Osaka Prefecture University

Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B.
大阪府立大学紀要，農学・生物学 Vol. 15, 1564

たい肥腐植様物質の性状およびその生成に関する研究

立　野　恒　夫

Properties of Humus-like Substance in Compost and its Process of Formation

Tsuneo TATSUNO

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture
(Received August 30, 1963)

Summary

Although there have been many studies on soil humus since SPRENGEL (1826), the properties and formation of extractable humus-like substance from compost are as yet obscure. Besides, the suitable methods for investigation of them have not been sufficiently established.

For the purpose of throwing light upon humus-like substance in compost, the titration curve method of TANFORD was introduced into determining of dissociation radicals in humus-like substance; a procedure of pH-T curve for developing flocculation-beginning point and a refining process of humus-like substance with ion-exchange resins and electrodialysis were deviced.

It has been found that there are two fractions in extractable humus-like substance from well-rotted compost. One fraction is soluble, as well as soil true humic acid, in SIMON's pH4 sodium acetate buffer solution, but the other is insoluble in the above solution, even after eliminating sesquioxides to below ca. 0.4 % by treatment with neutral 0.1 M sodium pyrophosphate. Therefore, the former was termed "true humic substance" for avoiding a confusion with soil true humic acid, and the latter "rotted product" arbitrarily by the author.

When well-rotted straw compost was treated with mild extractants: e.g., 0.1M sodium pyrophosphate, N/4 sodium oxalate, or dilute solution of sodium hydroxide, true humic substance and fulvic acid were obtained. True humic substance sedimented in the middle room of the PAULI dialyzer after electrodialysis, in state of sol, due to its hydrophilic property. This character was also observed in the case of soil true humic acid, which was soluble in SIMON's pH4 buffer solution.

When the residue, from well-rotted compost, after exhaustive extractions of true humic substance with mild extractants was subsequently treated at a temperature of about 100°C for 1 or 2 hours with 0.5 % sodium hydroxide, rotted product and fulvic acid were extracted. Rotted product was hydrophobic as well as lignin obtained from straw, and it had less amount of acid radicals than true humic substance. Then, rotted product precipitated in the middle room of the dialyser in state of gel after electrodialysis, and it had a higher flocculation-beginning point than true humic substance.

When true humic substance was treated, in order to know the degree of its denaturation, at a temperature of 100°C with 5% sodium hydroxide for 22 hours, humic substance which flocculated by adding mineral acid, was recovered in amount of only 20% of the initial true humic substance, acid soluble compounds being found in amount of about 40%, and the remainder was thought to have been released as gas during treatment.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

The absorption coefficient of the recovered humic substance became far less than the initial one, but the original property of solubility in SIMON's pH4 buffer solution was still maintained; also the recovered humic substance sedimented in sol state after electrodialysis. So it is evident that the rotted product, which is insoluble in SIMON's pH4 buffer solution, could not be produced by conversion from true humic substance, under the usual conditions of extraction from compost.

Interaction between the purified humus-like substance of compost and the purified H-bentonite-colloid, being passed over columns of first IRA-400 and then IR-120, was not observed from the additive effect on the titration curve.

It was recognized from the titration curve that co-ordination compound of humus-like substance with aluminum was easily formed, but humus-like substance required more time to combine with iron than with aluminum.

The formation of complex compound of humus-like substance with boric acid was not found from the cumulative effect on the titration curve. Accordingly, even if humus-like substance had adjacent hydroxyl groups, the positions of them were presumed not to be held in cis or ortho form, but in trans, meta, or para form. The conditions which were able to accelerate the decomposition of straw compost were observed as follows: (1) sufficient supply of air, (2) addition of moderate amount of calcium and nitrogen, and (3) maintenance of temperature adequate to thermophilic microorganisms.

Compared true humic substance, rotted product, fulvic acid, and nonextractable organic matter from each two or three months elapsed compost, with those from one month elapsed one, respectively, in yields to the initial air dry straw material, the following relations were found : non-extractable organic matter decreased, and rotted product generally decreased or remained unchanged, also fulvic acid decreased, nevertheless true humic substance remained unchanged or increased. Thus, it may be assumed that rotted product was formed from decomposition of non-extractable organic matter, and the rotted product gradually converted to true humic substance according to progress of decomposition, and fulvic acid participated with the formation of true humic substance.

True humic substance was not obtained from the compost prepared under perfect anaerobic condition, but only rotted product was extracted with mild extractants, even from three months elapsed one. On the contrary, from the compost under the most aerobic condition, even without nitrogen supplied, true humic substance was obtained in comparatively higher yield.

