

Table 8. Nitrogen distribution in humic acids

No.	Humic acid	Type	RF	Total N	8N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Hydrolysis		6 N HCl Hydrolysis			Ammonia N total N X 100	Amino Acid-N + Ammonia-N Hydrolisable N X 100
					Hydro- lysable N	Amino Acid-N	Amino Acid-N	Ammonia-N	Amino Acid + Ammonia		
2	Temmondai	A	144	4.07%	2.14%	1.37%	1.17%	0.641%	1.81%	15.7%	84.6%
7	Kinshozan-P-1	A	115	2.60			0.79	0.492	1.28	18.9	
8	Shitara black	A	114	2.67	1.54	0.91	1.36	0.650	2.01	24.4	131
13	Komagahara	A	89	2.77	1.71	1.85	1.81	0.763	2.57	27.6	150
16	Shitara brown	B	76	4.43	3.69	2.80	2.16	0.858	3.02	19.4	81.8
18	Kuragari	B	61	5.46	4.62	1.75	2.01	0.748	2.76	13.4	59.7
19	Kinshozan-F-1	B	60	3.70	2.79	2.28	2.09	0.756	2.85	20.4	102
21	Higashiyama (A)	B	47	2.75	1.70	1.92	1.93	0.550	2.48	20.0	146
29	Sanage-1	Rp(1)	32	5.75	4.94	2.96	3.40	0.732	4.13	12.7	83.6
32	Kinshozan-OH	Rp(1)	29	6.06	5.23	3.67	3.52	0.86	4.38	14.2	83.8
38	Kisokoma (F)	Rp(2)	20	3.72	3.53	2.19	2.14	0.565	2.71	15.2	76.8
26	Onobaru	Po	39	5.01	3.95	2.01	2.46	1.142	3.60	22.8	91.1
22	Tsubame-1	P++	69	4.86	4.26	2.18	2.04	0.972	3.01	20.4	70.7

窒素含量に対する割合も、RF値との間に有意な相関を示さなかった ( $r = -0.332$  N.S.) が、A型腐植酸の間では、RFが増大するほど減少した。この、A型腐植酸におけるアミノ二ア生成量の減少傾向は、加水分解性窒素割合 (図16) の減少傾向と一致している。

(4) 非加水分解性窒素

図19に、非加水分解性窒素含量とRFの関係を示す。両者の間には高い正の相関 ( $r = 0.492^{***}$ ) が認められた。しかし、RFの増大

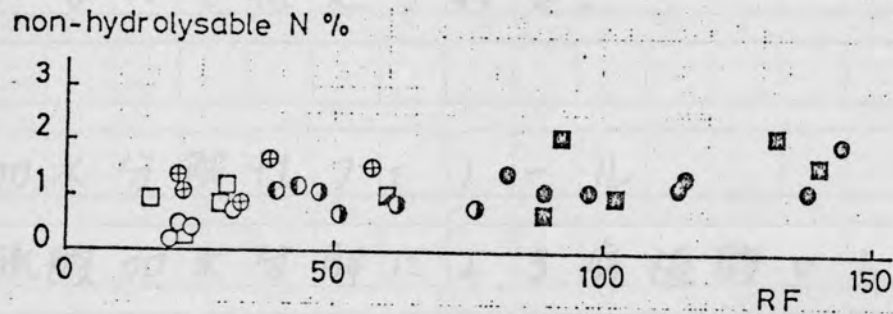


Fig. 19. Relationship between non-hydrolysable-N % and RF value of humic acids.

にともなう非加水分解性窒素の増加の割合は、加水分解性窒素の減少の割合と比べて非常に小さかった。従って、腐植化の進行とともに、加水分解性窒素の大部分は、非加水分解性窒素へと変換されることなく、無機化消失するものと推定される。

非加水分解性窒素が全窒素に占める割合は、4%から68%の間に分布し、RFが増大するほど増加し、特にA型腐植酸の間で著しかった(図16)。非加水分解性窒素は、腐植化の進行とともに増加する暗色高分子画分の構造に貢献しているものと推察される。しかし、非加水分解性窒素含量そのものが、0.2%から2%と非常に少ないことから、貢献の度合い

