

7 土 壌 有 機 物

筒 木 潔

1 土 壌 有 機 物 と は

「土は生きている」といわれる。物理的・化学的に風化した岩石に最初は単純な生物が棲み始め、生物自体が生活環境を改変することによって、より高度で複雑な生物集団の生活が可能となってゆく。土壌の生成は、このような微生物・植物・動物を含めた生物の働きを除外しては考えられない。土に依存して生活した生物は死して生物遺体となる。生物遺体を構成する有機物は、一定期間地上または地中に滞留して土の有機物となり、次世代の生物の栄養源となり、または自らが生活した土壌環境を改変する。したがって、生物が土壌の生成にとって不可欠であるならば、まったく同じ意味で、有機物は土壌の不可欠の一要素であるといえることができる。

土壌中に存在する有機物は、大きく分類して

- ① バイオマスを構成する生きた微生物および動物集団および植物根
- ② 新鮮な植物遺体および易分解性の有機物
- ③ 生物の攻撃に対してかなり安定な腐植物質

の3種類から成っており、どこからどこまでを土壌有機物と定義するかは、各研究者の主観的な判断に依存するところが大きい。

Stevenson¹⁾ およびその他の多数の研究者は、土壌有機物を、未分解の植物および動物の組織とそれらの部分的な分解産物および土壌のバイオマスを除外した土壌中の有機成分の総体であると定義している。

この定義は確かにもっともであるが、土壌の分析に先立って土壌から植物残渣(とくに細根)やバイオマスの微小なものを除くことは非常に困難である。したがって、より実際的な立場に立つならば、土壌有機物とは大型動物や大型植物遺体を除いた、バイオマスを含む土壌中の全有機成分を指すものとしたほうがよい。

腐植物質・非腐植物質という用語に対しても同様な議論がある。生物体中の糖・タンパク質・脂質・核酸などの生体成分が非腐植物質であることは論を待たないが、これらの物質が生物体内の代謝経路から離れて土壌中に安定に存在する場合、これを土壌有機物や腐植物質の範疇から除外するのは理にかなっているだろうか。また、非腐植物質がどの程度化学的に変化したら腐植物質と呼ぶるかといった基準も存在しない。

7 Organic Matter

Kiyoshi TSUTSUKI (名古屋大学農学部)

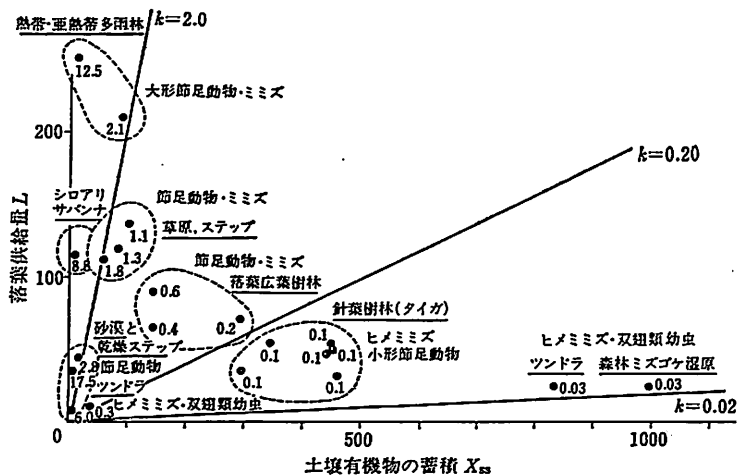


図1 主要な生態系型の落葉供給量(L), 土壤有機物の蓄積(X_{ss}), 分解率 $k=L/X_{ss}$ および主要な分解動物群, 図中の数字はそれぞれの地点での k の値を示す。

土壤に固有の有機物である腐植物質は確かに存在する。しかし、それは現在のところ研究者の概念の中のみが存在するのであって、土壤から純粋な腐植物質を手にした研究者はまだ1人もいないと思われる。

2 土壤有機物の集積形態

土壤有機物は、植物が光合成により生産した有機物が土壤動物や微生物の働きで再び炭酸ガスへと分解されていく途上で、土壤の各種成分や土壤環境の作用で一時的に安定化されて土壤中に滞留しているものと考えることができる。しかし、土壤有機物の安定度、土壤中への蓄積量、腐植化の進行程度などは、気候、植生、土壤の物理的・化学的性質をはじめとする各種の要因によって大きく変動する。

図1は、主要な生態系型の落葉供給量と土壤有機物の蓄積量の関係を示したものである²⁾。熱帯・亜熱帯の多雨林では毎年の落葉供給量は非常に高いにもかかわらず、土壤中には1年間の落葉供給量の1/2以下の有機物量が蓄積しているにすぎない。他方、森林ミズゴケ湿原では毎年の落葉供給量は非常に低いにもかかわらず、その50倍以上の有機物が土壤中に蓄積している。これらの両極端の例の間で、草原ステップ、落葉広葉樹林、針葉樹林の生態系型における落葉供給量と土壤有機物の蓄積量の関係は、この順序で規則的に遷移した。

土壤有機物の集積形態は、粗腐植型(モル型)、ムル型、およびそれらの中間段階のモーダ型に分けて説明される。

粗腐植型とは、無機質の土壤層位の上に分解途中の落葉落枝から成る厚い堆積腐植層(A_0 層)が堆積した土壤を指す。針葉樹林の土壤に多くみられ、落葉自体の成分が難分解性であることに加え、冷涼な気候も落葉の分解を遅滞させている。 A_0 層中には分解段階の異なる落葉落枝が層状に堆積し、分解の進み具合に応じて、L、F、Hの各層に区別される。無機質層位は酸性が強く、有機物の蓄積も少ない。粗腐植型土壤の特殊な一例にポドソル土壤がある。ポドソル土壤では、

A₀ 層から溶出した有機酸や比較的低分子の腐植物質が無機質層位中の Mn, Fe, Al などを錯体の形にして溶離し、下層で再び集積させる。

ムル型は落葉落枝の分解が速いため A₀ 層が薄く、無機質層位に厚い有機物集積層(A層)の形成された土壤である。しかし、ムル型土壤にも有機物の集積機構によってさまざまなものがある³⁾。主として広葉樹林下に発達しやすい微酸性の褐色森林土は酸性ムルと呼ばれ、有機物の代謝回転が速いため、A層の有機物含量はそれほど高くない。レス(第四紀の細粒風成堆積物)などの塩基に富んだ土壤母材の上には、有機無機複合体に富む厚いA層が形成される。これは富栄養ムルと呼ばれ、チェルノーゼムはこの種の土壤のうち代表的なものである。石灰岩の母材の上にも、有機物が石灰で飽和されるため暗色のA層が形成され、これは石灰岩ムルと呼ばれる。レンジナがこれに該当する。日本に広く分布する火山灰土は、アロフェンや遊離酸化鉄が強く有機物を吸着保持するため厚いA層が形成され、これは黒ボク質ムルと呼ばれる。さらに、畑土壤・水田土壤を含めた耕地土壤は、人為的に形成されたムル型土壤とみなすことができる。

