

食品残さの堆肥化過程における腐植様物質の特徴と窒素安定同位体比の変化

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者名	梅本,英之 伊東,紀豊之 米林,甲陽
発行元	日本土壌肥料学会
巻/号	83巻2号
掲載ページ	p. 160-164
発行年月	2012年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



食品残さの堆肥化過程における腐植様物質の特徴と窒素安定同位体比の変化*

梅本英之^{1,2}・伊東紀豊之^{3,4}・米林甲陽³

キーワード 腐植様物質, 励起蛍光マッピング, リン酸緩衝液, 食品残さ堆肥, 窒素安定同位体比

1. はじめに

堆肥等有機物の連用により, 土壌有機物量が増加し, 腐植酸の腐植化度が低くなることが知られており(進藤・島田, 2001; 六本木ら, 1994), 有機物施用が土壌に及ぼす影響の一つと考えられる。また, 堆肥化の進行とともに, 堆肥中に腐植様物質が生成されることから, 堆肥の腐熟過程と腐植様物質の量や質との関連が検討されてきた(Genevini *et al.*, 2002; 李ら, 2009; 渡辺ら, 1981)。堆肥の中性リン酸緩衝液抽出物(PB抽出物)は堆肥由来窒素無機化量の簡易測定指標としての可能性が指摘されていることから(松元, 2000), 堆肥の窒素無機化パターンとの関係が解析され(瀧ら, 2009), その際PB抽出物中にも腐植様物質が含まれていることが示唆された。これらの研究はいずれも家畜ふん堆肥を対象にしたものであり, 食品残さ堆肥中の腐植様物質については未検討である。

近年, 有機農産物の判定等を目的として堆肥, 有機質肥料, およびこれらを施用し栽培された農産物の窒素自然安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$ 値)が測定されてきた(中野・上原, 2004; 中野・上原, 2006; 佐藤・三浦, 2007)。家畜ふん

堆肥(Kim *et al.*, 2008)やトウモロコシサイレージの堆肥化物(Lynch *et al.*, 2006)の $\delta^{15}\text{N}$ 値は堆肥化の過程で上昇することが知られている。このことは, 堆肥化過程における易分解性有機物の分解を反映していると考えられる。しかしながら, 食品残さについては, 堆肥や肥料としての利活用事例が増加しているにもかかわらず, $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定事例がほとんどなく, 堆肥化過程における $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化については全く調べられていない。また, 食品残さは極めて易分解性の有機物であり, 堆肥化物の特性は家畜ふん堆肥とは異なると推察される。そこで, 本研究では食品残さ堆肥の特性を理解するための一助として, 上記の点について基礎的知見を得ることを目的に, 食品残さの堆肥化期間中における腐植様物質の量と分光学的性質の変化および堆肥化物の $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化を調べ, 堆肥化過程との関係を解析した。

2. 材料および方法

1) 堆肥の製造および試料の調製

車両型生ゴミ処理装置(大同工業(株))に学校給食残さ(加賀市内の公立学校由来, 野菜くず, 米飯, パン主体), 魚加工残さ(南加賀公設卸売市場由来), おから, 粕殻を現物でそれぞれ200 kg, 200 kg, 200 kg, 300 kgの割合で投入し, 尿素無添加区と尿素8 kg Mg⁻¹添加区(以下, 8kg添加区と表記)を用意した。その後, 網かご状の堆肥化容器(直径95 cm, 高さ100 cm, 容量0.7 m³, 供試堆肥300 kgに相当)に充てんし, 防水布で被覆して, 2005年5月上旬~8月中旬まで堆肥化を行った。その間, 加水, 加温, 切返しは行わなかった。なお, 尿素添加前の原料混合物の $\delta^{15}\text{N}$ 値は8.38 ± 1.05 ‰, 添加した尿素的 $\delta^{15}\text{N}$ 値は-1.28 ‰であった。

堆肥化期間中, 経時的に容器内の中層5か所から合計約2 Lの堆肥を採取し, よく混合した後, 半量を未乾燥で分析に供し, 残りを50℃の通風乾燥機で乾燥後, 微粉砕した。

