

るため、これは腐植酸の調製法または分解法に原因するものと思われる。他方、コハク酸、グルタル酸、フロログルシンは本研究では検出されたが、Neyroudらは検出していない。

本研究の結果は、また、Jakabら(40)の結果とも異なっていた。

分解生成物の種類と収量が異なることの原因については、同一の試料について、各種の分解、抽出、分析条件を適用して検討する必要があるものと思われる。

3) KOH分解生成物による腐植酸の構造の推定

市販リグニン(リグノスルホン酸)はその重量の2.26%のプロトカテキユ酸を生成し、コハク酸、グルタル酸、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸も生成したが、それらの収量はプロトカテキユ酸に比べ、はるかに低かった(表14)。コハク酸およびグルタル酸が少量

Table 12. Yields of KOH degradation products from various soil humic acids.

Humic acids			Yields (mg/g) of products*											
Type	No.	RF	Succi.	Glutar.	p-H.b.	Phlo.	Vanil.	Proto.	Dih. _{ms}	Gallic.	Total	- Ether- extracts	Succi. Proto.	
A	2	Temmondai	144	4.72	1.02	0.74	0.22	0.56	1.44	tr.	tr.	8.70	120	3.28
	4	Inogashira	138	5.86	1.39	0.87	0.19	0.35	1.17	tr.	tr.	9.83	134	5.01
	12	Kinshozan P	92	6.80	1.19	1.80	0.62	0.60	4.34	0.36	0.31	16.0	203	1.57
	13	Komagahara	89	8.28	1.01	2.09	0.23	0.74	6.66	tr.	tr.	19.0	261	1.24
B	18	Kuragari	61	11.42	1.74	2.19	2.36	0.79	5.60	0.38	0.15	24.6	224	2.03
	19	Kinshozan F	60	12.10	2.25	2.98	1.89	0.92	6.44	0.82	0.81	28.2	245	1.87
	40	Hichiso	51	14.2	3.56	2.18	4.23	0.50	4.23	tr.	tr.	28.9	349	3.36
	21	Higashiyama (A)	47	6.90	1.38	1.86	4.18	1.01	7.07	0.69	0.25	23.3	304	0.976
Rp(1)	29	Sanage	32	6.74	2.63	4.64	0.69	1.27	7.72	2.90	1.45	28.0	253	0.873
	32	Kinshozan OH	29	10.52	2.90	4.96	0.38	1.51	9.14	1.74	0.97	32.1	222	1.15
	35	Gifu	22	10.22	2.96	5.84	0.81	1.36	7.67	3.00	1.35	33.2	258	1.33
	36	Anjo	21	11.24	2.72	7.13	0.39	1.31	13.3	1.18	0.29	37.6	260	0.845
Rp(2)	33	Higashiyama (L)	23	8.19	1.56	2.38	5.74	1.22	10.27	1.15	0.24	30.8	382	0.798
	38	Kisokoma (F)	20	8.57	1.78	1.99	3.92	1.23	7.28	1.03	0.27	26.5	375	1.18
Po	26	Onobaru	39	9.94	1.69	3.49	2.73	0.57	4.81	0.55	0.47	24.3	229	2.07
P+++	1	Tsubame Pg	202	7.28	0.73	1.52	0.04	0.16	4.09	tr.	tr.	13.8	184	1.78
P++	11	Tsubame	94	7.28	1.68	1.40	0.11	0.48	2.32	tr.	tr.	13.3	203	3.28
		Max. yield		14.2	3.56	7.13	5.74	1.51	13.3	3.00	1.45	37.6	382	
		Min. yield		4.72	0.73	0.74	0.04	0.16	1.17	trace	trace	8.70	120	
		Mean yield		8.83	1.89	2.83	1.69	0.86	6.09	0.81	0.39	23.4	247	

** See the foot note of Table 11, 2).

401

Table 14. Yields of KOH degradation products from humic acid and two fractions of a Fulvic acid of Hishiso soil and those from related compounds.

Table 13. Correlation coefficients¹⁾ between the yields of each degradation product and RF values of soil humic acids (A) and between the yields of each degradation product and that of protocatechuic acid from soil humic acids (B).

