



()

植物遺体の腐朽過程における
フェノール性物質の挙動に関する研究

進藤晴夫

名古屋大学図書
和 738748

報告書号 甲 第 1127

目次

	頁
第 1 章 序論	1
第 1 節 緒言	1
第 2 節 本論文に至るまでの研究	10
第 2 章 フェノール性酸の分解経路	24
第 3 章 土壌中の稲わら腐朽過程に おけるフェノール性物質の 消長	54
第 4 章 稲わら腐朽物および稲わら 堆肥連用水田土壌の腐植酸 のフェノール性物質の特性	91
第 5 章 稲わらリグニン中の加水分 解性フェノール成分	110
第 6 章 稲わら, ラジノクローバー	

	およびアベマキ落葉の腐朽	
	過程におけるフェ)ール性	
	物質の消長	119
第7章	フェ)ール類の土壤吸着お	
	よび移行	150
第8章	フェ)ール類による土壤中	
	の重金屬の溶出	171
第9章	水田および森林土壤中のフ	
	エ)ール性酸の分布	195
第10章	総合考察	219
第11章	総括および結論	234
	謝辞	253
	文献	254

報文目錄

參考論文目錄

第1章 序論

第1節 緒言

土壤に供給される植物遺体には、自然土壤においては自生する草木の落葉、落枝、茎葉、根の残渣などがあり、耕地土壤においては栽培作物の茎葉および根、稲わらなどの作物収穫残渣、堆きゅう肥などがある。これらの植物遺体には広くフェノール性物質が分布している。

植物遺体起源のフェノール性物質の土壤中における役割としては、従来から次のようなことがいわれている。

1) p-クマル酸などいくつかの低分子フェノール性物質は、土壤中で忌地その他の植物生育障害の原因になる^{1~9)}。

2) ポリフェノールなどは、土壤中における重金属の移動を助長して土壤生成に関与する^{10~13)}。

3) リグニン, タンニン, フラボノイドなどのフェノール性植物成分は, 腐植酸の形成に貢献する^{14~18)}。

しかしながら, これらのことは実証的知見に乏しく, なお不明な点が多い。

このような土壌中におけるフェノール性物質の役割は, 土壌に供給された植物遺体が時間の経過とともに腐朽分解する過程で, その中でおきるフェノール性物質の化学変化, 消長, 行動などと密接に関係しているものと思われる。従って, その役割を適確に把握するためには, まず, 植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動を解明しておくことが必要であろう。

植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の消長および変化, 土壌中におけるフェノール性物質の行動などに関しては従来から研究が行なわれ幾つかの知見が得られている。

以下にこの方面における既往の研究を概観することとする。

植物中あるいはその腐朽物中に広く存在するアークマル酸などのフェノール性酸、イソフラボン、ユグロンなどの低分子フェノール性物質は、比較的濃度で植物の生育を阻害することが知られている¹⁹⁾。従って、植物遺体が腐朽する過程でこれらのフェノール性物質が如何なる消長および物質変化を行ない、植物生育に関与して行くかを明らかにすることは重要なことと思われるが、この方面の研究は少い。

MYSKOW・MORRISON¹⁹⁾は、黄花ルーピンおよびスイートクローバーの根の腐朽過程を比較し、またWANGら²⁰⁾は、サトウキビの葉とタヌキマキ植物体の腐朽過程において、アークマル酸などいくつかのフェノール性酸の消長が植物遺体の間でかなり相違することを認めた。

さらにWANGら²⁰⁾は、タヌキマキの腐朽過程におけるフェノール性酸の消長が、湿潤状態下と湛水状態下ではかなり異なることも認めた。

INAMATSU²¹⁾は、稲わら中のアークマル酸は、そ

の堆肥化の過程で減少することを報告している。

一方、植物遺体の腐朽過程におけるこれらのフェノール性酸の分解経路は実証されていないが、分離菌によるその分解経路についてはMARTIN・HAIDER^{22,23)}その他多くの研究者によって詳細に検討され、 β -クマル酸は β -ヒドロキシ安息香酸およびコヒ酸へ、フェルラ酸はバニリン酸およびコヒ酸へ変化することが明らかにされている。

一方、植物中の高分子フェノール性物質であるリグニンについては、麦わらなどの腐朽過程におけるリグニン画分の元素組成、官能基組成および赤外線吸収スペクトルの変化^{24,25)}、リグニンと土壌腐植酸の化学的分解物の比較^{17,18)}、リグニンの微生物分解²⁶⁾などの研究が行なわれ、リグニンは腐植酸の形成における初期物質として、また低分子フェノール性物質の給源として重要な役割を果たしていることが指摘されている。これらの内容については

FLAIG ら¹⁶⁾ によって詳細にまとめられている。

植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動と環境条件との関係に関する研究は殆んどない。また高分子フェノールから低分子フェノールの生成およびその分解経路についてもなお不明な点が多い。

植物遺体から土壤中に溶出したフェノール性物質の行動については、以下のような報告がある。BLOOMFIELD¹⁰⁾、COULSON ら¹¹⁾ および DAVIES¹²⁾ は、落葉などに含まれるポリフェノールが土壤中の鉄と複合体を形成し、鉄イオンの下方への移動を助長することを明らかにし、ポドゾル性土壌の生成過程におけるポリフェノールの重要性を指摘した。またこの種の土壌の生成過程におけるフェノール性成分の重要性については、SCHNITZER・SKINNER¹³⁾ によっても報告されている。しかし、ポリフェノール以外のフェノール性物質の土壌中における行動についてはあまり研究されていない。

土壌粒子によるフェノール性物質の吸着は、植物生育阻害物質としてのフェノール性物質の蓄積といった面だけでなく、土壌および腐植生成におけるフェノール性物質の役割の面とも密接に関連しているものと思われるが、吸着についてもあまり研究されていない。著者らのこの一連の研究と時を同じくして、草野・小川²⁷⁾もまた、p-クマル酸が土壌カラムから容易に溶脱し、さらに土壌中に添加したp-クマル酸が微生物により速やかに分解されることを認め、このような土壌条件下ではp-クマル酸の植物生育阻害作用は、比較的短期間のうちに消失するものと推定した。

以上述べてきたように、土壌中ないしは植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動に関しては従来から研究が行なわれているが、植物遺体の腐朽過程における各種のフェノール性物質の消長と腐朽条件との関係、その過程における低分子フェノール性物質の生成・分解経路、土壌中における各種のフェ

）-ル性物質の吸着・移行などについてはなお不明な点が多い。

水田土壌には、稲わらのほかに、毎年多量の稲の刈株、根などが供給されている。近年わが国の稲作農家には、機械化の進行とともにコンバインが普及してきた。その結果、従来、堆きゅう肥の形にして水田に施用されていた稲わらは生わらの形で直接多量に還元されるようになってきた。また、最近、稲わらは主要な有機物資材の一つとして各種の農耕地土壌、特に施設栽培の土壌に多量に施用されるようになった。稲の根あるいは葉、稲わら中にはγ-クマル酸などの植物生育阻害物質が含有されていることが、既に宗像²⁰⁾、飯塚・大島²⁸⁾、INAMATSU²¹⁾によって明らかにされている。

このような状況においては、稲わら中に含まれるフェノール性物質が作物の生育に何らかの影響を及ぼすことが懸念される。また、土壌の性質にも何らかの影響を及ぼすものと

思われる。しかし、稲わらの腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動については、前記 INAMATSU²¹⁾ および草野・小川²²⁾ の研究がある位で深く追究されていない。稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消長、土壌中における挙動などについて明確にすることは、一層重要性をましてきたものと思われる。

以上の見地から、本研究は、稲わらを中心に植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動に関して基礎的研究を行ない、土壌中におけるその役割を適確に把握しようとしたものである。

すなわち、稲わらを各種条件下で腐朽させ、その過程における各種フェノール性物質の消長を追跡し、その消長と腐朽条件との関係を検討した(第1章、第3章、第6章)。同時に他の植物遺体についてもその消長を調べ、稲わらの場合と比較した(第6章)。また植物遺体の腐朽過程における低分子フェノール性物質の生成・分解経路を明らかにするとと

もに (第2章, 第5章), 腐朽過程中に形成された腐植酸中のフェ) - ル性物質の化学的特性について検討した (第4章)。さらに土壌中におけるフェ) - ル性物質の吸着・移行 (第7章) と移行に伴って起きる鉄その他の重金屬の溶脱について研究した (第8章)。また水田および森林土壌中における低分子フェ) - ル性物質の分布を調べ, これらの土壌におけるその挙動を解析した (第9章)。

第 2 節 本論文に至るまでの研究

緒言で述べたように、 α -クマル酸がどいく
つかの低分子フェノール性物質は、植物の生
育を阻害することが知られている¹²⁹⁾。植物遺
体は多種多様な環境条件下に供給されるが、
植物遺体の腐朽過程における低分子フェノ
ール性物質の消長と腐朽条件との関係につ
いては殆んど知見が得られていなかった。

そこで、この点に関する知見を得るため
に、稲わらを種々の条件下で腐朽させ、そ
の過程におけるエーテル可溶のフェノール
性物質およびその中に含まれる個々のフェ
ノール性化合物の消長を追跡した。

なお本節に述べる研究内容は、既に修
士論文として名古屋大学農学部
に提出してあるので、本学位論文
では重複を避け、簡単にその
要旨のみを記載する。

I. ガスクロマトグラフによる稲わらおよ

びその腐朽物中のフェノール性酸の同定および定量

植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動に関する研究 (第1報)

BEHAVIOR OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DECAYING PROCESS OF PLANTS. I.

Identification and Quantitative Determination of Phenolic Acids in Rice Straw and Its Decayed Product by Gas Chromatography.²⁹⁾

稲の葉²⁸⁾、根¹⁾あるいは稲わら²¹⁾中にはアケマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸などのフェノール性化合物が存在することが既に報告されていた。しかし、これらの報告は、物質の検索を主目的としているために、定量的知見には乏しいものであった。植物腐朽過程におけるフェノール性物質の消長を研究するためには、これを定量することが必要である。従来、植物腐朽物あるいは土壌中のフェノール性物質を定量するため

には、これを抽出したのちペーパークロマトグラフで分離し、比色定量していた。この方法では同定および定量の精度に欠けることはない。

そこで、微量の物質まで検出および定量ができるガスクロマトグラフを用いて、稲わらおよびその腐朽物中に含有されている低分子フェノール性物質の検索および定量化を行った。

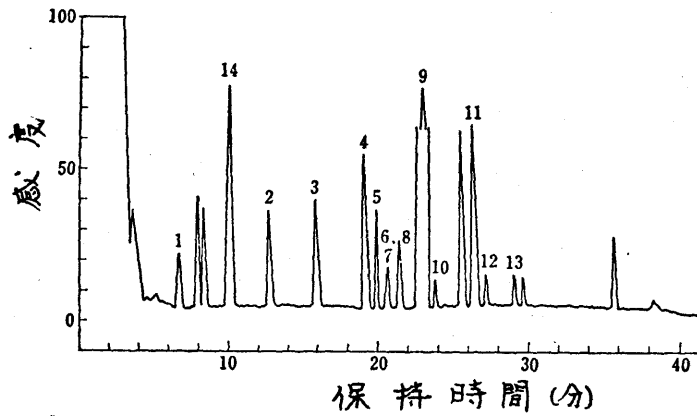
まず、この検索のために、稲わらおよびその腐朽物の試料をアルカリ性メタノールで抽出し、中和、濃縮後、酸性にしてエーテルで抽出し、N,O-ビス(トリメチルシリル)アセトアミド(TMS 化剤)でトリメチルシリル(TMS)化したのち、標準試薬とのコクロマトグラフにより同定した。

その結果、フェノール性化合物として、既に稲葉中にその存在が認められていたp-クマール酸、フェルラ酸、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸²⁸⁾のほか、新しくサリチル酸、

ゲンチゲン酸, プロトカテキユ酸, β -レゾル
シン酸, シリंगा酸, 没食子酸, コーヒー酸,
シナボン酸などを検出同定した(第1-1図)。

次に, これらのフェノール性酸のうち, 試
料中に比較的少量に含まれていたp-クマル酸,
フェルラ酸, バニリン酸, p-ヒドロキシ安息
香酸, シリंगा酸およびサリチル酸の定量法
とエーテル可溶のフェノール性物質の総量の
定量法について検討した。

稲わら試料にこれらのフェノール性酸を添
加し, アルカリ性メタノールで抽出し, 上記
の同定に用いた方法で定量化を検討した。す
なわち, 稲わら試料にアルカリ性メタノール
溶液を加えて3回抽出し, 抽出溶液を中和,
減圧濃縮したのち塩酸酸性としエーテルで抽
出した。エーテル可溶のフェノール性物質は,
エーテルを蒸発除去したのちにTMS化剤を加
えてTMS化し, 1.5%のシリコンSE-30を充填
剤とするステンレスカラム(2m x 3mm)を装
備した水素炎イオン化検出器(FID)付昇温



第1-1図 柑ゆら中に含有されているフェニル性物質のガスクロマトグラム

同定されたフェニル性化合物の相対保持時間を以下に示した。

番号	フェニル性酸	化学構造	相対保持時間
2	サリチル酸	2-ヒドロキシ安息香酸	1.26
3	p-ヒドロキシ安息香酸	4-ヒドロキシ安息香酸	1.59
4	バニリン酸	4-ヒドロキシ-3-メトキシ安息香酸	1.91
5	ゲンテゲン酸	2,5-ジヒドロキシ安息香酸	2.00
6	プロトカテキユ酸	3,4-ジヒドロキシ安息香酸	2.05
7	o-レゾルシン酸	2,4-ジヒドロキシ安息香酸	2.05
8	シリンガ酸	3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ安息香酸	2.15
9	p-クマル酸	4-ヒドロキシ桂皮酸	2.30
10	没食子酸	3,4,5-トリヒドロキシ安息香酸	2.34
11	フェルラ酸	4-ヒドロキシ-3-メトキシ桂皮酸	2.61
12	コーヒン酸	3,4-ジヒドロキシ桂皮酸	2.66
13	シナピン酸	3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ桂皮酸	2.90
		内標準物質	
14	p-クロル安息香酸	4-クロル安息香酸	1.00

番号1の物質は安息香酸であった。

ガスクロマトグラフ ($100^{\circ}\text{C} \sim 250^{\circ}\text{C}$, $5^{\circ}\text{C}/\text{分}$) を用い, p -クロル安息香酸を内標準物質として定量した。

この方法による添加回収率は, p -ヒドロキシ安息香酸, バニリン酸, p -クマル酸およびサリチル酸の場合いずれも 90% 以上で, またフェルラ酸とシリンガ酸は約 70% であった。

稲わら腐朽過程におけるこれらのフェノール性酸の分別定量法としては, ほぼ満足のものであると思われる。

エーテル可溶の総フェノール性物質の定量は, エーテルを蒸発除去し, 残渣に 20% の Na_2CO_3 とフォーリン試薬を加え水で定容とした後, 室温で 20 分間放置し, 700nm で比色定量した。 p -クマル酸を標準物質として, その吸光度でフェノール量を換算した。

稲わらおよびそれを湿潤状態下 50°C で 45 日間保温静置して得た腐朽物について, 個々のフェノール性酸をガスクロマトグラフで定量し, さらにエーテル可溶の総フェノール性物

質を比色定量した。その結果、これらの試料中には比較的高濃度でエーテル可溶の低分子フェノール性物質が含有されていた。その含量は、乾物あたり稲わらでは0.34%、稲わら腐朽物では0.28%であった。フェノール性化合物としては、稲わらではp-クマル酸の濃度(乾物あたり、370 ppm)が最も高く、以下フェルラ酸(220 ppm)、バニリン酸(120 ppm)、p-ヒドロキシ安息香酸(20 ppm)、シリンガ酸(20 ppm以下)、サリチル酸(20 ppm以下)の順であった。稲わら腐朽物中の濃度は稲わらに比べると少ないが、p-クマル酸が最も多く、上記各フェノール性酸の濃度は20 ppm以下から170 ppmの範囲にあった。

稲わら中には高分子フェノール性物質のリグニンが約20%含まれている³⁰⁾が、フラボノイドの含有量は1%以下といわれている³¹⁾。また一般にリグニンは低分子フェノール性物質の給源であるといわれている¹⁶⁾。従って、稲わら腐朽物中で検出されたフェノール性酸

などの低分子フェノール性物質には、稲わら中にもともと存在していたもののほかに、稲わらの腐朽に伴いリグニンなどが新たに生成してきたものも含まれていることが考えられる。

Ⅱ. 種々の条件下での稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消長

植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動に関する研究 (第2報)

BEHAVIOR OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DECAYING PROCESS OF PLANTS. II.

Changes of Phenolic Substances in the Decaying Process of Rice Straw under Various Conditions.³²⁾

稲わらは多種多様な環境条件下に投与されているが、稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消長と腐朽条件との関係については、従来まったく知見が得られていなかった。

フェノール性物質の消長と温度および水分

条件との関係を明らかにするため、稲わらを容器内で湿潤または湛水状態下に保ち、 10° 、 30° 、 50°C でそれぞれ腐朽させ、所定の期間（最長70日間）の後に、アルカリ性メタロールで抽出し、その中のエーテル可溶の全フェーロ性物質と個々のフェーロ性酸をI. に記載した方法²⁹⁾に従って定量した。

稲わら中の全有機物量は70日間ほぼ直線的に減少し、高温ほど分解が速く、湛水状態よりも湿潤状態で分解が速かったが、エーテル可溶の低分子のフェーロ性物質は有機物の消長とは直接の関係はなく、特異的な消長を示した（第1-2回）。

湛水状態 50°C では、稲わらの腐朽・分解とともにエーテル可溶の低分子フェーロ性物質は急速に増加したのち減少し、 30°C では次第に減少し、 10°C ではわずかに増加したのち減少した。湿潤状態では腐朽期間中フェーロ性物質の増加は見られず、高温ほど速やかに減少した。以上の結果から、稲わら中にも

とも存在する低分子のフェノール性物質は、
稲わらの腐朽過程において比較的速やかに分
解消失するが、一方ではリグニンなどの高分
子物質から分解生成し、湛水状態下では、特
に高温条件下では、低分子フェノールの分解
消失よりも高分子フェノールからの生成の方
が上回るため最初はエーテル可溶のフェノ
ールが増加し、湿潤状態下では生成よりも分解
が速く、時間の経過とともに減少するものと
推定した。

また、上記稲わらの腐朽過程における個々
のフェノール性化合物の消長を追跡した。そ
の中の主要な4種類のフェノール性化合物の
消長を第1-3図に示した。それぞれのフェノ
ールは水分状態および温度条件に応じてそれ
ぞれ特異的な消長経過を示した。ほとんどの
腐朽条件下で

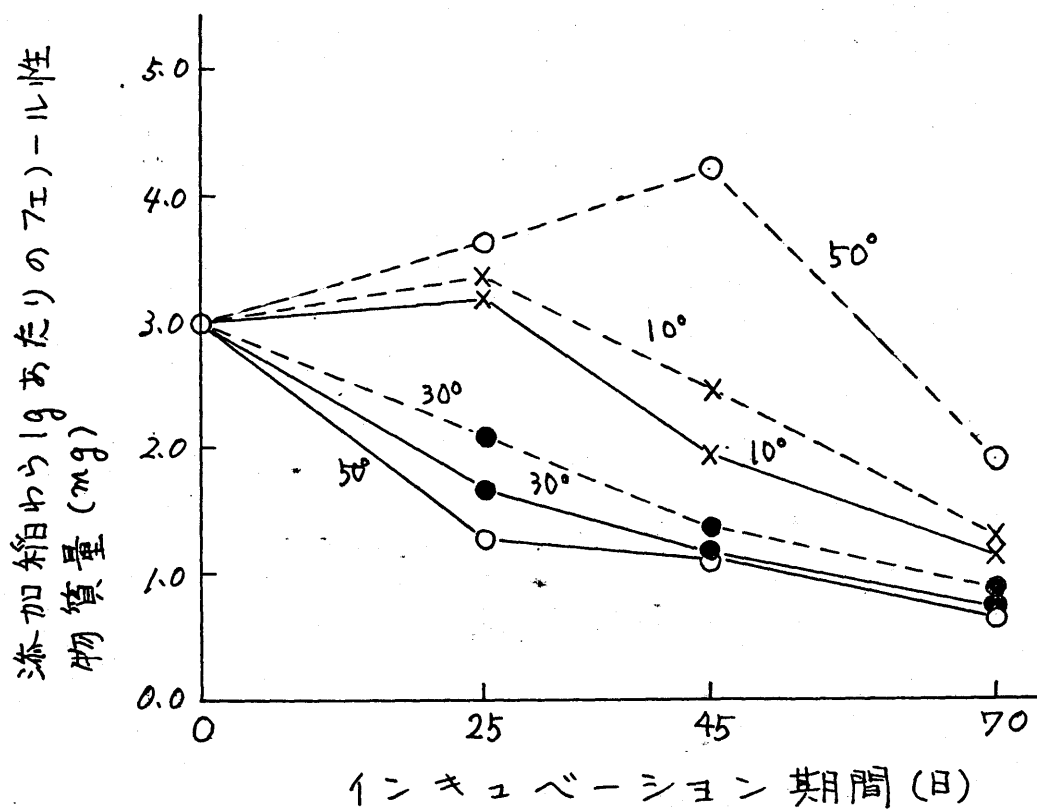
クマール酸

が著しく減少したと
き

ヒドロキシ安息香酸

が増加し、この関係
はフェルラ酸とバニリン酸でも同様であった。
この結果から、稲わら腐朽過程において

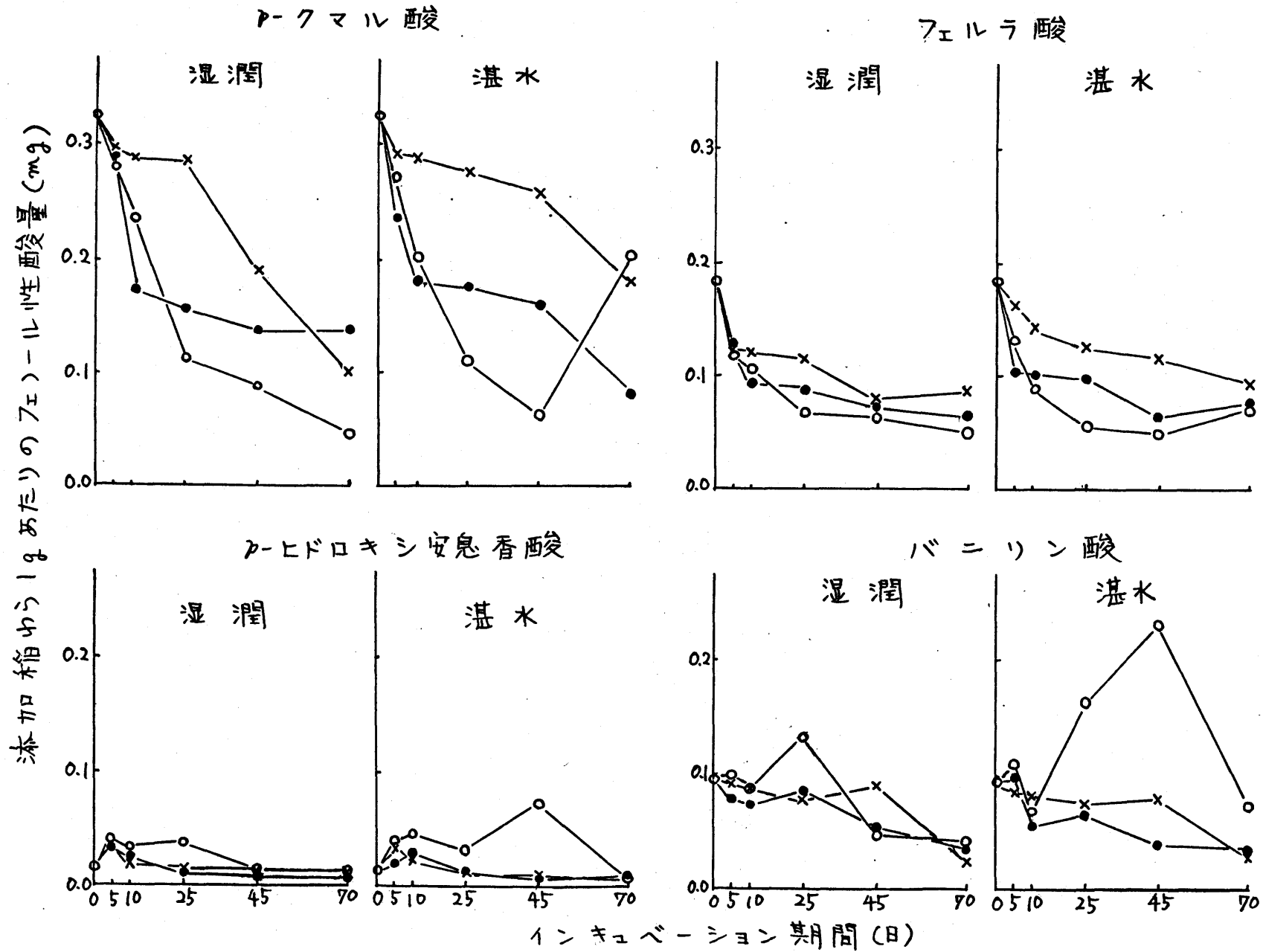
ク



第1-2図 稲わら腐朽過程におけるエーテル可溶の全フェノール性物質の消長

—, 湿潤状態

---, 湿状態

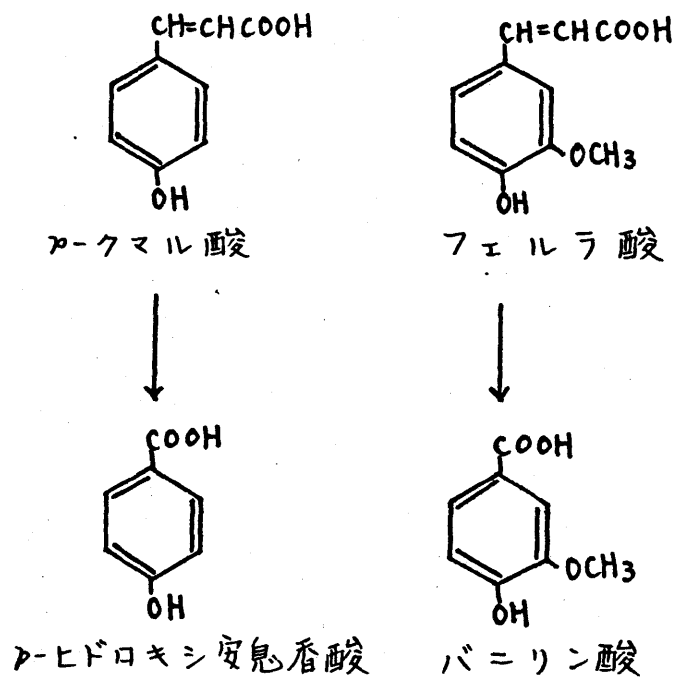


第1-3図 箱ゆら腐朽過程における個々のフェーラル性酸の消長 (O, 50°C; ●, 30°C; X, 10°C)

マール酸は *p*-ヒドロキシ安息香酸へ、フェルラ酸はバニリン酸へ変化すると推定した (第1-4図)。

湛水状態下 50°C では、腐朽中期から後期にかけて、バニリン酸、*p*-クマール酸、フェルラ酸の増加が認められた。この時期に、リグニンなどの高分子フェノール性物質から速やかに生成してきたためと推定した。

以上の結果を要約すれば、縮わら中にもともと存在しているフェノール性酸などの低分子フェノール性物質は、縮わらの腐朽過程で分解消失するが、一方ではリグニンなどの高分子フェノール性物質から生成してくるものと推定した。この生成および分解は、温度のみならず水分条件によってもかなり影響された。またその腐朽過程において、*p*-クマール酸は *p*-ヒドロキシ安息香酸へ、フェルラ酸はバニリン酸へ変化すると推定した。



第1-4図 椎茸の腐朽過程における主要フェニール性酸の推定分解経路

第 2 章 フェノール性酸の分解経路

前章では、各種条件下で稲わらを腐朽させアルカリ性メタノール抽出物中のエーテル可溶の全フェノール性物質と個々のフェノール性酸の消長を追跡した。フェノール性物質の分解および生成は、腐朽期間中の温度および水分条件に著しく影響され、稲わら中に含まれる遊離のフェノール性酸は速やかに減少するが、これらは腐朽過程中に前駆物質から二次的に生成されることを明らかにした。また個々のフェノール性酸相互の量的関係から、*p*-クマール酸は *p*-ヒドロキシ安息香酸に、フェルラ酸はバニリン酸にそれぞれ変化するものと推定した。

従来、分離菌の *A. sydowii* や *E. nigrum* による *p*-クマール酸、あるいはフェルラ酸の分解経路は報告されているが^(22,23)、植物腐朽過程におけるフェノール性物質の分解経路に関する報告は少ない。この点に関する定量的な知見も必

要と考えられる。

本章では、稲わらおよびその腐朽物中に含まれている主要な4種類のフェノール性酸を腐朽わらおよび土壌の各水抽出液中に加えてインキュベーションし、前章で推定したフェノール性酸の分解経路の確認を行なった。また前章の結果と併せ、稲わら腐朽過程におけるフェノール性酸の分解過程を解析した。

材料および方法

1) 腐朽わらおよび土壌の水抽出液の調整
金南風種の稲わらを風乾後、ワイヤー型粉碎機で粉碎し、直径2 mmの篩を通した。この粉碎稲わら15 gを200 ml容のビーカーに入れ最大容水量の60%に相当する水を加えて攪拌し、ビーカーの口部をサラップで覆い、90日間、50℃でインキュベーションした。1週間ごとに水を補給して水分含量を一定に保った。この稲わら腐朽物に10 lの水を加えて攪拌し、遠心分離したのち上層液をろ過し、

腐朽わら希薄水抽出液を得た。

また、愛知県農業総合試験場水田実験農場（安城市）の水田作土層から採取した土壌 750g に 10 l の水を加えた後、前述と同じ方法により土壌希薄水抽出液を調整した。土壌の一般理化学的性質は、 $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$ 5.8, 全炭素 1.9%, CEC 13.6 me/100g 乾土, 遊離鉄 1.3% であった。

2) フェニール性酸とそれらのメチル化物 p -クマル酸, フェルラ酸, p -ヒドロキシ安息香酸, バニリン酸, p -メトキシ桂皮酸 (4-メトキシ桂皮酸) および 3,4-ジメトキシ桂皮酸は市販品を供試した。 p -クマル酸メチルエステル (4-ヒドロキシ桂皮酸メチルエステル mp 136°C), p -メトキシ桂皮酸メチルエステル (4-メトキシ桂皮酸メチルエステル, mp 88°C), フェルラ酸メチルエステル (4-ヒドロキシ-3-メトキシ桂皮酸メチルエステル, mp 64°C) および 3,4-ジメトキシ桂皮酸メチルエステル (mp 65°C) は、それらの相当す

る酸をメタノール-硫酸中で還流して合成した。各化合物はガスクロマトグラフで不純物を認めなかった。

3) インキュベーションの条件

腐朽わらおよび土壌の各希薄水抽出液 500 ml を 1 l 容の三角フラスコに入れ、各フェノール性酸 15 mg を 1 種または 4 種類加えて溶解し、フラスコの口部をサラップで覆い、50℃で所定の日数インキュベーションした。ただし、蒸気滅菌処理区はフラスコの口に綿栓をしてインキュベーションした。各区の条件を第 2-1 表に一括して示した。

4) フェノール性酸とそれらの分解産物の同定および定量

所定期間経過後、各溶液から 50 ml ずつ取り希塩酸で pH 2 以下にし、150 ml のエーテルで 3 回抽出した。エーテル溶液は少量の水で洗い、無水芒硝で脱水後、500 ml に定容とした。適量のエーテル溶液を濃縮乾固後、個々のフェノール性酸とその分解産物をトリメチルシ

第2-1表 各区の設定条件

区	フェニール性酸
腐朽わら抽出液(500ml)	
A	p-ヒドロキシ安息香酸 (15 mg), pH 6.7
B	バニリン酸 (15 mg), pH 6.9
C	p-クマル酸 (15 mg), pH 6.9
D	フェルラ酸 (15 mg), pH 7.0
E	バニリン酸 (15 mg), pH 3.6に希塩酸で調整
F	フェルラ酸 (15 mg), pH 3.6に希塩酸で調整
G	4種類のフェニール性酸 (60 mg, 各15 mg), pH 5.2
H	4種類のフェニール性酸, 抗生物質(クロラムフェニコール)
I	4種類のフェニール性酸, 蒸気滅菌(120°C, 30分間)
土壌抽出液(500ml)	
J	p-ヒドロキシ安息香酸, pH 4.6
K	バニリン酸, pH 4.8
L	p-クマル酸, pH 4.9
M	フェルラ酸, pH 5.0

リル化 (TMS 化) し、前章で述べた方法に従い、水素炎イオン化検出器 (FID) を装備したガスクロマトグラフで定量した。エーテル可溶の分解産物は同じ方法で標準試薬とのコクロマトグラフにより同定した。また分解産物の同定確認のため、前章で述べた方法に準じて薄層クロマトグラフも行なった。

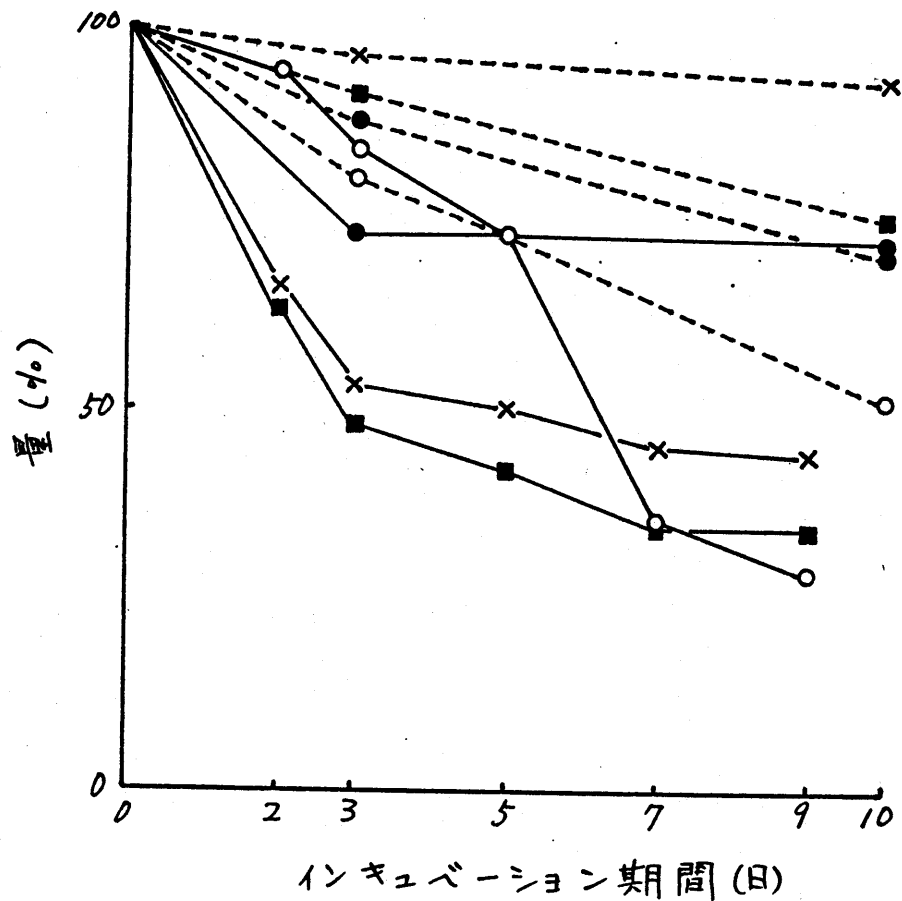
ガスクロマトグラフで同定することのできなかった分解産物は、エーテル中でジアゾメタンでメチル化し、10%のシリコン SE-30 を充てん剤とするステンレスカラム (2 m × 3 mm) を装備した熱伝導度検出器 (TCD) 付ガスクロマトグラフを用い、上記と同じ温度条件で分取した後、赤外線吸収スペクトル (IR) およびマススペクトル (Mass) を測定し、物質の確認を行なった。

結果および考察

1. 腐朽ゆう および土壌の各希薄水抽出液中におけるフェニール性酸の分解速度

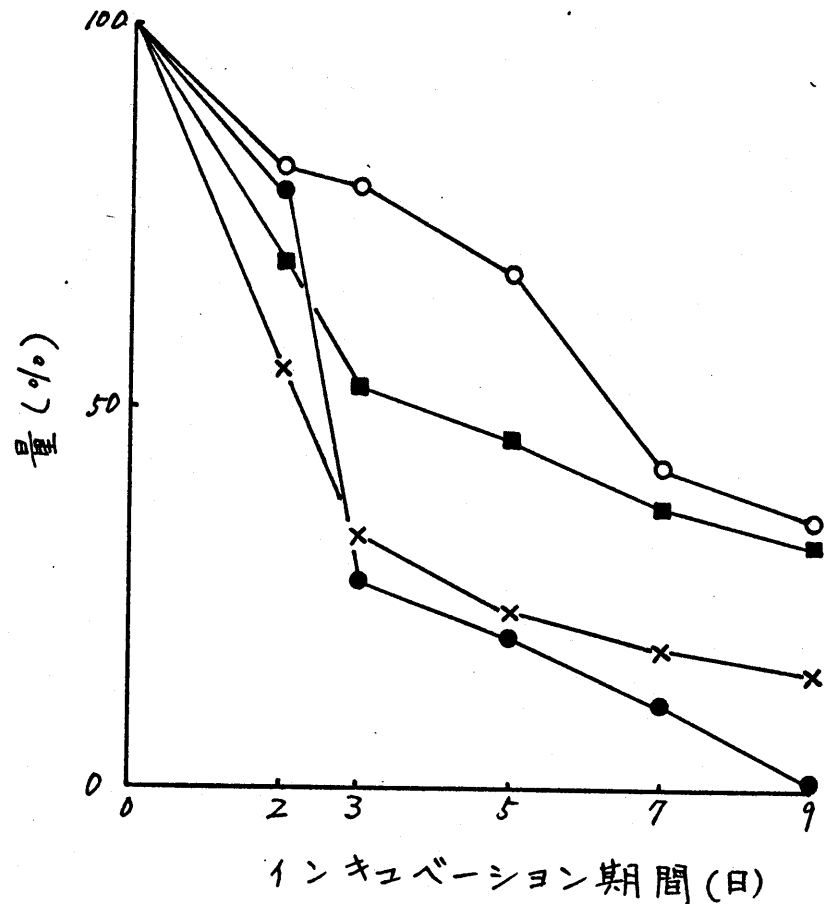
腐朽ゆら水抽出液に個々のフェノール性酸を単独添加, あるいは混合添加してインキュベーションした場合の個々のフェノール性酸の量の経時変化を第2-1 図に示した。

フェノール性酸無添加の水抽出液中では, いずれの溶液でも, インキュベーション期間中を含めてフェノール類は検出されなかった。大量の水で希釈したものをを用いたためと思われる。フェノール性酸の分解速度は, その化学構造およびインキュベーション条件に応じて変化した。p-クマル酸, フェルラ酸およびバニリン酸の量は, 実験開始後3 日間はp-ヒドロキシ安息香酸よりも速やかに減少するがその後は殆んど一定の値を示すが, あるいはわずかに減少した。一方, p-ヒドロキシ安息香酸は全期間ほぼ直線的に減少した。9 日目の残存量は, バニリン酸 > フェルラ酸 > p-クマル酸 > p-ヒドロキシ安息香酸の順であった。フェノール性酸を混合して抽出液に添加した場合 (溶液 G), 単独の場合 (溶液 A-D) よ



第2-1図 腐朽わら抽出液中におけるフェニル性酸の量の経時変化

—, A-D (单独添加); ----, G (混合添加)
 O, p-ヒドロキシ安息香酸; ●, バニリン酸; ■, p-クマル酸;
 X, フェルラ酸



第2-2図 土壌抽出液中におけるフェニル性酸の量の経時変化

—, J-M (单独添加)
 O, p-ヒドロキシ安息香酸; ●, バニリン酸; ■, p-クマル酸;
 X, フェルラ酸

りも減少量は少なかった。特に *p*-クマル酸およびフェルラ酸が少なかった。フェノール類は 100 ppm の濃度で微生物作用を阻害する³³⁾ことが知られているので、溶液 G で制菌現象が生じたためと推定される。

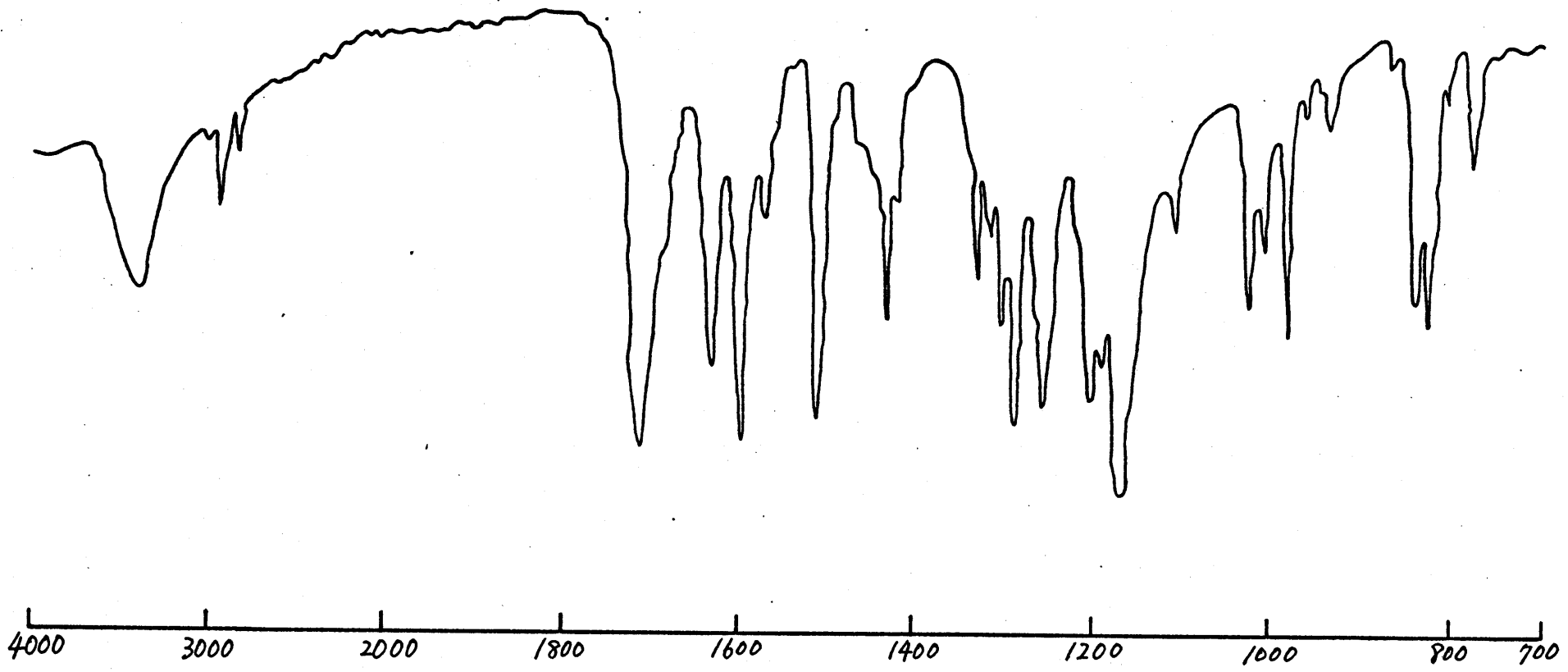
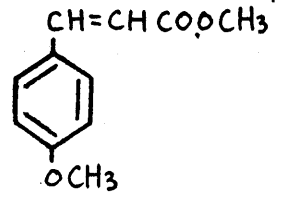
土壌希薄水抽出液中の各フェノール性酸の量の経時変化は第 2-2 図に示した。第 2-1 図と第 2-2 図を比較すると、土壌水抽出液中での *p*-クマル酸および *p*-ヒドロキシ安息香酸の減少量は、腐朽わら水抽出液中の場合と殆んど差がないことが認められる。しかし、分子中にメトキシル基を有するフェルラ酸およびバニリン酸は、腐朽わら抽出液中よりも土壌抽出液中で大きく減少し、メトキシル基を有するフェノール性酸の分解は、稲わら由来ではなく、主に土壌由来の微生物によって行なわれるものと推定される。

2. 個々のフェノール性酸の分解産物の同定

p-ヒドロキシ安息香酸を両水抽出液中でイ

インキュベーションしたとき、3日以後エーテル抽出物のガスクロマトグラム上に、この酸のほかにも1個の別のピークが認められた。分解産物は、FID-GCおよびTLCを用いた標準試薬とのガスクロマトグラムによりプロトカテキェ酸と同定した。

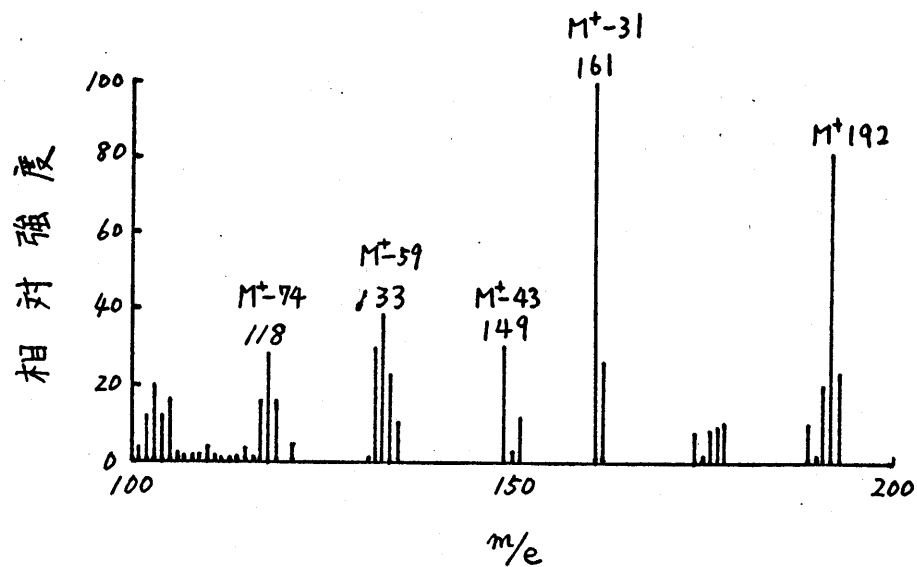
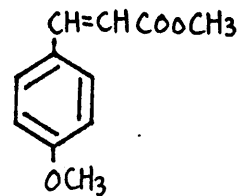
p-クマル酸分解の場合、この酸の他に2個のピークが生じた。分解産物の1つは量的には少なかったが、FID-GCを用いたガスクロマトグラムによりp-ヒドロキシ安息香酸と同定した。インキュベーションの初期から大量に新しく生じたもう1つの分解産物の相対保持時間は、p-クマル酸の代謝産物^{22,23)}として可能性のあるコーヒ酸とは一致しなかった。この分解産物をジアゾメタンでメチル化し、ガスクロマトグラムで分取して、赤外線吸収スペクトルおよびマススペクトルを測定した。この赤外線吸収スペクトルは、第2-3図に示したように、p-メトキシ桂皮酸メチルエステルと一致した。その相対保持時間は、p-クマル



