

第2章 土壤腐植酸の元素組成

本章ではまず腐植酸の基本的性質として元素組成について研究した。供試腐植酸の大部分は熊田らが先に分離調製したもので、これらの試料の元素分析値は既に報告されたものである(10, 11)。これに新たに調製した腐植酸を加え、合計39点の腐植酸について、各元素含量、各元素間の原子数比と腐植化度の関係を統計的に検討した。

試料および方法

1) 供試腐植酸

表1に示す39点の腐植酸を用いた。このうちの34点は熊田・川村(10)、熊田・白谷(12)、Sato・Kumada(13)の研究に用いられたものであり、他の5点は新たに分離調製したものである。その区別は表1中に示した。

腐植酸の抽出・精製の方法はKumada・Kawamu-

Table 1. Elementary compositions of soil humic acids.

Type	No.	Samples ^a	Origins ^b	Soil types ^c	Symbols ^d	$\Delta \log K$	RF	E ₆₀₀	Per cent on moisture and ash free basis					Atomic ratio $\times 100$			
									Ash	C	H	N	O	H/C	N/C	O/C	
A	2	Temmondai	1	K	●	.527	144	82.6	0.51	59.3	3.1	3.1	34.6	62	4.5	44	
	3	Nagara P	1	R	■	.555	140	89.4	4.61	56.1	2.5	2.3	39.1	53	3.6	52	
	4	Inogashira	1	K	●	.496	138	86.2	0.85	58.9	3.7	3.3	34.0	75	4.9	43	
	5	Jaana P	2	R	■	.478	132	97.7	0.34	60.4	3.7	2.4	33.5	72	3.4	42	
	6	Inogashira	2	K	●	.485	115	76.0	1.35	60.2	3.1	2.2	34.5	61	3.2	43	
	7	Kinshozan P	1	R	■	.543	115	70.5	trace	57.3	3.8	2.6	36.3	79	3.8	48	
	8	Shitara Black	1	K	●	.547	114	80.6	3.88	58.7	3.4	3.4	34.5	69	4.9	44	
	9	Nagara F	1	R	■	.620	102	82.1	1.62	56.6	3.5	4.0	36.0	73	6.0	48	
	10	Fujinomiya	3	K	●	.511	97	69.7	1.25	55.6	4.1	3.7	36.6	88	5.8	49	
	12	Kinshozan P	3	R	■	.565	92	70.7	1.59	55.1	3.5	2.6	38.8	76	4.0	52	
	13	Komagahara	3	K	●	.542	89	63.0	2.08	54.8	3.8	3.1	38.3	82	4.9	52	
	14	Nagara OH	1	R	■	.667	89	57.4	3.86	56.2	3.9	4.6	35.4	83	7.0	47	
	15	Fujinomiya	2	K	●	.541	82	60.4	0.84	57.2	4.9	3.1	34.2	102	4.6	45	
	B	16	Shitara brown	1	B	○	.605	76	41.4	13.9	56.1	5.1	4.4	34.5	108	6.9	46
		17	Jaana F	2	R	■	.619	65	48.0	3.45	56.8	4.6	4.7	34.0	96	7.0	45
18		Kuragari	1	B	○	.634	61	37.2	4.87	57.9	4.9	4.3	33.0	100	6.2	43	
