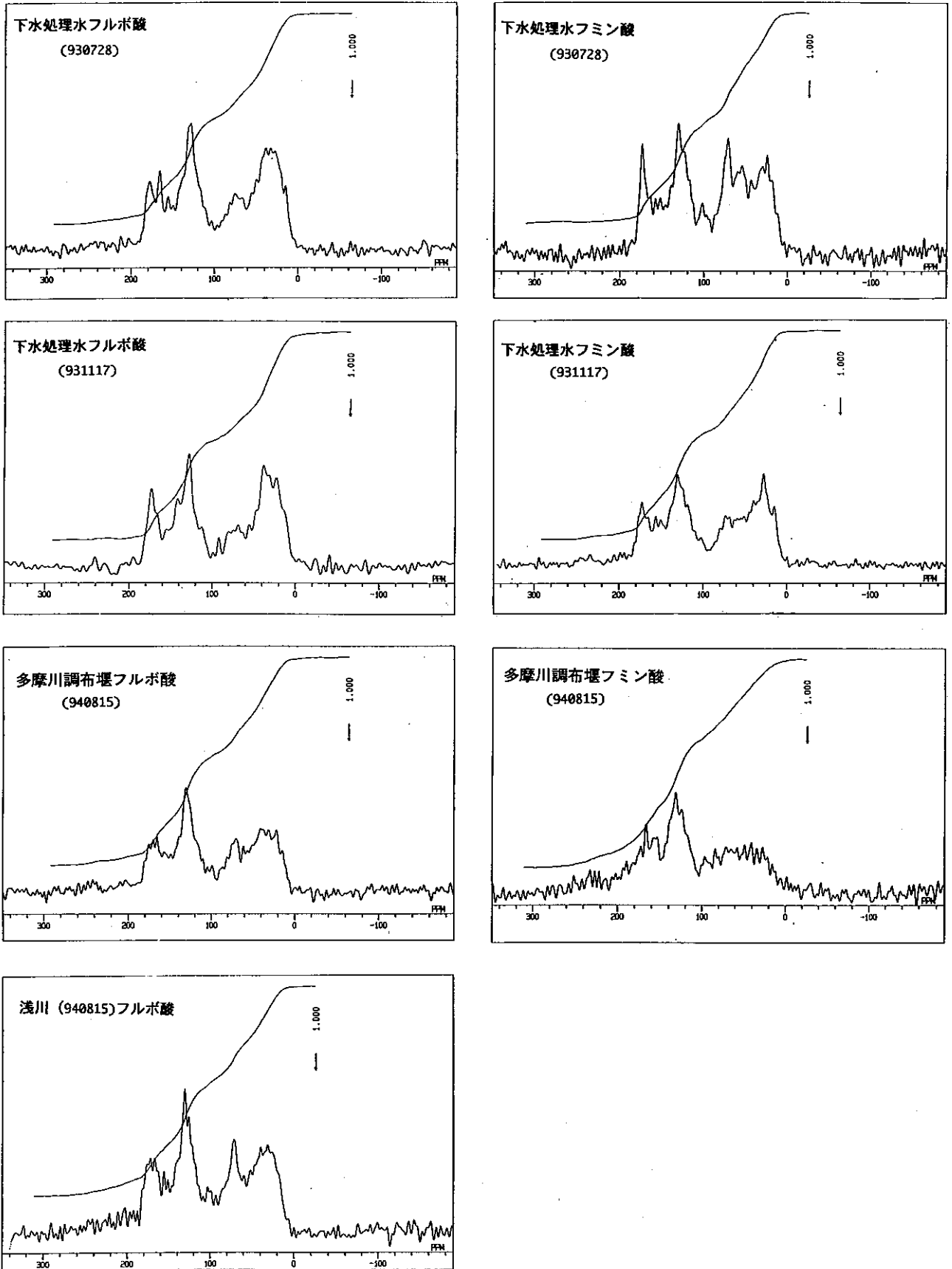


図2 下水処理水、多摩川調布堰および浅川河川水から分離したフルボ酸、フミン酸の固体 ^{13}C -NMRスペクトル

表 3 ¹³C-NMRスペクトルの化学シフト

	化学シフト (ppm)
脂肪族 C	
terminal-CH ₃	14
Ar-CH ₃	21
(-CH ₂ -) _n	30
bridge-CH ₂ -	38
-OCH ₃ , R-OH, C-O-C	51-67
芳香族 C	
Ar-H	93-129
Ar-C	129-148
Ar-CH ₃	148-171