第2-3図 ジアゾメタンでメチル化したp-クマル酸分解生成物の赤外線吸収スペクトル

酸メチルエステルとは一致せず、*p*-メトキシ桂皮酸メチルエステルと一致した。マススペクトルの結果は、第2-4図に示したように、 m/e 192 (M^+) , 161 ($M^+ - 31$) , 149 ($M^+ - 43$) , 133 ($M^+ - 59$) および 118 ($M^+ - 74$) のイオンピークを生じ、*p*-メトキシ桂皮酸メチルエステルと一致した。未知の分解産物がメチル化する前に *p*-メトキシ桂皮酸であったが、あるいはそのメチルエステルであったかを確認するために、両化合物と溶液から分離した未同定成分をTMS化し、FID-GCにより相対保持時間を調べた。*p*-メトキシ桂皮酸の相対保持時間は分解産物と一致した。また *p*-クマール酸はジアゾメタンで同様のメチル化を行なうと、*p*-メトキシ桂皮酸を生成せず、*p*-クマール酸メチルエステルのみを生成した。これらの結果に基づき、*p*-クマール酸由来の未知の分解産物を *p*-メトキシ桂皮酸と同定した。

フェルラ酸分解の場合、*p*-クマール酸と同じ様にガスクロマトグラム上に3個のピークが



第2-4図 ジアゾメタンでメチル化したp-クマル酸分解生成物のマスペクトル

認められた。分解産物の一つは FID-GC を用いたコクロマトグラフによりバニリン酸と同定した。他の分解産物の相対保持時間は、フェルラ酸の代謝産物^{22,23)}として知られているコーヒ酸とは一致しなかった。メチル化した分解産物の相対保持時間は、3,4-ジメトキシ桂皮酸メチルエステルと一致した。また TMS 化した分解産物の相対保持時間は、同様の処理をしたフェルラ酸メチルエステルおよび 3,4-ジメトキシ桂皮酸メチルエステルとは一致せず、3,4-ジメトキシ桂皮酸と一致した。これらの結果に基づき、フェルラ酸の未知の分解産物を 3,4-ジメトキシ桂皮酸と同定した。

バニリン酸分解の場合には、両培地とも分解産物はガスクロマトグラフでは検出されなかった。

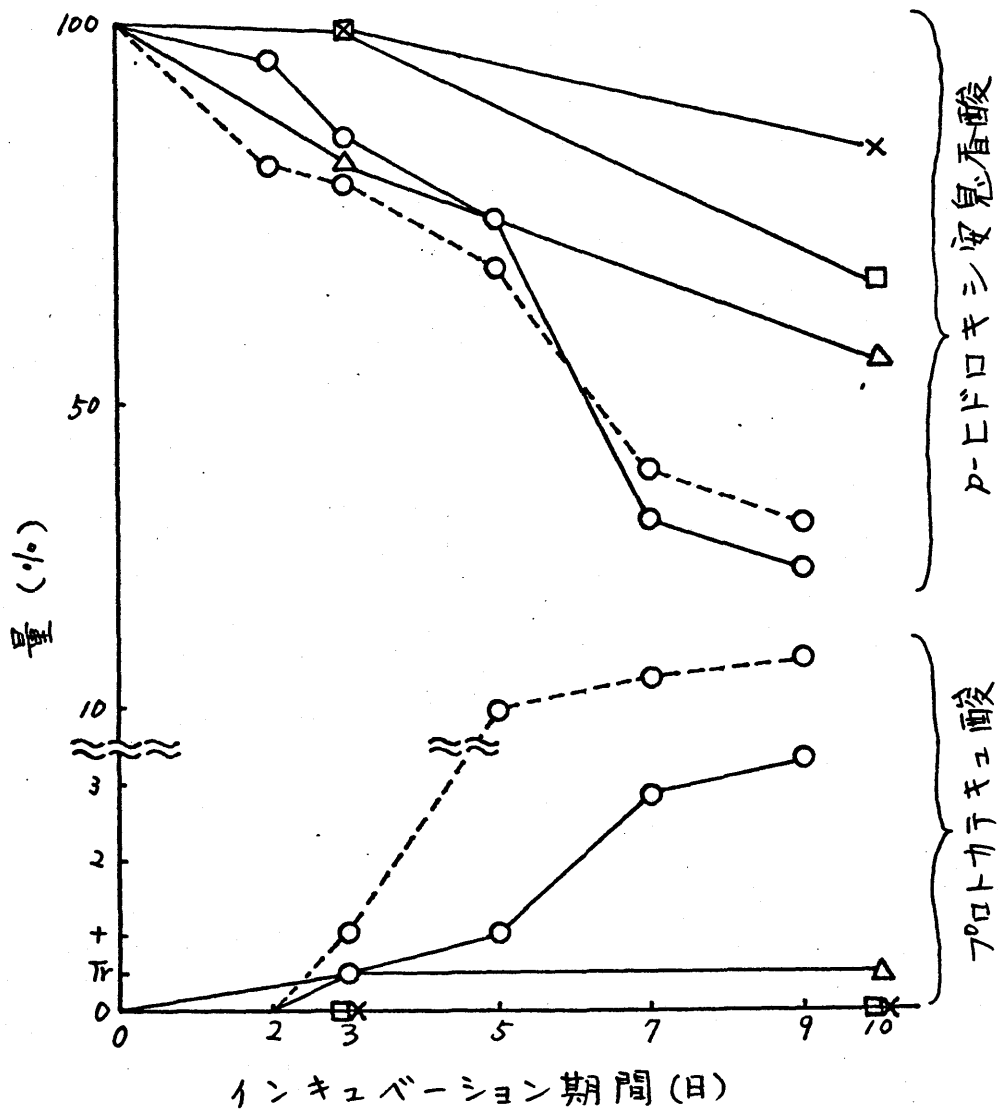
第 2-2 表には、以上に記載したフェノール性酸の分解産物の相対保持時間を示した。

3. フェノール性酸および分解産物の消長

第2-2表 フェノール性酸の化学構造と相対保持時間

フェノール性酸	化学構造	相対保持時間
p-ヒドロキシ安息香酸	4-ヒドロキシ安息香酸	1.59
バニリン酸	4-ヒドロキシ-3-メトキシ安息香酸	1.91
p-メトキシ桂皮酸	4-メトキシ桂皮酸	1.98
プロトカテキユ酸	3,4-ジヒドロキシ安息香酸	2.05
フェルラ酸メチルエーテル	3,4-ジメトキシ桂皮酸	2.37
p-クロル安息香酸 (内標準物質)		1.00

第 2-5 回に p-ヒドロキシ安息香酸の分解過程とプロトカテキユ酸の生成過程を示した。p-ヒドロキシ安息香酸の減少とともに(溶液 A および J), プロトカテキユ酸が増加した。p-ヒドロキシ安息香酸は, 4種のフェニール性酸を混合して添加した区(溶液 G)ではほぼ直線的に減少したが, 抗生物質添加区(溶液 H), あるいは蒸気滅菌処理区(溶液 E)ではインキュベーションの後期にわずかに減少した。殺菌溶液中でさえわずかではあるが p-ヒドロキシ安息香酸が減少したので, この分解が微生物だけでなく, 化学的にも進行されることが考えられる。しかし, 両殺菌処理区では最初の 3 日間にフェニールの減少が見られなかつたので, 抗生物質添加区ではインキュベーションの後期に抗生物質が分解して殺菌効果が失われたこと, 蒸気滅菌処理区ではインキュベーションの後期に菌が混入したことも考えられる。いずれにしてもその減少は少なかつた。プロトカテキユ酸の生成は,



第 2-5 図 p-ヒドロキシ安息香酸とその分解産物の消長

——, 腐朽わら抽出液 : ○, A (単独添加); △, G (混合添加);
 □, H (混合添加, 抗生物質); ×, I (混合添加, 蒸気滅菌)
 ----, 土壌抽出液 : ○, J (単独添加)

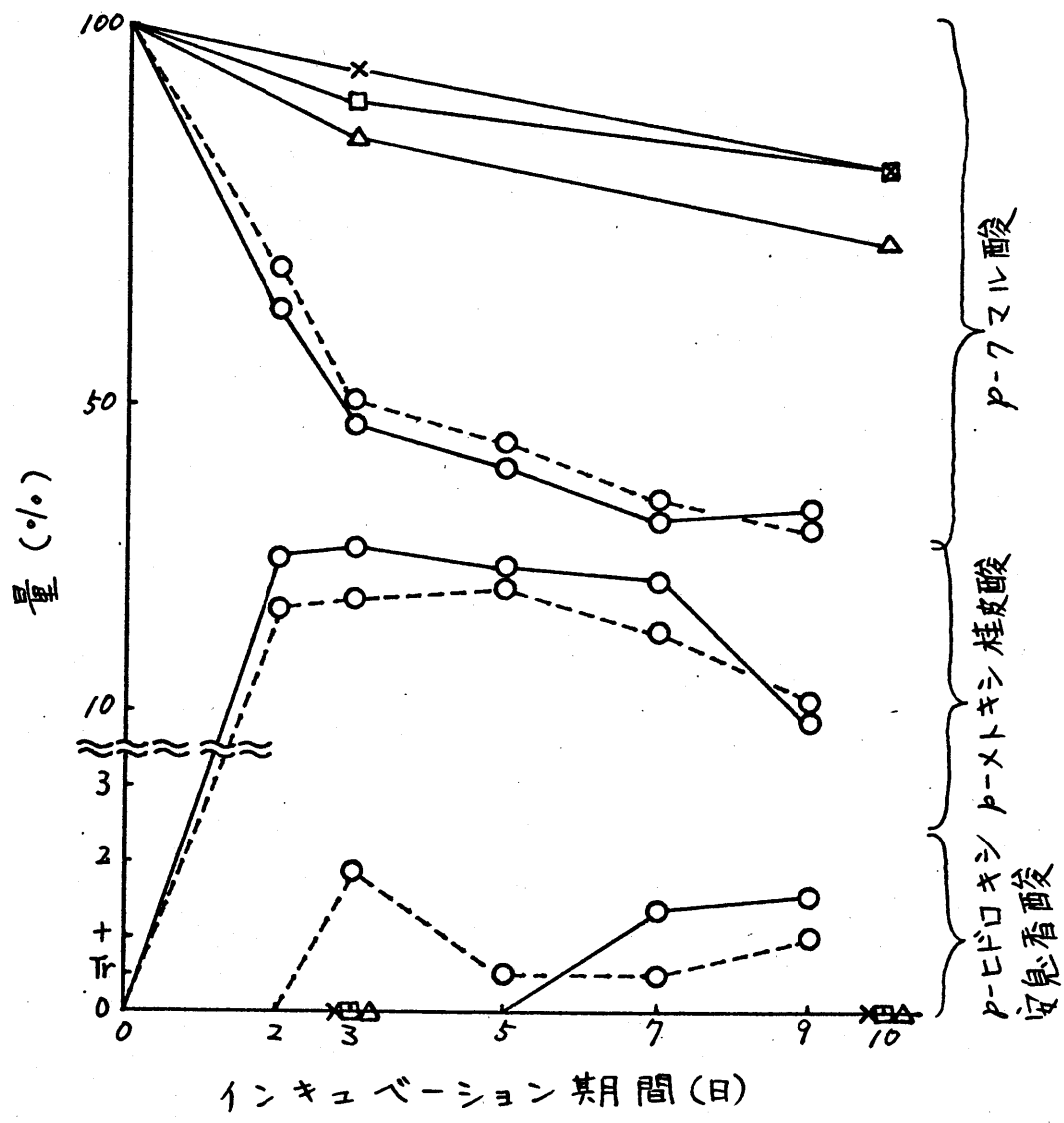
混合区 (溶液 G) でも認められたが、両殺菌区 (溶液 H および I) では認められなかった。これらの結果から、 p -ヒドロキシ安息香酸は微生物作用により速やかにプロトカテキエ酸に変化するものと考えられる。プロトカテキエ酸は、微生物により環が開裂して β -カルボキシ-*cis*, *cis*- μ コニ酸に代謝されたりあるいはキノン化合物を経て暗色の腐植様物質を形成することが知られている^{15,34)}。またプロトカテキエ酸を新鮮椎わらの希薄抽出液に加えたとき、2ないし3日以内にその溶液は赤褐色を呈した。

p -ヒドロキシ安息香酸の減少に伴い、かなりの量のプロトカテキエ酸が検出されたが、他の分解産物はインキュベーション期間中、ガスクロマトグラフで検出されなかった。モノフェニールから由来したジフェニールは、それらの前駆物質よりも微生物によって一般に速やかに代謝され、またジフェニールはモノフェニールよりも速やかに重合するものと

考えられるので、 p -ヒドロキシ安息香酸の分解に伴い生成したプロトカテキユ酸は、速やかに脂肪酸へと代謝されたり、あるいは重合したりするものと推定される。

p -ヒドロキシ安息香酸の分解速度は、腐朽わら抽出液（溶液 A）と土壌抽出液（溶液 D）の間で殆んど差はなかつたが、プロトカテキユ酸の生成量は、溶液 A よりも溶液 D 中の方が多かつた。このことは、プロトカテキユ酸の分解、あるいは重合が土壌抽出液中よりも腐朽わら抽出液中で速やかに起きたことを示唆している。

p -クマール酸とその分解産物の消長を第 2-6 図に示した。 p -クマール酸は腐朽わら抽出液（溶液 C）および土壌抽出液（溶液 L）中でインキュベーションの初期に速やかに減少し、それに伴いほぼ当量の p -メトキシ桂皮酸が生成した。さらにこれより遅れて p -ヒドロキシ安息香酸が生成しはじめ、これに伴い p -メトキシ桂皮酸が減少しはじめた。 p -メトキシ安

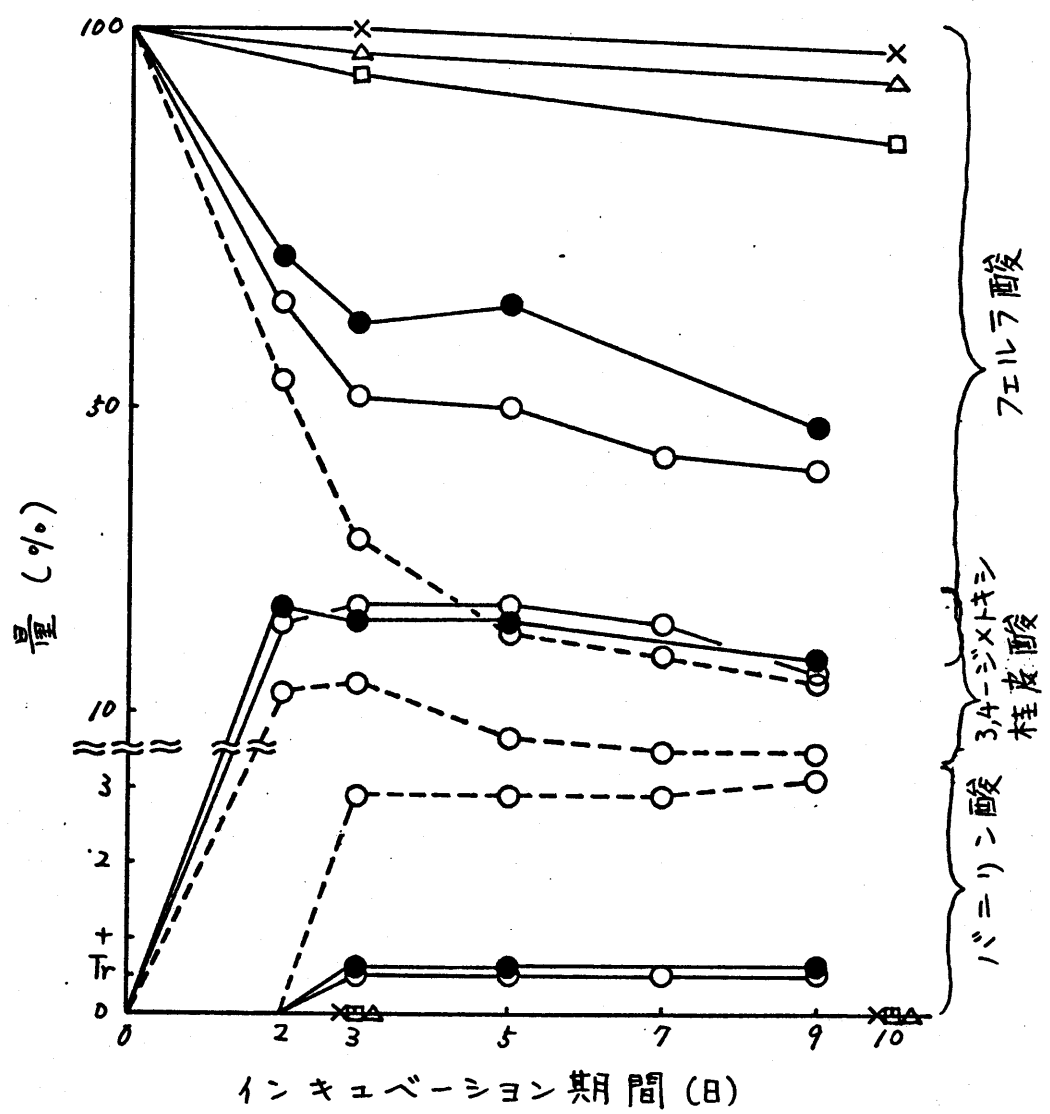


第2-6図 p-7マール酸とその分解産物の消長
 —, 腐朽わら抽出液: O, C(单独添加); Δ, G(混合添加);
 D, H(混合添加, 抗生物質); X, I(混合添加, 蒸気滅菌)
 ----, 土壤抽出液: O, L(单独添加)

息香酸はインキュベーション期間中、検出されなかった。五十嵐・銚塚³⁵⁾は、PCP (ペンタクロロフェニール) が土壌中でPCPメチルエーテルに速やかに変化し、このエーテルは可逆的に容易にPCPに戻ることも報告している。これらのことから、p-クマル酸からのp-メトキシ桂皮酸の生成もまた可逆的な反応でp-クマル酸からp-ヒドロキシ安息香酸に変化するものと考えられる。

混合区 (溶液 G, H および I) では、p-クマル酸の分解産物は検出されなかった。酸の分解がこれらの溶液中で緩慢であったからであらう。

p-クマル酸とフェルラ酸とは分解に類似の関係が見られた。第2-7図に示したように、フェルラ酸は腐朽わら抽出液 (溶液 D) および土壌抽出液 (溶液 M) 中でインキュベーションの初期に速やかに減少し、それに伴ってほぼ匹敵する量の3,4-ジメトキシ桂皮酸が生成した。さらにこれより遅れてバニリン酸が



第2-7図 フェルラ酸とその分解産物の消長

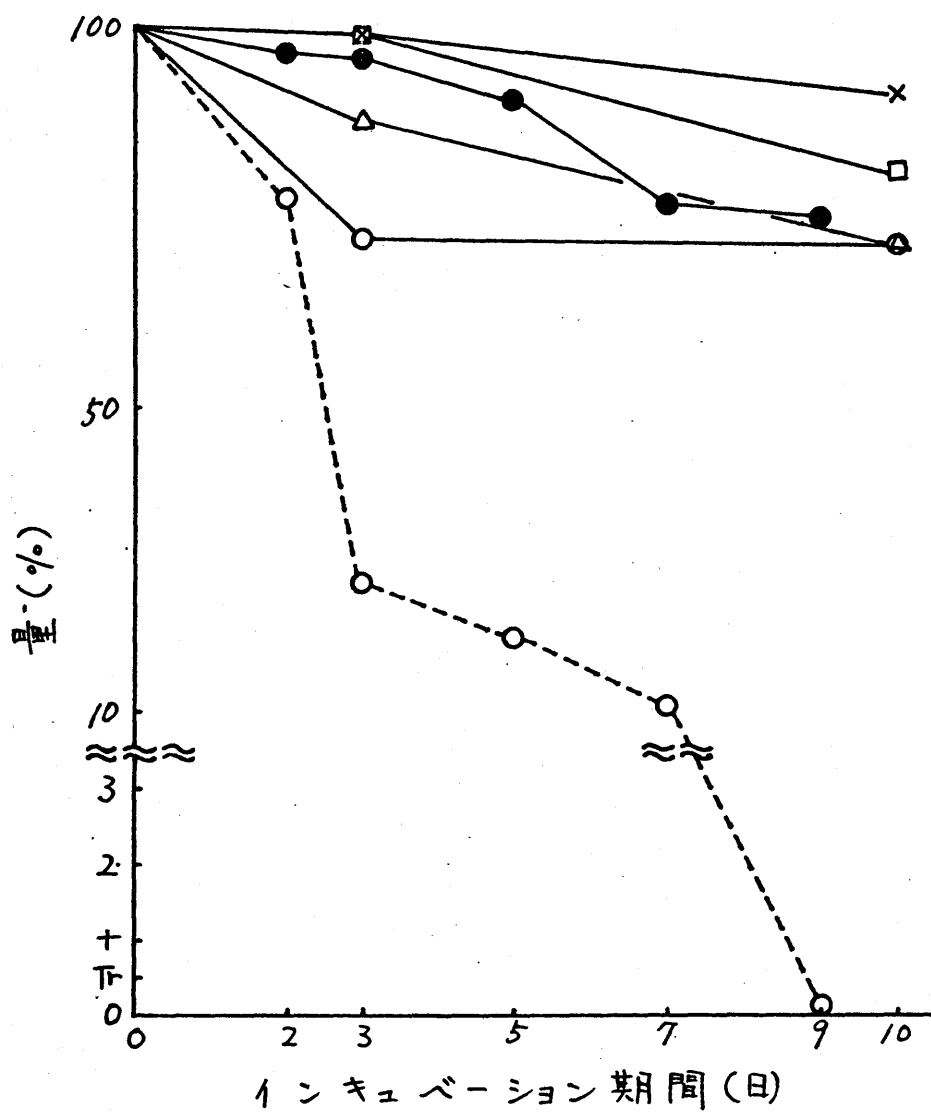
—, 腐朽ゆう抽出液: ○, D(単独添加); ●, F(単独添加, pH3.6); △, G(混合添加); □, H(混合添加, 抗生物質); X, I(混合添加, 蒸気滅菌)

----, 土壌抽出液: ○, M(単独添加)

生成した。3,4-ジメトキシ安息香酸は検出されなかった。フェルラ酸は速やかに3,4-ジメトキシ桂皮酸に可逆的に変化し、次第にバニリン酸へ変化して行くものと思われれる。

混合区(溶液G, HおよびI)では、フェルラ酸の分解産物は検出されなかった。pH 3.6に調整した腐朽わら抽出液(溶液F)中でのフェルラ酸とその分解産物の消長は、pH 7.0の腐朽わら抽出液(溶液D)の場合とほぼ同じであり、分解様式がpH値の変化にさほど影響されないことを示した。

第2-8回に示したように、バニリン酸は土壌抽出液中においてのみ速やかに分解した。インキュベーション開始時のpHが6.9の腐朽わら抽出液(溶液B)中での分解速度は、pH 3.6に調整した溶液(溶液E)中よりも速くバニリン酸の分解がpH値によって影響されることを示した。バニリン酸はp-ヒドロキシ安息香酸分解の場合と同様、混合区(溶液G)ではほぼ直線的に減少し、抗生物質添加区(



第2-8図 バニリン酸の分解

—, 腐朽わら抽出液 : O, B (単独添加); ●, E (単独添加, pH3.6); △, G (混合添加); □, H (混合添加, 抗生物質); X, I (混合添加, 蒸気滅菌)
 ----, 土壌抽出液 : O, K (単独添加)

溶液 H) および蒸気滅菌処理区 (溶液 I) ではインキュベーションの後期にわずかに減少した。

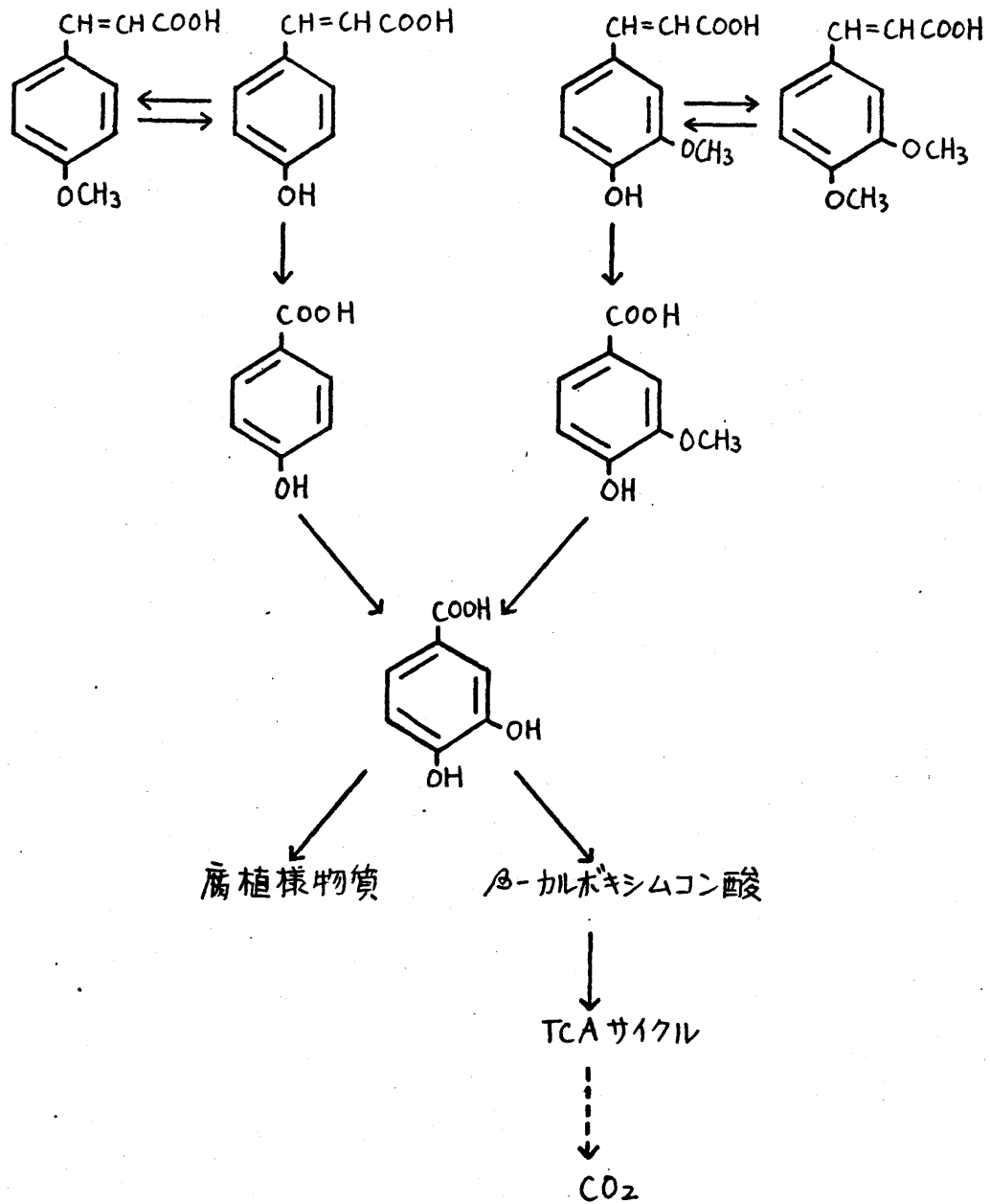
土壌抽出液中ではかなりの量のバニリン酸が減少したが、他のフェノール性物質は検出されなかった。しかしながら、芳香族メチルエーテルの脱メチル化は、微生物系において容易におこることが知られている^{22,23)}ので、バニリン酸はプロトカテキユ酸に変化したのではないかと思われる。バニリン酸から生成したプロトカテキユ酸が、速やかに脂肪酸、あるいはさらにCO₂まで分解したのか、あるいは重合したのか、ガスクロマトグラフで検出されないような物質に変化したものと思われるが、本研究からは明らかでない。

第1章第2節で、p-クマル酸、フェルラ酸、バニリン酸およびp-ヒドロキシ安息香酸が、稲わらおよびその腐朽物中の主要なフェノール性酸であることを明らかにした。さらに稲わら腐朽過程において、p-ヒドロキシ安息香

酸の量は、 p -クマール酸の速やかに減少と同時に増加し、この関係はバニリン酸とフェルラ酸でも同様に認められた。また二次的に生成した分解産物も速やかに減少した。本研究では、 p -クマール酸がメチル化されて可逆的に多量の p -メトキシ桂皮酸を生じ、その後次第に p -ヒドロキシ安息香酸に変化すること、 p -ヒドロキシ安息香酸は主として微生物作用によりプロトカテキユ酸に変化することを明らかにした。プロトカテキユ酸はムコニ酸を経てTCAサイクルに入ったり、あるいはキノン化合物を経て暗色の腐植様物質に変化していくものと推定される。またフェルラ酸も同様にメチル化されて可逆的に3,4-ジメトキシ桂皮酸になり、バニリン酸へと分解されていくことを明らかにした。バニリン酸はプロトカテキユ酸に変化することが知られている^{22,23)}が、本研究の場合、プロトカテキユ酸は検出されなかった。これらの結果から、植物遺体中に含まれる p -クマール酸、フェルラ酸、 p -ヒドロ

キシ安息香酸およびバニリン酸は、植物腐朽過程において第2-9回に示した経路を通過して速やかに分解するものと推察した。これらの化合物は、植物の生育を阻害することが知られている¹⁻⁹⁾が、概して速やかに分解されたので、その害作用も短期間のうちに消失するものと推定される。

一般に微生物は、環境の変化によって分解速度を異にし代謝産物の量に差を生じるが、代謝経路自体が異なることは殆んどない。また菌の種類が異なっても同一の経路で分解する場合が多い。分解経路は、50℃の溶液中での反応によって明らかにされたものであるが、水溶液中のみならず堆きゅう肥や土壌中の植物腐朽過程においても同様な経路で分解して行くものと推定される。



第2-9図 植物腐朽過程におけるフェニール性酸の堆定分解経路

要約

稲わらおよびその腐朽物中の主要なフェノール性酸である *p*-クマル酸, フェルラ酸, バニリン酸および *p*-ヒドロキシ安息香酸を, 腐朽わらおよび土壌を大量の水で抽出した溶液中に 30 ppm になるように加え, 50°C でイニキエーションして, 個々のフェノール性酸とそれらの分解産物の消長を研究した。

得られた結果は次のとおりである。

1) これらのフェノール性酸は, 短期間のうちに速やかに分解し, 半減期は本実験条件下では 10 日以内であった。

2) 腐朽わら抽出液中での *p*-ヒドロキシ安息香酸および *p*-クマル酸の分解速度は, 土壌抽出液中の場合とほぼ等しかった。しかし, メトキシル基を有するバニリン酸およびフェルラ酸の分解速度は, 土壌抽出液中の方が速かった。

3) これら 4 種のフェノール性酸を一緒に添加した場合, 個々の酸は 1 種類だけを添加し

た場合よりも分解が遅かった。特に桂皮酸誘導体の *p*-クマル酸およびフェルラ酸で顕著であった。

4) *p*-クマル酸の分解生成物をメチル化し、主たる生成物をガスクロマトグラフで分取し、IRおよびMassスペクトルを測定して、*p*-メトキシ桂皮酸メチルエステルと同定した。分解生成物それ自身は、標準試薬とのコクロマトグラフから *p*-メトキシ桂皮酸と同定した。フェルラ酸の主要な分解生成物は、同様な方法により、*3,4*-ジメトキシ桂皮酸と同定した。

5) *p*-クマル酸およびフェルラ酸からは、それぞれ多量の *p*-メトキシ桂皮酸および *3,4*-ジメトキシ桂皮酸が生成した。これらは可逆反応によりもとのフェノール性酸に戻り、それぞれ次第に *p*-ヒドロキシ安息香酸およびバニリン酸に変化した。*p*-ヒドロキシ安息香酸は速やかにプロトカテキエ酸に変化した。バニリン酸は速やかに分解したが、分解産物はガスクロマトグラフでは検出されなかった。

第 3 章 土 壌 中 の 稲 刈 り 腐 朽 過 程 に お け る フ ェ) - ル 性 物 質 の 消 長

前章までに、温度および水分条件を異にする稲刈り腐朽過程での低分子フェ) - ル性物質の消長について研究してきた。稲刈り中にもともと存在している遊離のフェ) - ル性酸は、稲刈りの腐朽に伴い速やかに分解されるが、一方では前駆物質から新たに生成してくること、またそれらの生成・分解速度は水分および温度条件に大きく影響されることを認められた。さらにフェ) - ル性酸の分解経路も推定した。

近年、多量の稲刈りが農耕地土壌に還元投入されている。土壌は、稲刈りの腐朽過程におけるフェ) - ル性物質の分解および行動に当然影響を及ぼすものと考えられる。前章までは、土壌が存在しない稲刈りだけの系におけるフェ) - ル性物質の消長を研究してきた。フェ) - ル性物質が植物生育に及ぼす影響と

腐植酸の形成過程におけるその役割を明確にするためには、土壌中の稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動を調べる必要であると考えられる。

本章では、稲わらをそれぞれ湿潤状態、湛水状態に保った土壌中で腐朽させ、その腐朽過程における各種フェノール性物質の消長を比較した。

材料および方法

1) 土壌および稲わら試料

愛知県農業総合試験場水田実験農場（安城市）の水田作土層から冬期採取した土壌を砕いた後、直径 2mm の篩を通過させ、土壌試料として用いた。その一般理化学的性質は前章に示してある。

幸風種の稲わらを風乾後、ワイレ-型粉碎機で粉碎して直径 1mm の篩を通過させ、稲わら試料とした。

2) インキュベーションの条件

粉碎稲わら 2g と土壌 25g (乾土 20g 相当) を 100 ml 容の三角フラスコに入れ、それぞれ湿潤状態、湛水状態となるように、10 ml あるいは 30 ml の水 (前者は最大容水量の約 40%、後者は約 200%) を加えて攪拌した。湿潤試料を含むフラスコは口部をアルミホイルで覆い、湛水試料を含むフラスコは、中の空気を窒素ガスで置換した後、口部をゴム栓で密封し、兩者とも所定の期間 (最長 200 日) 30℃ でインキュベーションした。湿潤試料には、1 週間に 1 度試料を攪拌した後、蒸発減少した水分に相当する水を補給した。湛水試料には、1 週間ごとに各々の試料を攪拌して、窒素ガスを新たに封入した。稲わら無添加の土壌についても同様な条件下でインキュベーションを行なった。

所定期間インキュベーションした後、フラスコ中の全試料を分析に供した。

3) フェノール性物質の抽出、分画および
定量

所定の日数経過した試料を遠心分離管に移し、 0.75 N NaOH 溶液 100 ml を加えた。湿潤試料にはさらに 40 ml の水を加えた。分離管の口部を密栓し、60分間振とう機で激しく振とうした後、約 7.5 g の硫酸ナトリウムを内容物に加え、 1000 rpm で15分間遠心分離し、3過した。次に、沈殿物に 0.5 N NaOH 溶液 150 ml を加え、ガラス棒で沈殿物を攪拌した後、再び遠心分離し、3過した。この操作を再度くり返した後、3液を集め、水で 500 ml に定容とし、アルカリ性抽出溶液を得た（1回抽出）。

上記抽出溶液の適量を希塩酸で $\text{pH } 2$ 以下にし、生じた沈殿、すなわち腐植酸を3過して集め、水洗後、 0.5 N NaOH 溶液で再溶解させた（腐植酸画分）。3液および洗液は別に集めた（フルボ酸画分）。

アルカリ性抽出溶液中のフェーシ性物質は、有機溶媒によっても分画した。すなわち適量の抽出液を当量のエーテルで2回抽出し、抽出液を少量の水で洗ったのち無水芒硝を加

えて脱水し、溶媒を蒸発させてエーテル可溶中性および塩基性画分を得た。次に、アルカリ性残液を希塩酸で pH 2 以下にし、エーテルで 3 回抽出した。エーテル溶液は前と同様脱水濃縮し、エーテル可溶酸性画分を得た。さらに、エーテル未抽出部をルブタ)ールで 4 回抽出し、溶媒を除去してブタ)ール画分(以下、ブタ)ール可溶画分と呼ぶ)を得た。有機溶媒未抽出部を濃縮乾固して有機溶媒未抽出画分(以下、有機溶媒不溶画分と呼ぶ)を得た。各画分中のフェ)ール性物質は、5 または 10 ml の 0.5N NaOH 溶液で再溶解して比色定量に供した。

フルボ酸画分中のフェ)ール性物質も上述と同じ方法で有機溶媒により分画した。

フェ)ール性物質の定量は、第 1 章第 2 節の方法に準じて行なった。本研究では、20% 炭酸ナトリウム溶液 50 ml とフォリン試薬 10 ml を各画分の 5 または 10 ml 溶液に加えた。

4) 個々のフェ)ール性酸の定量

エーテル可溶酸性画分中の個々のフェノール性酸の定量は、第1章第2節の方法に準じてガスクロマトグラフで行なった。

5) 腐植酸およびフルボ酸画分の炭素含量
試料のアルカリ抽出液中の有機物の分画は3)に述べた方法を一部改変して行なった。すなわち、前述の希塩酸および0.5N-NaOHのかわりにそれぞれ濃硫酸と0.01N-NaOHを用いた。腐植酸およびフルボ酸を既知の方法³⁶⁾に従って KMnO_4 で分解し、0.1N- KMnO_4 消費量から各画分の炭素量を算出した。

6) 土壌および土壌-稲わら混合物からのフェノール性物質の抽出条件の検討

抽出剤の濃度、振とう時間および抽出回数
が、フェノール性物質と炭素の抽出量に及ぼす影響を検討した。粉碎稲わら2gと土壌25g(乾土20g相当)を遠心分離管中で混合した後、フェノール性物質と炭素を第3-1表に示した条件下で3)に述べた操作に従って抽出し、それらを3)および5)に述べた方法で

定量した。

ク) 土壤に添加したフェノール性酸の回収試験

個々のフェノール性酸を少量のメタノールに溶解し、その1 mg および 2 mg 相当量を土壤 25 g (乾土 20 g 相当) に加えてよく混合し、室温で 30 分間放置した後、0.5N NaOH 溶液 150 ml を加え³⁾、4) に述べた方法に従ってフェノール性酸を抽出し、定量した。

結果および考察

1. フェノール性物質の回収率

フォリン試薬はフェノール性物質を定量する場合に広く使用されている³⁷⁾が、この試薬は糖を定量する際にもしばしば使用されている³⁷⁾。第 1 章第 2 節においては、エーテル可溶性酸性画分中には糖成分が含まれていないことから、この画分中のフェノール性物質をフォリン試薬で比色定量した。本研究の場合、糖成分が共存する系で各種のフェノール性物

質を定量しなければならぬので、フォリン試薬で発色させた各種の糖の吸光度を測定し、フェノール（石炭酸）の吸光度と比較した。その結果、D-グルコース、ガラクトース、D-マンノース、D-フラクトースおよびキシロースの吸光度は、いずれもフェノールの吸光度の500分の1以下であった。さらに土壌-稲わら混合物のアルカリ抽出溶液中にフェノールを加えて比色定量したときの添加フェノール量は、フェノールを水に溶解させて比色定量した場合とほぼ一致し、アルカリ抽出溶液中には比色を妨害する物質が含まれていないことを示した。これらの結果から、フェノール性物質は前述の方法に従って比色定量することにした。

第1章第2節においては、稲わらおよびその腐朽物中の低分子フェノール性物質、特にフェノール性酸の抽出溶媒として、アルカリ性メタノール溶液（メタノール：0.1N-NaOH = 7:3）を用いた。本研究では、腐植酸および

フルボ酸画分中の高分子フェノール性物質をはじめ、各種のフェノール性物質の消長も追跡するので、各種の抽出条件下で土壌-稲わら混合物からフェノール性物質を抽出し、抽出量を比較検討した。結果を第3-1表に示した。また土壌に添加したフェノール性酸の回収率を第3-2表に示した。

0.5N NaOH 溶液 150 ml で60分間振とう抽出する方法は、フェノール性物質、フェノール性酸、腐植酸およびフルボ酸炭素の最高の回収結果を示した。この方法で1回抽出すると各々の物質の80%以上が回収された。土壌に添加した個々のフェノール性酸の回収率は、稲わら試料に添加した場合(第1章第2節)と類似した。振とう時に空気を窒素ガスで置換してもフェノール性物質の回収には影響が見られなかったので、空気中の酸素はフェノール性物質の抽出・定量には影響を及ぼさないものと考えられる。

これらの結果に基づき、本研究では、試料

第3-1表 各種抽出条件による土壌(乾土20g相当)-稲わら(2g)混合物からの全フェノール性物質,
フェノール性酸および全炭素の抽出量

抽出条件			全フェノール性物質		フェノール性酸		全炭素	
溶媒	振とう時間	抽出回数	mg ¹⁾	(%) ⁴⁾	mg ²⁾	(%) ⁴⁾	mg ³⁾	(%) ⁴⁾
0.5 N NaOH	60分間	1回目	47.0	(90.4)	11.35	(84.0)	363.5	(77.5)
		2回目	4.0	(7.7)	1.58	(11.7)	67.0	(14.3)
		3回目	1.0	(1.9)	0.58	(4.3)	38.6	(8.2)
		合計	52.0	(100)	13.51	(100)	469.1	(100)
0.5 N NaOH	30分間	1回目	42.3	(81.3)	10.45	(77.4)	271.8	(57.9)
		2回目	9.6	(18.5)	1.84	(13.6)	47.7	(10.2)
0.2 N NaOH	30分間	1回目	29.5	(56.7)	6.56	(48.6)	243.1	(51.8)
		2回目	11.0	(21.2)	2.04	(15.1)	54.3	(11.6)
0.5 N NaOH 窒素ガスで中の空気を置換	60分間	1回目	47.0	(90.4)				

1) 数値はフェノール換算(比色法)。2) 数値はp-クマル酸, フェルラ酸, バニリニ酸, p-ヒドロキシ安息香酸の
含量を示す(ガスクロマトグラフ法)。3) 0.1N KMnO₄, 1ml = 0.45mg, 炭素として算出。4) 0.5N NaOHで土壌-稲わら
混合物を3回抽出することによって得られた量を100%として算出した。

