

## スギ落葉有機組成分の生分解 (第2報) 2年および3年経過リターの組成分について

川上日出國\*・坂野弘美\*・沓名重明\*

### Biodegradation of organic components of Japanese cedar leaf litter (2) On the components of 2nd and 3rd year's rotten litter

Hidekuni KAWAKAMI\*, Hiroharu BANNO\* and Sigeaki KUTUNA\*

前報で林床上14ヵ月にわたるスギリター有機組成分の生分解について報告した。今回は更に林床上で18ヵ月以降、38ヵ月まで生分解させたA系列スギリターの有機組成分の分析を行った。これとは別に林床への設置を1ヵ年遅らせたB系列の試料も分析した。リターの抽出成分および炭水化物の変動は分解初期に大きく、後期には小さかった。一方、クチンは比較的易分解性で20~30ヵ月で完全に分解された。リターのKlasonリグニン値の変動は生分解の初期に大きく、また後期には約60%前後の値に達するがそのリグニン中には窒素が1%以上含有されていた。チオグリコール酸法でリターのリグニン含量を定量するとKlasonリグニンのほぼ半量の値となるがチオグリコール酸リグニン中にも0.8%の窒素が含まれていた。針葉およびリターの過大なKlasonリグニン値は共存する含窒素化合物の影響が推定される。これを確かめるためタンパク質、アミノ酸、プリン塩基をそれぞれKlason処理しても沈澱は得られなかった。タンパク質を摩砕リグニンと共存させ酸処理を行うと過大なKlasonリグニン値が得られた。腐植物質もタンパク質と類似の行動をとりKlason処理によりリグニンと共沈するものと推定された。

In the preceding paper, we reported the biodegradation of organic components of Japanese cedar leaf litter on the forest floor for up to 14 months. This time also keep to investigating the biodegradation of organic components of the leaf litter for 18 to 38 months, the final period of biodegradation (A series). Alternative leaf samples in litter bag put on the forest floor after 1 year were also analysed (B series). The extractives and carbohydrates of the leaf litters changed largely in early time of biodegradation and little changes were found in final period. On the other hand, cutin was relatively easily degraded and completely decomposed in 20 to 30 months. Klason lignin contents of the leaf litters changed largely in the first period of biodegradation and contents was reached about 60% in the final period of biodegradation. The Klason lignin contained 1% or more nitrogen. The lignin contents of the leaf litter on the thioglycolic acid method showed one half of the Klason lignin content. The thioglycolic lignin, however, contained 0.8% of nitrogen. The excess values of the Klason lignin from needle leaves and leaf litters might be attributed to the influences of co-existent nitrogen containing compounds. To make sure this assumption, protein, amino acids, and purine bases were treated with sulfuric acid (Klason method), respectively, and no precipitation was founded. It was clarified that when the proteins co-existed with milled wood lignin, the excess values of Klason lignin contents were occurred. It is assumed that humic substances which contained nitrogen generally lesser extent than proteins, behaves like protein and occurs co-precipitation with milled wood lignin or

\*名古屋大学農学部 School of Agriculture, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-01

precipitation itself on Klason treatment.

Key words : Leaf litter, Cutin, Klason lignin, Thioglycolic acid lignin, Humic substance

## 1. 緒言

著者らは前報<sup>1)</sup>で天然条件下におけるスギ針葉有機組成分の生分解の状況を14ヵ月にわたって測定した結果を報告した。針葉は腐朽の進行に伴いその主成分の多糖類は分解し減少してゆく。針葉のKlasonリグニンはスギ針葉に15~20%も存在するクチンが混入して、その定量値を高くしていることが明らかにされた。しかし、腐朽の進行に伴いクチン量は減少してゆくがKlasonリグニン値はむしろ増大する傾向がある。この増大分は針葉の生分解に伴い腐植化を開始した部分に基づくものと考えられ、これには土壌生物に由来するタンパク質や核酸が係わりをもつと推定した。

今回は前報と同様な条件下で更に生分解を38ヵ月まで継続したスギ針葉試料の分析を行った。また、針葉試料の林床への設置を1ヵ年間遅らせて平行的に26ヵ月間生分解を行った試料についても分析を行い、針葉有機組成分の天然条件下での生分解の状況を検討した。

