

フミン物質と環境

Humic Substances in the Environment

篠 塚 則 子*
Shinozuka NORIKO

生物の遺骸の残留物であるフミン物質は地球上広く分布しており、生物に対し影響を与え、環境中でさまざまな機能を果たしている。フミン物質の性質について簡単に説明し、地球の炭素サイクルに占める重要性、生物への直接的、間接的作用、光化学反応、飲料水中の有機塩化物の生成、金属との相互作用、合成有機化合物との相互作用、界面への吸着等について最近の研究成果を解説した。

1. はじめに

フミン物質とは、動植物が生命を失った後、その遺骸が脱水や分解等の物理的・化学的变化を受け、残った比較的安定な有機物のうち、タンパク質、アミノ酸、炭水化物等の明確な化合物として識別されない物質の総称である。この定義からもわかるように多種多様な有機化合物の混合物であり、後述するように地球上広範囲に分布している物質である。

フミン物質の研究は19世紀から主として土壌学者によって行われ発展してきた。環境科学、地球化学、生物学等の分野で興味を持たれ学際的な研究が盛んになって来たのはここ20数年來のことである。

著者等は主として海底堆積物中のフミン物質についてその物理化学的性質や環境汚染物質との相互作用などを調べてきた^{1~5)}。本稿では、その結果を含めて、フミン物質の簡単な紹介をした後、環境における重要性を中心にまとめてみた。ただ、フミン物質は起源や存在場所によって構造や性質が大きく異なる上、環境の条件も千差万別なので、環境における作用や反応についての研究も全体を把握するには程遠い現状であり、限られた視点からの解説になったことをお断りしておく。

2. フミン物質の分類と存在

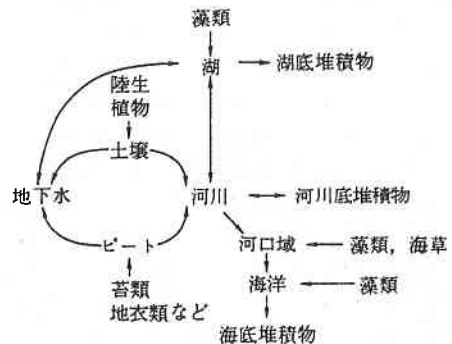
フミン物質の定義は前述したとおりで、複雑な有機化合物の混合物である。一般に黄色～褐色に着色しており、水に溶けて多分散性を示す。通常カルボキシル基、フェノール基があって酸性を示し、分子量は数百から数十万以上まで広い分布をもっている。

フミン物質は通常、その抽出の時の操作によって表のような3つの成分、すなわち、フミン酸、フルボ酸、フ

ミン(ヒューミン)に分けられる。pHに関係なく水に溶解するフルボ酸は、河川湖沼、海水、地下水など水系に存在するフミン物質の多くの部分を占め、河川に溶けている有機物質(Dissolved Organic Matter, DOMと略す)のうち40%位がフルボ酸と言われている⁶⁾。フミン酸はフルボ酸より色が濃く、分子量も大きい。水系には少ないが、土壌、堆積物、ピートなどに多く存在し、土壌の有機炭素成分のかかなりの部分を占める。フミンは水に溶けず、土壌、堆積物、ピートなどに多く含まれており、有機溶媒には溶ける場合がある⁷⁾。

表1 フミン物質の分類

物質名	水への溶解性
フルボ酸(Fulvic Acid)	PHに関係なく水に溶解する
フミン酸(Humic Acid)	酸性(pH<2)では水に溶けず 高pHでは溶解する
フミン(Humin)	pHに関係なく水には溶けない



(G. R. Aiken et al., "Humic Substances in Soil, Sediment, and Water", p. 6 John Wiley & Sons(1985)より)

図1 フミン物質の移動経路

*東京大学生産技術研究所 第4部

フミン物質は地表のあらゆるところに存在する。主要な存在場所と移動径路を図1に示したが、それぞれの環境でさまざまな働きをし、さらに他の物質（金属、鉱物、肥料、農薬、環境汚染物質など）と相互作用してそれ等の物質の環境における形態、移動、蓄積、生物への作用などに強く影響すると考えられている。

3. フミン物質の抽出と分離

フミン物質を土壌、堆積物、水から抽出する方法はいろいろあるが、最近では国際フミン物質学会 (International Humic Substances Society, IHSS と略す) によって定められた方法³⁾が一つの標準になっている。しかし、試料によっては IHSS の方法を一部変更して抽出する場合も少なくない。

