

2003年神奈川大会  
シンポジウムの概要

## 陸域生態環境での土壌有機成分の 役割とその機能\*1

筒木 潔\*2・隅田裕明\*3・青山正和\*4・進藤晴夫\*5  
宮島 徹\*6・川東正幸\*3・藤嶽暢英\*7

キーワード 粗粒有機物, 植物炭化物, 酸解離平衡, 溶存有機物, 腐植構造特性

### 1. はじめに

地球規模で進行する温暖化, 環境破壊, 土壌劣化などの問題を分析すると, 必ず土壌有機物の消耗および劣化という現象がその中心的要素として含まれている。他方, 地球人口の急増と人間の生産・消費活動の拡大に伴って排出される有機性廃棄物の量も年々増加しているが, これらを貴重な資源として有効に再利用し, 環境に優しい手段で生態系に返していく方法が模索されている。

このような中で土壌有機物および腐植物質をめぐる研究はかつてなくその重要度を増し, その研究対象となる範囲や研究手段も拡大発展してきた。

研究対象からみると, 従来は腐植酸を中心として研究が行われてきたが, フルボ酸・ヒューミンについての研究が進展すると同時に, 土壌糖類や脂質を中心とする非腐植物質成分やバイオマス由来成分の研究も進展した。さらに溶存有機物 (Dissolved Organic Matter) に関する研究も活発に行われるようになり, 生態系に普遍的に存在する有機物として Natural Organic Matter という概念が用いられるようになった。他方, 難分解性有機物 (Refractory Organic Matter) の生態系における重要性も再認識され, 植物炭化物に関する研究も脚光を浴びてきた。

このような中で, 土壌有機物や腐植物質の研究に関わる

研究者の層も厚みを増し, 従来は土壌学および燃料科学の研究者が中心であったが, 地球科学, 水質科学, 理学, 工学, バイオテクノロジー, 環境科学の研究者が広くこの分野の研究に関わるようになってきた。

研究手段においても, 紫外・可視吸収スペクトルから始まり, 赤外線吸収スペクトル, プロトンおよび<sup>13</sup>C-核磁気共鳴スペクトル, 電子スピン共鳴 (ESR), ラマンスペクトル, 蛍光スペクトル, 熱分解 GC-MS, X線光電子分光法 (ESCA) など, 様々な方法が長足の進歩を遂げるとともに, 腐植物質にも適用されている。さらに分子量や分子サイズ分布を測定する手段も進歩し, 高速サイズ排除クロマトグラフィー (HPSEC), 飛行時間型質量分析法 (TOFMS) を始め, 様々な方法が適用されている。

本シンポジウムは, このようにより広く深く進歩してきた土壌有機物および腐植物質に関する研究を集約し, それぞれの研究の関連性を明らかにしつつ, これらの物質の陸域生態系における役割について, 何がわかり, 今後何を明らかにする必要があるのかを討論するため企画したものである。そのため, これらの分野で特徴ある研究をしておられる5人の先生方に講演を依頼した。

(筒木 潔・隅田裕明)

### 2. 農耕地生態系における土壌有機物の動態と機能

#### 1) 農耕地における土壌有機物の分解と集積

土壌有機物の量は, 土壌へ供給される有機物量と土壌生物による分解量とのバランスによって決定され, 分解量が供給量を上回れば土壌有機物は減少するのに対して, 逆の場合には土壌有機物は増大する。森林や草原のような未耕地が耕地化されると, 植物遺体の供給が減ると同時に耕作によって通気が増大し, 有機物分解が促進されて土壌有機物含量の減少が起こるが, あるレベルで一定となる。150年以上前から続いているローザムステッド試験場の長期連用試験圃場の例では, 化学肥料を施肥すると土壌有機物レベルの低下の程度は小さくなる<sup>1)</sup>。これは, 化学肥料の施肥に伴って作物残渣の供給が増えるためとされる。

黒ボク土畑地で行われたきゅう肥連用試験圃場における20年間の土壌有機物量の推移を調べると<sup>2)</sup>, 化学肥料のみ

Kiyoshi Tsutsuki, Hiroaki Sumida, Masakazu Aoyama, Haruo Shindo, Tohru Miyajima, Masayuki Kawahigashi and Nobuhide Fujitake: The Role and Functions of Soil Organic Constituents in the Terrestrial Ecosystem and Environment

\*1 本資料は2003年8月の日本土壌肥科学会神奈川大会でのシンポジウムの各講演ならびに総合討議の内容を要約したものである。

\*2 帯広畜産大学畜産学部 (080-8555 帯広市稲田町西 2-11)

\*3 日本大学生物資源科学部 (252-8510 藤沢市亀井野 1866)