また、腐朽リターのKlasonリグニン値を過大にする要因を明らかにするために摩砕リグニン、タンパク質、アミノ酸、多糖類、人工腐植酸、細菌菌体などを用いて定量結果を検討した。

## 2. 実験

### 2-1 試料

スギ成熟針葉を1984年9月名古屋大学農学部付属演習林スギ林林床に設置したリター試料を前報に引き続き採取し、18ヵ月以降38ヵ月までのものをA系列とした。また、この系列とは別に1985年9月に採取したスギ成熟針葉をそれぞれ約150g、ポリ塩化ビニリデン樹脂製ネットの袋につめ、同様にスギ林林床に設置したものを26ヵ月にわたって採取しB系列の試料とした。それぞれの試料の採取時期はTable 1に示した。

採取した試料は風乾した後ウイレー粉碎機を用いて40メッシュ以下に粉碎し、必要に応じてエタ

ノールーベンゼン混液(1:2v/v)で抽出し分析に供した。

Table 1. The original and leaf litter samples of Japanese cedar.

Series A	Series B	Month of Sampling	
-	1	Sep.	1985
-	2	Nov.	〃
8	3	Mar.	1986
9	4	May.	〃
10	5	Jul.	〃
11	6	Sep.	〃
12	7	Nov.	〃
13	8	Mar.	1987
14	9	May.	〃
15	10	Jul.	〃
16	11	Sep.	〃
17	12	Nov.	〃

Series A and B: samples set on the forest floor in Sep. 1984 and Sep. 1985, respectively.

The sample number of each Series indicates the passage of time after sample setting on the forest floor, for example sample A-8, 9, 10..., correspond to sample B-8, 9, 10..., respectively.

Klason法の検討の際に用いたヒノキ、ポプラ、およびヒョウタンの摩砕リグニンは著者らの既報の方法<sup>2)</sup>によって調製した。アセトン乾燥菌体は常法により*Pseudomonas ovalis*の菌体を-30℃に冷却したアセトンで処理して作成した。

タンパク質試料は血清および卵アルブミン(片山化学製)、エデスチン、グルテニン、グルテン(共に和光純薬製)、およびゼイン(Sigma社製)を用いた。アミノ酸はフェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、メチオニン、およびグルタミン酸(共にキシダ化学製)を用いた。また、核酸構成プリン塩基のアデニンおよびグアニン(共に東京化成製)も用いた。炭水化物試料としてはセルロース粉末(東洋濾紙製、100~200メッシュ)キシラン(Aldrich社製、カラマツ)、グルコース(和光純薬製)、および塩酸グルコサミン(東京化成製)

を使用した。また、人工腐植酸(Leiz社製)も用いた。

## 2-2 分析方法

チオグリコール酸リグニンの定量はVenverloo<sup>3)</sup>の方法に準じた。脱脂試料0.5gを50ml容フラスコに採り、15mlのチオグリコール酸-塩酸混合液(2N塩酸100mlにチオグリコール酸(和光純薬製)10gを溶解したもの)を加え、100℃の温浴上で加熱する。1時間加熱後さらに7mlのチオグリコール酸-塩酸混合液を加え3時間加熱する。放冷後、内容物を濾別し蒸留水約50mlで洗浄する。残渣を風乾後円筒濾紙に移し、ソクスレー抽出器を用いエタノールで24時間抽出する。溶媒を留去し抽出フラスコを105℃で恒温に達するまで乾燥した。このエタノール可溶性画分をF-1とする。抽出残渣を風乾したのち100mlピーカーに移し、0.5N水酸化ナトリウム水溶液10mlを加える。24時間後にピーカーの内容物を濾紙を用いて濾過する。濾液を6N HClで中和し沈澱を遠心分離により分離しあらかじめ秤量した濾紙で濾過し105℃で恒量になるまで乾燥する。このアルカリ可溶性画分(F-2)と前記エタノール可溶性画分F-1の和をチオグリコール酸リグニン量とした。