基本的には、土壌、堆積物等の固体試料からフミン物質を抽出するには、これ等の試料を乾燥、粉碎してアルカリ水溶液を加えて抽出し、水中のフミン物質は適当な樹脂に吸着させて分離する。吸着用樹脂には Amberlite XAD-8 が用いられるが XAD-2 を用いる場合もある。

アルカリ水溶液に抽出されたフミン酸、フルボ酸は、抽出液を酸性 (pH < 2) にして沈澱したフミン酸を分離し、上澄液中に残ったフルボ酸は Amberlite XAD-8 樹脂に吸着させた後溶離し、凍結乾燥して黄褐色の固体として得る。固体試料からの抽出方法を図2に示した。

4. フミン物質のキャラクタリゼーション

1) 元素組成

主要な構成元素は、炭素、酸素、水素、窒素で、硫黄、りん等が含まれる場合もある。炭素と酸素が多く、炭素は全体の約50%、酸素は約30%を占める。土壌、水系、および海底堆積物中のフミン物質の元素組成を表2に示す。海底堆積物および海水中のフミン酸、フルボ酸は陸上のものにくらべて炭素量が少なく、窒素と水素の量が多いと言われており⁹⁾、これは起源である生物にも原因がある。

表2 フミン物質の元素組成

		C	H	O	N	S
土 壌	フミン酸	50~54	3.2~6.2	33~38	0.8~4.3	0.1~1.5
	フルボ酸	41~51	3.8~7.0	40~50	0.9~3.3	0.1~3.6
水 系	フミン酸	50~62	4.4~4.9	23~40	0.6~3.2	0.6~1.0
	フルボ酸	50~60	4.3~6.8	32~40	0.7~6.4	0.4~0.65
海 底 堆積物	フミン酸	50~58	5.6~7.3	32~40	3.6~5.6	—
	フルボ酸	41~48	6.1~6.6	42~48	3.4~4.5	—

(単位%)

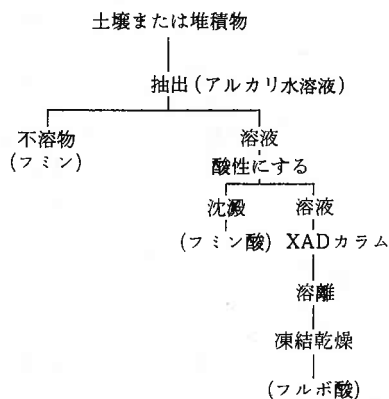


図2 固体試料からフミン物質の抽出

2) 官能基

フミン物質を構成する分子中には種々の官能基が含まれており、主要なものはカルボキシル基、水酸基、カルボニル基などである。土壌フミン酸、フルボ酸の平均的値は表3のとおりである¹⁰⁾。酸素を含まない官能基としてアミノ酸、メルカプト酸などが知られている。フミン酸、フルボ酸の水溶液が酸性を示すのは主としてカルボキシル基とフェノール性水酸基があるためで、この2つの基をまとめて全酸度として表すことが多い。

3) 分子量

フミン物質は混合物なので、平均分子量や分子量分布について多くの報告がある。限外濾過法、ゲルクロマトグラフィー、超遠心法、粘度測定、蒸気圧浸透圧法、X線小角散乱法、光散乱法などが用いられるが、標準物質を必要とする方法では適当な高分子マーカーが存在せず精度の高い値を得るのは困難である。報告された平均分子量の値にはかなりの幅があるが、おおむねその値は次のとおりである。

水素フルボ酸：500~2,000

水素フミン酸：2,000~5,000~10,000

表3 土壌フミン酸, フルボ酸の官能基

	フミン酸	フルボ酸
全酸度	6.7	10.3 (meq/g)
COOH	3.6	8.2
フェノール性 OH	3.9	3.0
アルコール性 OH	2.6	6.1
ケトン, キノン	2.9	2.7
OCH ₃	0.6	0.8

