

これらの結果から、腐植化度の低い腐植酸の共役二重結合系には比較的未変化のリグニン構造が寄生しており、その共役系の影響は可視部の波長へはあまり及んでいないことが推定された。また、腐植化の進行にともなう腐植酸に固有の共役二重結合系の形成が進み、その可視部吸収への影響が増大することが推定された。

pH 7 から 12.4 への pH 変化にともなう 600 nm の吸光度の増加率は、いずれの型の腐植酸でも非常に高く、40~50% を示した(表17)。従って、フェニール性水酸基は、いずれの型の腐植酸の可視部吸収にも非常に大きく寄生していることが推定された。

腐植酸の可視部吸収に対するカルボニル基の寄生については、キノンの寄生とキノニ以外のカルボニル基の寄生を別々に考えるため、 NaBH_4 還元とともに $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 還元を行なった。

pH 7 での $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 還元による差スペクトルの可視部のピークは、腐植化の進行にともな

って長波長側へ移動した。このことから、腐植酸中のキノンが関与する共役二重結合系は腐植化の進行にともなって長くなることが推定された。(第8章)。

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 還元した腐植酸の ΔE (pH 12.4 - 7) スペクトルによっても、腐植化の進行とともに腐植酸中のキノンの関与する共役系が増加することが推定された(第8章, 図37)。

0.1 N NaOH中での $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 還元では、腐植化度が高くなるほど600 nmの吸光度の減少率が小さくなり、大部分のA型腐植酸では還元によってかえって可視部吸光度が増加した。

この現象は、キノンの還元により生成したフェニール性水酸基が0.1 N NaOH中で解離し深色効果を示すことによるものと推定した。

上述のように、キノンの関与する共役系は腐植化の進行とともに発達していることが推定されたにもかかわらず、pH 7の緩衝液中での $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 還元による600 nmの吸光度の減少率も、0.1 N NaOH中での還元の結果と同様に、

腐植化度が高くなるほど減少した。この結果は、腐植化の進行にともない、キノコの関与する共役系が他の共役系との共役の度合いを高めることによるものと推定した(第8章)。

すなわち、キノコは $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ で還元されても生成物がジフェニールであるため共役系を切断しない。従ってキノコの関与する共役系が他の共役系と共役して長くなれば、それだけキノコの還元が吸光度に及ぼす影響は減少するものと推定した。

他方、 NaBH_4 還元による 600 nm の吸光度の減少率は、いずれの型の腐植酸でも大きく、20ないし80%を示した。(表18)。これは、 NaBH_4 がカルボニル基を対応するアルコールに還元し、カルボニル基の位置で共役系を切断するためと推定した。

腐植酸中のカルボニル基の関与する共役二重結合系の性質には、土壌の種類の違いがかなり影響した。石灰質土壌の腐植酸中のキノコはその他のカルボニル基やカルボニル基以

外の二重結合と高度に共役していること、お
 よびこのような共役系が可視部吸収に大きく
 寄与していることを推定した。他方、水田土
 壌の腐植酸のカルボニル基共役系は比較的単
 純なキノン共役系で、水田土壌の還元的環境
 を反映して、可視部吸収に対する寄与率は小
 さいことを推定した。森林土壌A₀層の腐植酸、
 P₁~₁₁型腐植酸、ハイドロキノンおよびグルコ
 ースから調製した人工腐植酸等の可視部吸収
 に対しては、他の種類の二重結合とあまり共
 役していない単純なキノン共役系が大きく寄
 与していることを推定した(第8章)。

カルボキシシル基の解離もまた、腐植酸の紫
 外および可視部吸光度に影響を及ぼし、その
 影響は、腐植化度が高くなりカルボキシシル基
 含量が増加するほど増大した(図33, 表17)。
 しかし一般にカルボキシシル基を多量に含むフ
 ルボ酸が非常に微弱な可視部吸収しか示さな
 いことから明らかのように、カルボキシシル
 基はフェニール性水酸基やカルボニル基と異