\*4 弘前大学農学生命科学部 (036-8561 弘前市文京町 3)

\*5 山口大学農学部 (753-8515 山口市吉田 1677-1)

\*6 佐賀大学理工学部 (840-8502 佐賀市本庄町 1)

\*7 神戸大学農学部 (657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1)

2004年2月12日 受付・受理

日本土壌肥科学雑誌 第75巻 第4号 p.511~517 (2004)

を施肥した区では、明らかな土壤有機物量の低下が認められた。この土壤を粗粒有機物画分 ( $>53 \mu\text{m}$ ) と有機・無機複合体画分 ( $<53 \mu\text{m}$ ) に分画すると、土壤有機物の減少は有機・無機複合体画分で起こり、粗粒有機物画分での減少は明らかではなかった。このことは、作物残渣によって粗大有機物が供給されていることを示す。一方、きゅう肥を連用すると、少量施用では土壤有機物レベルはほとんど変化せず、施用量を増やすと増加に転じた。きゅう肥連用に伴う有機物の増加は、粗粒有機物画分で起こり、有機・無機複合体画分の有機物はむしろ減少する傾向にあった。さらに、きゅう肥のような腐朽有機物に特有な腐植化度が低くて高分子量の腐植酸は、きゅう肥連用によってその多くが粗粒有機物画分へ集積していることが認められた。

農耕地生態系においては、有機物は主に作物残渣として土壤に供給されるとともに、有機物施用という形で人為的な有機物の補給がなされるが、上記の研究結果に基づけば、農耕地土壤に入ってくる有機物の大部分が粗粒有機物として存在し、微生物分解をこらむと考えるとよい。分解過程においては、粗粒有機物は微細化の方向をたどるとともに、構成元素の微生物バイオマスへの取り込みと微生物代謝産物の生成が起こり、さらには腐植物質の生成も起こると推定される。生成した微生物バイオマス、微生物代謝産物と腐植物質は、シルト粒子や粘土粒子と有機・無機複合体を形成していくであろう。しかし、上記の研究<sup>2)</sup>から、こうした有機・無機複合体を形成した粗粒有機物由来の有機物の消耗は比較的速いことがうかがわれる。

## 2) 農耕地における土壤有機物の機能とその発現

土壤有機物は微生物のエネルギー源・栄養源として利用され、有機物の分解過程で放出されるアンモニウムイオンやリン酸イオンは作物によって吸収・利用される。また、有機物分解の過程で生成される微生物バイオマス、微生物代謝産物ならびに腐植物質は土壤団粒の形成において土壤粒子の結合に寄与しており、さらに腐植物質は陽イオン交換によって植物養分を保持するとともに有害物質を吸着するはたらきを有している。こうした作物生産にとって重要な土壤有機物の機能の発現は、土壤における有機物の変化過程と密接に関連している。

植物にとってもっとも重要な養分は窒素であるが、土壤から無機化する窒素の給源は主に微生物バイオマスと微生物代謝産物と考えられている。微生物起源の易分解性有機態窒素の多くは粘土サイズの有機・無機複合体画分に存在し、有機物無施用土壤では、こうした微生物由来物質の窒素無機化への寄与が高い。一方、堆きゅう肥を連用した土壤では、無機化されやすい有機態窒素は粗粒有機物画分にも集積することが認められる<sup>3,4)</sup>。これは、堆きゅう肥の施用によって土壤に集積する粗粒有機物の分解過程で無機態窒素が放出されるためである。

畑作を行う上で、土壤の団粒構造の発達は非常に重要である。土壤団粒は、一般にマクロ団粒 ( $>250 \mu\text{m}$ ) とミ

クロ団粒 ( $<250 \mu\text{m}$ ) とに区分される。マイクロ団粒の形成に大きな役割を果たす土壤有機物は、腐植物質であると推定されるが、マクロ団粒は、主に微生物バイオマス、とくに糸状菌菌糸ならびに微生物代謝産物によってマイクロ団粒が結びつけられて形成されると考えられている。土壤への有機物施用はマクロ団粒の形成を促進するが、きゅう肥連用土壤の団粒中の有機物に関する研究<sup>4,5)</sup>に基づけば、きゅう肥由来の有機物は、主に粗粒有機物の形でマクロ団粒中に集積しており、きゅう肥由来の粗粒有機物の分解過程で生成する微生物バイオマスと微生物代謝産物がマイクロ団粒を結びつけていると推察される。一方、土壤団粒、とりわけマクロ団粒内の有機物は、団粒が破壊されると無機化が促進される<sup>6)</sup>。団粒の破壊によって無機化が促進される有機物は、無機化した有機物のC/N比から、主として微生物由来物質と推定された。このように、マクロ団粒の形成は、団粒内部の有機物を微生物分解から保護することにもつながっている。(青山正和)