日本の褐色森林土は B_A~B_F の6つの型に分類されていて、図2に示すように腐植の集積形態に違いがみられる⁴⁾。このうちB_A および B_B は上記の粗腐植型ないしモーター型に該当し、B_C~B_F は酸性ムルに該当する。B_A から B_F に至る順に無機層位中の有機物含量が増加し、A層が発達する。このような変化は地形的な要因と関連した土壤中の水分含量と対応していることが知られており、また樹林の生育や適応樹種とも深い関係をもつ。B_A・B_B 型は主として山頂部にみられ、B_C~B_E 型は斜面中腹部に、B_F 型は谷部平坦地にみられる。

泥炭土壤は、低湿地の植物遺体が恒常的な嫌気状態のもとで分解が遅れ堆積したものである。短期間の好気の状態が存在した場合や富栄養の無機物が流入した場合は泥炭の分解が進み、亜泥炭や黒泥が形成される。

最後に、火山の多い日本では火山灰層に覆われた埋没腐植層が多くみられる。埋没腐植もまた広い意味で土壤有機物蓄積の一形態である。

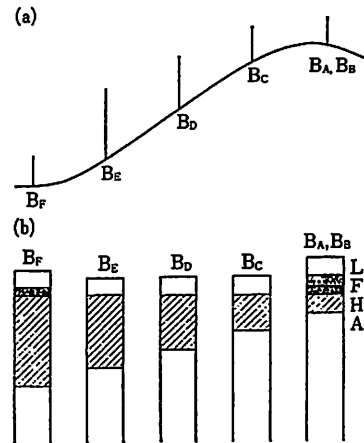


図2 褐色森林土土壤型の模式図。(a) 地形、(b) A₀ 層およびA層。縦の線は樹木の生育を示す。

3 土壤有機物の安定化機構

有機物は土壤中でどのように安定化されるのであろうか。土壤有機物の年代測定および ¹³C-NMR による土壤有機物の物質組成の解明という2つの視点から、この問題を探ってみよう。

3.1 土壤有機物の年代測定

年代は土壤有機物の安定性の直接の尺度となる。土壤の年代決定には、年代既知の火山灰の同定による方法や、埋もれ木の年輪を数えて推算する方法なども行われるが、最も一般的には ¹⁴C

表 1 土壤有機物諸画分の年代^{a)} (years before present)

画 分 名	ポドソル Bh 層, 40~55 cm	チュルノーゼム Ah 層, 40~50 cm	埋没バラレンジ ナ fA, 200 cm	低位泥炭土 Hn, 80 cm
未分画	2,470±70	2,470±70	10,600±120	7,200±120
ベンゼン抽出画分		3,220±80	4,130±100	3,920±120
メタノール抽出画分				6,380±90
ジメチルスルホキシド抽出画分				13,140±200
6M HCl 加水分解残渣		3,160±70	11,360±150	9,730±170
6M HCl 加水分解液		104.4% modern	2,510±100	7,270±140
フルボ酸		370±70	1,140±200	6,860±250
ヒマトメラン酸			1,390±70	
腐植酸	2,940±60	2,100±70	6,970±210	8,810±120
腐植酸 Sephadex G-50 排除画分	2,230±70	1,480±60	6,110±100	7,590±120
腐植酸 Sephadex G-50 浸透画分	5,410±90	2,940±90	6,830±130	7,820±90
ヒューミン		2,460±60	10,320±140	7,110±110
腐植炭		2,920±70	9,940±140	7,230±110

a) Scharpenseel⁵⁾ による。

年代決定法が行われる。

¹⁴C 年代決定法は、生物体によって有機物中に固定された ¹⁴C が固定当時の ¹⁴C 濃度から一定の半減期で減少していくことに基づいている。すなわち、西暦 1950 年を基準とした現代の ¹⁴C 濃度に対する試料炭素中の ¹⁴C 濃度の比率を A/A_0 とし、試料の ¹⁴C 年代を t 年とすれば、両者の間に

$$A/A_0 = \left(\frac{1}{2}\right)^{t/5568}$$

の関係があり、この式から t は、

$$t = -5568 \{ \log(A/A_0) / \log 2 \}$$

で求められる。なお、¹⁴C の半減期としては、国際慣例上、¹⁴C 年代決定法の提唱者である Libby の値(5568 年)が用いられている。

土壤有機物の ¹⁴C 年代は、しかしながら、植物根や地上部の堆積腐植層から溶脱して浸透する有機物、あるいは土壤動物による層位の攪乱などにより常に現代炭素が土壤中に供給されているため、試料の本当の年代よりも多かれ少なかれ若い年代を与えることが普通である。土壤有機物の ¹⁴C 年代はしたがって、土壤有機物を構成するさまざまな成分の ¹⁴C 年代を平均した見かけの平均滞留時間と解釈される。このような ¹⁴C 年代決定法の限界を逆に応用し、土壤有機物をさまざまな画分に分画しそれぞれの年代を測定すれば、どの画分がその土壤の生成した当時の年代を最もよく反映し、またどの画分が現代炭素の影響をよく受けているかが解明される。すなわち、¹⁴C 年代は土壤有機物各成分の代謝回転速度の指標となる。

表 1 は、数種の土壤の各種溶媒抽出物の ¹⁴C 年代を比較したものである⁵⁾。土壤有機物の諸画分の名称およびその定義については後述するが、フルボ酸やヒマトメラン酸は若い年代を、腐植

酸およびヒューミンは古い年代を与える傾向が認められた。ただ、植物根などの混入が想定される場合、セルロースなどの成分はヒューミンと同じ行動をとるため、ヒューミン画分の年代を若くする恐れがある。

土壤を 6 M HCl で加水分解すると、加水分解液中の炭素の年代は非常に若く、他方、加水分解残渣有機物の年代は未分解土壤有機物の年代よりも古くなる。このことから、土壤中のタンパク質や多糖類は非常に代謝回転の速い成分であることがわかる。