なり、腐植酸の紫外部および可視部吸収の直接の原因にはなっていないものと推定される。

高分子物質の分子が規則的構造をとって、芳香族の構造部分が互いに接近しているときよりも、分子が分散しランダムな構造をとって、芳香族構造部分が互いに離れているときのほうが吸光度が大きいこと (hyperchromicity) は、ポリペプチド、核酸等の例で知られている (50)。また、腐植酸の分子は pH が上がると分散し、下がると会合することが報告されている (49)。従って、酸性域での pH 変化にともなう腐植酸の吸光度変化は、腐植酸分子の会合 - 分散現象と関連するものと推定した (第 7 章)。

6. 腐植酸と各種関連物質

(1) リグニン

腐植酸は KOH 分解生成物としてリグニンと同種のフェニール性酸を生成し、その生成量は腐植化の進行とともに徐々に減少した。また

R_p 型腐植酸の ΔE (pH 12.4 - 7) および ΔE ($NaBH_4$) 等の差スペクトルもリグニンと同じ波長にピークを示した。腐植酸の安定成分であるリグニンの骨格構造は、 R_p 型腐植酸の段階ではまだそれほど分解されず、 R_p (I) から B を経て A 型に到る腐植化過程で徐々に分解されるものと推定される。またメトキシル基の減少は、 KOH 分解物中のフェニール性酸の収量の減少よりも速かに進行した。脱メチルによって生成したフェニール性水酸基は、キノンへの酸化および酸化的重合などにより暗色高分子物質へと変換されるものと推定される (第 3 章, 図 13)。また、 KOH 分解による p -ヒドロキシ安息香酸の生成量は、森林土壌の腐植酸よりも草本植生の土壌の腐植酸のほうが多かった。これは草本植物と木本植物の間のリグニンの構造の差異を反映したものと推定した (第 5 章) (32)。

(2) フルボ酸

本研究で供試したフルボ酸は、1 土壌 (七

宗ポドソルBh層)のフルボ酸のさらに分画された2画分にすぎないので、腐植酸とフルボ酸の関係についての一般的な知見は得られない。しかし本研究で用いた試料に関する限り、KOH分解生成物は腐植酸とフルボ酸で全く一致した。ただしコハク酸、各種フェニール性酸の収量はフルボ酸のほうが多く、グルタル酸、フロログルミンは腐植酸のほうが多かった(第5章)。

他方、各種の差スペクトルについては、 ΔE (pH 7-1) スペクトルが腐植酸と同じ波長にピークを示したほかは、 ΔE (pH 12.4-7) スペクトルと ΔE (NaBH₄) スペクトルは、腐植酸ともまたリグニンとも異なっていた。本来フルボ酸は、腐植酸と比べて可視部吸収が著しく微弱であるが、その紫外および可視部吸収に関与する構造は腐植酸とはかなり異なっているものと推定される。

(3) グルコースから調製した人工腐植酸

腐植酸のKOH分解生成物中に、多量のコハ

フ酸およびグルタル酸が検出された。これらのジカルボン酸は、人工的に調製したグルコース腐植酸およびグルコースヒューミンからも同程度生成した。コハク酸は、ほかにも未褐変の糖類、ポリマレイン酸等からも生成したが、グルタル酸はグルコース腐植酸およびグルコースヒューミンのみから生成した。従って、コハク酸およびグルタル酸は、腐植酸中の糖の褐変重合部分から生成したものと推定した。また、Rp (I) 型およびB型腐植酸からはコハク酸およびグルタル酸の生成量が多く、腐植化が進んだA型腐植酸からの生成量は少なかった。糖から生成する暗色物質は、主として腐植化過程の初期ないし中期にある腐植酸中に多く含まれるものと推定される(第5章)。