第3-2表 安城土壤(乾土20g相当)ガラの個々のフェニル性酸の回収

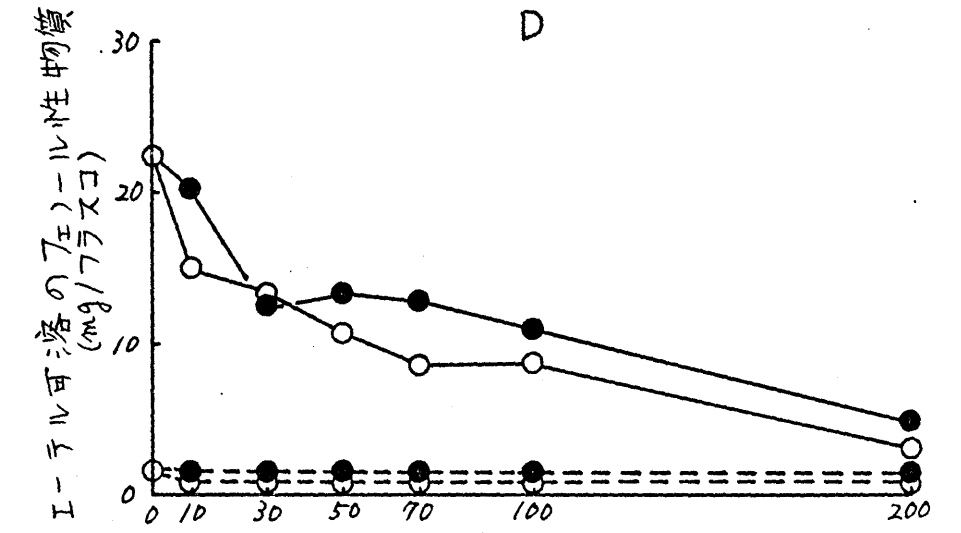
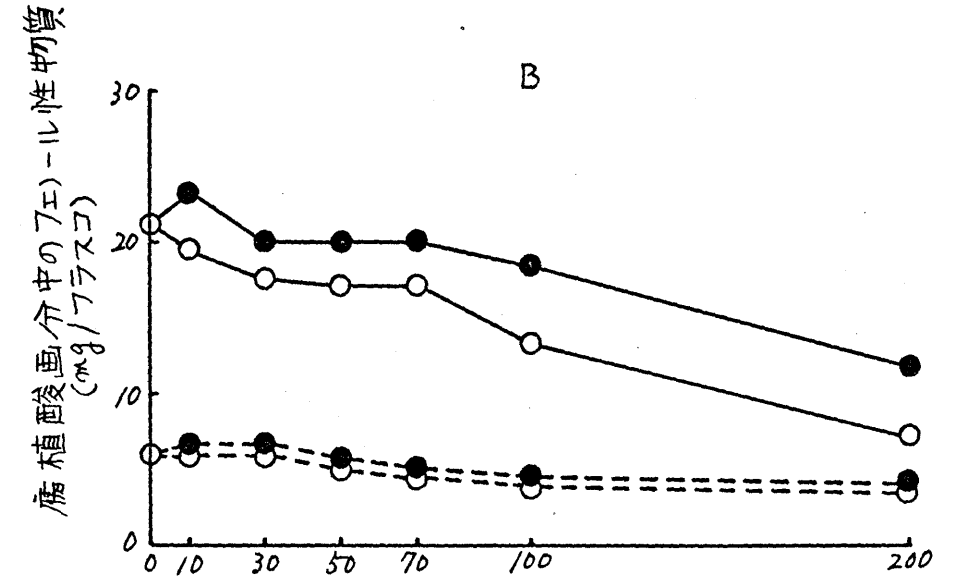
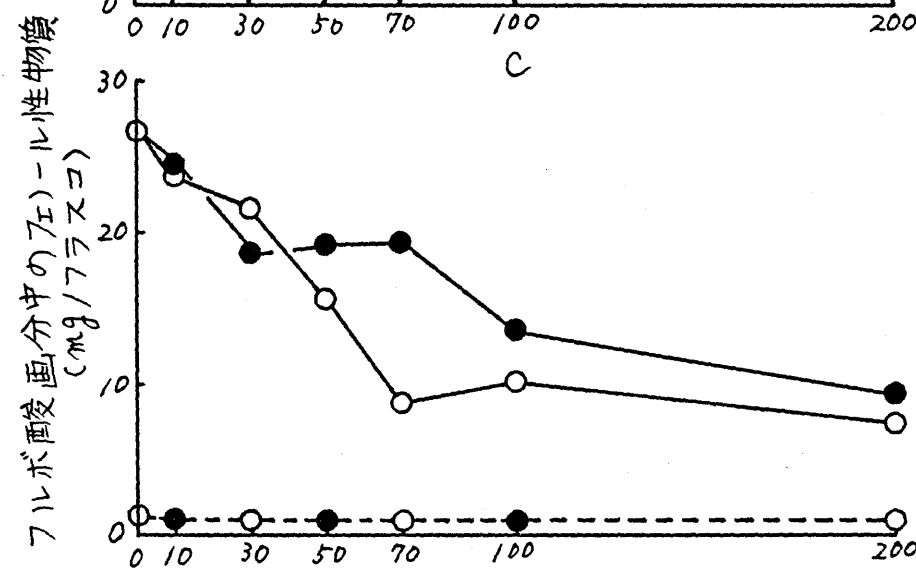
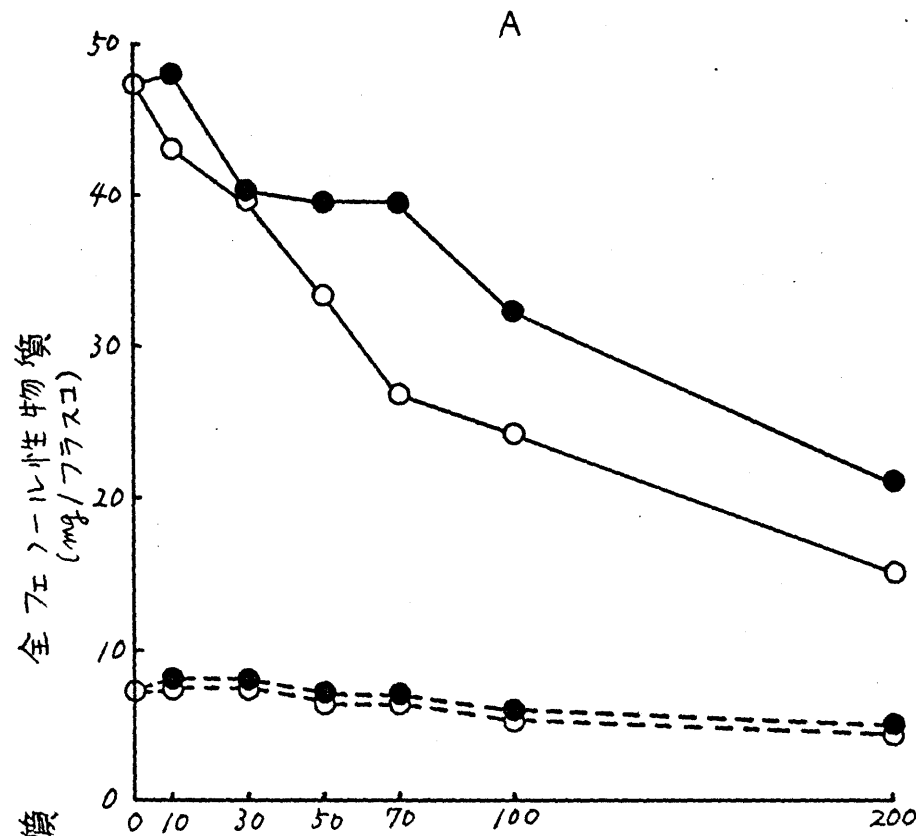
フェニル性酸	添加量 (mg)	対照 (無添加) (mg)	回収量 (mg)		回収* (%)	平均回収率
p-ヒドロキシ安息香酸	1.00	0.05	1.01	1.03	97	99
	2.00	0.05	2.06	2.06	101	
バニリン酸	1.00	0.21	1.10	1.10	89	93
	2.00	0.21	2.15	2.15	97	
p-クマル酸	1.00	0.45	1.20	1.20	75	80
	2.00	0.45	2.10	2.14	84	
フェルラ酸	1.00	0.39	1.03	1.05	65	74
	2.00	0.39	2.00	2.02	82	

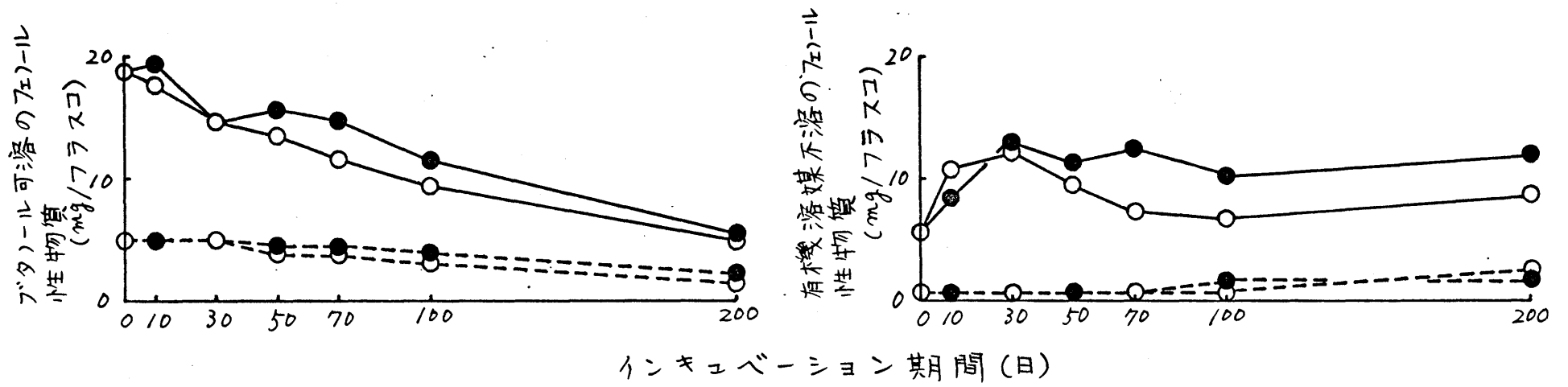
* 回収 = $\frac{\text{回収量} - \text{対照}}{\text{添加量}} \times 100$ 値は2連により得られた。

を 0.5N NaOH 溶液 150 ml で室温 60 分間、1 回抽出する方法を採用した。

2. 湿潤状態下および湛水状態下におけるフェロ性物質の消長

第 3-1-A 図に示したように、稲わら添加土壌を好氣的な湿潤状態下または比較的嫌氣的な湛水状態下でインキュベーションしたとき、アルカリ可溶の全フェロ性物質の量は、インキュベーションの初期に湛水状態下よりも湿潤状態下で速やかに減少し、またインキュベーションの全期間中、湛水状態下の方が多かった。両水分状態下ともインキュベーション期間中、pH 6~7 の範囲にあり、顕著な差は見られなかった。フェロ性物質の減少速度が、pH 値ではなく、酸化還元状態によって影響されたことが示唆される。稲わら無添加の土壌中のフェロ性物質量は、稲わら中の量に比べて極めて少なく、100g あたり約 30 mg に過ぎなかった。またインキュベ





第3-1図 糞わら無添加または添加の土壤中におけるアルカリ可溶フェール性物質の消長

— 糞わら添加土壤；----- 土壤のみ ○ 湿潤状態 ● 湛水状態

- A, アルカリ可溶の全フェール性物質
- B, 腐植酸画分中のフェール性物質
- C, フルボ酸画分中のフェール性物質
- D, エーテル可溶酸性画分中のフェール性物質
- E, ブタール可溶画分中のフェール性物質
- F, 有機溶媒不溶画分中のフェール性物質

各々のフラスコはインキュベーション開始時には、土壤 25g (乾土 20g 相当) と糞わら粉碎物 2g を、または土壤 25g のみを含む。

D-F 図に示した値の合計は、腐植酸およびフルボ酸画分中のフェール性物質の含量に相当する。

— ショ ン 期 間 中 ゆ ず か し が 減 少 し な が っ た。

こ れ ら の こ と は、 稲 刈 り 添 加 土 壌 に お け る フ
エ) - ル 性 物 質 の 量 の 消 長 が ほ と ん ど 稲 刈 り
の 腐 朽 に 伴 う 消 長 に よ る こ と を 示 し て い る。

第 3-1-B 図 お よ び 3-1-C 図 に 示 し た よ う に、
稲 刈 り 添 加 土 壌 を 湿 潤 状 態 下 ま た は 湛 水 状 態
下 で イ ン キ ュ ベ - ショ ン し た と き、 腐 植 酸 画
分 中 の フ エ) - ル 性 物 質 の 量 は、 湛 水 状 態 下
の 最 初 の 10 日 間 を 除 き、 徐 々 に 減 少 し た。 こ
れ に 対 し て、 フ ル ボ 酸 画 分 中 の フ エ) - ル 性
物 質 は、 初 期 に 速 や か に 減 少 し、 そ れ 以 降 は
ほ ぼ 一 定 の 値 を 示 し た。 一 方、 稲 刈 り 無 添 加
の 土 壌 に は、 フ ル ボ 酸 画 分 よ り も 腐 植 酸 画 分
の 方 に 多 量 の フ エ) - ル 性 物 質 が 含 ま れ、 フ
ル ボ 酸 画 分 中 の フ エ) - ル 性 物 質 の 量 は 無 視
で き る 位 に 少 な が っ た。 こ れ ら の 結 果 と 第 3-
1-A 図 に 示 し た 全 フ エ) - ル 性 物 質 の 消 長 を
併 せ て 考 え る と、 稲 刈 り 添 加 土 壌 で イ ン キ ュ
ベ - ショ ン の 初 期 に 見 ら れ た 全 フ エ) - ル 性
物 質 の 減 少 は、 主 と し て フ ル ボ 酸 画 分 中 の フ

フェノール性物質が減少したためと推論される。他方、後期の減少は、主として腐植酸画分中のフェノール性物質の減少によるものと推論される。またこれらのフェノール性物質の減少は、土壌由来のものではなく、ほとんど稲わらの腐朽に伴う減少によるものといえよう。

第3-1-D図、3-1-E図および3-1-F図にエーテル、ブタノールで順次分画した画分とこれらの有機溶媒で抽出されない画分のフェノール性物質の消長を示した。分画操作で全フェノール性物質の約2%が失われた。インキュベーション期間を通じ、エーテル可溶の中性および塩基性画分からはフェノール性物質は検出されなかった。稲わら添加土壌の場合、エーテル可溶酸性画分およびブタノール可溶画分中のフェノール性物質は、ともにインキュベーションの後期よりも初期に速やかに減少した。有機溶媒不溶のフェノール性物質は、両水分状態下において、最初の30日間は速やかに増加し、その後減少したのちわずかでは

あるが再び増加した。一方、稲わら無添加の土壌中には、ブタロール可溶のフェノール性物質が他の画分のものよりもはるかに多量に含まれていたが、両水分状態下のインキュベーション期間中にわずかに減少しただけであった。これらの結果と第3-1-A図に示した全フェノール性物質の消長を併せ考えると、稲わら添加土壌で見られた全フェノール性物質の減少は、主に稲わらの腐朽にともない有機溶媒可溶のフェノール性物質が減少したことによるものと推論される。

第3-1-A図、3-1-D図、3-1-E図および3-1-F図に示した各種のフェノール性物質の消長を比較検討すると、両水分状態下とも、インキュベーションの初期に有機溶媒可溶のフェノール性物質（第3-1-D図と3-1-E図）が減少し、それに伴い有機溶媒不溶のフェノール性物質がかなり増加した（第3-1-F図）。この時期、アルカリ可溶の全フェノール性物質（第3-1-A図）は減少しているので、有機

溶媒で抽出されないフェノール性物質の増加は、有機溶媒可溶のフェノール性物質がう変化したためと考えられる。有機溶媒不溶のフェノール性物質の増加とそれにつづく減少は、湿潤状態下の方がより早い時期に起きた。またインキュベーション30日以降の有機溶媒可溶および不溶のフェノール性物質の量は、湛水状態下よりも湿潤状態下の方が少なかった。

これらの結果から、有機溶媒可溶のフェノール性物質は、一方では分解消失するとともに、他方では有機溶媒不溶の形態に酸化重合していくこと、また生成した有機溶媒不溶のフェノール性物質はさらにアルカリ不溶のヒューミン画分へ重合していくものと推定される。

さらにこれらの反応が湛水状態下よりも湿潤状態下で速やかに起きることも推定される。

第3-3表に湿潤状態下のインキュベーション前および70日目、200日目に稲わら腐朽物中に含まれている各画分のフェノール性物質の量を示した。腐植酸およびフルボ酸画分中

第3-3表 湿潤状態下のインキュベーション前および70日目、200日目に稲わら腐朽物中に含まれている各画分のフェーリ性物質量*

インキュベーション (日数)	腐植酸およびフルボ酸画分中のフェーリ性物質の量 (mg)							
	腐植酸画分**				フルボ酸画分			
	全量	エーテル可溶	ブターニル可溶	有機溶媒不溶	全量	エーテル可溶	ブターニル可溶	有機溶媒不溶
0	15.1	5.5	8.4	1.2	24.9	15.5	6.0	3.4
70	12.9	1.7	5.4	5.8	8.3	6.3	2.0	0.0
200	4.4	0.0	0.1	4.3	6.9	2.3	3.1	1.5

* 稲わら腐朽物中のフェーリ性物質の量は、稲わら添加土壌中のフェーリ性物質の量から、稲わら無添加土壌中の量を差し引いて求めた。

** 腐植酸画分中のフェーリ性物質の量は、アルカリ可溶画分中の量から、フルボ酸画分中の量を差し引いて求めた。

には、エーテル可溶、ブタノール可溶および有機溶媒不溶のフェノール性物質がいずれも存在していた。腐植酸画分中には、最初ブタノール可溶のフェノール性物質が最も多量に含まれ、以下エーテル可溶のフェノール性物質、有機溶媒不溶のフェノール性物質の順であった。有機溶媒可溶のフェノール性物質、なかでもブタノールで抽出されるフェノール性物質はインキュベーション期間中に激減した。有機溶媒で抽出されないフェノール性物質の量は増加したのち減少したが、200日目における腐植酸画分中のフェノール性物質の90%以上はこの画分中に存在した。これらの結果から、稲わら腐朽過程において、腐植酸画分中のフェノール性物質は、稲わらの腐朽が進むにつれてかたりのものが重合し、これらの重合物から構成されるものと推定した。腐植酸画分中のフェノール構成成分の起源および種類については次章で述べる。

フルボ酸画分中には、最初エーテル可溶の

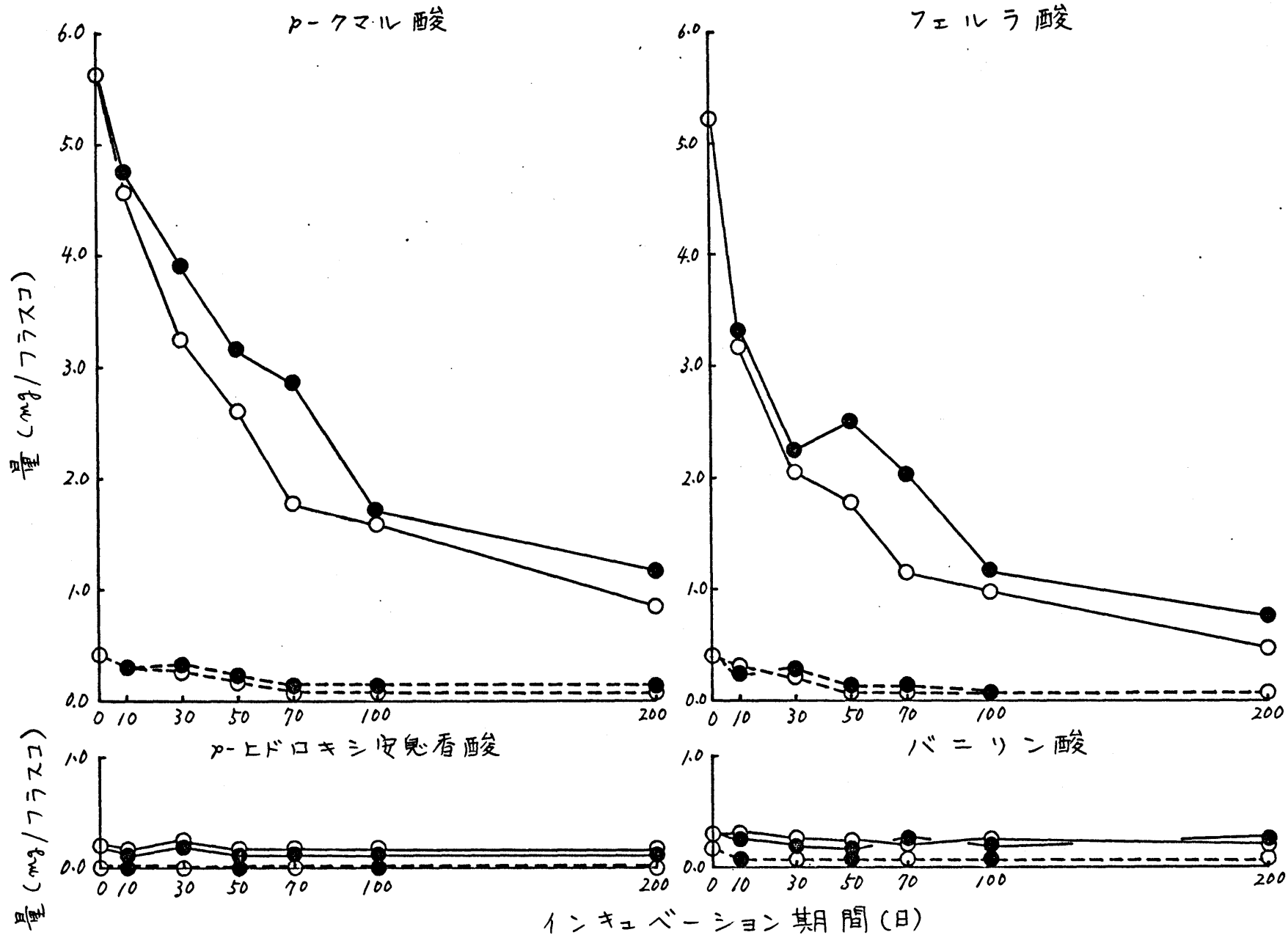
フェノール性物質が最も多量に含まれていた。ブタノール可溶のフェノール性物質、有機溶媒不溶のフェノール性物質がこれにつづいた。これらのフェノール性物質は日数の経過とともに減少した。特にフェノール性酸を含むエーテル可溶のフェノール性物質が速やかに減少した。しかしながら、200日間インキュベーションした後でも、フルボ酸画分中のフェノール性物質総量の約80%は、有機溶媒可溶のフェノール性物質によって占められていた。それゆえ、稲わらが土壌中で腐朽した後でもフルボ酸画分中のフェノール性物質のかなりのものは、なお比較的低分子のフェノール性物質から構成されているものと推定される。

以上の結果を総合すれば、試料からアルカリで抽出した全フェノール性物質の量の減少は、インキュベーションの初期には主としてフルボ酸画分中の低分子フェノール性物質の減少に起因し、後期は主として腐植酸画分中の比較的低分子のフェノール性物質の減少に

起因しているものと推論される。さらに稲や
 う腐朽過程において、フェノール性物質は一
 方では分解消失するとともに、他方では有機
 溶媒で抽出されない物質に重合し、さらにヒ
 ユーミン画分へ重合して行くこと、またこれ
 らの反応が湛水状態下よりも湿潤状態下で速
 やかに進行していることも推定される。

3. 個々のフェノール性酸の挙動

第1章第2節および本章第3-2図に示した
 ように、*p*-クマル酸、フェルラ酸、バニリン
 酸および*p*-ヒドロキシ安息香酸は、未分解稲
 やおよび土壌中の主要なフェノール性酸で
 あった。また*p*-クマル酸およびフェルラ酸は
 他のフェノール性酸よりもはるかに多量に含
 有²⁷⁾されていた。草野・小川²⁷⁾は、陸稲、水稲、
 大麦および小麦の根および茎葉中にこれらの
 フェノール性酸が含有されていること、*p*-ク
 マル酸およびフェルラ酸の方が他のフェノ
 ールよりも高濃度で含まれていることを報告し



第3-2回 稲わら無添加または添加の土壤中におけるフェール性酸の消長
 — 稲わら添加土壤; ----- 土壤のみ ○ 湿潤状態 ● 湛水状態

た。一方、WANG³⁸⁾ら およびGUENZI・McCALLA³⁹⁾は、これらのフェノール性酸が各種の土壌中に含有されていることを報告した。これらの事実は、これらの低分子フェノール性酸が作物残渣および土壌中に広く分布していることを示すものであろう。WANGらおよびGUENZI・McCALLAによれば、土壌中のフェノール性酸の濃度はそれぞれ約 5 ppm および 20 ppm であった。本研究で用いた水田土壌の場合、その濃度は 55 ppm であった。水田土壌におけるフェノール性酸の分布については第 9 章で詳述する。

第 3-2 図を見れば、稲わら添加土壌中のフェノール性酸、なかでも p-クマル酸およびフェルラ酸は、ほとんど稲わらに由来していることがわかる。p-クマル酸およびフェルラ酸の量は、稲わら腐朽過程の初期に速やかに減少したが、それ以降の減少は緩慢であった。また湛水状態下よりも湿潤状態下で速やかに減少した。p-ヒドロキシ安息香酸およびバニ

リン酸は、インキュベーション期間中それほど変動しなかったが、湛水状態下よりも湿潤状態下の方が量が多かった。ここで観察されたこれらの酸の量的推移は、第1章第2節の土壤が存在しない稲わらだけの腐朽過程で認められた推移と類似していた。このことは、稲わら腐朽過程におけるこれらのフェノール性酸の消長が、土壤の存在によってそれほど影響を受けないことを示唆する。

第2章で土壤および稲わら腐朽物の水懸濁上澄液中にフェノール性酸を添加してインキュベーションしたとき、添加フェノール性酸は速やかに分解されることを認めた。また草野・小川²⁹⁾ および HAIDER・MARTIN⁴⁰⁾ は、フェノール性酸を土壤に添加してインキュベーションしたとき、添加フェノール性酸は速やかに分解されると報告した。しかしながら、第3-2図に示したように、稲わら添加土壤中のフェノール性酸の減少はかなり緩慢であった。第5章で詳述するように、これらのフェノール

ル性酸は稲わらの腐朽にともないリグニンから生成してくるので、緩慢な減少は、稲わら中にもともと含まれる遊離のフェノール性酸は速やかに分解されるが、一方ではリグニン²⁾から生成してくるためと考えられる。INAMATSUは、p-クマル酸が稲わらの堆肥化過程中に減少することを報告した。本研究でも前述したように、フェノール性酸は減少した。従って、土壌中の稲わら腐朽過程および稲わらの堆肥化過程において、フェノール性酸の分解速度は、リグニンからの生成速度よりも速いものと考えられる。

また第2章では、土壌および稲わら腐朽物の懸濁上澄液中でp-クマル酸およびフェルラ酸を分解させると、それぞれp-メトキシ桂皮酸および3,4-ジメトキシ桂皮酸を可逆的に生成し、その後次第に親フェノール性酸は、それぞれp-ヒドロキシ安息香酸およびバニリン酸に変化することを認めた。またp-ヒドロキシ安息香酸およびバニリン酸はプロトカテキ

ェ酸に変化すること、プロトカテキユ酸はさらに分解が進むとともに、他方では腐植様物質に変化していくものと推定した。本研究においては、椎わらが土壌中で腐朽する際、がりの量のp-クマル酸およびフェルラ酸が減ったが、p-ヒドロキシ安息香酸およびバニリニ酸は極く少量しか検出されなかった。またp-メトキシ桂皮酸と3,4-ジメトキシ桂皮酸は、イニキュベーション期間中、検出されなかった。これらのメチル化物が検出されなかった理由として、土壌中においてはp-クマル酸およびフェルラ酸が、前述した分解経路以外の経路で分解されるためではないかと考えられるが、ヒドロキシフェノール性酸に由来したこれらのメチル化物の分解速度が極めて速いために、メチル化物が検出されなかったのではないかと考えられる。p-クマル酸およびフェルラ酸の代謝産物として可能性のあるコヒ酸は検出されなかった。またp-メトキシ安息香酸および3,4-ジメトキシ安息香

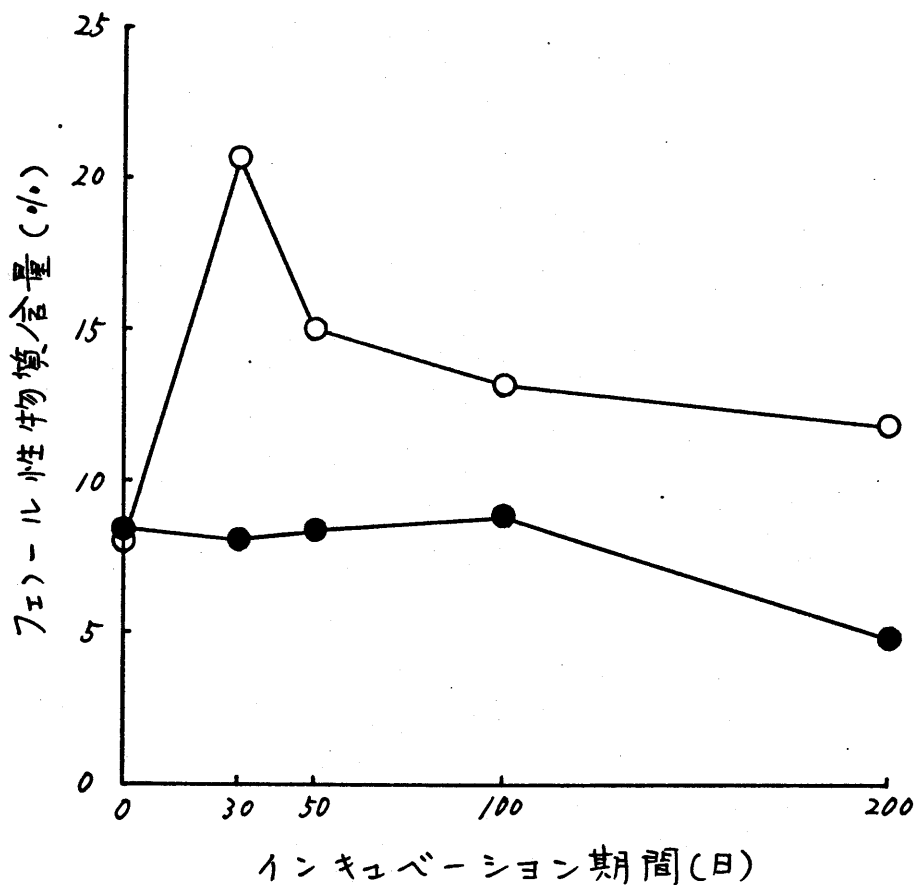
酸もインキュベーション期間中検出されなかった。同一物質は、環境が異なっても同一経路で分解していく場合が多いので、メチル誘導体が検出されなかったのは、おそらくこれらの分解速度が、生成速度よりも速かったためと思われる。p-ヒドロキシ安息香酸およびバニリン酸の量は、p-クマル酸およびフェラ酸が速やかに減少した湿潤状態の方が湛水状態下よりも多かった。プロトカテキ酸は第7章および8章で詳述するように、土壌粒子と強く結合するので、たとえ少量生成しても土壌系から抽出することは困難であろう。これらのことから、土壌中の稲わら腐朽過程においても、これらのフェノール性酸は第2章で述べた懸濁上澄液中における分解経路と同じ経路で分解されるものと推定した。

本研究で用いた腐朽条件下では、稲わらは土壌中で速やかに分解されると考えられるが、第3-1図および3-2図に示したように、稲わら添加土壌中には、200日間インキュベーション

ヨシした後でも、かなりの量のフェノール性物質およびフェノール性酸が存在していた。しかし、水田圃場から採取した土壌には極く少量のフェノール性物質しか存在していなかった。また第7章で詳述するように、プロトカテキユ酸は多量に土壌吸着されるが、モノフェノール性酸は土壌中から水で速やかに溶脱される。従って、稲わら中にもともと存在しているフェノール性酸、あるいは稲わら腐朽過程で新たに生成してくるフェノール性酸は、水田においては、分解されたり、あるいはまた水で容易に溶脱除去されたりするのではないかと考えられる。

4. フェノール性物質と腐植酸またはフルボ酸との関係

第3-3図に湿潤状態下で腐朽しつつある稲わら中の腐植酸およびフルボ酸画分の単位有機物重量あたりのフェノール性物質含量を示した。腐植酸画分中のフェノール性物質含量



第3-3図 湿潤状態下で腐朽しつつある稲わら中の
腐植酸およびフルボ酸画分の単位有機物量あ
たりのフェーラル性物質含量

- フルボ酸画分 (有機物あたりのフェーラル性物質)
- 腐植酸画分 (有機物あたりのフェーラル性物質)

有機物量は次のようにして求めた。0.1N $KMnO_4$, 1ml = 0.45mg, 炭素とし、炭素量 $\times 1.7$ を有機物量とした。

フェーラル性物質量はフェーラル換算である。

腐植酸およびフルボ酸画分中のフェーラル性物質量と有機物量は、稲わら添加土壌中の量から、稲わら無添加土壌中の量を差し引いて求めた。

は、5~8%の範囲にあったが、フルボ酸画分ではインキュベーションの初期にピークを示し、その含量は20%以上に達した。200日間インキュベーションした後の腐植酸およびフルボ酸画分中のフェノール性物質含量は、それぞれ5%および11%であった。一方、稲わら無添加土壌の場合、腐植酸およびフルボ酸画分中のフェノール性物質含量は、インキュベーション期間中、それぞれ約12~15%および2%以下であった。

フルボ酸画分中のフェノール性物質含量は、第3-3図がう明らかのように、30日のインキュベーション期間内に約8から20%以上に増加した。第5章で述べるように、稲わらにはかなりの量のp-クマル酸を構成成分とするリグニンが約20%含まれている³⁰⁾ので、このインキュベーション期間中に高分子フェノールのリグニンが分解してフルボ酸画分に来たために、フェノール性物質含量が増加したことが考えられる。しかし、第3-2図に示したよ

うに、この期間中アークマル酸の量は減少しているのので、フルボ酸画分中の他の有機物、すなわち多糖類や蛋白質の方がフェノール性物質よりも速やかに分解したために、フルボ酸画分中のフェノール性物質含量が増加したと考える方が妥当なように思われる。

30日目から100日目にかけて、第3-1-C図に示したように、フルボ酸画分中のフェノール性物質の量は速やかに減少した。この期間腐植酸画分中のフェノール性物質の量は、一定の値を保ったのち減少した(第3-1-B図)。また第3-3表に示したように、フルボ酸画分中の有機溶媒不溶のフェノール性物質の量が減少したとき、腐植酸画分では増加した。さらに第3-3図に示したように、腐植酸画分中のフェノール性物質含量もいくぶん増加した。これらの結果から、この時期、フルボ酸画分中のフェノール性物質は、キノンの生成、エーテル結合の生成などによりフェノール性水酸基が消費され、重合して腐植酸に変化して

いくことが推察される。この時期、フルボ酸画分中のフェノール性物質の量(第3-1-C図)はかなり減少したが、腐植酸画分中ではその増加は認められなかった(第3-1-B図)。また腐植酸画分中のフェノール性物質含量の増加はそれほどでもなかった。従って、この時期、フルボ酸画分中のフェノール性物質は、一方ではそのかなりの部分が、フェノール性酸、脂肪酸へと分解され、最終的には CO_2 に分解されることが推察される。

100日以後、第3-1-B図および3-1-C図に示したように、腐植酸画分中のフェノール性物質の量は速やかに減少し、フルボ酸画分ではその量はほぼ一定の値を示した。また第3-3表に示したように、腐植酸画分中のブタノール可溶のフェノール性物質および有機溶媒不溶のフェノール性物質が減少したとき、フルボ酸画分では増加した。さらに第3-3図に示したように、フルボ酸の有機物あたりのフェノール性物質の含量はほぼ一定の値を示し

た。これらの結果から、腐植酸画分中のフェ
ノール性物質は、インキュベーションの後期
に再び分解し、フルボ酸画分に移行すること
が推察される。腐植酸画分中のフェノール性
物質の量（第3-1-B図）はかなり減少したが、
フルボ酸画分ではその量は増加しなかつた（
第3-1-C図）。従って、この時期、腐植酸画
分中のフェノール性物質は、一方では重合消
失していくことが推察される。

上述した腐植酸およびフルボ酸画分中にお
けるフェノール性物質の挙動は、湿潤状態下
の稲わら腐朽過程における各画分のフェノ
ール性物質の消長から推察したものであるが、
第3-1-B図、3-1-C図、3-1-D図、3-1-E図、
3-1-F図および3-2図に示したように、各種
のフェノール性物質の消長は、湿潤状態下と
湛水状態下でそれほど相違してないので、
上述したフェノール性物質の挙動は、湛水状
態下の稲わら腐朽過程にも適用できるものと
考えられる。

多量の稲わらが水田に還元投与されていることを考慮に入れると、稲わら由来のフェニール性物質が水田土壌における腐植生成、なかでも腐植酸生成に重要な役割を果たしていることが、以上の結果から推測される。

要約

稲わらを湿潤状態、湛水状態にそれぞれ保った土壌中で腐朽させ、その腐朽過程におけるフェノール性物質の消長を200日間室内実験により追跡した。アルカリ可溶のフェノール性物質を腐植酸およびフルボ酸の各画分に、あるいはエーテル可溶、ブタノール可溶およびこれらの有機溶媒で抽出されない画分にそれぞれ分け、各画分中のフェノール性物質を経時的に定量した。また個々のフェノール性酸も定量した。

得られた結果は次に示すとおりである。

1) 土壌中の稲わら腐朽過程において、アルカリで抽出した全フェノール性物質と個々のフェノール性酸の量は、湛水状態下よりも湿潤状態下で速やかに減少した。土壌中のフェノール性物質の大部分は、稲わらに由来していた。

2) 腐朽過程の初期におけるフェノール性物質の減少は、主としてフルボ酸画分中のエー

テル可溶のフェノール性物質が減少したため
で、後期における減少は、主として腐植酸画
分中のブタノール可溶のフェノール性物質が
減少したためであった。

3) 腐植酸画分は、ブタノール可溶画分およ
び有機溶媒不溶画分のフェノール性物質を多
量に含有していた。一方、フルボ酸画分中
には、有機溶媒可溶、なかでもエーテル可溶画
分のフェノール性物質が多量に含有されてい
た。

4) 土壌中の縮むら腐朽過程における個々の
フェノール性酸の分解過程は、第1章第2節
に述べた土壌が存在しない場合の縮むら腐朽
過程におけるものと類似していた。

5) 腐植酸画分の単位有機物重量あたりのフ
ェノール性物質含量は、腐朽期間中にそれほ
ど変動しなかったが、フルボ酸画分では最初
の30日間著しく増加し、その後減少したのち
一定の値を保った。

第 4 章 稲わら腐朽物および稲わら堆肥連 用水田土壌の腐植酸のフェノール 性物質の特性

前章で、稲わら腐朽過程中に形成された腐植酸に含有されているフェノール性物質は、大部分が高分子フェノールであることを推定した。本章ではさらに稲わら腐朽物中の腐植酸のフェノール性物質の化学的特性について研究を進めた。

熊田・鈴木⁴¹⁾, SUZUKI・KUMADA⁴²⁾ および
瀬・熊田⁴³⁾ は、稲わら堆肥の腐植酸と稲わら
リグニンの紫外部、赤外線および示差吸収ス
ペクトルを比較して、堆肥の腐植酸がリグニ
ンの性格を有することを明らかにした。ま
た FLAIG²⁵⁾ は、新鮮な小麦わらおよびその腐
朽物からリグニン画分を分離し、その画分の
フェノール性成分に基因した赤外線吸収スペ
クトルと腐朽過程中的その変化について報
告した。さらに、稲松⁴⁴⁾ は、稲わら堆肥の腐

植酸がフェノールの構造を含有することを報告した。最近 FLAIG¹⁶⁾らは、総説の中で腐植酸生成における初期物質としてのリグニンの重要性についても論述した。しかしながら、植物腐朽過程中に形成された腐植酸、およびリグニン中のフェノール性物質の化学的特性についてはまだ不明な点が多い。

本章では、稲わら腐朽物および水田土壌の腐植酸のフェノール性物質の化学的特性を明らかにするため、これら腐植酸と稲わら腐植酸中のフェノール性物質を定量するとともにこれらの試料と稲わらリグニンを濃 KOH で熱分解して、フェノールの分解生成物を検索した。

材料および方法

1) 稲わら腐朽物

幸風種の稲わらを風乾後、ウィレー型粉碎機で粉碎して直径 1 mm の篩を通過させた。50 g の粉碎稲わらをフラスコに入れて湿水状態

とし、途中で水を補給しつつ、 50°C で18ヶ月間インキュベーションした。

2) 腐植酸試料の調整

(1) 稲わらの腐植酸：前述の粉碎稲わら30gを0.5N-NaOH溶液1lに懸濁し、室温で一晩放置したのち、遠心分離およびろ過によって上澄液を集めた。これに希塩酸を加えて腐植酸の沈殿を形成させ、既知の方法⁴²⁾で腐植酸を精製し、 50°C で乾燥後、乳鉢ですりつぶして稲わら腐植酸試料とした。

(2) 稲わら腐朽物の腐植酸：粉碎稲わら50gから作製した前記稲わら腐朽物から、稲わらの場合と同様に腐植酸を調整した。

(3) 土壌の腐植酸：愛知県安城市の愛知県農業総合試験場水田実験農場の堆肥連用水田圃場の作土層土壌から抽出分離したものを供した。この腐植酸試料は、名古屋大学農学部³⁶⁾の白谷氏から恵与されたもので、その調整法および化学的性質は既に報告^{45,46)}されている。

腐植酸の $\Delta \log k$ およびRF値は、KUMADAら³⁶⁾

の方法に準じて測定した。

3) 稲わらのミルドウッドリグニン

名古屋大学農学部 寺島教授より恵与された。

4) フェノール性物質の分画および定量

腐植酸試料 100 mg を 0.1N NaOH 溶液 100 ml に溶解し、これに希塩酸を加えて pH 2 以下にし直ちにエーテル 50 ml で 3 回抽出した。エーテル溶液を少量の水で洗い、無水芒硝で脱水し濃縮乾固してエーテル可溶画分を得た。

酸性の抽出残液を n-ブタノール 50 ml で 3 回抽出した後、抽出液を減圧濃縮し、水と共に沸させ、ブタノールを完全に除去してブタノール可溶画分を得た。

これらの有機溶媒で抽出されながら、た部分を減圧濃縮乾固して、有機溶媒不溶画分を得た。

各画分中のフェノール性物質は、第 1 章第 2 節および前章に記載した方法に従い、フオリン試薬で比色定量した。また炭素量は ALLISON

の湿式分解法⁴⁷⁾で測定した。

5) KOH 分解

供試各腐植酸とその有機溶媒可溶画分および不溶画分、稲ゆらのミルドウッドリグニン、稲葉から分離精製^{48,49)}したトリシン(5,7,4'-トリヒドロキシ-3',5'-ジメトキシフラボン)およびシリンガ酸を分解に供した。

各試料、KOH および水をそれぞれ1:5:1の割合で小試験管に入れ、試験管の下部を180°で2時間加熱した。放冷後、水で希釈し、希塩酸で酸性にし数回エーテルで抽出した。エーテル溶液は少量の水で洗い、無水芒硝で脱水し、濃縮乾固した。エーテル可溶のフェノール性物質は、N, O-ビス(トリメチルシリル)アセトアミドでトリメチルシリル化し、第1章第2節の方法に従ってガスクロマトグラフ分析を行なった。フェノール性化合物は標準試薬とのコクロマトグラフにより同定し、またこれらの化合物のマススペクトルをガスクロマトグラフ・マススペクトルメーター

(JEOL, D-100 型) を用いて測定し、標準試薬のものと比較した。さらにエーテル濃縮溶液中のフェノール化合物について、第1章第2節の方法に準じて薄層クロマトグラフを行なった。エーテル可溶の全フェノール性物質は前述した比色法で、また個々のフェノール化合物はガスクロマトグラフで定量した。

結果および考察

供試腐植酸の $\Delta \log K$ 値, RF 値および型を第4-1表に示した。 $\Delta \log K$ 値は稲わら > 土壌 > 稲わら腐朽物の順に, RF 値は稲わら腐朽物 > 土壌 > 稲わらの順にそれぞれ減少した。これらの腐植酸はすべて R_p 型であった。

第4-2表に腐植酸中のフェノール性物質含量および炭素含量を示した。比色法で測定しフェノール(石炭酸)に換算したフェノール性物質量は, 稲わら, 稲わら腐朽物および土壌の腐植酸中にそれぞれ 7.5, 14.2 および 8.6% 含有されていた。また稲わらの腐植酸で

第4-1表 供試腐植酸の $\Delta \log K$ 値, RF値および型

腐植酸	$\Delta \log K$	RF	型
稲わら-HA	1.32	5	Rp
稲わら腐朽物-HA	0.83	24	Rp
土壌-HA	0.87	21	Rp

注) $\Delta \log K$: $\log K_{400} - \log K_{600}$ (K_{400} および K_{600} は、それぞれ400および600 nmにおける吸光度)。

RF: $K_{600} / (\text{比色液 } 30 \text{ ml あたりの } 0.1N\text{-KMnO}_4 \text{ ml}) \times 1000$ 。型: KUMADAらの分類法³⁶⁾による。

第4-2表 供試腐植酸^{*}のフェノール性物質含量^{**}および炭素含量

腐植酸	全量		エーテル可溶		ブタノール可溶		有機溶媒不溶 ^{***}	
フェノール性物質含量	mg/g*	(%)	mg/g	(%)	mg/g	(%)	mg/g	(%)
稲わら-HA	75.2	(100)	22.2	(29.5)	29.5	(39.2)	23.5	(31.3)
稲わら腐朽物-HA	142.1	(100)	13.1	(9.2)	34.5	(24.3)	94.5	(66.5)
土壌-HA	86.4	(100)	4.2	(4.9)	21.4	(24.8)	60.8	(70.4)
炭素含量	mg/g	(%)	mg/g	(%)	mg/g	(%)	mg/g	(%)
稲わら-HA	378.1	(100)	114.0	(30.2)	176.5	(46.7)	87.6	(23.2)
稲わら腐朽物-HA	521.8	(100)	67.6	(13.0)	169.5	(32.5)	284.7	(54.6)
土壌-HA	520.5	(100)	20.3	(3.9)	122.0	(23.4)	378.2	(72.7)
フェノール性炭素/全炭素								
稲わら-HA	0.152		0.149		0.128		0.205	
稲わら腐朽物-HA	0.209		0.148		0.156		0.254	
土壌-HA	0.127		0.158		0.134		0.123	

* 無水分・無灰分の腐植酸gあたりの物質のmgを示す。括弧内の値は全量に対する各画分のパーセント。

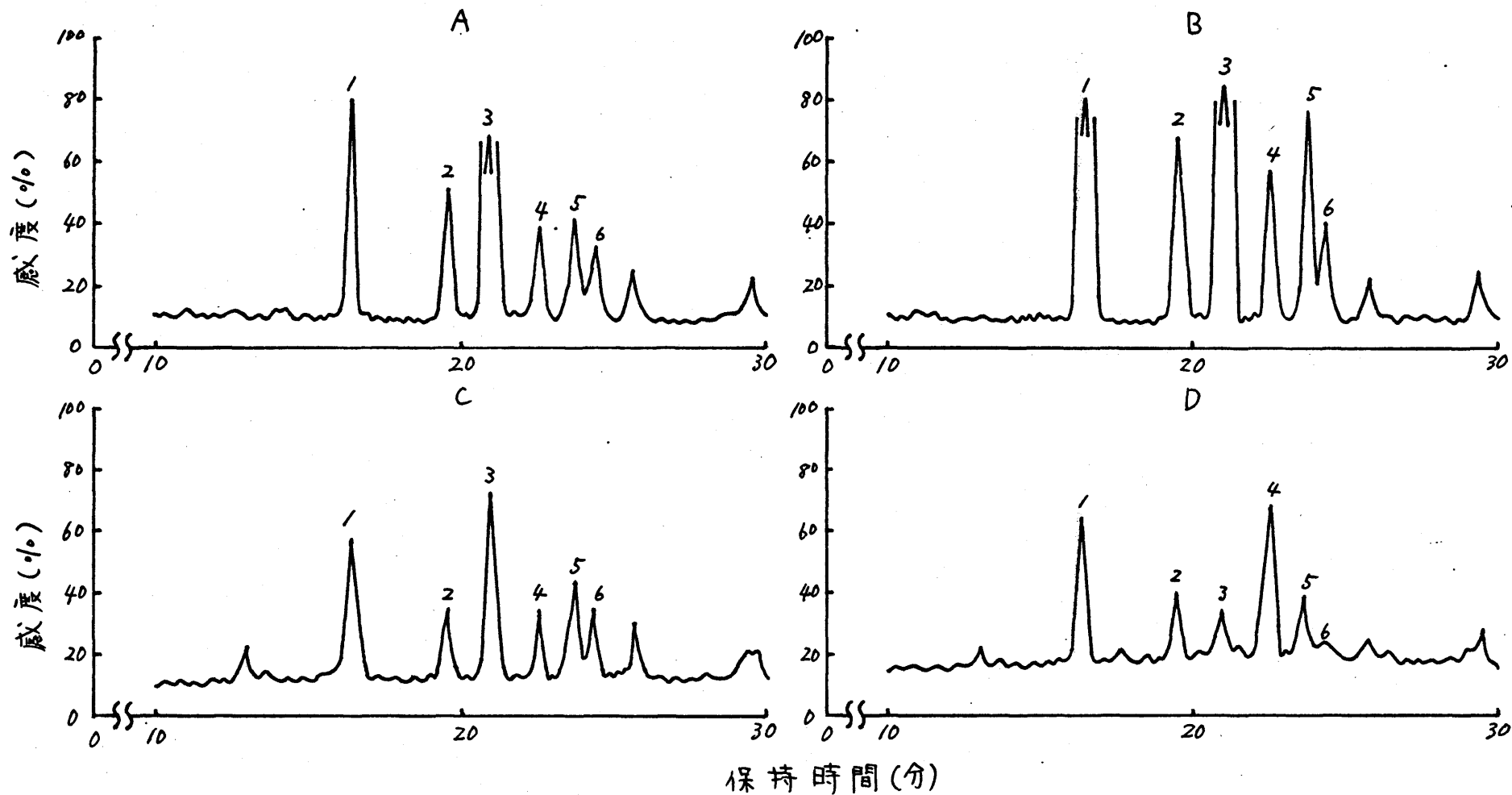
** フェノール性物質量は比色法によるフェノール換算値。

*** 有機溶媒不溶のフェノール性物質量および炭素量は、全フェノール性物質量および全炭素量からそれぞれ有機溶媒可溶のフェノール性物質量および炭素量を差し引いて求めた。

は、全フェノール性物質の約70%が有機溶媒可溶のフェノール性物質であったが、稲わら腐朽物および土壌の腐植酸では約30%に低下し、フェノール性物質が高分子画分に多いことを示唆した。一方、炭素は稲わら、稲わら腐朽物および土壌の腐植酸にそれぞれ37.8, 52.2 および 52.1 %含有されていたが、画分間における分布は、フェノール性物質の場合と類似していた。