## 3. 土壤における植物炭化物の役割とその機能

植物の燃焼・炭化と土壤中の炭化物の分解、黒ボク土における植物炭化物の分布と腐植組成あるいは非晶質 Al 成分との関係、さらに炭化物由来の腐植酸と黒ボク土 A 型腐植酸の分光学的および物理化学的特性などを調べた既往の研究成果<sup>7-13)</sup>をとりまとめることによって、土壤における植物炭化物の役割とその機能の一端を推定した。

### 1) 植物の燃焼・炭化と土壤中の炭化物の分解

植物は燃焼中に炭化物と灰を形成する。この炭化をススキ植物の化学構造の変化を例にしてみると、セルロースを主体とし、Rp型に属する腐植酸を含んだ構造から、脱水縮合反応によって、縮合芳香環を主体とし、A型に属する腐植酸を含有した構造へと変化した。

山焼き後に採集した草原植生炭化物を黒ボク土へ添加して25°Cで40週間インキュベーションしても、CO<sub>2</sub>の増加はほとんど認められず、炭化物は無機化に対して、極めて強い抵抗性を有していることが明らかとなった。

### 2) 黒ボク土における植物炭化物の分布と腐植組成あるいは非晶質 Al 成分との関係

北海道、本州および九州に分布する黒ボク土の20断面から24試料を供試した。ポリタングステン酸の重液を用いた比重分画法によって、まず土壤から直接比重1.6以下画分 ( $<1.6$ 画分) を分離した。次に、土壤の比重1.6~2.0画分中の鉱物をHCl-HFで処理した後、その処理物中の $<1.6$ 画分を分離した。

顕微鏡観察の結果は、すべての供試土壤において、酸処理前後の両 $<1.6$ 画分が、植物炭化物片を主要な成分としていることを示した。また、酸処理前の $<1.6$ 画分の炭化物は、主として木本植物起源であること、酸処理後の $<1.6$ 画分の炭化物の形状は主として無定形であることが推定された。

酸処理後の $<1.6$ 画分の有機態炭素量は、酸処理前の炭

素量に比べてはるかに高い値を示した。両<1.6画分の有機態炭素の含量が、土壌の全有機態炭素量に占める割合は、3.4~33%の範囲に分布し、24試料のうち12試料が9%以上の値を示した。また、その含量と土壌の全有機態炭素量との間には正の高い相関関係 ( $r=0.748$ , 0.1%水準で有意) が認められ、植物炭化物片は黒ボク土における土壌有機物の構成成分として看過しえないことが示唆された。

A型腐植酸量と酸処理前の<1.6画分の炭素量、酸処理後の<1.6画分の炭素量あるいは酸処理前後の炭素の含量との相関関係は、それぞれ  $r=0.136$ ,  $r=0.617$  (1%水準で有意),  $r=0.570$  (1%水準で有意) であった。一方、フルボ酸量とそれらの炭素量との相関係数は、いずれも0.360以下であり、有意な関係はみられなかった。したがって、炭化物は、腐植の吸着・集積にほとんど寄与していないことが推定された。

非晶質Al成分と各画分の炭素量との関係を調べた結果によれば、ピロリン酸塩可溶のAl量と各画分の炭素量、とくに酸処理後の<1.6画分の炭素量との間には正の相関関係 ( $r=0.680$ , 0.1%水準で有意) が認められた。一方、酸性シュウ酸塩可溶のAl量の場合には、各画分の炭素量といずれも有意な関係はみられなかった。これらの結果は、炭化物がヒドロキシイオン態のAlを吸着し、あるいはそのAlと結合して、土壌中のAlの結晶化を抑制していることを示唆した。

### 3) 炭化物由来の腐植酸と黒ボク土A型腐植酸の分光学的および物理化学的特性

山焼きや実験室内で作られた植物炭化物は、元々、A型に属する腐植酸を含有しているが、希硝酸処理 (200°Cで加熱還流) あるいは希過酸化水素水処理 (30°Cでインキュベーション) のような酸化重合を受けると、新たに多量のA型に属する腐植酸を生成できるようになった。また、それらの処理前後の植物炭化物から得られた腐植酸の分光学的および物理化学的諸性質 (暗色化度、元素組成、紫外、可視および赤外吸収スペクトル、 $^{13}\text{C}$ -NMRスペクトルならびにX線回折) は、A型土壌腐植酸のものと酷似していた。これらの結果と前記の結果を総合し、人為および自然火災によって生じた植物炭化物は、A型土壌腐植酸の重要な給源であると推定した。