は小さいものと推定される。

### 3) 酸加水分解性フェニール

8 N 硫酸加水分解による腐植酸からのフェニール性物質の収率は、アミノ酸の収率および後に述べる酸加水分解性全有機物量との間に、非常に高い正の相関を示した ( $r = 0.883^{***}$  および  $r = 0.967^{***}$ )。ただし各種アミノ酸中、チロシンおよびトリプトファンは、フォリンのフェニール試薬で呈色するが、アミノ酸分析の結果 (表 6) によれば、チロシンはモル比で全アミノ酸の 1.56% しか存在せず、またトリプトファンは加水分解液中に検出されなかった。アミノ酸総収率は 400 から 2800  $\mu\text{mol/g}$  であったから、チロシンによって説明されるフェニール性物質の含量は 6 から 45  $\mu\text{mol/g}$  であり、加水分解によるフェニールの収量、100 から 500  $\mu\text{mol/g}$ 、の 10% 以下である。従って、加水分解されたフェニール性物質の大部分は、アミノ酸以外の構成フェニ-

ルから由来したものと推定される。また、アミノ酸の収量と加水分解性フェノール性物質の収量の間の高い正の相関は、両者の共存が相互の安定化に寄与していることを示唆する。

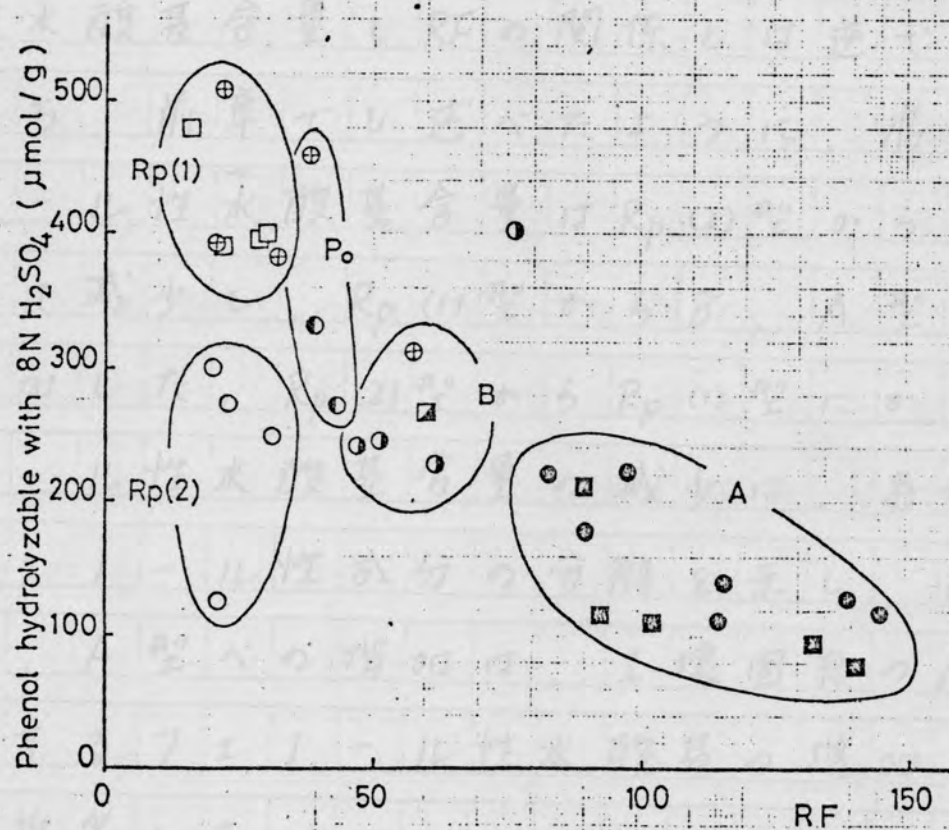


Fig. 20. Relationship between the level of acid-hydrolyzable phenol and RF value of humic acids.