また第4-2表に示したように、腐植酸中に含まれる全フェノール性物質の量は、炭素量として12.7 ~ 20.9 %であった。各画分におけるフェノール性物質と炭素含量の割合は、一般に有機溶媒不溶画分で高かった。

第4-1図に各供試腐植酸および稲わらのミルドウッドリグニンをKOHで分解した時の分解生成物のガスクロマトグラムを示した。ミルドウッドリグニンはリグニンの化学的性質をそのまま残して精製されたリグニンといわれ、リグニン化学の分野で広く用いられてい



第4-1図 供試各腐植酸と稲わらの Mildwood リグニンの KOH 分解生成物の
 ガスクロマトグラム

A: 稲わら-HA, B: 稲わら腐朽物-HA, C: 土壌-HA, D: 稲わらの Mildwood リグニン
 ガスクロマトグラム中の数字は、第4-3表に示した化合物に相当する。

る。図に示したように、多くのピークがガスクロマトグラム上に現われたが、各ガスクロマトグラムは似ていた。それぞれの腐植酸および稲わらのミルドウッドリグニンは、分解生成物に量的な差はあるが、同じ種類のフェニル化合物を生成した。第4-3表に主要な分解生成物の相対保持時間および分子の開裂様式を示した。この表によれば、分解生成物1, 2, 3, 4 および6 に対して得られた分析データは、それぞれ *p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、プロトカテキユ酸、シリニガ酸 および没食子酸と一致した。*p*-ヒドロキシ安息香酸、プロトカテキユ酸 および没食子酸の存在は、展開溶媒としてクロロホルム：酢酸(9:1)、およびベンゼン：酢酸エチル(5:4.5) を用いたシリカゲル二次元薄層クロマトグラフによっても確認した。トリメチルシリル化した分解生成物5は、分子量が400で、しかも分子の開裂様式がトリメチルシリル化したプロトカテキユ酸、あるいはバニリ

第4-3表 KOH分解により生成した主要なフェノール性物質のガスクロマトグラフ
 相対保持時間と分子の開裂様式

フェノール性物質	相対保持時間*	分子の開裂様式**
p-ヒドロキシ安息香酸 (No.1)	1.59	282(W) 267(S) 223(S) 193(S) 146(W) 73(W)
バニリン酸 (No.2)	1.91	312(M) 297(S) 282(M) 267(S) 253(M) 223(S) 193(W) 179(W)
プロトカテキュ酸 (No.3)	2.05	370(W) 355(W) 311(W) 281(W) 267(W) 223(W) 193(S) 165(W)
シリンガ酸 (No.4)	2.15	342(M) 327(S) 312(S) 297(S) 283(W) 267(W) 253(M) 223(W)
3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸 (No.5)	2.31	400(W) 385(W) 370(W) 327(W) 312(W) 297(W) 267(W) 223(S)
没食子酸 (No.6)	2.34	458(M) 443(W) 399(W) 370(W) 355(W) 342(W) 311(W) 281(S)

* トリメチルシリル化したフェノール性物質の相対保持時間は、トリメチルシリル化したp-クロル安息香酸の保持時間を1.00として計算した。

** 分子の開裂様式は、トリメチルシリル化したフェノール性物質より得た。相対強度; $30 < W \leq 40$, $40 < M \leq 70$, $70 < S \leq 100$ 。

No.1 から No.4 までの物質と No.6 の物質は、標準試薬とのガスクロマトグラフ、および標準試薬との分子の開裂様式の比較から同定した。No.5 の物質は、分子の開裂様式より推定した。

番号は第4-1図に示したガスクロマトグラム中の番号に相当する。

ン酸と類似していたので、5-O-メチル没食子酸 (3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸) と推定した。

高温で KOH 熔融を行なうとメトキシシル基からメチル基が離脱することが知られている⁵⁰⁾。しかし、本研究で用いたように、少量の水を添加して 180°C で KOH 分解する条件^{48,49)} 下ではメトキシシル基からのメチル基の離脱は見られなかった。すなわち、トリシンを水添加 KOH で熱分解するとフロログルシノールとシリンガ酸が生成し、またシリンガ酸を同様に処理してもシリンガ酸のみが回収され、ともに脱メチル化物は検出されなかった。

第4-4表に各腐植酸および稲わらの Mild Woodrigin を KOH で分解したときのエーテル可溶の全フェノール性物質質量および個々のフェノール性酸量を示した。稲わら、稲わら腐朽物および土壌の腐植酸から、8.7, 14.6 および 6.7% のエーテル可溶のフェノール性物質 (フェノール換算) がそれぞれ得られた。

第4-4表 KOH分解後に得られたエーテル可溶の全フェニール性物質と個々のフェニール性酸量

フェニール性物質	稲わらの腐植酸		稲わら腐朽物の腐植酸		土壌の腐植酸		稲わらのミルドウッドリグニン		稲わら腐朽物の腐植酸			
	mg/g*	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	有機溶媒可溶		有機溶媒不溶	
α-ヒドロキシ安息香酸	5.5	(18.8)	6.8	(18.3)	4.5	(18.4)	35.1	(31.4)	3.2	(20.3)	4.5	(20.4)
バニリン酸	4.8	(16.4)	6.0	(16.2)	4.1	(16.8)	20.0	(17.9)	1.9	(12.0)	5.3	(24.0)
プロトカテキユ酸	7.2	(24.7)	10.6	(28.6)	5.0	(20.5)	11.0	(9.8)	8.7	(55.1)	3.2	(14.5)
シリンガ酸	5.2	(17.8)	6.4	(17.3)	5.1	(20.9)	36.2	(32.4)	Tr	(-)	5.8	(26.2)
3,4-ジヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸**	3.6	(12.3)	3.8	(10.2)	3.0	(12.3)	9.5	(8.5)	Tr	(-)	3.3	(14.9)
没食子酸	2.9	(9.9)	3.5	(9.4)	2.7	(11.1)	Tr	(-)	2.0	(12.7)	Tr	(-)
合計量	29.2	(100)	37.1	(100)	24.4	(100)	111.8	(100)	15.8	(100)	22.1	(100)
エーテル可溶全フェニール性物質	87.0		145.6		67.1		240.0		31.2		110.8	

* 値は無水分・無灰分の腐植酸またはリグニン μ あたりの mg を示す。括弧内の値は、個々のフェニール性酸量のフェニール性酸含量に対する割合を示す。フェニール性酸はガスクロマトグラフ法で、またエーテル可溶のフェニール性物質(フェニール換算)は比色法で定量した。

** プロトカテキユ酸の検量線より算出した。

一方、フェロール性酸の含量は、腐植酸あたりそれぞれ 2.9, 3.7 および 2.4% であった。

KOH 分解で生成した個々のフェロール性酸の種類は、供試腐植酸、リグニンとも等しくまた各フェロールの相対含量は、プロトカテキユ酸を除き、供試腐植酸の間でほぼ等しかった。p-ヒドロキシ安息香酸およびシリンガ酸の相対含量は腐植酸よりもミルドウッドリグニンの方が高いが、酸化の進んだプロトカテキユ酸および没食子酸の相対含量は腐植酸の方が高かった。これらの結果は、供試腐植酸が稲わらリグニンと同じフェロール性構造を有することを示している。イネ科植物はカテキン縮合物の縮合型タンニンを殆んど含有していない³¹⁾ が、リグニンを多量に含有している³⁰⁾。水稻葉は有機溶媒可溶のフラボノイド化合物として、トリニンおよびその配糖体を含有しており^{48,49)} これを KOH で分解するとフロゲルシールとシリンガ酸が生成する。稲わら腐朽物の腐植酸の両画分を KOH で分解し

た結果 (第4-4表) によれば, 有機溶媒不溶画分で比較的多量のシリンガ酸が生成したが溶媒可溶画分では極く微量であった。さらにフラボノイド化合物のKOH分解産物として知られているフロログルシノールやレゾルシノール⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾は, 供試腐植酸中では検出されなかった。これらのことから, 供試腐植酸を構成するフェノール性物質は, タンニンおよびフラボノイド類似の構造は少なく, 大部分, リグニン様物質から構成されているものと推定した。他方, プロトカテキエ酸は第2章で示したように, p-クマル酸など低分子フェノール性酸の微生物代謝産物であり, さらにキノイド化合物を経て腐植様物質に重合することが知られている。また稲わらのミルドウッドリグニンは, 第5章で述べるように他のイネ科植物⁵¹⁾と同じくp-クマル酸など加水分解性フェノールを多量に含有していた。さらに第4-4表に示したように, プロトカテキエ酸量は供試腐植酸の間でかなり異なっていた。これ

らのことから、稲わら腐朽過程中に稲わらリグニンの部分的分解により生成したプロトカタキユ酸が重合して腐植酸に変化し、その結果、稲わら腐朽物および土壌の腐植酸では、フェニール性物質の一部がカタコール誘導体の重合物より構成されていることも推定される。

以上得られた結果から、稲わらリグニンは稲わらの堆肥化過程において稲わら施用水田土壌中の腐植酸の形成に大きく貢献し、また腐植酸のリグニンの特徴は長期間保持されることが推察される。

要約

新鮮稲わら、18ヶ月間腐朽させた稲わらおよび堆肥連用水田土壌の各腐植酸と稲わらのミルドウッドリグニンのフェノール性物質の化学的特性に関する知見を得るため、腐植酸中のフェノール性物質を定量するとともに、これらの試料を水添加KOHで熱分解し、生じたフェノール性成分を定量比較し、以下の結果を得た。

1) これらの腐植酸には、稲わら<土壌<稲わら腐朽物の順に約8~14%の範囲でフェノール性物質が含有されていた。稲わら腐植酸では、フェノール性物質の約70%が有機溶媒可溶画分に存在していたが、稲わら腐朽物および土壌の腐植酸では、約30%であった。

2) 供試した各腐植酸とその有機溶媒可溶画分および不溶画分、稲わら精製リグニンのKOH分解生成物として、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、プロトカテキユ酸、シリンガ酸、没食子酸および3,4-ジヒドロキシ-5-メトキ

シ安息香酸が検出された。フラボノイド化合物に由来するフロログルシノールおよびレゾルシノールは検出されなかった。各フェニールの量は、プロトカテキエ酸を除き、供試腐植酸の間でほぼ等しかった。またこれらのフェニールの含量は、未分解腐植酸の2~4%に相当した。

3) p-ヒドロキシ安息香酸およびシリニンガ酸の相対含量は、腐植酸よりもミルドウッドリグニンの方が高いが、酸化の進んだプロトカテキエ酸および没食子酸は腐植酸の方が高かった。

4) 以上の結果は、稲わら腐朽過程中に生成する低分子フェニール性酸の大部分はリグニンから分解生成してくることを示すと同時に、稲わらリグニンは堆肥化過程において稲わら施用水田土壌中の腐植酸の形成に大きく貢献し、腐植酸のリグニンの特徴は長期間保持されることを示した。

第 5 章 楢わうリグニン中の加水分解性フェノール成分

第 1 章第 2 節で、楢わう中にもともと存在する遊離の α -クマル酸、フェルラ酸などの低分子フェノールは、楢わうの腐朽過程で速やかに消失するが、一方では高分子のリグニンなどの前駆物質から生成してくることを推定した。また第 4 章では、楢わう腐朽物および堆肥連用水田土壌の腐植酸と楢わうリグニンを濃 KOH で熱分解し、エーテル可溶のフェノール性成分を同定および定量して、楢わうリグニンが楢わう腐朽過程中の腐植酸の形成に貢献することを明らかにした。

木材リグニンについては従来多数の研究が行なわれ、その化学構造および化学的性質はかなり明らかにされてきたが、楢わうリグニンについては殆んど研究されていない。

本章では、楢わう腐朽過程中に生成してくるフェノール性化合物の起源を明らかにする

ため、稲わらの精製リグニンを加水分解し、生じたフェノール性化合物を検索した。

材料および方法

1) 稲わらのミルドウッドリグニン

名古屋大学農学部林産化学研究室の寺島典二教授より恵与された。

2) 稲わらのミルドウッドリグニンの加水分解

上記リグニン 10 mg を $N \cdot NaOH$ 20 ml 中で 3 時間加熱還流し、放冷後塩酸酸性 (pH 2 以下) にしてエーテルで数回抽出した。エーテル溶液を無水芒硝で脱水したのち濃縮乾固し、第 1 章第 2 節の方法に従い、フェノール性化合物をガスクロマトグラフで同定および定量した。

結果および考察

ミルドウッドリグニンはリグニンの化学的性質をそのまま保持したリグニンとされ、リグニン化学の分野でリグニン標品として広く

用いられている。

稲わらのミルドウッドリグニンの水溶液を塩酸酸性にしてエーテルで抽出したとき、すなわち、未分解のリグニン標品からはエーテル可溶のフェノール性物質は検出されなかった。N-NaOHによる加水分解物から、第5-1表に示す化合物が検出された。最も量の多いp-クマル酸は未分解リグニン標品中に1.4%含まれ、生成したフェノール性酸の含量は3.7%に達した。タケなど他のイネ科植物のリグニン中では、p-クマル酸やフェルラ酸がエステル結合で存在していることが報告^{54,55)}されているが、本研究の結果もまた稲わらリグニンにこれらのフェノール性酸がエステル結合で多量に存在していることを示した。

第5-1表に示した稲わらリグニン中の加水分解性フェノールの多くは、稲わらを容器内で1~2箇月間腐朽させたときに生成してくるフェノール性酸と一致し、量的な順番もほぼこれと一致した(第1章第2節)。このこと

第5-1表 柿わらの Mild Woodrignin 中の加水分解性および KOH 熱分解 フェノール

フェノール化合物	化学構造	フェノール回収量 mg/g	
		加水分解	KOH 熱分解*
p-クマル酸	4-ヒドロキシ桂皮酸	13.9	-
p-ヒドロキシ安息香酸	4-ヒドロキシ安息香酸	2.8	35.1
フェルラ酸	4-ヒドロキシ-3-メトキシ桂皮酸	3.8	-
バニリン酸	4-ヒドロキシ-3-メトキシ安息香酸	7.6	20.0
シナピン酸	3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ桂皮酸	微量	-
シリンガ酸	3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ安息香酸	6.1	36.2
コヒ酸	3,4-ジヒドロキシ桂皮酸	微量	-
プロトカテキエ酸	3,4-ジヒドロキシ安息香酸	2.6	11.0
没食子酸	3,4,5-トリヒドロキシ安息香酸	微量	微量
	計	36.8	102.3

*同一試料を用いて KOH 分解して得られた値。第4章より収録。

は、稲わらリグニン中にエステル結合で存在しているフェノール性酸が、稲わら腐朽の比較的初期の段階で遊離してくることを示している。

稲わらのミルドウッドリグニンを希NaOHで加水分解すると、第5-1表に示したように、*p*-クマル酸、フェルラ酸、シナピン酸、コーヒー酸が検出されたが、KOH熱分解の場合にはこれらのフェノールは検出されず、2重結合の切断によりそれぞれ*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、シリニガ酸、プロトカテキユ酸にまで分解されたものと思われる。

KOH分解により生成した*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、シリニガ酸およびプロトカテキユ酸の量は、それぞれ加水分解により生成した*p*-クマル酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸の合量、フェルラ酸とバニリン酸の合量、シナピン酸とシリニガ酸の合量およびコーヒー酸とプロトカテキユ酸の合量よりもはるかに多く、稲わらリグニン中では*p*-ヒドロキシ安

息香酸, バニリン酸, シリンガ酸およびプロトカテキユ酸がエステル結合で存在している部分は少なく, 大部分は母核の構成部分として存在していることを示した。

縮ゆう中にはリグニンが約20%含まれている³⁰⁾が, 縮ゆう腐朽の際に生成の認められたフェノール類の量(第1章第2節)は, 加水分解性フェノールの量に比べて非常に少なかった。第2章に示したように, これらのフェノールは溶液中で速やかに分解されるので, 縮ゆう腐朽過程中にリグニンから遊離してきたフェノールもまた速やかに分解消失していくものと思われる。縮ゆう中にもともと存在する遊離のフェノール性酸の量(第1章第2節)は, リグニン中の加水分解性およびKOH熱分解フェノールの量に比べて非常に少なく, しかも縮ゆう腐朽過程中に速やかに減少した。また, KOH熱分解フェノールの量は, 加水分解性フェノールの量よりもはるかに多かった(第5-1表)。これらのことは, 縮ゆう腐朽

の初期の段階ではエステル結合として存在するフェノール性酸が遊離してくるが、腐朽が進んだ時期に検出されるフェノール性酸は、ほとんどガリグニン母核から代謝生成した産物であることを示すものであろう。これらのフェノール性化合物もまた、稲わら腐朽過程において、さらに脂肪酸、 CO_2 へと分解していくものと推定される。

一方、第4章で、稲わらリグニンは稲わらの腐朽に伴い、腐植酸の形成に貢献することを明らかにした。以上の結果から、稲わら腐朽過程において、リグニンは一方では低分子フェノールの前駆物質となり、他方では腐植酸の形成に貢献するものといえる。

要約

楢わらの腐朽に伴って生成してくる低分子フェノールの起源を明らかにするため、楢わら精製リグニンを希NaOHで加水分解し、エーテル可溶のフェノール性化合物の同定および定量を行なった。その結果、p-クマル酸、バニリン酸、シリンガ酸、フェルラ酸、p-ヒドロキシ安息香酸、プロトカテキユ酸、没食子酸、コーヒー酸およびシナボン酸が検出され、前者ほど多量に検出された。p-クマル酸は未分解リグニン中に1.4%含まれ、フェノール性化合物の含量は3.7%に達した。ここに得られたp-クマル酸など多くのフェノールは、種類および量比とも、楢わらを比較的短期間腐朽させた時に生成したフェノール性化合物とほぼ一致し、楢わら腐朽の初期にこれらのフェノールがリグニンから加水分解により生成してくることを示した。前章の結果と総合し、楢わら腐朽過程において、楢わらリグニンは一方では低分子フェノールの前駆物質となり、

腐朽の初期にはエステル結合したフェノール性酸が遊離して生成し、腐朽の進行とともにリグニン母核の構成フェノールが分解してフェノール性酸を生成してくることを示し、他方ではリグニンが腐植酸の形成に貢献しているものと推論した。

第6章 稲わら、ラジノクローバーおよび
アベマキ落葉の腐朽過程における
フェノール性物質の消長

第3章で、土壌中の稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消長について述べた。アルカリ可溶の全フェノール性物質の量は腐朽期間中減少し、腐朽過程の初期における減少は主としてフルボ酸画分中のエーテル可溶のフェノール性物質の減少を反映し、後期における減少は主として腐植酸画分中のブタノール可溶のフェノール性物質の減少を反映した。

植物腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動は、植物遺体の種類によっても、また腐朽条件によっても異なるものと思われるが、この方面の内容に関する知見は乏しい。

本章では、稲わら、ラジノクローバー、アベマキ落葉の3種類の植物遺体を湿潤状態で腐朽させるとともに、稲わらは各種条件下

で腐朽させ、これらの腐朽過程におけるフェ
ノール性物質の消長を比較した。

材料および方法

1) 植物遺体

幸風種の稲わら (I) および (II), ラジ
クローバー (*Trifolium repens* L) 地上部
全草およびアベマキ (*Quercus variabilis* BL
) 落葉の風乾粉碎物 (1 mm 以下) を供試した。
稲わら (I) と (II) は試料調整時期を異に
する。試料中の全炭素はアリソンの湿式分解
法⁴⁾で、全窒素はケルダール法で、灰分含量
は試料を 400 ~ 450 °C で灰化させて測定した。
これらの測定値は第 6-1 表に示した。

2) 植物遺体のインキュベーション

上記 3 種類の植物遺体を湿潤状態下 50 °C で
腐朽させるとともに、稲わらは温度、水分、
あるいは添加物を異にする状態下でも腐朽さ
せた。

粉碎試料 2g づつを 100 ml 容の三角フラスコ

第6-1表 植物遺体中の全炭素, 全窒素および灰分含量

植物遺体	全炭素 (%)	全窒素 (%)	C/N	灰分 (%)
稲わら(I)	39.2	0.60	65.3	16.5
稲わら(II)	39.6	0.58	68.3	17.3
ラジノクローバー	45.0	4.07	11.1	17.9
アベマキ落葉	53.2	0.91	58.5	5.9

乾物%

に取り、これに 5 または 25 ml の水を加えて攪拌し、湿潤状態または湛水状態とした。また別に粉碎稲わら 2g に希硫酸 (0.045 N H₂SO₄, 5ml)、石灰窒素 (40 mg) または安城鋳質土壌 25g (乾土 20g) を加えた区を設け、土壌添加区以外は 5 または 25 ml の水を加え、土壌添加区では 10 または 50 ml の水を加えて、それぞれ湿潤状態、湛水状態とした。フラスコの口部をアルミホイルで覆い、所定の期間 30 または 50 °C でインキュベーションした。1 週間ごとに試料を攪拌し、水を補給した。ただし、湛水状態下 30 °C でインキュベーションした試料は、フラスコ中の空気を窒素ガスで置換し、ゴム栓で密栓してインキュベーションし、1 週間ごとに試料を攪拌して窒素ガスで交換した。

所定の期間インキュベーションした後、フラスコ中の全試料を分析に供した。

3) 分析法

pH 値は試料に 50 ml まで水を加え、ガラス電

極で測定した。

フェノール性物質の抽出・分画および定量は、第3章の方法によった。すなわち、試料中のフェノール性物質を水酸化ナトリウム溶液で抽出し、一方では塩酸を用いて腐植酸画分およびフルボ酸画分にわけるとともに、他方では塩酸酸性にした後、エーテルおよびブタノールで順次抽出し、エーテル可溶画分、ブタノール可溶画分、これらの有機溶媒で抽出せらばい画分にそれぞれわけた。各画分中のフェノール性物質は、フェノール(石炭酸)を標準物質として、フォリン試薬で比色定量した。土壌添加区における稲わら腐朽物中のフェノール性物質の量は、第3章の結果を引用した。

エーテル可溶画分中の個々のフェノール性酸は、第1章第2節の方法に従い、ガスクロマトグラフで定量した。

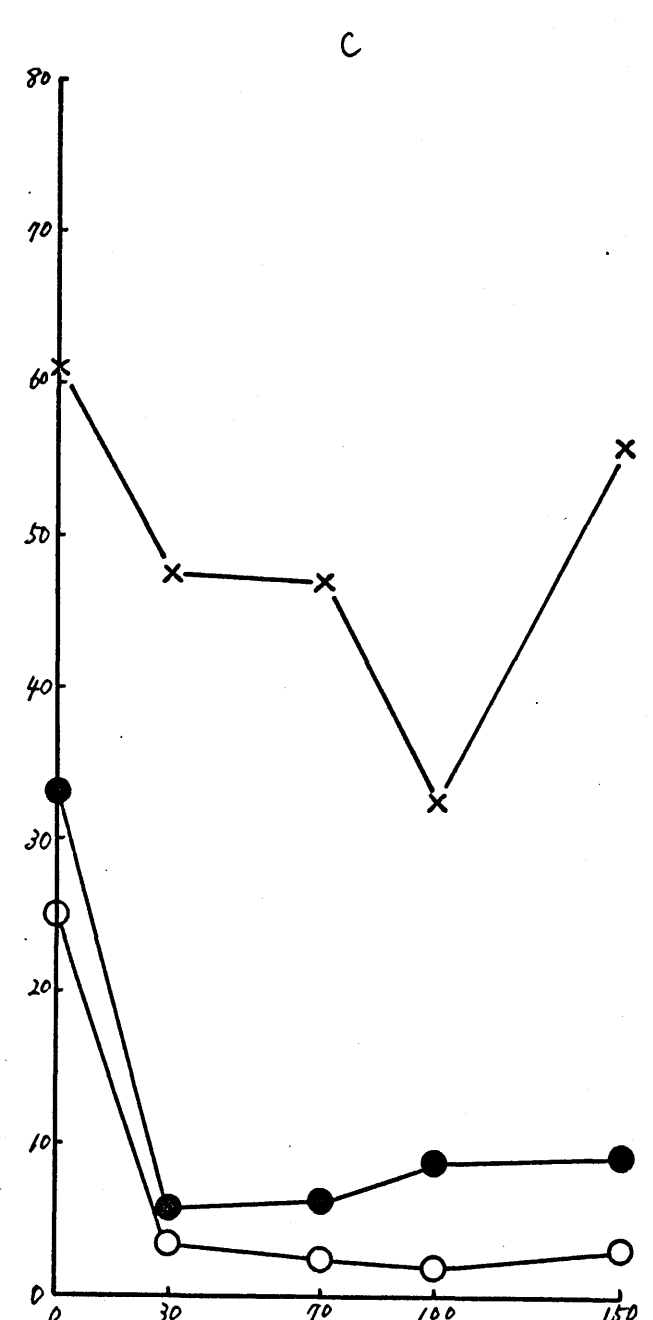
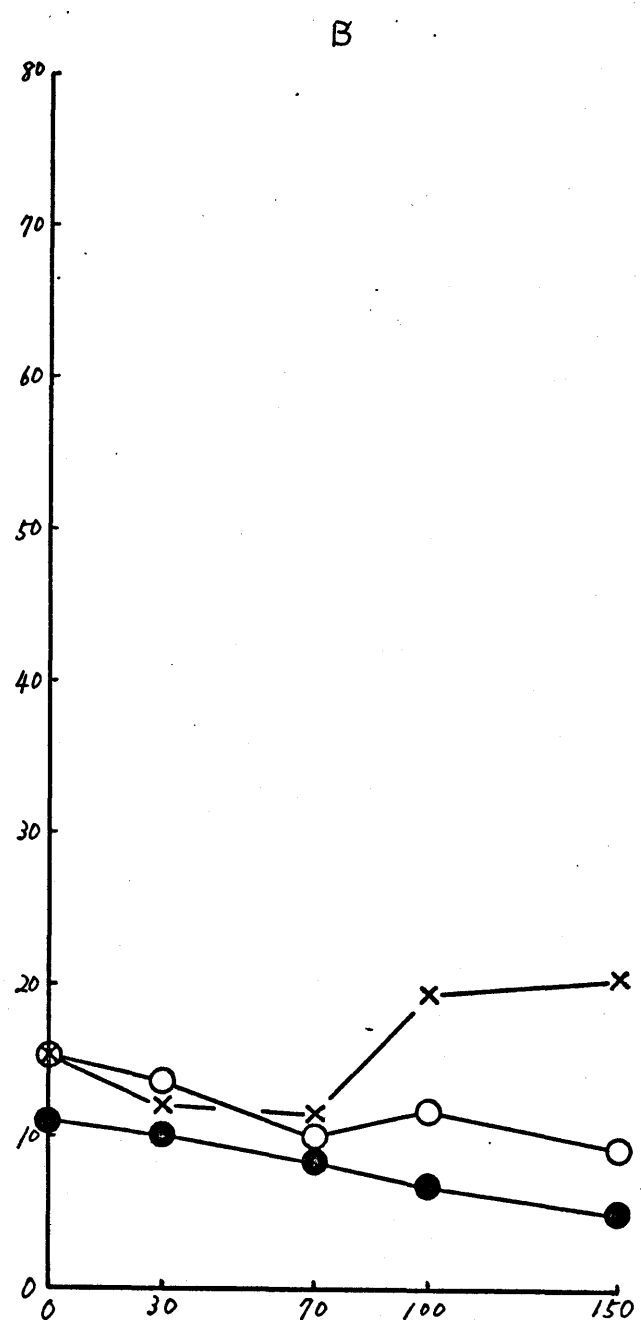
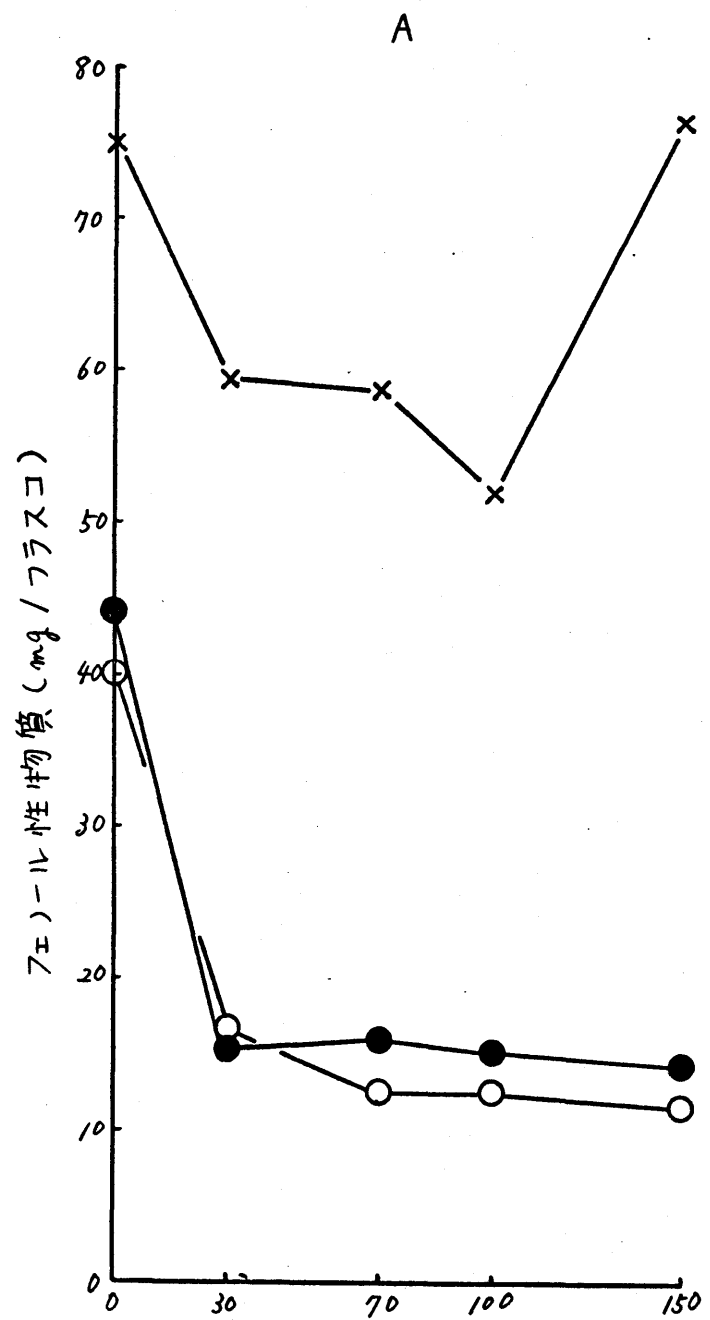
腐植酸およびフルボ酸画分中の炭素含量は KMnO_4 滴定法³⁶⁾ で測定した。

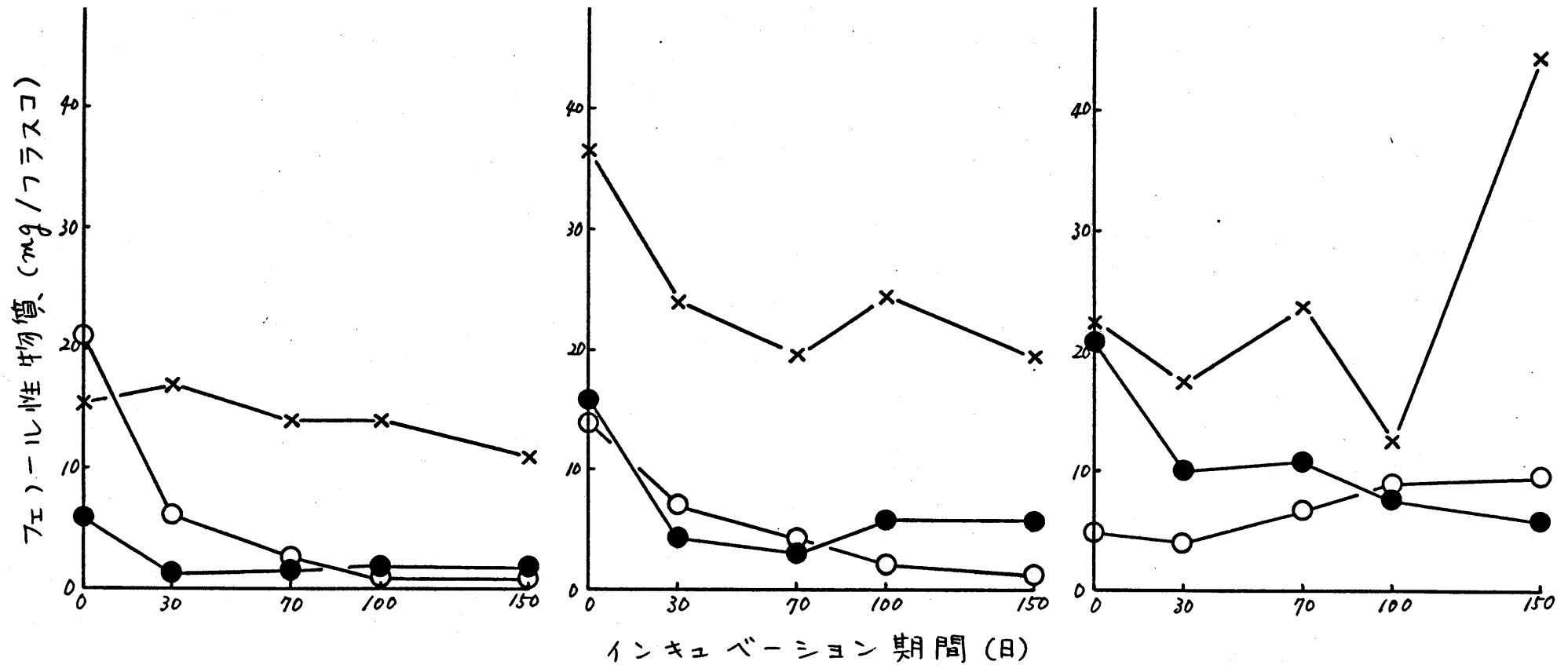
結果および考察

1. 湿潤状態下での3種類の植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の消長

第6-1-A図に示したように、アベマキ落葉中のアルカリ可溶の全フェノール性物質の量は、インキュベーション期間中、他の2植物よりも著しく多かった。稲わらおよびラジクローバー中の量はほぼ等しく、インキュベーションの初期に速やかに減少し、その後ほぼ一定の値を示した。アベマキでは、インキュベーション開始後100日間には減少し、その後著しく増加した。

第6-1-B図および6-1-C図に示したように、いずれの植物遺体においても、インキュベーション開始時には、腐植酸画分よりもフルボ酸画分中に多量のフェノール性物質が存在した。また腐植酸画分中のフェノール性物質の量は、供試植物遺体の間で殆んど等しかった。フルボ酸画分中のフェノール性物質の消長(第6-1-C図)は、全フェノール性物質の消長





第6-1図 3種類の植物遺体の腐朽過程におけるアルカリ可溶フェニール性物質の消長
(○, 椎わら(I); ●, ラジノクローバー; X, アベマキ落葉)

- A, アルカリ可溶の全フェニール性物質 B, 腐植酸画分中のフェニール性物質
 C, フルボ酸画分中のフェニール性物質 D, エーテル可溶画分中のフェニール性物質
 E, ブターール可溶画分中のフェニール性物質 F, 有機溶媒不溶画分中のフェニール性物質

各々のフラスコはインキュベーション開始時には、植物遺体粉碎物2gを含む。
 D-F図に示した値の合計は、腐植酸およびフルボ酸画分中のフェニール性物質の含量に相当する。

(第 6-1-A 図) と極めて類似した挙動を示したが、腐植酸画分中のフェノール性物質は、アベマキ落葉で70日目以後増加した以外、インキュベーション期間中、徐々に減少した。これらの結果は、供試植物遺体の腐朽過程における全フェノール性物質の消長が、主としてフルボ酸画分中のフェノール性物質の消長を反映したことを示している。

第 6-1-D 図, 6-1-E 図および 6-1-F 図にはエーテル, ブタノールで順次抽出した画分と抽出残渣画分中のフェノール性物質の消長を示した。インキュベーション開始時におけるエーテル可溶のフェノール性物質(第 6-1-D 図)は、ラジノクローバーよりも稲わらおよびアベマキ落葉の方が多いが、稲わらおよびラジノクローバーでは腐朽に伴って急激に減少するのに対し、アベマキ落葉では極く少量しか減少しなかった。ブタノール可溶のフェノール性物質(第 6-1-E 図)は、アベマキ落葉中に著しく多かった。ブタノール可溶のフ

フェノール性物質は、稲わらおよびラジノクローバーではエーテル可溶のフェノール性物質と同様、腐朽の初期に着しく減少したが、アベマキ落葉では徐々に減少し、100日目に一時的増加した。有機溶媒不溶のフェノール性物質(第6-1-F4)は、稲わらではインキュベーション日数の経過とともに少量増加し、ラジノクローバーでは減少し、アベマキ落葉では腐朽の後期に着しく増加した。

これらの各画分中のフェノール性物質の消長を総合して比較すると、稲わら腐朽過程におけるアルカリ可溶の全フェノール性物質の量の減少は、主としてフルボ酸画分中の有機溶媒可溶のフェノール性物質の減少を反映し、ラジノクローバーにおける減少は、主としてフルボ酸画分中のブタノール可溶のフェノール性物質と溶媒不溶のフェノール性物質の減少を反映し、アベマキ落葉における増減は、主としてフルボ酸画分中のブタノール可溶のフェノール性物質と溶媒不溶のフェノール性

物質の増減を反映しているものと推論される。

インキュベーション開始後30日間、いずれの植物遺体においても、フルボ酸画分中のフェ)ー)ル性物質の量(第6-1-シ図)は急減した。この期間中、腐植酸画分中のフェ)ー)ル性物質の量(第6-1-ハ図)はわずかに減少し有機溶媒可溶のフェ)ー)ル性物質(第6-1-ド図と6-1-エ図)、溶媒不溶のフェ)ー)ル性物質(第6-1-フ図)およびフェ)ー)ル性酸(第6-4図)はいずれも減少した。これらの結果から、箱わら、ラジ)クロ)バーおよびアベマキ落葉の腐朽過程の初期において、フルボ酸画分中のフェ)ー)ル性物質の大部分は速やかに分解消失するが、腐植酸画分中のフェ)ー)ル性物質の大部分は分解および重合に対して安定であるものと推定される。

30日目以降、箱わらおよびラジ)クロ)バーでは、腐植酸画分中のフェ)ー)ル性物質の量は次第に減少したが、フルボ酸画分中のフェ)ー)ル性物質の量はほとんど一定の値を示

した(第6-1-B図と6-1-C図)。このことは、これらの植物遺体の腐朽過程の中期および後期に、腐植酸画分中のフェノール性物質はキシロンの生成あるいはエーテル結合による重合などにより徐々に減少するが、フルボ酸画分中のフェノール性物質は比較的安定であることを示唆する。

稲わら、ラジクローバーと異なり、アベマキ落葉では70日目から100日目にかけて腐植酸画分中のフェノール性物質はいくぶん増加し、フルボ酸画分中のフェノール性物質は著しく減少した(第6-1-B図と6-1-C図)。

この時期にアルカリ可溶の全フェノール性物質は減少している(第6-1-A図)ので、フルボ酸画分中のフェノール性物質の一部は脂肪酸~~化合物~~^{化合物}、さらに CO_2 へ分解するとともに、一部は重合して腐植酸に変化したものと考えられる。さらにアベマキ落葉では、100日目から150日目にかけて、全フェノール性物質は著しく増加し、これに伴いフルボ酸画分中

のフェノール性物質と有機溶媒不溶のフェノール性物質は著しく増加を示したが、腐植酸画分中のフェノール性物質はほぼ一定の値を示した(第6-1-A図, 6-1-B図, 6-1-C図および6-1-F図)。これらのことは、アベマキ落葉ではこの時期に他の成分と結合して存在するか、または高分子物質として存在するアルカリ不溶のフェノール性物質の一部が、分解または遊離してフルボ酸画分中の有機溶媒不溶画分にくることを示唆している。

このように、稲わらおよびラジコクローバーとアベマキ落葉とでは、腐植酸画分およびフルボ酸画分中のフェノール性物質の挙動はかなり相違していた。このような相違は、稲わらおよびラジコクローバーよりもアベマキ落葉の方がフェノール性物質を多量に含有していること、イネ科植物はカテキン縮合物である縮合型タンニンをほとんど含有してはいない

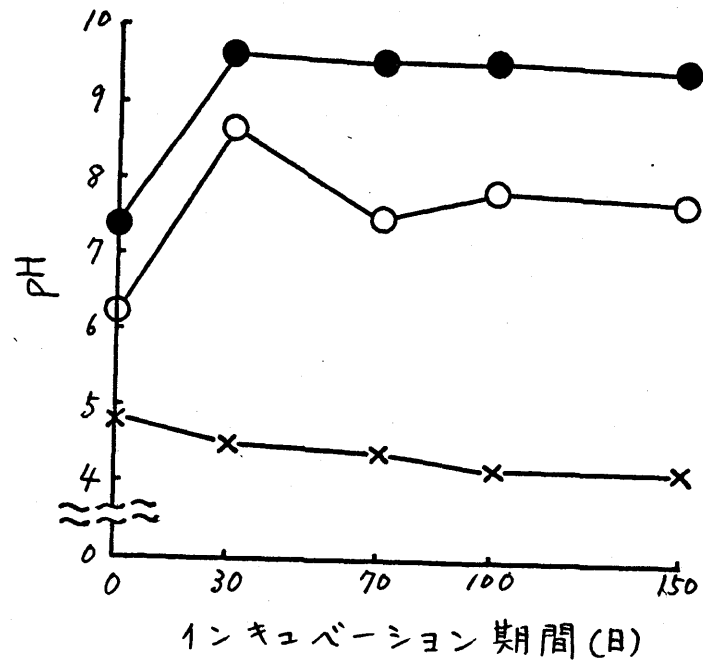
31) が、比較的多量のリグニンを含有している

30) こと、アベマキなどの *Quercus* 属の樹木は

多量のタンニンを含有している⁵³⁾ こと、稲わら腐朽物中の腐植酸はリグニンの特徴を有する^{41~43)} (第4章) のに対して、アベマキ落葉腐朽物中の腐植酸はタンニンの特徴を有する⁴²⁾ ことなどが原因となつて表われたものと推定される。

一方、稲わらおよびラジノクローバーの腐朽過程で pH は弱アルカリ性ないしは強アルカリ性を示すのに対し、アベマキ落葉では強酸性を示した(第6-2図)。また、後述するよ
うに、稲わら腐朽過程における腐植酸画分およびフルボ酸画分中のフェノール性物質の消失速度は、強酸性条件下で著しく遅かった(第6-5図と6-6図)。以上を併せ考えると、アベマキ落葉のフェノール性物質の消失速度が、稲わらおよびラジノクローバーよりも遅いことは、アベマキ落葉腐朽物の pH が低かったことに原因があるものと推定される。

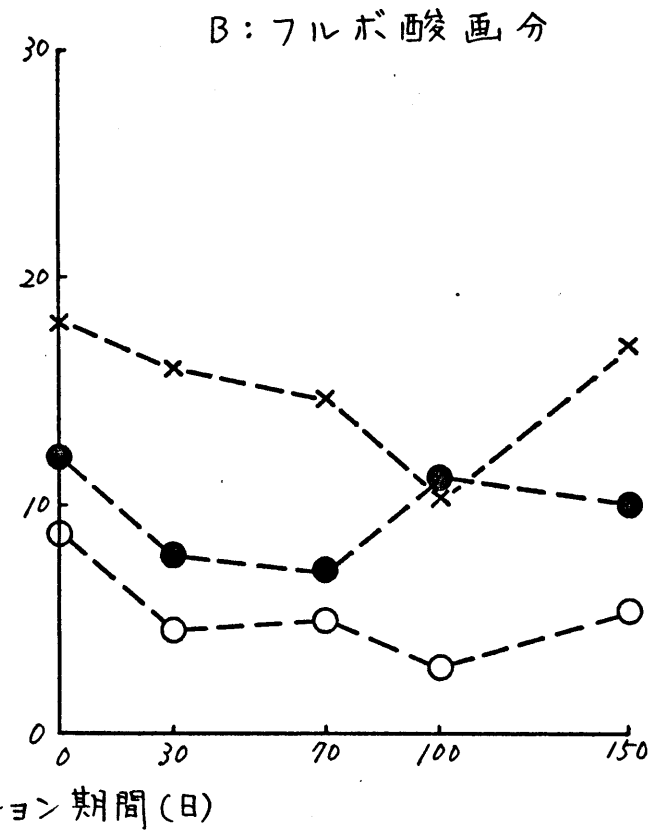
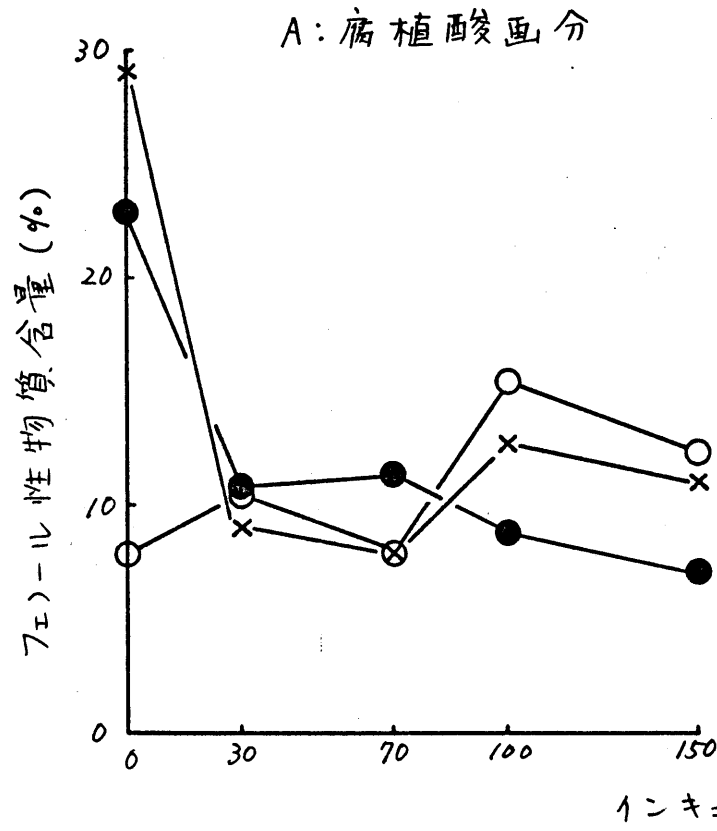
稲わらとラジノクローバーでは炭素率が著しく異なる(第6-1表)にも関わらず、フ