土壌フルボ酸：1,500~2,800

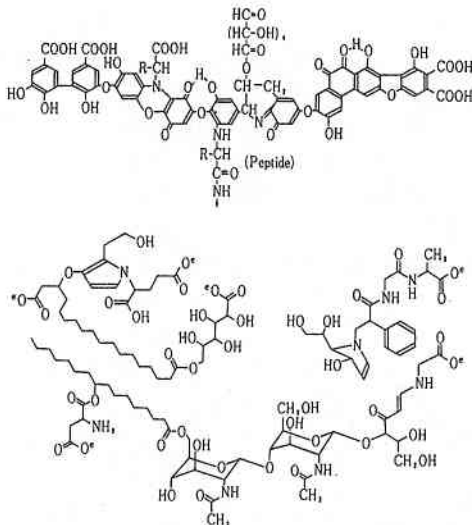
土壌フミン酸：3,000~4,000~9,000~数万

海底堆積物から抽出したフミン酸では数10万以上の分子量成分が30%程度, フルボ酸は5,000~10,000位に50%~60%が分布するという報告¹¹⁾もあり, 土壌や水系にくらべて分子量分布は広くまた高分子量成分が多い傾向にある。一般にフルボ酸の分子量は同一起源のフミン酸の分子量より小さい。

報告されている分子量測定値にはフミン物質が会合している状態の値も含まれていると考えられ, 比較的精度の高い分子量分布は低分子量の試料についてしか得られていない。

4) 推定される構造

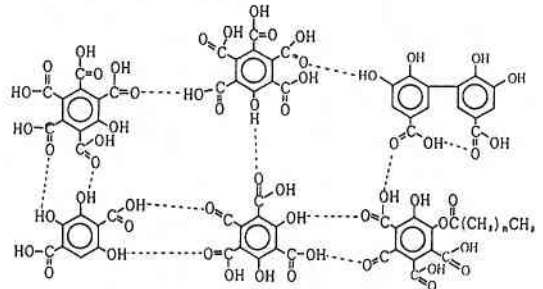
元素組成, 官能基分析, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 赤外分光分析, 熱分解ガスクロマトグラフィー等の結果を総合してフミン物質の構造が推定されている。主要なもの



(上) 土壌フミン酸 (F. J. Stevenson, "Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions", p. 433 Wiley-Interscience, (1982) より)

(下) 海洋フミン酸 (R. B. Gagosian et al., Marine Chem, 5, 605 (1977) より)

図3 フミン酸の構造 (仮説)



(M. Schnitzer "Soil Organic Matter" p. 47 Elsevier Scientific Publishing Co., (1978) より)

図4 土壌フルボ酸の構造の一部

を図3, 4に示した。いずれも推定される部分をつなぎ合わせた仮説的構造であるが, 土壌のフミン物質には芳香環が多く, 海洋フミン物質は脂肪族性が強い構造になっている。

5. フミン物質の生成と炭素, 窒素サイクル

フミン物質が植物の残骸の分解によって生ずることは一般的に認められているが, どのようにしてフミン化が起きるかについてはまだ合意がない。有力な説は主要な過程を分解に置く説であり, 他方の説は高分子がいったん小さな分子に分解してから重合するという説である。これ等の関係を図5に示す¹²⁾。分解説では, 元の生物の生体高分子が完全には分解されずに一部残ると考えられる。一方, 重合説では分解後にフルボ酸→フミン酸と重合してゆくとされている。

いずれの説にしても, フミン物質は地球上の炭素サイクル, 窒素サイクルに関与してその重要な部分を占めている。炭素サイクルを図6に示す¹³⁾。図中土壌の炭素含有量の半分は土壌有機物であり, そのかなりの部分がフミン物質であるが, 他の有機物にくらべて分解しにくい。土壌微生物の主要な炭素源は腐植層で, 50×10⁹tが毎年無機化される。

窒素サイクルの基本は, 有機的に結合している窒素の

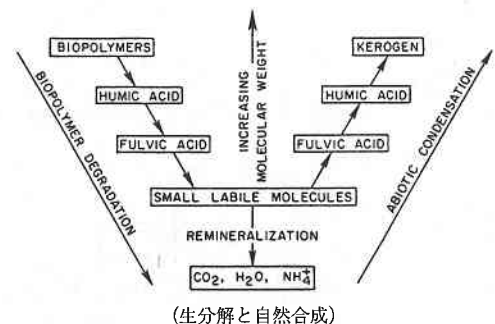


図5 フミン物質生成過程

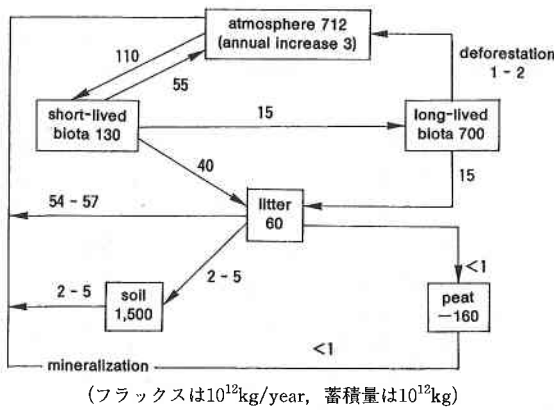
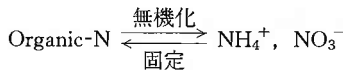


