

フミン物質とその水環境へのかかわり

フミン物質は、植物が腐朽してできた物質や、微生物の代謝物など多くの有機物が複雑に反応してできた物質であり、その構造は複雑で特定されていない。環境中の有害化学物質は、フミン物質との相互作用や反応によって、移動し易くなったり毒性が変化したりするなど、まったく別の物質のように振る舞うことが知られている。また、フミン物質は、水環境中における有害化学物質の光分解に重要な役割を果たしているといわれている。このように、環境中での化学物質の変化に重要な役割を果たしているにもかかわらず、フミン物質の性質や役割には不明な点が多い。本特集では、フミン物質に関する基礎的な解説をお願いするとともに、フミン物質が関与する環境中での反応についても論じてもらう。

(担当編集企画委員 資源環境技術総合研究所・辰己憲司)

フミン物質（腐植物質）の生成機構とその性質*

筒 木 潔

1. フミン物質 (humic substance) とは

フミン物質（腐植物質）は、土壌、泥炭、湖底や海底の堆積物、堆積岩、陸水、海水等、地球表面のあら

ゆる環境中に存在する。腐植物質は地球上の有機物の物質循環の中で、最大かつ非常に重要な構成要素である。また、植物や微生物への養分の供給、環境における緩衝機能、錯体形成や界面活性機能、土壌の団粒構造の保持機能、生理活性機能等々、多面的な役割を担っている^{1),2)}。

フミン物質という用語は、主として理学、地球化学、水質化学の分野で用いられているが、農学、土壌学の分野では腐植物質という用語を用いている。どちらも同じ概念の物質を意味しており、英語やドイツ語では区別されていない。著者は土壌学分野で研究を行っている関係で、本稿では腐植物質という用語を用いることとする。

腐植物質は、植物体の分解と腐植化に伴う各種の生物的、非生物的なプロセスによって合成された高分子



Kiyoshi Tsutsuki

昭和49年 名古屋大学農学部卒業
55年 国際稲研究所博士研究員
58年 ハンブルグ大学博士研究員
59年 名古屋大学農学部助手
平成3年 帯広畜産大学助教授
農学博士
〔趣味〕 散歩 パソコン

* Characteristics and Mechanism of Formation of Humic Substances

有機物である。また、複雑な化学構造を持ち、非晶質であること、分解に対する抵抗性を持つこと、暗色を呈すること、酸としての性質を持つこと等の特徴を示す。腐植物質は、分子量からみても、化学組成からみても非常に多様な物質群である。腐植物質の分子は、ランダムな生成機構を反映して、2つとして同一のもの存在しない。このような化学構造上の多様性も、腐植物質の本質のひとつと捉えてよいであろう。

腐植物質に対立する概念として、非腐植物質という用語がある。非腐植物質とは、生物が生命の法則の下に合成した有機物であり、その構造を同定可能なものである。

しかし、腐植物質と非腐植物質の境界は、実際にはそれほど明確なものではなく、両者を化学的な実験操作で厳密に分別することは、以下のような理由から困難である。

- (1) 腐植物質は、食品の褐変や木材の褐色腐朽、微生物による黒色色素の生産等の例に見られるように、非腐植物質の中で、すでにその生成が始まっている。
- (2) 土壤中、水質中等の環境中の有機物から、通常の方法で既知の有機化合物群(多糖類、タンパク質、脂質等)に属する画分を得ても、その中で構造を同定できる部分はほんのわずかである。
- (3) 腐植物質は、その大部分が、非腐植物質と吸着ないし結合して存在している(ファンデルワールス結合、水素結合、共有結合等)。

2. 腐植物質の区分

腐植物質を分離し、精製するためには、一定の基準に基づいた実験操作が必要となる。土壤等から抽出された有機物は酸およびアルカリへの溶解性によって、フルボ酸、腐植酸、ヒューミンに分別される。また、堆積物や堆積岩中の有機溶媒で抽出されない有機物はケロジェンと呼ばれている。このように、実験者が腐植物質の研究のために手にする試料は、一定の化学的分画操作によって便宜的に分けられた画分であり、その中には腐植物質も非腐植物質も、また両者の中間的な物質も含まれる。