図 20 に、腐植酸の酸加水分解性フェノール含量と RF の関係を示した。加水分解性フェノール含量は、Rp(2)型から Rp(1)型にかけて増加したが、Rp(1)、P<sub>0</sub>、B、および A 型の間では RF の増大とともに減少した。この傾向は、す

でに全窒素，加水分解性窒素，アミノ酸態窒素等の含量とRFの間で認められた傾向と同一であった。しかしこの傾向は，同じくフォーリンのフェニール試薬で定量した腐植酸の全フェニール性水酸基含量とRFの関係とは逆であった。すなわち，前章でも述べたように，腐植酸のフェニール性水酸基含量はRp(2)型からRp(1)型にかけて減少し，Rp(1)型からB，A型にかけては増加した。Rp(2)型からRp(1)型にかけてのフェニール性水酸基含量の減少は，各種の植物体フェニール性成分の分解を示し，Rp(1)型からB，A型への増加は，土壌固有の腐植物質に属するフェニール性水酸基の増加を示すものと推定した。

上述のように，8N硫酸で加水分解されるフェニール性物質の含量は，腐植酸の型およびRFに対する関係において，アミノ酸態窒素含量と同一の挙動を示した。アミノ酸態窒素含量のRp(2)型からRp(1)型への増加は，土壌生物，微生物によってC/Nの高い有機物が消費

され、菌体タンパク質等が生産されることによるものと推定した。従って加水分解性フェニールも同様に、主として微生物代謝によることが推定される。

Rp(2)型とRp(1)型の間で加水分解性フェニール含量が異なる原因として、植生の影響も検討する必要がある。Rp(1)型腐植酸は、水田、草地等の草本植生の土壌から得たものであり、Rp(2)型腐植酸は、森林土壌A<sub>0</sub>層から分離した。一般にイネ科リグニンは、加水分解性フェニール含量が多く(32)、Rp(1)型腐植酸の加水分解性フェニール含量が多いことに対しては、草本植生であることの影響も考えられる。しかし、A層土壌の有機物はA<sub>0</sub>層の有機物よりも分解および腐植化が進んでいるので、単純に比較することは困難な面もあり、植生の影響が主要なものか否かは推論できない。

加水分解性フェニール含量とRFの間には、Rp(1)、P<sub>0</sub>、B、およびA型腐植酸の間で、高い負の相関( $r = -0.917^{**}$ )が認められた。

加水分解性フェノール成分は、腐植化の進行とともに、分解、あるいは暗色高分子物質に重合し、減少するものと推察される。

#### 4) 腐植酸中の糖成分

##### (1) ヘキソース含量

ヘキソース含量は、腐植酸の無水、無灰分重量の0.16から5.1%を占めた。図21に、腐植酸のヘキソース含量とRFの関係を示した。 $P_{+III}$ 型腐植酸を除いた34点の腐植酸の間で、ヘキソース含量はRFに対して、有意な負の相関 ( $r = -0.472^*$ ) を示した。また  $P_{+III}$ 型腐植酸も、RFが増大するほどヘキソース含量が減少した。また、石灰質土壤の腐植酸のみの間で回帰分析を行なうと、ヘキソース含量とRFの間の相関は、各種腐植酸を一括して回帰分析した場合よりも高くなった ( $r = -0.842^{***}$ )。

石灰質土壤の腐植酸は、逐次抽出で得られた腐植酸である。2回目または3回目の抽出

操作で得られた腐植酸中にも、なおかなりの糖成分が残存することは、糖成分が暗色高分子物質から容易には分離されないことを示している。また石灰質土壌の腐植酸のヘキソース含量は、腐植化度が同程度の他の腐植酸よりも低かった。特に石灰質土壌由来のA型腐植酸のヘキソース含量は、黒ぼく土由来のA型腐植酸よりも、明らかに低かった。石灰質

