

土壌中の自然浄化作用の促進に寄与する腐植物質の機能解明

福 嶋 正 巳*

Functions of Humic Substances for Enhancing Remedial Processes in Soil Environments

Masami FUKUSHIMA*

Abstract

Humic substances (HSs), which are ubiquitous in soil environments, are directly and/or indirectly related to the detoxification of organic pollutants. To enhance the catalytic activity of iron(III)-porphyrins (Fe(III)-Por) and phthalocyanines (Fe(III)-Pc), which mimic the active centers of oxidative enzymes from soil microorganisms, the effects of adding of HSs were examined. In this paper, the author reviews a series of works on the effects of humic substances on the oxidative degradation of organic pollutants by biomimetic catalytic systems. The degradation of pentachlorophenol by both Fe(III)-Por and Fe(III)-Pc was dramatically enhanced in the presence of some HSs with lower polarity. It was found that self-degradation of catalysts resulted in a reduction of catalytic activity. In addition, Fe(III)-Por was incorporated into HS via hydrophobic interactions, and kinetic constants for self-degradation decreased with an increase in the binding constant. Therefore, the formation of a supramolecular complex between Fe(III)-Por and HS can stabilize the catalyst, and this leads to enhanced catalytic activity.

Key words : humic substances, biomimetic catalysts, pentachlorophenol, oxidation, toxicity, catalytic activity

キーワード : 腐植物質, バイオミメティック触媒, ペンタクロロフェノール, 酸化, 毒性, 触媒活性

I. はじめに

土壌は生物に対して重要な活動の場であり、有害化学物質による土壌汚染は人類が活動を続ける限り起こりうる問題である。ゆえに、有害化学物質の環境動態を解明し浄化対策を行うことが必要とされる。土壌中に広く分布している腐植物質(HS: Humic Substances)は、主として植物遺骸の分解に由来する低分子のフェノール系酸が縮重合して生成した高分子の有機酸として知られている。HSは、土壌からアルカリ水溶液で抽出でき

る有機成分と定義され、酸への溶解性で腐植酸(HA: Humic Acid)とフルボ酸(FA: Fulvic Acid)に分画される(図1)(Tan, 2003)。このような定義の曖昧さから腐植物質は不均一な混合系と見なされ、有害化学物質に対する作用を化学的に解釈することは困難とされてきた。しかし、HSは植物への養分供給等に対して重要な役割を果たすだけではなく、有害重金属や農薬のような有害化学物質の毒性や動態にも大きな影響を及ぼすといわれている(福嶋, 1998)。

一方、クロロフェノールや塩素化ダイオキシン

* 北海道大学大学院工学研究科環境循環システム専攻

* Division of Solid Waste, Resources and Geoenvironmental Engineering, Graduate School of Engineering, Hokkaido University

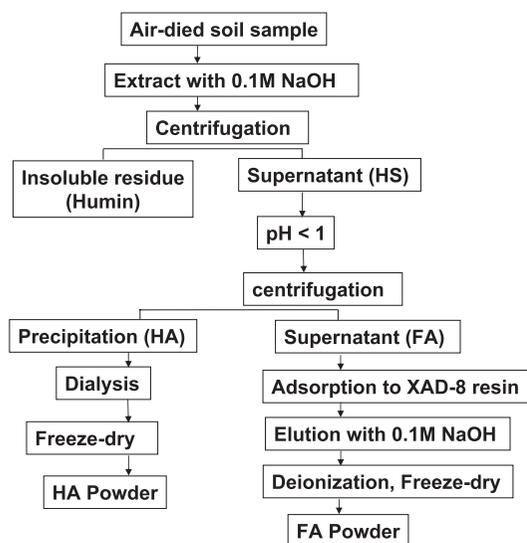


図 1 HA および FA の抽出・精製操作.

Fig. 1 Scheme for extracting and purifying HA and FA.