また、腐植酸を Sephadex G-50 により排除画分 (G-50 樹脂の網目に入らなかった大きな分子の画分、球状タンパクなら分子量 3 万以上に相当) と浸透画分 (樹脂の網目に入り込んだ分子量の小さな画分) に分画すると、分子量の大きな排除画分の年代は、分子量が相対的に低い浸透画分の年代よりも常に若かった。このことは、腐植酸中の巨大分子はリグニンや多糖類により近い構造をもち、浸透画分の成分よりも代謝回転速度が速いことを推察させる。

これらの土壤有機物各成分の ^{14}C 年代は、バイオマスに由来する若い炭素が巨大分子および低分子成分の両者に分配されることを示した。したがって、腐植物質の生成 (腐植化) は巨大分子の分解低分子化および低分子の縮重合の両方の過程によって進行することが示唆された。

図 3 は、チェルノーゼム土壤の A 層の最深部から採取した土壤を粒径によって細分画したものについて、各画分の収量、炭素の分配、炭素含量、および ^{14}C 年代を比較したものである⁶⁾。各画分の年代は粒径が小さくなるほど増大し、0.2~0.5 μm 画分で最高値を与えた。このことは、粒径の小さな画分ほど有機物と無機成分の結合が強く、したがってそれに保持された有機物が長い年月の間安定に保持されることを示唆している。画分の炭素含量も ^{14}C 年代と同様の傾向を示した。最も粒径の小さな 0.2 μm 以下の画分が多少若い年代を示したのは、この画分に分画の過程で可溶化した多糖類などが混入したことによるものではないかと推察される。

土壤を粒径によって分画すると、各画分は上記のように異なった年代を示すのみならず、糖組成、C/N 比、腐植酸とフルボ酸の比率、腐植酸の腐植化度などにおいても顕著な相違を示した^{7,8)}。おのおのの画分に含まれるバイオマス量の測定も行われ、微生物細胞はシルト画分に、微生物代謝産物は粘土画分に付随して存在することが示された⁹⁾。しかし、バイオマスと土壤の無機成分との結合は非常に複雑であり、細胞・細胞壁・代謝産物というように、生体由来の有機物を粒径分画法のみで明確に区分することは困難なことも指摘されている。

3.2 土壤の固体状態での ^{13}C -NMR

最近 CP/MAS- ^{13}C -NMR の利用により、土壤中の有機物の化学構造を、土壤から抽出しなくても解析することが可能となった。

土壤の固体状態での ^{13}C -NMR の共鳴の帰属は、溶液状態での化学シフトとほとんど異ならないとの推定のもとに、10~50 ppm はアルキル基、50~100 ppm は O-アルキル基、100~107 ppm はアセタール、110~160 ppm はアルケンおよび芳香族炭素、160~200 ppm はカルボキシル基炭素、200~220 ppm はカルボニル基炭素と帰属されている⁹⁾。各種の官能基群の間には当然かなりの重なりがあるため、このような化学シフトの分割は厳密なものではないが、土壤の相互比較のためには非常に有益である。72~75, 85~90 および 103~106 ppm 付近の共鳴は、通常炭水化物に特徴的なものとされている。このことは、土壤の酸加水分解によって、これらのピークが消

表 2 ^{13}C -NMR による土壌中の炭素の種類別概算値(%)

土壌名	アルキル炭素	O-アルキル+アセタール炭素	芳香族炭素	COOR ^{a)}	CO
Mapourika	30	44	15	10	—
Ikamatu	26	44	19	8	3
Hokitika	27	30	37	6	—
Franz X	33	40	17	10	—
Tirau	30	37	23	10	—

a) R=H, 金属イオン, アルキル基, NH.

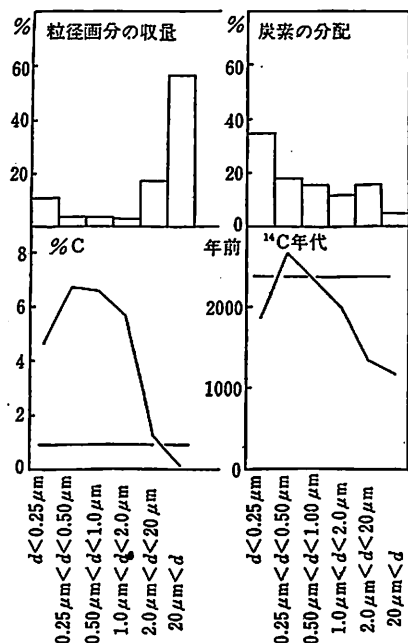


図 3 チェルノーゼム土壌 A 層最深部 (60~80 cm) 土壌の粒径画分の収量, 炭素含量, 炭素の分配および ^{14}C 年代. 炭素含量および ^{14}C 年代の図中の水平の線は未分画土壌についての値を示す.

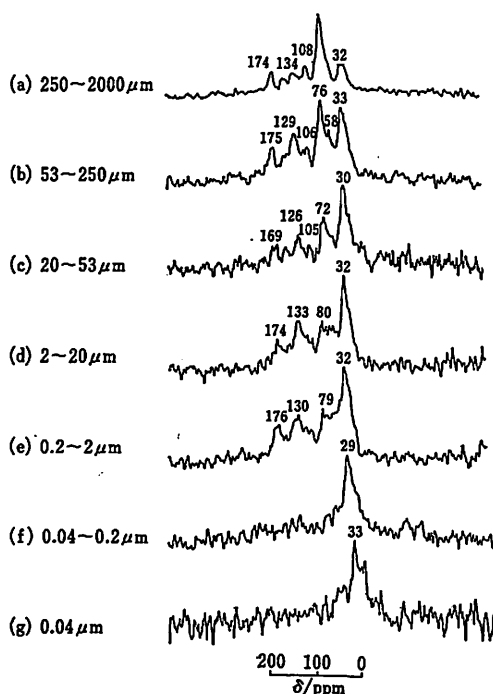


図 4 Urrbrae 微砂質土壌粒径画分の ^{13}C -CP/MAS スペクトル. 粒径はスペクトルの左に表示.

失することによっても実証されている.

表 2 はいくつかの土壌について CP/MAS- ^{13}C -NMR によって求めた土壌中の有機物の炭素の種類別の割合をまとめたものである⁹⁾. アルキル基炭素および糖に由来すると考えられる O-アルキル基やアセタール炭素の割合の多い傾向が認められ, 芳香族炭素の割合はこれらよりも低かった.