19		Kinshozan F	1	R	■	.731	60	31.7	1.46	57.1	4.5	3.9	34.6	93	5.9	46	
20		Anjo black	1	P/K	⊕	.642	57	37.5	6.81	56.4	4.9	4.2	34.5	103	6.4	46	
21		Higashiyama (A)	1	B	○	.664	47	32.9	1.59	56.5	4.9	3.3	35.4	103	4.9	47	
Rp (1)	28	Ishimakisan F	2	R	□	.729	37	25.1	2.56	57.6	5.2	3.7	33.5	107	5.6	49	
	29	Sanage	1	P	⊕	.711	32	20.5	trace	56.1	5.6	5.8	32.5	119	8.8	44	
	31	Jaana OH	2	R	□	.714	30	20.9	12.0	53.0	5.9	6.9	34.1	133	11.2	48	
	32	Kinshozan OH	1	R	□	.851	29	13.9	6.72	55.2	5.4	3.3	36.0	116	5.0	49	
	34	Ishimakisan OH	2	R	□	.804	22	15.2	3.34	56.4	5.9	4.5	33.3	125	6.8	44	
	35	Gifu	1	P	⊕	.853	22	13.4	0.33	54.6	5.7	5.9	33.8	123	9.3	47	
	36	Anjo	1	P	⊕	.835	21	13.2	trace	55.0	5.4	5.3	34.4	116	8.3	47	
	39	Kinshozan OH	3	R	□	.897	16	10.1	4.04	53.7	6.2	6.2	33.9	137	9.9	47	
Rp (2)	30	Higashiyama (F-H)	1	Ao	○	.776	31	20.7	1.43	56.3	5.2	3.4	35.1	110	5.1	47	
	33	Higashiyama (L)	1	Ao	○	.809	23	15.8	0.87	59.1	5.7	3.3	32.0	115	4.7	41	
	37	Yamamomo	2	R.W.	○	.968	21	13.4	1.54	58.5	5.0	1.1	35.4	101	1.6	45	
	38	Kisokoma (F)	1	Ao	○	.806	20	14.3	trace	59.0	6.0	6.0	29.0	120	8.8	37	
Po	23	Ishimakisan P	2	R	■	.656	43	27.2	3.25	58.9	6.0	3.3	31.8	120	4.9	41	
	24	Kuragari	2	B	○	.678	43	30.6	2.11	58.6	7.1	3.7	30.5	145	5.5	39	
	26	Onobaru	3	K	●	.678	39	27.6	1.10	54.5	5.0	4.7	35.8	108	7.5	48	
	27	Sanage	2	P	⊕	.657	38	28.4	1.63	58.1	5.9	4.6	31.4	121	6.8	41	
P+++	1	Tsubame P _g	4	H.b.	⊙	.272	202	114	8.8	57.3	2.5	1.3	38.9	51	2.0	51	
P+	11	Tsubame	4	H.b.	⊙	.469	94	59.2	6.4	56.3	4.1	2.8	36.8	88	4.3	49	
P++	22	Tsubame	1	H.b.	⊙	.513	69	38.6	3.4	56.9	5.3	3.7	34.1	111	5.7	45	
P++	25	Shishi	1	A	⊙	.506	42	25.8	4.7	58.3	6.6	4.1	31.1	135	6.0	40	