2) 一般分析項目

未乾燥試料の水分含量は常法(通風乾燥機で105℃, 24時間乾燥)により測定した。全炭素(T-C)および全窒素(T-N)含量は乾燥試料を用いて, 全窒素全炭素測定装置(NC-90A, 住化分析センターまたはJM1000CN, ジェイ・サイエンス)で測定した。pHおよびECは未乾燥試料に対し乾物重量比で10倍量相当の水を加えて測定した。アンモニア態窒素(NH₄-N)および硝酸態窒素(NO₃-N)は, 常法(郡司掛, 2000a; 郡司掛, 2000b)により未乾燥試料を用いて2 mol L⁻¹塩化カリウムで抽出し, オートアナライザー(AACS II, ブラン・ルーベ)で測定した。

3) 腐植様物質の抽出と分光学的性質の測定

Yonebayashi and Hattori (1988)に準じ, 乾燥試料に100倍容(v/w)の0.1 mol L⁻¹ピロリン酸ナトリウムと0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウムの1:1混液を加え, 時々振とうしながら60℃で16時間抽出後, 遠心分離して上清を得た。抽出液25 mLに4 mol L⁻¹硫酸を加えてpH 1.5に調整し, 16時間静置後遠心分離した。得られた沈殿物

Hideyuki UMEMOTO, Nobuyuki ITO and Koyo YONEBAYASHI: Variations in characteristics of humic-like substances and $\delta^{15}\text{N}$ in food waste during composting process

*本研究の一部は, 「平成17年度バイオマスの環づくり交付金」により行われた。

*本研究の一部は, 2011年度土壌肥料学会中部支部会例会(石川県金沢市)にて発表した。

¹ 石川県農業総合研究センター(920-3198 金沢市才田町戊295-1)

² 石川県立大学大学院生物資源環境学研究科(921-8836 野々市市末松1丁目308番地)

³ 石川県立大学生物資源環境学部(921-8836 野々市市末松1丁目308番地)

⁴ 現在, (株)大和環境分析センター(923-1523 能美郡川北町三反田273)

Corresponding Author: 米林甲陽

2011年9月1日受付・2012年1月16日受理

日本土壌肥料学雑誌 第83巻 第2号 p.160~164 (2012)

に 25 mL の 0.1 mol L⁻¹ 水酸化ナトリウムを加えて再溶解し、沈殿部溶液とした。

抽出液および沈殿部溶液は適宜希釈した後、全有機体炭素計 (TOC-V, 島津製作所) の NPOC (不揮発性有機炭素) モードで有機炭素を測定し、便宜上、それぞれをアルカリ抽出性炭素 (AL-C)、腐植酸様炭素 (HA-C) とした。さらに、AL-C に対する HA-C の百分率を求め、沈殿部割合 (PQ) とした。

沈殿部溶液について波長 600 nm および 400 nm の吸光度を測定し、 A_{600}/C (有機炭素 1 mg mL⁻¹ 当たりの 600 nm の吸光度)、 $\log (A_{400}/A_{600})$ を求めた (Ikeya and Watanabe, 2003)。

PB 抽出物は、乾燥試料に 100 倍容 (v/w) の 0.1 mol L⁻¹ リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加え室温で 1 時間振とう抽出後遠心分離し、上清をろ紙 (ADVANTEC No.6) およびディスポーザブルメンブレンフィルターユニット (ADVANTEC, 孔径 0.2 μm , 親水性 PTFE) でろ過した。これを超純水で適宜希釈し、励起蛍光マッピング (EEM) の測定に供した。EEM の測定には蛍光分光光度計 (RF-5100 PC, 島津製作所) を用い、測定条件は長尾 (2008) に準じ、励起波長 250~500 nm, 蛍光波長 250~550 nm の範囲を走査した。測定値は 0.05 mol L⁻¹ 硫酸に溶解した 10 μg L⁻¹ 硫酸キニーネ溶液の励起波長 350 nm, 蛍光波長 455 nm における蛍光強度を 10 単位とする相対蛍光強度 (QSU) に換算した。これに希釈倍率および抽出倍率を乗じ、堆肥 1 g 当たりの相対蛍光強度指数 (QSU g⁻¹) として表示した。さらに、この試料液について有機炭素濃度を測定し、リン酸緩衝液抽出性炭素 (PB-C) とした。