2.1 フルボ酸 fulvic acid

フルボ酸は土壤や堆積物からアルカリによって抽出される有機物ないし水質中に溶存する有機物のうち、酸性(pH 1)にしても沈殿しない画分である。溶液の色は黄色から褐色を呈し、単位濃度当りの可視部吸光度は腐植酸と比べて著しく低い。

フルボ酸はカルボキシル基に富んだ腐植物質や、分子量の大きな多糖類、配糖体、フェノール性物質など多様な物質の混合物である。フルボ酸中の腐植物質に

富んだ画分は、酸性条件下で各種の樹脂(疎水性化合物に親和性を持つアンバーライト XAD系樹脂、フェノール性化合物に親和性を持つ Polyclar AT および弱塩基性陰イオン交換樹脂等)に吸着し、多糖類に富んだ画分は吸着しない³⁾。エタノールへの溶解度によっても腐植物質に富む画分(可溶性)と多糖類に富む画分(不溶性)を分画できる⁴⁾。

樹脂によって腐植物質部分を濃縮したフルボ酸は、酸性基やフェノール性基の含量、脂肪族性および芳香族性の炭素の割合等が、全体的なフルボ酸画分よりも増大する。また、樹脂で処理する前のフルボ酸は、主として多糖類からなる非常に高分子の成分(平均分子量は2~3万)を含むが、処理後は平均分子量が著しく減少し(数千から1万)、単分散性に近い分子量分布を示す。

また、フルボ酸の¹⁴C年代は、通常、腐植酸と比べて著しく若い。これは、フルボ酸は、生物による分解や溶脱による系外への移行が多く、代謝回転速度が速く、平均滞留時間が短いためである。

土壤中でフルボ酸は鉄やアルミニウムの酸化物、粘土鉱物、および高分子の腐植物質に吸着して存在しており、また多量の解離基によって各種の交換性イオンを保持している。したがってこれらの元素の植物への可給性や、移動・集積に深く関わっている。

土壤有機物中のフルボ酸の割合は、ポドソル土壤、褐色森林土壤で高く、また一般に層位が深くなるほど高くなる。また泥炭土壤では低い。このような特徴はフルボ酸が水に溶けやすく移動しやすいことを反映している。

河川水や地下水の腐植物質は90%以上がフルボ酸からなっている。土壤のフルボ酸の化学的性質は、土壤の種類によってかなり大きく変動するが、水質中のフルボ酸の性質は、互いに良く似ているといわれている。これら水質中のフルボ酸は、土壤のフルボ酸よりもさらに分子量が小さく、約800という値が報告されている⁵⁾。また、炭素含量が高く、酸素および窒素含量は低い。また、土壤フルボ酸の¹³C-NMR スペクトルでは糖鎖によるピークが主要であるが、水質中のフルボ酸では、非置換性の脂肪族炭素、芳香族炭素、およびカルボキシル基炭素が主要ピークとなる⁶⁾。

泥炭地の水溶性フルボ酸は、泥炭地植物から抽出された有機物とは類似しておらず、むしろ泥炭のフルボ酸と類似しており、さらに腐植物質成分に富んでいることが明らかにされている⁷⁾。

深層地下水のフルボ酸については、(1)炭素あたりの吸光度が非常に低い、(2)炭素含量が高く、酸素と窒素含量が低い、(3)非常に古い¹⁴C年代を示す等の特徴が

報告されている⁶⁾。

2.2 腐植酸 (フミン酸) humic acid

腐植酸 (フミン酸) は、土壌、湖底・海底堆積物、堆積岩等からアルカリによって抽出され、酸によって沈殿する赤褐色ないし暗褐色の有機物の画分である。また、カルボキシル基やフェノール性水酸基によって酸としての性質を示す。