In accordance with KONONOVA's opinion on soil humic acid, the formation of humus-like substance is supposed to be due to condensation of polyphenol produced by depolymerization of lignin, carbohydrate and etc., with protein, polypeptide, and uronic acid which are decomposed products or metabolic substances by microorganisms.

Thus, rotted product in humus-like substance is considered to be at the preliminary stage of condensation products by microorganisms, and true humic substance is presumed to be in the more advanced stage by aerobic microorganisms. This is emphasized by the fact that the formation of true humic substance appeared to participate with aerobic fermentation, and the chemical equivalent of true humic substance became less than that of rotted product.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

緒　　論

耕地から年々失われる窒素および炭素の量はかなり多いことについて BARBIER と GUENNELON[1] は34の耕地からの有機物の損失を統計的に研究し，7カ年間に平均0.06±0.02%の窒素および0.6±0.4%の炭素を失ったと報じている．また今関博士は水田においては一カ年間10アール当り 69.2kg の腐植を消耗すると述べている．もちろん気象条件や土壌条件によって差異はあるが概してこのように多量の炭素が失われる事実から地力の維持増進上有機物の補給が大切であるといえる．古くから緑肥の栽培施用あるいは豆科緑肥の輪作が重んじられているが，わが国では広義のたい肥の施与によることが最も多いようである．

また有機物の含量の多い火山灰地などで，リン酸吸収係数の高い土壌では腐植含量は多いが，やはりたい・きゆう肥の施用が有効とせられている．

たい肥は稲わら，麦わらその他野草，農産廃棄物等を原料としてきたが，近年農村労力の不足やたい肥資源の減少等の事実から都市塵芥等からの高速たい肥や天然に豊富に産する泥炭，草炭の加工による人工たい肥等に関心が向けられるようになってきた．

たい・きゆう肥は地力の増強，微量成分の補給，土壌緩衝能の増大ならびに土壌微生物の活性を高めて土壌の物理性の改善等に効があることが認められているが，BRAGE[2] らもたい肥施用区と不施用区の比較試験を30年間行った結果，施用区は塩基置換能および塩基含量の増加を来したと言っている．

土壌の団粒化の点からすると近年発明された合成樹脂を原料とした土壌改良剤がその施用能率においては優れているが，経済上の点でいまだ十分な普及化には至っていない．

また前記綜合的効果の観点からすると土壌に対するたい・きゆう肥あるいは広く有機物の施用はなお，十分な関心を寄せるべきものと考える．近年，腐植酸の植物に対する直接的効果を論じた報告[65]も散見する．またたい・きゆう肥が土壌の固定リン酸の開放に役立つといわれ，腐植様物質が acidoid として作用し粘土コロイドの等電点を低下し肥料中のリン酸がケイ・リン酸塩となるのを防ぐことが知られている．たい・きゆう肥のこれらの効果は主として，それらに包蔵する腐植様物質によるものである．

いったい，土壌の腐植酸については多くの研究者により広範な研究がなされてきたが，なお不明な点が多い．一方土壌に施されない前の土壌腐植の前駆物質と考えられるたい肥の腐植様物質の性状に関する研究はきわめて少ないのである．この研究は主として滴定曲線による腐植様物質の解明と，またその生成機構の幾分でも明確にしようとして行われたものである．

本研究の原論文は第1編にたい肥の腐熟過程と腐植様物質の性状についてしるし，第2編にたい肥腐植様物質の滴定曲線に関する研究を述べ，第3編に各種の腐熟条件によるたい肥の腐植様物質の生成についてしるし，1960年5月まとめて少部数謄写，頒布したものである．しかしそのうち第1編に関する部分は既に本学紀要に報じているので[21,61]，本文においてはそれらの既報の部分を省き，主として第2編を第1部に，第3編を第2部として改編し，また滴定曲線のそれぞれの実験条件に関する data は紙面の関係上，できるだけ省略し，なお若干，知見を加えて論じたものである．

附言　たい肥腐植様物質およびその二成分に対する命名の理由

そもそも腐植とは土壌中において動植物質の遺体が分解を受け，土壌成分との接触によって生成した有機物で，土壌をアルカリで処理して得られる黒褐色液のうち，酸を加えて沈降するものを ODEN[3] により腐植酸と名付けられたのであるが，土壌に施されない前のたい肥は土壌中での変化を受けていないから，その中に含まれる黒褐色物は土壌腐植と同義に解すべきではない．もちろん，たい肥の腐熟過程においても土壌中における植物質の分解過程とひとしく微生物の作用によるものであるが，その大きな差異は土壌中には粘土コロイドが存在することであり，たい肥においては粘土コロイドとの接触作用のないことであろう．また微生物の種類や分布も個々の土壌によって異なることはもちろんであるがたい肥とはかなり相違があろう．たい肥の場合は微生物の活動が最盛期を過ぎると衰退期にはいり，その後は変化が少ないが，土壌の場合は絶えず気候，雨量等に影響されゆるやかであるが長く継続した変化が行われてゆくわけである．それらの意味で土壌腐植酸との意味の混交を避けるために，たい肥風乾物を緩和なアルカリ塩溶液または希薄アルカリ液で抽出を行い，溶出した褐色液に酸を加えて pH 1～2 とし沈殿する部分を腐植様物質と命名し，沈殿しない部分をフルボ酸と呼ぶことにした．