### 4) 土壌中における植物炭化物の役割とその機能

得られた結果から、土壌中における植物炭化物の役割とその機能の一端を次のように推定した。植物炭化物は、1) 土壌有機物の構成成分として看過しえないこと、2) 無機化に安定な炭素として長期間土壌中に残留するとともに、A型土壌腐植酸の重要な給源であること、3) Alを吸着、あるいはAlと結合することによって、Alの結晶化を抑制すること、が推定された。(進藤晴夫)

### 4. 環境中の金属化学種の動態に及ぼす腐植物質の効果

生物にとって極めて有害である重金属やアクチノイド元

素は廃棄処分された後、極めて厳重に管理される。しかしながら、時間経過とともに処分場から漏洩する場合も予想されるので、その際の環境予測が管理上の重要な課題となる。また、土壌や地下水がこれらの金属化学種によって汚染された場合には環境を修復しなくてはならない。金属化学種の環境中の移送挙動は液体である水相と固体である土壌粒子表面間の異相間分配反応によって支配されているが、その際に腐植物質であるフルボ酸 (Fulvic acid: FA) およびフミン酸 (Humic acid: HA) との錯生成が大きな役割を果たしている。従って、その錯生成の知見が金属化学種による環境汚染の予測および修復のために必要不可欠である。FAやHAはカルボキシル基やフェノール性水酸基を有するイオン性高分子であり、また、不均質かつ多分散の物質群であるため、錯平衡解析のためには、その「高分子電解質性」と「不均一性」を考慮にいったモデル化が必要であり、現在、いくつかの数学的モデルが提案されている。錯平衡はpHおよび塩濃度に大きく依存するが、この見かけの錯平衡を経験的パラメーターによって再現できれば良い場合と、特有の静電効果を定量化し、本質的結合平衡、さらに錯種の化学形まで推定する場合がある。後者の場合には分光学的研究によって得られた結果と直接比較可能となる。

FAは水への溶解性が高いことから、平衡研究の報告例は多い。その総カルボキシル基量、それぞれのカルボキシル基の $pK_a$ 値および分布が求められており、配位基としてのカルボキシル基の構造特性が議論されている。さらにその高分子電解質性を実験的に評価するために見かけの酸解離平衡が詳細に研究されているが、多くの標準試料について、塩濃度が $0.5 \text{ mol dm}^{-3}$  以上の場合、静電効果は消滅することがわかった。国際腐植物質学会から頒布されている標準FA試料 (Suwannee River fulvic acid: SFA)<sup>14)</sup> について酸解離平衡を詳細に研究した結果、 $pK_a < 2$  の強酸性カルボキシル基が多量に存在することが明らかとなった。さらにその構造研究の結果と併せて、この特殊カルボキシル基を有する平均構造が提案されている<sup>15)</sup>。この推定構造によれば、FA分子は親水基と疎水基を併せ持つ両親媒性物質であり、水中で会合体を形成している。この会合体形成がFAの錯体形成反応において、1) 高分子電解質効果の発現、および2) 多座配位錯体形成、を引き起こしているものと推定される。

FAとは異なり、HAは低いpH領域でコロイド状沈殿を形成するので、HA自身の酸解離平衡および錯平衡を様々なpH領域および塩濃度において系統的に研究することは現在のところ困難である。HAをシリカ等の固体粒子表面に化学的に固定化し、酸解離平衡および錯平衡を研究することは可能であるが、平衡達成までに時間がかかるので、注意を喚起したい。今後、実際の水/土壌系での金属化学種の多相間分配平衡を統一的に議論するために、FAおよびHA・固体粒子複合体の酸解離平衡および錯平衡を同一次元で評価する必要があると思われる。(宮島 徹)

## 5. 土壤生態系における水溶性有機物の役割

土壤生態系内における水溶性有機物の全有機物量に占める割合は極めて低い。しかしながら、水溶性有機物はその存在形態ゆえに微生物代謝、鉱質層位への吸着保持、金属イオンや系外流入物質の輸送移動に積極的に関わる土壤有機物の画分に相当し、その量・質的研究は系内での物質の動態・循環を把握するために極めて重要である<sup>16)</sup>。ここでは、これまでの研究から、水溶性有機物の土壤生態系における動態について簡単に概説したい。