土壌中での腐植酸は粘土鉱物の表面に吸着したり、各種の陽イオン、アルミニウム、鉄、カルシウム等と難溶性の塩を形成して存在している。したがって石灰質土壌などでは、NaOH 抽出のみでは腐植酸はあまり抽出されず、これらの陽イオンと錯体を形成する Na₂P₂O₇ や NaF 等の試薬によってはじめて抽出される。このような腐植酸を結合形腐植酸、一方 NaOH のみで抽出される腐植酸を遊離形腐植酸と称する。ただし遊離形とは称しても、アルカリ性で無機イオンと分離しやすいだけで、土壌中で完全に遊離の形で存在しているわけではない。例えば、アルミニウムイオンと結合状態にあった腐植酸は、NaOH 溶液によって容易に抽出される。

また腐植酸はジメチルスルフォキシド、ジメチルフォルムアミド等の有機溶媒にも、その一部が溶解する。腐植酸中でエタノールに可溶の画分はヒマトメラン酸 (himatomelanic acid) と称し、脂肪族成分に富んだ画分である。

腐植酸の可視部および紫外部吸光度は、可視部から紫外部にかけて指数関数的に増大し、キノン系土壌色素等を除外すれば、特定の発色団に起因する顕著な吸収帯を持たない。腐植酸の腐植化度は単位濃度当りの腐植酸の600nmの吸光度 (RF) および吸収スペクトルの傾き ($\Delta \log K = \log K_{400} - \log K_{600}$, ただし K_{600} および K_{400} は600nm および400nm における腐植酸の吸光度) によって定義され、この2つの指標によって腐植酸は A, B, Rp, P の4型に分類される⁹⁾。

このような腐植酸の腐植化度や型は、腐植酸・フルボ酸の抽出量および比率、遊離形腐植と結合形腐植の割合等の情報と組み合わせると、土壌の種類や層位の違いを非常によく反映する。

腐植酸のカルボキシル基、カルボニル基、芳香族炭素等は腐植化度の増大とともに増加し、水素含量、窒素含量、糖に由来するアルコール性水酸基、リグニンに由来するメトキシル基等は腐植化度の増大とともに減少する。すなわち、腐植化過程の初期に腐植酸の化学構造の形成に貢献したリグニン、タンパク質、多糖類等は腐植化の進行とともに減少し、不飽和度および芳香族性の高い土壌固有の腐植物質が生成する。

腐植酸は重量平均分子量が数万から数十万の多分散

性の高分子である。分子の形状は楕円状ないし球状と考えられる。また、多数の解離基の影響で高分子電解質として挙動するため、分子の大きさは溶媒の pH やイオン強度に著しく依存し、高 pH・低イオン強度の下では著しく拡がり、低 pH・高イオン強度では収縮する。

腐植酸を分子量によって分画しそれぞれの性質を調べると、一定濃度当りの可視部吸光度が最も高い画分は全体の中程度の分子量画分にある。他方、最も高分子量の画分の可視部吸光度はこれよりかなり低い⁹⁾。腐植酸の¹⁴C年代も巨大分子量画分では低く、中分子量画分が高い¹⁰⁾。これらのことは、(1)腐植酸の最も大きな分子量画分には、リグニンや多糖類等の構造が残されていること、(2)土壌に固有な暗色高分子は、出発物質の巨大分子を分解しつつ合成されることを示している。

2.3 ヒューミン

ヒューミンはアルカリ性溶媒で土壌から抽出できない有機物である。ヒューミンの一部は酸性にしたジメチルスルフォキシドやジメチルフォルムアミド等の非プロトン性極性溶媒に溶解する。また、フッ化水素で土壌の鉱質成分を溶解することによって、有機物試料として得ることができる。フッ化水素で土壌から分離したヒューミンを、アルカリ溶媒中でキレート樹脂 (キレックス100) で処理すると、非常に高腐植化度の腐植酸が抽出される¹¹⁾。これらのことから、疎水結合や多価陽イオンとのキレート結合がヒューミンの難溶性の一因であることがわかる。これらの操作によっても溶解しないヒューミンは、縮重合によって非常に複雑な構造を獲得した腐植物質であろう。他方、本来アルカリに不溶性の非腐植物質であるセルロース等の多糖類や脂質も、実験操作上ヒューミン画分に分配されるので注意する必要がある。