SIMON[4] は泥炭土壌や湿田土壌あるいは腐朽木材のリグニン質の混在した土壌では腐朽物質が存在するこ

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

とを指摘し，土壌をアルカリによって抽出し，抽出液を酸で沈殿させ，フルボ酸を分けて得られた腐植酸部分について，水で洗浄の後 pH 4 の SIMON の醋酸塩緩衝液（以下簡単に "SIMON の液" と略称する）による溶解度を調べ，その溶ける部分を真正腐植酸，溶解しない部分を腐朽物質として分離した．この方法はわが国においても広く応用せられたが奥田・堀[5]によって高位地土壌の腐植のうち，"SIMON の液" に溶解しないものは鉄やアルミニウムが結合した真正腐植酸であって，これを中性ピロリン酸ソーダで処理しこれらの金属を除いた場合，"SIMON の液" に溶けることが発見された．

そこで土壌をアルカリで抽出し，酸で沈殿させ，これを "SIMON の液" で処理して溶解するものを真正腐植酸，溶解しないものを腐朽物質として分けることは腐朽物質を字義通りの意味における未熟の腐植質と解する限りでは，その分離操作上において不十分であり，このようにして分けた腐朽物質の中には真の腐朽物質のほかに鉄，アルミを結合した真正腐植酸も交じるわけでその量を過大に算出する虞がある．したがって "SIMON の液" で腐朽物質を分ける場合には試料中の鉄，アルミ含量を少なくする精製処理が必須条件であるといえる．

さて，たい肥腐植様物質は土壌腐植と比較するとき，前段階的性格を持つことは後説の吸光係数，メトキシル基の含量等からも明らかであるがこれをアルカリで抽出して得られた腐植様物質のうち，中性ピロリン酸で前処理を行った後にも "SIMON の液" に可溶なものと不溶なものとがあることが[61]わかった．

そして不溶のものは色はやゝ淡色であるが，溶けるものは色は比較的濃く土壌腐植酸のB型に若干似た点がある．しかし，その吸光係数においては土壌腐植酸とかなり差異があり，前段階的性格を持つことは明らかであるが，"SIMON の液" に可溶である点において，土壌腐植酸B型と近縁関係にあることは否定できない．そこで本報告においてはこれをたい肥真正腐植質と命名し，土壌の真正腐植酸とは区別した．また "SIMON の液" に溶けない acidoid 性の低いものをたい肥の腐朽物質と名付けた．もちろん厳密には前者はたい肥の真正腐植酸様物質，後者はたい肥の腐朽物質様のものの意であることを表明したい．なおこのたい肥真正腐植質は土壌にはいった場合，土壌化作用を受けて真正腐植酸に転移してゆくものと考えている．

第1部　たい肥の腐植様物質の滴定曲線ならびにその分類に関する研究

たい肥の風乾物をアルカリまたはアルカリ塩で抽出して得られる腐植様物質について滴定曲線によってその解離基の量や性質を調べる研究は従来少なかった．もっとも石川・高市[6]らはスギ材粉から得たリグニンについて寺山の創始したコロイド滴定法による試験を行い，リグニン中にはカルボキシル基およびフェノール性水酸基が存在すると報告した．もとより腐植様物質はリグニンと類縁関係にあるとは考えられているが，かなり変質したものでまた，リグニンのみでなくその解重合産物ポリフェノールが関係し，微生物分泌物やその遺体の成分との化学的反応が行われており，タンパク質，アミノ酸等の干与している部分が多いから従来タンパク化学において COHN[7], GREEN[8], TANFORD[9] らが行った方法を応用するほうがよいと考え実験を企図した．

なお，たい肥の場合は混在する無機成分が，タンパク等純粋に分離されたものに比べて非常に多いからその分離精製を行い，滴定曲線の方法も腐植様物質に適するようにくふうした．