### 1) 水溶性有機物の消長

土壤系内の水溶性有機物は、鉱質土壤に保持される画分、生分解を受ける画分、系外流出する画分に分けることができる<sup>17)</sup>。この中で、鉱質土壤への吸着保持は迅速に進行し、水溶性有機物の大部分がこの画分に相当することが森林生態系を対象とした研究で明らかにされている<sup>18)</sup>。このことは水溶性有機物が土壤における有機物保持に大きく貢献することを示している。一方、生分解を受ける画分の割合は水溶性有機態炭素の概ね30%未満であり、その貢献度が低いことがわかる<sup>19)</sup>。また、生分解の進行はその半減期が数年に相当し、吸着に比べてはるかに遅い<sup>19)</sup>。土壤表層付近における生分解と吸着を免れた水溶性有機物は鉱質土壤内を移動し、最終的に系外流出すると考えられる。実際、河川や近海の有機物の炭素や窒素の特徴は植物体からの由来を示唆しており<sup>20)</sup>、この画分が隣接する水環境圏に与える影響は大きい。

水溶性有機物の各画分への分配は土壤が置かれた環境条件を反映するため、そのモニタリングから環境変化を読み取ることが期待できる。しかしながら、実験操作上、各画分を分取することは不可能であり、実際には目的土壤層位から水溶性有機物を採取し、その量・質に関する経時的変化、土壤層位との関係および土壤生成因子との関係などを解析することによって水溶性有機物の土壤への貢献や周辺環境からの影響評価をしている。

### 2) 水溶性有機物のモニタリング

#### (1) 生化学的化合物の経時的変化

これまでに温帯域の林地生態系を対象とした水溶性有機物の量・組成の季節変動に関する研究が実施されてきた。その中で、リグニン由来フェノール酸、ペントース、ヘキソースやアミノ糖が季節変動を示すことが報告されている<sup>21)</sup>。それらの変動は気温変動とリターフォールに関連しており、微生物活性に依存することが予測されている<sup>21)</sup>。また、フェノール酸、ペントース、ヘキソースの季節変動が土地利用に応じて異なることが明らかになり、人為的な土地管理も水溶性有機物の動態に影響することが示された<sup>22)</sup>。現状において水溶性有機物の定常的なモニタリングは一般的ではないが、それぞれの生態系管理への応用が可能であると思われる。

#### (2) 系外流出画分と土壤生態系

河川水中の水溶性有機物および粒子状有機物は主に陸域

由来であり、その組成と土壤生態系の間に関連性が認められている<sup>18)</sup>。とくにフェノール酸の組成は集水域の植生分布を反映することが報告されている<sup>23)</sup>。また、筆者は永久凍土分布が連続的に変化する地域において、フェノール酸と糖類の量的分布が土壤層位の深さに応じて変化することを確認している。鉱質土壤の水溶性有機物に対する収着現象が系外周辺水域への水溶性有機物の動態に強い影響を持つことを示している。

以上のように、植生や微生物から供給される生化学的有機物の時間的・空間的モニタリングは陸域生態系の環境の定常状態の把握に役立ち、異常な環境変動の検出にも利用できることが期待される。(川東正幸)

## 6. 腐植構造特性のバリエーションと環境・生態系との関わり

腐植物質の分析値は試料ごとに大きく異なる。これは腐植物質の構造が一定ではなく、幅広いバリエーションを持つからである。こうしたバリエーションは、腐植物質の生成環境や生態系とどの程度関係しているのであろうか。

これまで多くの研究を通じて、腐植形態分析や元素分析、官能基分析などの分析手法を用いた腐植物質とその由来土壤との関係が論じられてきた<sup>24-27)</sup>。しかし、腐植分析法として近年多用されている<sup>13</sup>C-NMRやHPSEC分析でのまとまった報告はない。<sup>13</sup>C-NMR分析では腐植物質の骨格炭素に関する情報が得られ、HPSEC分析では分子量に関する情報を得ることができる。このため、従来法に比べてより構造化学的な側面からの解析が期待できる。

最近様々な腐植物質をこれらの分析法に供する機会を得たので、こうした手法を用いた場合に、腐植物質の構造特性のバリエーションについてどんなことがわかるのか、また、環境・生態系との関わりという観点でみた場合に何が言えるのか、について考える。

### 1) 腐植構造特性のバリエーションと生成環境との関わり

<sup>13</sup>C-NMR分析法は物質の化学構造を知る上で今日欠くことのできない手法である。ただし、高分子混合物という特性を持つ腐植物質のスペクトルはシグナルの分離度が悪く、一般化合物のような構造解析の手順で解析しても得られる情報は殆どない。そこで、液体用にしろ固体用にしろ腐植物質の<sup>13</sup>C-NMR分析では定量的なスペクトルを獲得し、炭素種の組成比を算出することで構造の特徴付け(キャラクターゼーション)が行われている。とくに、液体用<sup>13</sup>C-NMR法では最良の定量性を得るためのパルス法(逆ゲート付デカップリングパルス法)は確立済みであり、測定パラメータの最適化を検討すれば信頼できるデータが取得できる<sup>28)</sup>。