先にも例を示したように, 粒径や比重の違いにより土壌をいくつかの画分に分別する試みが最近多数行われている. CP/MAS- ^{13}C -NMR は, このような画分の分析のためにも非常に適した方法となる.

図 4 は, 土壌の各種粒径画分の ^{13}C -NMR スペクトルを示したものである⁹⁾. スペクトルから

明らかなように、72~76 および 105~108 ppm の共鳴で推定される炭水化物は、20 μm 以上の粒径の大きな画分に多く、0.2 μm 以下の非常に微細な画分には、主として脂肪族炭素 (~30 ppm) が濃縮されていた。このことから、土壌粒子の大きさは有機物の分解の程度と対応し、分解程度の低い植物組織は粗大な画分中に、他方微生物由来の物質は最も微細な画分に濃縮されているものと考えられる。

4 土壌有機物の抽出・分画・精製

土壌有機物は非常に多様な成分の混合物であるため、古くから各種の抽出・分画・精製操作が行われてきた。

土壌からの有機物の抽出には、従来、NaOH、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ などの希薄溶液が用いられてきた。0.1~0.5 M の NaOH は最もよく用いられ、土壌有機物の抽出力も最も大きい。0.1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液は Ca などの塩基に飽和された土壌から有機物を抽出する際にきわだった効果がある。抽出は普通 N_2 ガスで気相を置換して行われるが、アルカリによる試料の変質を恐れ、pH 7 の $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液を使う例もある。しかし、抽出剤の pH を下げれば土壌有機物の抽出量も減少する。また、塩基や炭酸塩に富んだ土壌の場合、あらかじめ土壌を塩酸で処理し水洗すると、その後のアルカリ抽出で土壌有機物の抽出量が増加することが知られている。

上記の抽出法は土壌有機物を解離させ、また金属イオンとの錯体結合を切ることによって有機物を抽出しようとするものである。これに対し、土壌有機物の疎水性に着目し、メタノール、エタノール、ベンゼン、アセトン、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシドなど、各種の有機溶媒も試みられているが、収量は低い。ただし、強酸性にしたジメチルスルホキシドで NaOH に匹敵する量の土壌有機物を抽出した例が最近報告されている¹⁰⁾。

土壌からアルカリなどで抽出された有機物を pH 1.5 以下の酸性にしたとき沈殿する画分を、腐植酸(humic acid)と称している。他方、このとき沈殿せず酸性溶液中に残る有機物画分をフルボ酸(fulvic acid)と称している。アルカリに不溶で、抽出されずに土壌中に残る有機物はヒューミン(humin)と称する。以上の腐植酸、フルボ酸、ヒューミンの3画分が、現代の腐植研究において最もよく取扱われている画分である。ただし、ここで注意しなくてはならないことは、これらの名称が純粋な成分に対して与えられた名称ではなく、酸・アルカリへの溶解性という一基準に基づいて分画された画分に対して与えられた名称であるということである。したがって、腐植酸、フルボ酸、ヒューミンのそれぞれも、なお非常に多様な成分の混合物である。

腐植酸は、酸による沈殿と希アルカリによる再溶解を繰返した後、微量の灰分を塩酸-フッ化水素酸混液で分解し、水洗、凍結乾燥して単離される。

腐植酸の一部はエタノールに可溶であり、このエタノール可溶部をヒマトメラン酸と称する。ヒマトメラン酸は脂質に富んだ画分である。

腐植酸のエタノール不溶部をアルカリ溶液に再溶解した後、KCl-NaCl などの電解質を 0.1 M の濃度になるように加えて、沈殿する画分を灰色腐植酸、沈殿しない画分を褐色腐植酸と称する。灰色腐植酸は褐色腐植酸よりもカルボキシル基などに由来する荷電に富み、暗色の程度も高い。

フルボ酸の精製は、腐植酸と比べて困難な点が多い。粗抽出液中に共存する無機成分と分離す

るために、透析、ゲル濾過、分子ふるい膜による濾過などが行われるが、低分子成分の損失を避けることができない。粗抽出物を減圧乾固したものからメタノールやエタノールでフルボ酸を回収する方法もあるが、灰分の完全な除去は困難である。

フルボ酸の粗抽出液を活性炭に通して吸着させ、アセトン、水、0.1 M NaOH などでフルボ酸を逐次溶出させる試みも行われている¹¹⁾。

最近、国際腐植物質学会の提唱により、フルボ酸を Amberlite XAD-8 のような芳香族性化合物と親和性の高い樹脂に吸着させ、吸着部分をアルカリで溶離して回収し、この画分のみをフルボ酸と称し、樹脂に吸着されない画分は多糖類に富むから多糖類画分と称しようとする動きがある。このような提案は、なるべく純粋な腐植物質のみに、腐植酸、フルボ酸、ヒューミンという名称を与えようとの発想に基づいているものと思われる。しかし、腐植物質と非腐植物質の明確かつ完全な分離は概念的にも実験操作上でも不可能なことであるから、筆者は、従来のフルボ酸の定義を変更することなく、樹脂に吸着する画分は吸着画分、吸着しない画分は非吸着画分と称すればよいと考えている。

フルボ酸の吸着樹脂としては、Amberlite XAD 系の樹脂以外にも、Polyclar AT(ポリビニルピロリドンの高重合体)、弱塩基性陰イオン交換樹脂 Duolite-A7 などが用いられているし、今後さらにさまざまな優れた樹脂が市販されることが期待される。

ヒューミンの精製は、フルボ酸の場合よりもさらに困難である。ヒューミンは地球化学の分野の研究者からはケロジェン(石油のもとになる物質との意味)と称され、堆積物のアルカリ抽出残渣をフッ化水素酸で処理してケイ酸塩鉱物を分解し、有機物のみを残す方法で分離されている。しかし、この方法によると、残された有機物自体も酸分解による変質を受けており、ヒューミン画分中にしばしば含まれる多糖類やタンパク質などの成分も失われることになる。

ドイツでは長い腐植物質研究の伝統を守って、ヒューミン画分中から加熱したアルカリ溶液で抽出される画分をヒューミン、抽出されない画分を腐植炭と称してきたが、この用語法は現在ではあまり使われなくなっている。