図6 炭素サイクル

無機化と無機態窒素の固定により有機態窒素への変換である。



窒素は栄養分として微生物、植物、動物の生長に強く影響するが、多くの土壌フミン物質中に含まれていて利用されている。

6. フミン物質の生物への影響

1) 植物、微生物、酵素への影響

フミン物質はいろいろな生物に直接影響を与える。特に植物の成長に与える影響については、以前から主として土壌学や農学の立場からの多くの研究があり、根や茎の成長促進、ホスファターゼ活性増加、サイトキニン類似活性等種々の効果が報告されている。フミン物質のような分子量の大きな物質が植物の根から入ることができるかどうか疑問であったが、実際に細胞膜を通して細胞内に入ることが確かめられており¹⁴⁾、したがって特に根の成長に強く影響することの根拠になっている。しかし、細胞内でどのような作用をするかについてはまだよくわかっていない事柄が多く、植物への作用も植物の種類や周囲の環境によってかなり異なることが知られている。

フミン物質の微生物（バクテリア、菌類、ウイルス）増殖作用についても多様な効果が報告されている。肥料液にフミン物質を一定量以上加えると土壌中の微生物の数が増えるという報告¹⁵⁾がある一方、反対の結果を得ている場合もあり、植物への影響と同様に対象となる微生物やフミン物質の種類によって作用は異なるようである。

植物や微生物に対するフミン物質の化学的作用は、多くの場合代謝に影響を及ぼす作用であるから、当然酵素への作用が考えられる。フミン物質は種々の酵素を阻害

したり、活性を増加させたりする。酵素と化学結合したり吸着することにより直接反応し、その結果酵素の活性中心や活性部位を変化させる。また、多種類の化合物の混合物であるフミン物質中には酵素と反応する基質と類似する化合物が含まれている場合もあり、反応して酵素反応を阻害することもある。フミン物質のカチオン交換性により、補酵素として働く2価カチオンを固定したり、タンパク質分子の構造を変えたりすることも考えられる。

2) 間接的な生物への作用

生物に対するフミン物質の間接的な作用は、環境におけるフミン物質の作用と重複することが多い。ここではそのいくつかについて簡単に触れることにする。

金属イオンとフミン物質とが結合することによってさまざまな影響が生ずる。Fe, Cu, Zn, Mnなどは植物や微生物の必須元素であるから、これらの金属がフミン物質と結合することにより植物等の成長に大きな影響を及ぼすことになる。

近年、おびただしい種類の農薬や廃棄物が環境中に持ち込まれている。これらの物質に対し、土壌が多くの場合フィルター的作用を果しており、特に土壌中のフミン物質が重要である。合成有機化合物との相互作用には van der Waals 力によるものから共有結合まで種々の機構があり、相互作用により化合物が変化し、生物へも多様な影響が及ぼされる。化合物がフミン物質との結合によりその毒性が軽減される例や、生分解性の低い農薬がフミン物質と結合してより分解されやすくなる例がある一方、水に溶けにくい農薬がフミン物質に吸着して広範囲に分散する場合もあり、いずれも間接的に生物に影響を及ぼすことになる。

7. 環境における作用

1) 元素、化合物の生物摂取性への影響

フミン物質の分解は遅いので、土壌中の生物の主要な直接的栄養源（C, N, P, S など）にはなり難い。しかし水中では光化学作用によりフミン物質の変化速度は大きくなり、かなり重要な栄養源となり得る。

フミン物質が細胞膜を透過することはすでに述べたが、種々の有機化合物がフミン物質と結合することにより細胞内に入ることは充分考えられる。フミン物質の水溶性成分は栄養源の輸送に重要な役割を果し、微量元素と結合して生物摂取性を高める。逆に不溶性フミン物質との結合は生物摂取を阻害する。結合する物質が毒性のある物質であれば、微量元素の場合と同様に、フミン物質との相互作用は毒物の生物摂取を増加させるケースと減少させるケースがある。