各試料のKlason処理は含窒素化合物や細菌菌体アセトン末単独の場合は各0.5gを、また、炭水化物と共存させる場合はそれぞれ0.25gを用いた。リグニン試料と共存させる場合も同様に各試料をとりKlason処理を行った。

その他の分析はすべて前報で用いた方法に従った。なお、今回用いた試料にはかなりの灰分が含まれていたので分析値は灰分補正を施した数値を示した。

## 3. 結果および考察

前報では試料をスギ林林床に設置した後14ヵ月経過のものまでを分析に供した。今回はそれ以降38ヵ月の試料(A系列)を用いた。試料は針葉の原形を留めていたが黒変しており、後期に採取した試料ほど脆くなっていた。20ヵ月経過以降の試料にはせん苔類の侵入が観察されたが量的にはそれほど多くはなく、採取後試料との分離は容易で

あった。なお、草本類の種子が侵入し発芽したのも僅かながら存在した。これらの異物は試料風乾前に可能なかぎり除去した。生分解の進行に伴い試料中に混入する無機物は増加してゆきほぼ2ヵ年以降の試料では10%以上3ヵ年以降では20%以上の灰分が含有されていた(Table 2-A, 2-B)。

A系列より1年後に設置したB系列の試料もほぼ同様の経過をたどった。これらのリター試料の各成分を分析した結果について次に記述する。

### 3-1 抽出成分の経時変化

前報で報告したようにリター試料の抽出成分の経時的な変化、特に温水および有機溶媒抽出成分の変化は試料を林床に設置後の数ヵ月間で大きい。このような傾向はB系列の試料(Table 2-B)やワグナーポット内で分解させたスギ落葉の場合<sup>4)</sup>でも同様に観察され、スギリターの経時変化のかなり一般的な特徴と考えられる。設置1ヵ年経過後の変化はA系列の温水抽出物ではあまり大きくないが徐々に低下してゆき、3ヵ年経過後には8~9%となる。B系列の試料でも同様な傾向がみられるが抽出物量の減少は特に夏季に多い。有機溶媒抽出物量は両系列とも徐々に低下し7~9%程度に落ち着く。希アルカリ抽出物はA系列では腐朽の進行と共に徐々に増加し前報で述べたように1年目の春~夏季に最大の値をとる。しかし、2年目からはTable 2-Aのように減少しはじめ50~60%の値を示した。B系列ではこの値はA系列の場合のように特に増加することはなく、変化は少なかった。これらの差異はB系列の設置試料に用いた成熟針葉が既に微生物の影響をある程度受けていたためとも考えられる。しかし、いずれにしても腐朽の進行と共に著しい希アルカリ抽出物量の増加のない点は、腐朽の進行により希アルカリ抽出物量が増加してゆく木材の腐朽傾向とは大きく異なっている。

### 3-2 炭水化物成分の経時変化

針葉の炭水化物成分はTable 2-Aおよび2-Bのように林床上で経時的に徐々に分解してゆく。炭水化物成分減少の程度は森林土壌の生物活性の微弱な冬季には少なく、それ以外の時期には大きい。ホロセルロースの残存量はA系列の試料ではほぼ

2ヵ年経過後40%前後になりそれ以後の分解速度はかなり低くなる。 $\alpha$ -セルロースの減少傾向もほぼ同様である。前報で述べたように針葉の分解進行に伴いセルロースの非晶領域が比較的速やかに分解され結晶化度の高い部分が残されその難分解性のために分解速度が低下するものと推定される。一方、ホロセルロースと $\alpha$ -セルロース定量値の差は前報のように試料設置1年後までは経時的に増加するが、それ以後は低下してゆく。 $\beta$ -セルロース含量を考慮すると生分解の進行により一時的に蓄積された比較的難分解性のヘミセルロース部分も徐々に分解されるものと考えられる。なお、B系列の成熟針葉 (sample 1) は $\beta$ -セルロースを2.7%も含んでおり上述のように設置前に既に腐朽が若干進行していたことを示している。