5 各種土壌の土壌有機物組成

腐植酸・フルボ酸をはじめとする土壌有機物各画分の抽出は、土壌有機物の分離精製とその物質論的な解明という目的のほか、各種の土壌で土壌有機物の量的・質的な組成を比較する目的でも行われる。この場合、各画分の抽出条件および分析条件は厳密に規定されなくてはならない。このような研究は、ソ連および戦前のドイツの研究者により精力的に行われてきたが、日本では熊田とその研究者により詳細な研究が行われた^{12,13)}。

熊田法では、有機炭素 100 mg 以下を含む土壌試料を、0.1 M NaOH 30 ml で 100°C、30 分間抽出し、抽出残渣を同溶媒 20 ml ずつで 2 回洗った後、さらに 0.1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 30 ml で 100°C、30 分間抽出し、残渣を同溶媒で 2 回洗う。0.1 M NaOH および 0.1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液によるそれぞれの抽出液は、硫酸酸性にして腐植酸とフルボ酸に分別し、それぞれの画分は定容(100 ml)に希釈する。腐植酸およびフルボ酸画分の有機物含量は過マンガン酸カリ滴定により定量し、土壌 1 g 当り換算の 0.1 N KMnO_4 消費量で表示する。腐植酸溶液については 230~700 nm の領域

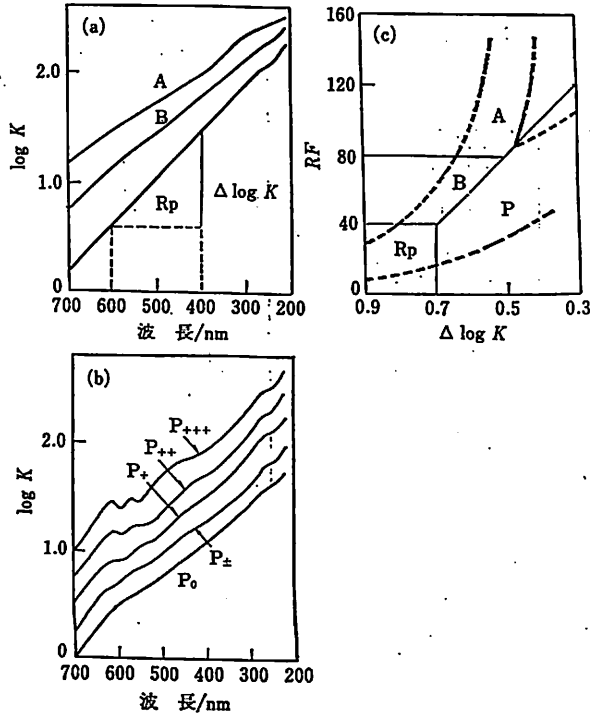


図5 腐植酸の吸収スペクトルおよび分類図。

で紫外・可視吸収スペクトルを測定し、600 および 400 nm の吸光度 (K_{600} , K_{400})* から、次式により定義される $\Delta \log K$ と RF の2つの指標を計算する。

$$\Delta \log K = \log K_{400} - \log K_{600}$$

$$RF = K_{600} \times 1000 / (\text{吸光度測定に用いた腐植酸溶液 } 30 \text{ ml 当りの } 0.1 \text{ N KMnO}_4 \text{ 消費量})$$

これらの指標は、腐植酸の長波長域の可視部吸収が腐植酸中の腐植物質の本質的な属性の一つであるとの考えから、腐植酸の腐植化度を示す指標として採用されたものである。

図5に示すように、この $\Delta \log K$ および RF 値から、腐植酸は R_p , P, B, A の4つの型に分類される。これらの型の中でP型の中にはアルカリ性にしたとき緑色を呈する腐植酸群が含まれる。この緑色腐植酸は熊田によって発見され¹⁴⁾、アルカリ溶液中で 611, 568, 445 および 280 nm に極大をもつその特異な吸収は P_g 吸収と名づけられ、4,9-ジヒドロキシペリレン-3,10-キノンの誘導体によるものであることが明らかにされた。この P_g 吸収をもつ腐植酸は多くのものがP型に属するが、これを $P_{+ \sim \#}$ 型とし、 P_g 吸収をもたないP型腐植酸は P_0 型として区別される。

また、 R_p 型腐植酸の領域には森林土壌の A_0 層や腐朽植物遺体に由来する腐植酸が含まれるが、これらは腐植酸の生成経路を考慮するうえで、無機質層位の R_p 型腐植酸とは区別したほうがよいとの考えから、前者は $R_p(2)$ 型、後者は $R_p(1)$ 型にさらに区分された¹⁵⁾。

熊田は、タイの多数の土壌についての分析結果から、0.1 M NaOH および 0.1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される腐植酸の量比および腐植酸の型の組合せは土壌の pH により支配されていることを明

* 分光化学の分野では吸光度に A を用いるが、この分野では伝統的に K が用いられている。

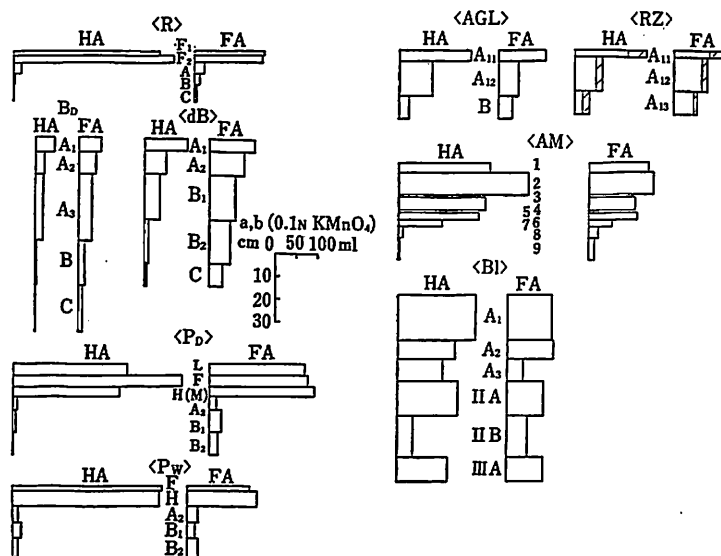


図6 数種の日本土壌における腐植酸とフルボ酸の断面分布. 斜線は $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 抽出画分. R: 赤色土, BD: 適潤性褐色森林土, dB: 暗褐色森林土, PD: 乾性ポドソル, PW: 湿性ポドソル, AGL: 高山草原土, RZ: レンジナ様土壌, AM: 高山湿草地土, BI: 黒色土.