表 4 下水処理場放流水、多摩川調布堰および浅川河川水から分離したフルボ酸、フミン酸の脂肪族炭素と芳香族炭素の構成比率

	フルボ酸		フミン酸	
	脂肪族	芳香族	脂肪族	芳香族
下水処理水 (930728)	50%	50%	44%	56%
下水処理水 (931117)	50%	50%	48%	52%
多摩川調布堰 (931117)	46%	54%	34%	66%
浅川(940815)	46%	54%	-	-

脂肪族の炭素の存在比を評価するため用いられている。脂肪族炭素の化学シフトは、14~67ppm、芳香族炭素は90~171ppmである。この化学シフトの範囲の積分値から芳香族と脂肪族の炭素の存在比を評価した。その結果を表4に示した。脂肪族炭素に対する芳香族炭素の構成比率はフルボ酸に関しては、下水処理水が50%、調布堰河川水が54%、浅川が54%で、ほぼ同じである。しかし、フミン酸に関しては、下水処理水が52~56%、調布堰河川水が66%であり、調布堰河川水の方が多少高い。土壌腐植有機物は芳香族炭素の割合が高いので、一般的傾向としては、河川上流部では、芳香族炭素が高く、下水処理水、藻類、生活排水等の影響が高くなると、その比率が低下していくと考えられる。調布取水堰の比率が下水処理水のそれに近い値を示すということは、下水処理水

由来の腐植物質がかなりの割合で、加わっていることを示唆している。

ただし、調布堰河川水のフミン酸の芳香族炭素比率が下水処理水に比べ、多少高くなったが、これは、フルボ酸に比べると、下水処理水などの寄与が相対的にやや小さいことを示している。フミン酸の別のソースとしては、土壌由来の河床堆積物からの溶出等の影響が考えられるが、その他の要因も検討する必要がある。

図3に、FT-IRスペクトルを示す。このスペクトルは、拡散反射を測定したもので、Kubelka-Munk関数強度で示している。拡散反射法は、粉末試料の赤外スペクトルを容易に感度よく測定出来る特徴がある。各結合基が示す波長のバンド特性は次の通りである。

- ①アミドのC=O伸縮振動：1660cm⁻¹と1540cm⁻¹
- ②カルボニル基やカルボキシル基のC=O伸縮振動：1710cm⁻¹
- ③CH₃基のC-H伸縮振動：2850~3000cm⁻¹
- ④CH₂基のC-H伸縮振動：1470cm⁻¹と1380cm⁻¹
- ⑤分子間、分子内の水素結合をしたOH基、NH基の伸縮振動：2850~3000cm⁻¹のブロードなバンド

①のバンド特性は下水処理水、多摩川調布堰河川水、浅川河川水とも、フミン酸には強くみられ、フルボ酸にはみられない。先に、フミン酸の高い窒素含有率が蛋白質に由来することを述べたが、そのことはこのバンド特性からみても明らかである。②は下水処理水、河川水のフルボ酸に強くみられ、フミン酸にはみられない。フルボ酸は、酸性溶液中にも溶存態であることから、これらの基を多く持つことが予想され、強いバンドが表れるものと考えられる。③、④は下水処理水、河川水のフミン酸に強くみられ、フルボ酸のバンド特性は弱い。これはフミン酸がメチレン鎖を多く含むことを示しており、フミン酸の難溶解性が説明される。⑤は下水処理水、河川水のフルボ酸、フミン酸とも共通してみられる。

以上のように、フルボ酸、フミン酸がそれぞれ持つ結合基を反映して、フルボ酸、フミン酸それぞれの特有のバンド特性がみられるが、下水処理水、多摩川調布堰河川水、浅川河川水の差はあまりなく、ほとんど同じバンド特性を示している。