なお、B系列の試料はA系列のものに比べて生分解の速度が明らかに速やかである。試料の設置を行った林床はスギ疎林の林縁部であり $A_0$ 層の乏しい場所であった。したがって、1984年9月、はじめてA系列の試料を設置した時点では林床のマイクロフローラも貧弱であったことは容易に想像できる。しかし、リターバッグを敷き詰めたためにマイクロフローラは次第に豊富なものとなり、しかも、それらの微生物はスギ針葉有機組成成分を分解する能力が誘導され強化されていったものと考えられる。このような場所に翌年の1985年9月にB系列の試料を設置したのでB系列の試料は設置前に既に微生物の影響を若干受けていたことと相俟って、かなり速やかに生分解を受けたものと推定される。

Table 2-A Chemical composition with making ash correction of the original and decomposed leaf litter samples of Japanese cedar.

Sample A		1	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Solubility	Hot water	20.0	5.7	7.7	9.3	9.1	8.5	4.4	6.3	4.2	4.2	5.9
	EtOH-Benzene	15.4	6.5	8.2	8.0	7.2	7.3	7.4	7.3	7.5	7.2	6.7
	1% NaOH	45.0	52.2	53.2	56.5	58.8	55.6	49.8	51.3	46.6	66.6	56.6
	Holocellulose*	54.7	49.1	45.4	46.3	42.8	42.2	44.5	39.6	38.8	46.3	43.0
	$\alpha$ -cellulose*	39.8	34.5	32.0	30.8	30.4	29.1	31.6	25.1	27.6	35.3	31.8
	$\beta$ -cellulose*	0.1	1.2	6.4	7.0	3.1	2.4	2.6	3.6	2.5	4.8	6.0
	Klason lignin*	46.1	59.4	63.8	68.6	69.8	68.2	73.2	68.5	70.4	80.3	77.9
	Cutin acid*	11.6	5.9	6.3	4.0	2.1	2.1	—	—	—	—	—
	Ash	5.2	5.2	8.5	9.2	13.6	10.1	15.0	9.0	12.8	24.9	20.5

in percent of extractive-free sample

Table 2-B Chemical composition with making ash correction of the original and decomposed leaf litter of Japanese cedar.

Sample B		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Solubility	Hot water	29.0	7.0	9.1	5.1	5.0	8.0	7.9	7.8	7.0	5.1	6.8
	EtOH-Benzene	27.8	10.1	9.5	8.2	8.5	7.9	7.7	7.0	9.1	8.0	8.3
	1% NaOH	59.6	53.8	57.7	56.4	51.6	57.6	49.4	55.0	54.5	58.3	59.1
	Holocellulose*	66.8	43.4	40.3	43.3	45.9	43.6	44.4	44.5	43.8	34.3	44.8
	$\alpha$ -cellulose*	51.7	38.0	30.4	32.9	33.6	29.9	32.7	31.9	33.4	29.3	31.9
	$\beta$ -cellulose*	2.7	1.9	2.2	2.3	3.9	3.5	3.3	2.7	4.3	4.4	5.1
	Klason lignin*	35.7	60.0	65.5	68.3	71.5	67.2	67.7	68.1	73.6	70.2	75.5
	Cutin acid*	24.8	11.5	9.5	7.4	5.9	0.5	1.7	—	—	—	—
	Ash	3.4	4.5	7.3	9.8	12.0	8.9	9.9	10.4	16.2	13.7	18.3

in percent of extractive-free sample

3-3 Klasonリグニン、チオグリコール酸リグニンおよびクチンの経時的変化

スギ針葉のKlasonリグニンはTable 2Aおよび2BのようにA系列の成熟針葉では46.1%、B系列では35.7%である。これらは林床上で生分解の進行にしたがって経時的に増大し、Fig.1-AおよびFig.1-Bのように約70%に達した後ほぼ一定の値

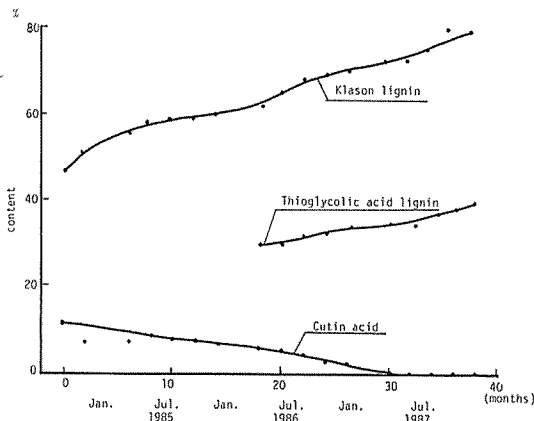


Fig.1-A Changes in content of cutin acid, thioglycolic acid lignin, and Klason lignin during the decomposition of Japanese cedar leaf litter (series A).