	Degradation products ²⁾									Ether extracts	Succi. Proto.
	Succi.	Glutar.	p-H.b.	Phl.	Vanil.	Proto.	Dih.m.	Gallic	Total		
A ³⁾	-0.536*	-0.592*	-0.683**	-0.448 ^{N.S.}	-0.774***	-0.809***	-0.645**	-0.514*	-0.927***	-0.764***	0.744***
B ⁴⁾	0.380 ^{N.S.}	0.433 ^{N.S.}	0.778***	0.258 ^{N.S.}	0.832***	1	0.593**	0.425 ^{N.S.}	N.D.	N.D.	N.D.

1) Significant at ***: 0.1 % level, **: 1 % level, *: 5 % level, N.S.: regarded not significant because probability > 5%, N.D.: not calculated because unnecessary.

2) See the foot note of Table 11, 2).

3) n=15, Tsubame Pg and Tsubame humic acids were excluded because of the absorption by Pg at 600 nm.

4) n=17

Hydroquinone H.A.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Commercial lignin	2.19	0.67	0.57	0	1.63	22.6	1.73	0	0
Rutin	7.03	0	6.39	76.8	0	45.1	0	0	0
Wattle tannin	5.88	0	0	24.1	0	46.2	0	0	0
Chestnut tannin	3.28	0	0	0	0	3.82	0	87.2	0
Tannic acid	2.30	0	0	0	0	1.90	0	438	0

See the foot note of Table 11, 2).

Table 14. Yields of KOH degradation products from humic acid and two fractions of a fulvic acid of Hichiso soil and those from related compounds.

	Yields (mg/g) of products*									Ether- Total extracts	Succi Proto
	Succi.	Glutar.	p-H.b.	Phlo.	Vanil.	Proto.	Dih.m.	Gallic			
FAs and HA of Hichiso soil											
Hichiso FA-Fr.B ₄	17.8	2.43	6.47	1.77	3.17	8.57	tr.	tr.	40.2	264	2.08
Hichiso FA-Fr.D ₁	14.9	1.53	5.03	1.33	2.39	6.85	tr.	tr.	32.0	296	2.18
Hichiso HA	14.2	3.56	2.18	4.23	0.50	4.23	tr.	tr.	28.9	349	3.36
Related compounds											
Polymaleic acid	43.4	0	0	0	0	0	0	0			
Glucose humic acid	9.25	1.04	0	0	0	0	0	0			
Glucose humin	9.20	0.92	0	0	0	0	0	0			
Glucose	10.5	0	0	0	0	0	0	0			
Hydroquinone H.A.	0	0	0	0	0	0	0	0			
Commercial lignin	2.19	0.67	0.57	0	1.63	22.6	1.73	0			
Rutin	7.03	0	6.39	76.8	0	45.1	0	0			
Wattle tannin	5.88	0	0	24.1	0	46.2	0	0			
Chestnut tannin	3.28	0	0	0	0	3.82	0	87.2			
Tannic acid	2.30	0	0	0	0	1.90	0	438			

* See the foot note of Table 11, 2).

ながら生成したことは、後述するように、試料中の炭水化物によるものと推定される。

他方、Shindoら(35)は、稲わらのミルドウッドリグニン(MWL)を同じくKOH分解し、*p*-ヒドロキシ安息香酸3.5%、バニリン酸2.0%、シリンガ酸3.6%、プロトカテキエ酸1.1%を検出している。

リグニンのKOH分解生成物の量比はこのように植物の種類によって異なっていたが、これらの結果は、同じく腐植酸のKOH分解生成物中にも検出された*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、プロトカテキエ酸、3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸が、腐植酸中のリグニン様構造部分から由来していることを示唆している。3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸は、シリンジル基の部分的脱メチル化によって生成したものと推察される。

表12に、各種腐植酸のKOH分解生成物の収量を示した。これらの分解生成物のうち、*p*-ヒドロキシ安息香酸の収量は、森林土壌から

得た腐植酸 (Nos. 18, 21, 33, 38, 40) では低く, 草本植生の土壌から得た腐植酸 (Nos. 19, 26, 29, 32, 35, 36) では高かった。この結果は, *p*-ヒドロキシ安息香酸の収量が針葉樹から得た市販リグニンでは低く, 稲わらの MWL では高いという上述の結果とも一致している。