第1章　腐植様物質の滴定曲線の原理および用いた方法

腐植様物質の溶液に，ある量の一酸塩基たとえば $\Delta C°_{OH^-}$ ミリ当量のカセイソーダを加えれば，溶液の pH は高くなる．この pH の増加に相当する遊離の水酸イオン濃度の増加（ΔC_{OH^-} ミリ当量とす）は加えた塩基が完全に解離し，かつ水酸イオンが腐植様物質のもつ水素イオンと全く結合しなければ，加えた塩基の量 $\Delta C°_{OH^-}$ ミリ当量に等しいはずである．しかし実際には ΔC_{OH^-} は $\Delta C°_{OH^-}$ よりも小さくなる．ここに両者の差 $\Delta C°_{OH^-} - \Delta C_{OH^-}$ が腐植様物質のもつ水素イオンと結合した水酸イオンのミリ当量に相当する．換言すれば腐植様物質に結合したナトリウムイオンの量である．今このような腐植様物質に対するナトリウムイオンの結合量を測定するための一方法として，一定量の精製した試料に種々の濃度のアルカリ溶液を加えて，同一容量の試料溶液を多数つくる．なおアルカリ液としては強塩基であるカセイソーダを用い，かつ各溶液に適当量の塩化ナトリウムを加えて，腐植様物質以外の塩による各溶液のイオン強度が，ほぼ等しくなるように調節することが必要である．一定時間の

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

後，試料が完全に解離してから各溶液の pH の値を一定温度で測定して，その pH と活動度係数の値を用いて各溶液中の遊離の水酸イオンの量すなわち ΔC_{OH^-} を求めるわけである．さて pH は厳密には次の式で表わされる．

$$pH=\log[\Delta C_{OH^-}](\gamma'_{OH^-})/K_W$$

こゝで $[\Delta C_{OH^-}]$ は遊離の水酸イオンのモル数であり γ'_{OH^-} はその pH における水酸イオンの活動度係数である．K_W は水の電離定数で HARNED[10] らによると 25°C で 1.0083×10^{-14} と求められている．したがって，ΔC_{OH^-} を算出するためにはそれぞれの pH における活動度係数 γ'_{OH^-} の値を知る必要がある．しかし腐植様物質の存在するままで水酸イオンの活動度係数の値を厳密に求めることはできないから，溶液の活動度係数に対して，腐植様物質の影響を無視しえると仮定し，その値はイオン強度を同じくした単純な塩基の溶液の各 pH における活動度係数の値と等しいとすればよい．

実際に TANFORD[9] がタンパク質の滴定曲線を求める際には，この仮定の下に測定した値を用いている．

筆者は TANFORD のイオン強度0.150の場合の単純な溶液の各 pH における活動度係数の表を用いて，本研究においてもイオン強度を 0.15にして実験を行い滴定曲線を求めたのである．第1表にこの値を示した．

Table 1. Hydroxyl ion activity coefficients*

pOH	$-\log\gamma'_{OH^-}$(25°C)
1.5	—
2.0	0.205
2.5	0.220
2.8	0.248
3.0	0.248
4.0	0.248

*From data by TANFORD[9].

次に各溶液に加えたカセイソーダ量，$\Delta C^\circ_{OH^-}$ と各溶液中の遊離の水酸イオンの量，すなわち ΔC_{OH^-} とからナトリウムの結合量が算出できる．

そこで腐植様物質に対するナトリウムイオンの結合量と pH の関係を図示して滴定曲線を描く．

しかし，このようにして多数の腐植様物質試料溶液を用意し，各種の濃度のカセイソーダ量を入れて，そののちに pH を測定する方法は試料の量が多く必要であり，また煩雑でもあるので簡便化のために LINDERSTRÖM-LANG[11] が Clupein について行ったように，カセイソーダを加えてゆき，1回ごとに溶液の pH を測定して結合量を求める方法が考えられる．

しかし，この場合腐植様物質で問題になるのは反応平衡時間である．すなわち，上記 Clupein の場合のように，カセイソーダを加えて滴定する場合と，最初にカセイソーダを加えて平衡に達してから酸で滴定する方法に分れる．前者の場合は pH が平衡に達するのに，中性，アルカリ性の領域ではかなり時間がかかるが後者の場合は2，3分で平衡安定することを予備試験で知った．また，弱電解質形イオン交換樹脂 IRC-50 の滴定曲線を求める場合も H 形にカセイソーダを加えても平衡時間は数時間を要するが $Na\text{-}R\xrightarrow{HCl}H\text{-}R$ は速やかである事実がある．なお，乾燥粉末状の腐植様物質の場合，一たんカセイソーダに溶解してから行ったほうが操作上にも便利であるから筆者は後者の方法を採った．この場合，酸を加えてゆくたびごとにイオン強度の変化が大きくならないように，初めに十分量の塩化ナトリウムを加えておく必要がある．また酸を加えることによる容積の増加も無視できるようにミクロビューレットを用いて割合に濃い酸を少量ずつ加えることが大切である．なお，この腐植様物質の滴定曲線の方法において最初に加えたカセイソーダの一定量を $C^\circ_{OH^-}$ とし，また pH 測定時までの添加塩酸量を $\Delta C^\circ_{H^+}$ とすれば，その差 $C^\circ_{OH^-}-\Delta C^\circ_{H^+}$ は $\Delta C^\circ_{OH^-}$ に相当し，これは試料に $\Delta C^\circ_{OH^-}$ のカセイソーダを初めから順次加えたのと同様の結果になる．したがって，それぞれの pH について水酸イオンの活動度係数の補正を行い，遊離の水酸イオンすなわち ΔC_{OH^-} を計算すれば，それぞれ $\Delta C^\circ_{OH^-}-\Delta C_{OH^-}$ から腐植様物質分子と結合したナトリウムイオンの量がわかる．そこでナトリウムイオンの結合量と pH とから滴定曲線を描くことができる．