らかにした¹³⁾. すなわち、土壌の pH が高くなるに伴って、0.1 M NaOH で抽出される腐植酸量が減少し、0.1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される腐植酸量が増加する。他方、0.1 M NaOH によって抽出される腐植酸の型は pH 6 付近で最も腐植化度の高い A 型となるが、pH がそれより高くなっても低くなっても、A, B, Rp 型の順で腐植化度が低下する。0.1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される腐植酸の型は、土壌 pH の増大に伴って Rp 型, B 型, A 型の順に変化して、腐植化が進行し、pH 5.5 以上ではほとんどが A 型であった。

図6は、日本の各種の土壌における腐植酸およびフルボ酸量の土壌断面内での変化を示したものである¹³⁾. 断面内における腐植酸とフルボ酸の分布は各種の土壌の間で著しく異なっていたが、以下のような特徴的な傾向が認められた。

赤色土および褐色森林土では腐植酸およびフルボ酸は層位の深さに伴って減少したが、腐植酸の減少の程度はフルボ酸の減少の程度よりも著しかった。とくに、暗褐色森林土ではフルボ酸量優越の傾向がさらに著しかった。

ポドソル土断面における腐植酸とフルボ酸の分布は、土壌有機物の集積形態の項で述べたポドソル土の特徴をよく表している。

高山草原土、高山湿草地土、および黒ボク土では、腐植酸量のほうがフルボ酸量よりもやや優越した。

6 腐植酸・フルボ酸・ヒューミンの化学

6.1 腐植酸

土壌有機物の中で、腐植酸は量的にも多く、また土壌固有の有機物としての性質を顕著に示す

表 3 腐植酸の元素組成(平均値)^{d)}

型	土壌の種類	試料数	重量%(無水, 無灰分重当り)				不飽和度 ^{e)}
			C	H	N	O	
A	火山灰土	7	57.8	3.73	3.13	36.1	64.9
	石灰質土壌	6	57.0	3.48	3.08	36.5	67.0
B	各種 ^{a)}	6	56.8	4.82	4.13	34.3	53.9
P ₀	各種 ^{b)}	4	57.5	6.00	4.08	32.4	42.4
Rp(1)	石灰質土壌	5	55.2	5.72	4.92	34.2	43.0
Rp(1)	水田土壌	3	55.2	5.57	5.67	33.6	45.8
Rp(2)	森林土壌 A ₀ 層	4	58.2	5.48	3.45	32.9	47.8

a) B型腐植酸は褐色森林土3点, 石灰質土壌2点, 水田土壌1点から成る. b) P₀型腐植酸は火山灰土, 褐色森林土, 石灰質土壌, 水田土壌各1点から成る. c) 不飽和度は, C, H, Nの重量%から次式によって計算した.

$$\text{不飽和度} = \frac{(C\%) - 6(H\%) + 0.429(N\%)}{(C\%)} \times 100$$

本文中に示した式は原子数比を用いての計算法であり, この式と同一のものである. d) この表の値は文献¹⁵⁾のデータから計算した.

こと, 固体粉末として得やすいことなどの理由から最もよく研究されてきた. しかし, 腐植酸は暗色無定形の高分子を主成分とする多種多様な物質の混合物であるため, その組成および構造の解明は非常に困難である. また, 腐植酸の化学的性質は土壌の種類によっても大きく異なっている.

腐植酸の最も基本的な性質として, まず元素組成を取上げる. 表3に, 筆者らが研究に用いた腐植酸の元素組成の各型ごとの平均値を示した¹⁵⁾.



A層土壌から得られた Rp(1)型腐植酸と, 森林土壌 A₀層および腐朽植物遺体から得られた Rp(2)型腐植酸を比較すると, Rp(1)型は Rp(2)型よりも窒素含量がかなり高く, 他方炭素含量はわずかに低く, 水素含量および酸素含量には有意な差がなかった. Rp(2)型から Rp(1)型への変化過程においては, 土壌生物による易分解性有機物, とくに炭水化物の分解と, これに伴う窒素含量の相対的増加が想定され, その結果窒素含量が増加したものと思われる. 菌体タンパク質の増加もまたこの結果に貢献しているであろう. また, 水素含量および酸素含量の変化がほとんどないことからわかるように, この過程では腐植酸分子の酸化はほとんど進行していない. Rp(1), P₀, B, およびA型の間では, 腐植化度の増大に伴い, 水素含量および窒素含量は著しく減少し, 炭素含量および酸素含量はわずかに増加した. この過程では腐植酸分子の酸化が著しく進行し, 不飽和結合の数も増加し, 暗色無定形高分子が形成され, 他方窒素成分は無機化によって失われてゆくものと思われる.

なお, 表中の不飽和度は, C, H, N, Oから成る有機物を, 同じ数のCとNをもち, 不飽和結合や炭素の環状構造をもたない化合物と比べた場合の水素分子の脱離数を炭素100個当り換算で表したものである. 炭素, 水素, 窒素の原子数をそれぞれ [C], [H], [N] で表すと, 不飽和度は低分子については次式で表される.

$$\text{不飽和度} = (2[C] + [N] + 2 - [H]) \times 100 / 2[C]$$

しかし, 腐植酸のような高分子については炭素原子数は十分に大きく見積ることができるので, $1/[C]$ が0に近づき, 不飽和度は次式で近似できる.

表 4 腐植酸の官能基組成の平均値 (me g⁻¹)^{a)}

型	土壌の種類	全酸度	カルボキシル基 CO ₂ H	フェノール性水酸基 	カルボニル基 C=O	アルコール性水酸基 -C-OH	フォルリン比色値による		官能基 ^{b)} 全O	
							メトキシシル基 -OCH ₃	フェノール性水酸基 		アルコール性水酸基 -C-OH
A	火山灰土	7.01	4.71	2.30	6.60	1.20	0.26	1.12	2.48	84.8
	石灰質土壌	7.90	5.56	2.34	10.26	0.54	0.22	1.03	1.86	116.3
B	各種	7.05	3.92	2.13	6.63	2.98	0.68	1.04	4.10	93.4
P ₀	各種	5.91	2.93	2.99	3.55	2.48	0.62	1.07	4.29	77.2
Rp(1)	石灰質土壌	5.16	2.96	2.20	3.40	3.22	0.80	0.87	4.40	72.9
Rp(1)	水田土壌	4.01	2.49	1.52	2.52	3.42	1.25	0.75	4.18	65.2
Rp(2)	森林土壌 A ₀ 層	5.99	2.73	3.25	3.26	2.53	1.29	1.18	4.42	78.1