表 13 に, 各種分解生成物の収量と RF の間の相関係数を示した。ただし P_{+III} 型腐植酸は, RF に対する P_g 色素の影響が大きいため, 回帰分析から除外した。

フェニール性酸の収量は, 腐植酸の腐植化度が高くなるほど減少した。プロトカテキユ酸 (1.17 ~ 13.3 mg/g), バニリン酸 (0.35 ~ 1.51 mg/g) の収量と RF の負の相関は 0.1% 水準で有意であった。*p*-ヒドロキシ安息香酸 (0.74 ~ 7.1 mg/g), 3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸 (痕跡量 ~ 3.00 mg/g) の収量と RF の負の相関は 1% 水準で有意であった。エーテル抽出画分の総量, および同定化合物

の総量もまた、RFに対して0.1%水準で有意な負の相関を示した。

先に、第3章で、腐植酸中のメトキシル基含量はRFの増大とともに急速に減少することを示した。KOH分解によるフェニール性酸の収量のRFの増大にともなう減少はメトキシル基含量の場合ほど著しくない。従って分解生成物の収量の減少から推察される腐植酸中のリグニン様構造の分解は、脱メチル化ほど急速には進行しないものと推察される。

表13には、各種分解生成物の収量とプロトカテキユ酸の収量との相関係数も示した。プロトカテキユ酸の収量は、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、および3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸の収量との間には非常に高い正の相関を示したが、コハク酸、グルタル酸、フロロゲルシン、および没食子酸の収量との間には有意な相関を示さなかった。

このことは、プロトカテキユ酸、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、3,4-ジヒドロキシ

シ-5-メトキシ安息酸は、腐植酸中の同一構造部分すなわちリグニン様構造部分から由来し、その他の分解生成物は、リグニン様構造部分以外の部分から由来していることを示唆している。

土壌腐植酸のKOH分解によるコハク酸の収量は、Rp(2)、Rp(1)、B型の順に増加したが、A型腐植酸の間ではRFが高くなるほど減少した(表12)。コハク酸の収量とRFの間の負の相関の有意性は、上述のフェニール性酸の収量とRFの間の負の相関よりも低く、5%水準であった(表13)。またコハク酸とプロトカテキユ酸の収量の比は、RFの増大とともに増大し、RF値に対して0.1%水準で有意な正の相関を示した(表13)。これは、コハク酸の由来する構造部分が、プロトカテキユ酸の由来する構造部分よりも安定であり、腐植化過程を通じてゆっくりと分解されることを示唆している。

他方、コハク酸とグルタル酸の収量の間

も、非常に高い正の相関 ($r = 0.772^{***}$, $n = 17$) が認められた。従ってコハク酸とグルタル酸は腐植酸中の同一構造部分から由来することが推察される。

コハク酸は、グルコース腐植酸およびグルコースヒューミンの KOH 分解による主要生成物であった (表 14)。コハク酸はまたグルコース、および各種の糖残基を持つ化合物、タンニン酸、チェスナットタンニン、ワットルタンニン、ルチン等からも生成した。ポリマレイン酸は、その重量の 4.34% に相当するコハク酸を生成した。この収率は、本研究で検討した各種関連化合物のなかでは最高であった (表 14)。ちなみに Anderson ら (38) は、ポリマレイン酸の元素組成、IR スペクトル、酸加水分解生成物が、土壌フルボ酸のそれと類似していることを指摘している。

グルタル酸もまた、グルコース腐植酸およびグルコースヒューミンの KOH 分解により生成した。しかしグルタル酸は、グルコース、

糖残基を有する化合物，ポリマレイン酸等からは生成しなかった（表14）。また，6N塩酸中で加熱したグルコース腐植酸からのグルタル酸の収量は，未処理グルコース腐植酸からの収量よりも大きかった（表11）。これらの結果から，グルタル酸は土壤腐植酸中の糖の褐変重合体から生成するものと推定される。