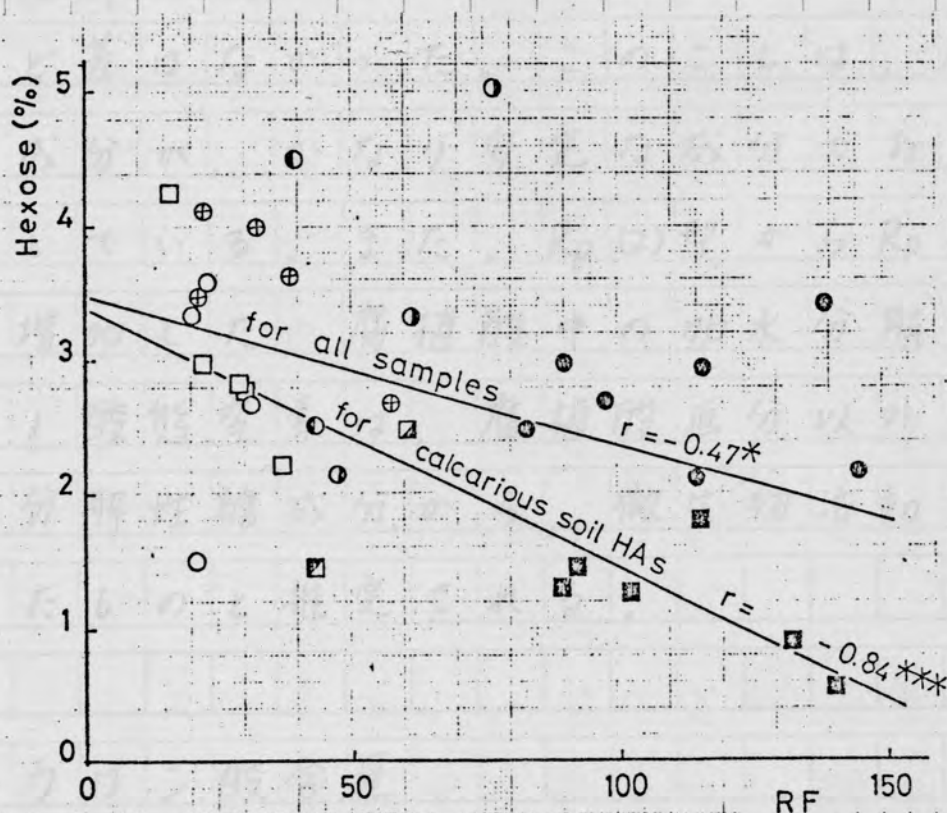


Fig. 21. Relationship between the level of hexose and RF value of humic acids.



土壌では、土壌がアルカリ性であるため、糖成分の酸化分解が急速に進行したものと推定される。ただし、ヘキソース含量が消耗しつくさず、RFに対して非常に高い負の相関を示したことは、腐植酸中の糖含量には腐植化度に応じた平衡値があることを示唆している。また、腐植化の進行にともなうヘキソース含量の減少は、それほど急速なものではなく、Rp(2)型とRp(1)型腐植酸のヘキソース含量にも、ほとんど差はなかった。このことは、腐植酸中の糖成分が、かなり安定な成分であることを示唆している。また、Rp(2)型からRp(1)型にかけて増加した、腐植酸中の加水分解性窒素やアミノ酸態窒素は、腐植酸画分以外の画分中の易分解性糖成分から、微生物活動により生成したものと推定される。

## (2) ウロニン酸含量

ウロニン酸含量は、腐植酸の無水無灰分重量の0.14～2.1%を占めた。図22に、ウロニン酸

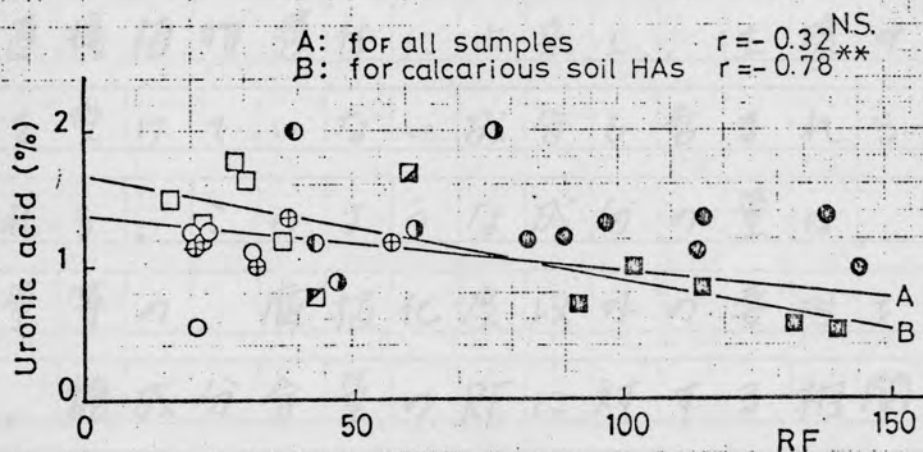


Fig. 22. Relationship between the level of uronic acid and RF value of humic acids.