国際腐植物質学会法 (渡辺, 2008) を参考に、堆肥化終了時 (77 日目) の PB 抽出物よりフルボ酸 (DAX-8 樹脂吸着画分) を分離した。まず 25 mL の PB 抽出物に 4 mol L⁻¹ 硫酸を加えて pH 1.5 に調整し、16 時間静置後遠心分離した。次いで、得られた上清を DAX-8 樹脂 (Supelco, 米国) を充てんしたカラムに流し、超純水で洗浄した後 20 mL の 0.1 mol L⁻¹ 水酸化ナトリウムで溶出した。溶出液は超純水で 25 mL に定容した。これを適宜希釈し、過塩素酸で pH 8 に調整後、EEM および有機炭素濃度を測定した。

4) $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定

乾燥試料の $\delta^{15}\text{N}$ 値は元素分析装置 (EA3000, EuroVector) を接続した安定同位体比質量分析装置 (Iso Prime EA, GV Instruments) を用い、L-グルタミン酸 (USGS40, $\delta^{15}\text{N}$ 値 -4.5 ‰, IAEA 標準物質) を二次標準物質として測定した。

5) 0.2 mol L⁻¹ 硫酸抽出性炭素 (EOC) の測定

堆肥の腐熟度指標として、畑中 (2005) に準じ 0.2 mol L⁻¹ 硫酸抽出性炭素 (EOC) を測定した。乾燥試料 5~10 g に 0.2 mol L⁻¹ 硫酸 100 mL を加え、室温で 1 時間振とう抽出後、乾燥ろ紙 (ADVANTEC No. 6) でろ過し、得られたろ液についてチューリン法 (本田, 1970) で有機炭素濃度を測定した。

3. 結果および考察

1) 堆肥の外観品質および一般分析値の概要

食品残さ混合物は黄褐色を呈し、色調は堆肥化開始時で 2.5 Y7/6, 終了時 (77 日目) で 2.5 Y5/4 であり、同時に観察した牛ふん堆肥が黒褐色 (10 YR2/2~10 YR2/1) を呈した (神奈川県, 1997) のとは対照的であった。また、色調は堆肥化日数が経過するにつれ暗色化する傾向を示したが、外観品質による腐熟程度の判定は困難であった。

供試堆肥の成分分析結果の概要を表 1 に示した。8 kg 添加区では堆肥化期間中 EC, T-N, NH₄-N が無添加区よりも高く推移し (データ未表示)、この傾向は堆肥化終了時 (77 日目) においても同様であった。

2) 腐植様物質の変化

AL-C, HA-C, PQ の推移をみると (図 1), AL-C は堆肥化の初期に減少した。これは、易分解性有機物の分解によるものと推察した。また、28 日目以降、堆肥化期間を通じて 8 kg 添加区の AL-C が無添加区よりも多かったのは窒素の有機化によると推察した。

HA-C も堆肥化初期に減少し、28 日目以降、堆肥化期間を通じて 8 kg 添加区で無添加区よりも多く推移した。HA-C が堆肥化初期に減少したのは、分画時に腐植酸と同様の挙動を示す易分解性有機物の減少によると推察した。

PQ は、堆肥化期間を通じて緩やかに上昇する傾向を示し、試験区間の差は判然としなかった。

沈殿部に、黒色度に基づく土壤腐植酸の分類 (Ikeya

表 1 堆肥の成分分析値

採取時期	試験区	水分 (g kg ⁻¹)	pH ^{*1}	EC ^{*1} (dS m ⁻¹)	T-C (g kg ⁻¹)	T-N (g kg ⁻¹)	C/N 比	NH ₄ -N ^{*2} (g kg ⁻¹)	NO ₃ -N ^{*2} (g kg ⁻¹)
堆肥化 開始時 (0d)	無添加区	567	4.6	2.3	424	22.4	18.9	0.79	0.01
	尿素 8 kg 添加区	570	5.1	2.2	422	30.6	13.7	0.49	0.04
	t 検定	ns	**	ns	ns	***	*	ns	**
堆肥化 終了時 (77d)	無添加区	343	7.4	3.3	376	18.0	20.9	3.12	0.03
	尿素 8 kg 添加区	350	7.3	3.9	385	25.3	15.4	5.23	0.10
	t 検定	ns	ns	*	*	*	*	**	ns

*1 未乾燥試料で測定、乾物:水=1:10 (w:v) で測定。

*2 未乾燥試料で測定、乾物当量換算値で表示。

分析値は、3 点の平均値。

採取時期別に t 検定の結果、ns は 5% 水準で試験区間に有意差なし、*, **, *** はそれぞれ 5%, 1%, 0.1% 水準で試験区間に有意差あり。