^a P, F, and OH denote the extractants for successive extraction, i.e. P 0.1 M sodium pyrophosphate, F 0.1 M sodium fluoride, OH 0.1 N sodium hydroxide. (L), (F), (F-H), and (A) denote the horizons of forest soil. ^b Origins: 1, Humic acid used for the study by KUMADA and SHIROYA (10); 2, Humic acid by KUMADA and KAWAMURA (8); 3, Humic acid prepared by authors; 4, Humic acid by SATO

and KUMADA (12). ^c Soil types: K, Kuroboku (Volcanic ash soil); R, Rendsina like soil; B, Brown forest soil; P, Paddy soil on alluvial land; P/K, Paddy soil on Kuroboku; Ao, Ao horizon of forest soil; R.W., Rotted wood; H.b., Humic buried soil; A, Alpine grassland soil. ^d Symbols: These symbols are used in the figures.

ra (14) の方法に従った。ただし熊田・白谷の腐植酸 (表 1, Origin 1) は大量抽出の必要上, 土壌中の炭素含量に対する抽出液の添加割合を常法の 300 倍から 100 倍に変更して抽出されている。また本研究で新たに抽出した腐植酸は, 沸騰水浴中 30 分間加熱抽出するかわりに室温で 24 時間放置して抽出した。燕 Pg (No. 1) は Sato ら (13) により燕腐植酸 (No. 11) のアルカリ溶液をセファデックス G50 で分画して得られた緑色の画分である。また本研究では例えば猪之頭 (Nos. 4, 6), 金生山 P (Nos. 7, 12), 金生山 OH (Nos. 32, 39), 富士宮 (Nos. 10, 15), 闇刈 (Nos. 18, 24), 猿投 (Nos. 27, 29), 燕 (Nos. 11, 22) のように, 同一地点から異なった時期に採取した土壌から異なった抽出法で抽出した試料も供試した。同一地点の土壌の腐植酸ではあるが採取時期と抽出法が異なることにより, これらの腐植酸の化学的および分光学的性質には多少の差が認められた。従ってこれらは

それぞれ別の試料とみなして供試した。

2) 元素分析

試料は真空デシケータ中 P_2O_5 上で乾燥し、恒量になった後元素分析に供した。分析は名古屋大学農学部有機ミクロ分析室に依頼した。全重量から灰分, C, H, N の重量を差し引いた値を O 含量とみなし, S 含量は無視した。

3) 腐植化度および腐植酸の型の定義

腐植化度 RF および $\Delta \log K$ は Kumada ら (8) に従い次式によって計算した。

$$RF = K_{600} \times 1000 / C$$

$$\Delta \log K = \log (K_{400} / K_{600})$$

ここで K_{600} (K_{400}) は 0.01 N NaOH 中の腐植酸溶液の 600 (400) nm における吸光度であり, C はこの腐植酸溶液 30 ml が消費する 0.1 N $KMnO_4$ 溶液の容量 (ml) である。

腐植酸は Kumada ら (8) の定義に従って RF と $\Delta \log K$ により A, B, R_p , P の各型に分類

した。また R_p 型腐植酸は A 層および作土層から得たものと A_0 層および腐朽木から得たものを区別し、それぞれ $R_p(1)$ および $R_p(2)$ 型とした。 P 型腐植酸は明らかに P_g の吸収が認められるもの ($P_{+ \sim \#}$ 型) と P_g の吸収が認められないもの (P_0 型) を区別した。

結果および考察

1) 腐植酸の型と元素組成

元素分析の結果は表 1 に示した。元素組成は重量%だけでなく、各元素間の化学量論的關係を明確にするため H/C 、 N/C 、 O/C 等の原子数比によっても表わした。表 2 には各型の腐植酸の各元素分析値の平均値を示した。

$P_{+ \sim \#}$ 型腐植酸は P_g 吸収の存在によって他の型から区別された腐植酸であるが (13)、RF および $\Delta \log K$ に対する P_g 吸収の影響が大きいため、各型の間での比較から除外した。各元素分析値の平均値の腐植酸の型による差の有意

性を分散分析によって検討した。腐植酸の型による水素含量の差異は高度に有意（0.1%水準）であり、窒素含量がこれに次ぎ（1%水準）、炭素含量および酸素含量の平均値の差の有意性は低かった（1～5%水準）。

Table 2. The difference in elementary composition between the types of humic acids.

	Average value within each type					Total	Mean square ratio	Level of significance
	A	B	Rp(1)	Rp(2)	Po			
C%	57.4	56.8	55.2	58.2	57.5	56.9	3.39	*
H%	3.61	3.81	5.66	5.47	5.99	4.77	7.80	***
N%	3.11	4.13	5.20	3.45	4.10	3.91	4.48	**
O%	35.8	34.3	33.9	32.9	32.4	34.4	4.17	**
100×H/C	75	101	122	112	124	100	30.3	***
100×N/C	4.66	6.22	8.11	5.05	6.18	5.93	5.86	**
100×O/C	46.9	45.5	46.9	42.5	42.3	45.6	2.90	*

Critical values of mean square ratio corresponding to different levels of significance are 2.69 for 5%, 4.02 for 1%, and 6.12 for 0.1% level.

*, **, and *** indicate significant at 5%, 1%, and 0.1% levels of significance respectively.