第1節　実験の操作

腐植様物質は第2節に述べるような方法により精製して，乾燥粉末とした試料を，この研究の初期の実験では 0.8～1.0 g を採取し 250 ml メスフラスコに入れ，1 N カセイソーダを 5～4 ml を正確に試料の量に応じて添加し，また 0.5 M 塩化ナトリウムを計算量加えて，250 ml に希釈したときイオン強度が 0.150 になるようにした．この場合 0.5 M 塩化ナトリウムの添加量は今カセイソーダの添加 me を a とすれば次式で計算できる．

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

$$\frac{a}{250}+\frac{0.5\times x}{250}=0.150$$

ここでxは塩化ナトリウムの添加 ml 数となる．

次にメスフラスコの標線まで炭酸ガスを含まぬ蒸留水を加えて希釈し密栓し完全に溶解してから，これを300 ml のビーカーに移し Beckman のガラス電極およびカロメル電極を入れカキマゼ器を廻転しつつ安定してから pH を読んだ．次に 2 ml のミクロビューレット（0.01 ml 目盛）から 3 N 塩酸を随時添加して2～3分間の平衡時間をおいて，そのつど pH を読んだ．通常1分間で平衡に達した．

温度は 25°C に保つようにした．その後試料を1回の測定に 1 g 内外を使用するのは不経済なのでその1/10のスケールにしたが十分正確にできることがわかった．この場合は 80～70 mg の試料をとり，200 ml メスフラスコに入れ，N/10 カセイソーダの 5～4 ml を試料の無水無灰物量に応じて正確に添加して溶解させ，0.5 M 塩化ナトリウムは計算量を加えた．

また希釈量は 200 ml とし pH 測定の際添加する塩酸の濃度は 0.6～1.0 N を使用した．

第2節　腐植様物質の精製法

滴定曲線を求める場合，その解離基を明らかにする目的のためにはできるだけ精製し純粋なものにする必要がある．それにはコロヂオン膜による透析法があるが長時間を要し，また満足な結果は得にくい．そこで時間を短縮させるために電気透析を行った．しかし，たとえば，たい肥をカセイソーダで抽出した場合などは，たい肥中のケイ酸が腐植様物質とともに多量抽出され，これを塩酸で沈殿し洗浄の後，電気透析してもケイ酸は除きがたい．この場合カセイソーダを加えて pH 9 に調節して電気透析を行えば除かれたが透析中温度の著しい上昇を伴う欠点がある．そこであらかじめ多量のケイ酸は除いておくのが望ましい．筆者の経験上[12]，腐植様物質を塩酸で沈殿分離する以前に塩酸の量を加減して pH 6 にとどめ，一日静置しておくと，ケイ酸はシロキサンの形で漸次凝固して液上に浮んでくるが，これを遠心分離すると大部分のケイ酸が容易に除かれることを見いだした．しかし pH 6 にとどめないで腐植様物質を一たん沈殿させてしまうと塩酸による洗浄をくり返しても，ケイ酸の分離は割合に能率が悪かった．

第1項　イオン交換樹脂の応用

土壌有機物に対して，イオン交換樹脂を用いたのは文献に現われたものでは SCHNITZER と DELONG[13]が最初である．かれらは落葉の抽出液を精製するために Dowex-50 で処理して電位滴定を行った．筆者は，たい肥の腐植様物質に対してその精製の目的でイオン交換樹脂の効果を検討し，真正腐植質に Fe(III), Al (III) を結合させた場合，通常の塩酸処理では取れにくいが，陰イオン交換樹脂，陽イオン交換樹脂を交互に使用することによって，除き得ることを[15]述べた．