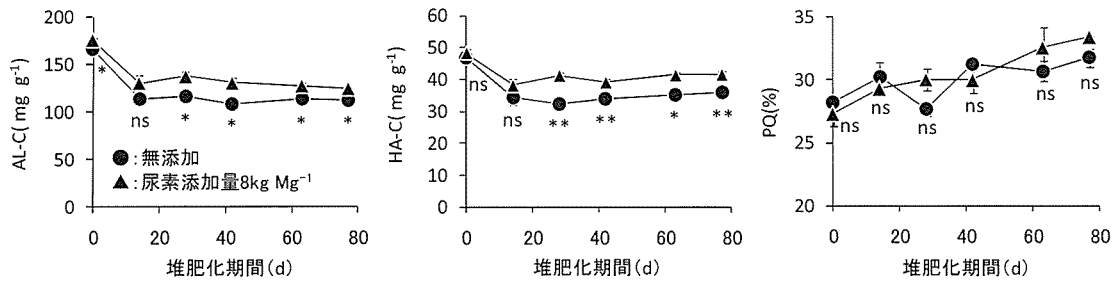


図1 堆肥化期間中におけるAL-C, HA-C, PQの推移
ns, *, **は表1に準ずる. エラーバーは標準誤差 (n = 3).

and Watanabe, 2003) を適用すると、いずれも Rp 型に分類されたが、これらの黒色度は極めて低かった (図2). 李ら (2009) は、牛ふんパーク堆肥より抽出された腐植酸が Rp 型に分類され、堆肥化の進行により PQ, RF が増大し、 $\Delta \log K$ が低下すると報告している. 本研究の結果はこれと類似していたが、黒色度は李ら (2009) の報告値よりもさらに低く、腐植物質としては極めて未熟であった. したがって、土壌腐植物質を対象とした分析法は食品残さの堆肥化過程で起こる有機物の特性の変化を解析するには適さないと考えられた.

3) PB 抽出物の蛍光強度の推移

PB 抽出物の蛍光強度は、堆肥化開始時点で全般的に微弱であったが、堆肥化の進行とともに励起波長 330 nm/ 蛍光波長 430 nm 付近に主ピークが出現した (図3). 両試験区とも得られた EEM の特徴は同様で、蛍光強度は堆肥化の進行とともに上昇し、試験区間の差は判然としなかった. また、PB 抽出物より分離されたフルボ酸の EEM は、PB 抽出物と同様の特徴を示した.

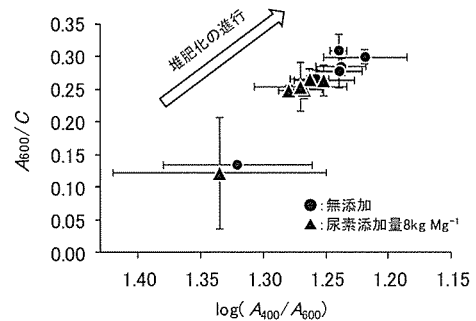


図2 堆肥化過程における腐植酸様物質の $\log(A_{400}/A_{600})$ および A_{600}/C の変化
エラーバーは標準誤差 (n = 3).

堆肥化過程における主ピークの蛍光強度の変化と T-C, EOC および PB-C の変化との関係を調べたところ (表2), 無添加区では T-C, EOC および PB-C のいずれの間にも負の相関が認められた. 8 kg 添加区では同様の相関は T-C との間でのみ有意であった. PB-C と EOC は両区とも高い正の相関を示した. 食品残さ堆肥の腐熟度指標