各元素分析値の平均値は以下の順であった。

C% : $R_p(1) < B < A \doteq P_o < R_p(2)$

H%, H/C : $A < B < R_p(2) \doteq R_p(1) \doteq P_o$

N%, N/C : $A < R_p(2) < P_o < B < R_p(1)$

O% : $P_o < R_p(2) < R_p(1) < B < A$

O/C : $P_o < R_p(2) < B < R_p(1) < A$

Rp(2)およびPo型腐植酸は炭素と水素の含量が高く、窒素と酸素の含量が低い点で、リグ

ニンの元素組成 (7) と類似した。Rp (2)型はこれを抽出した試料の性質から Rp (1)型の前駆的腐植酸と考えられるが、Rp (2)型から Rp (1)型にかけて炭素含量の減少、酸素含量の増加、窒素含量の増加が認められ、水素含量はあまり変化しなかった。炭素含量が減少し酸素含量が増加するのは、土壤中では有機物が酸化されて酸素の多い有機物が増加することによるもので、窒素含量の増加は、土壤有機物中の C/N の高い成分が資化されて菌体等の C/N の低い有機物に変換されたことによるものと推定される。Rp (1), B, および A 型の間では、この順序に炭素含量と酸素含量は増加し、水素含量と窒素含量は減少した。この傾向は、腐植化の進行に伴う腐植酸構造の酸化の進行と窒素化合物の消費を示すものと推定される。

2) 元素組成と腐植化度 (RF, $\Delta \log K$)

各種元素分析値と RF および $\Delta \log K$ の間の直

線回帰分析の結果を表3に示す。回帰分析は $P_{+ \sim III}$ 型腐植酸を除く35点の腐植酸について行なった。

Table 3. Correlation coefficients between elementary compositions and RF or $\Delta \log K$ of soil humic acids. (n=35)

Y	X	r	Levels of significance
C%	RF	0.354	*
C%	$\Delta \log K$	-0.314	N.S.
H%	RF	-0.883	***
H%	$\Delta \log K$	0.686	***
H/C	RF	-0.896	***
H/C	$\Delta \log K$	0.706	***
N%	RF	-0.494	**
N%	$\Delta \log K$	0.382	*
N/C	RF	-0.526	***
N/C	$\Delta \log K$	0.389	*
O%	RF	0.459	**
O%	$\Delta \log K$	-0.301	N.S.
O/C	RF	0.146	N.S.
O/C	$\Delta \log K$	0.068	N.S.

Critical values of the correlation coefficient for different levels of significance are 0.279 for 10%, 0.331 for 5%, 0.430 for 1%, and 0.533 for 0.1% level.

*, **, and *** indicate significant at 5%, 1%, and 0.1% levels of significance respectively. N.S. = Not significant.

表3に示したようにC%とRFの相関は5%水準で有意であるが、 $\Delta \log K$ との相関は有意でなく、概してC%と腐植化度の相関は高くなかった。図1にC%とRFの関係を示した。腐植酸のC%は比較的狭い範囲(53~61%)に分布してはいるが、回帰直線のまわりにかたまり分散した。白谷ら(11)は、アルコール分画沈殿法によって得られた腐植酸の各画分

の炭素含量は腐植化度の増大とともに増加することを示した。先にも述べたように、本研究で用いた腐植酸においても、A、B、および $R_p(1)$ 型の腐植酸に限れば、腐植化の進行とともに炭素含量の増加の傾向は明らかであった。 $R_p(2)$ から $R_p(1)$ 型への変化および $R_p(1)$ から B または P_0 を経由して A 型への変化という性質の異なる 2 種類の变化過程（分解と腐植化）の腐植酸、さらに性質の異なる各種の土壌から得られた腐植酸を一括して比較したことにより、炭素含量と腐植化度の相関が低くなったものと推定される。

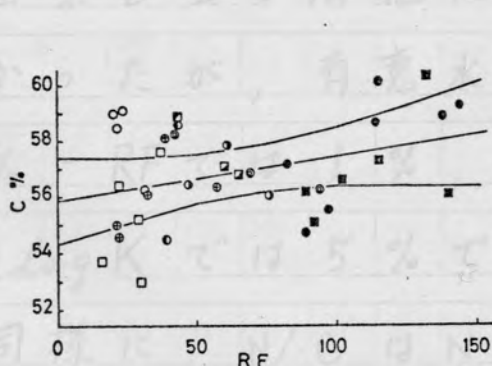


Fig. 1.