すなわち，たい肥を1％シュウ酸ナトリウムで抽出したものを塩酸で沈殿させ，フルボ酸を除いて沈殿物を水でよく洗浄したものは "SIMON の液" に溶解する真正腐植質であったが，これを 0.1% カセイソーダに溶かし 1 N の塩化カルシウム，塩化アルミニウム，塩化第二鉄等をそれぞれ加えて，真正腐植質のそれぞれの塩を分離し，これらを 0.1 N カセイソーダに溶かしたものについて，(イ)陽イオン交換樹脂 IR-120, H形または IRC-50, H形で処理した場合，(ロ) 陰イオン交換樹脂 IRA-400, OH 形で処理した場合，(ハ) 陰イオン交換樹脂で処理後，陽イオン交換樹脂で処理した場合，(ニ)中性ピロリン酸ナトリウム処理と陰イオン交換樹脂処理を併用した場合等の各々について行い，塩基が除去されたか否かは処理後の試料について (i) "SIMON の液" に溶解するか否か，(ii) ジョ濁点の測定，(iii) 灰化後分析等の手段によって調べた結果を要約すると，(1) カルシウムと結合したものは (イ) の処理によってそれを除くことができた．しかしアルミニウム，鉄と結合したものは (イ) の処理では僅かしか除かれなかった．(2) アルミニウムと結合したものは (ロ) の処理によって塩素イオン，ケイ酸イオン等が除かれ pH が上るとアルミニウムは一部アルミン酸の形になり遊離し易くなり陰イオン交換樹脂に捕捉された．これを続いて (ハ) のように陽イオン交換樹脂で処理すると，最初から IR-120, H 形で処理する場合より多量のアルミニウムが除かれた．これは pH が下るに従ってアルミン酸が $Al(OH)_2^+$, $Al(OH)^{++}$ および Al^{+++} に順次変り，新たに腐植様物質に結合する前に陽イオン交換樹脂に吸着されたものと思われる．(3) Fe(III) を配位結合した真正腐植質の場合は(ロ)の処理では除かれないが，Fe(III), 塩素イオン，ナトリウムイオンおよびケイ酸イオンなどが腐植質を中核として複雑に結合しており，(ハ)の処理をくり返して，はじめて鉄を除くことができた．これは陰イオンがまず除かれることにより鉄は陽イオン交換樹脂で除かれ易くなったものと思う．なお(ニ)の処理のように腐植様物質から二価，三価塩基を除く方

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

法として，これを塩酸で沈殿させてから中性ピロリン酸ナトリウムに溶解させ，これを遠心分離して鉄およびアルミニウムのリン酸化合物を除き，次に再び塩酸を加えて沈殿させ，洗浄ののち，IRA-400, OH 形で処理して包蔵されたリン酸イオン，塩素イオン等を除けば，比較的容易に精製の目的が達せられた．

第2項　電気透析

電気透析は滴定曲線を作成する場合の脱イオン，精製の手段として有力な方法である．筆者の使用したのは PAULI の透析器で，透析膜としては良質の硫酸紙を用いた．セレン整流器から直接100～150ボルトの直流を通した．

腐植様物質液を電気透析すると電解質が除かれるに従って膨潤水がとれて水層と分かれ沈降してくるが，その親水性の大小でゾル[14]状態となって水層と分れる場合とゲル状態に沈殿する場合および前二者の中間の状態，いわばゲリー状態の場合もあった．透析の完了した場合は陽極液および中室の水層の pH はともに6付近になり，かつ電流もほとんど流れなくなる．

一般にイオン交換樹脂で前処理してある場合は透析は比較的短時間で済んだ．

腐植様物質を無機酸で沈殿させ，これを水で洗浄の後，酸性のまま電気透析した場合は，それに含まれたケイ酸はほとんど分離されずに試料とともに残った．これを酸性透析と呼び，また腐植様物質を酸で沈殿させ洗浄後，過剰の陰イオンを除き，次いでカセイソーダを加えて pH を9～9.5にして電気透析を行えば，ケイ酸は分子分散状[14]になって陽極へ透析された．そしてケイ酸を試料からかなり除くことができた．筆者はこれをアルカリ性透析と呼んでいる．

第3節　腐植様物質の滴定曲線と解離基に対する考察

滴定曲線を描いて後，その pK 値を求めて，それがいかなる解離基に対応するか，またその解離基数を決定することは，タンパク質などのように解離基の確定したものではしばしば行われている[7]ことである．しかし腐植様物質の場合，その構造はもとより，その解離基に至ってもいまだ明確にはわかっていない．

古く ODEN[3]は土壌腐植酸の分子量は約1400であってカルボキシル基を4個有するといった．そして $C_{60}H_{52}O_{24}(COOH)_4$ の式を与えた．近年細田・高田[16]らは腐植酸にはカルボキシル基，フェノール性水酸基の存在することを認めたが，腐植酸の塩基置換性はこれらをメチル化あるいはアセチル化することによって比較的容易に封じることのできる酸性基のみによるものではないことを腐植酸のメチル化物およびアセチル化物がなお強力な塩基置換性を持つことによって推察した．