含量とRFの関係を示した。P<sub>+</sub>~<sub>+</sub>型を除いた34点の腐植酸の間では、両者の間に有意な相関は認められなかった ( $r = -0.319$  N.S.)。

しかし石灰質土壤の腐植酸の間では、非常に高い負の相関 ( $r = -0.780$  \*\*) が認められた。また、ウロン酸とヘキソースの含量の比をとると、石灰質土壤の腐植酸は、腐植化度が同程度の他の種類の腐植酸と比べて、その値が高かった (表9)。

ヘキソース含量およびウロン酸含量を含めて、腐植酸中の糖成分の含量は、RFに対して負の相関を示したが、回帰直線のまわりのバラツキが大きかった。腐植酸の糖成分のなか

には、直接植物遺体に由来し、土壤中であまり変化を受けていない成分も含まれるものと推察される。このような成分の量は、植物遺体供給量等の、腐植化度以外の要因を反映するため、糖成分含量のRFに対する相関が低くなったものと推定される。

しかし石灰質土壤では、土壤のpHが高いため、有機物の酸化的分解が速く進行し、比較的難分解性の糖成分のみが残されるため、糖成分含量と腐植化度の負の相関が高くなるものと思われる。また、石灰質土壤の腐植酸で、ウロニ酸 / ヘキソース比が、他の種類の土壤よりも高いことは、ウロニ酸がカルシウムとの錯体形成により安定化されていることを示唆する。

#### 5) 加水分解性有機物の総量

表9に、酸加水分解によって生成したアミノ酸、フェニール、ヘキソース、ウロニ酸のそれぞれの炭素が腐植酸の全炭素含量に対し

Table 9. Carbon distribution in acid-hydrolysable constituents of humic acids.

Type No.	Sample	Symbol	RF	C % total carbon in humic acids					Hydroly- sable organic matter	Uronic acid Hexose (U/H)
				Amino- Acid (A)	Hydroly- sable Phenol (P)	Hexose (H)	Uronic Acid (U)	(A+P+H+U)		
	2	Temmondai	144	7.49	1.42	1.45	0.612	10.97	9.19	0.454
	3	Nagara-P	140	4.12	0.995	0.401	0.344	5.86	7.13	0.925
	4	Inogashira-1	138	5.11	1.82	2.31	0.864	10.10	11.9	0.402
	5	Jaana-P	132	7.38	1.11	0.603	0.348	9.44	5.83	0.623
	6	Inogashira-2	115	6.00	1.68	1.94	0.839	10.46	9.95	0.466
	7	Kinshozan-P	115			1.32	0.553			0.451
A	8	Shitara-black	114	5.06	1.35	1.43	0.709	8.55	6.92	0.533
	9	Nagara-F	102	6.13	1.40	0.89	0.655	9.08	6.08	0.793
	10	Fujinomiya-3	97	8.45	2.79	1.91	0.866	14.02	13.6	0.490
	12	Kinshozan-P	92	6.97	1.54	1.06	0.474	10.04	8.60	0.480
	13	Komagahara	89	11.0	2.32	2.15	0.827	16.3	14.5	0.412