金属の生物摂取性に影響する因子としては、金属の酸化状態、溶解性、濃度、金属とプロトンとの競争反応、

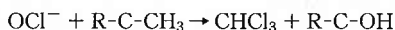
他の配位子との錯形成などがある。フミン物質は周囲の環境により酸化剤になったり、還元剤になったりするで、結合した物質の化学的性質を変えることもある。

2) 光化学反応への影響およびフミン物質への光の作用

最近、フミン物質が光を吸収して光化学反応を起こすことがわかってきた¹⁶⁾。フミン物質は光を吸収して分解され、退色し、CO、CO₂、アセトン、アセトアルデヒドのような小さな分子が生成する。照射による一重項酸素の生成、フミン物質の励起状態生成が光化学反応においては特に重要で、その他スーパーオキシド、オルガノペルオキシラジカル、ヒドロキシラジカル等も関与している。不溶性のマンガンを鉄酸化物とフミン物質とが光化学反応を受けることにより、これ等の金属は還元されて溶解し、金属の生物摂取性が増加する。

3) 塩素化有機物の生成

飲料水用に処理された水中のフミン物質は水処理過程で変化し、使用・放出される。近年、飲料水、下水処理水、産業用冷却水中の有機物質と塩素との反応が注目を集めており、飲料水中には数百種の塩素化された有機化合物が認められている。塩化物が最初に関心を引いたのは1970年代前半に飲料水中にクロロホルムが発見された時である¹⁷⁾。その後他の有機塩化物も存在することがわかり、トリハロメタン (THMS, CHCl₃, CHCl₂Br など) は世界中の塩素消毒される飲料水中に10~30 μ g/l程度の濃度で検出された¹⁸⁾。トリハロメタンは単純化すると次の反応によって生成する。R-C-CH₃はフミン物質を表す。



有機塩化物の変異原性について調べた結果、変異原性物質は塩素と処理水中の有機物、水系フミン物質、フミン酸、フルボ酸、アミノ酸などとの反応によって生成することが明らかになった。1986年高い変異原性をもつ3-chloro-4 (dichloro methyl) -5-hydroxy-2 (5H) -furanon (MX) (図7) が飲料水中とフミン物質の塩素化物から検出された¹⁹⁾が、この化合物だけで飲料水中の変異原性物質のかなりの部分を占めると考えられる。

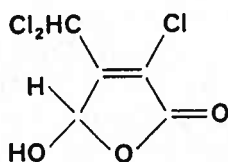


図7 3-chloro-4 (dichloromethyl) -5-hydroxy-2 (5H) -furanon (MX)

塩素消毒による変異原性化合物の生成を避けるため、有機物除去や塩素を用いない消毒などが検討されている。

4) 金属との相互作用

金属とフミン物質との相互作用については数多くの研究がなされているにも拘らず、現在でも複雑な環境における両者の作用については未解明なことが多い。図8に示したように²⁰⁾、土壌中のフミン質の含量と微量金属の濃度とは直接的な関係があり、この関係は他のフミン物質についても成立すると思われる。すなわちフミン物質には金属を貯える作用が認められる。しかし、どのような結合をしているのか、結合した金属は可溶性か不溶性か、イオンかコロイド状態か等について決定するのは容易ではない。

金属と配位子 (フミン物質) との錯体形成は、一般的に次の式で表される。



ここでMは金属イオン、Aは配位子、a、bは係数である。生成定数Kはそれぞれの活量 (濃度) により次式で与えられる。

$$K = [\text{MaAb}] / [\text{M}]^a [\text{A}]^b$$

金属イオンの活量の測定は比較的容易にできるが、配位子であるフミン物質の活量の測定は容易でなく、しかも配位子としては多種類の物質が関与するので、定数は“条件不安定定数”と呼ばれる特定条件における特定試料についての値を示すことになる。例として水系フミン物質と銅とのlog Kを表4に示す²¹⁾。一般的に水系フミン物質と金属との錯体の安定度は次のIrving-Williamsの順序に従う。