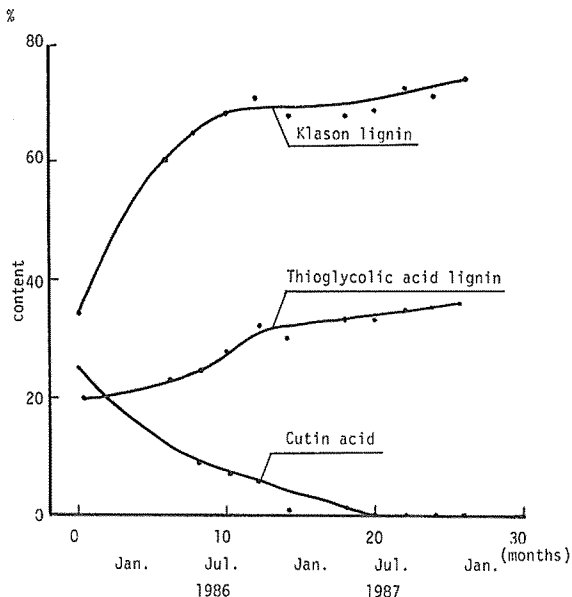


Fig.1-B Changes in content of cutin acid, thioglycolic acid lignin, and Klason lignin during the decomposition of Japanese cedar leaf litter (series B).

を示している。この場合にもB系列の試料は前述の炭水化物部分の速やかな分解の影響によって経時的なKlasonリグニンの増加がA系列のものに比べて大きい。一般にタンパク質や核酸に富む幼植物や腐朽植物などのKlasonリグニンは窒素を含有し、その定量値は予想される値より過大な値を与えることは周知のところである。前報においても針葉試料Klasonリグニンの窒素含量は1.15%、14ヵ月経過までのリターも1%前後の値を示していた。今回のB系列の試料のKlasonリグニン中にもTable 3のようにやはり1%以上の窒素が見いだされている。針葉試料では植物体のタンパク質

Table 3. Elemental analysis of Klason lignin from the leaf litters

Series B	N	C	H
1	1.4%	58.9%	5.9%
3	1.2	49.9	5.0
4	1.3	54.7	4.5
5	1.3	53.9	4.3
6	1.2	56.7	4.5
7	1.1	50.4	3.9
8	1.4	56.9	4.6
9	1.3	51.6	4.1
10	1.0	42.9	3.3
11	1.1	48.0	3.8

Table 4. Changes in content of thioglycolic acid lignin with making ash correction during the decomposition of the leaf litter.

Sample	F-1	F-2	TGL
1	7.7	12.8	20.5
2	8.2	13.8	22.0
3	3.7	19.6	23.3
4	8.0	19.1	27.1
5	6.8	25.3	32.1
6	7.9	19.3	27.2
7	8.0	24.8	32.8
8	7.7	24.1	31.8
9	6.7	26.4	33.1
10	8.2	24.9	33.1
11	7.7	27.8	35.5

in percent of extractive-free sample  
 F-1 : ethanol soluble fraction  
 F-2 : alkaline soluble fraction

および核酸がKlasonリグニン定量値を過大なものにしてしていると推定される。また、リター試料では腐朽の進行にしたがい土壌生物に基づくタンパク質や核酸あるいはそれらの変質過程にある物質と、腐朽過程にある針葉成分によって生成される腐植様物質などが試料中に堆積することも定量値増加の一因であると考えられる。