	14	Nagara-OH	89	9.32	2.70	0.918	0.779	13.7	13.6	0.915
	15	Fujinomiya-2	82	11.3	2.74	1.73	0.772	16.5	16.1	0.482
	16	Shitara-brawn	76	16.2	5.13	3.62	1.36	26.3	18.7	0.403
	17	Jaana F	65							
B	18	Kuragari-1	61	9.79	2.82	2.28	0.820	15.7	14.3	0.386
	19	Kinshozan-F	60	13.0	3.36	1.74	1.09	19.2	14.9	0.677
	20	Anjo black	57	13.7	3.99	1.90	0.777	20.4	17.5	0.442
	21	Higashiyama (A)	47	11.1	3.06	1.51	0.584	16.3	15.1	0.418
	28	Ishimakisan-F	37			1.53	0.773			0.546
	29	Sanage-1	32	17.2	4.88	2.83	0.700	25.6	22.8	0.266
	31	Jaana OH	30	26.0	5.42	2.09	1.15	34.7	24.3	0.590
Rp (1)	32	Kinshozan OH-1	29	21.6	5.20	2.03	1.20	30.0	21.7	0.635
	34	Ishimakisan-OH	22	17.7	5.00	2.09	0.888	25.7	21.5	0.456
	35	Gifu	22	21.2	6.67	3.00	0.815	31.7	26.6	0.293
	36	Anjo	21	16.2	5.13	2.51	0.789	24.6	21.5	0.338
	39	Kinshozan-OH-2	16	22.2	6.42	3.17	1.05	32.8	24.4	0.355
	30	Higashiyama (F-H)	31	9.06	3.14	1.90	0.739	14.8	13.9	0.419
Rp (2)	33	Higashiyama (L)	23	10.6	3.32	2.40	0.792	17.1	15.7	0.354
	37	Yamamomo	21	3.11	1.55	1.02	0.347	6.03	8.17	0.367
	38	Kisokoma (F)	20	12.1	3.68	2.25	0.1793	18.8	17.5	0.379
	23	Ishimakisan-P	43			0.978	0.489			0.540
	24	Kuragari-2	43	11.4	3.33	1.71	0.754	17.2	15.6	0.476
Po	26	Onobaru	39	12.0	4.37	3.30	1.36	21.0	21.7	0.446
	27	Sanage-2	38	13.1	5.66	2.48	0.876	22.1	26.2	0.381
P+++	1	Tsubame-Pg	202			0.112	0.089			0.856
P+	11	Tsubame-4	94	7.69	2.66	0.677	0.353	11.4	11.9	0.562
P++	22	Tsubame-1	69	12.5	3.39	2.41	1.28	19.6	17.9	0.573
P++	25	Shishi	42	13.9	3.21	3.48	1.04	21.6	18.5	0.321
B	40	Hichiso	51	13.6	3.37				15.8	