結合サイトとしては図9のような配位子内での結合と配位子間結合とが考えられている。

金属とフミン物質との結合に関する研究を環境系に当てはめるには、相互作用の数学モデルが必要である。モ

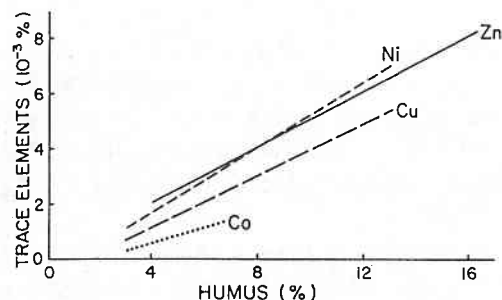


図8 フミン物質の量と金属の濃度との関係

表4 水系フミン物質の銅 (pH6~7) に対する結合定数

フミン物質	log K
地下水 フルボ酸	5.7
河川水 フルボ酸	6.0
フミン酸	5.5
湿地帯 フルボ酸	6.0
フミン酸	5.8

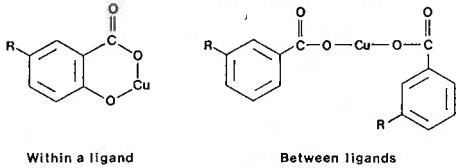


図9 フミン物質と金属イオンの結合

デルは通常、錯化度と適用範囲を変化させる平衡モデルを用いるが、適用できるのは限られた条件についてのみであり、イオン強度、pH、各種金属イオン濃度などの変化に対応できる精度の高いモデルが求められている。Marinsky²¹⁾によって1986年提唱された近似は有望視されており、彼等のモデルを用いると条件によらない平衡定数が計算できる。

5) 合成有機化合物との相互作用

合成有機化合物とは、本来自然の状態では存在しなかった人工の有機化合物のことで、人間の活動により環境中にもたらされた物質である。特に生物にとって有毒な物質とフミン物質との相互作用は、これ等の物質の生物摂取性、土壌、堆積物、水環境における移動、有機物質の変質等に影響を与えるので重要な課題である。

濃度の低い合成有機化合物が、水中の土壌など懸濁物中にある場合、有機化合物の水と土壌間の分配は近似的に次の分配平衡定数 K_p で表すことができる。

$$K_p = C_s / C_w \quad (l/kg)$$

ここで C_s は有機化合物の土壌中濃度 (mg/kg)、 C_w は水相の濃度 (mg/l) である。疎水性で非イオン性の有機化合物では、土壌中の有機炭素の含有量 f_{oc} が K_p に寄与し、 $K_p = K_{oc} f_{oc}$ が成立する。ここで K_{oc} は有機炭素含有量を基準にした分配係数である。 K_{oc} は一連の有機物質については K_{ow} (その有機化合物のオクタノール-水系への分配係数) に比例することは図10に見る通りである²²⁾。したがって図中にあるような一連の有機化合物については、土壌中有機炭素量 (大部分はフミン物質) と K_{ow} から K_p を予想することができる。しかし図10に示した直線上に乗らない有機化合物も非常に多く、 K_{ow} から分配係数を求める場合は注意が必要である。

分離したフミン物質と合成有機化合物との相互作用についての報告も数多い。例として DDT, PCB の土壌抽出フミン物質溶液への溶解度の増加を示す (図11)²³⁾。この場合フミン酸濃度に対し直線的に溶解度が増加しており、農薬などはフミン物質の疎水性部分への分配と説明されている。水への溶解度が非常に低い炭化水素類もフミン物質の水溶液には溶解する。この場合も農薬等と同様に、低濃度のフミン物質溶液中へも溶解するようになるので炭化水素の種類によっては環境への影響が予想される。炭素鎖の長い炭化水素イコサン ($C_{20}H_{42}$) のフミン酸溶液への溶解度変化を図12に示す⁵⁾。図からわかるように、フミン酸の低濃度域と高濃度域では溶解度に大きな差があり、高濃度溶液 (自然環境中ではこのような高濃度にはならない) ではイコサンの溶解度が飛躍