そこで、タンパク質やポリフェノール類などに富む非木化植物のリグニン研究に有効<sup>5)</sup>であるとされているチオグリコール酸法を用いてこれら試料の測定を行ってみた。針葉およびリターのチオグリコール酸リグニン量はFig.1-Aおよび1-Bのように林床上で生分解の進行とともに経時的に増加してゆきKlasonリグニンの場合と同様にはほぼ1ヵ年経過後まで増加し、その後はあまり大きい変動はない。しかし、チオグリコール酸リグニン量はKlasonリグニン量のほぼ半量あるいはそれ以下の定量値を示している。チオグリコール酸リグニンは低分子部分からなるエタノール可溶画分

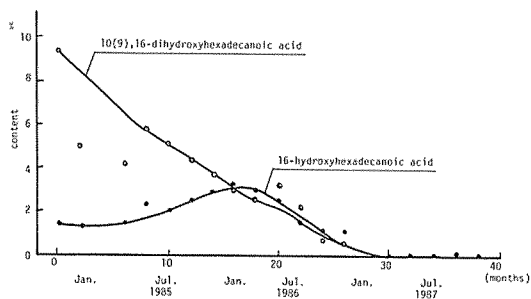


Fig.2-A Changes in cutin acids content during the 38-months decomposition period (series A).

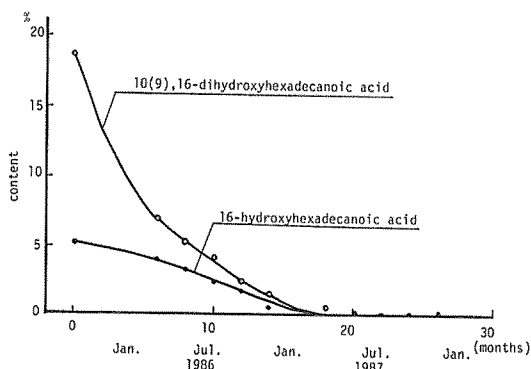


Fig.2-B Changes in cutin acids content during the 26-months decomposition period (series B).

Table 5. The influence of protein coexisted on quantitative values of Klason lignin

M W L	Glutenin	Xylan	Klason lignin
Gourd* (Hyoutan)	-	-	59.1%
	+	-	89.6
	+	+	90.0
	-	+	58.9
Poplar**	-	Cellulose	59.4
	-	-	68.2
	+	-	79.8
Hinoki***	-	-	82.3
	+	-	108.1
	+	+	108.3

Gourd\* : *Lagenaria leucantha* Rusby var. *Gourda* Makino

Poplar\*\* : *Populus nigra* var. *italica* Du Roi

Hinoki\*\*\* : *Chamaecyparis obtusa* Endlicher

(F-1)と高分子部分のアルカリ可溶画分(F-2)から構成される<sup>3)</sup>。B系列試料のチオグリコール酸リグニンの内容はTable 4のように健全針葉(sample 1)では低分子部分のF-1が多く、F-2は比較的低い値であり、樹幹の周皮のそれ<sup>3)</sup>に近い値である。針葉試料のチオグリコール酸リグニン量は同試料のクチン酸含量を下回る値である。したがって、針葉表面を覆うクチンはチオグリコール酸法処理によってかなり除去されるものと考えられる。一方、リター試料では腐朽の進行にしたがってF-1含量は低下し、F-2は大きく増加してゆく。リター試料のチオグリコール酸リグニン含量は前述のようにKlasonリグニンの半量またはそれ以下に減少しているのでリグニン以外の夾雑物の量はかなり減少しているものと考えられる。そこでチオグリコール酸法を用いてタンパク質(グルテン)および人工腐植酸の処理を行ったところ前者では6.7%のチオグリコール酸リグニン相当物が得られたのみであった。これに対して人工腐植酸では実にその67.1%がチオグリコール酸リグニン相当物として定量された。すなわち、タンパク質そのものはチオグリコール酸リグニン定量値に大きい影響を与えないが生分解過程で生成する腐植様物質は定量値に極めて大きい影響を与える可能性があることを示唆している。B系列リター試料2のチオグリコール酸リグニンの窒素