そこで、本法を用いて異なる土壤から調製した腐植酸試料およびフルボ酸試料(計62試料)について<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを測定した。はじめに、各スペクトルの形状を比較することで埋没黒ボク土、黒ボク土、褐色森林土、泥

炭土由来の腐植酸については土壌ごとに形状の違いがはっきりと認められた。埋没黒ボク土腐植酸では芳香族性炭素とカルボキシル基炭素に帰属される2つのブロードなピーク以外にはピークが観測されず、褐色森林土腐植酸では高磁場側から順に脂肪族性、メトキシル基、糖、芳香族性、フェノール性、カルボキシル基、カルボニル基の各炭素に帰属されるピークが観測され、芳香族性炭素のピークはいくつものピークに割れている。黒ボク土腐植酸では、低磁場側の芳香族性炭素とカルボキシル基炭素のピークは埋没黒ボク土と同様の形状であり、脂肪族その他の低磁場側に褐色森林土と同様のピークがわずかに観測された。形状からは黒ボク土腐植酸は埋没黒ボク土と褐色森林土腐植酸の混合物、あるいは両者の由来物質の混合物から成る可能性の強いことが推察される。土壌分類上黒ボク土と褐色森林土の狭間に位置する淡色黒ボク土などのスペクトル形状が、黒ボク土と褐色森林土腐植酸のスペクトルを混合した形状に近いことから、黒ボク土や淡色黒ボク土の腐植酸は埋没黒ボク土腐植酸と褐色森林土腐植酸、もしくはそれぞれの由来物質が混合した状態のものである可能性が考えられた。チェルノーゼム腐植酸は黒ボク土腐植酸とまったく区別がつかず、同一の由来物質、さらには生成過程を経ているとしか思えないという結果が得られた。一方、泥炭土腐植酸は由来物質であろうリグニンの影響を強く示すシグナル（シャープなメトキシル基など）が観測され、他の土壌腐植酸とは明瞭に区別できた。土壌フルボ酸についてはカルボキシル基ピークが顕著である点で土壌腐植酸と形状の違いが認められたが土壌の種類に応じた変化はとくに認められず、河川から採取したフルボ酸の一部と類似したものが認められた。

次いで、得られたスペクトルの測定領域（0～220 ppm）を帰属炭素種に応じて7領域に分割し、各領域におけるスペクトルの面積比から官能基炭素種の組成を概算したところ、芳香族性炭素とカルボキシル基炭素の組成比が上記の形状特性を良く反映していることがわかった。

他方の分析手法であるHPSEC分析ではクロマトグラムの形状から分子量分布がわかり、演算処理によって重量平均分子量（ $MW_{PSSNa}$ ）が算出できる<sup>28)</sup>。とくに、<sup>13</sup>C-NMRでは分別が困難であった腐植酸とフルボ酸の分別は、 $MW$  3000を境にしてそれ以上の場合腐植酸に、それ以下ではフルボ酸に容易に分別された。

こうした結果から、土壌腐植酸は由来土壌の影響を極めて強く受けており、構造特性のバリエーションは由来物質や生成過程などの生成環境と密接に関連していることがわかった。その一方で、フルボ酸では腐植酸との構造的な違い以上のことは見出せず、腐植酸に比べると生成環境との関連性は弱いと考えられる。

## 2) 腐植構造特性のバリエーションと生態系との関わり

腐植物質は難分解性有機物としても位置付けられており、炭素循環のプールとしての役割にも重きが置かれている。では、難分解性を支えるのは腐植構造特性のいかなる

特性なのだろうか。この命題に対する1つの研究例として、腐植酸を含む人工培地に糸状菌 *Coriolus consors* や土壌分離糸状菌を接種し、一定期間インキュベーションした場合の腐植酸褪色率と培地に加えた腐植酸の構造特性との関係を調べた<sup>29)</sup>。その結果、褪色率は<sup>13</sup>C-NMR分析から算出した芳香族度との間に高い負の相関関係を持ち、芳香族性炭素やフェノール性炭素含量の高い腐植酸ほど微生物作用による変質・分解を受けにくいことがわかった。こうした構造特性を持つ腐植酸は黒ボク土由来の腐植酸であり、腐植-無機複合体の因子を除いても腐植酸自体の構造特性が難分解性を支える要因であることが示唆された。

一方、腐植物質の難分解性は高分子であることに加え、多様性や複雑性にも依存すると考えられている。HPSEC分析による分子量の観点からみると、黒ボク土の腐植酸は褐色森林土の腐植酸に比べて低分子量で分散度も低い。こうした腐植酸の方が微生物作用を受けにくいということは、高分子であることや複雑性よりも化学構造特性そのものの特性が微生物作用とより深く関連するものと考えても良いのかもしれない。