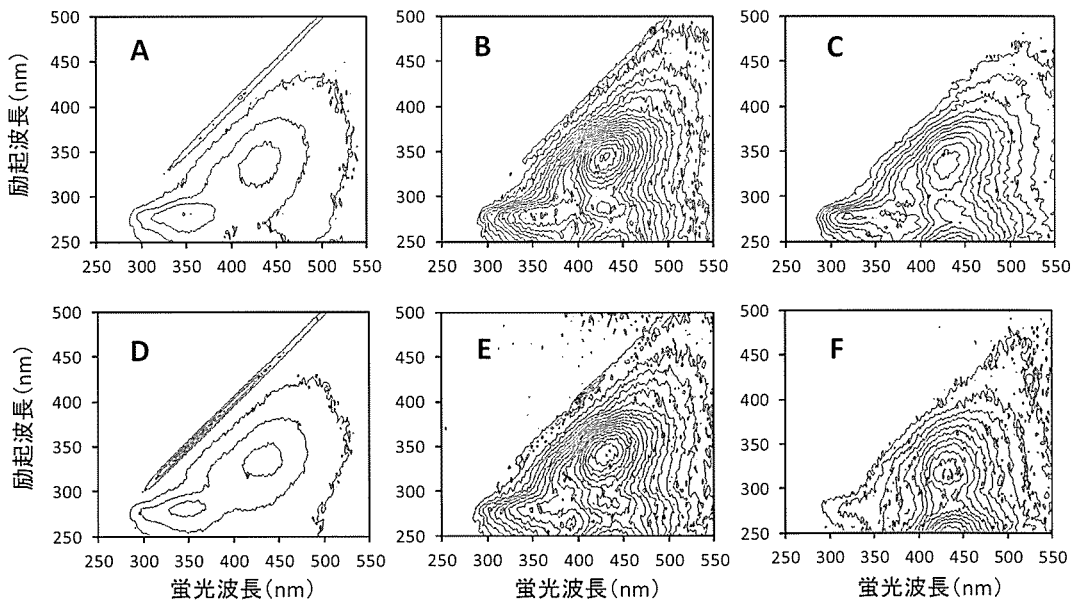


図3 堆肥化開始時 (0d), 終了時 (77d) における PB 抽出物 および PB 抽出物より分離されたフルボ酸の EEM
A: 無添加区 PB 抽出物, 0d. B: 同左 PB 抽出物, 77d. C: 同左 PB 抽出物由来フルボ酸, 77d.
D: 8 kg 添加区 PB 抽出物, 0d. E: 同左 PB 抽出物, 77d. F: 同左 PB 抽出物由来フルボ酸, 77d.
A, B, D, E は PB 抽出物の 10 倍希釈液で測定. フルボ酸濃度は C: 8.7 mg C L⁻¹, F: 13.9 mg C L⁻¹.

表2 T-C, EOC, PB-C および主ピーク蛍光強度の間における相関係数

変数名	無添加区			8 kg 添加区		
	T-C	EOC	PB-C	T-C	EOC	PB-C
EOC	0.91*			0.67		
PB-C	0.83*	0.96**		0.73	0.92**	
蛍光強度	-0.93**	-0.94**	-0.82*	-0.90*	-0.69	-0.70

n=6, *, **はそれぞれ5%, 1%水準で有意であることを示す。

である EOC は堆肥化の進行により減少することから、易分解性有機物を多く含むとされている (畑中, 2005)。PB-C にも易分解性有機炭素が含まれ、これが堆肥化の進行とともに減少したのかもしれない。これらの結果より、堆肥化の過程で有機物の分解が進むにつれ蛍光性物質が増加したと考えられた。

土壌や環境水由来のフルボ酸の蛍光ピークは励起波長 300~330 nm / 蛍光波長 430 nm 付近に存在すること (長尾ら, 1997; 長尾, 2008; 長沼ら, 2001)、PB 抽出物より分離されたフルボ酸の EEM は PB 抽出物と同様であったことから、PB 抽出物の蛍光ピークは土壌フルボ酸のそれと類似した構造に起因している可能性が示唆された。

4) $\delta^{15}\text{N}$ 値の推移

食品残さ堆肥の $\delta^{15}\text{N}$ 値は (図 4)、堆肥化開始後 14 日以内に大きく上昇し、その後はやや上昇する傾向を示した。有意差は認められなかった。また試験区間で比較すると、堆肥化全期間を通じて無添加区が 8 kg 添加区よりも高い値を示した。

これまでに土壌中における有機物の微生物分解では残存有機物中の $\delta^{15}\text{N}$ 値が高くなること (Natelhoff and Fry, 1988; Kramer *et al.*, 2003)、サイレージの堆肥化過程では窒素代謝を通じて同位体分別が起こること (Lynch *et al.*, 2006)、家畜ふん尿を原料とした堆肥化過程ではアンモニアの揮散等により $\delta^{15}\text{N}$ 値が高くなること (Kim *et al.*, 2008) が報告されており、食品残さの堆肥化過程においても、初期に易分解性有機物が分解される際に同位体分別が起こり、生成したアンモニアの揮散の影響も加わって $\delta^{15}\text{N}$ 値が上昇し、その後有機物の分解が見かけ上、止まることで $\delta^{15}\text{N}$ 値もほとんど変化しなくなったと考えられた。また、8 kg 添加区では添加した尿素の $\delta^{15}\text{N}$ 値が低