など難分解性有機塩素化合物で汚染された土壌の浄化方法が種々報告されている。汚染土壌の浄化方法として、汚染土壌を掘削・回収しそれを溶剤などで洗浄する方法が主として行われている。しかし、このような手法は莫大なエネルギーを必要とするとともに土壌にも大きな負荷を与えるため、土壌本来の機能や性質を損なうと考えられる。さらに、洗浄液の処理のような二次的な問題も生じうる。したがって、このような環境負荷を最小限にすることが可能な原位置浄化方法の開発が望まれる。主な原位置浄化法としてバイオレメディエーションが挙げられるが、微生物への栄養塩の供給、pH や温度などの条件管理が必要でありメンテナンスに手間がかかる。一般に、化学触媒は広い pH や温度条件で作用することができるので、メンテナンスの手間が軽減できると考えられる。また、化学修飾により高機能化を図ることが可能であり、システムを容易に制御できる。ゆえに、著者は微生物が生産する酵素の活性中心として知られている金属-ポルフィリン触媒に着目した。この触媒には酸化作用があり、有機汚染物質を酸化分解することができる (Meunier, 1992)。

金属-ポルフィリン触媒やその類縁体として知られている金属-フタロシアニン錯体は、酵素の活性中心を模倣していることから「バイオミメティック触媒」と呼ばれている。本論文では、バイオミメティック触媒による土壌中の有機汚染物質の分解・無害化に及ぼす HS の効果に関する著者の一連の研究を紹介する。

II. 各種土壌から抽出した腐植物質のキャラクタリゼーション

図 2 に陸生 (森林) 土壌 (Stevenson, 1982), 海底堆積物 (Gagosian and Stuermer, 1977) および黒ボク土 (Hatcher *et al.*, 1994) から抽出した FA, HA の平均化学構造を示す。これら構造式から腐植物質はタンニンやリグニンに類似した高分子有機物であることがわかる。また、起源とする土壌によって構造が大きく異なることも明らかである。したがって、有害化学物質の浄化・無害化に対する HS の作用・効果は、その土壌起源により大きく異なると思われる。ゆえに、本研究では黒ボク土、ポドゾル泥炭、熱帯泥炭、堆肥、褐色森林土、市販品 (石炭より合成) から、HA, FA を分離・精製し、それぞれの添加効果について検討を行った。HS の化学的特性に対する指標として元素組成 (C, H, N, O, S, 灰分), 分光パラメータ, 酸性官能基含量について分析を行った。ここで、分光パラメータとは 280 nm における吸光係数, 465 nm と 665 nm の吸光係数の比のことを指しており、それぞれ、芳香族成分の含有量と腐植化度に対応している (Chin *et al.*, 1994)。著者が用いた HS の起源およびこれらの化学組成の分析結果を表 1 に示す。

III. バイオミメティック触媒系における有機汚染物質の酸化促進

1) 腐植物質の共存効果

図 3 に示した鉄ポルフィリン触媒 (Fe(III)-Por) や鉄フタロシアニン触媒 (Fe(III)-Pc) は、酸化酵素の活性中心を模倣した酸化触媒であり、 H_2O_2 や $KHSO_5$ 等の過酸化物を添加することで図 4 のようなメカニズムにより CP など有機化合