a) 定置法：全酸度は水酸化バリウム法，カルボキシル基は酢酸カルシウム法，フェノール性水酸基は全酸度とカルボキシル基の差，カルボニル基はオキシム法，アルコール性水酸基はアセチル化で求めた全水酸基含量からフェノール性水酸基含量を差し引いたもの，メトキシ基はヨウ化水素分解法。詳細については文献 16) を参照。

b) 石灰質土壌のA型腐植酸で値が100%を越えたのは，カルボニル基定置法のいくつかが過大な値を与えたためである。なお，値の再現性はあったため，そのまま表示した。

$$\text{不飽和度} = (2[C] + [N] - [H]) \times 100 / 2[C]$$

表3に示した通り腐植酸の不飽和度はRp型およびP₀型で低く，B型，A型の順に増加した。

A型腐植酸の不飽和度の平均値 65, 67 は非常に高い値である。ちなみに，共役ポリエチン H-(CH=CH)_n-H の不飽和度も 50 にすぎない。一方，ベンゼンカルボン酸の不飽和度は高く，たとえば安息香酸は 71，フタル酸は 75，ベンゼントリカルボン酸は 78 であり，キノンは 83 である。次にも述べるように，腐植酸は多量のカルボキシル基やカルボニル基を含んでいるから，A型腐植酸の高い不飽和度にはこれらの構造が大きく寄与しているものと思われる。

腐植酸は，カルボキシル基，フェノール性水酸基，アルコール性水酸基，メトキシ基などの含酸素官能基を多量に含む。腐植酸の酸性，錯体形成能，吸着能などの性質はこれらの官能基の働きによるものである。

表4には，腐植酸中のこれらの官能基の量を各型ごとの平均値によって示した¹⁰⁾。

Rp(2)型からRp(1)型にかけては主としてフェノール性水酸基の減少がその特徴であった。これは腐朽植物遺体中のリグニン由来のフェノール性水酸基の減少によるものであろう。

Rp(1)型からP₀型およびB型を経てA型に至る過程では，カルボキシル基とカルボニル基が著しく増加し，フェノール性水酸基は微増した。アルコール性水酸基およびメトキシ基は腐植化度が高くなるほど減少した。これは腐植化の進行に伴う炭水化物やリグニンの分解を示すものであろう。

他方，腐植酸の酸素の中には，これらの含酸素官能基によって説明されないものがある。この種の酸素は主として多糖類，リグニン，タンパク質などの架橋酸素および環内酸素と思われるが，このような酸素は腐植化度の上昇に伴って減少し，とくにA型腐植酸では酸素のほとんどがカルボキシル基，カルボニル基およびフェノール性水酸基の酸素で説明された。

図7には，腐植酸の4M硫酸加水分解によって生成するアミノ酸の量と腐植化度RFの関係

を示した。アミノ酸生成量は Rp(2)型から Rp(1)型にかけて著しく増加し、Rp(1)型からB型、A型にかけては、腐植化度が高くなるほど減少した。これは、Rp(2)型腐植酸が分解途上の腐朽植物遺体から得られた腐植酸であるのに対し、Rp(1)型は易分解性成分の分解がほとんど終了し菌体成分などが集積した無機層位の土壌から得られた腐植酸であること、さらに Rp(1)型からA型にかけては暗色高分子の生成と並行してタンパク態窒素の無機化が進むことなどによるものと思われる¹⁷⁾。

ヘキソース含量は腐植酸の 0.4 から 3.5%，ウロン酸含量は 0.3 から 1.4% を占めたが、これらの量も腐植酸の腐植化度の増大とともに減少した¹⁸⁾。

図8には、多孔質ガラス CPG-10 を使い、腐植酸を分子サイズによって分画した結果を示す¹⁹⁾。画分の RF 値は全体の中くらいの分子サイズ画分で最も大きく、それより分子サイズが大きくなっても小さくなくても低下した。他方、 $\Delta \log K$ は分子サイズが大きくなるほど低下したが、この低下は低分子サイズから中分子サイズにかけて著しく、中分子サイズ以上ではほぼ一定していた。 $\Delta \log K$ は腐植酸の可視部吸収スペクトルの対数スケールでの傾きを示し、この値が小さいほど腐植化度が高い。この値は、腐植酸の可視部吸収に関係のない物質の共存の影響を受けにくい。RF 値は単位濃度当りの 600 nm の吸光度であるから、可視部吸収をもたない物質が共存するとこの値は小さくなる。これらのことから、腐植酸の高分子サイズ画分には、低い $\Delta \log K$ が示すように高度に腐植化の進んだ成分も存在するが、同時に可視部吸収のないタンパク質や多糖類などの成分もかなり存在するため、その RF 値が低くなったものと思われる。このことはまた、腐植酸の生成過程が、原料としての生体高分子の分解過程と、土壌に固有な暗色高分子の合成過程

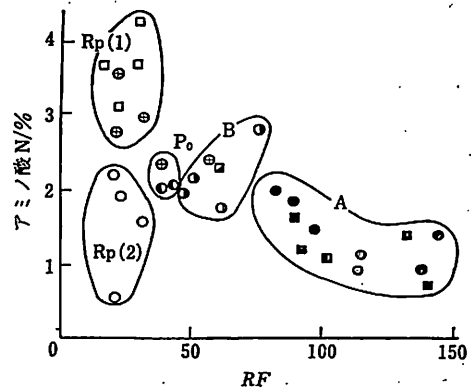


図7 腐植酸の4M硫酸加水分解によるアミノ酸生成量。

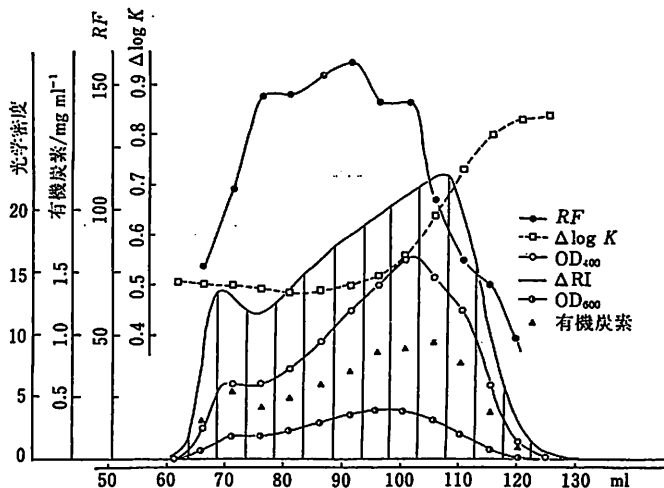


図8 CPG-170 カラムでの腐植酸(A型)のホウ酸緩衝液(pH 9.1)による溶離。

との二面性をもつことを示唆している。

6.2 フルボ酸

酸可溶の土壤有機物画分フルボ酸は、腐植酸よりも酸素に富み、炭素含量は少ない。Kuwatsukaら¹⁵⁾および熊田¹⁸⁾は各種の模式図で腐植酸、フルボ酸の元素組成の比較を行い、両者の分布する領域が隣接はするがまったく重ならないことを示した。フルボ酸の酸素含量に対しては、カルボキシル基およびアルコール性水酸基が寄与している。