含量を測定してみたところ0.8%であった。上述の実験の結果からリターチオグリコール酸リグニンの窒素は、そのほとんどが腐植化した部分に基づくものと考えられる。なお、同リター試料Klasonリグニンの窒素含量は1.0%であったので含窒素物質の除去に関するかぎりチオグリコール酸法は必ずしも優れた方法とはいえずむしろ腐朽針葉のリグニン定量には不適当なものである。なお、幼植物、カルスのチオグリコール酸リグニン中に2~9%の窒素が含まれていたという報告<sup>3)</sup>もある。

針葉表面のクチンを構成するクチン酸は前報で報告したように腐朽の進行にしたがい分解してゆく(Fig.1-A、1-B)。スギ針葉クチンを構成する主要なモノマーは10(9)、16-ジヒドロキシヘキサデカン酸および16-ヒドロキシヘキサデカン酸であり成熟針葉中には前者が後者の3倍以上存在する。しかし、生分解の過程では前者の減少が著しくFig.2-A、2-Bのように16ヵ月経過後、両モノマーは分解が進みほぼ同量となる。その後は同じような速度で生分解が進行し、A系列のリターでは30ヵ月、B系列のリターでは20ヵ月後にクチンは完全に消滅している。針葉リターのクチンは林床上で以上のように生分解されてゆくの、針葉リターのKlasonリグニン測定値に及ぼす影響は林床上での時間の経過と共に急激に減少してゆく。A<sub>0</sub>層の乏しいスギ疎林の林床で2~3年、A<sub>0</sub>層に富む林床では1.5~2年後にはクチンはほとんど完全に分解されるのでKlasonリグニン定量値に及ぼす影響はほぼ皆無となる。しかし、リターの生分解にともない腐植物質が急速に生成してくるものと考えられリターの見かけのKlasonリグニン値は林床上での時間経過と共にFig.1-Aおよび1-Bのように増加しその後は腐植物質の生成と分解が平衡状態となり約70%ではほぼ一定値に達するのであろう。

### 3-4 針葉およびリター試料のKlasonリグニン定量法の検討

針葉およびリター試料のKlasonリグニン定量値は幼植物やカルスなどの場合と同様過大な値を与え、そのKlasonリグニン中には常に窒素が見いだされる。Klason処理中に試料に共存するタンパク

質、アミノ酸、核酸などの含窒素化合物がリグニンまたは他の成分と重縮合し濃厚硫酸や熱希硫酸に不溶の物質に転化するものと推定される。これを確かめるために各種試料を常法にしたがいKlason処理を行ってみた。試料タンパク質は単純タンパク質のアルブミンからは血清および卵白アルブミン、グロブリンからはエデスチン、グルテリンからはグルテニン、プロラミンからはゼインを選び出した。アミノ酸は芳香族アミノ酸のL-フェニルアラニン、L-チロシン、L-トリプトファン、含硫アミノ酸のL-メチオニン、他にL-グルタミン酸を用いた。核酸関連物質としてはプリン塩基のアデニンおよびグアニンを用いた。炭水化物はセルロース粉末、キシラン、グルコース、グルコサミンを使用した。その他細菌菌体のアセトン末なども使用した。その結果、各含窒素物質はそれぞれが単独でKlason処理をされた場合にも、また、各種炭水化物と共存下に処理された場合にも沈澱は一切生成しなかった。

これに対してリグニン試料と上記物質のうちタンパク質および炭水化物を共存させKlason処理を行った結果をTable 5に示す。Klasonリグニン値は摩砕リグニン(MWL)に木材多糖類が共存してもMWL単独の場合とほぼ同様な定量値を与える。しかし、MWLにタンパク質が共存するとKlasonリグニン値は確実に上昇しヒョウタンMWLの場合にはリグニン単独の定量値に比べ1.5倍以上、ポプラMWLの場合には1.2倍、ヒノキMWLでは1.3倍以上(エデスチン)、および1.23倍(卵白アルブミン)高い定量値を示した。また当然のことながら、いずれの場合にもセルロースやキシラン共存の影響はほとんど見いだせなかった。