（藤嶽暢英）

## 7. ま と め

青山氏は、土壌有機物の大きさによって動態が異なることを明らかにした。耕地土壌への植物遺体もしくは施用有機物由来の有機物の集積は主に粗粒有機物画分（ $>53 \mu\text{m}$ ）で起こり、粗粒有機物の分解に伴って養分の放出とマクロ団粒形成の促進が起きていた。

進藤氏は、植物炭化物が土壌有機物の構成成分として重要であり、長期間安定に土壌中に残留すること、A型腐植酸の重要な給源となること、Alの結晶化を抑制することを強調した。

宮島氏は、環境中における金属化学種の移動にフルボ酸およびフミン酸との錯形成が大きな役割を果たしていることを明らかにした。さらに、フルボ酸中には $pK_a < 2$ の強酸性カルボキシル基が多量に存在することを示し、フルボ酸は、分子の特性として親水基と疎水基を併せ持つ両親媒性物質であることを示した。

川東氏は、土壌系内の水溶性有機物を分析し、その構成成分（フェノール酸、ペントース、ヘキソース、アミノ酸など）が季節変動、植生分布、土地利用などを反映してダイナミックに変動していることを示した。

藤嶽氏は、多数の腐植酸およびフルボ酸について測定した<sup>13</sup>C-NMRスペクトルおよびHPSECの結果を紹介し、スペクトルの形状および分子量分布が土壌の種類の違いをよく反映していることを示した。ただしフルボ酸においては腐植酸ほど生成環境との関連性が高くなかった。また、腐植酸の化学構造特性がその難分解性を支える要因であることを示した。

各氏の講演に対し、総合討論では多数の活発な質問およびコメントが寄せられた。多方面の分野で発展する土壌有機物および腐植物質の科学の全体像を理解するには、まだ

多くの方々のご講演やご意見を拝聴したかったが、多数の参加者にも恵まれ、与えられた時間を十分に活用できたと感じている。貴重な最新情報を提供して頂いた講師の皆様へ深く感謝する。

土壤有機物および腐植物質は純物質ではなく、一定の構造を持たない複雑な高分子の混合物であることが、新しい研究方法にとっても常に制約となってきた。このような物質について得られたデータは絶対値ではなく相対値ないし平均値であることを十分に認識する必要がある。また、得られたデータの信憑性を確認するためには、複数の分析手法の適用とその妥当性についての十分な検討を行う必要がある。

また、大部分の土壤有機成分は生命の統制をはずれて無秩序に生成した物質である。しかし、ある環境の下に存在する土壤有機成分の構造と組成には、様々な偶然性をはらみながらも、その生成環境と対応した必然性と法則性がある。この必然性と法則性を解明するためには、様々な環境の下で形成された土壤有機成分を試料とし比較する必要がある。藤嶽氏が示されたような、多数の試料についての比較データは大変貴重なものである。新手法の適用と多方面の研究者の協力によって、土壤有機成分を被う黒いベールが少しでも透明に近づくことを願うものである。

さらに、研究対象である土壤有機物ないし腐植物質の混合物としての複雑性を軽減するためには、抽出精製方法の改良と開発を行うことが必要であり、様々な環境下に存在する土壤有機成分からの標準物質の調製と配布も、今後のこの分野の研究の発展にとって不可欠の課題であると考えられる。

(隅田裕明・筒木 潔)