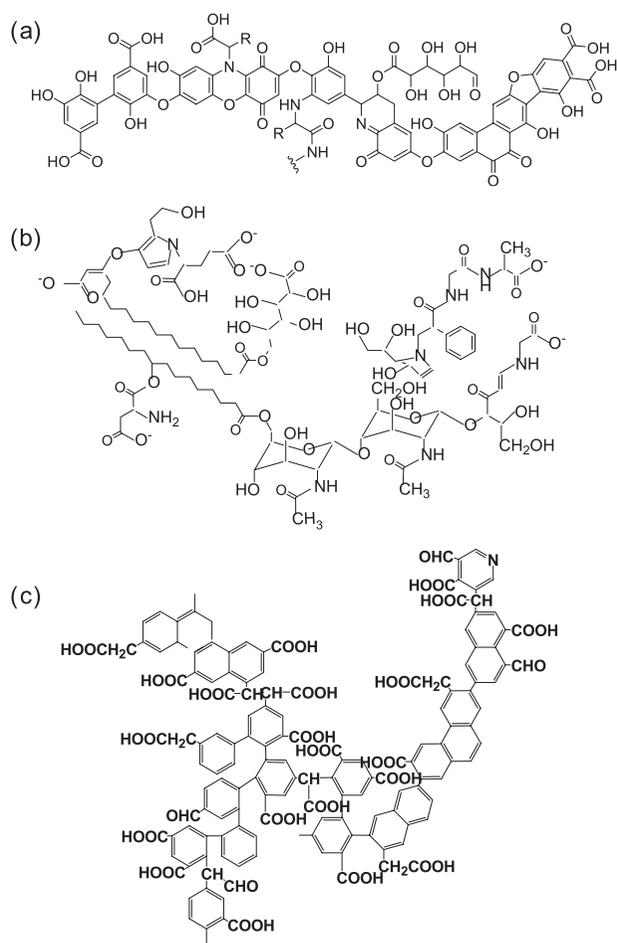


図 2 HA および FA の構造モデル：(a) 褐色森林土壌 FA (Stevenson, 1982), (b) 海洋堆積物 HA (Gagosian and Stuermer, 1977), (c) 黒ボク土 HA (Hatcher *et al.*, 1994).

Fig. 2 Structural models of HA and FA: (a) brown forest soil FA (Stevenson, 1982), (b) marine sediment HA (Gagosian and Stuermer, 1977), (c) ando soil HA (Hatcher *et al.*, 1994).

物を酸化分解することが知られている (Fukushima *et al.*, 2003b)。図 3 に示されているように、本研究では Fe(III)-Por として tetra (*p*-sulfonatophenyl) porphine-iron(III) (Fe(III)-TPPS) および tetra (*N*-methyl-4-pyridil) porphine-iron(III) (Fe(III)-TPyP) を、Fe(III)-Pc として iron(III)-phthalocyanine-tetrasulfonic acid (Fe(III)-PcTS) を用いた。これらを汚染土壌に散布し土壌浄化を図る場合、土壌中に多量に含まれている HS の影響を調べる必要がある。そこで、これら触媒系による

ペンタクロロフェノール (PCP) の酸化促進に及ぼす HS 構成成分の影響を評価した。HS の添加による PCP 酸化促進の度合いは、反応開始 60 分後の PCP 酸化率を用い、次式の $\% \delta (\text{PCP})_{60}$ を用いて表した。

$$\begin{aligned} \% \delta (\text{PCP})_{60} &= (\text{HS 共存下の PCP 酸化率}) \\ &\quad - (\text{HS 非共存下の PCP 酸化率}) \end{aligned}$$

図 5 は、Fe(III)-Pc 系における $\% \delta (\text{PCP})_{60}$ と HS の O/C 原子数比との相関関係を示す。これに

表 1 腐植物質の起源と分析データ。
Table 1 Origins and analytical data for humic substances.

Origins and abbreviation	Elemental Composition						Spectroscopic Parameters				Acidic Functional Groups (meq / g C)		
	%C	%H	%N	%O	%S	%ash	log E_{280}	log E_{465}/E_{665}	Total acidity	COOH	Phenol-OH		
Bibai peat soil HA (BHA)	57.20	5.70	2.40	31.30	0.60	2.70	1.46	0.9	9.3	3.6	5.7		
Shinshinotsu peat soil HA (SHA)	57.90	5.50	1.80	33.90	0.90	0.00	1.54	0.73	10.2	3.6	6.6		
Inogashira ando soil HA (IHA)	53.20	4.10	3.90	38.30	0.60	0.00	1.73	0.82	11.5	7.9	3.6		
Inogashira ando soil FA (IFA)	45.50	4.40	2.10	46.00	0.40	1.50	1.43	1.17	25.1	22.7	2.5		
Dando brown forest soil HA (DHA)	51.00	5.20	4.20	38.20	0.60	0.70	1.52	0.88	11.1	7	4.1		
Dando brown forest soil FA (DFA)	46.40	4.40	1.10	47.80	0.30	0.00	1.35	1.17	19.1	16.2	2.9		
Tohro ando soil HA (THA)	49.30	4.60	1.10	38.90	2.60	3.60	1.75	0.85	15.5	10.2	5.4		
Aldrich HA (AHA)	51.45	4.77	0.91	37.48	3.30	2.09	1.72	0.87	14.3	6.6	7.7		
Bukit Batu tropical peat HA (BBHA)	56.43	5.28	1.07	34.26	0.28	2.68	1.54	0.82	18.7	3.9	14.8		
G. Obos tropical peat HA (GOHA)	58.00	5.53	1.11	34.64	0.23	0.49	1.56	0.82	17.4	4.2	13.2		
Waskish Peat HA (WPHA)	54.72	4.04	1.47	38.54	0.36	1.60	1.67	0.92	16.9	7.8	9.1		
Compost HA (CHA)	53.10	5.15	3.68	36.69	0.80	0.58	1.56	0.96	6.39	0.97	5.42		
Pahocee peat FA (PPFA)	51.31	3.53	2.34	43.32	0.76	0.90	1.68	1.10	16	10.6	5.4		
Pahocee peat HA (PPHA)	56.37	3.82	3.69	37.34	0.71	1.12	1.76	0.82	10.9	9	1.9		
Suwannee River NOM (SRNOM)	52.47	4.19	1.10	42.69	0.65	7.00	1.44	0.94	13.8	9.9	3.9		
Suwannee River FA (SRFA)	53.04	4.36	0.75	43.91	0.46	0.98	1.48	1.56	15.3	12.2	3.1		
Wheat Straw Applied Soil HA (WHA)	45.65	4.91	3.69	36.04	0.68	9.03	1.61	0.76	3.72	0.91	2.81		
Nordic Lake HA (NLHA)	53.33	3.97	1.16	43.09	0.58	0.31	1.62	1.20	12.3	9.1	3.2		
Nordic Lake NOM (NLNOM)	58.13	3.68	4.14	34.08	0.44	0.88	1.80	0.63	10.2	8.3	1.9		
Elliot Soil HA (ESHA)	31.15	2.94	0.72	31.48	4.16	29.55	1.27	1.00	9.1	4	5.1		
Nordic Lake FA (NLFA)	52.31	3.98	0.68	45.12	0.46	0.45	1.59	1.04	14.3	11.2	3.2		
Elliot Soil FA (ESFA)	50.12	4.28	3.75	42.61	0.89	1.00	1.61	1.30	15.5	13.2	2.3		
Waskish peat FA (WPPFA)	53.63	4.24	1.07	41.81	0.29	0.16	1.60	0.97	19.1	10.8	8.3		