コハク酸は，糖の褐変重合体以外にも，糖および糖残基を持つ化合物，ポリマレイン酸等からも分解生成した。しかし腐植酸中の糖含量（0.16～5.1%，第4章，図21）は，コハク酸の生成量のすべてを説明するためには少なすぎるものと思われる。またポリマレイン酸と土壤中の腐植物質との構造の類似性に対しては，まだ十分な証拠が得られていないものと思われる。上述のように，コハク酸とグルタル酸の収量の間には非常に高い正の相関が存在することから，コハク酸もまたグルタル酸と同様に，腐植酸中の糖の褐変重合体部分から生成するものと推定される。

土壤腐植酸の KOH 分解によるフロログルシンの収量 (0.19 ~ 5.74 mg/g, 表 12) は, RF との間に関連を示さなかった (表 13)。フロログルシンの収量は, 森林土壤から得た腐植酸 (Nos. 18, 21, 33, 38, 40) では高く, その他の腐植酸では低かった (く 0.81 mg/g, 表 12)。各種関連化合物のなかでは, フットルタンニン (モリシマアカシヤの樹皮から抽出した縮合型タンニン) およびルチンが, 分解によってフロログルシンを生成した (表 14)。フラボノイドや縮合型タンニンは, 森林では, 落葉, 落枝, 腐朽木等から, 土壤中に多量に供給されるものと思われる。従って, 土壤腐植酸の KOH 分解によるフロログルシンの収率は, 土壤中へのフラボノイドや縮合型タンニンの供給量の違いを反映したものと推察される。

七宗ポドソル Bh 層土壤においては, フルボ酸分画試料からよりも腐植酸のほうから多量のフロログルシンが生成した (表 14)。これ

は、フラボノイドや縮合型タンニンが、腐植酸と同様に、アルカリには可溶であるが酸には難溶性であることにもよるものと思われる。また、 0.1 N NaOH と 0.1 N NaF で逐次抽出された腐植酸（金生山OHと金生山F，表12）を比べると、フロロゲルシンは、 0.1 N NaF で後に抽出された金生山F腐植酸のほうから多量に生成した。 NaF で抽出される腐植酸は土壤中でカルシウムと結合していたものと考えられ、従って、フラボノイドや縮合型タンニンは、土壤中で錯体形成によって安定化されるものと推察される。

土壤腐植酸の KOH 分解による没食子酸生成量（痕跡量 $\sim 1.5\text{ mg/g}$ ，表12）は低かったが、RFに対する負の相関は、5%水準で有意であった（表13）。主としてガロイル残基によって構成される、タンニン酸、4-エスナットタンニンのような加水分解性タンニンは、 KOH 分解によって多量の没食子酸を生成した（表14）。しかし、加水分解性タンニンは土壤中

で容易に酸化重合を受けるため、その土壌腐植酸の構造に対する寄与率は小さいものと推定される。没食子酸の生成に対しては、リグニン構造中のシリンジル残基の寄与も考えられる。

ハイドロキノンから調製した人工腐植酸は、KOH分解によりハイドロキノン(44.9 mg/g)およびゲニケジニ酸(2,5-ジヒドロキシ安息香酸, 11.2 mg/g)を生成し、その他の化合物はガスクロマトグラフィーでは検出されなかった(表14)。ハイドロキノンを直接KOH分解したところ、59%のハイドロキノンが回収された。

4) 七宗ポドソルBh層土壌の腐植酸およびフルボ酸分画試料のKOH分解生成物

七宗ポドソルBh層土壌から得られた腐植酸とフルボ酸分画試料のKOH分解生成物を比較した(表14)。腐植酸とフルボ酸分画試料からは同種の分解生成物が得られたが、個々の

分解生成物の収量には差があった。p-ヒドロキシ安息香酸，バニリン酸，プロトカテキェ酸，コハク酸はフルボ酸分画試料のほうから多量に生成した。他方，グルタル酸とフロログルシンは，フルボ酸分画試料よりも腐植酸から多量に生成した。フルボ酸中には，土壤中で分解され可溶化されたりグニン成分や炭水化物が，腐植酸中よりも多量に含まれているものと推察される。グルタル酸は，糖の褐変重合体から生成するものと推定され，従って腐植酸のほうから多量に生成したものと思われる。フロログルシンの収量が腐植酸のほうに多かったのは，既に述べたように，フラボノイドや縮合型タンニンが酸に難溶であることによるものと推定される。