かったため、無添加区よりも常に低い $\delta^{15}\text{N}$ 値を示したと考えられた。

5) $\delta^{15}\text{N}$ 値と PB 抽出物の蛍光強度の関係

堆肥化過程における物質変化の指標として、 $\delta^{15}\text{N}$ 値と PB 抽出物の EEM における主ピークの蛍光強度の関係をみると (図 5)、両試験区ともに両者の間に高い正の相関が認められた。この理由として、 $\delta^{15}\text{N}$ 値の増大をもたらした有機物の分解は、主に蛍光を持たない物質について起こったためと考えられた。一方、腐植酸様物質は腐植化度が極めて低く、腐植化はほとんど進行していないと考えられた。

4. まとめ

食品残さの堆肥化過程における腐植様物質と $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化を調べ、次の知見を得た。

- 1) 食品残さ堆肥中の腐植酸様物質は、腐植物質としては極めて未熟であり、土壌腐植酸の腐植化度を評価する方法を用いて食品残さの堆肥化過程を解析するのは困難であると結論した。
- 2) PB 抽出物およびこれより分離されたフルボ酸の EEM では、励起波長 330 nm / 蛍光波長 430 nm 付近に主ピークが認められた。主ピークの蛍光強度は堆肥化の進行とともに上昇したことから、堆肥化の進行により蛍光性物質が増加したかあるいは蛍光を持たない物質の分解が進んだと考えられた。
- 3) 食品残さの $\delta^{15}\text{N}$ 値は堆肥化初期に上昇し、有機物の分解にともない同位体分別が起こったと考えられた。
- 4) 食品残さの $\delta^{15}\text{N}$ 値と PB 抽出物の蛍光ピーク強度はともに堆肥化過程における有機物の分解を反映しており、両者の間に高い正の相関が認められた。