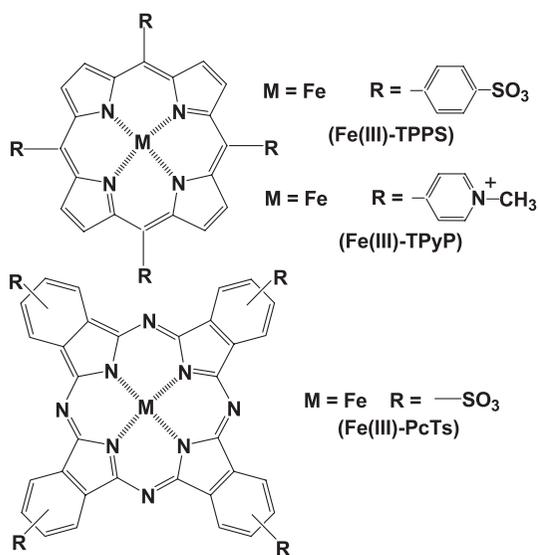
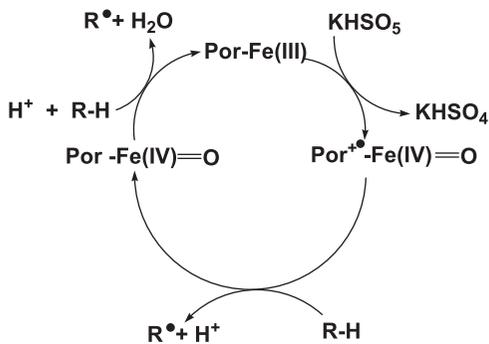


図3 鉄(III)-ポルフィリン (Fe(III)-Por) およびフタロシアニン触媒 (Fe(III)-Pc) の化学構造。

Fig. 3 Chemical structures of iron (III)-porphyrins (Fe(III)-Por) and phthalocyanines (Fe(III)-Pc).



Overall reaction:

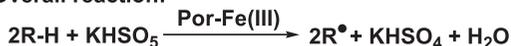


図4 鉄(III)-ポルフィリン触媒による有機汚染物質の酸化機構。

Fig. 4 Oxidation mechanism of organic substrates by iron (III)-porphyrin catalysts (peroxidase shunt pathway).