したがって，腐植様物質の解離基の詳細に至ってはなお不明である．

さて腐植様物質の解離基をその滴定曲線から直ちに推論することの可能性について腐植様物質のそれと，解離基の既知のイオン交換樹脂の滴定曲線を比較することによって以下考察してみたいと思う．

滴定曲線の測定

精製を行って灰分のかなり少なくなった腐植様物質試料（23頁参照）OH-h(6) の滴定曲線を求めた．風乾 0.3300 g（無水無灰物として 0.2950 g）をとり 250 ml メスフラスコに入れ $C°_{OH^-}$ としては 0.1 N カセイソーダ 17 ml（1.7ミリ当量）を加えて溶解させ，イオン強度を0.15にするために 0.5 M 塩化ナトリウムを 71.6 ml 加え，また無炭酸再留水を標線まで満たし密栓して2日間おいた．その後，これを容器に移し 3.575N の塩酸を少量ずつ添加して，そのつど pH を測定した．

$\Delta C°_{OH^-}$ は上記最初に加えたカセイソーダのミリ当量数 $C°_{OH^-}$ から添加塩酸のミリ当量数，すなわち $\Delta C°_{H^+}$ を引いたものに当る．これは試料に対して，そのつど $\Delta C°_{OH^-}$ のカセイソーダを加えたものと考えてもよいわけである．さて $pK_W \fallingdotseq 14$ として pH から pOH を算出し，これから活動度係数の補正値 pr'_{OH^-} を控除した値が自由な OH^- イオンのモル数の対数に当るから，この真数 $[\Delta C_{OH^-}]$ を対数表から求めた値が mol/l である．これをミリ当量数で表わし，次に 250 ml 中の me に換算した．そして，$\Delta C°_{OH^-}$ からこの値を控除すれば試料に結合したナトリウムイオン量がわかる．この値を無水無灰物量で割れば1 g 当りの試料に結合したナトリウムイオンのミリ当量数が計算できる．

これらの測定値および計算値を第2表に示し，この g 当りの結合量を縦軸に，その時の pH の値を横軸にとって第1図に示した．

次に比較のために，弱酸性基（カルボキシル基）を持つアンバーライト IRC-50 およびフェノール性水酸基とメチレンスルホン酸基を持つ p-オキシベンチルスルホン酸系のいずれも陽イオン交換樹脂を，それぞれ2～3日間アルカリおよび酸で conditioning を

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

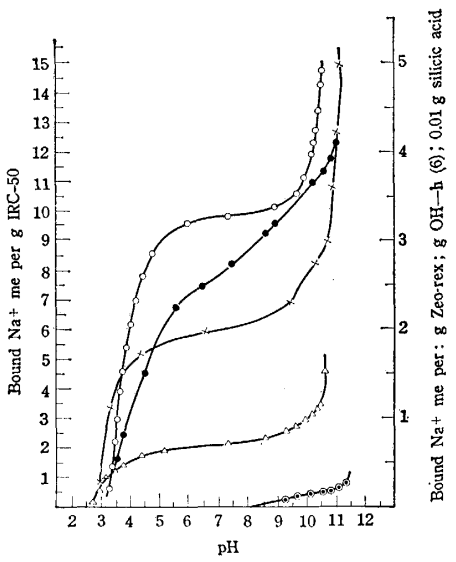

Fig. 1. Titration curves of humus-like substance, bentonite, silicic acid, and some ion-exchange resins.
IRC-50—○—; OH-h (6), a humus-like substance -•-; Zeo-rex —×—; H-bentonite colloid —△—; silicic acid, used 10 mg —⊙—.

行って後，H形にし十分水洗後，減圧乾燥した．そして一定量ずつ試料としてとり，腐植様物質の場合と同様にして滴定曲線を求めその結果を同じく第1図に示した．なお，それぞれの滴定曲線の測定値および計算値は紙数の関係上以下これを省く．

なお，栃木県産ベントナイトの水懸濁液を1カ月間以上静置し，そのコロイド部分を採り，アンバーライト IRA-400, OH 形および IR-120, H 形で処理したものにつき前述と同様に滴定曲線を求めた．また腐植様物質に混在する可能性の多いケイ酸についても滴定曲線を求めた．

これは3.5%のケイ酸ナトリウム溶液を IR-120, H 形で処理し，陽イオンを除き，次に弱塩基性樹脂 IR-45, OH 形で処理して少量混在する遊離の強酸イオンを除いたものを試料とした．