て占める割合，それらの合計，および重クロム酸カリ - 濃硫酸溶液により比色法で定量した加水分解性全有機物量等をまとめた。

アミノ酸による炭素は腐植酸の全炭素の 4 ~ 26 % ，酸加水分解性フェノールによる炭素は 0.6 ~ 3.5 % ，ウロン酸による炭素は 0.3 ~ 1.4 % に相当し，これらの合計による炭素は，腐植酸の全炭素の 5.9 ~ 35 % に相当した。他方，重クロム酸 - 濃硫酸で直接比色定量した加水分解性全有機物量は，腐植酸の全炭素の 5.8 ~ 27 % に相当し，各種加水分解性成分量の合計値よりもやや少なめであったが，ほぼ同程度の値を示した。また各成分の合計値と加水分解性有機物の直接定量値との間には，極めて高い正の相関が存在した ( $r = 0.931$  \*\*\* )。従って，腐植酸中の酸加水分解性成分は，アミノ酸，加水分解性フェノール，糖，およびウロン酸によって，その大部分が説明された。

図 23 に示すように，腐植酸の 8 N 硫酸加水

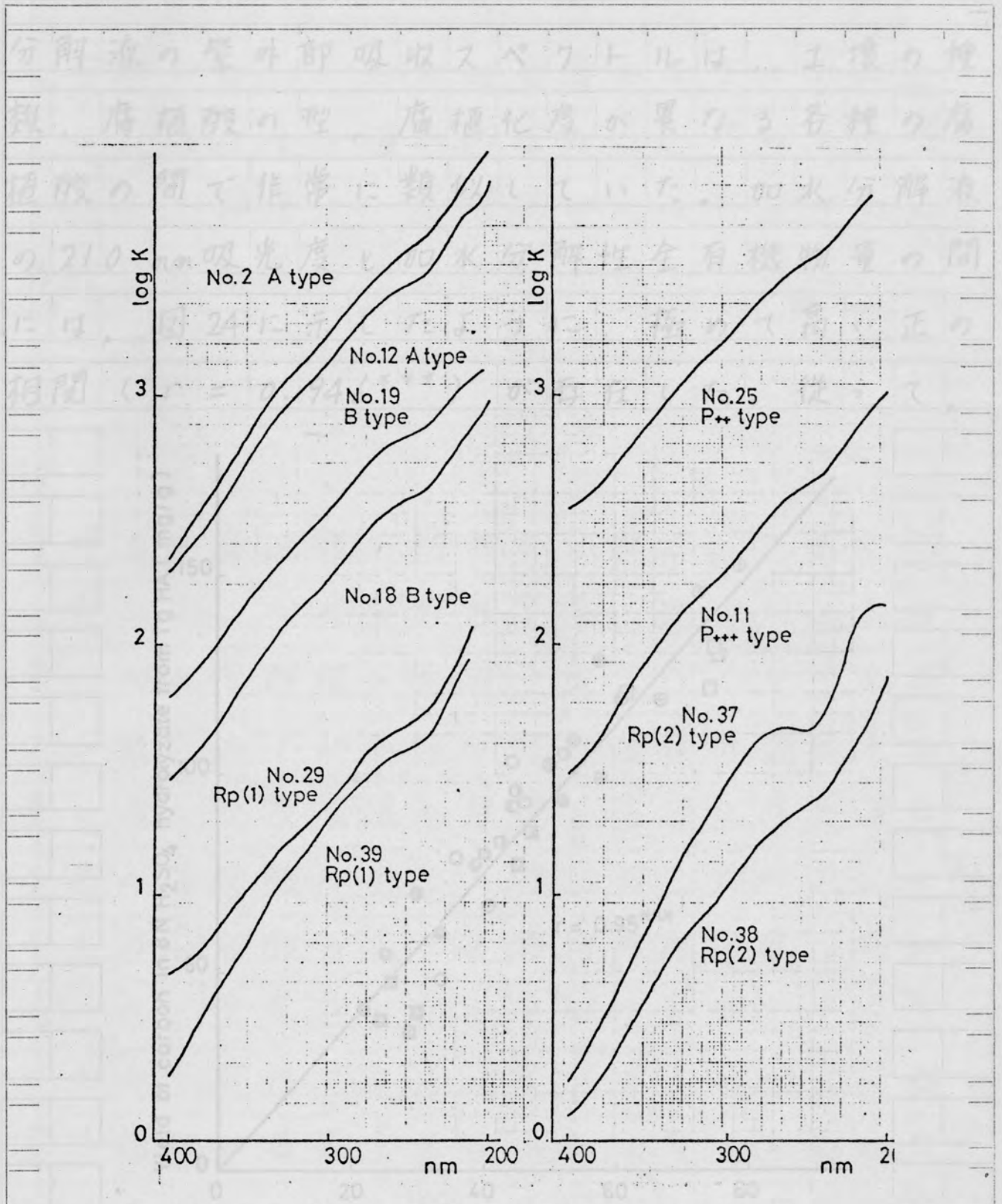


Fig. 23. UV spectra of the acid-hydrolysate solutions of humic acids.

Fig. 24. Relationship between the carbon content and the absorbance at 210 nm of the acid hydrolysate solution.

分解液の紫外部吸収スペクトルは、土壌の種類、腐植酸の型、腐植化度が異なる各種の腐植酸の間で非常に類似していた。加水分解液の210 nm吸光度と加水分解性全有機物量の間には、図24に示したように、極めて高い正の相関 ( $r = 0.946^{***}$ ) が存在した。従って、