#### 文 献

- Jenkinson, D. S. and Rayner, J. H.: The turnover of soil organic matter in some of the Rothamsted classical experiments. *Soil Sci.*, **123**, 298~305 (1977)
- Aoyama, M. and Kumakura, N.: Quantitative and qualitative changes of organic matter in an Ando soil induced by mineral fertilizer and cattle manure applications for 20 years. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **47**, 241~252 (2001)
- 青山正和: 堆きゅう肥の連用に伴って土壤粒径画分に集積する有機物とその窒素無機化, 土肥誌, **63**, 161~168 (1992)
- 青山正和・谷内 豊: きゅう肥連用土壤の粒径画分および団粒サイズ画分の有機物とその無機化, 同上, **63**, 571~580 (1992)
- Aoyama, M., Angers, D. A. and N'Dayegamiye, A.: Particulate and mineral-associated organic matter in water-stable aggregates as affected by mineral fertilizer and manure applications. *Can. J. Soil Sci.*, **79**, 295~302 (1999)
- Aoyama, M., Angers, D. A., N'Dayegamiye, A. and Bissonnette, N.: Protected organic matter in water-stable aggregates as affected by mineral fertilizer and manure applications. *Can. J. Soil Sci.*, **79**, 419~425 (1999)
- Shindo, H.: Elementary composition, humus composition, and decomposition in soil of charred grassland plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **37**, 651~657 (1991)
- Shindo, H. and Honma, H.: Comparison of humus composition of charred Susuki (*Eularia*, *Miscanthus sinensis*) plants before and after HNO<sub>3</sub> treatment. *ibid.*, **44**, 675~678 (1998)
- 本間洋美・平館俊太郎・進藤晴夫: 固体 <sup>13</sup>C 核磁気共鳴法 (<sup>13</sup>C-NMR), フーリエ変換赤外分光光度法 (FT-IR) および X 線回折法 (XRD) によるススキ燃焼過程の解析, 土肥誌, **70**, 277~282 (1999)
- 進藤晴夫・平館俊太郎・本間洋美: 山焼き後の炭化物を希硝酸処理して得られた腐植酸と A 型土壤腐植酸の分光学的および物理化学的諸性質における類似性, 同上, **70**, 769~774 (1999)
- Shindo, H. and Honma, H.: Significance of burning vegetation in the formation of black humic acids in Japanese volcanic ash soils; in *Humic Substances: Structures, Models and Functions*, ed. E. A. Ghabbour and G. Davies, p. 297~306, Royal Society of Chemistry, Cambridge (2001)
- 進藤晴夫・牛島夏子・本名俊正・山本定博・本間洋美: 黒ボク土における植物炭化物の分布と腐植組成あるいは非晶質 Al 成分との関係, 土肥誌, **74**, 485~492 (2003)
- Shindo, H., Ushijima, N., Hiradate, S., Fujitake, N. and Honma, H.: Production and several properties of humic acids in the decomposition process of charred plant materials in the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Humic Substances Res.*, **1**, in press (2004)
- Averett, R. C., Leenheer, J. A., McKnight, D. M. and Thorn, K. A.: U. S. Geological Survey Open-File Report, Box 25425 Federal Center Denver, p. 87~557 (1989)
- Leenheer, J. A., Wershaw, R. L., Brown, G. K. and Reddy, M. M.: Characterization and diagenesis of strong-acid carboxyl groups in humic substances. *Appl. Geochem.*, **18**, 471~432 (2003)
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B. and Matzner, E.: Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: A review. *Soil Sci.*, **165**, 277~304 (2000)
- Guggenberger, G. and Kaiser, K.: Dissolved organic matter in soil: challenging the paradigm of sorptive preservation. *Geoderma*, **113**, 293~310 (2003)
- Kaiser, K. and Zech, W.: Rates of dissolved organic matter release and sorption in forest soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **61**, 64~69 (1998)
- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D. and Matzner, E.: Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma*, **113**, 273~291 (2003)
- Dittmar, T. and Kattner, G.: The biogeochemistry of the river and shelf ecosystem of the Arctic Ocean: a review. *Marine Chem.*, **83**, 103~120 (2003)
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L. and Zech, W.: Seasonal variations in the chemical composition of dissolved organic matter in organic forest floor layer leachates of old-growth Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands in northeastern Bavaria, Germany. *Biogeochemistry*, **55**, 103~143 (2001)
- Kawahigashi, M., Sumida, H. and Yamamoto, Y.:

- Seasonal changes in organic compounds in soil solutions obtained from volcanic ash soils under different land uses. *Geoderma*, 113, 381~396 (2003)
- 23) Lobbes, J. M., Fitznar, H. P. and Kattner, G.: Biogeochemical characteristics of dissolved and particulate organic matter in Russian rivers entering the Arctic Ocean. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 64, 2973~2983 (2000)
- 24) Tsutsuki, K. and Kuwatsuka, S.: Chemical studies on soil humic acids. II. Composition of oxygen-containing functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24, 547~560 (1978)
- 25) Kuwatsuka, S., Tsutsuki, K. and Kumada, K.: Chemical studies on soil humic acids. I. Elementary composition of humic acids. *ibid.*, 24, 337~347 (1978)
- 26) Kumada, K.: *Chemistry of Soil Organic Matter*, 241 pp., Japan Scientific Society Press, Tokyo (1987)
- 27) Yonebayashi, K. and Hattori, T.: Chemical studies on environmental humic acids. I. Composition of elemental and functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 34, 571~584 (1988)
- 28) 藤嶽暢英：我が国の腐植物質研究とその展望 3. 腐植物質分析の技術と今後期待される分析手法, *土肥誌*, 74, 223~228 (2003)
- 29) Yanagi, Y., Hamaguchi, S., Tamaki, H., Otsuka, H. and Fujitake, N.: Relation of chemical properties of soil humic acids to decolorization by white rot fungi—*Coriolus consors*. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 49, 201~206 (2003)