(4) ハイドロキノニから調製した人工腐植酸

ハイドロキノニ腐植酸は KOH 分解によってハイドロキノニとゲンキジン酸(2,5-ジキド

ロキニ安息香酸)を生成し、土壤腐植酸と共通する生成物は与えなかった。しかし測定した4種の差スペクトルは、いずれも可視部に大きい示差吸収帯を持つ点で、A型腐植酸および $P_{\sim III}$ 型腐植酸と共通していた。(第7, 8章)。また還元による吸光度の変化率から、ハイドロキノニ腐植酸ならびにA型および $P_{\sim III}$ 型腐植酸の可視部吸収にはいずれもキノニが大きく影響を及ぼしていることが推定された。ただし、A型腐植酸中のキノニはキノニ以外のカルボニル基およびカルボニル基以外の二重結合と共役した複雑な共役系を構成しているが、ハイドロキノニ腐植酸および $P_{\sim III}$ 型腐植酸は、主としてキノニから構成される比較的単純な共役系を持っていることが推定された(第8章)。

熊田(52)は、ハイドロキノニ、グルコースをはじめとする各種の材料から調製した人工腐植酸の諸性質を土壤腐植酸と比較し、紫外および可視部吸収スペクトルが土壤腐植酸

とかなり類似する人工腐植酸であっても、非褪色性と酸化剤に対する抵抗性は土壤腐植酸にはるかに及ばないことを述べている。

土壤腐植酸と人工腐植酸の可視部吸収の褪色性の違いや構造の安定性の違いに対しても、上に述べたような、キノンとキノン以外の二重結合系の共役の程度の違いが影響を及ぼしているものと推定される。

(5) ポリマレイン酸

Andersonら(38)は元素組成、赤外吸収スペクトル、酸加水分解生成物等を根拠に、ポリマレイン酸と土壤フルボ酸の構造的類似性を主張している。本研究でも、ポリマレイン酸をKOH分解したところ、土壤腐植酸、フルボ酸と同様に、コハク酸を多量に生成した。コハク酸はほかの関連物質(グルコース腐植酸、グルコースヒューミン、グルコース、糖残基を含むフラボノイドおよび加水分解性タンニン)からも生成したが、ポリマレイン酸

からは最も多く、グルコース腐植酸、グルコースヒューミンの4.5倍程度生成した。またコハク酸の生成量は、七宗ポドソルBk層土壤に関する限り、腐植酸よりもフルボ酸分画試料のほうから多く生成した。また、ポリマレイン酸と同様の溶解性（アセトン可溶・エーテル不溶）を示す画分も、土壤フルボ酸中に多量に存在した（第5章）。

ポリマレイン酸の可視部吸収は腐植酸と比べて微弱であり、各種の差スペクトルの形状も腐植酸とは異なっていた。ポリマレイン酸とフルボ酸分画試料Fr.B4およびFr.D₁の ΔE （pH7-1）、 ΔE （NaBH₄）等の差スペクトルは類似した形状を示したが、主要ピークの波長は異なっていた（第7、8章）

ポリマレイン酸とフルボ酸の間には各種の類似点が認められたが、フルボ酸中にポリマレイン酸が存在することを示すためには、以上の結果は不十分である。また、ポリマレイン酸のようなポリマーが土壤中で生成するた

めの条件，機構についても不明である。

7. 総括

腐朽植物遺体の分解過程と対応して，腐植酸画分中には加水分解性窒素を始めとする各種微生物代謝物が増加することが示された。また，腐植酸中のリグニン構造および糖成分含量はこの過程ではあまり変化しなかった。土壌中での腐植化の進行に伴ない加水分解性窒素，リグニン，糖類の各成分は減少し，代わりに，不飽和度が高く，カルボキシル基，カルボニル基，フェノール性水酸基に富む暗色高分子物質が増加した。キノンおよびフェノールは腐植酸の可視部吸収に対し重要な役割を果たしていることが示された。また，腐植酸中のキノンは，腐植化度が高くなるほど他の二重結合系との共役の程度を増大することが示された。このようにして形成された土壌腐植酸中の共役系は土壌腐植酸に固有のものであり，他の関連物質とは異なっていた。