2.4 ケロジェン

ケロジェンは堆積岩や堆積物中の有機溶媒で抽出されない有機物であり、地層中に取り残された有機物が、土壌の腐植物質の生成に要するよりもはるかに長い時間をかけ、続成作用を受けて形成されたものである。アルキル基や縮合芳香環構造に富み、カルボキシル基や炭水化物的な構造は少なくなっている¹²⁾。

3. 腐植物質の生成機構

腐植物質の最大の給源は植物遺体である。しかし、腐植物質は、その給源となった植物遺体の構成成分のいずれとも著しく異なった構造を持っている。このような腐植物質はどのような経路で生成したのだろうか。

3.1 リグニン脱

リグニンが腐植物質の最も重要な給源であること

は、各種植物体成分の土壤中での分解消長を比較することによって明らかにされている。リグニンはその分解の過程で、メトキシル基を失い、遊離のフェノール性水酸基を増やし、側鎖の酸化分解やベンゼン環の解裂によってカルボキシル基を増やす。オルトジヒドロキシベンゼン環はさらにキノンへと酸化され、これはアミノ化合物やアンモニアと重合する¹⁾。リグニンと微生物由来のタンパク質が縮合して腐植物質が生成する機構はリグノプロテイン説として知られている。

3.2 ポリフェノール説

植物に含まれるリグニンやタンニンの分解と微生物による生産等によって土壌および環境中にポリフェノールが供給される。ポリフェノールはさらにフェノール酸化酵素によってキノンへと酸化された後、互いに重合し、暗色の高分子を生成する。その際、アミノ酸、ペプチド、アミノ糖等もキノンに求核付加し、続いて脱アミノ反応や重合反応を起こし、安定な複素環窒素や架橋窒素を形成する¹⁾。

3.3 アミノ酸と糖の反応 (メイラード反応)

アミノ酸と糖は、混合水溶液中で容易に重合して、褐色の高分子を生成する。自然条件下でも、触媒活性を持った無機成分の関与のもとに、アミノ酸やその関連化合物と糖成分が重合して、腐植物質を生成すると考えられている¹⁾。

3.4 微生物による腐植物質類似物質の合成

腐植物質類似の物質は微生物によっても生産される。例えば、各種の細菌、放線菌、糸状菌の培地には腐植物質の生成が認められる。さらに、メラニン形成能を持つ糸状菌が土壌に多いことから、微生物メラニンの土壌腐植への貢献が示唆されている。メラニンと腐植物質の類似性も、各種の化学分析や吸収スペクトルの比較により指摘されている⁹⁾。

また、菌体成分のうち、細胞膜を構成する安定な成分は腐植物質の構造中にも取り込まれる。

微生物ばかりでなく、ミミズやヒメミミズなどの土壌動物も腐植物質の合成に貢献している。これらの動物は、植物遺体や微生物菌体を無機質の土壌構成成分と一緒に飲み込み、その腸管の中で、消化残渣の有機物を土壌の無機質粒子と密接に結合させる。このことによって、有機物の腐植化が促進され、また生成した腐植物質は分解から保護される。

3.5 非生物的な腐植化

非生物的な腐植化は土壌生物の関わりなしに、生物学的な腐植化よりもゆっくりと進行する。その際、酸化鉄、酸化アルミニウム、酸化マンガン等の金属酸化物や粘土鉱物による触媒作用が重要な役割を果たしている。これらの触媒はポリフェノールやキノンからの腐