Fig. 1. C% versus RF diagram with a regression line and confidence limit (99%) of the estimate of C%.
 $(C\%) = 1.60 \times 10^{-3} \times (RF) + 55.9$, $r = 0.354^*$.

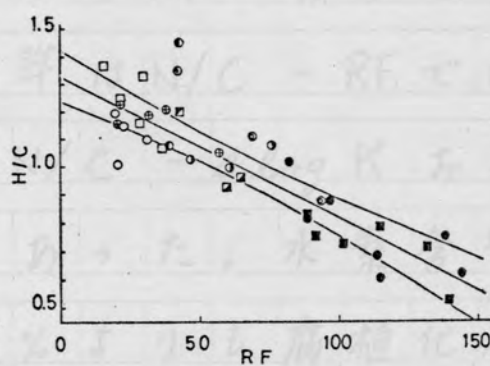


Fig. 2.

Fig. 2. Atomic H/C ratio versus RF diagram with a regression line and confidence limit (99%) of the estimate of H/C.
 $(H/C) = -5.15 \times 10^{-3} \times (RF) + 1.33$, $r = -0.896^{***}$.

水素含量と腐植化度の間の負の相関は極めて高く、すべて0.1%水準で有意であった(表3)。H/CはH%よりも腐植化度(RF, $\Delta \log K$)に対する相関がわずかに高く、またRFは $\Delta \log K$ よりも水素含量に対する相関がわずかに高かった。図2に示したように、腐植化の進行とともにH/Cが減少する傾向は非常に明らかであった。この結果は、水素含量と腐植化度の相関に土壌の種類の違いがあまり影響を及ぼしていないこと、および水素含量の減少が腐植酸の可視部吸収の増大に大きく寄与していることを示している。

窒素含量と腐植化度の間の負の相関もまた高かったが、有意水準はN/C - RFでは0.1%、N% - RFでは1%、N/C - $\Delta \log K$ および N% - $\Delta \log K$ では5%であった。水素含量の場合と同様に、N/CはN%よりも腐植化度に対する相関が高く、RFは $\Delta \log K$ よりも窒素含量に対する相関が高かった。図3にN/CとRFの関係を示した。RFの低い腐植酸のN/Cは回帰直

線の手わりにかなり分散したが、RFの高い腐植酸では回帰直線の手わりのバラツキが小さかった。

白谷ら(11)は、腐植酸のアルコール分画沈殿によって得た各画分の窒素含量が、最初RFの増大とともに増加するが、続いて徐々に減少することを示した。またSuzukiら(15)は、各種植物の腐朽遺体から抽出したRp型腐植酸の窒素含量が、植物の種類および腐朽の程度によって非常に異なることを示した。

以上の結果は、土壌有機物の形態変化が分解と腐植化に区分されることと対応している。すなわち分解過程ではC/Nの高い易分解性有機物が窒素に富んだ化合物に変換され、続いて腐植化過程では、窒素成分は再分解されるか、暗色物質の増加とともにその量比を減少させるものと推定される。

酸素含量と腐植化度の間の相関は、0% - RFが1%水準で有意であった他は有意でなかった。原子数比は元素間の化学量論的關係を

示すうえでより本質的であるが、O/Cと腐植化度の相関は10%水準でも有意ではなかったことから、酸素含量と腐植化度の相関は非常に低いとみなすことができる。

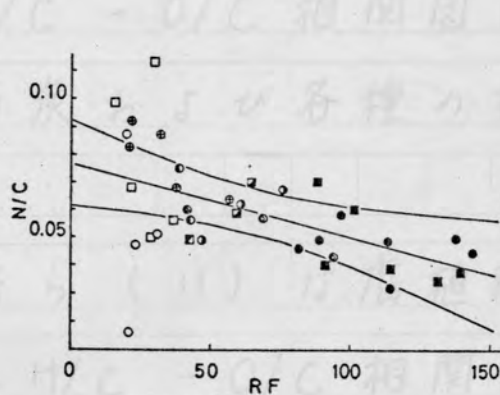


Fig. 3.