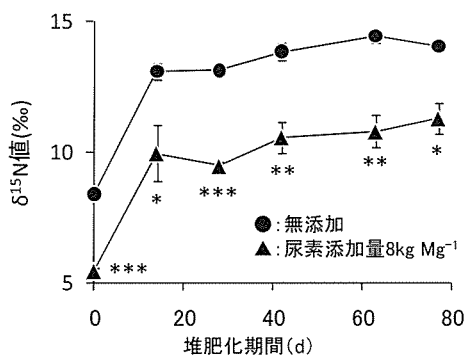


図4 堆肥化期間中における $\delta^{15}\text{N}$ 値の推移
*, **, ***は表1に準ずる。エラーバーは標準誤差 (n = 3)。

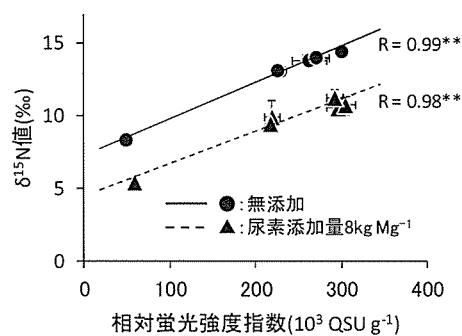


図5 蛍光強度と $\delta^{15}\text{N}$ 値の関係
**は表2に準ずる。エラーバーは標準誤差 (n = 3)。

文 献

- Genevini, P., Adani, F., Veeken, A. H. M., and Scaglia, B. 2002. Evolution of humic acid-like and core-humic acid-like during high-rate composting of pig faeces amended with wheat straw. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 48, 135-141.
- 郡司掛則昭 2000a. アンモニア態窒素. 堆肥等有機物分析法, p. 23-27. 日本土壤協会, 東京.
- 郡司掛則昭 2000b. 硝酸態窒素. 堆肥等有機物分析法, p. 27-35. 日本土壤協会, 東京.
- 畑中博英 2005. 希硫酸抽出性炭素量による生ごみ堆肥の腐熟度評価. 平成16年度関東東北陸農農業研究成果情報, 北陸生産環境部会, 11.
- 本田親史 1970. Tyurin 法. 土壤養分測定法委員会編 土壤養分分析法, p. 120-124. 養賢堂, 東京.
- Ikeya, K., and Watanabe, A., 2003. Direct expression of an index for the degree of humification of humic acids using organic carbon concentration. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 49, 47-53.
- 神奈川県 1997. 未利用資源堆肥化マニュアル - 堆肥化システム推進事業・研究開発事業まとめ -.
- Kim, Y. J., Choi, W. J., Lim, S. S., Kwak, J. H., Chang, S. X., Kim, H. Y., Yoon, K. S., and Ro, H. M. 2008. Changes in nitrogen isotopic compositions during composting of cattle feedlot manure: effects of bedding material type. *Bioresource Technology*, 99, 5452-5458.
- Kramer, M. G., Sollins, P., Sletten, R. S., and Swart, P. K. 2003. N isotope fractionation and measures of organic matter alternation during decomposition. *Ecology*, 84, 2021-2025.
- 李 香珍・谷 昌幸・相内大吾・小池正徳・倉持勝久 2009. 圃場還元利用されている実際の牛ふん尿堆肥に含まれる腐植酸およびフルボ酸の化学的特徴. 土肥誌, 80, 335-346.
- Lynch, D. H., Voroney, R. P., and Warman, P. R. 2006. Use of ^{13}C and ^{15}N natural abundance techniques to characterize carbon and nitrogen dynamics in composting and in compost-amended soils. *Soil Biol. Biochem.*, 38, 103-114.
- 松元 順 2000. 窒素無機化量の測定. 堆肥等有機物分析法, p. 45-49. 日本土壤協会, 東京.
- 中野明正・上原洋一 2004. 有機肥料で栽培した野菜と化学肥料で栽培した野菜とを判別する基準としての窒素安定同位体比の適用. 野菜茶業研究所研究報告, 3, 119-128.
- 中野明正・上原洋一 2006. 葉菜類の $\delta^{15}\text{N}$ 値に及ぼす肥料の影響. 野菜茶業研究所研究報告, 5, 15-23.
- 長尾誠也・鈴木康弘・中口 譲・妹尾宗明・平木敬三 1997. 三次元分光蛍光光度計による天然水腐植物質の蛍光特性の直接測定法. 分析化学, 46, 335-342.
- 長尾誠也 2008. 蛍光分析. 石渡良志・米林甲陽・宮島 徹 編著 環境中の腐植物質 その特徴と研究法, P. 153-157. 三共出版株式会社, 東京.
- 長沼 健・杉浦 孜・平木敬三 2001. 三次元蛍光スペクトルの水質指標としての検討. 愛知教育大学研究報告, 50 (自然科学編), 25-29.
- Natelhofer, K. J., and Fry, B. 1988. Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundances in forest soil organic matter. *Soil sci. soc. Am. J.* 52, 1633-1640.
- 六本木和夫・石上 忠・武田正人 1994. 稲わら堆肥の連用が沖積畑土壌の腐植形態に与える影響. 土肥誌, 65, 426-431.
- 進藤晴夫・島田みさと 2001. 二毛作田土壌の腐植組成に及ぼす堆肥連用効果. 土肥誌, 72, 92-95.
- 佐藤紀男・三浦吉則 2007. 各種有機質肥料の $\delta^{15}\text{N}$ 値とコマツナ, キュウリの $\delta^{15}\text{N}$ 値の特徴. 平成18年度東北農業研究成果情報, <http://www.tnaes.affrc.go.jp/seika/jyouhou/H18/yasai/h18yasai31.html>
- 瀧 典明・熊谷千冬・斎藤公夫 2009. リン酸緩衝液抽出による水田での各種堆肥の窒素分解パターン予測とその検証. 土肥誌, 80, 575-582.
- 渡辺 彰 2008. 土壌腐植物質の分離・精製. 石渡良志・米林甲陽・宮島 徹 編著 環境中の腐植物質 その特徴と研究法, p. 74-81. 三共出版株式会社, 東京.
- 渡辺 実・板川秀雄・矢崎仁也 1981. おがくず牛ふん堆積物の腐熟過程: 家畜ふん堆肥の有効利用に関する研究 (第1報). 土肥誌, 52, 339-346.
- Yonebayashi, K., and Hattori, T. 1988. Chemical and biological studies on environmental humic acids. I. Composition of elemental and functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 34, 571-584.