おわりに

本研究は、下水処理場放流水の多摩川への影響、水道

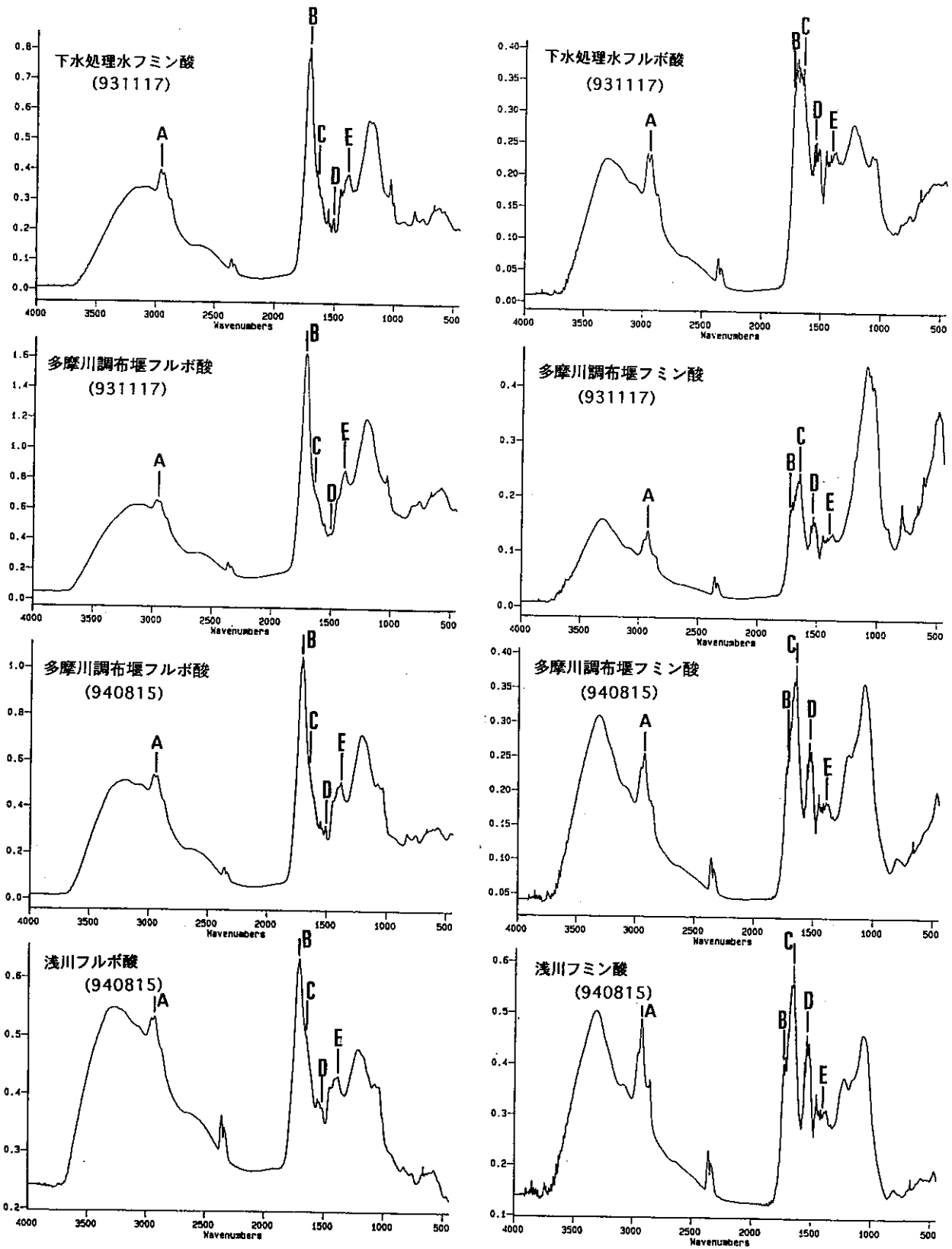


図3 下水処理水、多摩川調布堰および浅川河水から分離したフルボ酸、フミン酸のFT-IRスペクトル。(縦軸は、Kubelka-Munk 関数強度を示す)
 A: 2920cm^{-1} , B: 1710cm^{-1} , C: 1660cm^{-1} , D: 1540cm^{-1} , E: 1380cm^{-1}