Fig. 3. Atomic N/C ratio versus RF diagram with a regression line and confidence limit (99%) of the estimate of N/C.

$$(N/C) = -2.66 \times 10^{-4} \times (RF) + 7.66 \times 10^{-2}, r = -0.526^{***}$$

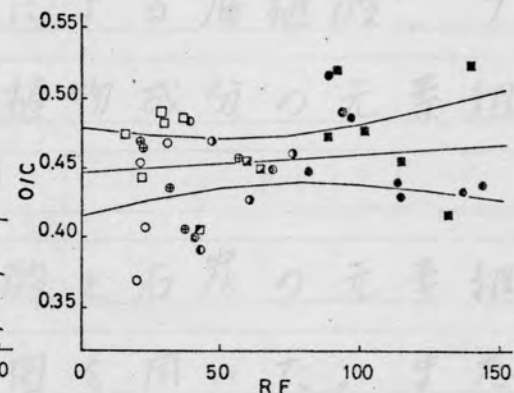


Fig. 4.

Fig. 4. Atomic O/C ratio versus RF diagram with a regression line and confidence limit (99%) of the estimate of O/C.

$$(O/C) = 1.28 \times 10^{-4} \times (RF) + 0.447, r = 0.146 \text{ N.S.}$$

図4にO/CとRFの関係を示した。土壤の種類もO/Cに大きな影響を与えていないものと推定されるが、RFの高低にかかわらず腐植酸のO/Cは回帰直線のまわりのバラツキが大きかった。ただし白谷ら(11)は、腐植酸のアルコール分画沈殿による各画分の酸素含量については、RFの増加とともに最初は徐々に増加し、続いて減少することを示した。腐植酸

の酸素含量と腐植化度の関係については、含酸素官能基を分析することにより詳しく検討した。その結果は次章に述べる。

3) H/C - O/C 相関図による腐植酸、フルボ酸、石炭および各種の植物成分の元素組成の比較

白谷ら (11) は腐植酸と石炭の元素組成の比較に H/C - O/C 相関図を用いた。また van Krevelenら (16) および村田 (17) は H/C - O/C 相関図によって石炭と各種植物成分の元素組成を比較している。図5にコールバンド、各種植物成分、腐植酸、フルボ酸の H/C と O/C をプロットし比較した。コールバンド、植物体成分の値の分布領域は van Krevelenら (16) および村田 (17) の結果を引用し、フルボ酸は Kononova (1) の試料7点の分析値を、腐植酸は本研究で使用した39試料のほか、Suzukiら (15) の試料12点、Kononova (1) の試料7点の分析値を引用しプロット