第6-2図 3種類の植物遺体の腐朽過程におけるpH値の経時変化(0, 楯わら(1); ●, ラジノクローバー; ×, アベマキ落葉)

フェノール性物質の消失速度はほぼ等しかった(第6-1図)。また、後述するように、稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消失速度は、窒素添加によってあまり左右されなかった(第6-5図)。従って、植物遺体の炭素率は、フェノール性物質の消失速度にそれほど影響しないことが推定される。

第6-3図に、3種類の植物遺体の腐朽過程における腐植酸画分およびフルボ酸画分の有機物の単位重量あたりのフェノール性物質含量の経時変化を示した。インキュベーション開始時には、ラジノクローバーおよびアベマキ落葉の腐植酸画分中のフェノール性物質含量(第6-3-A図)は稲わらよりも高かったが、腐朽の初期に10%程度まで低下して稲わらとほぼ等しくなった。その後、稲わらを除き大きな変動は見られなかった。腐朽の初期に腐植酸画分中のフェノール性物質の量(第6-1-B図)は、3植物遺体とも同程度に減少したが、腐植酸画分中のフェノール性物質含量



第6-3図 3種類の植物遺体の腐朽過程における腐植酸画分およびフルボ酸画分の単位有機物重量あたりのフェール性物質含量の経時変化 (O, 稲わら(I); ●, ラジノクロバー; X, アベマキ落葉)

—— 腐植酸画分 (フェール性物質の有機物に対する%)

----- フルボ酸画分 (フェール性物質の有機物に対する%)

有機物量は次のようにして求めた。0.1N-KMnO₄, 1ml = 0.45 mg 炭素とし, 炭素量 × 1.7 を有機物量とした。

フェール性物質は比色定量し, フェールに換算した。

(第6-3-A図)の変化は植物遺体の間で著しく異なっていた。この時期、腐植酸画分中のフェノール性物質以外の有機物の消長が、植物遺体間で大きく異なっていたことを示している。またこれらの植物遺体の腐朽が比較的進んだ中期および後期においては、ラジ、クロバーおよびアベマキ落葉では腐植酸画分中のフェノール性物質含量(第6-3-A図)は概ねそれほど大きな変動を示さず、腐植酸画分中でフェノール性物質と他の有機物が比較的類似した消長をとることを示した。

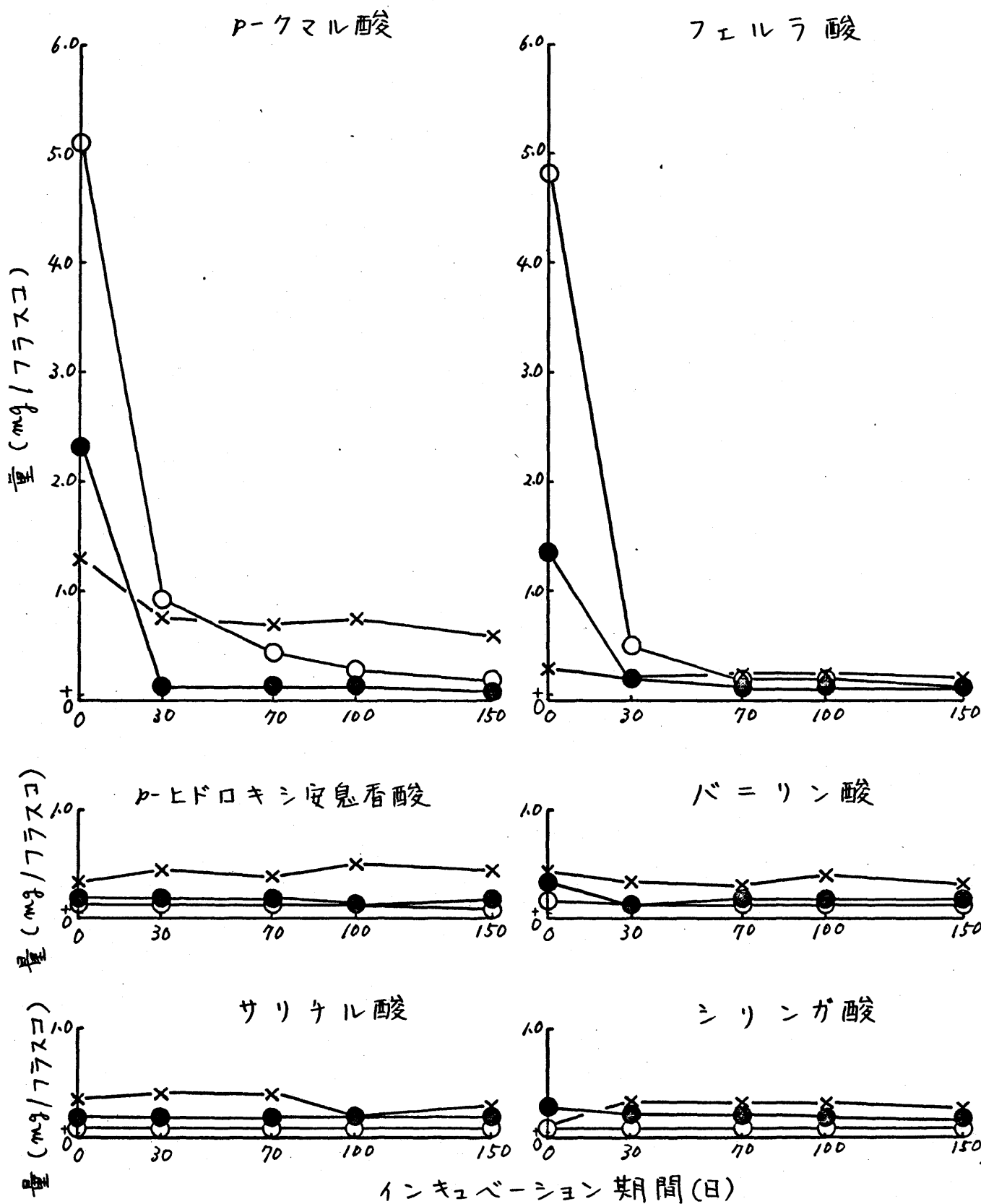
一方、フルボ酸画分中のフェノール性物質含量(第6-3-B図)は植物によつて差はあるが、腐朽期間中大きな変動を示さなかった。

これらのフェノール性物質は石炭酸を基準にして比色定量しているもので、その含量の絶対値は正確なものとはいえないが、植物遺体の分解がかなり進んだ場合でも、フェノール性物質含量が両画分中でそれぞれ10%内外の値を示したことは、フェノール性物質がこれ

らの画分の構成成分として、また植物生育阻害物質として無視することができないことを示すものと考えられる。

稲わら、ラジノクロールーおよびアベマキ落葉はいずれも、 ρ -クマル酸、フェルラ酸、バニリン酸、 ρ -ヒドロキシ安息香酸、シリンガ酸およびサリチル酸を含有していた。第6-4図にこれらのフェノール性酸の3種類の植物遺体の腐朽過程における消長を示した。草野・小川²⁷⁾は、上記のフェノール性酸のほとんどのものが陸稲、水稲、大麦および小麦の茎葉および根中に、またWANG⁷⁾らは、さとうきびの葉中に含有されていることを報告した。これらの事実は、これらのフェノール性酸が穀類作物残渣、牧草、樹木の落葉など、各種の植物遺体中に広く分布していることを示唆する。

第6-4図から明らかのように、インキュベーション開始時、稲わらはラジノクロールーおよびアベマキ落葉よりもはるかに多量の ρ -



第6-4図 3種類の植物遺体の腐朽過程におけるフェール性酸の消長(○, 栲わら(E); ●, ラジクローバー; ×, アベマキ落葉)

クマル酸およびフェルラ酸を含有していた。これらのフェロールは、稲わらおよびラジノクローバーの腐朽過程ではその初期に極く少量まで減少した。しかし、アベマキ落葉では最初の含量は少ないが、インキュベーション期間中にあまり減少しなかった。70日目以降のp-クマル酸の量は、アベマキ落葉で最も多かった。p-クマル酸、フェルラ酸以外のフェロール性酸は、いずれの植物遺体においても少量しか含有されておらず、しかもインキュベーションの期間中あまり増減を示さなかった。

第2章において、土壌および稲わら腐朽物の各水懸濁上澄液中で、p-クマル酸、フェルラ酸は、それぞれ可逆的にp-メトキシ桂皮酸、3,4-ジメトキシ桂皮酸を生成するが、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸にそれぞれ変化することを示した。さらにこれらはプロトカテキユ酸を経て、一方では脂肪酸に代謝され、他方では腐植様物質に重合して行くものと推

定した。

第5章で、稲わらリグニンはp-クマル酸などのフェノール性酸を構成成分として多量に含有していること、しかもこれらのフェノールが稲わら腐朽の比較的初期の段階でリグニンから遊離してくることを明らかにした。第6-4図に示したように、稲わら腐朽過程におけるp-クマル酸およびフェルラ酸の減少がラジノクローバーの場合に比べて緩やかなことは、稲わら腐朽過程ではこれらのフェノールがリグニンから比較的多量に分解供給されるが、ラジノクローバーではこのような供給が極めて少ないためと推察される。一方、アベマキ落葉中のp-クマル酸とフェルラ酸の含量は極めて低いが、前述したようにタンニンを主体とするフェノール性物質の含量が極めて高いので、それらが分解してp-クマル酸、フェルラ酸を生成するものと推定した。またp-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、シリンガ酸、サリチル酸などは、植物遺体の腐朽期

間中常に量が少なく、ほぼ一定の値を示すので、これらのフェノールは、大部分、フェノール性酸の微生物代謝の一過程として系の中に存在するものと推定される。

また本研究で、稲わらおよびラジノクローバーの腐朽過程の初期に p-クマル酸およびフェルラ酸が急減したが、これらのフェノールのメチル誘導体は検出されなかった。しかしながら、第2章に述べた水溶液中の分解試験では9日目までの分解しか追跡しておらず、これらのメチル誘導体は p-クマル酸、フェルラ酸がそれぞれ急減した2日目に生成し、5日目から既に減少を始めた。本研究では30日目が腐朽過程における最初の測定であり、この間にメチル誘導体の生成があったか否かについては確認していない。またメチル誘導体の生成が微生物の解毒作用の一つであるとするれば、水溶液中で行なった高濃度の分解試験では多量に生成するが、本研究のような植物腐朽過程におけるフェノール性酸の分解過程

では、おそらく水相中におけるフェノール性酸の濃度が非常に低いために、メチル誘導体が生成しないことも考えられる。このような問題はあつたが、多くの場合、同一物質は同一の代謝経路を経て分解して行くので、植物腐朽過程においてもおそらくこれらのフェノール性酸は、前述した水溶液中における分解経路と同じ経路で分解して行くものと鬼われる。

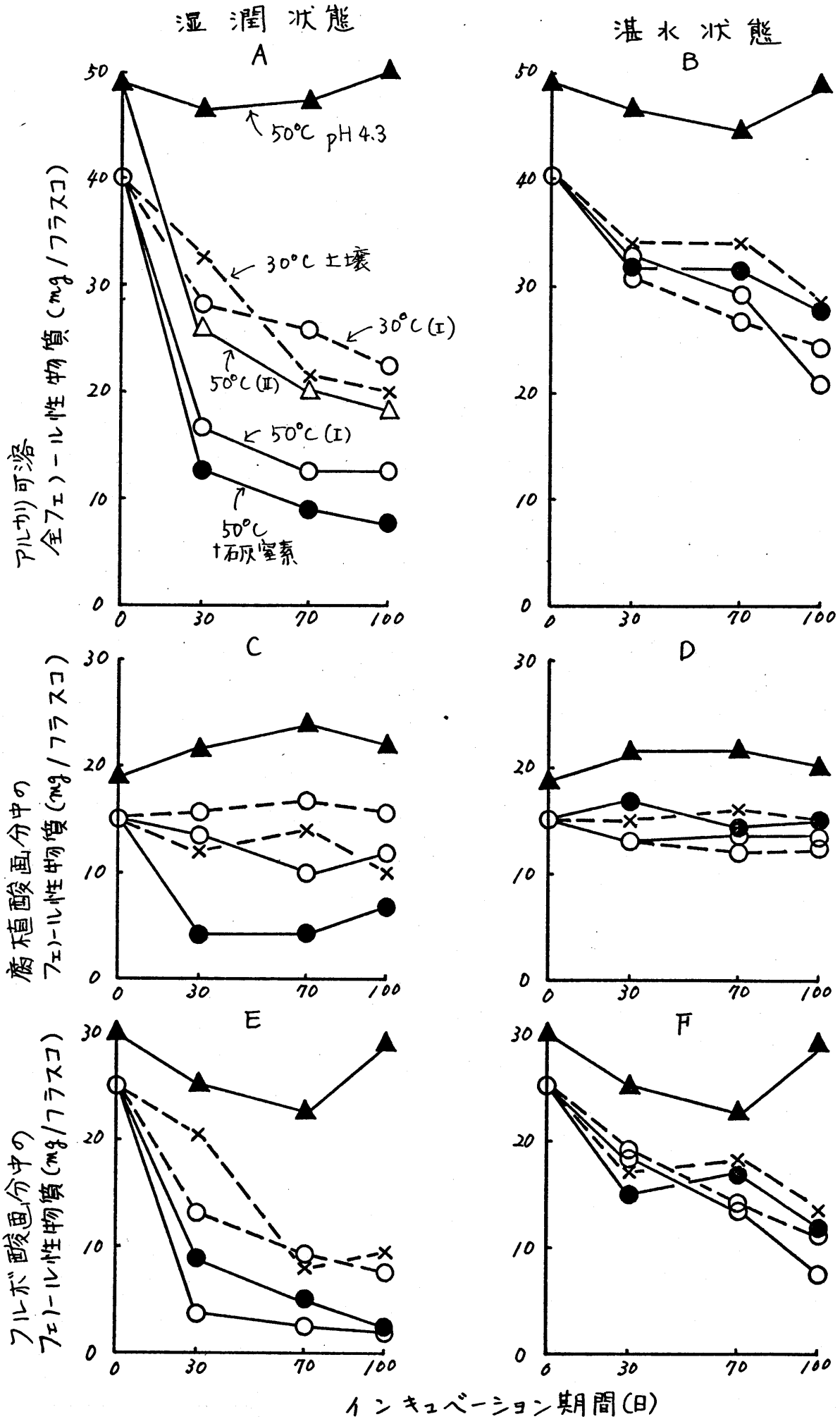
以上得られた結果を総合すれば、植物遺体中に含有されている各画分のフェノール性物質の量と植物遺体の腐朽過程におけるそれらの消長は遺体の種類によりかなり相違しているものといえる。

2. 各種条件下での稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消長

各種条件下で稲わらを腐朽させたときの腐植酸画分およびフルボ酸画分中のフェノール性物質の消長を第6-5図に、pH値の経時変化を第6-6図に示した。

腐植酸画分およびフルボ酸画分中のフェノール性物質の消長は、湿潤状態下でも、また湛水状態下でも、石灰窒素または土壌の添加によって大きい影響を受けなかった。またこれらの消長は、30℃では土壌無添加区および添加区ともに水分条件で大きい差はなかったが、50℃では石灰窒素無添加区および添加区ともに水分条件で大きい差があった。フェノール性物質は湿潤状態下では高温ほど速やかに減少したが、湛水状態下では温度による差は小さかった。希硫酸で系を酸性とした場合には、フェノール性物質は両水分状態下で極く小さな変動しか示さなかった。両画分のフェノール性物質の消長と温度および水分条件の間で見出された関係は、エーテル可溶のフェノール性物質およびフェノール性酸の消長について第1章第2節で述べた関係と一致した。

以上の実験結果は、植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の分解が環境条件に



インキュベーション期間(日)

第6-5図 各種条件下での稲わら腐朽過程におけるアルカリ可溶フェーラル性物質の消長

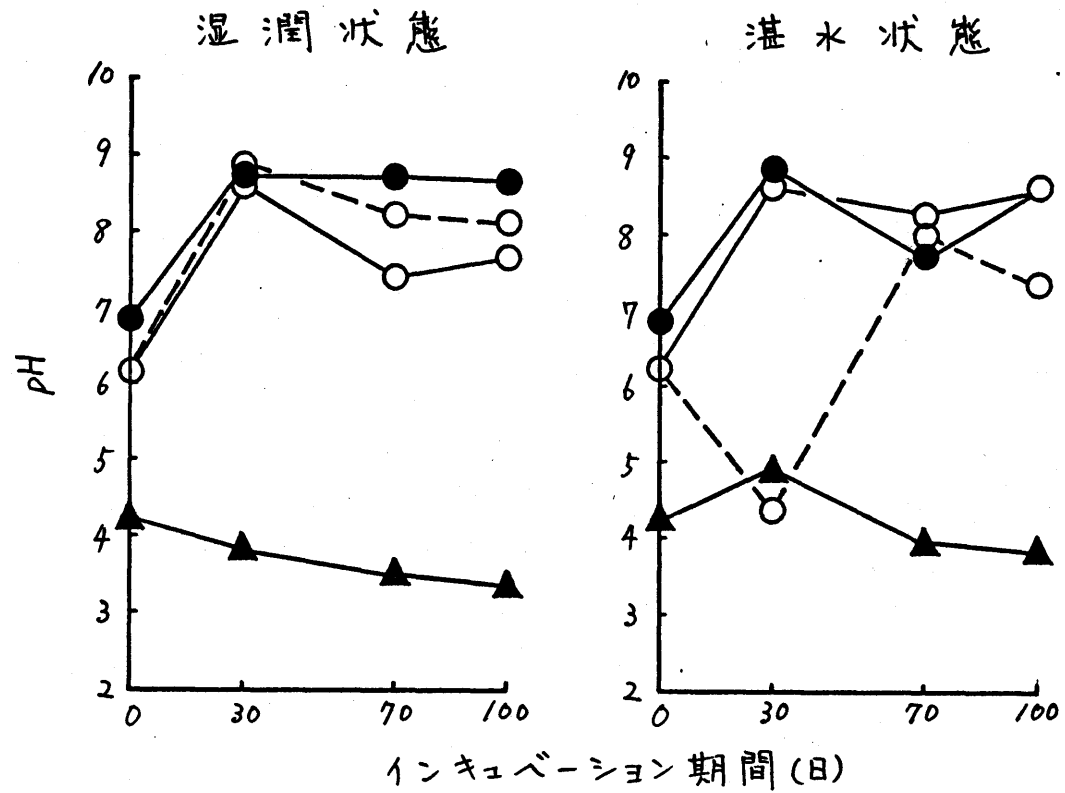
A, B: アルカリ可溶の全フェーラル性物質
 C, D: 腐植酸画分中のフェーラル性物質
 E, F: フルボ酸画分中のフェーラル性物質

	稲わら	温度	石灰窒素	硫酸	土壌
—○—	(I)	50°C	—	—	—
—●—	(I)	50°C	+	—	—
—△—	(II)	50°C	—	—	—
—▲—	(II)	50°C	—	+	—
---○---	(I)	30°C	—	—	—
---x---	(I)	30°C	—	—	+

各々のフラスコはインキュベーション開始時には、稲わら (I),
 あるいは (II) の粉碎物 2g を含む。

添加物としては次のものを使用した: 石灰窒素 40mg (フラスコ中, C/N 34.2,
 pH 6.9), 0.045N H_2SO_4 , 5ml (フラスコ中, pH 4.3) または 安城土壌 25g
 (乾土 20g 相当)

フェーラル性物質は比色定量し, フェーラルに換算した。



第6-6回 各種条件下での稲わら腐朽過程におけるpH値の経時変化

—, 50°C -----, 30°C

○, 稲わら(I); ●, 稲わら(I)+石灰窒素; ▲, 稲わら(II)+稀硫酸

よりかなり左右されることを示唆している。
さらに稲わら・石灰窒素促成堆肥製造時のよ
うな湿潤高温状態下ではフェノール性物質の
消失速度は速いこと、湛水状態下では消失速
度に及ぼす温度の影響はあまりないこと、酸
性状態化では分解が抑制されることを示唆す
るものであろう。また炭素率の相違や土壌の
存在はこの消失速度にあまり影響しないこと
も推定される。

第6-1図と6-5図に示したフェノール性物
質の消長を総合すれば、植物遺体の腐朽過程
におけるアルカリ可溶の全フェノール性物質
の消長は、植物遺体の種類のみならず、環境
条件によってもかなり左右されるが、その消
長は主としてフルボ酸画分中のフェノール性
物質の消長を反映するものと推測される。

要約

稲わら、ラジノクローバーおよびアベマキ落葉を湿潤状態下で腐朽させるとともに、稲わらは各種の条件下で腐朽させ、これらの腐朽過程におけるフェノール性物質の消長を150日間にわたって室内実験により比較した。

アルカリ可溶のフェノール性物質を腐植酸画分およびフルボ酸画分と、エーテルおよびブタノール可溶画分ならびにそれらで抽出されない画分に分け、各画分中のフェノール性物質の消長を調べるとともに、個々のフェノール性酸の消長も調べた。

得られた結果は次に示すとおりである。

1) 各画分中のフェノール性物質の量およびそれらの消長は、植物遺体の間でかなり異なっていた。アベマキ落葉中のアルカリ可溶の全フェノール性物質量は、インキュベーション期間中、他の2植物中よりもはるかに多かった。一般に、フルボ酸画分中のフェノール性物質の方が腐植酸画分中のフェノール性物

質よりも大きな変動を示し、ラジノクローバーおよびアベマキ落葉では、全フェノール性物質の消長は主としてフルボ酸画分中の比較的親水性のフェノール性物質の消長に起因し、稲わら腐朽における消長は主としてフルボ酸画分中の比較的親油性のフェノール性物質の消長に起因していた。

2) 稲わらおよびラジノクローバー、特に稲わらはかなり多量のp-クマル酸およびフェルラ酸を含有していたが、これらは腐朽過程の初期に速やかに減少した。アベマキ落葉中のこれらのフェノールは少ない。腐朽に伴ってそれほど減少しなかった。

3) 稲わら腐朽過程における腐植酸およびフルボ酸画分中のフェノール性物質の消長は、温度、水分、pHによって大きい影響を受けたが、炭素率の差、土壌の存在によってそれほど大きい影響は受けなかった。フェノール性物質は湿潤高温状態で速やかに消失したが、酸性状態下では消失速度が抑制された。

第7章 フェノール類の土壤吸着および移行

前章までに、各種条件下での植物腐朽過程におけるフェノール性物質の消長および変化などを容器内でのインキュベーション実験により解析してきた。

フェノール性物質は土壤中において、微生物および化学的反応による分解および重合、土壤粒子への吸着、植物根による吸収、地下水への溶脱など多種多様の挙動をとるが、土壤粒子による吸着は、その挙動を規制する上で重要な役割を果たしている。

フェノール性成分は植物中および土壤中では、低分子フェノールとして存在するほかに高分子物質、あるいは腐植物質の構造単位としても存在する。従って、フェノール性物質の土壤への吸着性を明らかにすることは、土壤中におけるその挙動を説明する上だけでなく、腐植の生成機構、あるいは腐植物質と土

壤中の無機成分との間の相互作用を理解する上でも重要なことと考えられる。

草野・小川²⁷⁾は、 p -クマル酸が土壤カラム中を速やかに移行すること、能勢⁵⁴⁾は、ペンタクロロフェノール (PCP) の土壤吸着が pH 値に大きく影響されることを報告した。またポリフェノールが土壤中の金属イオンの溶脱を促進し、土壤断面の発達に関与することも知られている^{10~12)}。しかし、各種フェノール性物質の土壤吸着についてはまだ不明な点が多い。

本章では、粘土鉱物の種類および有機物含量を異にする15種類の土壤を吸着剤として、化学構造を異にする6種類のフェノール性酸を吸着物質として供試し、フェノール類の土壤吸着とフェノールの化学構造との関係および土壤の諸性質との関係を調べた。

材料および方法

1) フェノール性酸

p-ヒドロキシ安息香酸, バニリン酸, p-クマル酸, フェルラ酸, プロトカテキユ酸およびバムレゾルシン酸 (3,5-ジヒドロキシ安息香酸) を吸着物質として用いた。これらはいずれも市販品を用い, ガスクロマトグラフ的に不純物を含まないことを確認した。前章で示したように, これらのほとんどのものは, 稲わら, ラジノクローバーおよびアベマキ落葉中の主要なフェノール性酸である。

2) 供試土壌

水田または畑の作土層土壌11種類と未耕地心土4種類の計15種類の風乾細土を供試した。土壌の採取地および理化性を第7-1表に示した。どの供試土壌においても水浸出液中にはフェノール性物質は検出されなかった。

3) 吸着実験

(1) バッチ法: 風乾細土 5g とフェノール性酸水溶液 50 ml (0.328 mg/ml, p-クマル酸 2mM に相当, 希 NaOH で pH 7 に調整) を 100 ml 容の共栓つき三角フラスコに入れ, 30 分間激

第7-1表 供試土壤の採取地および理化学性

土壤試料 No.	採取地	主要粘土 鉱物	pH		有機物 含量(%) [*]	遊離鉄 含量(%) ^{**}	粘土 含量(%) ^{***}
			(H ₂ O)	(KCl)			
1	静岡県農業試験会場, 水田作土層	Kl	6.7	5.4	3.56	0.85	28.9
2	同上, 畑作土層	Kl	5.2	3.8	2.00	0.80	26.4
3	愛知県農業総合試験会場, 水田作土層	Kl	6.3	5.0	3.08	1.09	45.2
4	長野県農業試験会場, 水田作土層	Mt	5.6	4.4	3.20	0.89	39.0
5	同上, 畑作土層	Mt	7.4	6.5	2.44	0.94	39.1
6	農林省農事試験会場, 水田作土層	Vt.Cl	5.8	4.8	5.99	1.56	46.0
7	長野県農業試験会場桔梗ヶ原分場, 畑作土層	Ap	5.7	5.1	13.42	1.06	31.8
8	栃木県宇都宮市石那田, 水田作土層	Ap	6.1	5.3	14.69	2.31	20.7
9	同上, 畑作土層	Ap	5.7	4.9	12.50	1.95	16.8
10	栃木県農業試験会場, 水田作土層	Ap	5.6	5.0	18.92	1.07	33.1
11	栃木県宇都宮市石那田, 水田作土層	Ap	6.0	5.2	12.11	1.22	35.2
12	愛知県北設楽郡投戸山, 未耕地心土	Kl	5.2	4.2	0.36		
13	愛知県北設楽郡草地研, 未耕地心土	Kl	5.2	4.2	0.07		
14	愛知県犬山市善師野, 未耕地心土	Mt	4.4	3.8	0.73		
15	栃木県宇都宮市石那田, 未耕地心土	Ap	5.3	4.4	0.44		

乾土基準。 Kl = カオリン鉱物, Mt = モンモリロナイト, Ap = アロゼン, Vt = バーミキュライト, Cl = クロライト

* WALKLEY-BLACK 法⁵⁵⁾ ** ASAMI-KUMADA 法⁵⁶⁾ *** ロペット法⁵⁷⁾

しく振とうした後、10分間、7000 rpm で遠心分離し、3過した。3液中のフェノール性酸は、第1章第2節に記載した方法に従い、フオリン試薬で比色定量した。添加量から溶液中の量を差し引いた値を土壌吸着量とした。

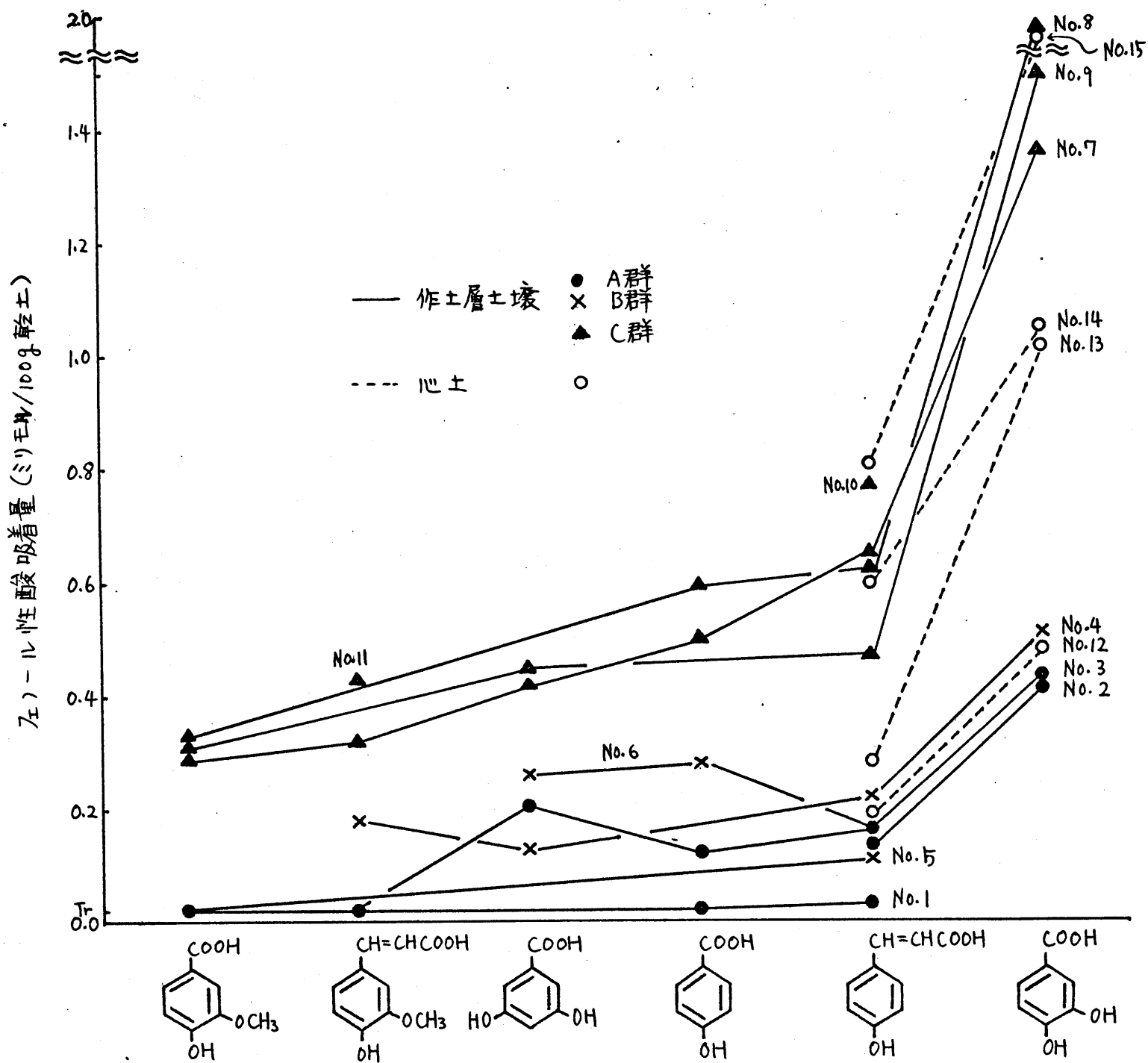
(2) 土壌カラム中の移行：安城土壌と栃木土壌を用い、p-7マル酸とプロトカテキユ酸を供試した。石英砂（希塩酸および水で順次洗浄したもの）をコック付のガラス製カラム（内径1.5cm）の下部1cmの厚さに敷き、その上に10gの土壌と10gの石英砂の混合物を気泡が残らないように水とともに充てんした。次にフェノール性酸水溶液5ml（10mg/5ml、希NaOHでpH7に調整）をカラムに添加し、毎分0.5mlの速さで水で溶出させた。溶出液は各5mlの画分としてフラクシヨンコレクターで回収し、画分中のフェノール性酸を前述した比色法で定量した。

結果および考察

1. フェーニールの吸着と土壌型および化学構造との関係

第7-1表に示した土壌の理化学性から農耕地作土をA群(No. 1~3, カオリン質土壌), B群(No. 4~6, 主にモンモリロナイト質土壌), C群(No. 7~11, 腐植質火山灰土壌)の3群に区分した。土壌の有機物含量および遊離鉄含量は, C > B > Aの順であった。有機物含量の極めて低い心土も, それぞれカオリン質土壌, モンモリロナイト質土壌, 火山灰土壌に区分した。

第7-1図にバッチ法を用いた場合のフェーニール性酸吸着量と土壌型の関係およびフェーニールの化学構造との関係を示した。吸着量は供試土壌間および供試フェーニール性酸間で著しく異なっていた。作土の場合には, C群に属する土壌, すなわち腐植質火山灰土壌が各フェーニール性酸を最も多量に吸着し, カオリン質土壌とモンモリロナイト質土壌とでは吸着量にあまり差はなかった。一方, 心土の吸



第7-1図 バッチ法によるフェニル性酸吸着と土壤型およびフェニルの化学構造との関係

着量は、火山灰土壌 > モンモリロナイト質土壌 > カオリン質土壌の順であった。作土と心土の吸着量を比較すると、カオリン質土壌では両者の間に大きな差はなかったが、モンモリロナイト質土壌および火山灰土壌では、心土の方が作土よりも多量にフェノール性酸を吸着した。

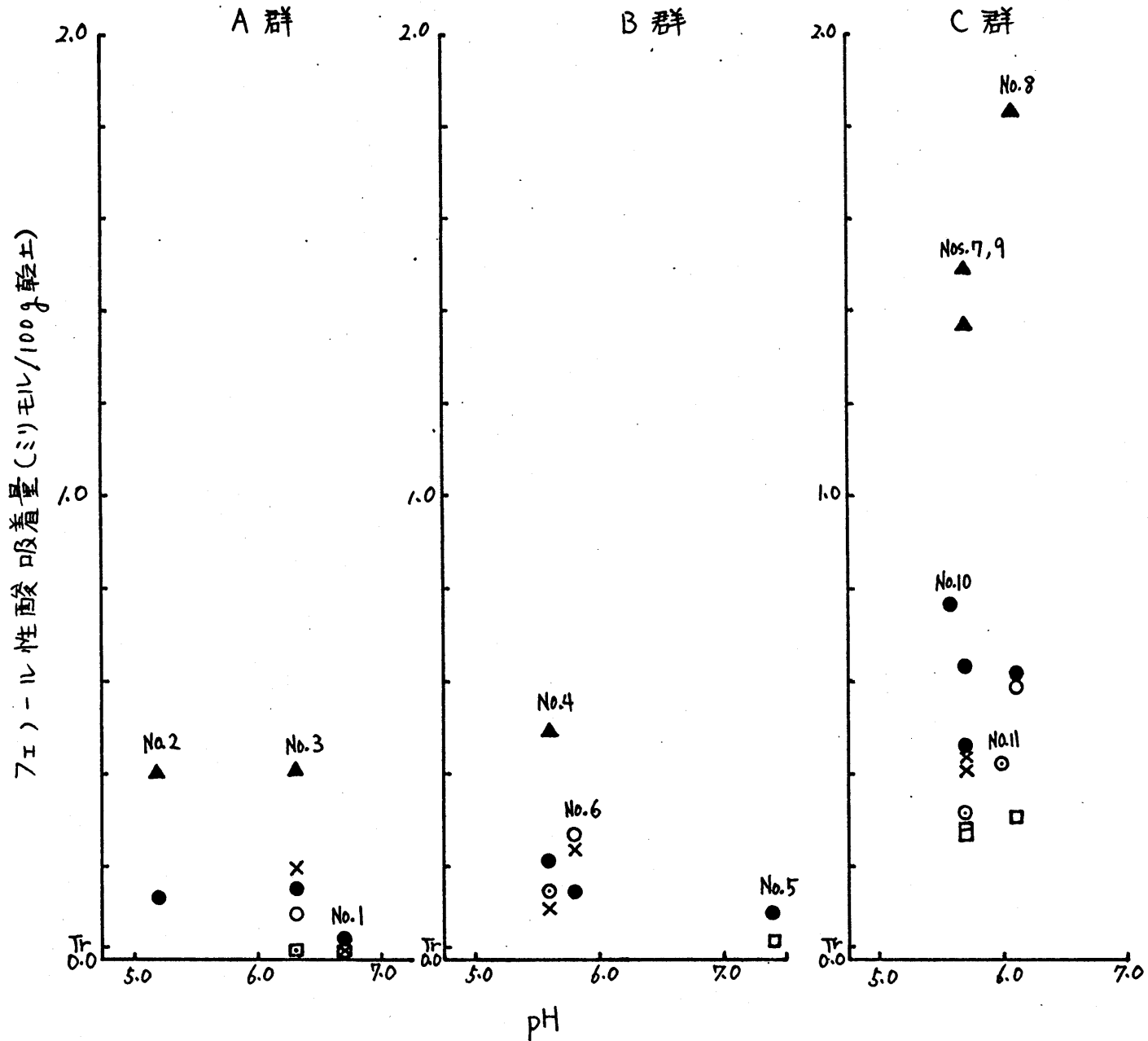
次に各フェノール性酸の吸着量を比較すると、すべての土壌でプロトカテキエ酸が最も多量に吸着された。他のフェノール性酸の間では吸着量に大きな差は見られなかったが、一般に p-クマル酸 > p-ヒドロキシ安息香酸 > o-レゾルシン酸 > フェルラ酸 > バニリン酸の順に減少した。プロトカテキエ酸が o-レゾルシン酸やモノフェノール性酸よりも多量に吸着されたことは、水酸基の数だけでなく、その位置もまた吸着に影響を及ぼすことを示している。カテコールはキレート結合能を有している⁵⁸⁾ので、プロトカテキエ酸のカテコール部分が土壌の無機成分と容易に複合体を形

成し、土壤に多量に吸着されたものと推察される。p-クマール酸がp-ヒドロキシ安息香酸よりも、またフェルラ酸がバニリン酸よりも多量に吸着されたことは、ベンゼン環の側鎖が吸着に正の効果を持つことを示唆する。メトキシル基のあるフェルラ酸およびバニリン酸の吸着量は、それぞれメトキシル基のないp-クマール酸およびp-ヒドロキシ安息香酸よりも少ないので、ベンゼン環の水酸基に隣接したメトキシル基は吸着に負の効果をもたらしることが示唆される。

2. 吸着と土壤の諸性質との関係

作土層土壤のpH値とフェノール性酸の吸着量との関係を第7-2図に示した。フェノール性酸水溶液を添加した土壤のpH値は、添加しない場合とほとんど同じであった。供試土壤のpH値(pH 5-7)の範囲内では、吸着量とpH値の間に殆んど相関関係は見られなかった。

腐植質火山灰土壤のp-クマール酸およびプロト

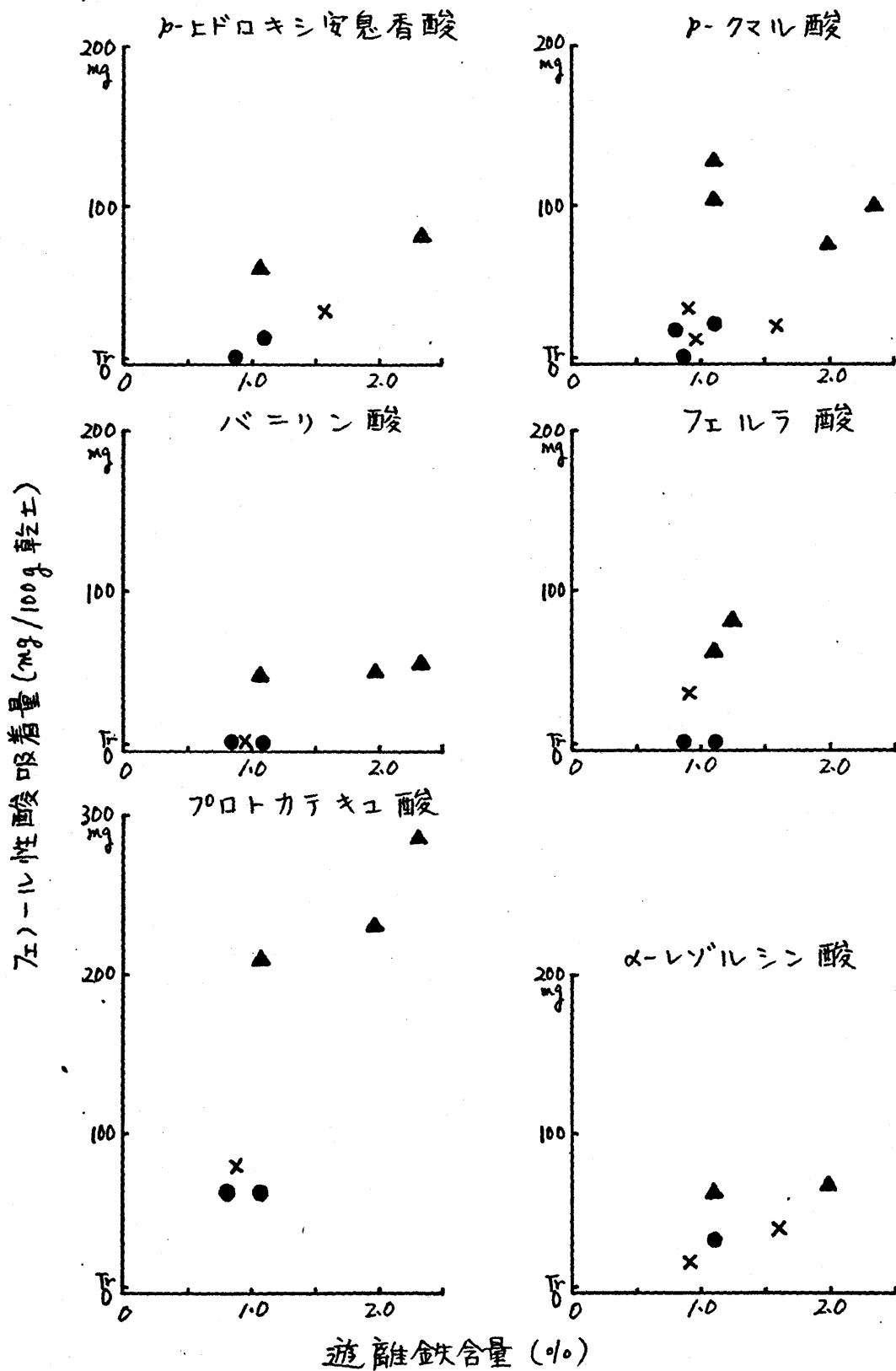


第7-2図 バッチ法によるフェール性酸吸着とpHの関係
 ●, p-クマル酸 ; ○, p-ヒドロキシ安息香酸 ; ◊, フェルラ酸 ; □, バニリン酸 ;
 ▲, プロトカテキサ酸 ; X, α-レゾルシン酸

カタキユ酸の吸着量は、類似のpH値を示す土壌でも著しく異なっていた。またカオリニ質土壌およびモンモリロナイト質土壌では、pH値が著しく異なっても吸着量に大きな差はなかった。これらの結果は、通常の土壌のpH値の範囲内ではpHがフェーラル性酸吸着にあまり影響しないことを示している。

第7-3図に吸着量と作土の遊離鉄含量の関係を示した。プロトカタキユ酸吸着量と遊離鉄含量の間にはかなり高い相関関係 ($r=0.86$) が見られたが、他のフェーラル性酸ではそれほど高い相関は見られなかった。この高い相関関係は、遊離鉄がプロトカタキユ酸のカタコール部分の吸着に寄与したためと思われる。しかし、遊離鉄含量が同じ土壌でも、プロトカタキユ酸吸着量に著しい相違の見られる場合もあり、カタコール誘導体の吸着にはそのほか遊離鉄以外の幾つかの因子が影響を及ぼすものと推察される。