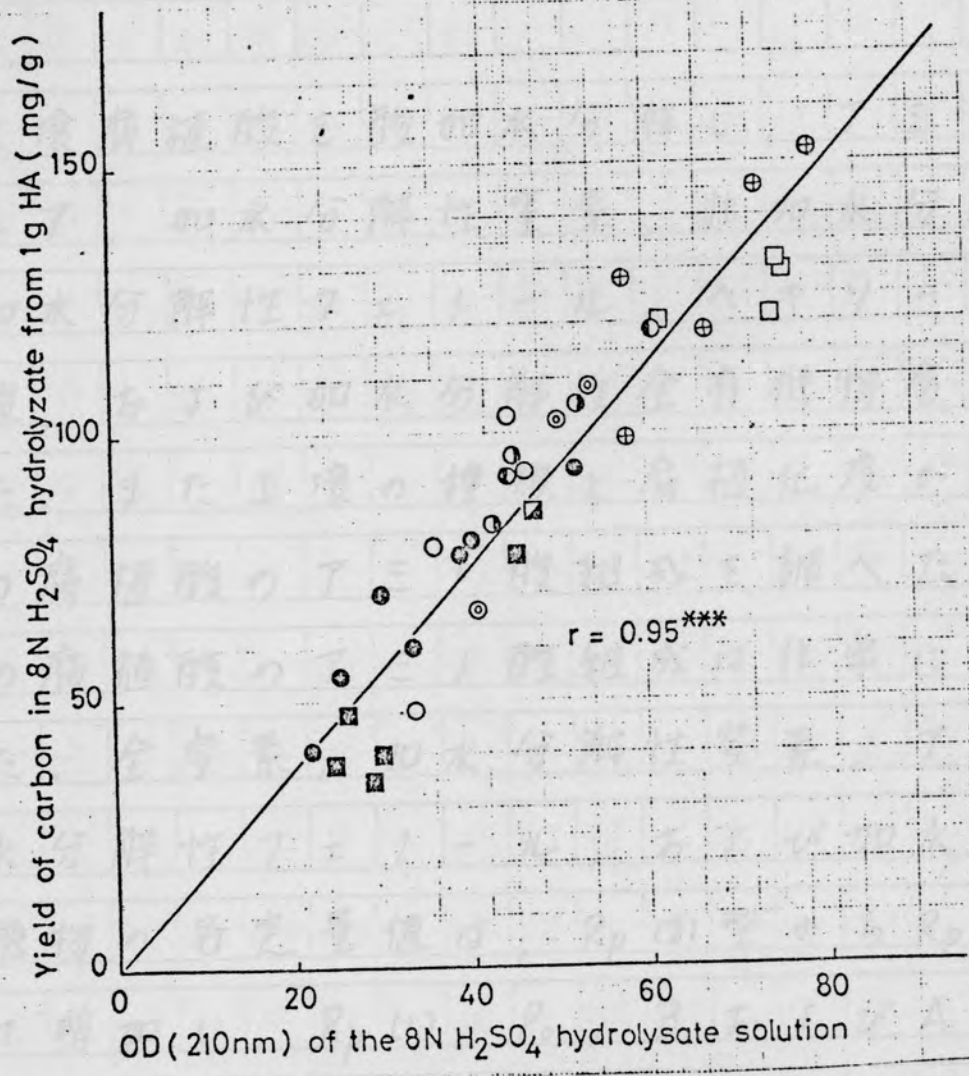


Fig. 24. Relationship between the carbon content and the absorbance at 210 nm of the acid hydrolysate solution.

加水分解液の 210 nm の吸光度を測定すれば、重クロム酸カリ - 濃硫酸法の 100 倍以上の感度で、より簡便に、腐植酸加水分解液中の総有機物量を定量できるものと推定される。

### 要約

各種土壌腐植酸を酸加水分解し、アミノ酸、アミノ二ア、加水分解性窒素、非加水分解性窒素、加水分解性フェニール、ヘキソース、ウロニ酸、および加水分解性全有機物含量を定量した。また土壌の種類と腐植化度が異なる 4 点の腐植酸のアミノ酸組成を調べた。

4 点の腐植酸のアミノ酸組成は非常に類似していた。全窒素、加水分解性窒素、アミノ酸、加水分解性フェニール、および加水分解性全有機物の各定量値は、 $R_p(2)$  型から  $R_p(1)$  型にかけて増加し、 $R_p(1)$ 、 $P_0$ 、 $B$  および  $A$  型腐植酸の間では、 $RF$  が高くなるほど減少した。

腐植酸中の加水分解性窒素成分および加水分



解性フェノールの大部分は、微生物活動により、土壌中の易分解性有機物から生成したものと推定した。

非加水分解性窒素は、腐植化の進行とともに、徐々に増加した。また、その全窒素中に占める割合は、A型腐植酸の間で、RFの増大とともに著しく増加した。

ヘキソースおよびウロン酸含量は、腐植酸間の変動が大きかったが、腐植化の進行とともに減少した。これらの含量とRFの負の相関は、石灰質土壌の腐植酸では非常に高かった。また、石灰質土壌では、錯体の形成によりウロン酸が安定化されていることが推察された。

土壌腐植酸中の加水分解性有機物は、アミノ酸、加水分解性フェノール、糖、およびウロン酸によって、その大部分が説明された。

また、腐植酸の酸加水分解上澄液の210 nmの吸光度は、加水分解性全有機物の定量に用いることを示した。