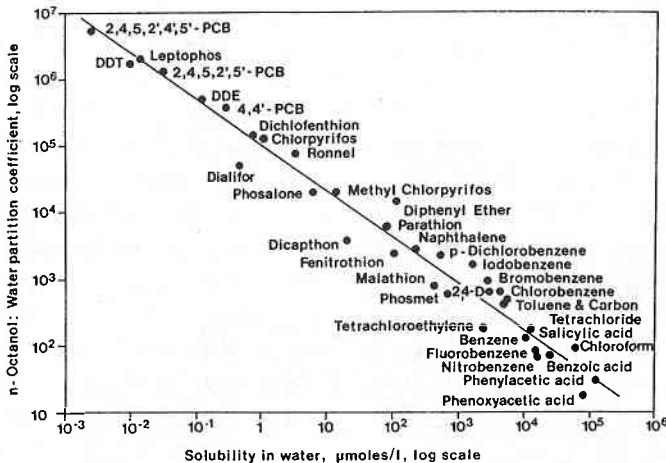


図10 水への溶解度と n-オクタノール-水系の分配係数の関係

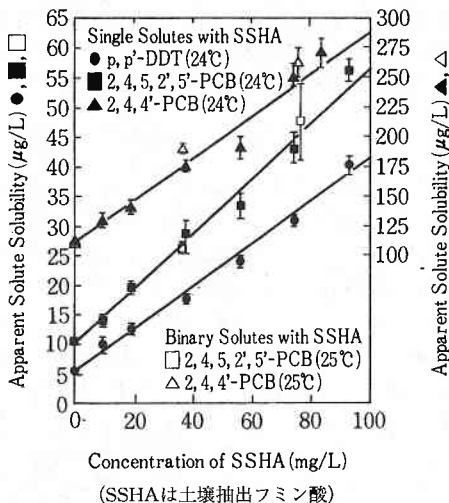


図11 フミン酸水溶液への DDT, PCB の溶解²³⁾

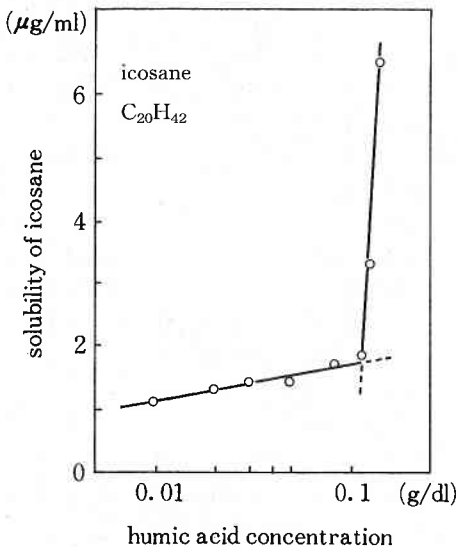


図12 フミン酸水溶液へのイコサンの溶解⁵⁾

的に上昇する。

種々の試料から分離されたフミン物質と有機化合物との相互作用の実態から、その作用機構には、クーロン力、水素結合、疎水性相互作用、電荷移動等が考えられ、またそれ等がいくつか同時に起こる場合もある。起源の異なるフミン物質についての実験結果が、かなり異なることも多く、環境への影響を見積る時には、用いたフミン物質の結果を当てはめる事が適切かどうか、よく検討しなければならない。また、相互作用の速度についての知見も非常に重要である。

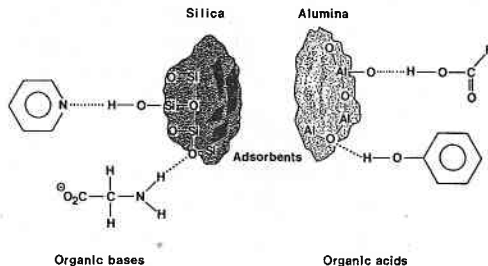


図13 鉱物表面とフミン物質との水素結合

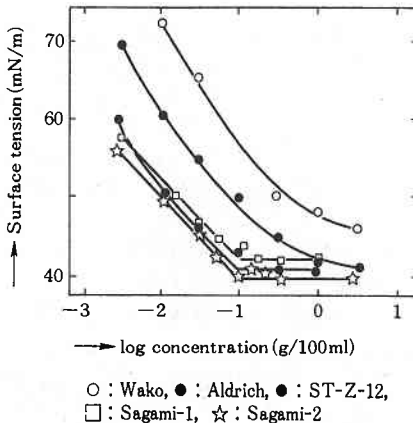


図14 表面張力とフミン酸濃度との関係¹⁾

6) 表面、界面への吸着

フミン物質がいろいろな物質の表面に吸着することはよく知られている。吸着は、化学吸着、静電的吸着、疎水的作用、van der Waals 力、水素結合、金属やプロトンの相互作用、フミン分子のコンホメーション等によって起こる。吸着エネルギーを見積ることにより、コロイドの生成、固体表面との錯形成、フミン物質の移動、フミン物質の生理作用の変化などによって生ずる環境への影響を予想することができる。フミン物質が表面に吸着する場合、特定の分子だけが選択的に吸着することにより、結果的に溶液中に残ったフミン物質の性質が変化することもある。フミン物質に覆われた表面はその性質を変え、たとえば粘土の表面のカチオン交換性や触媒性は減少する。図13に鉱物表面への吸着状態を示した。