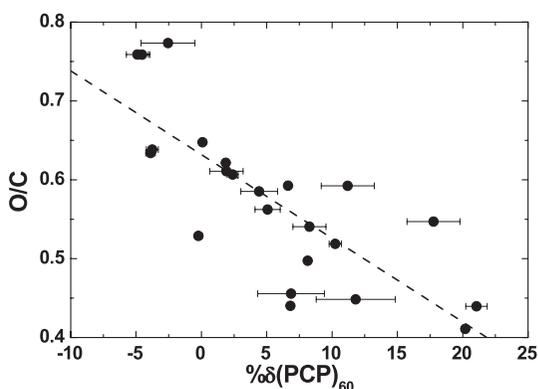


図5 Fe(III)-Pc触媒系における%δ(PCP)₆₀とO/C比との相関関係。

Fig. 5 Correlation between %δ(PCP)₆₀ and the O/C atomic ratio for the Fe(III)-Pc catalytic system.

関して、負の相関性が見られ (Fukushima and Tatsumi, 2006b), Fe(III)-Por 触媒系についても同様な結果が得られた。O/C 比は、カルボキシル基など HS 中の極性基の量を示す指標として知られている (Tanaka *et al.*, 2005)。ゆえにこれらの結果は、極性基含量が少ない HS ほど、PCP の酸化促進に効果的であることを示しており、HS と Fe(III)-Por または Fe(III)-Pc 触媒との疎水的な相互作用が反応促進に関わることを示唆した。

2) 反応生成物とそれらの毒性評価

PCP の酸化生成物について、これら HS が共存する場合としない場合に関して検討を行った (Fukushima *et al.*, 2003a; Rismayani *et al.*, 2004)。酸化生成物は、反応後の溶液をヘキサン抽出しそれをガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) へ導入することにより定性・定量した。また、CO₂ への無機化については、¹⁴C でラベル化した PCP を用いた実験により確かめた。図6に示したように HS が共存しない場合、*o*-テトラクロロキノン (*o*-TeCCQ)、ヒドロキシノナクロロジフェニルエーテル (H-NCDEs)、オクタクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシシン (OCDD) を生成した。しかし、HS が共存すると二量体である H-NCDEs と OCDD の生成は見られなかった。この結果は、HS がこれら有害な生成物の副生を抑制する効果

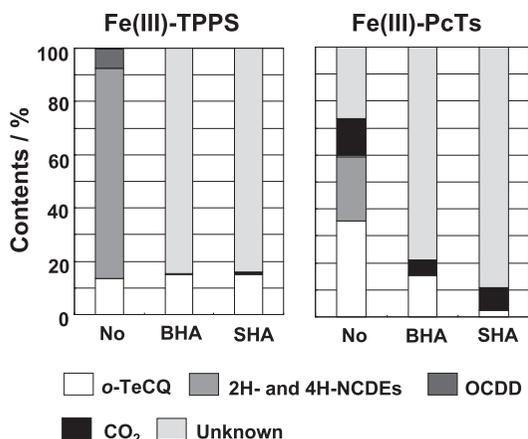


図 6 鉄(III)-ポルフィリンおよびフタロシアニン触媒系によるPCP酸化生成物に及ぼす腐植物質の影響。

Fig. 6 Influences of HS on the distribution of byproducts as a result of catalytic oxidations of PCP with Fe(III)-Por and Fe(III)-Pc.

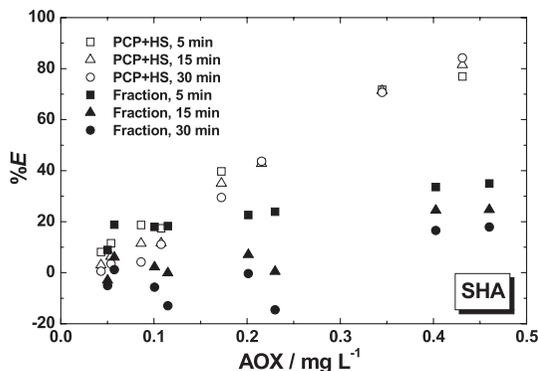


図 7 PCP と HS の混合液および PCP と反応後の HS 分画の毒性曲線。

Fig. 7 Comparisons of toxicity curves for a mixture without a catalytic reaction (PCP + HS) and HS fraction after a catalytic reaction with PCP.