七宗ポドソルBk層土壤フルボ酸の主要な2画分，Fr. B₄とFr. D₁の間では，KOH分解生成物の量的組成は類似していた。しかし，それらの収率は，極性の低いFr. B₄のほうが，極性の高いFr. D₁よりも高かった。

結論

土壌腐植酸の KOH 分解による主要生成物は、プロトカテキエ酸、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸等のフェニール性酸であった。これらのフェニール性酸は、腐植酸中のリグニン構造から生成するものと推定した。また個々のフェニール性酸の量的組成は、植生の違いを反映した。主要分解生成物であるコハク酸とグルタル酸は、腐植酸の場合には、主として糖の褐変重合体から生成するものと推定した。以上の分解生成物は、腐植酸の腐植化度が高くなるほど生成量が減少した。

腐植化度の低い腐植酸の化学構造には、リグニン、炭水化物、糖の褐変重合体、タンニン類を含め、各種の植物遺体の成分、微生物の遺体や代謝産物が大きく寄りしているものと推察される。しかし、腐植化の進行にともなって、これらの構造部分は、易分解性部分の分解消失とあいまって、酸化、縮重合を受

け、安定な暗色無定形の重合物へと変換されるものと推定される。この構造は KOH 分解に対しては安定で、同定可能な低分子化合物を生成しないものと思われる。

分解生成物中のフロログルシンは、腐植酸の構造にフラボノイドや縮合型タンニンが寄り添っていることを示した。この収量は森林土壌の腐植酸で多かった。

没食子酸は、加水分解性タンニンおよびリグニンから生成するものと推定したが、腐植酸からの収量は低かった。

要約

土壌腐植酸 17 点、土壌フルボ酸の分画試料 2 点、リグニン、タンニン類、フラボノイドおよび各種人工腐植物質を、濃 KOH 水溶液中で 180 °C で分解した。腐植酸、フルボ酸の分解生成物としては、コハク酸、グルタル酸、フロログルシン、p-ヒドロキシ安息香酸、および

び没食子酸が検出された。これらの分解生成物の収量，量的組成と，腐植化度および土壌の種類との関連について考察した。

コハク酸およびグルタル酸は，腐植酸の場合には，糖の褐変重合体から生成するものと推定した。ただしコハク酸は，未褐変の糖類，糖残基を持つ各種化合物，およびポリマレイン酸からも生成した。p-ヒドロキシ安息香酸，バニリン酸，プロトカテキユ酸，3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸は，主として腐植酸中のリグニン構造に由来するものと推定した。これらのフェニール性酸の量的組成は，木本植生と草本植生の土壌で異なっていた。

没食子酸は，加水分解性タンニンおよびリグニンから KOH 分解により生成するが，土壌腐植酸からの収量は低かった。土壌腐植酸からの上記の分解生成物の収量は，腐植化度が高くなるほど減少した。フラボノイドや縮合型タンニンの分解生成物であるフロログルシンは，土壌腐植酸からも生成した。その収量

はRFと有意な相関を示さず、むしろ植生と関係し、森林土壌の腐植酸から多量に生成した。

前章までに、腐植酸の構造にはリグニン、多糖類およびその縮変重合体、タンパク質、フラボノイド等がかなり含まれるが、それらは腐植化の進行とともに減少することを示した。これらに代って、暗色無定形の安定な高分子重合物が、腐植化の進行とともに腐植酸中に増加する。腐植酸の可視部吸収は、腐植酸中のこの暗色無定形高分子によるところが非常に大きい。以後の章では、腐植酸の暗色高分子の化学構造に関する知見を得ることを主要な目的として、腐植酸の紫外および可視部吸収と化学構造の関係について検討を行う。本章では、腐植酸の吸光度-曲線から腐植酸中の解離基のpKの分布、解離様式等について考察する。