フミン分子はその構造中に疎水性部分と親水性部分を有することから界面活性な性質を示すことが知られており、水に溶けて水の表面張力を減少させる¹⁾ (図14)。つまり、界面に吸着しやすく、水の表面では相対的に高い濃度を示す。河川においても界面活性剤類似の泡立つ物質が確認されており、海洋表層においても有機物の多い層の存在が指摘されている²⁴⁾。これらの界面活性物質は海洋では流出油のような疎水性物質と相互作用して

環境に種々の影響を及ぼすと推定されるが、海洋環境中でのフミン物質の作用についての研究は、濃度が低いことも一因となってほとんど行われていない。

8. お わ り に

フミン物質と環境における役割についてまとめてみた。フミン物質は地球上広範囲に分布し、多くの現象にかかわっているため、環境中の反応や機能のすべてを網羅するのは到底不可能で、その一部にふれたに過ぎない。未解明な事柄が非常に多く、限定された研究結果の紹介に終わった部分が目立つ。それでも分離されたフミン物質に関する研究は少しずつ蓄積されており、複雑な物質を分離して調べると同時に総合的に扱う方法も導入されてきた。今後は実際に環境にある試料についての研究を積み重ねる必要性が痛感される。(1993年5月7日受理)

参 考 文 献

- 1) S. Hayano, N. Shinozuka, M. Hyakutake, 油化学, **31**, 357 (1982)
- 2) 早野, 篠塚, 池ノ上, 油化学, **31**, 527 (1982)
- 3) N. Shinozuka, O. Shinji, S. Hayano, 油化学, **33**, 88 (1984)
- 4) N. Shinozuka, C. Lee, S. Hayano, Sci, Total Environ., **62**, 311 (1987)
- 5) N. Shinozuka, C. Lee, Marine Chem., **33**, 229 (1991)
- 6) E. M. Thurman, "Organic Geochemistry of Natural Waters", p. 281, Martinus Nijhoff / Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht (1985)
- 7) J. A. Rice, P. MacCarthy, "Aquatic Humic Substances", p. 41 American Chem. Soc., Washington DC. (1989)
- 8) IHSS, "Outline of Extraction Procedures" (1982)
- 9) M. A. Rashid, "Geochemistry of Marine Humic Compounds" p. 105 Springer-Verlag (1985)
- 10) M. Schnitzer, "Soil Organic Matter" p. 10, Elsevier Scientific Publishing Co. (1978)
- 11) 9). p. 99
- 12) J. I. Hedges in "Humic Substances and Their Role in the Environment" p. 47, A Wiley-Interscience Publication (1988)
- 13) F. J. Stevenson, "Cycles of Soil" Wiley-Interscience (1986)
- 14) W. Ziechmann, "Huminstoffe", Verlag Chemie (1980)
- 15) S. A. Visser., Soil Biol Biochem. **17**, 457 (1985)
- 16) A. M. Braun et al., Int. J. Env. Analyt. Chem., **27**, 137 (1986)
- 17) J. J. Rook, Water Treat. Exam. **23**, 234 (1974)
- 18) A. R. Trussell et al., "Water Chrolination Environmented Impact and Health Effects, 3" p. 39-54, Ann Arbor (1980)
- 19) J. Hemming et al., Chemosphere, **15**, 549 (1986)
- 20) 6) p. 415
- 21) J. A. Marinsky, et al., Env. Sci. Tech. **20**, 349 (1986)
- 22) C. T. Chiou, et al., Env. Sci. Tech. **11**, 475 (1977)
- 23) D. E. Kile, C. T. Chiou, "Aquatic Humic Substances", Chap. 10, p. 131, American Chem. Soc. Washington, DC. (1989)
- 24) K. A. Hunter, P. S. Liss, in "Marine Organic Chemistry" p. 259 Elsevier Schentific Pabishing (1981)