があることを示している。また、Fe(III)-Pc系で10-20%程度のPCPがCO₂へ無機化されたが、Fe(III)-Porでは無機化が見られなかった。したがって、Fe(III)-Pcの方がFe(III)-Porに比べ優れた触媒であることがわかった。図6でHSを共存させた場合、“Unknown”の生成物の割合が大

きく増加した。この“Unknown”はHSにPCPの酸化中間体が何らかの形で取り込まれたものと推定し、反応液中のHSを分離し、熱分解GC/MSと¹³C-NMRスペクトルで解析を行った。反応液中のHS分画の熱分解GC/MSクロマトグラムにおいて、PCPに由来するCP残さを分画中に見出すことができた。また、¹³C-NMRの結果から、これらCP残さとHSはエーテル結合を介し共有結合していることを明らかにした。

一方、HAとPCPの酸化中間体が共有結合している高分子化合物の毒性に関する知見は全く得られていない。そこで、発光細菌(*Photobacterium phosphoreum*)を用いたMicrotox[®]毒性試験を行った。図7にPCPとHSの混合物およびPCPと反応後の高分子化合物に対する毒性曲線を示す。縦軸の%Eは、毒性物質の添加によるバクテリアからの発光強度の減少割合を示す値であり、この値が大きくなるほど毒性物質により発光が阻害されていることを意味している。また、横軸は試料溶液中のPCPあるいは生成物に関連する吸着性有機塩素濃度(AOX)を示している。特に%E = 50%となる毒性物質の濃度は、バクテリアの半致死毒物濃度に相当するものでありEC50と呼ばれている。図7の毒性曲線から、PCPのEC50は0.24 ± 0.03 AOX mg l⁻¹であり、腐植物質が共存しない場合の値(0.23 ± 0.02 AOX mg l⁻¹)と一致し、ただ単にHSが共存しただけではEC50に変化が見られないことを確認した。しかし、高分子化合物の曲線は約40%で頭打ちとなり、EC50は評価できなかった。以上の結果から、PCPは酸化反応過程でHSに共有結合することにより無害化されるとの結論を得ることができた。

3) 触媒反応の促進に寄与する腐植物質の機能解明

Fe(III)-Porなどバイオミメティック触媒は、KHSO₅のような過酸化剤共存下で自己分解する(Fukushima and Tatsumi, 2005)。これは触媒の失活に関係し、有機基質の酸化効率を大きく低下させる。そこで、自己分解速度に及ぼすHSの影響について検討を行った。本触媒系における

HS の効果は、HS と Fe(III)-Por の相互作用に関係すると考えられる。そこで、Fe(III)-Por の触媒活性向上に寄与する HS の構造部位の解明を目的として、HA をサイズ排除クロマトグラフィーで分画し触媒活性と各分画の構造的特徴と

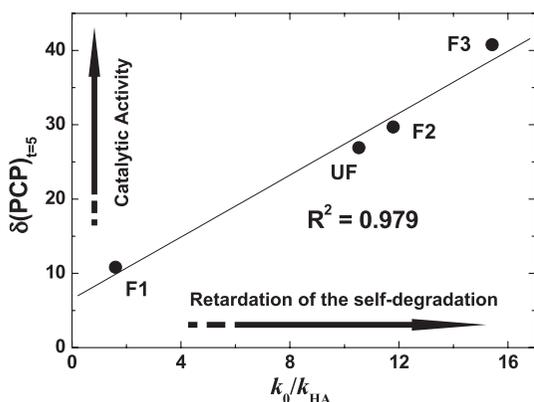


図 8 $\delta(PCP)_{t=5}$ と k_0/k_{HA} との関係.

Fig. 8 Relationship between $\delta(PCP)_{t=5}$ and k_0/k_{HA} .

の関連性について検討した (Fukushima *et al.*, 2007)。新篠津の HA 試料に対して分子量の大きい順番に F1, F2, F3 と 3 つの分画を得た (UF は未分画の HA を示す)。

図 8 は、HA が共存しない場合 (k_0) と共存した場合 (k_{HA}) の Fe(III)-TPPS の自己分解速度定数の比と、HA の共存による PCP 分解率の増加の度合いを意味する $\delta(PCP)_{t=5}$ との関係を示している。 $\delta(PCP)_{t=5}$ は、HA が入った場合の PCP 分解率 (反応時間 5 分) から入らない場合の分解率を差し引いて計算した。 k_0/k_{HA} 比の増加は触媒が自己分解され難くなることを意味し、 $\delta(PCP)_{t=5}$ の増加は HA 添加による触媒活性の向上を意味している。これらの関係は正の相関を示し、自己分解の抑制が触媒活性の向上に繋がることが実証できた。ゆえに、触媒活性の向上に最も有効な分画は F3 で、効果が最も低かったのは F1 であることがわかった。図 9 は各分画に対する固体 ^{13}C NMR スペクトルとそれらのピーク積