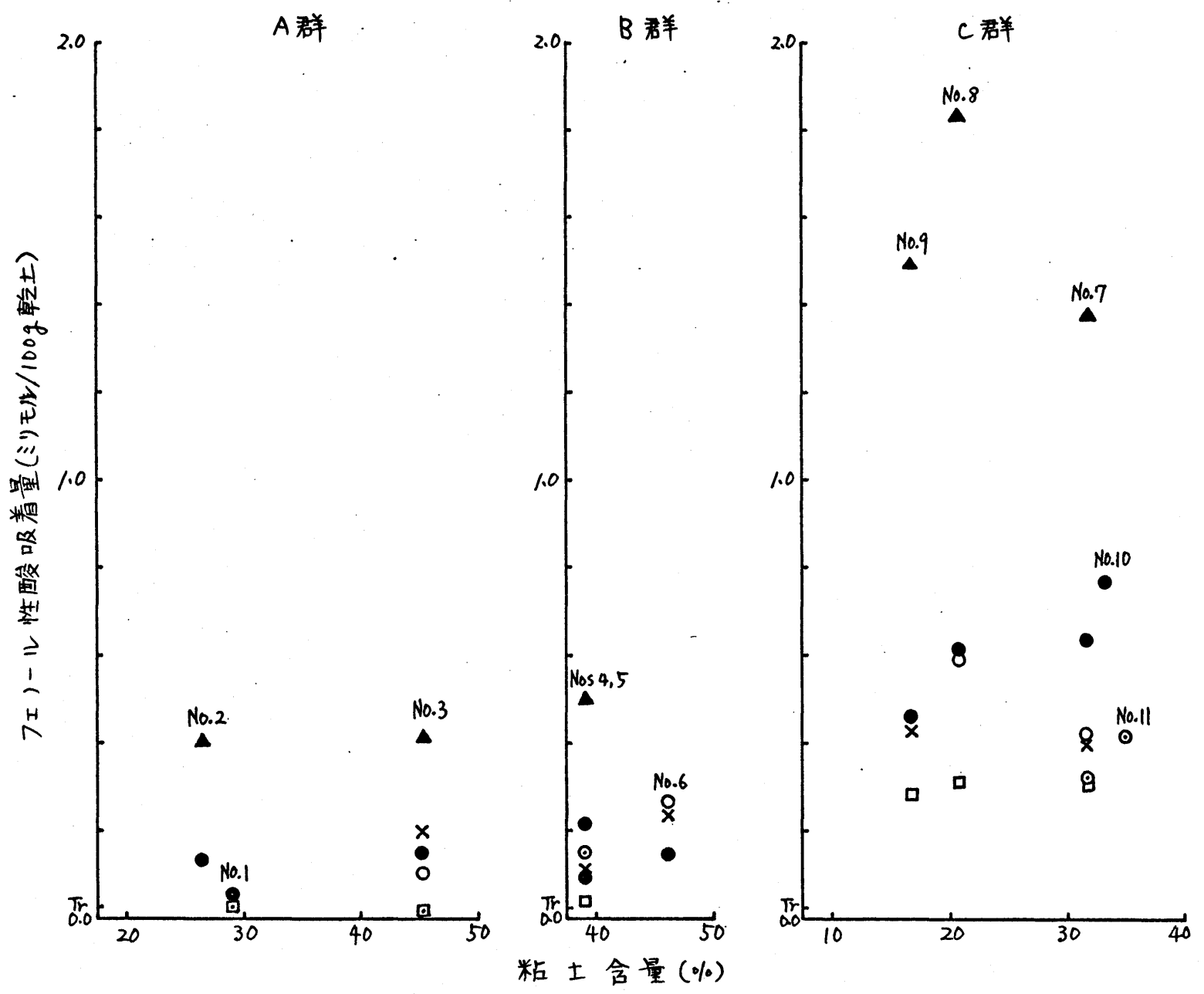
第7-4図に吸着量と作土の粘土含量との関



第7-3図 バツケ法によるフェール性酸吸着と遊離鉄含量の関係

作土層土壌: ●, カオリン質土壌; ×, モンモリロナイト質土壌;
▲, プロセン質土壌

係を示した。供試土壌の粘土含量の範囲(20~50%)内では顕著な相関関係は見られなかった。しかし、腐植質火山灰土壌の方がカオリン質土壌およびモンモリロナイト質土壌よりも吸着量は多かった。また同様な関係は有機物を殆んど含まない心土の場合においても見られた(第7-1図)。これらのことから、粘土鉱物の種類はフェロ-ル性酸の土壌吸着の重要な因子と考えられる。しかし、作土では、各土壌群で吸着と粘土含量との間に密接な関係は見られなかった。また作土では、粘土の吸着座の大部分は集積した有機物によって既に占有されているものと推察される。従って、作土層土壌によるフェロ-ル性酸の吸着に対する粘土の寄与は、それほど大きくはないものと推測される。一方、有機物を殆んど含まない心土では、吸着座の大部分は裸のまま存在するので、粘土鉱物の種類にかかわらず作土よりも多量にフェロ-ル性酸を吸着したものと推論した。



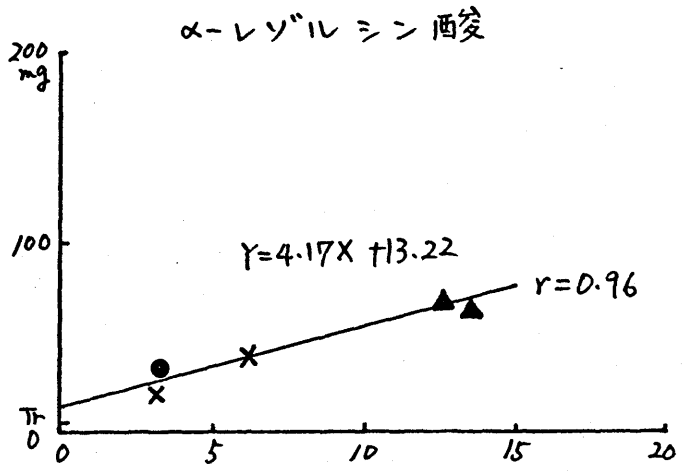
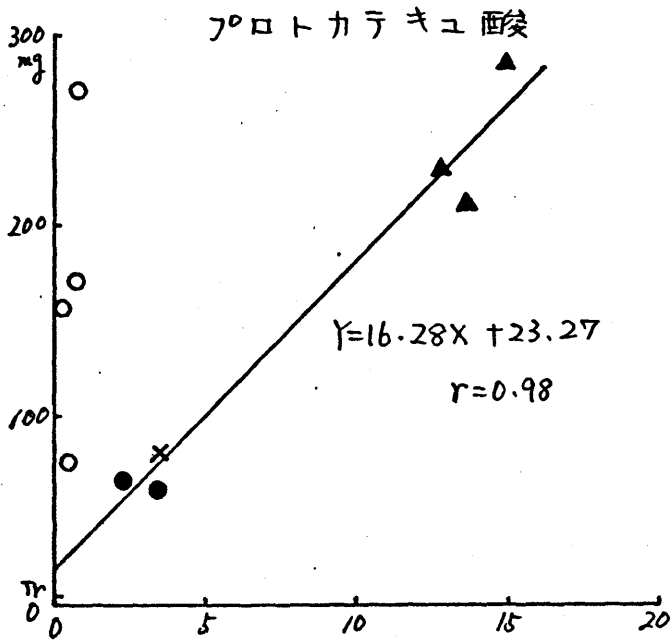
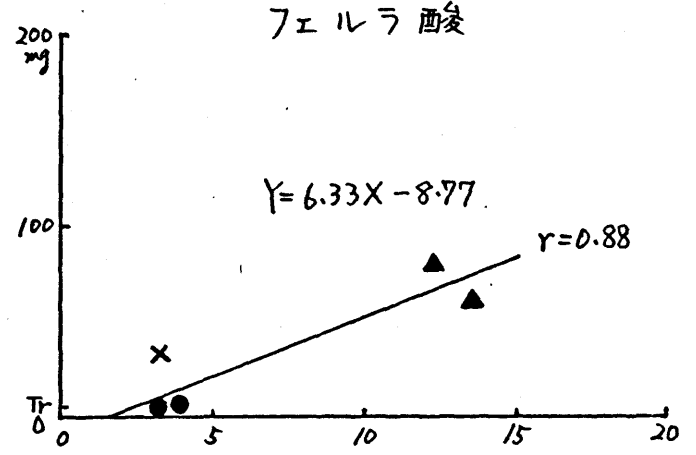
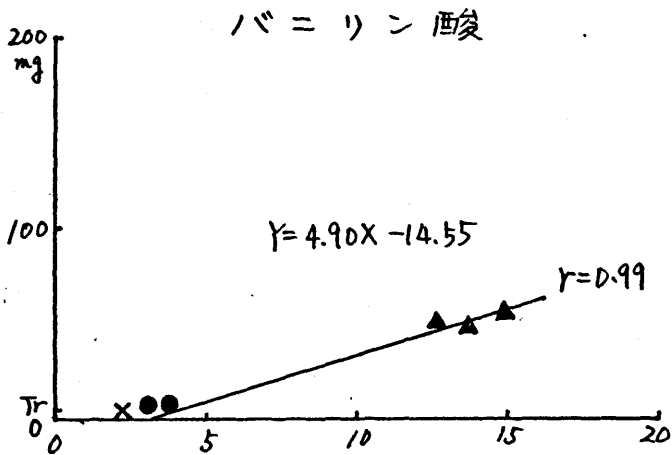
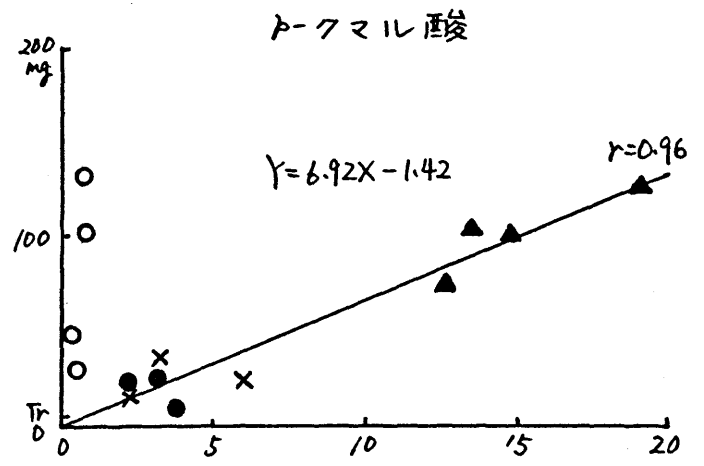
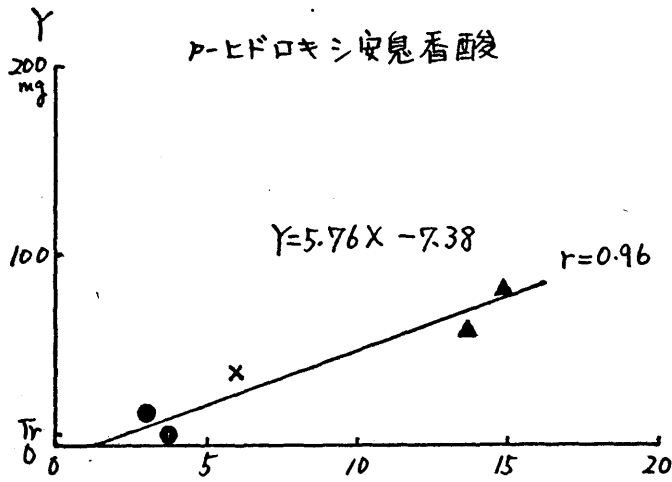
第7-4図 バッチ法によるフェール性酸吸着と粘土含量の関係
 ●, p-クマル酸; ○, p-ヒドロキシ安息香酸; ◦, フェルラ酸; □, バニリン酸;
 ▲, プロトカテキユ酸; X, α-レゾルシン酸

第7-5図に吸着量と有機物含量との関係を示した。この図には相関係数および回帰直線も併記した。作土層土壌では、吸着量と有機物含量との間に顕著な相関関係が見られた。

フェルラ酸の相関係数は0.88, その他のフェノール性酸はいずれも0.96以上であった。ペニタクロロフェノールでも土壌吸着と有機物含量との間に密接な関係があることが示されている⁵⁴⁾。これらのことは、作土層土壌によるフェノール性成分の吸着に対して有機物が重要な役割を果たしていることを示している。

3. 土壌カラムにおけるフェノール性酸の移行

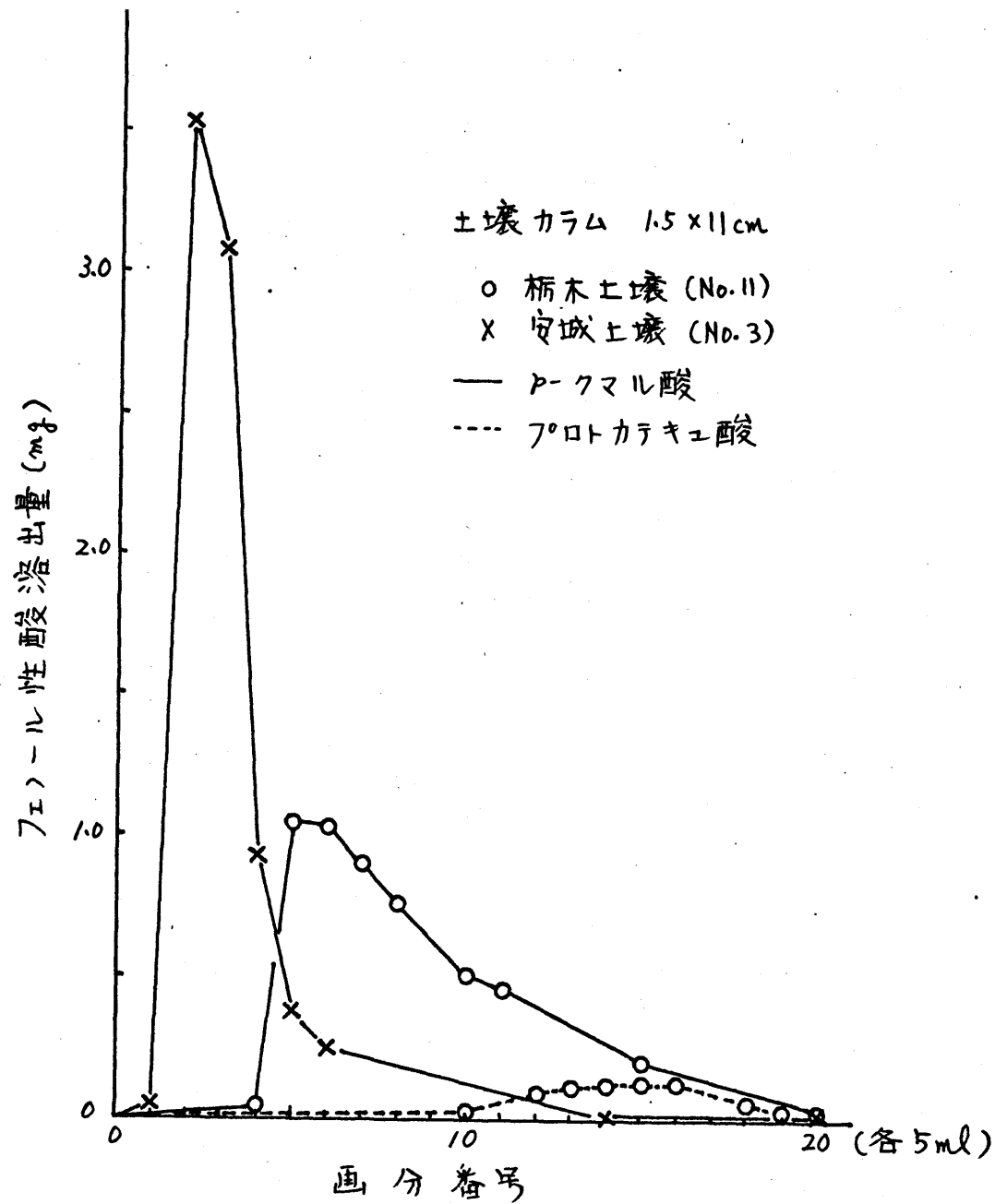
第7-6図に示したように、 μ -クマル酸はカオリン質の安城土壌を充てんしたカラムからは初期段階で溶出し、その溶出パターンは鋭いピークを示した。一方、腐植質火山灰土壌の栃木土壌からの溶出は著しく遅れ、また溶出量は少なく、生じたピークは幅広いもので



有機物含量(%)

第7-5図 バッチ法によるフェ-ル性酸吸着と有機物含量の関係

r: 相関係数。作土層土壌: ●, カオリン質土壌; X, モンモリロナイト質土壌; ▲, アロフェン質土壌。心土: ○



第7-6回 土壤カラムにおけるフェニール性酸の移行

あった。p-クマル酸の回収率は、安城土壌で約80%、栃木土壌で約60%であった。プロトカタキユ酸を栃木土壌カラムで溶出したとき回収率は10%以下と極めて低かった。カラム法でもバッチ法の場合と同様、鉍質土壌よりも腐植質火山灰土壌に多量のフェノールが吸着され、モノフェノールよりもジフェノールの方が多量に吸着された。草野・小川²⁷⁾もまたp-クマル酸が土壌カラムから水で速やかに溶脱されることを見出している。さらに、p-クマル酸が土壌中で微生物により速やかに分解されたことから、p-クマル酸の植物に対する毒性はこの様な土壌条件下では短期間のうちに消失するであろうと推論した。第2章に示したように、p-クマル酸、フェルラ酸、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸は、安城土壌の水懸濁上澄液中で速やかに分解された。

他方、MATSUDA・SCHNITZER⁵⁹⁾ および松井・熊田⁶⁰⁾ は、腐植質火山灰土壌から分離した腐植酸を $KMnO_4$ で酸化分解、あるいは $Na-Hg$ で

還元分解すると、分解産物中にプロトカテキ
ェ酸などのジヒドロキシフェニール化合物が
検出されたと報告している。従って、腐植酸
中にキレート結合能を有する残基があつて、
これらが土壌無機物に吸着されていることが
考えられる。

以上の事柄を総合すれば、鈳質土壌では、
植物遺体から浸出、あるいはその分解過程
中に生成したフェノール性酸は、大部分、土
壌の表層から速やかに溶脱したり、あるいは
また短期間のうちに分解したりするものと推察
される。一方、火山灰土壌では、これらのフ
ェノール類、なかでもカテコール誘導体が多
量に吸着されて腐植酸形成に関与するものと
考えられる。

要約

水田および畑地の作土層土壌，未耕地心土の計15種類の土壌と6種類のフェノール性酸を用いて，フェノール類の土壌吸着とフェノールの化学構造との関係，および土壌の諸性質との関係を，バッチ法およびカラム法により研究した。さらに土壌中におけるフェノール性物質の行動について考察した。

得られた結果は次に示すとおりである。

1) フェノール性酸の土壌吸着は土壌型により影響された。作土と心土のいずれの場合でも，カオリン質およびモンモリロナイト質土壌よりも火山灰土壌に多量のフェノール性酸が吸着した。

2) 吸着はまたフェノール性酸の化学構造によっても影響された。フロトカテキユ酸が特異的に多量に吸着され，フェノール類，あるいは腐植酸の土壌吸着に対するキレート結合能を有する構造の重要性が指摘された。

3) 鉍質の作土層土壌では，植物遺体または

その腐朽物から土壤中に溶出したフェノール性化合物は、大部分、土壤の表層から水で速やかに溶脱されるが、火山灰土壤では、フェノール性化合物、特にポリフェノール化合物は吸着されやすく、腐植形成に関与するものと推論した。

4) 作土層土壤では、各々のフェノール性酸の土壤吸着と有機物含量の間に高い正の相関が見られた。しかし、有機物を殆んど含まない心土は、すべての土壤型で作土よりも多量にフェノール性酸を吸着した。

5) フェノール性酸の吸着と土壤のpH、粘土含量などとの間にはあまり相関はなかった。土壤の遊離鉄含量と吸着との間には正の相関が見られ、特にプロトカテキェ酸に対しては高い相関が見られた。

第8章 フェロニール類による土壌中の重金 属の溶出

前章でフェロニール類の土壌吸着および移行を調べた。フェロニール類の土壌吸着は、プロトカテキユ酸を除き、それほど大きくなかったが、非火山灰土壌よりも火山灰土壌に多量に吸着された。プロトカテキユ酸はキレート結合部位を有するために、土壌粒子に多量に吸着されるものと推定した。

ところで、フェロニール類は土壌中の金属イオンの溶脱を促進し、土壌断面の発達に関与することが知られている。COULSON¹¹⁾らおよびBLOOMFIELD¹²⁾は、ポリフェロニールが土壌中の鉄と複合体を形成し、鉄イオンの下方への移動を促進することを明らかにした。しかし、金属イオンの移動に関係したフェロニール性物質の化学構造上の特徴について、また土壌中におけるフェロニール性物質と金属との間の相互作用についてはまだ不明な点が多い。

これらの問題を研究することは、土壌中におけるフェノール性物質および重金属の行動を解^明する上で重要な問題であると思われる。

本章では、フェノール類による重金属の溶出とフェノールの化学構造との関係およびフェノール類と金属との相互作用について研究した。またフェノール類の土壌吸着における重金属の役割についても考察した。

材料および方法

1) 試薬

p-ヒドロキシ安息香酸、サリチル酸、プロトカテキユ酸、p-レゾルシン酸およびフタル酸(1,2-ジカルボキシベンゼン)を抽出試薬またはキレート試薬として供した。これらの試薬は市販品を用い、ガスクロマトグラフ的に不純物を含まないことを確認後、実験に用いた。第6章で記したように、p-レゾルシン酸およびフタル酸を除くフェノール類は、植物遺体中の主要なフェノール性酸である。

2) 供試土壌

静岡県農業試験場水田, 長野県農業試験場水田, 栃木県宇都宮市近郊の水田の各作土層から冬期に採取した土壌の風乾細土を供試した。ASAMI・KUMADA⁵⁶⁾の方法で測定した遊離鉄含量は, 静岡, 長野および栃木土壌で乾土あたりそれぞれ0.85, 0.89 および1.22%であった。その他の理化学的性質は前章第7-1表に記載してある。

3) バッチ法による金属イオンの抽出

(a) フェーラル類の土壌吸着と重金属の溶出

プロトカテキユ酸, α-レゾルシン酸およびp-ヒドロキシ安息香酸の栃木土壌への吸着量とこれらのフェーラルによる土壌からの重金属の溶出量を測定した。土壌5gと上記フェーラル性酸の水溶液50ml(10, 20 および40 mg/50 ml, 希NaOHでpH7に調整)を100 ml容の栓つき三角フラスコに入れ, 30分間激しく振とうしたのち, 7000 rpmで10分間遠心分離し

た。上澄液をろ過し、その適量に硝酸および過酸化水素水を加え、湯煎上で加熱して有機物を分解した後、蒸発乾固した。残渣は5 mlの温希塩酸に溶かし、水で25 mlに定容とし、この中の鉄およびアルミニウムを日立208型原子吸光分析機で定量した。

またろ液中のフェーラル性酸を第1章第2節に述べた方法で比色定量し、添加量と水相中に残った量との差を土壌吸着量とした。

(b) キレート結合部位を異にする芳香族酸の重金属溶出

プロトカテキユ酸、サリチル酸、フタル酸の各水溶液を静岡、長野、栃木の各土壌に処理した。土壌1gと芳香族酸水溶液50 ml (5または20 mM, 希NaOHでpH 6に調整) を100 ml容の三角フラスコに入れ、(a)と同じ操作を行ない、溶出した鉄、アルミニウムおよびマンガンを定量した。

(c) pH値が重金属溶出に及ぼす影響

プロトカテキユ酸、サリチル酸およびフタ

ル酸を希NaOHでpH 4, 6, 7, に調整した20 mlの水溶液50 mlと, 長野および栃木土壌各1gをフラスコに入れて振とうし, (a)と同じ操作を行った。

なお上記の実験ではいずれの場合にも, 土壌から水だけで抽出される重金属も定量し, 対照とした。

4) 土壌カラムからの重金属の溶出

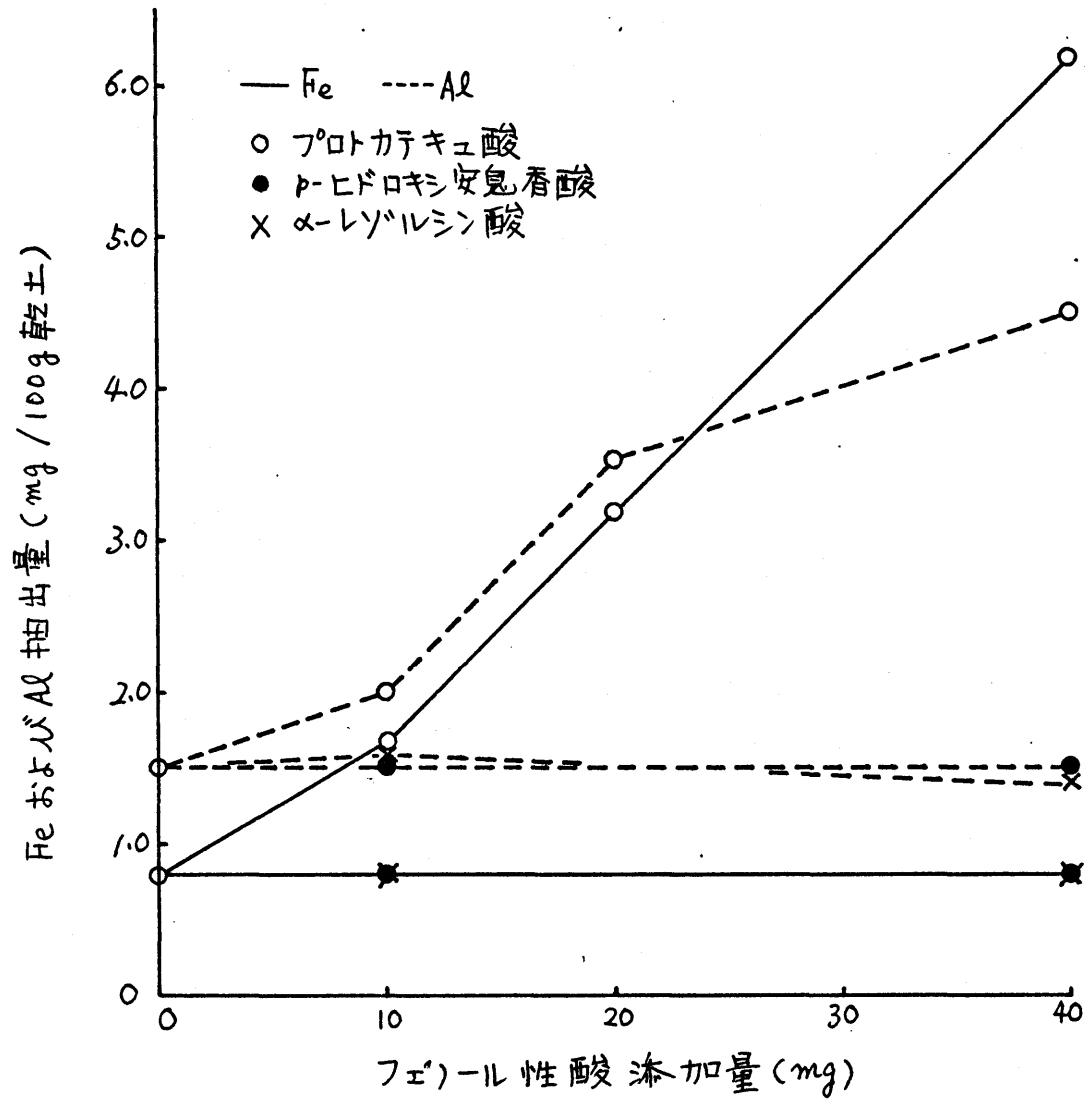
70°Cプロトカテキユ酸と栃木土壌を供試した。希塩酸および水で順次洗浄した石英砂をコック付ガラス製カラム(内径1.5 cm)の下部1 cmの厚さに敷き, その上に10 gの土壌と10 gの石英砂の混合物を気泡が残らないように水とともに充てんした。70°Cプロトカテキユ酸水溶液40 ml (80 mg / 40 ml, 希NaOHでpH 7に調整)を土壌カラムの上部に入れ, 毎分0.5 mlの速度でカラム中を通過させ, 次に水を同じ速度で通過させた。これらはフラクシオンコレクターで各5 mlずつ分取し, この中の重金属を原子吸光法で定量するとともに, 一方では吸光

度を 575 nm で測定した。また別に水だけを土壌カラムに通し、溶出した重金属と溶液の吸光度を測定した。

結果および考察

1. 重金属溶出におけるモリフェノール成分およびジフェノール成分の役割

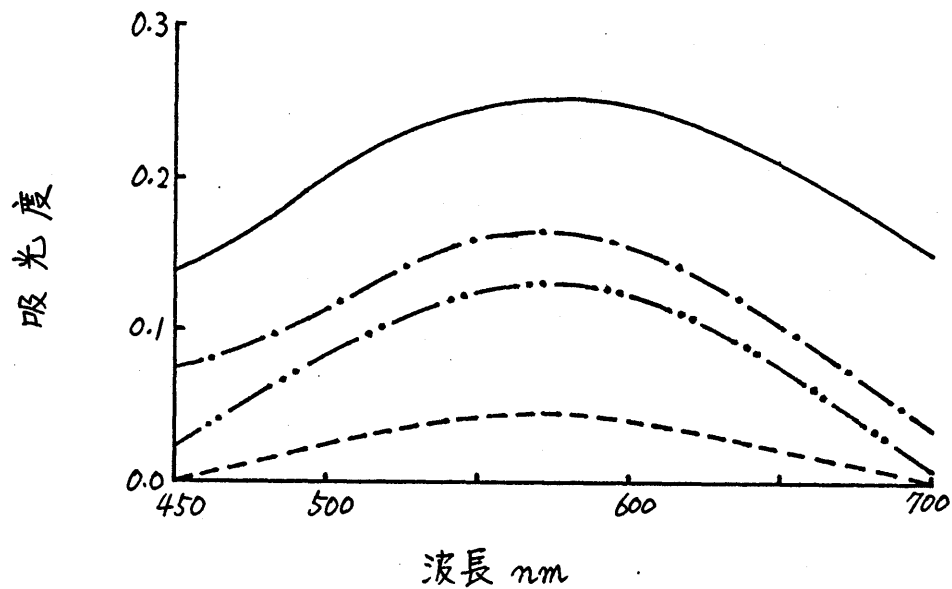
2~3種の濃度のp-ヒドロキシ安息香酸、プロトカテキエ酸およびα-レゾルシン酸水溶液によって土壌から抽出された重金属量を第8-1図に示した。鉄およびアルミニウムの抽出量は、供試フェノールの間で著しく異なっていた。プロトカテキエ酸の場合には、高濃度ほど両金属とも多量に抽出されたが、p-ヒドロキシ安息香酸およびα-レゾルシン酸の場合は、高濃度でも水だけで抽出された量と変わりなかった。これらの結果は、α-ジフェノール成分は、土壌からの鉄およびアルミニウムの溶出に關与するが、モリフェノール成分およびα-ジフェノール以外のジフェノール成



第8-1図 バッチ法を用いた場合の3種類のフェー-ル性酸による栢木土壌からの重金属の抽出

分は、これらの金属の溶出に殆んど関与しないことを示している。

プロトカテキユ酸溶液を土壤に添加したとき、溶液は青紫に呈色したが、他のフェール性酸では色の変化は認められなかった。またこの特異的な色は、プロトカテキユ酸をAl、Mn、Cu、Znイオンの溶液に加えても認められなかったが、プロトカテキユ酸溶液を鉄塩溶液と混合したり、ゲータイトやレピドクロサイトなどの合成鉄化合物⁶¹⁾に加えたときに認められた。土壤、鉄化合物をそれぞれプロトカテキユ酸溶液に懸濁させて得た上澄る液の可視部吸収スペクトル(第8-2図)は、プロトカテキユ酸と FeCl_3 の混合溶液(pH 6)のものとはほとんど一致した。カテコールは鉄と青色のキレート化合物を形成する⁵⁸⁾ことが知られているので、プロトカテキユ酸のカテコール部分が土壤中の鉄と青紫色のキレート化合物を形成し、土壤から鉄を溶出したものと推察される。

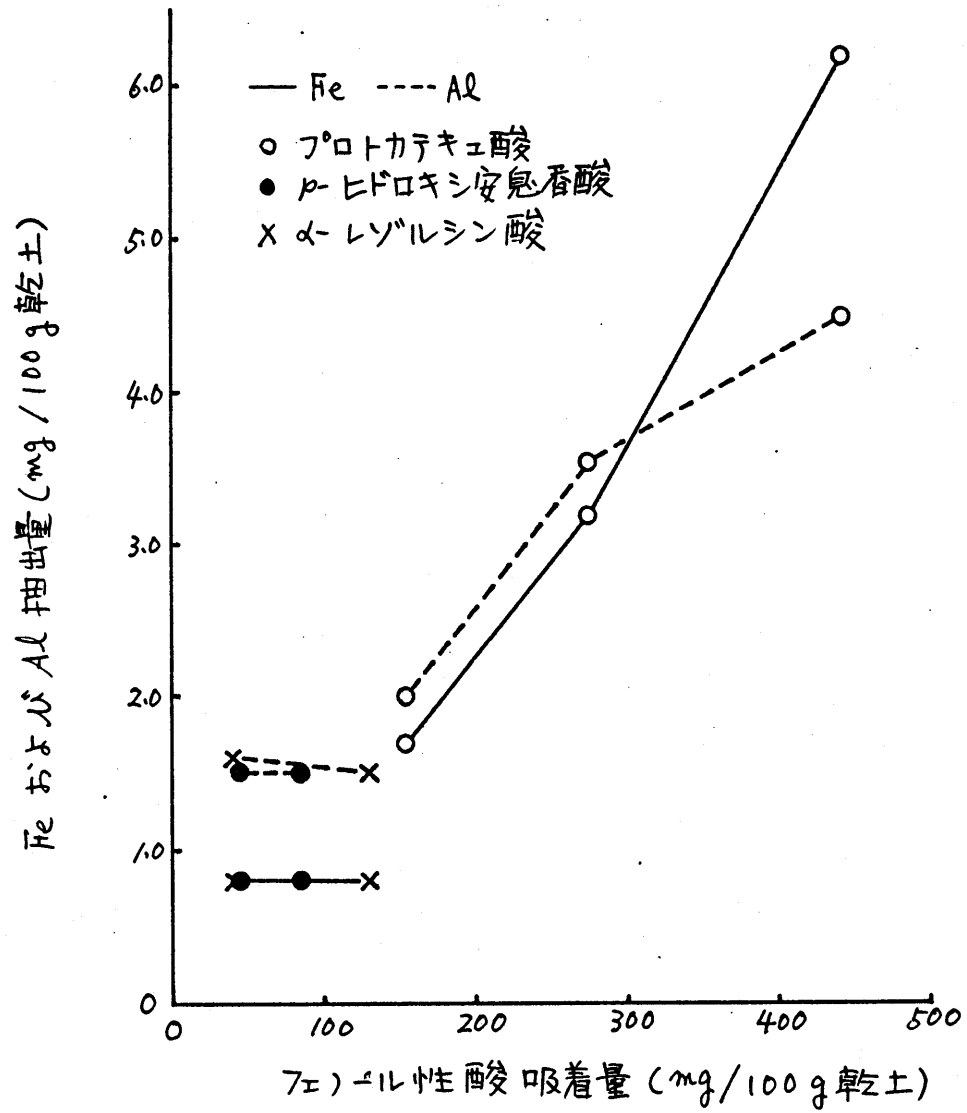


第8-2図 プロトカテキェ酸溶液と土壌, $FeCl_3$.あるいは
鉄化合物の混合物から得た溶液の吸収スペクトル
—, $FeCl_3$; ---, 桐木土壌; - · - ·, ゲータイト; ·····, レピドクロサイト

一方、プロトカテキユ酸水溶液に少量の $AlCl_3$ を加え、pH 6 に調整して得たる液の紫外部吸収スペクトルは、プロトカテキユ酸だけの場合と同様 285, 250 nm 付近に吸収の極大を示すが、それらの吸光度はプロトカテキユ酸だけの場合よりも著しく減少した。従って、プロトカテキユ酸は土壌中のアルミニウムとも複合体を形成し、これを溶出することが推察される。

2. フェノール類の土壌吸着における重金属の役割

前章で明らかにしたように、プロトカテキユ酸の土壌吸着量と作土層土壌の遊離鉄含量の間には顕著な正の相関関係が認められた。また前述したように、プロトカテキユ酸は土壌中の重金属と容易に複合体を形成することが推定された。フェノール類の土壌吸着量と金属溶出量の関係を示した第 8-3 図を見ればプロトカテキユ酸溶液によって抽出された鉄



第8-3図 バッチ法による重金属抽出とフェール性酸吸着の関係

およびアルミニウムの量は、プロトカテキユ酸吸着量に比べてはるかに少ないが、吸着量と金属溶出量はほぼ比例していた。これらのことから、カテコール誘導体は土壌中の鉄およびアルミニウムと複合体を形成し、これらの重金属を溶出するとともに、一方では土壌粒子表面のこれら重金属を通して土壌に吸着されることが推察される。また前章で示したように、プロトカテキユ酸の土壌吸着量は、作土層土壌の有機物含量とも高い正の相関があった。カテコール誘導体の土壌吸着には重金属のみならず土壌有機物もまた重要な役割を果たしているものと推測した。

キレート結合部位を有しないp-ヒドロキシ安息香酸およびα-レゾルシン酸は、第8-3図に示したように、土壌吸着量は極めて少なく、またこれらの溶液による金属抽出量は水抽出の場合と等しかった。さらに前章で示したように、これらのフェノールの土壌吸着量は有機物含量とは高い相関関係が認められたが遊

離鉄含量とは密接に関係していなかった。これらのことから、キレート結合部位を有しないフェノール類の吸着には、有機物を含む表層土壌では重金属よりも有機物の方が重要な役割を果たしているものと推定した。

3. キレート結合部位を有する3種類の芳香族酸による重金属の溶出

土壌からの重金属の溶出とキレート結合部位の化学構造との関係について研究した。

第8-1表^(P.142)には、2種類の濃度の芳香族酸溶液でバッチ法により土壌処理した場合の鉄、アルミニウムおよびマンガンの抽出量を示した。高濃度ほど金属抽出量は多いが、酸の種類により抽出量に顕著な差があった。

すべての供試土壌で鉄抽出量は、フロトカテキユ酸 > サリチル酸 > フタル酸の順に減少した。ゲータイトおよびレピドクロサイトなどの合成鉄化合物⁶¹⁾を20 mMの上記化合物の溶液で処理した場合にも同様な順番で減少した。

ゲータイト 1g から抽出された鉄の量は、プロトカテキユ酸、サリチル酸およびフタル酸でそれぞれ 4.0, 1.4 および 0.8 mg であった。レピドクロサイト 1g からの抽出量は、それぞれ 1.6, 1.6 および 0.8 mg であった。

アルミニウム抽出量はこれら化合物が 5 mM の溶液の場合には、すべての土壌でプロトカテキユ酸 > サリチル酸 > フタル酸の順に減少したが、20 mM の場合は、長野および栃木土壌でその順番がサリチル酸 > プロトカテキユ酸 > フタル酸に変化した。

マンガン抽出量は一般にプロトカテキユ酸 > サリチル酸 > フタル酸の順に減少した。

フタル酸はキレート試薬として知られているが、フタル酸による金属抽出量は水で抽出した場合と殆んど変わらず、金属抽出能は非常に弱いことを示した。

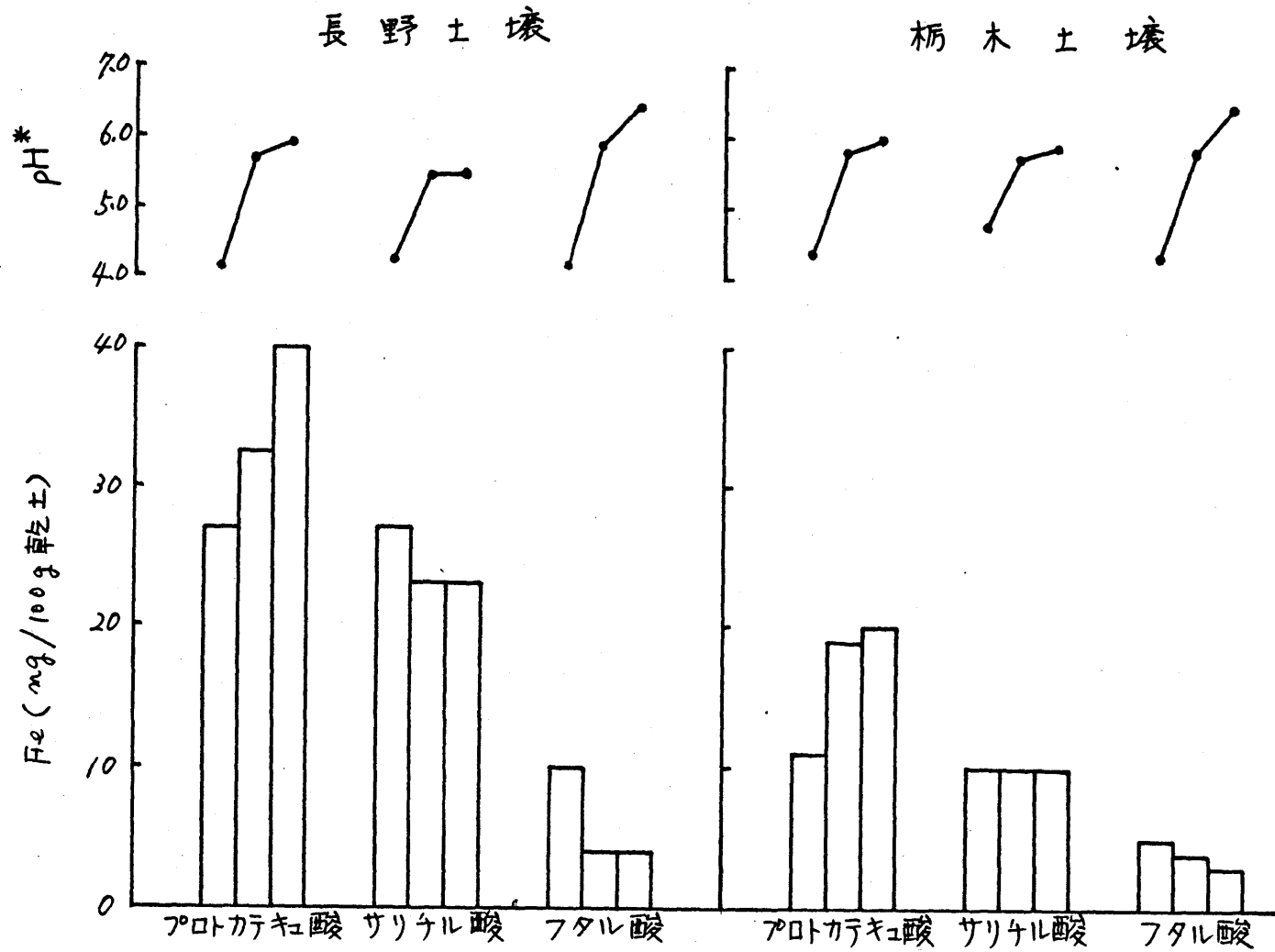
以上の結果は、土壌からの重金属の溶出がキレート結合部位の化学構造によって著しく影響されることを示している。また形成され

た複合体の安定度が溶出に重要な影響を及ぼしているものと推定される。

有機キレート試薬により抽出された各金属量は土壌間でも異なっていた。第8-1表に示したように、鉄抽出量は一般にモンモリロナイト質の長野土壌、カオリン質の静岡土壌、腐植質火山灰土壌の栃木土壌の順に減少した。しかし、この順番は土壌の遊離鉄含量を必ずしも反映しておらず、静岡、長野、栃木の各土壌から抽出された鉄の量は、最も多量に抽出された場合でも、それぞれ遊離鉄の2.6, 3.7, 1.6%に過ぎなかった。また静岡および長野土壌では、鉄の方がアルミニウムおよびマンガンよりも多量に抽出されたが、栃木土壌では、アルミニウムが最も多量に抽出された。マンガン抽出量はすべての土壌で極めて低かった。キレート試薬による各金属の抽出量と土壌間で認められた上述の関係は、0.2規定の温塩酸抽出の場合にも認められたので、キレート試薬による金属抽出量は、土壌中の可

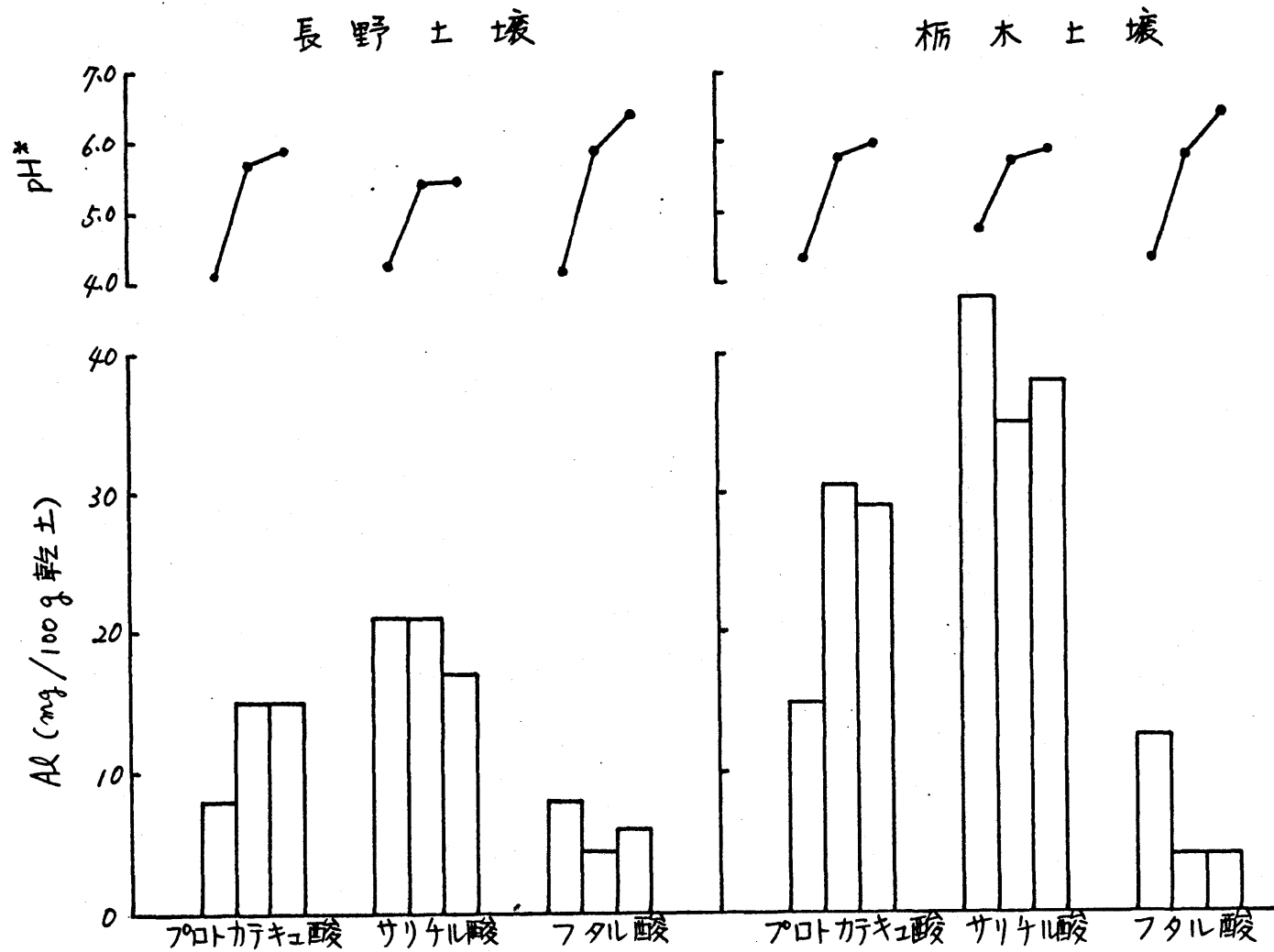
溶化されやすい各金属の含有量に関係があるものと推定される。

第 8-4 図には、土壌の pH とバッチ法による鉄抽出量の関係を、第 8-5 図には、土壌の pH とアルミニウム抽出量の関係を示した。長野および栃木土壌から抽出された鉄の量は、サリチル酸溶液で抽出した場合よりもプロトカテキユ酸で抽出した方が概して多かつたが、アルミニウム抽出量に対しては逆の関係が見られた。フタル酸による両金属の抽出量は前記同様非常に少なかつた。プロトカテキユ酸溶液で抽出された鉄およびアルミニウムの量は、両土壌とも pH が高いほど多くなる傾向を示した。一方、サリチル酸溶液およびフタル酸溶液で抽出された金属の量は、両土壌とも pH が高いほど低くなる傾向を示した。カテコールは pH 5 よりも低い pH 値では鉄(Ⅲ)と 1:1 の複合体を形成し、pH 5 から 11 の範囲では 2:1 の複合体を形成することが知られている(58)。一方、サリチル酸溶液に塩化第 2 鉄を加