植物質の生成を著しく促進する^{8),13)}。

火山灰土は、非常に黒色度の高い腐植物質を生成集積し、黒ボク土と呼ばれている。とくに新鮮火山灰が腐植物質の形成を触媒する能力が高いこと、常温で植物遺体から A 型腐植酸 (RF>80) が形成されるためには、150年から2000年近い年月が植物に応じて必要なことが推定されている¹⁴⁾。

数百年のスケールの時間を要する黒ボク土の A 型腐植酸の形成は、比較的短い時間で進行するポリフェノールの重合や、生物による腐植物質類似物質の生産では説明できない。これらの機構で生成した腐植酸は吸収スペクトルや構造の安定性からも黒ボク土から得られた A 型腐植酸とは異なっている。

他方、黒ボク土の非常に黒い腐植物質の成因としては、植物の燃焼残渣 (炭) が給源となっているという説もある。このことは、ススキ等の炭化物から抽出された腐植酸が、実際の黒ボク土の腐植酸と非常に良く似た元素組成や吸収スペクトルを示すことから推察されている¹⁵⁾。

最も腐植化度の高い腐植酸に分類される A 型腐植酸は、数個のベンゼン環からなる縮合環を持ち、その縮合環が数枚重なった乱層構造をとることが明らかにされている。この乱層構造は炭化の初期段階に相当することから、腐植化過程は、常温のもとでの炭化反応ともみなされている⁹⁾。

高位泥炭では、pH が低いこと、有機物の C/N が高いこと、嫌気的条件、生育阻害物質の存在等によって、土壌生物の活性が著しく低く抑えられている。このような条件下では、ポリフェノールの重合タイプの非生物学的な腐植化過程が重要になると考えられる。

pH の低いポドソル土壌においてもまた、非生物学的な腐植化の割合は高いものと考えられる。ポドソル土壌では、主としてフルボ酸の形成が促進される。

以上のように、腐植物質の生成機構に関しては各種の仮説が提案されている。実際の環境中ではこれらの機構がそれぞれの環境条件に応じて複合して進行しているものと考えられる。また、便宜上、生物学的な腐植化と非生物学的な腐植化を区別したが、腐植化過程の本質は、生命の統制を離れた非生物学的な反応であり、生物はその原料を供給したり場所を提供することによって、非生物学的な腐植化を補助しているに過ぎない。さらに、非生物学的な腐植化過程は無方向的に進行するものではなく、秩序のある変化の過程を示す。このことは腐植酸の腐植化度と各種の化学的性質の対応にも示されており、非常に興味のあることである⁹⁾。以上に述べた腐植物質の生成機構を図 1 に要約した。