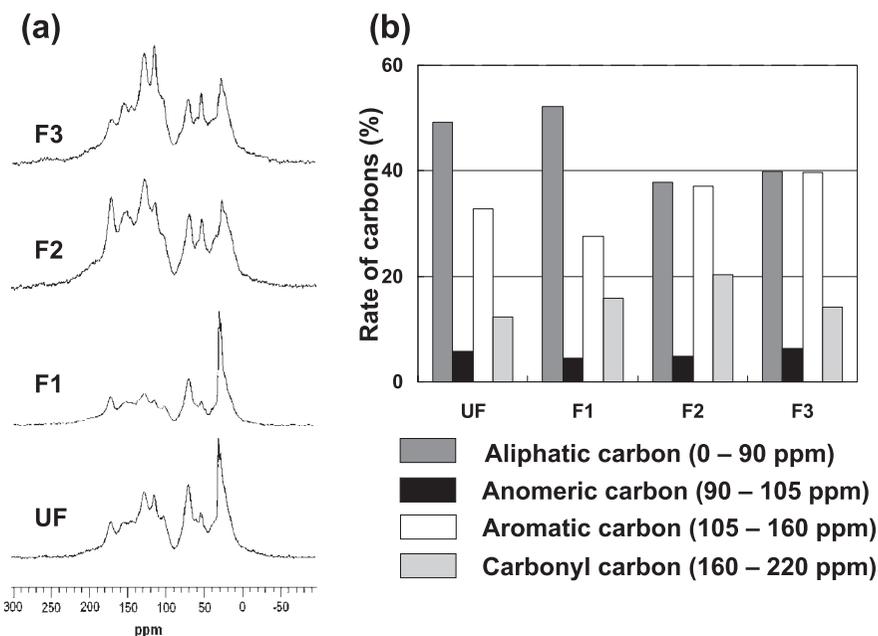


図 9 分画 HA の固体 CP-MS ^{13}C NMR スペクトル (a) および各炭素種の割合 (b)。

Fig. 9 Solid-state CP-MS ^{13}C NMR spectra of fractionated HAs (a) and rates of carbon species in HAs (b).

分値から、各炭素成分の割合を計算したものである。脂肪族炭素の割合は、効果の無かった F1 で最も高かった。したがって、触媒活性の向上に対して脂肪族成分の寄与は小さいと考えられる。次に、芳香族成分に着目した結果、F3 の芳香族含量が最も大きな値を示した。この結果から、触媒活性の向上には芳香族部分が関与すると予想できる。しかし、触媒活性の増加の度合いが F3 より小さかった F2 の芳香族含有量は、F3 の値とは大きく変わらなかった。そこで、カルボニル炭素含有量について着目した。これは、カルボキシル基含有量と対応する。図 9 からカルボニル炭素の含有量は F2 で最も大きな値を示していることがわかった。しかし、触媒活性に対して最も有効であった F3 のカルボニル炭素含有量は、F2 に比べかなり小さくなった。

Fe(III)-Por の自己分解の抑制にはそのメソフェニル基と HA の疎水部位との錯形成による巨大分子の生成が重要な役割を果たしている (Fukushima and Tatsumi, 2006a)。各 HA 分画における超分子の生成定数と k_{HA} との間には負の相関性が見られ、超分子生成能が大きくなるほど Fe(III)-Por の自己分解も抑制されることが確かめられた。F2 のようにカルボキシル基が多く含まれていると巨大な負の静電場が形成され、陰イオンであるスルホネートフェニル基は静電的反発により HA の疎水部位へ近づき難くなる。しかし、F3 のようにカルボキシル基が少なくなると、負の静電場が小さくなり静電的反発が弱まるため、スルホネートフェニル基が HA の疎水部位へ入り易くなったと考えた。以上から、触媒活性に有効な分画の構造的特色は、芳香族性が高くカルボキシル基含量が低い点にあると結論づけた。このような特色を有する土壌として、泥炭や堆肥など比較的腐植化度の低い土壌を挙げることができる。