* 土壌-芳香族酸懸濁液 (30分間, 振とう後)

第8-4図 バッチ法による鉄抽出と土壌のpHの関係



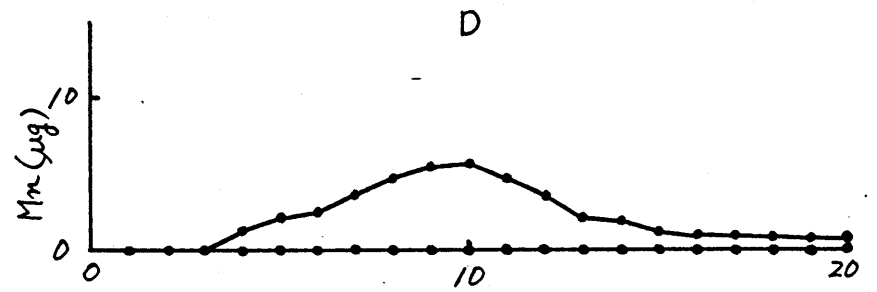
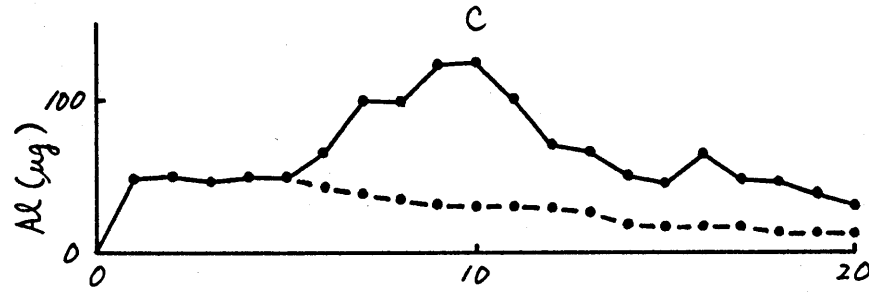
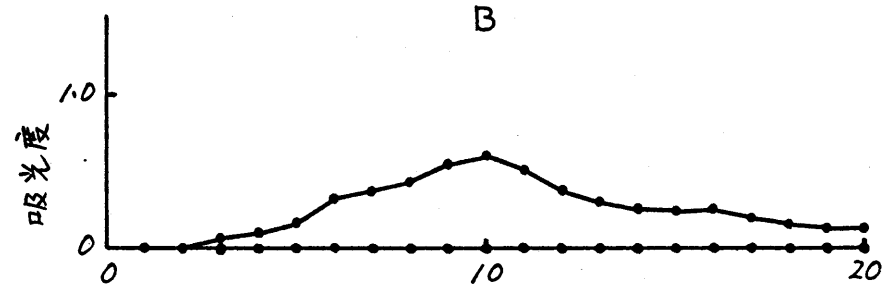
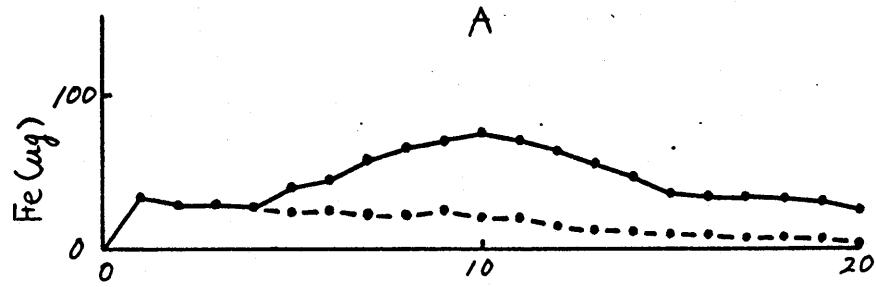
* 土壌-芳香族酸懸濁液 (30分間, 振とう後)

第8-5図 バッチ法によるアルミニウム抽出と土壌のpHの関係

えると、低い pH 値では赤紫に呈色するが、pH 値を 6 付近まで上げるとその色は消失した。金属キレート安定度が pH 値によって影響されることは衆知のことであり、土壌の pH がこれらの芳香族キレート化合物と鉄またはアルミニウムとの間の複合体の安定度に影響し、土壌からの重金属の溶出に影響を及ぼすことを示した。

4. 土壌カラムからの重金属の溶脱

第 8-6 図に示したように、プロトカテキユ酸溶液を腐植質火山灰土壌の栃木土壌を入れたカラム中を通したとき、各金属の溶出ピークはかなり幅広かったが、溶出量はバッチ法の場合と同じく、アルミニウム > 鉄 > マンガンの順に少なかった。溶出液の色はカテコール部分と鉄とのキレート化合物の形成を示す青紫色をしており、575 nm における吸光度は鉄溶出量と比例した。前述したように、キレート結合能があるサリチル酸は、これらの金



画分番号

画分番号

第 8-6 回 栃木土壤カラムからの重金属の溶脱

A: 鉄溶出量 B: 溶出液の吸光度(575 nm) C: アルミニウム溶出量 D: マンガン溶出量

●—●, プロトカテキュ酸溶出; ●-●, 水溶出; 土壤カラム 1.5 x 11 cm

属を多量に溶出したが、キレート結合部位がない p-ヒドロキシ安息香酸およびαレゾルシン酸の金属溶出量は、水抽出の場合と同じであった。

これらの結果に基づけば、植物遺体から浸出したり、あるいは新たに土壤中で生成したフェノール性物質のうち、カテコール構造やサリチル酸構造を有するフェノール性物質は、土壤中の鉄、アルミニウムおよびマンガンとキレート化合物を形成し、これらの金属イオンの下方への移動を促進するものといえよう。

第8-1表 バッチ法を用いた場合の3種類の芳香族酸溶液による土壌からの重金属の溶出
(Fe, Al および Mn mg/100g 乾土)

土 壌 金 属	水	0.2N-HCl* (40°C)	フマル酸**		サリチル酸**		フタル酸**		
			5mM	20mM	5mM	20mM	5mM	20mM	
静 岡	Fe	9.0	165.8	13.4	21.8	10.6	11.8	9.5	10.1
	Al	3.2	129.6	5.7	7.8	5.1	5.9	3.8	4.1
	Mn	Tr	17.6	1.1	3.3	Tr	Tr	Tr	Tr
	(合計)	12.2	313.0	20.2	32.9	15.7	17.7	13.3	14.2
長 野	Fe	2.2	381.4	21.3	32.5	8.4	23.0	2.2	3.9
	Al	3.5	162.5	9.7	14.9	6.8	21.1	3.5	4.1
	Mn	<0.6	13.8	<0.6	0.6	<0.6	0.6	<0.6	1.1
	(合計)	5.7	557.7	31.0	48.0	15.2	44.7	5.7	9.1
栃 木	Fe	1.7	74.5	14.6	19.0	2.8	10.1	1.8	3.9
	Al	3.8	1058.7	12.4	30.8	9.5	35.1	3.8	4.1
	Mn	<0.6	7.7	1.1	2.2	<0.6	0.6	<0.6	0.6
	(合計)	5.5	1140.9	28.1	52.0	12.3	45.8	5.6	8.6

* 1回抽出⁶²⁾

** 5および20mM溶液50ml中1gの土壌

要約

フェノール性物質の化学構造と重金属の溶出の関係、およびフェノール性物質と金属の間の相互作用をバッチ法およびカラム法を用いて研究した。p-ヒドロキシ安息香酸、サリチル酸、α-レゾルシン酸、プロトカテキユ酸およびフタル酸による鉄、アルミニウムおよびマンガンの溶出を3種類の土壌を用いて調べた。

結果は次に示すとおりである。

1) 重金属の溶出はフェノール類の化学構造によって大きく影響された。キレート結合部位を有するプロトカテキユ酸、サリチル酸は土壌から比較的少量の重金属を溶出した。しかし、同じくキレート部位があるフタル酸の金属抽出能は極めて低かった。またキレート結合部位のないフェノール類は溶出に殆んど関与しなかった。

2) 多くの場合、プロトカテキユ酸はアルミニウムよりも鉄に対して強い抽出能を示すが

サリチル酸はむしろアルミニウムに対して強い抽出能を示した。

3) 重金属の溶出は土壌のpHによっても影響された。一般に、プロトカテキユ酸溶液による金属抽出量は土壌のpHが高いほど多く、サリチル酸およびフタル酸による抽出量は土壌のpHが低いほど多かった。

4) 得られた結果より、植物遺体から浸出したり、土壌中で新たに生成したプロトカテキユ酸およびサリチル酸などのキレート結合部位を有するフェロ-ル性物質は、土壌粒子から鉄、アルミニウムおよびマンガンなどの重金属を可溶化し、土壌中の移行を助長するものと推測した。

第9章 水田および森林土壌中のフェノール性酸の分布

土壌表面および土壌中における植物腐朽過程には、天然および人工の無数の複雑な要因がお互いに関連しつつ影響を及ぼしている。前章までに、各種条件下での植物腐朽過程におけるフェノール性物質の消長および変化に伴い土壌中におけるその行動などを室内実験により解析してきた。

土壌中に存在しているフェノール性物質には、植物中に存在するフェノールがそのまま溶出したもの、あるいは植物の腐朽とともに分解生成したもの、あるいはまた土壌中で微生物により新たに生成したものなどが含まれるであろう。従って、土壌中のフェノール性物質の種類と量は、その土壌の植生と土壌環境に大きく影響されるものと思われる。一方、フェノール性物質は比較的低濃度で水耕中の植物の生育に影響を与える^(19, 31, 63)ことが知られ

ているので、土壌中のその存在量は正確に把握しておく必要がある。

WHITEHEAD⁶⁴⁾, GUENZI・McCALLA³⁹⁾ は、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、p-クマル酸およびフェルラ酸が各種の土壌中に存在していることを報告した。またWANG³⁸⁾ は、台湾の多くの畑地土壌中のこれらの化合物の含有量について報告した。さらに最近RAO⁶⁵⁾ は、インドの2種類の水田土壌中のフェノール性化合物の濃度を測定した。これらの研究では、フェノール性化合物の同定および定量に対して、薄層クロマトグラフまたはペーパークロマトグラフが用いられた。

本章では、微量の物質まで正確かつ迅速に検出および定量することのできるガスクロマトグラフを用いて、わが国の各種水田および森林土壌中のフェノール性化合物を検索し、これらの土壌中におけるフェノール性化合物の挙動を解析した。

材料および方法

1) 供試土壌

愛知県下の6ヶ所の水田から冬に作土層土壌を採取した。試料の土壌類型を施肥改善事業による土壌分類法^{66.67)}に従って分類し、第9-1表に示した。

森林土壌試料は、わが国の森林土壌を代表する褐色森林土を選び、愛知県および奈良県下の9ヶ所の森林のA層を中心に土壌を秋に採取し、1ヶ所はL~B層の各層から土壌を採取した。植生および土壌型を第9-2表に示した。土壌はそのまままたは風乾して細かく砕き、2mmの篩を通した。これを湿潤試料または風乾試料とする。

pHは湿潤試料に1:2.5の割合で水を加え、ガラス電極で測定した。全炭素含量は風乾試料を供し、硫酸希釈熱法⁶⁸⁾またはC-Nコーダー(柳本製MT-500)で測定した。水田および森林土壌のこれらの値は、それぞれ第9-1表および9-2表に示した。

第9-1表 供試水田土壤

土壤 番号	採取地*	土壤類型	pH(H ₂ O)	炭素含量 (%)**
21-2	一宮市大和町	黒泥土壤 粘土型	4.6	1.50
21-2'***	同上	同上	4.5	1.50
42-2	稲沢市坂田町	グライ土壤 粘土型	4.8	1.48
42-2'***	同上	同上	4.8	1.46
60-1	小牧市北外山	灰褐色土壤 強粘土構造型	5.1	2.53
60-1'***	同上	同上	5.1	2.69
60-3	小牧市入鹿出新田	同上	5.5	4.31
72-1	小牧市小針新田	黒色土壤 粘土腐植型	5.5	4.59
80-2	小牧市間々原新田	黄褐色土壤 強粘土マンガン型	4.9	2.59

* 供試土壤は、愛知県内の水田作土層から採取した。

** クロム酸酸化法⁽⁸⁾により測定した。

*** 稲わらの表面施用が行なわれている。

第9-2表 供試森林土壌

土壌	採取地	土壌型	植生	層位	pH(H ₂ O)	炭素含量(%)*
				L	4.7	55.6
				F	4.6	46.5
東山	愛知県名古屋大学構内	y ^B _B	アカマツ・アベマキ	H-A	4.1	30.5
				A	4.1	5.38
				B	4.6	1.15
瀬戸-1	愛知県東京大学演習林	B _A	アカマツ	A ₁	4.5	1.21
瀬戸-6		B _D	落葉広葉樹	A ₁	5.0	2.75
瀬戸-9		B _B	ヒノキ	A	4.4	1.94
尾鷲-2	奈良県尾鷲実験林	B _D	常緑照葉樹	A ₁	5.2	13.5
尾鷲-4		B _B	常緑照葉樹	H-A	4.1	22.1
尾鷲-6		B _D	スギ	A	5.1	5.29
尾鷲-7		B _B	ヒノキ	H-A	4.1	-
尾鷲-7		B _B	ヒノキ	A	4.3	10.7
闇薊-3	愛知県闇薊国有林	B _D	スギ	A ₁	4.6	19.8
闇薊-4		B _B	ヒノキ	A-B	4.9	-

* C-Nコーダーで分析。 アカマツ = *Pinus densiflora* SIEB. et Zucc. アベマキ = *Quercus variabilis* B.
 ヒノキ = *Chamaecyparis obtusa* S. et Z. スギ = *Cryptomeria japonica* D. Don.

2) フェノール性化合物の同定および定量
水田土壌の作土層と森林土壌のA層および
B層から採取した試料は湿潤試料20g, 森林
土壌のL, FおよびH-A層から採取した試料は
湿潤試料5gを供し, 第1章第2節および第3
章に記載した方法に従って, フェノール性化
合物の同定および定量を行なった。すなわち,
土壌試料からのNaOH抽出物を塩酸々性にして
エーテルで抽出し(第3章), エーテル可溶
のフェノール性化合物をN, O-ビス(トリメチ
ルシリルアセトアミド)でトリメチルシリル
化して, ガスクロマトグラフで分析した(第
1章第2節)。

結果および考察

水田および森林土壌中のフェノール性化合
物として, p-クマル酸, フェルラ酸, バニリ
ン酸, p-ヒドロキシ安息香酸, シリンガ酸,
サリチル酸およびプロトカテキエ酸を標準試
薬とのコクロマトグラフにより同定した。こ

これらの化合物のガスクロマトグラフ相対保持時間は第1章の第1-1図に記載してある。

第9-3表に水田土壌中の個々のフェノール性酸の濃度を示した。これらの濃度は検出限界(0.5 ppm)以下から6.9 ppmまでの範囲に分布し、多くの土壌でp-クマル酸 > フェルラ酸 > バニリン酸 > p-ヒドロキシ安息香酸 > シリンガ酸 > サリチル酸 > プロトカテキユ酸の順に低かった。またこれらのフェノールの全濃度は10.4 から 25.8 ppm の範囲にあった。RAO⁽⁶⁵⁾によれば、インドの2種類の水田土壌中に含まれているフェノール性化合物の全濃度(カタコール換算)は、それぞれ約20 ppm および50 ppm であった。

上記のフェノール性酸の多くは、稲わらの Mildwoodrigenin を NaOH で加水分解したとき(第5章)または KOH で熱分解したとき(第4章)に生成してくるフェノール性酸と一致した。またp-クマル酸は、水田土壌中のみならず Mildwoodrigenin の加水分解産

第9-3表 水田土壌中の個々のフェノール性酸の濃度

土壌番号	ppm/乾土(%)*							含量
	サリチル酸	p-エドロキシ安息香酸	バニリン酸	プロトカテキエ酸	シリンガ酸	p-フマル酸	フェルラ酸	
21-2	2.1(9.6)	3.0(13.7)	3.0(13.7)	1.5(6.8)	3.0(13.7)	5.3(24.2)	4.0(18.3)	21.9(100)
21-2'***	<0.5(-)	3.2(16.0)	3.2(16.0)	1.9(9.5)	3.0(15.0)	4.9(24.5)	3.8(19.0)	20.0(100)
42-2	1.6(9.5)	3.0(17.8)	3.0(17.8)	1.6(9.5)	<0.5(-)	4.8(28.4)	2.9(17.2)	16.9(100)
42-2'***	1.0(9.6)	3.0(28.8)	3.3(31.7)	<0.5(-)	<0.5(-)	3.1(29.8)	<0.5(-)	10.4(100)
60-1	1.6(7.0)	3.4(14.8)	3.7(16.1)	1.8(7.8)	2.3(10.0)	6.0(26.1)	4.2(18.3)	23.0(100)
60-1'***	1.7(6.7)	3.4(13.5)	3.7(14.7)	1.6(6.3)	3.4(13.5)	6.9(27.4)	4.5(17.9)	25.2(100)
60-3	1.7(6.6)	3.6(14.0)	3.5(13.6)	1.8(7.0)	3.5(13.6)	6.7(26.0)	5.0(19.4)	25.8(100)
72-1	1.8(7.2)	3.5(14.1)	3.7(14.9)	1.5(6.0)	3.5(14.1)	6.4(25.7)	4.5(18.1)	24.9(100)
80-2	1.8(7.7)	3.5(15.0)	3.4(14.6)	1.8(7.7)	3.1(13.3)	5.5(23.6)	4.2(18.0)	23.3(100)
平均	1.5(7.0)	3.3(15.5)	3.4(16.0)	1.5(7.0)	2.4(11.3)	5.5(25.8)	3.7(17.4)	21.3(100)

* 括弧内の値は個々のフェノール性酸量のフェノール性酸含量に対するパーセントを示す。

** 稲わらの表面施用が行なわれている。

物中に他のフェノール性酸よりも高濃度で存在した。さらに第1章第2節に記したように、稲わら中にもともと存在する遊離のフェノール性酸は、稲わらの腐朽過程中に速やかに分解された。これらのことから、水田土壌中のフェノール性酸は、主として稲わらのリグニンに由来したものと推定した。また上記7種類のフェノール性酸は、土壌類型を異にする水田からいずれも検出されたので、主要な低分子フェノール化合物として本邦水田土壌中に広く分布しているものと考えられる。

稲わらのミルドウッドリグニンの加水分解産物中では、先述したフェノール性酸のほか、没食子酸、コヒ酸およびシナボン酸が微量に検出される(第5章)が、これら3種類のフェノール性酸は水田土壌中では検出されなかった。稲わら中のこれらのポリフェノールの量は極めて少ない(第1章第2節)し、また他のフェノール性酸よりも速やかに分解消失したためと思われる。稲葉はフラボ

ノイドも少量含有している³¹⁾ ことが知られて
 いるが、フラボノイドの分解産物として考え
 られるレゾルシノールやフロログルシノール
 は、水田土壤中では検出されなかった。これ
 らのポリフェノールもまた速やかに分解消失
 したものと推定される。

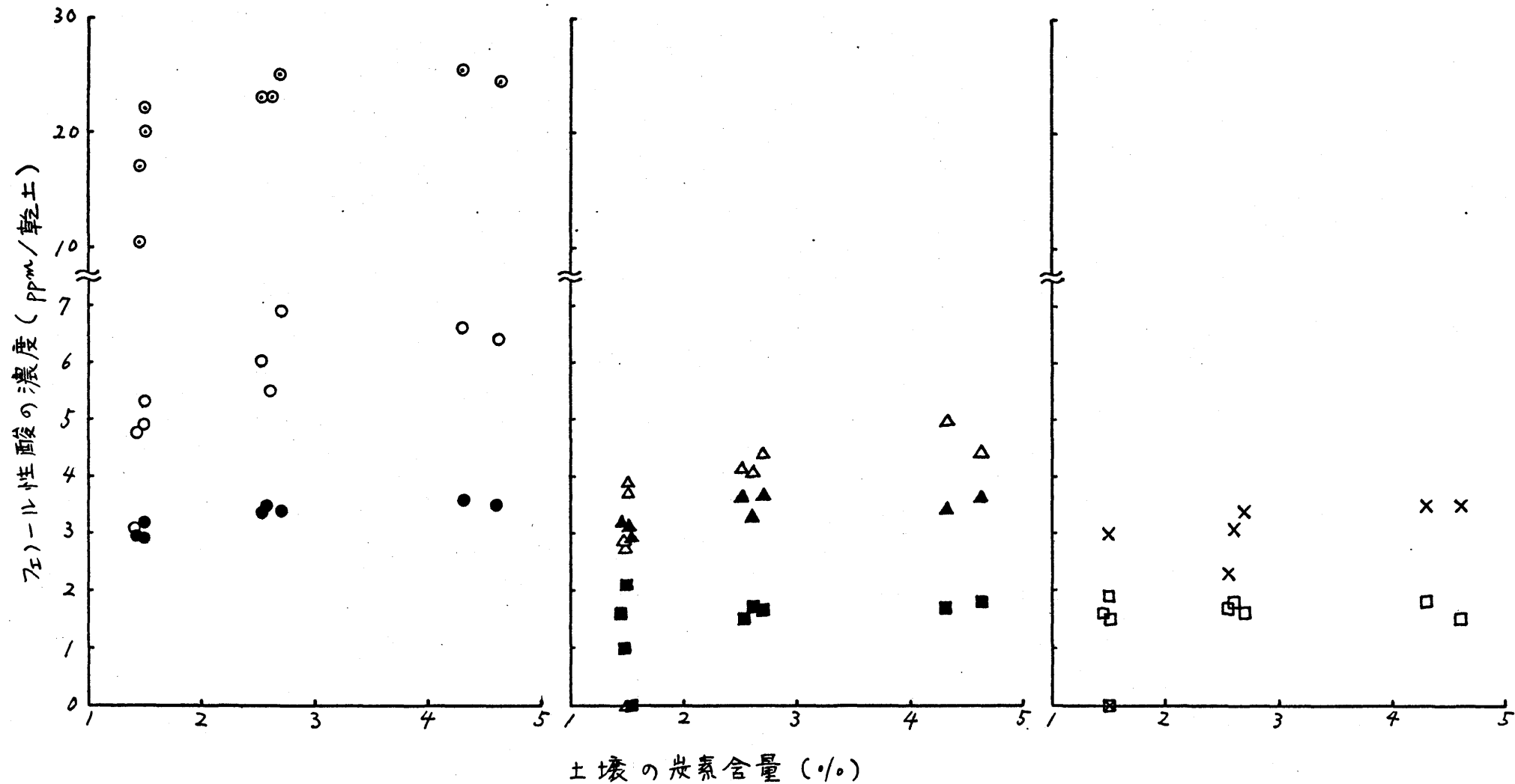
WANG³²⁾ は、台湾の多くの畑地土壤中に含
 まれるp-クマル酸、p-ヒドロキシ安息香酸、
 バニリン酸およびフェルラ酸をペーパークロ
 マトグラフを用いて定量し、これらのフェノ
 ール性酸の濃度が0.2から3.5 ppmの範囲に、
 またフェノール性酸の全濃度が1から5 ppm
 の範囲に分布することを報告した。これらの
 値は、わが国の水田土壤中のものよりは低か
 った。このことは、砂糖きびの葉および根中
 のフェノール性酸の濃度^{7,20)} が、稲わら中の濃
 度(第3章)よりもはるかに低いこと、ある
 いはフェノール性酸が高温で、また湛水より
 も湿潤状態下で速やかに分解される(第1章
 第2節)こと、あるいはまた定量法が相違し

ていることが原因になっているものと推定される。

土壌水懸濁上澄液中(第2章)および土壌中^{27.40)}に添加したフェノール性酸はいずれも速やかに分解されるが、第3章に記したように、稲わらを添加した容器内の土壌には200日間インキュベーションした後でも、かなり多量のフェノール性酸が含まれていた。本研究では、稲わらを表面施用した土壌としながった土壌の間でフェノール性酸の濃度は大差なく、しかもその濃度は非常に低い(第9-3表)ことが認められた。キレート結合部位を有するプロトカテキス酸は土壌に多量に吸着されるが、キレート結合部位を有しないモノフェノール性酸は土壌中から水で容易に溶脱される(第7章)ので、稲わら中にもともと存在しているフェノール性酸、あるいは腐朽過程に生成してくるフェノール性酸は、水田では、水で容易に溶脱されたり、あるいはまた分解されたりするものと推察される。

p-クマル酸, バニリン酸およびp-ヒドロキシ安息香酸は, 100 ppm以上の濃度で水耕中の水稲幼植物の生育を阻害する^{31,63)}ことが知られているが, 前述したように, 供試水田土壌中の個々のフェノール性酸の濃度およびフェノール性酸の全濃度は非常に低かった。それゆえ, わが国における水田土壌中のフェノール性酸の濃度は, 水稲の生育を阻害するほどのものではないと考えられる。

水田土壌中の個々のフェノール性酸の濃度と土壌の炭素含量との関係および土壌のpHとの関係をそれぞれ第9-1図および9-2図に示した。キレート結合部位を有しないp-ヒドロキシ安息香酸, バニリン酸, シリンガ酸, p-クマル酸およびフェルラ酸の濃度は, 一般に炭素含量が高い土壌ほど, またpH値が高い土壌ほど高かった。これらのフェノール性酸の濃度と炭素含量との間の相関がかなり高かったことは, 有機物含量の高い土壌ほどフェノール性酸を多量に吸着する(第7章)ことが



第9-1図 水田土壤中の個々のフェール性酸の濃度と土壤の炭素含量との関係

r: 相関係数 (0.5 ppm 以下の場合には 0 ppm として算出した)

○, 全フェール性酸 ; $r=0.69$

○, p-7マル酸 ; $r=0.73$

●, p-ヒドロキシ安息香酸 ; $r=0.86$

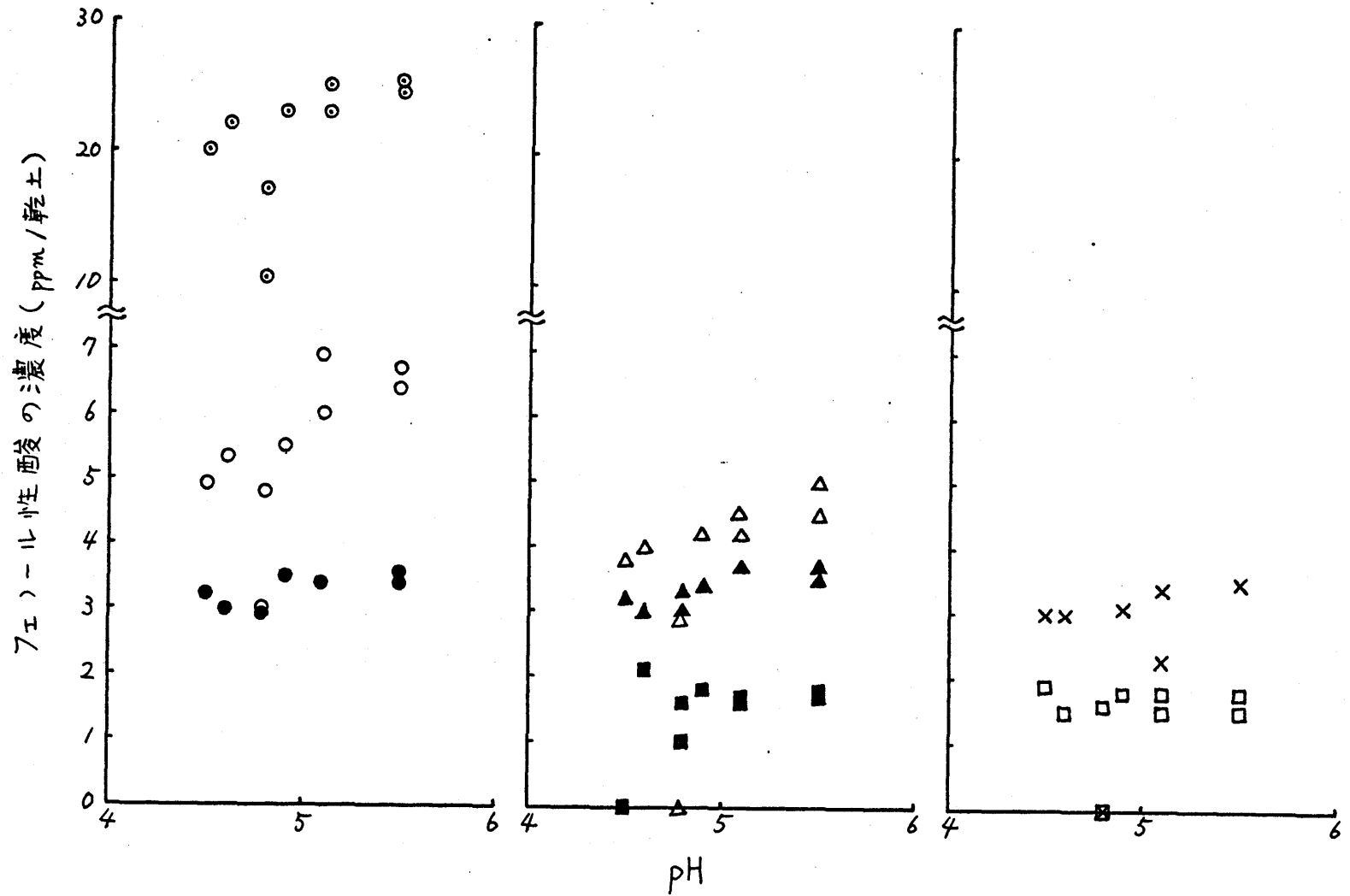
△, フェルラ酸 ; $r=0.59$

▲, バニリン酸 ; $r=0.67$

■, サリチル酸 ; $r=0.39$

x, シリンガ酸 ; $r=0.60$

□, プロトカテキユ酸 ; $r=0.29$



第9-2回 水田土壌中の個々のフェ)ール性酸の濃度と pH との関係

r: 相関係数 (0.5 ppm 以下の場合には 0 ppm として算出した)

○, 全フェ)ール性酸; $r=0.56$

○, p-クマール酸; $r=0.67$

●, p-ヒドロキシ安息香酸; $r=0.78$

△, フェルラ酸; $r=0.44$

▲, バニリン酸; $r=0.76$

■, サリチル酸; $r=0.47$

X, シリング酸; $r=0.38$

□, プロトカテキユ酸; $r=0.15$

原因になつてゐるものと推定される。一方、キレート結合部位を有するフロトカテキユ酸とサリチル酸に対しては、前述したような関係は認められず、また炭素含量との相関は非常に低かつた(第9-1図)。これらのフェノール性酸は土壌中の重金属と容易に複合体を形成する(第8章)ので、粘土鉱物に強く吸着され、有機物含量とは無関係に土壌中に存在したためと推定される。

水田土壌中の個々のフェノール性酸の量とその含量は、土壌有機物量(炭素量に1.72を掛けて求めた)のそれぞれ0.02%以下(平均0.01%) および0.09%以下(平均0.06%)であった。

第9-4表に森林土壌中の個々のフェノール性酸の濃度を示した。土壌型、植生および層位にかかわらず、水田土壌と同じ種類のフェノール性酸がどの土壌にも検出された。個々のフェノール性酸の濃度は188 ppmまで分布し、フェノール性酸の全濃度は34から632 ppm

第9-4表 森林土壌中の個々のフェノール性酸の濃度

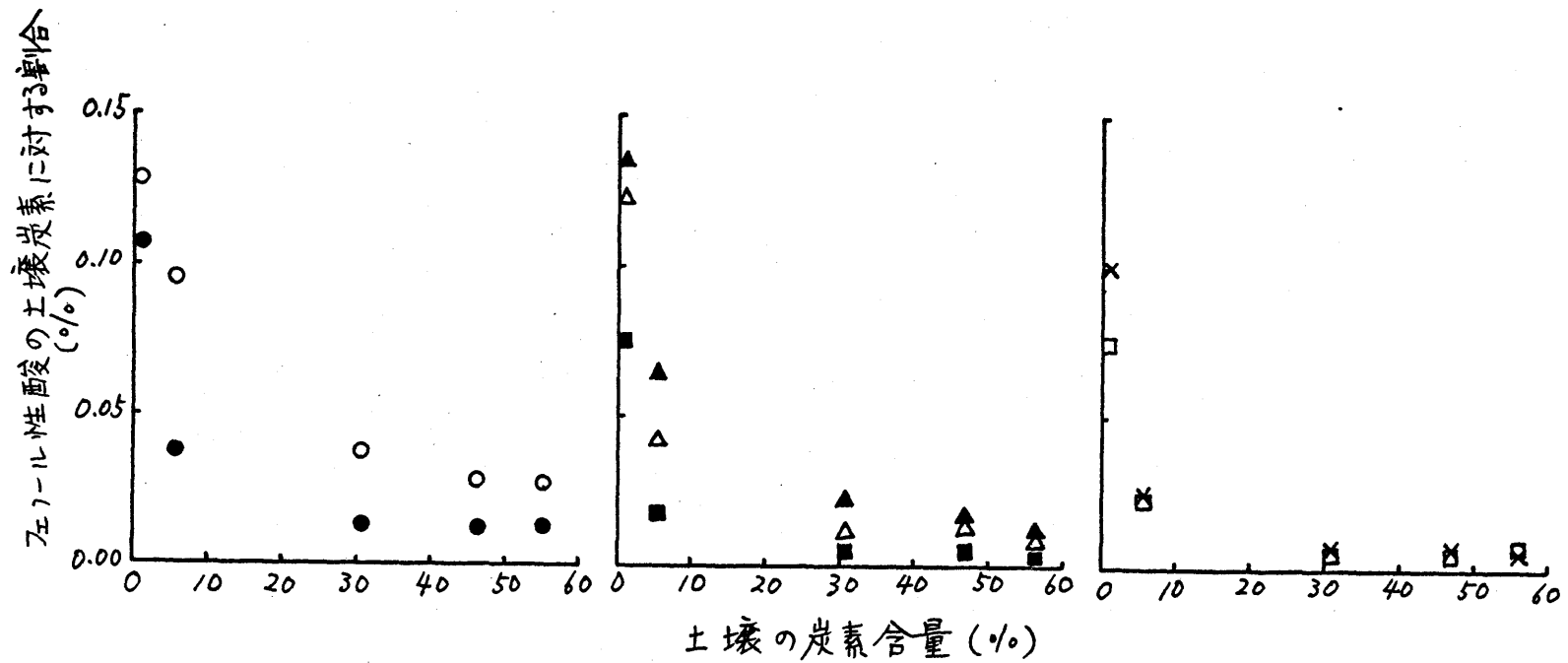
PPM/乾土(%)*

土壌	層位	サリチル酸	p-ヒドロキシ安息香酸	バニリン酸	プロトカテキン酸	シリング酸	p-クマル酸	フェルラ酸	合量
東山	L	20.0(4.4)	62.7(13.7)	78.1(17.1)	45.6(10.0)	35.9(7.9)	160.2(35.1)	53.6(11.8)	456.1(100)
	F	22.7(5.5)	59.4(14.5)	79.3(19.4)	27.0(6.6)	28.6(7.0)	136.6(33.3)	56.1(13.7)	409.7(100)
	H-A	16.7(5.2)	44.0(13.6)	64.7(20.1)	23.3(7.2)	23.3(7.2)	110.9(34.4)	39.6(12.3)	322.5(100)
	A	9.9(0.6)	20.0(12.1)	34.8(21.0)	13.8(8.3)	14.0(8.4)	51.2(30.9)	22.1(13.3)	165.8(100)
	B	8.7(10.3)	12.2(14.4)	15.4(18.2)	8.5(10.0)	11.5(13.6)	14.7(17.3)	13.8(16.3)	84.8(100)
瀬戸-1	A ₁	6.0(17.6)	3.6(10.6)	2.6(7.6)	1.0(2.9)	1.4(4.1)	12.3(36.1)	7.2(21.1)	34.1(100)
瀬戸-6	A ₁	7.3(14.2)	12.7(24.7)	1.4(2.7)	<0.5(-)	1.6(3.1)	19.2(37.4)	9.2(17.9)	51.4(100)
瀬戸-9	A	7.4(20.1)	4.7(12.7)	3.0(8.1)	0.5(1.4)	1.4(3.8)	12.0(32.5)	7.9(21.4)	36.9(100)
尾鷲-2	A ₁	15.7(13.5)	32.6(28.1)	2.3(2.0)	<0.5(-)	3.8(3.3)	43.6(37.6)	18.1(15.6)	116.1(100)
尾鷲-4	H-A	62.7(18.9)	86.9(26.2)	12.8(3.9)	<0.5(-)	12.5(3.8)	98.7(29.8)	57.7(17.4)	331.3(100)
尾鷲-6	A	7.8(16.6)	4.0(8.5)	1.3(2.8)	<0.5(-)	2.9(6.2)	20.4(43.4)	10.6(22.6)	47.0(100)
尾鷲-7	H-A	93.9(14.9)	161.4(25.5)	45.3(7.2)	8.1(1.3)	25.0(4.0)	187.8(29.7)	110.6(17.5)	632.1(100)
尾鷲-7	A	17.9(17.1)	13.7(13.1)	27.6(26.4)	1.8(1.7)	3.9(3.7)	27.1(25.9)	12.7(12.1)	104.7(100)
閤河-3	A ₁	56.7(18.5)	23.2(7.6)	30.5(9.9)	4.4(1.4)	11.5(3.7)	127.8(41.6)	52.9(17.2)	307.0(100)
閤河-4	A-B	12.0(21.9)	5.1(9.3)	8.5(15.5)	1.3(2.4)	2.7(4.9)	15.5(28.3)	9.7(17.7)	54.8(100)
平均		24.4(11.6)	36.4(17.3)	27.2(12.9)	9.0(4.3)	12.0(5.7)	69.2(32.9)	32.1(15.3)	210.3(100)

*括弧内の値は個々のフェノール性酸量のフェノール性酸合量に対するパーセントを示す。

の範囲にあった。一般に森林土壌においても、水田土壌の場合と同様、*p*-フマル酸が最も多量に検出された。その量は、水田土壌ではフェーラル性酸合量の20%以上(第9-3表)にあたり、森林土壌では多くの場合25%以上(第9-4表)であった。水田土壌ではフェルラ酸も高濃度で検出されたが、森林土壌では多くの試料で、フェルラ酸のほか*p*-ヒドロキシ安息香酸、サリチル酸、バニリン酸も高濃度で検出された。東山土壌断面における個々のフェーラル性酸の濃度(第9-4表)は、下層に行くに従って低下したが、個々のフェーラル性酸量の土壌の全炭素量に対する割合(第9-3図)は、下層ほど高かった。このことは、有機物の中ではフェーラル性酸が比較的容易に下層に移行することを示唆している。

森林土壌中の個々のフェーラル性酸の量とその合量は、土壌有機物量のそれぞれ0.08%以下(平均0.02%)および0.43%以下(平均0.12%)であった。個々のフェーラル性酸は、



第9-3図 東山土壌断面における個々のフェール性酸量の土壌の炭素量に対する割合と土壌の炭素含量との関係

- , p-クマル酸
- , p-ヒドロキシ安息香酸
- △, フェルラ酸
- ▲, バニリン酸
- , サリチル酸
- ×, シリंगा酸
- , プロトカテキユ酸

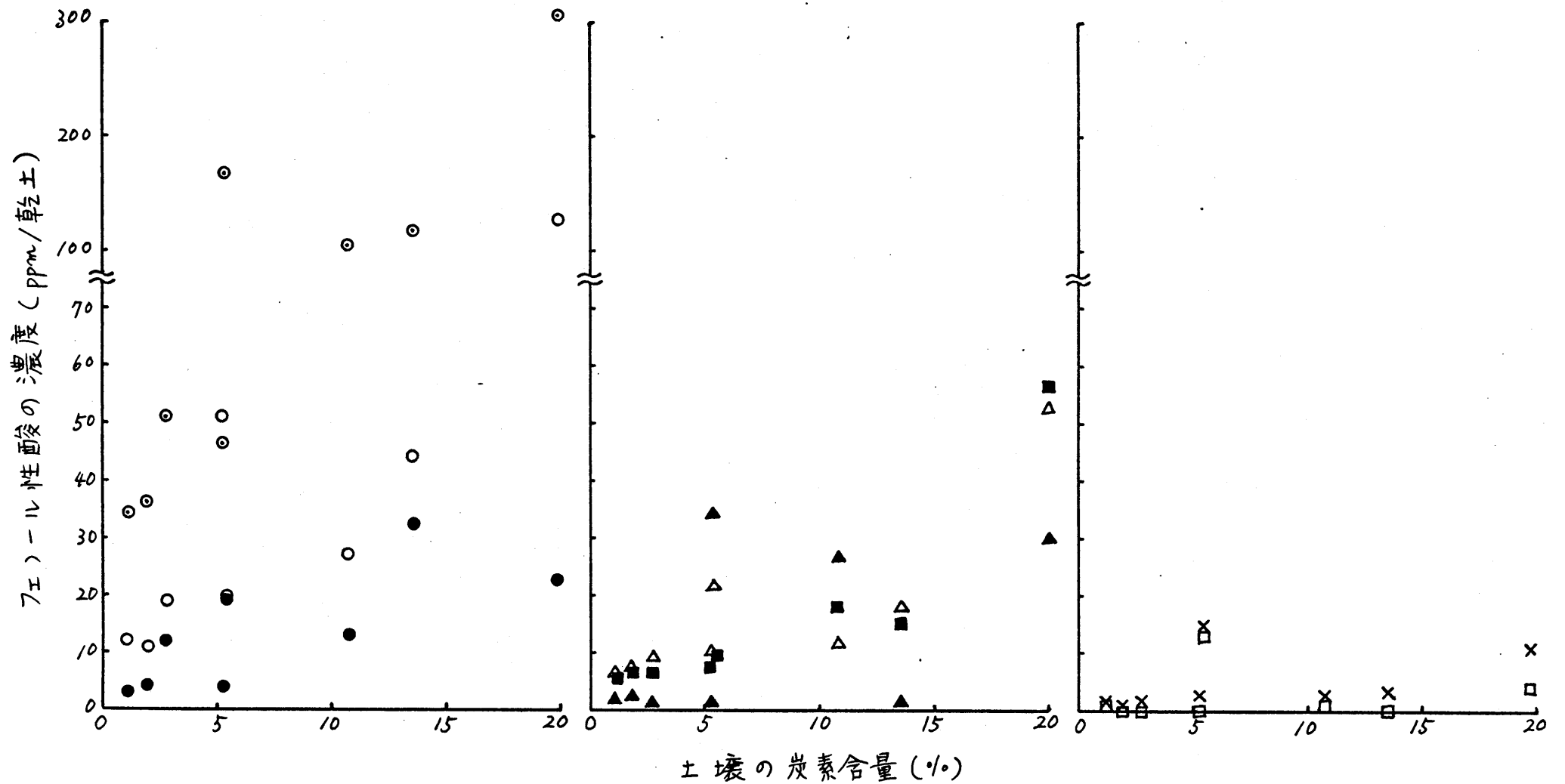
土壌中の濃度のみならず有機物あたりの含量も、一般に森林土壌の方が水田土壌よりも高かった。このことは、一般に落葉腐朽物の方が稲わら腐朽物よりもフェノール性物質を多量に含んでいる（第6章）こと、およびフェノール性酸の多くは水田では水で容易に溶脱される（第7章）が、水田に比べると透水がはるかに少ない森林土壌ではフェノールの溶脱も少ないことが原因になっているものと推察される。

水田土壌中のフェノール性酸が主として稲わらのリグニンに由来することを先に推定したが、一般に樹木の材および葉には多量のタニンおよびリグニンが含まれている（第6章）^{53,69)}ので、森林土壌ではこれらの成分が、フェノール性酸の給源として重要な役割を果たしているものと推察される。加水分解性タニンの構成成分として知られている没食子酸⁵³⁾は、森林土壌中では検出されなかった。

土壌中で速やかに酸化重合または分解したた

めと推定される。

第 9-4 図に森林土壌の A 層における個々のフェノール性酸の濃度と土壌の炭素含量との関係を示した。サリチル酸, p-ヒドロキシ安息香酸, バニリン酸, シリンガ酸, p-クマル酸およびフェルラ酸の濃度は, 一般に炭素含量の高い土壌ほど高かったが, プロトカテキェ酸は炭素含量と対応していなかった。これらの関係は, サリチル酸の場合を除き, 水田土壌で見出された関係と一致した。森林土壌の間では植生および土壌環境が著しく異なっているが, p-ヒドロキシ安息香酸, バニリン酸, シリンガ酸, p-クマル酸およびフェルラ酸の各濃度と土壌の炭素含量との相関は, 森林土壌でもかなり高かった。このことは, 有機物含量が水田および森林土壌中のこれらのフェノール性酸の濃度を決定する重要な因子であることを示しているように思われる。水田土壌の場合, これらのフェノール性酸の濃度は pH とも対応していたが, 森林土壌では対



第9-4図 森林のA層土壌中の個々のフェール性酸の濃度と土壌の炭素含量との関係

r: 相関係数 (0.5 ppm 以下の場合には 0 ppm として算出した)

- , 全フェール性酸; $r=0.85$
- , p-クマル酸; $r=0.86$
- , p-ヒドロキシ安息香酸; $r=0.75$
- △, フェルラ酸; $r=0.84$

- ▲, バニリン酸; $r=0.51$
- , サリチル酸; $r=0.88$
- ×, シロンガ酸; $r=0.51$
- , プロトカテキユ酸; $r=0.09$

応 じ て い た が っ た .