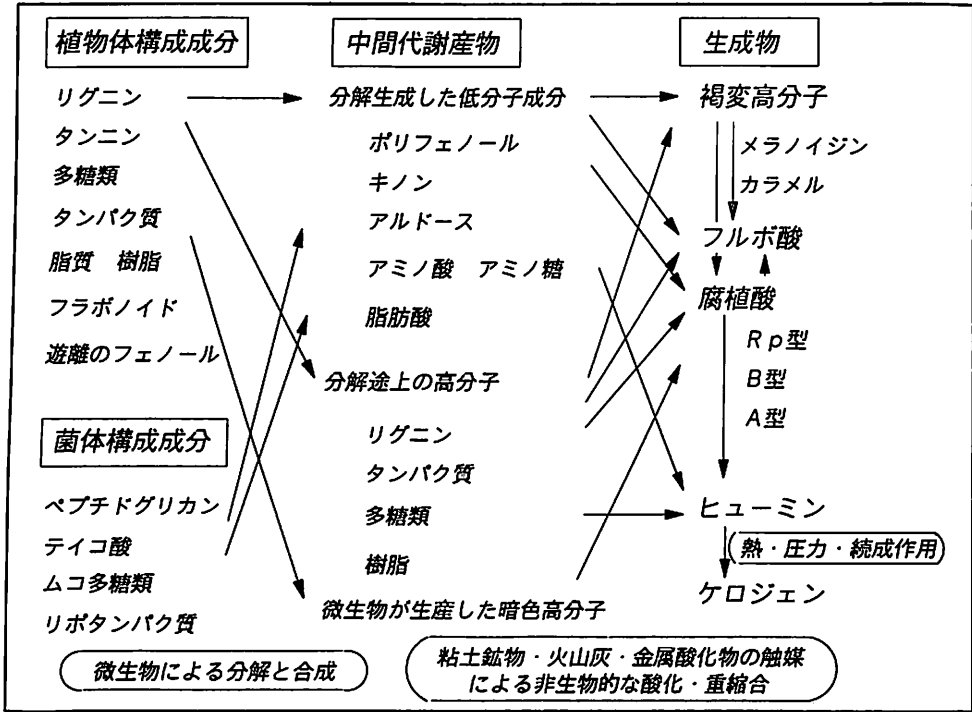


図1 腐植物質の生成機構 (原図)

文 献

- 1) Stevenson, F.J. (1982) Humus Chemistry-Genesis, Composition, Reactions, John Wiley & Sons, New York.
- 2) 筒木潔 (1994) 土壌有機物の特性と生成過程, 土壌生化学(仁王以智夫, 木村真人編), pp.73-96, 朝倉書店.
- 3) Aiken, G.R. (1985) Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances, In Humic Substances in Soil, Sediment and Water: Geochemistry, Isolation and Characterization (Aiken, G.R., McKnight, D.M., Wershaw, R.L. and MacCarthy, P. ed.), pp.363-385, Wiley-Interscience, New York.
- 4) Watanabe, A. and Kuwatsuka, S. (1992) Ethanol soluble and insoluble fraction of humic substances in fulvic acids, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 38, 391-399.
- 5) Aiken, G.R. and Malcolm, R.L. (1987) Molecular weight of aquatic fulvic acids by vapor pressure osmometry, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 51, 2177-2184.
- 6) MacCarthy, P., Clapp, C.E., Malcolm, R.L., and Bloom, P. R. (1990) Variations between humic substances isolated from soils, stream waters, and ground waters as revealed by ¹³C-NMR spectroscopy, In Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings. Amer. Soc. of Agron., Inc. Soil Sci. Soc. Amer., Inc. pp.13-35, Madison, Wisconsin, USA.
- 7) Ertel, J.R., Caine, J.M., and Thurman, E.M. (1993) Biomarker compounds as source indicators for dissolved fulvic acids in a bog, *Biogeochemistry*, 22, 195-212.
- 8) Kumada, K. (1987) Chemistry of Soil Organic Matter, 241pp., Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- 9) Tsutsuki, K. and Kuwatsuka, S. (1984) Molecular size distribution of humic acids as affected by the ionic strength and the degree of humification, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 30, 151-162.
- 10) Scharpenseel, H.W. (1977) The search for biologically inert and lithogenic carbon in recent soil organic matter, In Soil Organic Matter Studies, pp.193-200, IAEA, Vienna.
- 11) Tsutsuki, K. and Kuwatsuka, S. (1992) Characterization of humic metal complexes in a buried volcanic ash soil and a peat soil, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 38, 297-306.
- 12) Rullkötter, J. and Michaelis, W. (1990) The structure of kerogen and related materials, A review of recent progress and future trends, *Org. Geochem.*, 16, 829-852.
- 13) Shindo, H. (1989) Caralytic synthesis of humic acids from phenolic compounds by Mn(IV) oxide (birnessite), *Soil Sci. Plant Nutr.* 36, 679-682.
- 14) 大塚紘雄, 君和田健二, 上原洋一 (1994) 新鮮火山灰においてススキ, ササ, カシワの植物遺体から無菌的環境下で生成される腐植酸の生成過程, *日本土壌肥科学雑誌*, 65, 629-638.
- 15) Shindo, H. (1991) Elementary composition, humus composition, and decomposition in soil of charred grassland plants, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 37, 651-658.