IV. まとめ

本研究では、Fe(III)-Por や Fe(III)-Pc などバイオミメティック触媒や土壌にユビキタスに存在する腐植化度の低い泥炭 HS を用いることによ

り、土壌環境に二次的な負荷をかけずに穏和な条件で PCP など難分解性有機塩素化合物を無害化できることを明らかにした。バイオミメティック触媒の活性は、それらの自己分解により大きく影響され、それにより酸化効率が大きく低下する。しかし、HS はバイオミメティック触媒と疎水結合を介して超分子を生成する機能を有しており、それが触媒の自己分解抑制に繋がることを明らかにした。現在、この知見に基づき HS とバイオミメティック触媒の超分子の高性能化に関する検討を行い、穏和な条件における難分解性有機塩素化合物の高効率分解を目指して研究を進めている。

謝辞

これら一連の研究は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (14380283, 16310064, 18201013) の助成を受けて行ったものであり、ここに深い謝意を表します。

文 献

- Chin, Y.-P., Aiken, G.R. and O'Loughlin, E. (1994): Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 1853-1858.
- 福嶋正巳 (1998): 腐植物質の機能評価に対する新手法。ぶんせき, **9**, 655-661.
- Fukushima, M. and Tatsumi, K. (2005): Effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the degradation of pentachlorophenol by potassium monopersulfate catalyzed with iron(III)-porphyrin complex. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 9337-9342.
- Fukushima, M. and Tatsumi, K. (2006a): Complex formation of water-soluble iron(III)-porphyrin with humic acids and their effects on the catalytic oxidation of pentachlorophenol. *J. Mol. Catal. A*, **245**, 178-184.
- Fukushima, M. and Tatsumi, K. (2006b): Effects of humic substances on the oxidation of pentachlorophenol by peroxosulfate catalyzed by iron(III)-phthalocyanine-tetrasulfonic acid. *Bioresour. Technol.*, **97**, 1605-1611.
- Fukushima, M., Ichikawa, H., Kawasaki, M., Sawada, A., Morimoto, K. and Tatsumi, K. (2003a): Effects of humic substances on the pattern of oxidation products of pentachlorophenol induced by a biomimetic catalytic system using tetra (p-sulfophenyl) porphineiron(III) and $KHSO_5$. *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 386-394.
- Fukushima, M., Sawada, A., Kawasaki, M., Ichikawa, H., Morimoto, K., Tatsumi, K. and Aoyama, M.

- (2003b): Influence of humic substances on the removal of pentachlorophenol by a biomimetic catalytic system with a water-soluble iron(III)-porphyrin complex. *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 1031-1036.
- Fukushima, M., Tanabe, Y., Morimoto, K. and Tatsumi, K. (2007): Role of humic acid fraction with higher aromaticity in enhancing the activity of a biomimetic catalyst, tetra (p-sulfonatophenyl) porphineiron(III). *Biomacromolecules*, **8**, 386-391.
- Gagosian, R.B. and Stuermer, D.H. (1977): The cycling of biogenic compounds and their diagenetically transformed products in seawater. *Mar. Chem.*, **5**, 605-632.
- Hatcher, P.G., Faulon, J-L., Clifford, D.A. and Matthews, J.L. (1994): A three-dimensional structural model for humic acids from oxidized soil. in *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health* edited by Senesi, N. and Miano, T.M., Elsevier, Netherland, 133-138.
- Meunier, B. (1992): Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage. *Chem. Rev.*, **92**, 1411-1456.
- Rismayani, S., Fukushima, M., Sawada, A., Ichikawa, H. and Tatsumi, K. (2004): Effects of peat humic acids on the catalytic oxidation of pentachlorophenol using metalloporphyrins and metallophthalocyanines. *J. Mol. Catal. A*, **217**, 13-19.
- Stevenson, F.J. (1982): *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. Wiley-Interscience, 433p.
- Tan, K.H. (2003): *Humic Matter in Soil and the Environment. Principles and Controversies*. Marcel Dekker, 34-74.
- Tanaka, F., Fukushima, M., Kikuchi, A., Yabuta, H., Ichikawa, H. and Tatsumi, K. (2005): Influence of chemical characteristics of humic substances on the partition coefficient of a chlorinated dioxin. *Chemosphere*, **57**, 1319-1326.

(2007年7月9日受付, 2007年10月14日受理)