した。

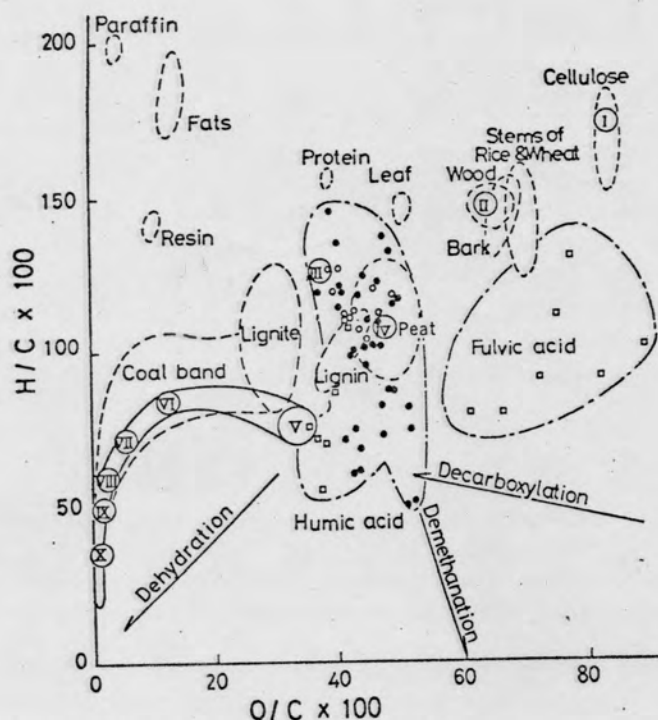


Fig. 5. Atomic H/C versus O/C diagram.
 I, Cellulose; II, Wood; III, Lignine; IV, Peat; V, Brown coal (Lignite);
 VI, Low rank bituminous coal; VII, Medium rank bituminous coal;
 VIII, High rank bituminous coal; IX, Semi-anthracite; X, Anthracite (by
 VAN KREVELEN (4)).
 Areas enclosed by broken line were quoted from the diagram by MURATA
 (11). ●, humic acids used in this study; ○, humic acids by SUZUKI and
 KUMADA (15); □, humic and fulvic acids by KONONOVA (4).

図5によれば、腐植酸のプロットは、H/C
 が0.5から1.5、O/Cが0.35から0.55の範囲
 の、全体としてJ字形をしたかなり広い領域
 に分布した。腐植酸のC、H、O組成は、腐
 植化度の低い腐植酸においてはリグニンに最
 も近似し、またリグニンの酸化物としての位

置を図上で占めた。他方、亜炭はリグニンよりも O/C が低く、リグニンを起点とするならば、腐植化作用と石炭化作用は初期の段階では異なった方向に進行することが推定された。また van Krevelen (16) による亜炭の C , H , O 組成は、腐植化の進んだ腐植酸と類似した。フルボ酸の H/C は腐植酸と同じ範囲にあったが、 O/C は腐植酸と比べて極めて高かった。フルボ酸のなかには、植物体の元素組成に近いものも存在した。

van Krevelenら (16) は、脱カルボキシル基、脱メタン、脱水、脱水素、酸素付加等の基本的反応の方向を $H/C - O/C$ 相関図上に直線で示した。腐植酸のプロットは全体として脱水素の方向に配列したが、 H/C が低く腐植化度の高い腐植酸の間では、脱水反応の方向に配列しているとみなすこともできた。これらの腐植酸の間では、脱水縮合または炭化の進行していることも示唆される。

要約

各種土壌から分離調製した39点の腐植酸を用い、元素組成と腐植酸の型および腐植化度との間の関係を統計的に検討した。腐植酸の型ごとの各元素分析値および原子数比の平均値は、それぞれ型によって有意に異なっていることが示された。Rp(2)型からRp(1)型にかけては、炭素含量は減少、酸素含量および窒素含量は増加し、水素含量はあまり変化しなかった。Rp(1)、B、およびA型の間では、この順序に炭素含量と酸素含量は増加し、水素含量と窒素含量は減少した。また直線回帰分析を行なったところ、水素含量および窒素含量と腐植化度の相関は非常に高かったが、炭素含量および酸素含量と腐植化度の相関は低かった。

またH/C - O/C相関図によって、腐植酸、フルボ酸、石炭、および各種植物体構成成分の元素組成を比較した。腐植化度の低い腐植酸のC、H、O組成はリグニンに類似し、ま

たりグニンの酸化物としての特徴を示した。
 腐植化の進んだ腐植酸のC, H, O組成は亜
 炭に類似した。腐植酸のプロットは全体とし
 て脱水素反応の方向に配列したが, H/Cが低
 く腐植化度の高い腐植酸は脱水反応の方向に
 配列し, これらの腐植酸の生成に脱水縮合ま
 たは炭化作用が関与したことが示唆された。

試料および方法

1) 腐植酸試料

表1に示した39試料のうち、試料の量的副
 産に上って、33~38点の試料について全酸度
 カルボキシル基、カルボニル基、フェノール
 基、アミノ基、アルコキシ基およびメチル