用水として再検討が展望させている多摩川調布堰河川水への影響を明らかにすることを目的としたものである。今回は、水道原水としての水質評価の重要な項目の一つであるトリハロメタン生成能に関連して、その起源有機物と指摘されている腐植有機物について、その性質とその由来を考察するために、下水処理水と調布堰河川水中の腐植有機物（フルボ酸、フミン酸）を分離して、その化学的特徴の比較を行った。その結果、次の点が明らかになった。

- ①下水処理水と多摩川調布堰河川水のフルボ酸、フミン酸のC/N比の差はあまりなかった。
- ②下水処理水と調布堰河川水のフルボ酸、フミン酸の $\delta^{13}\text{C}$ 値はほぼ同じ値を示した。
- ③ ^{13}C -NMRスペクトルから求めた脂肪族・芳香族炭素の構成比率は、フルボ酸に関しては、下水処理水、調布堰河川水はほぼ同じ値であったが、フミン酸に関しては調布堰河川水の芳香族炭素の比率は、下水処理水より多少高い値を示した。
- ④フルボ酸、フミン酸のFT-IRスペクトルはそれぞれ下水処理水と多摩川調布堰河川水とも同じバンド特性を示した。

以上のとおり、下水処理水と調布堰河川水は、フルボ酸とフミン酸の化学的特徴に多くの類似点がみられた。このことは調布堰河川水中の腐植有機物の主たる供給源が下水処理水であることを示唆していると考えられる。

ただし、下水処理水流入地点より上流の浅川河川水のフルボ酸、フミン酸も調布堰河川水と同じような化学特性を示したが、これは、コミュニティプラントや単独処理浄化槽によって、下水処理水と同様な生物処理水が流入していることによるものと考えられる。浅川河川水の場合は全有機炭素に対する合計回収量が5%と低く、下水処理水のその1/2であり、その程度の割合で生物処理水が流入し、下水処理水と同様な腐植有機物が混入しているからと推測される。

引用文献

- 1) 嶋津暉之ら：多摩川における有機汚濁物質の起源と削減に関する研究（その1），東京都環境科学研究所年報1994, p.161~172.
- 2) Rook, J.J. : Formation of haloforms during chlorination of natural water. *Water Treatment and Examination*, 23, Part 2, p.234-243 (1974) .
- 3) 丹保憲仁ら：好気性生物化学プロセスからの代謝廃成分の挙動と性質（I）—ゲルクロマトグラフィーによるプロセス収支の評価. 下水道協会誌, 18, p.48-57 (1981) .
- 4) Aiken, G.R. : Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances. In *Humic substances in soil, sediments, and water*. edited by Aiken, G.R., Mcknight, D.M., Wershaw, R.L. & Maccarthy, P., A Wiley-Interscience Publication (1979) .
- 5) Leenheer, J.A. and Huffman, E.W.D. : Classification of organic solutes in water by using macroreticular resins. *Journal of Research U.S. Geology Survey*, 4, p.737-751 (1976) .
- 6) Aiken, G.R. et al. : Comparison of XAD macroporous resins for the concentration of fulvic acid from aqueous solution. *Anal. Chem.*, 51, p.1799-1803 (1979) .
- 7) Mantoura, R.F.C. and Riley, J.P. : The use of gel filtration in the study of metal binding by humic acids and related compounds. *Anal. Chim. Acta*, 76, p.97-106 (1975) .
- 8) Thurman, E.M. and Malcolm, R.L. : Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 15, p.463-466 (1981) .
- 9) Ishiwatari, R. : Organic polymers in recent sediments—chemical nature and fate in geological environment—. Thesis for the Degree of Doctor of Science (Tokyo Metropolitan University) , (1971)
- 10) Kononova, M.M. *Soil Organic Matter*, Pergamon Press, Oxford, p.112 (1963) .
- 11) Nissenbaum, A. and Kaplan, I.R. : Chemical and isotopic evidence for the in situ origin of marine humic substances. *Limnol. Oceanogr.*, 17, p.570-582 (1972) .