McCarthyら<sup>6)</sup>はリグニンおよび炭水化物を含む溶液にタンパク質を共存させて酸性化するとリグニンとタンパク質が共沈する現象を見いだしており、酸処理によりタンパク質とリグニンの間で相互作用が起こることを示唆している。おそらく硫酸を用いるKlason処理によっても類似の反応が起こりKlasonリグニン定量値を過大なものとしてしまうのであろう。

また、リターの過大なKlasonリグニン値から、

タンパク質より一般に窒素含量の低い腐植物質も類似の行動をとりリグニンと共沈するか或は腐植物質単独でもKlason処理によりかなりの部分が沈澱するものと考えられる。

植物体のリグニンを定量する際上記の含窒素物質の影響以外にも、化学的手法でリグニンを可溶化し或は不溶化し他の成分と分離しようとするとき必然的に共存する他成分の影響を受けることはほとんど避けられないことであろう。特にKlason法では僅かではあるが炭水化物部分による影響<sup>7)</sup>や、かなり大きい縮合型タンニンの影響<sup>8)</sup>などが報告されている。したがって、リグニンの正確な定量を行うには化学的処理を行わずリグニンに特有な物理的な特性を非破壊的に測定しようする手法が望ましい。そのような意味ではリグニン芳香核炭素の伸縮振動に着目した拡散反射FT-IR法<sup>9,10)</sup>などは大いに期待されるものと言えよう。

#### 4. 結 論

前報に引き続き18~38ヵ月のリター試料有機組成成分を分析し、さらに針葉試料の設置を1ヵ年間遅らせたリター試料も分析した。針葉表面を覆いスギ針葉の10~15%を占めるクチンは比較的易分解性であり本学演習林では20~30ヵ月程度で完全に分解された。生分解の進行にしたがいリターのKlasonリグニンは増加し約60%に達した。このKlasonリグニン中には1%強の窒素が含まれ針葉に共存するタンパク質や、リター中に存在する土壤生物由来の含窒素化合物、初期の腐植化した物質などがKlason処理によって希硫酸不溶のものとなり定量値を高めた可能性がある。この推定を確かめるためタンパク質、アミノ酸、核酸関連物質をKlason処理したところ、いずれも沈澱を生成しなかった。しかし、タンパク質に摩擦リグニンが共存するとタンパク質のかなりの部分が摩擦リグニンと共沈しKlasonリグニン値を過大にすることが明らかになった。これらの影響を少なくするためチオグリコール酸法によりリター中のリグニンを定量したところその値はKlasonリグニンの約半量となったがチオグリコール酸リグニン中にも窒素が見いだされリターリグニンの正確な定量にはこの方法も不適當であった。

この研究を進める過程で種々ご助言をいただいた名古屋大学農学部林産化学講座、寺島典二教授はじめ教官各位に深謝致します。また、演習林使用に際し種々便宜を計られた名古屋大学農学部付属演習林の皆様へ感謝致します。さらに実験の一部にご協力いただいた北村繁幸技官に謝意を表します。

#### 文 献

- 1) 川上日出國、草島すなお、杳名重明：名大演報、No.9, 44-50(1987)
- 2) 川上日出國：木材学会誌、22, 252-257(1976)
- 3) Venverloo, C. T.: Acta Bot. Neer., 18, 241-314 (1969)
- 4) 仁王以智夫、春田泰次、川上日出國：東大演報、No.81, 21-37 (1989)
- 5) 中野準三(編)：“リグニンの化学-基礎と応用-”、ユニ広報、1979, p.47-48
- 6) McArthy, A.J., Paterson, A., and Broda, P.: Appl. Microbiol. Biotechnol., 24, 347-352 (1986)
- 7) Matsumoto, Y., Ishizu, A., Nakano, J., and Terasawa, K.: J. Wood, Chem. Technol., 4(3) 321-330(1984)
- 8) Leary, G. J., Newman, R. H., and Morgan, K. H.: Holzforsch., 40, 267-272(1986)
- 9) Faix, O.: ibid., 40, 273-280(1986)
- 10) Berben, S. A., Rademacher, J. P., Sell, L. O., and Easty, D. B.: TAPPI J., 70(11), 129-133 (1987)