フルボ酸の分子量は一般に腐植酸よりも小さいが、フルボ酸中の多糖類成分の中には非常に大きな分子量を示すものもある。

CuO 酸化分解生成物の組成から、フルボ酸中のリグニン由来の構造は、対応する腐植酸中のそれよりも変化を受けていることが示された²⁰⁾。

6.3 ヒューミン

酸・アルカリ不溶の土壤有機物画分ヒューミンの不溶性の原因としては、ヒューミン自体の分子が巨大であることと、ヒューミンが土壤の粘土鉱物や鉄・アルミニウムの酸化物と錯体を形成していることの両者が推察される。

¹³C-NMR によれば、泥炭土壤のヒューミン中にはリグニン様の構造が非常によく保存されているが、好氣的な環境の土壤のヒューミンではメトキシル基、アリルエーテル、またはフェノール性炭素などに由来する共鳴が失われ、リグニンの構造との類似性が少なくなる²¹⁾。

7 土壤有機物の役割

土壤の肥沃性に対する有機物の役割には直接的なものと間接的なものがある。直接的な作用としては、植物の生育調節物質としての効果があげられるが、これはフルボ酸以下の低分子成分の担うところであろう。比較的高分子で不活性な腐植酸やヒューミンの作用としては、むしろ生育調節物質を吸着保持するというような間接的な作用が考慮される。

土壤有機物の間接的作用としては、以下のようなものが考えられる²²⁾。

- ① 腐植物質の暗色による吸熱および保温効果
- ② 土壤の物理性の改良。土壤構造の安定化
- ③ 陽イオン交換能による無機養分の保持——多くの土壤で有機物は土壤全体の陽イオン交換能の 20~70% を受けもつ。粘土鉱物の風化が著しい熱帯・亜熱帯ではとくに有機物の貢献度が大きい。
- ④ 急激な pH 変化に対する緩衝作用
- ⑤ 金属イオンとの錯体形成——有害元素の不可給化と微量必須元素の可給化の両方に関連する。
- ⑥ N, P, S およびその他の必須元素の給源
- ⑦ 土壤微生物の栄養源——土壤中には多種多様な栄養要求性をもった土壤微生物が生息しており、土壤有機物は同じくその多様性・複雑性によって、微生物の多様な栄養要求を満たしてい

る。土壌の多様で豊富な微生物相は、未知の急激な環境変化に機敏に対応できる生物的な緩衝力と考えることができる。

このように、その作用機構は多種多様であるが、土壌有機物は土の肥沃度に非常に重要な役割を果している。また、これらの作用は耕地生態系ばかりでなく、自然生態系においても同様にかげがえのない役割を果している。人為による森林破壊およびそれに伴う表土の損失が、地球上のすべての生態系と人類の文明にいかにかつて深刻な影響を及ぼしたかをみれば、土壌有機物の重要性は火をみるよりも明らかであろう。

文 献

- 1) F.J. Stevenson, "Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reactions", John Wiley, New York (1982), p.443.
- 2) 北沢右三, "土壌動物生態学", 生態学講座 10, 共立出版 (1973), p.152.
- 3) Ph. デュショワール (永塚, 小野訳), "世界土壌生態図鑑", 古今書院 (1986), p.388.
- 4) 大政正隆, 森林土壌調査報告, 1, 1 (1951).
- 5) H.W. Scharpenseel, *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.*, 22, 453 (1975).
- 6) H.W. Scharpenseel, K. Tsutsuki, P. Becker-Heidmann, and J. Freytag, *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.*, 149, 582 (1986).
- 7) K. Tsutsuki, C. Suzuki, S. Kuwatsuka, P. Becker-Heidmann, and H.W. Scharpenseel, *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.*, 151, 87 (1988).
- 8) M. Ahmed and J.M. Oades, *Soil Biol. Biochem.*, 16, 465 (1984).
- 9) M.A. Wilson, "NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry", Pergamon Press, Oxford (1987), p.353.
- 10) I.A. Law, M.H.B. Hayes, and J.J. Tuck, *Volunteered Papers 2nd Int. Conf. IHSS*, 18 (1984).
- 11) W.G.C. Forsyth, *Biochem. J.*, 41, 176 (1947).
- 12) K. Kumada, O. Sato, Y. Ohsumi, and S. Ohta, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 13, 151 (1967).
- 13) K. Kumada, "Chemistry of Soil Organic Matter", Japan Scientific Societies Press/Elsevier, Tokyo (1987), p.241.
- 14) K. Kumada and O. Sato, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 8, 31 (1962).
- 15) S. Kuwatsuka, K. Tsutsuki, and K. Kumada, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24, 337 (1978).
- 16) K. Tsutsuki and S. Kuwatsuka, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24, 547 (1978).
- 17) K. Tsutsuki and S. Kuwatsuka, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24, 561 (1978).
- 18) K. Tsutsuki and S. Kuwatsuka, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 25, 29 (1979).
- 19) K. Tsutsuki and S. Kuwatsuka, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 30, 151 (1984).
- 20) J.R. Ertel and J.I. Hedges *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48, 2065 (1984).
- 21) P.G. Hatcher, I.A. Breger, G.E. Maciel, and N.M. Szeverenyi, "Humic Substances in Soil, Sediment, and Water", G.R. Aiken *et al.* (eds.), John Wiley, New York (1985), p.275.
- 22) D. Vaughan and B.G. Ord, "Soil Organic Matter and Biological Activity", D. Vaughan and R.E. Malcolm (eds.), Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht (1985), p.1.