要約

6ヶ所の水田の作土層および9ヶ所の森林のA層を中心に土壌を採取し、1ヶ所は森林のL~Bの各層から土壌を採取し、土壌中のフェノール化合物をガスクロマトグラフで定量した。

得られた結果は次に示すとおりである。

1) どの土壌にもp-クマル酸、フェルラ酸、パニリン酸、p-ヒドロキシ安息香酸、シリンガ酸、サリチル酸およびプロトカテキユ酸が検出された。一般にp-クマル酸が最も多量に検出された。没食子酸、コーヒ-酸、シナピン酸、レゾルシノールおよびフロログルシノールは検出されなかった。

2) フェノール性酸の全濃度は、水田土壌(10~26 ppm)よりも森林土壌中(34~632 ppm)の方がはるかに高かった。p-クマル酸は森林土壌では188 ppmまで、水田土壌では7 ppmまで含有されていた。単位有機物重量あたりのフェノール性物質含量も森林土壌の方が高

く、平均で水田土壌の約2倍の値を示した。

3) 森林土壌中の個々のフェノール性酸の濃度は下層に行くに従って低下したが、有機物あたりのフェノール性酸含量は下層ほど高かった。

4) 水田土壌では、キレート結合部位を有しないp-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、シリンガ酸、p-クマル酸およびフェルラ酸の各濃度は、土壌の炭素含量およびpHとかなり相関していたが、キレート結合部位を有するプロトカテキユ酸およびサリチル酸に対してはこのような関係は認められなかった。森林土壌のA層においても、キレート結合部位を有しないフェノール性酸の濃度と炭素含量との間でかなりの相関が認められ、土壌の有機物含量がこれらの土壌中のキレート結合部位を有しないフェノール性酸の濃度を決定する重要な因子であることが指摘された。

第10章 総合考察

植物遺体には各種各様の形でフェノール性物質が広く分布している。

α-クマル酸などいくつかの低分子フェノール性物質は土壤中で忌地その他の植物生育障害の原因になること^{1~9)}、ポリフェノールなどは土壤中における重金属の移動を助長して土壌生成に関与すること^{10~13)}、リグニン、タンニンなどのポリフェノール性植物成分は腐植酸の形成に貢献すること^{14~18)}などが従来からいわれていた。しかし、以上のことは実証的知見に乏しく、詳細については不明な点が多かった。

上記のようなフェノール性物質の役割は、土壤に供給された植物遺体が腐朽・分解する過程におけるフェノール性物質の挙動と密接に関係しているものと思われる。従って、その役割を適確に把握するためには、まず、腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動を解

明しておくことが必要と考えた。

一方、わが国では、近年、水田をはじめとして各種の農耕地土壌に多量の稲わらがそのままの形で投与されるようになり、その腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動についての知見を得ることは一層重要な問題となった。

本研究は、このような考えのもとに、稲わらを中心に、植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の挙動に関する基礎的研究を行い、土壌中におけるその役割を適確に把握しようとしたものである。

p-クマル酸、フェルラ酸、バニリン酸、p-ヒドロキシ安息香酸などのフェノール性酸は、各種の植物中に分布し、植物生育阻害物質として作用することが従来から知られていた^{5,7)}。

本研究では、このほかシリニンガ酸、サリゲル酸なども稲わらおよびその腐朽物中に存在し(第1章、第3章、第6章)、さらにラジノ

クローバー、アベマキ落葉にも含有されていることを明らかにした(第6章)。

植物遺体の腐朽過程におけるこれらのフェニール性酸の分解経路は、稲わら腐朽物および土壌の水懸濁上澄液中にこれらのフェニールを添加してその分解過程を追跡した結果(第2章)と、稲わら、ラジ)クローバーおよびアベマキ落葉の腐朽過程において、フェニール性酸の消長を追跡した結果(第1章、第3章、第6章)から、次のように推定した。

すなわち、p-クマル酸、フェルラ酸は、微生物により、従来これらの代謝産物として知られていなかったp-メトキシ桂皮酸、3,4-ジメトキシ桂皮酸をそれぞれ可逆的に生成し、p-クマル酸はp-ヒドロキシ安息香酸に、フェルラ酸はバニリン酸となり、さらに両者はフロトカタキユ酸に代謝され、フロトカタキユ酸は一方では微生物により脂肪酸に代謝されて最終的にはCO₂となり、他方では重合して腐植様物質に変化していくものと推定した。

稲わら中にはフラボノイド³¹⁾などに比べるとはるかに多量のリグニン³⁰⁾が含有されている。

第1章では、稲わらの腐朽過程において、稲わら中にもともと存在するアワマル酸などの低分子フェノール性物質は速やかに分解消失するが、一方ではリグニンなどの高分子フェノール性物質から新たに生成してくることを、実験の結果から推定した。

この推定を確認するため、稲わらのリグニン標品を希NaOHで加水分解し、生成してくるフェノール性化合物を検索した(第5章)。その結果、加水分解性フェノール化合物の多くは、種類および量比とも、稲わらを比較的短期間腐朽させたときに生成してきたフェノール性化合物(第1章)とほぼ一致し、稲わら腐朽の初期にこれらのフェノールがエステル結合の切断により、リグニンから遊離生成してくることが明らかとなった。

このリグニン標品を濃KOHで熱分解したと

きに生成してきたフェノール性化合物の量は、加水分解性フェノールの量よりもはるかに多かった(第4章, 第5章)ので, 稲わらの腐朽の進行とともにリグニン母核から代謝生成してくるものと推定した。

一方, 稲わら, 稲わら腐朽物および堆肥連用区土壌の腐植酸を濃KOHで熱分解すると, いずれの試料からもリグニンの場合と同じ種類の分解産物が検出され, リグニンは腐植酸の形成にも貢献していることを明らかにした(第4章)。

従来, リグニンは, 低分子フェノール性物質の給源および腐植酸形成における初期物質として重要な役割を果たすことが指摘されていたが, 実証的知見に乏しかった。ここに稲わらの腐朽過程において, リグニンは一方では低分子フェノール性物質の給源となり, 他方では腐植酸の形成に貢献する過程を詳細に検討したものと思われる。

一方, 稲わらの腐朽過程において, エーテ

ル可溶の低分子フェノール性物質は、湿潤状態下では高温ほど速やかに消失していくが、湛水状態下高温では初期に急速に増加したのち減少した（第1章）。湛水状態下高温では低分子フェノール性物質の分解消失よりもリグニンからの生成の方が上回るため、最初はエーテル可溶のフェノールが増加し、湿潤状態下では生成よりも分解が速く、時間の経過とともに減少するものと推定される。

高分子フェノール性物質の1つであるタンニンは、樹木の落葉、落枝などに比較的少量に含有されている⁵³⁾。アベマキ落葉中のフェノール性物質の含量は多いが、p-クマル酸はそれほど含有されていなかった（第6章）。稲わら中にもともと存在するフェノール性酸は速やかに分解消失する（第1章、第3章、第6章）が、アベマキ落葉の腐朽過程ではフェノール性酸はあまり減少せず、タンニンを主体とするフェノール性物質から供給されていることが推論された（第6章）。一方、ア

グマキ落葉の腐朽物の腐植酸はタンニンの特徴を有することが知られている⁴²⁾。これらのことから、植物遺体の腐朽過程において、タンニンもまたリグニンと同様、一方では低分子フェノール性物質の給源となり、他方では腐植酸の形成に貢献するものと推定される。

稲わら、ラジクローバーおよびアベマキ落葉を腐朽させ、その間のアルカリ可溶の総フェノール量、腐植酸およびフルボ酸画分中のフェノール性物質、有機溶媒分画画分中のフェノール性物質、および各フェノール性酸の消長を調べた(第3章、第6章)。その結果、植物遺体中のフェノール性物質の質および量ならびにこれら植物遺体が腐朽する過程におけるフェノール性物質の消長は、供試遺体の間でかなり異なることが明らかにされた。また稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消長は、温度、水分、pHによって大きい影響を受けたが、炭素率、土壌の存在の有無によってあまり影響は受けなかった。これら

の結果は、植物遺体の腐朽過程における各種のフェ) - ル性物質の消長は、植物遺体の種類だけでなく、環境諸因子によってもかなり影響されることを示している

稲わらを石灰窒素堆肥製造時のような高温湿潤条件下で腐朽させたときには、アルカリ可溶の全フェ) - ル性物質は速やかに減少した。従って、植物遺体の堆肥化は、遺体中に含まれるフェ) - ル性物質の作物生育への害作用を軽減させる上でも有効な方法と思われる。

植物遺体の腐朽過程でフェ) - ル性物質は各種の形態変化を受けつつ、遺体から土壌中に溶出し、土壌中でもまた微生物および化学的反応により分解および重合を受け、さらに土壌粒子への吸着、植物根による吸収、地下水への溶脱など多種多様な挙動をとるものと思われる。それらの挙動のうちで土壌粒子による吸着は、フェ) - ル性物質の挙動および化学変化に対して大きい影響を及ぼすもの

考えられる。

フェ)ール性化合物の土壌への吸着性および移行に伴って起きる重金属の溶出状況を調べた(第7章, 第8章)。フェ)ール性化合物の作土層土壌への吸着量は、鉍質土壌よりも腐植質火山灰土壌の方が多く、またキレート結合部位を有するフロトカテキユ酸は、このような構造をもたないフェ)ール性化合物よりも多量に吸着された(第7章)。一方、キレート結合部位を有するフロトカテキユ酸とサリチル酸は、土壌中の鉄、アルミニウムおよびマンガンも溶出したが、キレート結合部位のないフェ)ール性化合物は、重金属の溶出には関与しなかった(第8章)。これらのことから、植物遺体の腐朽過程で土壌中に溶出したフェ)ール性物質、あるいは土壌中で新たに生成したフェ)ール性物質は、一部は土壌に吸着され、一部は雨水、灌漑水などにより下層へと移行するが、その際、キレート結合部位を有するフェ)ール性物質は土壌

中の重金属を溶出し、これらの下方への移動を助長して、土壌断面の形成および発達に関与するものと考えられる。

水田土壌には毎年多量の稲わらが投与されるほか、稲の刈株や根なども多量に残留する。土壌類型を異にする各種の水田から採取した作土層土壌中のフェノール性化合物の分布を調べた(第9章)。その結果、水田土壌中のフェノール性酸の濃度は、稲わらが分解しやすい条件下で稲わらと土壌の混合物を容器内で長期間インキュベーションした後、土壌中に残留していたフェノール性酸の濃度(第3章)よりもはるかに低いことが明らかにされた。先に述べたように、作土層土壌へのフェノール類の吸着量は少ないので、水田作土層では、フェノール性酸は分解消失するばかりでなく、透水とともに比較的容易に溶脱されるために、フェノール性酸の含有量が低いものと推定した。

p-クマル酸などのフェノール性酸は、100 ppm

以上の濃度では水稻幼植物の生育を阻害する
31.63) ことが知られているが、水田土壌中のフェ
)ール性酸の濃度は、阻害濃度よりもはるかに
低かった(第9章)。

一方、水田に比べるとはるかに透水の少ない
畑に多量の植物遺体を投入した場合には、溶
脱が少いためにフェ)ール性酸が蓄積し、作
物の生育を阻害することが予想される。フェ
)ール性酸は湛水よりも湿潤状態下で速やかに
分解・消失した(第3章)。本研究では、
畑地におけるフェ)ール性物質の分布は調べ
なかったが、WANGら²⁷⁾は、サトウキビ、カン
ショ、パイナップルおよびタバコ畑の土壌中
のフェ)ール性酸を定量し、これらの土壌中
のフェ)ール性酸の濃度は、小麦、とうもろ
こし、大豆の幼植物の生育を阻害する濃度に
存在していたが、サトウキビの生育を阻害す
るほどの濃度ではないと述べている。一方、
草野・小川²⁷⁾は、リクトウの1回作付で圃場
に供給されるフェ)ール性酸の量は、土壌中

で微生物が容易に分解・消失することのできるものであると述べている。

いずれにしても、稲わらを pH 約 4 の強酸性の状態下でインキュベーションしたときには、長期間にわたり多量のフェノール性物質が残存していた（第 6 章）ので、畑に植物遺体を施用するときには、土壌の環境条件を見極めた上で施用することが必要であろう。

第 9 章ではまた、森林土壌中のフェノール性酸の分布を調べた。個々のフェノール性酸の土壌中の濃度は、水田土壌中の濃度よりもはるかに高く、また有機物あたりの含量も森林土壌の方が高かった。このことは、一般に落葉腐朽物の方が稲わら腐朽物よりもフェノール性物質を多量に含んでいる（第 6 章）こと、および水田に比べるとはるかに透水の少ない森林ではフェノールの溶脱も少ないことが原因になっているものと推定される。

森林土壌断面におけるフェノール性酸の濃度は下層ほど低かったが、逆に有機物含量に

対する割合は高くなり、ここでもフェノール性酸が溶脱することを示した。

以上得られた結果を基にして、植物遺体の腐朽過程におけるフェノール性物質の形態変化と土壌中におけるその行動を要約すると次のことがいえる。

植物遺体の腐朽・分解にともなって、高分子あるいは低分子のフェノール性物質は、一方では分解して最終的には CO_2 にまで代謝される。また、一方では各分解過程で酸化重合して腐植物質を形成していく。その分解過程においては、遺体中にもともと遊離の状態で存在するフェノール性酸は速やかに分解されるだけでなく、高分子フェノールのリグニン、タンニンから新たに生成してくるが、これらのフェノール性酸もまた、微生物により脂肪酸を経て CO_2 へと代謝分解される。一方、リグニン、タンニンが変質して腐植酸に変化するほかに、もともと存在しているオ-ジフェノール

ールおよびフェノールが酸化して生成するホリフェノールは、さらに酸化し、キノンも生成し、腐植様物質に変化するものといえる。

これらの生成・分解には環境条件が大きく関与し、フェノール性物質の分解は一般に高温畑地条件（好氣的条件）下で速やかに行なわれる。

植物遺体の腐朽過程でフェノール性物質はこれらの形態変化を受けつつ、一方では土壤中に溶出し、一部は土壤に吸着され、一部は雨水、灌漑水などにより溶脱する。その際、キレート結合部位を有するプロトカテキユ酸、サリチル酸などのフェノール性化合物は、土壤の鉄、アルミニウム、マンガンなどの重金属を溶出し、これらの下方への移動を助長するものと考えられる。

水田作土層の土壤中のフェノール性酸の含量は極めて少く、分解消失するもののほかに、下層への溶脱が考えられる。これに比べると

森林表層土中の含量ははるかに高く、酸化の条件下で分解が速やかに行なわれるにもかかわらず、透水が少いために溶脱が起き難いことを示した。

第11章 総括および結論

自然土壌および耕地土壌には各種の植物遺体
が供給されている。

植物遺体起源のフェノール性物質は土壌中
で次のような役割を果たすと考えられている。
すなわち、1) 幾つかの低分子フェノール性
物質は、土壌中で忌地その他の植物生育障害
の原因になる¹⁻⁹⁾。2) ポリフェノール類では、
土壌中における重金属の移動を助長して土壌
生成に関与する¹⁰⁻¹³⁾。3) リグニン、タンニン
などのポリフェノール性植物成分は、腐植酸
の形成に貢献する¹⁴⁻¹⁸⁾ ことなどがいわれている。
しかしながら、これらのことは実証的知見に
乏しく、不明な点が多い。

本研究は、植物遺体の腐朽過程におけるフ
ェノール性物質の挙動に関する基礎的知見を
得ることにより、上記の役割を適確に把握し
ようとしたものである。

すなわち、まず植物遺体試料として、わが

国では堆肥としてまたはそのままの形で各種の農耕地土壌に多量に投与されている稲わらを中心に、その腐朽過程におけるフェノール性物質の消長および変化を詳細に検討するとともに他の植物遺体についても比較検討した。ついで、植物生育阻害物質としてのフェノール成分の蓄積、土壌生成および腐植生成におけるフェノール性物質の役割との関連のもとに、土壌中におけるフェノール性物質の吸着・移行および重金属類の溶出について研究した。さらに、実際の圃場あるいは自然土壌中の挙動を明らかにするため、水田および森林土壌中におけるフェノール性物質の分布および溶脱の状態を調べた。

本論^文の研究結果を要約すれば以下のとおりである。

1. 温度および水分条件を異にする稲わら腐朽過程での低分子フェノール性物質の消長
(第1章第2節一修士論文より)

1) 稲わらおよびその腐朽物中のフェニール性酸の同定および定量

稲わらおよびその腐朽物中の低分子フェニール性物質として、従来報告のあるp-クマル酸、p-ヒドロキシ安息香酸、フェルラ酸、バニリン酸のほかサリチル酸、シリンガ酸、プロトカテキユ酸、コーヒ酸、ゲンケゲン酸、p-レゾルシン酸、シナピ^{没食子酸}ン酸を検出同定した。

さらに、それらの中で比較的多量に存在しているp-クマル酸、フェルラ酸、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、シリンガ酸およびサリチル酸について、ガスクロマトグラフで定量する方法を検討した。稲わら中のこれらのフェニール性酸の量は、乾物あたり20 ppm以下から370 ppmに分布し、エーテル可溶のフェニール性物質の総量は3400 ppmであった。

また稲わら腐朽物中にそれぞれ20 ppm以下から170 ppmおよび2800 ppmで、腐朽物中では乾物あたりでも減少していることを示した。

2) 種々の条件下での稲わら腐朽過程にお

ける低分子フェノール性物質の消長

箱わらを温度および水分条件を変えて最長70日間腐朽させ、エーテル可溶のフェノール性物質総量と個々のフェノール性酸の消長を追跡した。それらの消長は、水分および温度条件により著しく異なり、しかも減少または増加への一方向的な経過をとらず、各条件によって興味ある挙動を示した。これらの結果から、箱わら中にもともと存在するフェノール性酸など遊離の低分子フェノール性物質は、箱わらの腐朽過程で速やかに分解消失するが、一方ではリグニンなどの高分子フェノールから生成してくるものと推定した。個々のフェノール性酸の消長の比較から、*p*-クマル酸は*p*-ヒドロキシ安息香酸へ、フェルラ酸はバニリン酸へ変化するものと推定した。

2. フェノール性酸の分解経路 (第2章)

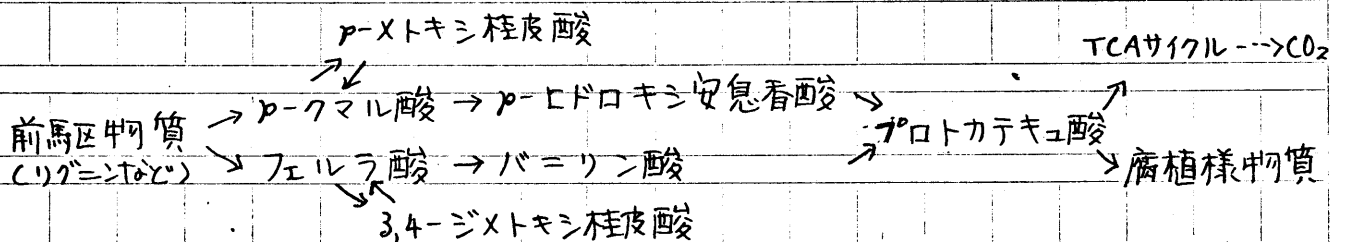
箱わら腐朽物および土壌起源の微生物懸濁液中に *p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキ

シ安息香酸, バニリン酸を単独に, あるいは混合して添加して分解させ, 各物質および分解生成物の消長を調べた。

1) 各フェノール性酸の分解は殺菌処理により著しく阻害され, 分解は主として微生物によることを示した。これらのフェノールを一緒に分解させた場合の各フェノールの分解速度は, 単独の場合よりも遅かった。p-クマル酸とp-ヒドロキシ安息香酸は, 腐朽けう起源と土壌起源の微生物との間で分解速度にそれほど差はなかったが, メトキシ基のあるフェルラ酸とバニリン酸の分解は土壌起源の方が速かった。

2) p-クマル酸は速やかに減少し, それと平行して従来この代謝物としては報告のない物質が少量に生成してきた。この化合物を分離しp-メトキシ桂皮酸と同定した。時間の経過とともに, p-メトキシ桂皮酸も減少し, それと同時にp-ヒドロキシ安息香酸が生成した。フェルラ酸の場合も同様に3,4-ジメトキシ桂

皮酸が生成し、遅れてバニリン酸が生成した。分解の過程で p-クマル酸から p-メトキシ桂皮酸へ、また フェルラ酸から 3,4-ジメトキシ桂皮酸へ一旦可逆的にメチル化されることは、従来知られていなかった反応である。p-ヒドロキシ安息香酸からはプロトカテキユ酸が生成した。その他の結果とも併せて、植物遺体の腐朽過程におけるこれらのフェノールの分解経路を以下のように推定した。



3. 土壌中の稲わら腐朽過程におけるフェノール性物質の消長 (第3章)

稲わら添加または無添加の土壌を湿润状態または湛水状態においてインキュベーションし、経時的に採取した試料中のフェノール性物質を分画し、各画分中のフェノール性物質の性質およびその消長を研究した。

1) 稲わら添加区のフェノールは大部分が稲わらに由来し、無添加区土壌中には添加区の半にすぎなかった。無添加土壌のフェノール含量は200日間にわづかに減少しただけであった。稲わら添加区の場合には、フェノール性物質は時間の経過とともに減少した。湛水よりも湿潤状態の方が速やかに減少した。

2) 稲わら添加区の場合、初期にはフルボ酸画分中のフェノールが多いが、速やかに減少した。腐植酸画分のフェノールの減少は緩やかであった。また、初期にはエーテル可溶のフェノールが多いが腐朽が進むにつれ、ブタノールでも抽出されないフェノールが多くなった。これらの結果から、腐植酸画分中のフェノール性物質のかばりの部分は比較的高分子であり、フルボ酸画分中のフェノール性物質のかばりの部分は比較的低分子であると推定した。

3) 本実験の腐朽条件下では、稲わらは容易に分解するが、200日後においても稲わら

添加土壌中には、実際の水田土壌（無添加区）中よりも多量のフェノール性物質およびワマル酸が含有されていた。箱の中に含まれていたフェノールあるいは腐朽過程で生成してくるフェノールは、水田土壌においては分解すると同時に水によって溶脱されることが推定される。

4. 稲わら腐朽物および稲わら堆肥連用水田土壌の腐植酸のフェノール性物質の特性（第4章）

新鮮稲わら、18ヶ月間腐朽させた稲わらおよび堆肥連用水田土壌の各腐植酸中のフェノール性物質を比色定量するとともに、これらの試料と稲わらの精製リグニンを水添加KOHで熱分解し、生じた各フェノール性化合物をガスクロマトグラフで定量比較した。

1) 未分解腐植酸中には、稲わら<土壌<稲わら腐朽物の順に約8~14%の範囲でフェノール性物質が含有されていた。

2) KOH 分解生成物のエーテル可溶成分は、いずれの試料からのものも類似したクロマトグラムを示し、*p*-ヒドロキシ安息香酸など6種類のフェノール性酸が検出された。これらの含量は腐植酸の2~4%に相当した。フーボイドに由来するフェノール類は検出されなかった。

以上の結果は、箱わら、箱わら腐朽物、水田土壌の腐植酸が単位フェノールの構成においてそれほど変化せず、かつ主としてリグニンに由来することを示している。

5. 箱わらリグニン中の加水分解性フェノール成分 (第5章)

箱わらの精製リグニンを希NaOHで加水分解し、生じたフェノール性化合物を定量した。

1) 加水分解の結果、*p*-クマル酸、フェルラ酸など9種類のフェノール性酸の生成が認められた。これらの多くは、種類および量比とも、箱わらを比較的短期間腐朽させたとき

に生成してくるフェノール性化合物と一致し、
 稲わら腐朽の初期に生成してくるフェノール
 類の大部分は、リグニンにエステルとして結
 合しているフェノール性酸が由来すること
 を示した。

マクマル酸は未分解リグニン中にエステル
 として1.4%含まれ、エステルとして存在す
 るフェノール性化合物の含量は3.7%に達し
 た。

2) 前章までの結果を総合し、稲わら腐朽
 過程において、稲わらリグニンにエステルと
 して結合したフェノール性酸は腐朽の初期に
 遊離し、腐朽の進行とともにリグニンの母核
 構成のフェノールも分解生成してくる。この
 ように、稲わらリグニンは一方では低分子フ
 エノール性物質の給源となり、また他方では
 腐植酸の形成に貢献するものと推論した。

6. 稲わら、ラジクローバーおよびアグマ
 キ落葉の腐朽過程におけるフェノール性物質

の消長 (第6章)

上記の種類植物遺体を容器内で湿潤状態
下で150日間腐朽させるとともに、稲わらは
各種条件下で100日間腐朽させ、経時的に採
取してフェーニル性物質を分画し、各画分中
のフェーニル性物質の消長を調べた。

1) 各画分中のフェーニル性物質の消長は、
植物遺体の種類によりかなり異なっていた。稲
わら腐朽過程におけるフェーニル性物質の消
長は、温度、水分、pHによって大きな影響を
受けたが、炭素率の差および土壌の存在の有
無によってそれほど影響を受けなかった。こ
れらのことは、植物遺体の腐朽過程における
フェーニル性物質の消長が、遺体の種類のみ
ならず環境諸因子によってかなり異なること
を示すものと思われる。

2) 稲わら中のクマル酸およびフェルラ
酸の含量は他の2植物よりもはるかに高か
たが、1ヶ月以内に速やかに減少し、他の植
物と同じ位のレベルになった。アバマキ落葉

中のこれらのフェノール性酸の量は少ないが、腐朽期間中それほど減少しなかった。

7. フェノール類の土壌吸着および移行（第7章）

水酸基および側鎖の異なる6種類のフェノール性酸を15種類の土壌に吸着させ、吸着とフェノールの化学構造との関係および土壌の諸性質との関係を調べた。

1) 供試フェノールは、キレート結合部位を有するプロトカテキエ酸を除きそれほど土壌に吸着されなかった。カオリニ質土壌やモンモリロナイト質土壌よりも腐植質火山灰土壌に多量に吸着された。この結果より、鈹質土壌ではフェノール性化合物は、大部分、土壌の表層から水で速やかに溶脱されるが、火山灰土壌ではフェノール性化合物、特にポリフェノール類は吸着されやすく腐植形成に関与するものと推定した。

2) 作土層土壌では、各フェノールの土壌

吸着量と有機物含量の間に高い正の相関が見られた。しかし、有機物を殆んど含まない心土の吸着量は作土層土壤よりも多かった。このことは、作土層土壤が有機物を含む土壤では、粘土鉱物表面に存在する吸着座は既に有機物などにより占有されており、加えられたフェノールは主として有機物に吸着されるのに対し、有機物^物を含まない心土では、粘土鉱物に存在する多数の吸着座と結合していくものと推定される。

フェノールの吸着は土壤のpH、遊離鉄含量、粘土含量との間にはあまり相関はなかった。ただし、プロトカテキエ酸の吸着は遊離鉄含量との間に高い相関があった。

8. フェノール類による土壤中の重金属の溶出 (第8章)

水酸基の数および位置の異なる4種類のフェノール性酸、すなわち、プロトカテキエ酸、α-レゾルシニ酸、サリチル酸、p-ヒドロキシ

安息香酸を用いて、フェロールの化学構造と
土壌からの鉄、アルミニウムおよびマンガ
ンの溶出との関係を調べた。

1) キレート結合部位を有するプロトカテ
キユ酸およびサリチル酸は土壌から比較的多
量の重金属を溶出したが、このような構造を
持たない p -ヒドロキシ安息香酸やムレゾルシ
ン酸は溶出に関与しなかった。フタル酸は隣
接したカルボキシル基をもつキレート化合物
であるが、あまり溶出には関与しなかった。

重金属の溶出は、結合に関与する部位の化
学構造だけでなく、土壌の pH にも影響され、
キレートの安定度が重要な影響を及ぼしてい
ることを示した。

2) 7. の結果と総合して、キレート結合
部位を有するフェロール性物質は、土壌中で
鉄、アルミニウムなどの重金属と複合体を形
成し、一方ではこれらの重金属を溶出するが、
他方では土壌粒子表面におけるこれらの金属
との結合を通して土壌に吸着されるものと推

定した。

9. 水田および森林土壌中のフェノール性酸の分布 (第9章)

各種水田土壌9点および森林土壌15点を採取し、ガスクロマトグラフを用いて、各フェノール性化合物の含量を測定した。

1) どの土壌にもp-クマル酸, フェルラ酸, バニリン酸, p-ヒドロキシ安息香酸, シリンガ酸, サリチル酸およびプロトカテキユ酸が検出された。一般にp-クマル酸が最も多量に検出された。

2) フェノール性酸の全濃度は、水田土壌(10~26 ppm)よりも森林土壌中(34~632 ppm)の方がはるかに高かった。殆んどどの土壌でp-クマル酸の含量が最も高く、森林土壌では最高188 ppm (平均69 ppm) 水田土壌では最高7 ppm (平均5.5 ppm) 含有されていた。単位有機物重量あたりのフェノール性物質含量も森林土壌中の方が高く、平均で水田

土壌の約2倍の値を示した。水田土壌中のフェノール性酸の濃度は、水稻幼植物の生育を阻害する濃度よりもはるかに低かった。森林土壌中の含量は場合により幼植物の生育を阻害する程度の濃度であることを示した。

2) 水田土壌では、キレート結合部位を持たないフェノール類の各濃度は、土壌の有機物含量およびpHとかなり相関していたが、結合部位をもつプロトカテキエ酸やサリチル酸に対してはこのようない関係は認められなかった。森林土壌においても、多くのフェノールは有機物含量とかなり高い相関を示した。

3) 森林土壌断面では、フェノール性酸の濃度は下層になるに従って低くなるが、有機物含量に対する割合は高く、フェノール類は、土壌中で分解によって消失するほかに、下層へ溶脱して消失する部分があることを示した。

以上得られた結果を基にして、植物遺体の

腐朽過程におけるフェノール性物質の形態変化と土壌中におけるその行動を要約すると次のことがいえる。

植物遺体の腐朽・分解にともなって、高分子あるいは低分子のフェノール性物質は、一方では分解して最終的には CO_2 にまで代謝される。また、一方では各分解過程で酸化重合して腐植物質を形成していく。その分解過程においては、遺体中にもともと遊離の状態が存在するフェノール性酸は速やかに分解されるだけでなく、高分子フェノールのリグニンなどから新たに生成してくるが、これらのフェノール性酸もまた、微生物により脂肪酸を経て CO_2 へと代謝分解される。一方、リグニンなどの高分子フェノールが変質して腐植酸に変化するほかに、もともと存在しているオリゴフェノールおよびモノフェノールが酸化して生成するポリフェノールは、さらに酸化し、キノンを生成し、腐植様物質に変化するものといえる。

これらの生成・分解には環境条件が大きく関与し、フェノール性物質の分解は一般に高温畑地条件（好氣的条件）下で速やかに行なわれる。

植物遺体の腐朽過程でフェノール性物質はこれらの形態変化を受けつつ、一方では土壤中に溶出し、一部は土壤に吸着され、一部は雨水、灌漑水などにより溶脱する。その際、キレート結合部位を有するフロトカタキエ酸、サリチル酸などのフェノール性化合物は、土壤の鉄、アルミニウム、マンガンなどの重金属を溶出し、これらの下方への移動を助長するものと考えられる。

水田作土層の土壤中のフェノール性酸の含量は極めて少なく、分解消失するもののほかに、下層への溶脱が考えられる。これに比べると、森林表層土中の含量は有機物あたりの含量も高かった。森林土壤は酸化条件にあるため、水田土壤よりもフェノール性物質は速やかに分解されるはずであるが、透水が少

ないため溶脱がおきにくく、含量が高いものと推定した。

謝辞

本研究は、名古屋大学農学部鋤塚昭三助教授のもとで行なわれたもので、深甚なる謝意を表します。

また本研究を遂行するにあたり、常に有益な御助言を賜わった名古屋大学農学部熊田恭一教授に謹んで感謝の意を表します。

さらに貴重なりグニン標品を恵与された名古屋大学農学部寺島典二教授に厚く御礼申し上げます。

このほか、名古屋大学農学部助手新井隼光博士、助手吉田光二博士ほか土壌学研究室各位には、有益な御助言と激励を頂きました。

ここに厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) 泉像 桂：除草剤発見への道，科学，33，
79～83（1963）
- 2) 初田勇一・浜崎 徹・西村正暘・蓮仙正
義：インドラの根部中の植物に対する生
育阻害物質について，農化，37，262～
264，（1963）
- 3) 鈴木昭憲・張 清芬：赤クローバーのい
や地，化学と生物，8，418～419（1970）
- 4) 高橋信孝・丸茂晋吾・大岳 望：生理活
性天然物化学，pp. 348，東京大学出版会
（1973）
- 5) 沢田泰男：作物残渣の有害性と後作物へ
の影響，農業及園芸，48，528～532（1973）
- 6) TAMURA, S., CHANG, C.F., SUZUKI, A.
and KUMAI, S.: Chemical Studies on
"Clover Sickness" Part 1. Agr. Biol. Chem.,
33, 391～397（1969）
- 7) WANG, T.S.C., YANG, T.K. and CHUANG, T.T.

: Soil Phenolic Acids as Plant Growth Inhibitors. Soil Sci., 103, 239 ~ 246 (1967)

8) PATRICK, Z. A. : Phytotoxic Substances Associated with the Decomposition in Soil of Plant Residues. Soil Sci., 111, 13 ~ 18 (1971)

9) STEVENSON, F. J. : Organic Acids in Soil. in Soil Biochemistry, Vol. 1., ed. A. D. McLAREN and G. H. PETERSON, p. 119 ~ 146, Marcel Dekker, Inc., New York (1967)

10) BLOOMFIELD, C. : The possible Significance of Polyphenols in Soil Formation. J. Sci. Food Agric., 8, 389 ~ 392 (1957)

11) COULSON, C. B., DAVIES, R. I. and Lewis, D. A. : Polyphenols in Plant, Humus, and Soil. II. J. Soil Sci., 11, 30 ~ 44 (1960)

- 12) DAVIES, R. I. : Relation of Polyphenols to Decomposition of Organic Matter and to Pedogenetic Processes. Soil Sci. 111, 80~85 (1971)
- 13) SCHNITZER, M. and SKINNER, S. I. M. : Organo - Metallic Interactions in Soils. 4., Soil Sci., 99, 278~284 (1965)
- 14) コトノヲ, M. M. 著, 菅野一郎・久馬一剛・徳留昭一・有村玄洋共訳: 土壤有機物, pp. 300, 新科学文献刊行会 (1966)
- 15) FLAIG, W. : The Chemistry of Humic Substances. in The Use of Isotopes in Soil Organic Matter Studies, p-103~127, Pergamon Press, Oxford (1966)
- 16) FLAIG, W, BEUTELSPACHER, H. and RIETZ, E. : Chemical Composition and Physical Properties of Humic Substances. in Soil Components, Vol. 1. ed. J. E. GIESEKING, p. 1~211, Springer-Ver-

lag Berlin · Heidelberg · New York
(1975)

- 17) SCHNITZER, M. and KHAN, S. U. : Humic Substances in the Environment, pp. 327, Marcel Dekker, Inc., New York (1972)
- 18) BURGESS, N. A., HURST, H. M. and WALKDEN, B. : The Phenolic Constituents of Humic Acid and Their Relation to the Lignin of the Plant Cover. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 28, 1547 ~ 1554 (1964)
- 19) MYRSKOW, W. and MORRISON, R. I. : Decomposition of Leguminous Plant Roots in Sand. *J. Sci. Food Agr.*, 15, 162 ~ 168 (1964)
- 20) WANG, T. S. C., CHENG, S. Y. and TUNG, H. : Dynamics of Soil Organic Acids. *Soil Sci.*, 104, 138 ~ 144 (1967)
- 21) INAMATSU, K. : Isolation of p-Coumaric Acid and Sterols from Rice Straw Compost. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 14,

62 ~ 67 (1968)

- 22) MARTIN, J. P. and HAIDER, K. : Microbial Activity in Relation to Soil Humus Formation. *Soil Sci.* 111, 54 ~ 63 (1971)
- 23) HAIDER, K. and MARTIN, J. P. : Humic Acid-Type Phenolic Polymers from *Aspergillus sydowii* Culture Medium, *Stachybotrys* spp. Cells and Autoxidized Phenol Mixtures. *Soil Biol. Biochem.*, 2, 145 ~ 156 (1970)
- 24) BROADBENT, F. E. : Modification in Chemical Properties of Straw during Decomposition. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 18, 165 ~ 169 (1954)
- 25) FLAIG, W. : Chemische Untersuchungen an Humusstoffen. *Z. Chem.*, 4, 253 ~ 265 (1964)
- 26) ISHIKAWA, H., SCHUBERT, W. J. and NORD, F. F. : Investigations on Lignins and Lignification. XXVII. *Arch. Biochem.*

Biophys., 100, 131~139 (1963)

27) 草野 秀・小川和夫：作物体に含まれるフェニール性酸について，土肥誌，45，29~36 (1974)

28) 鎌塚昭三・大島康義：稲ポリフェニールの研究（第1報），農化，35，67~71 (1961)

29) KUWATSUKA, S. and SHINDO, H.: Behavior of Phenolic Substances in the Decaying Process of Plants. I. Soil Sci. Plant Nutr., 19, 219~227 (1973)

30) 吉田 堯・甲斐秀昭・原田登五郎：土壌の易分解性有機物の集積に関する研究，Ⅱ，九大農学芸誌，28，37~48 (1973)

31) 鎌塚昭三：稲ポリフェニール^のに関する~~化学~~化学的研究，九州大学農学部農芸化学科農薬化学研究室報告，(1962)

32) SHINDO, H. and KUWATSUKA, S.: Behavior of Phenolic Substances in the Decaying Process of Plants. II. Soil Sci.

Plant Nutr., 21, 215~225 (1975)

33) 桑原正雄・進藤 登・宗像 桂：ポント
7口口7E) - ILの光分解 (第4報),
農化, 44, 169~174 (1970)

34) DAGLEY, S.: The Microbial Metabolism
of Phenolics. in Soil Biochemistry,
Vol. 1, ed. A. D. McLAREN and G. H. PET-
ERSON, p. 287~317, Marcel Dekker, Inc.,
New York (1967)

35) 五十嵐美千代・金塚昭三：土壤中におけ
るPCP x ナルI - テルの分解, 土肥要旨
集, 19, 19 (1973)

36) KUMADA, K., SATO, O., OHSUMI, Y. and
OHTA, S.: Humus Composition of Moun-
tain Soils in Central Japan with
Special Reference to the Distribution
of P Type Humic Acid. Soil Sci. Plant
Nutr., 13, 151~158 (1967)

37) 野口市夫：7E) - IL, 化学の領域増刊
号, 47巻 p. 73~74, 南江堂 (1961)

38) WANG, T. S. C., YEH, K. L., CHENG, S. Y.
and YANG, T. K. : Behavior of Soil
Phenolic Acids. U. S. National Commi-
ttee for the International Biologi-
cal Program : Biochemical Interact-
ions among Plants, p. 113 ~ 120, Nati-
onal Academy of Sciences, Washington
D. C. (1971)

39) GUENZI, W. D. and McCALLA : Phytotoxic
Substances Extracted from Soil. Soil
Sci. Soc. Amer. Proc., 30, 214 ~ 216
(1966)

40) HAIDER, K. and MARTIN, J. P. : Decompo-
sition of Specifically Carbon-14
Labeled Benzoic and Cinnamic Acid
Derivatives in Soil. Soil Sci. Soc.
Amer. Proc., 39, 657 ~ 662 (1975)

41) 熊田恭一・鈴木正昭 : 腐朽植物遺体の腐
植組成, 土肥誌, 40, 353 ~ 357 (1969)

42) SUZUKI, M. and KUMADA, K. : Several

Properties of Rp Type Humic Acid.

Soil Sci. Plant Nutr., 18, 53~64 (1972)

43) 広瀬春朗・熊田恭一：植物遺体の腐朽化過程に関する化学的研究（第3報），土肥誌，43，115~118（1972）

44) 稲松勝子：桑園土壤の化学性および桑の生育に対する稲藁堆肥の施用効果に関する基礎的研究（第1報），土肥誌，40，59~66（1969）

45) 熊田恭一・白谷良輔：腐植酸の化学的性質に関する研究（第1報），土肥誌，43，231~237（1972）

46) 白谷良輔・熊田恭一：同上（第2報），土肥誌，44，121~125（1973）

47) ALLISON, L.E. : Wet-Combustion Apparatus and Procedure for Organic and Inorganic Carbon in Soil. Soil Sci. Amer. Proc., 24, 36~40 (1960)

48) 銚塚昭三・大島康義：稲ポリフェノールの研究（第2報），農化，35，71~75

(1961)

49) 鎌塚昭三・大島康義：稲ホリフェールの研究（第3報），農化，38，351～355
(1964)

50) STEELINK, C., BERRY, J. W., Ho, A. and
NORDBY, H. E. : Alkaline Degradation
Products of Soil Humic Acid. Sci.
Proc. Roy. Dublin Soc. Ser., A1, 59～
67 (1960)

51) HIGUCHI, T., ITO, Y. and KAWAMURA, I.
: *p*-Hydroxyphenylpropane Component
of Grass Lignin and Role of Tyrosine
- Ammonia Lyase in its Formation.
Phytochemistry, 6, 875～881 (1967)

52) HIGUCHI, T., ITO, Y., SHIMADA, M. and
KAWAMURA, I. : Chemical Properties of
Milled Wood Lignin of Grasses.
Phytochemistry, 6, 1551～1556 (1967)

53) 大島康義：植物タンニンの化学，農化，
32, A 81～88 (1958)

- 54) 能勢和夫 : 土壤による PCP の吸着に関する研究, 農技研報, C 20, 225~277
(1966)
- 55) ALLISON, L. E. : Organic Carbon in Methods of Soil Analysis, Part 2, ed. C. A. BLACK et al., p. 1367~1378, American Society of Agronomy, Inc., Publisher, Madison, Wisconsin, USA
(1965)
- 56) ASAMI, T. and KUMADA, K. : A New Method for Determining Free Iron in Paddy soils. Soil Sci. Plant Nutr., 5, 141~146 (1959)
- 57) 東京大学農学部農芸化学教室 : 奥馬験農芸化学 上巻, p. 66~68, 朝倉書店(1960)
- 58) 野村男次・大村浩久 : レダクトンの化学, pp. 357, 内田老鶴圃新社(1969)
- 59) MATSUDA, K. and SCHNITZER, M. : The Permanganate Oxidation of Humic Acids Extracted From Acid Soils. Soil Sci.,

114, 185~193 (1972)

- 60) 松井義雄・熊田恭一：腐植酸の Na-Hg 分解について，中部支部第 21 回例会 (1970)
- 61) 斯波え茂ら：鉄化合物，実験化学講座，第 9 巻，p. 333~360，日本化学会編，丸善株式会社 (1958)
- 62) 藤原 進：N/5 塩酸可溶性成分量の規則性，土肥誌，44，323~326 (1973)
- 63) 大塩裕陸・石塚皓造・三井進午：クマリンによる水稻の発芽および初期生育阻害と呼吸阻害との関係について，土肥誌，42，345~348 (1971)
- 64) WHITEHEAD, D.C.: Identification of *p*-Hydroxybenzoic, Vanillic, *p*-Coumaric and Ferulic Acids in Soils. Nature, 202, 417~418 (1964)
- 65) RAO, A.V., PAJARAM, K.P., SIDDARAMAPPA, R. and SETHUNATHAN, N.: Phenols in Rice Soils. Soil Biol. Biochem., 7, 227~229 (1975)

- 66) 農林省振興局研究部監修：土壤肥料全編，
pp. 926，養賢堂（1958）
- 67) 川瀬金次郎・横山栄造・松井 慎：写真
回鑑，日本の水田土壤，pp. 123，講談社
（1972）
- 68) 立川 涼：土壤および液体試料中の有機
物の迅速定量法ならびに糖類に関する二
三の定量法，土肥誌，37，28～33（1966）
- 69) 右田伸彦・米沢保正・近藤民雄編：木材
化学 上，pp. 537，共立出版株式会社
（1968）

()

報文目錄

1. SHINDO, H. and KUWATSUKA, S., BEHAVIOR OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DECAYING PROCESS OF PLANTS.

III. Degradation Pathway of Phenolic Acids, Soil Sci. Plant Nutr., 21, 227-238 (1975)

2. SHINDO, H. and KUWATSUKA, S., BEHAVIOR OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DECAYING PROCESS OF PLANTS.

VI. Changes in Quality and Quantity of Phenolic Substances in the Decaying Process of Rice Straw in a Soil, Soil Sci. Plant Nutr., 23, 319-332 (1977)

3. SHINDO, H. and KUWATSUKA, S., BEHAVIOR OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DECAYING PROCESS OF PLANTS.

VII. Characteristics of Phenolic

()

Substances in the Humic Acids of
Decayed Rice Straw and Compost
- Supplied Field Soil, Soil Sci. Plant
Nutr., 23, 333-340 (1977)

4. 進藤晴夫・鍬塚昭三, 稲わらリグニン
中の加水分解性フェノール成分, 日本
土壌肥料学雑誌, 投稿中

5. SHINDO, H. and KUWATSUKA, S., BEHAVIOR
OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DE-
CAYING PROCESS OF PLANTS.

VIII. Changes in Quality and Quantity
of Phenolic Substances in the De-
caying Process of Rice Straw, Ladino
Clover, and Red Oak Leaves, Soil
Sci. Plant Nutr., 投稿中

6. SHINDO, H. and KUWATSUKA, S., BEHAVIOR
OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DE-
CAYING PROCESS OF PLANTS.

IV. Adsorption and Movement of Phe-
nolic Acids in Soils, Soil Sci. Plant

Nutr., 22, 23-33 (1976)

7. SHINDO, H. and KUWATSUKA, S., BEHAVIOR OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DECAYING PROCESS OF PLANTS.

V. Elution of Heavy Metals with Phenolic Acids from Soil, Soil Sci.

Plant Nutr., 23, 185-193 (1977)

8. SHINDO, H., OHTA, S., and KUWATSUKA, S., BEHAVIOR OF PHENOLIC SUBSTANCES IN THE DECAYING PROCESS OF PLANTS.

IX. Distribution of Phenolic Acids in Soils of Paddy Fields and Forests, Soil Sci. Plant Nutr., 投稿中