この図からもわかるようにカルボキシル基を持つイオン交換樹脂，IRC-50 の変曲点および pK 値は腐植様物質 OH-h(6) のそれと酷似しており，腐植様物質にカルボキシル基の存在が予想される．IRC-50 の総イオン交換容量[17,a] は10.0ミリ当量/g といわれているが滴定曲線からもその値は一致している．一方 Zeo-rex はメチレンスルホン酸基およびフェノール性水酸基をパラの位置に持つ黒褐色のイオン交換樹脂で

Table 2. Process of calculation for the determination of bound Na^+, on OH-h(6)*, a sample af humus-like substance from compost

HCl (3.575 N) added (ml)	($\Delta C°_{H^+}$) HCl calcd. (me)	($\Delta C°_{OH^-}$††) NaOH calcd. (me)	pH found	pOH (pK_W-pH) calcd.	pr'_{OH^-}**	pOH+ pr'_{OH^-}	FreeOH^-, [C_{OH^-}] calcd.***		($\Delta C°_{OH^-}$ -ΔC_{OH^-}) Bound Na^+ (me)	Bound Na^+ g sample† (me)
							mol/l	me/250 ml		
0	0	1.70	11.04	2.96	−0.25	2.71	0.00195	0.49	1.21	4.10
0.05	0.18	1.52	10.89	3.11	〃	2.86	0.00138	0.35	1.17	3.96
0.11	0.39	1.31	10.66	3.34	〃	3.09	0.00081	0.20	1.11	3.76
0.15	0.54	1.16	10.24	3.76	〃	3.51	0.00031	0.08	1.08	3.66
0.20	0.75	0.95	8.90	5.10	〃	4.85	0.00001	0	0.95	3.20
0.21	0.78	0.92	8.62						0.92	3.10
0.25	0.90	0.80	7.50						0.81	2.75
0.27	0.97	0.75	6.50						0.73	3.47
0.29	1.04	0.66	5.56						0.66	2.24
0.35	1.25	0.45	4.52						0.45	1.52
0.41	1.46	0.24	3.82						0.24	0.81
0.43	1.54	0.16	3.60						0.16	0.54
0.46	1.65	0.05	3.40						0.05	0.17
0.48	1.72	0.02	3.20							

* cf. Fig. 6. † Sample taken : 0.2950 g on dry, ash-free basis. †† Initial NaOH added, $C°_{OH^-}$ = 1.70 me. ** Quoted from Table 1. *** Because sample solution was filled up to 250 ml.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

あるが IRC-50 の曲線と比べると，明らかに pK 値は低く酸性は強いことがわかる．また，その変曲点は pH 6～7 と pH 10～10.5 に認められ，別の実験から得られた pH 7 での置換容量は2ミリ当量，総イオン交換容量は2.7ミリ当量であるという[17,b] 値と曲線はよく一致しており，あとの変曲点はフェノール性水酸基によることが推定され，水酸基を持たない IRC-50 に比べてより広い pH 域を持っている．

OH-h(6) も比較的高い pH 域まで緩衝作用のある点でよく似ており，やはりフェノール性水酸基の存在が推定される．

一方，ケイ酸の滴定曲線によると 10 mg のケイ酸でも，pH 10.32 で 0.11 ミリ当量のナトリウムイオンの結合が認められ，可溶性ケイ酸の滴定曲線の変曲点の pH はフェノール性水酸基のそれと近接していることがわかる．ベントナイトの H-コロイドの滴定曲線によると monobasic の曲線を得た．これは HARWARD と COLEMAN[18]が述べたのと一致している．

しかしながら，腐植様物質の解離基がカルボキシル基およびフェノール性水酸基のみによるか，pK 値の近い他の酸性基の合成されたものか，なお今後の研究問題であるので本研究では以下これを単に酸性基と呼んでおくことにした．

第2章　ジョ濁点と腐植様物質の分類

腐植様物質をカセイソーダまたは酢酸ナトリウム液に溶解させ，これに塩酸または硫酸などの無機酸を添加してゆくと，pH が下るにつれ，ある点に至って透明であった溶液はジョ濁し始め，さらにかき混ぜながら酸を添加すると，全く透明度を失って濁ってくる．これを暫時放置すると腐植様物質は沈殿して液と分れてしまう．通常ジョ濁し始める pH と完全に沈殿する pH の間には若干の間隔が存在する．そこで溶液が濁り始めるが，放置しても沈殿しないジョ濁の始期の pH を測れば，腐植様物質の持つ acidoid 性の分別に役立つのではないかと筆者は考えた．そして，この濁り出す pH をジョ濁始期またはジョ濁点[19]と名付けた．

第1節　ジョ濁点の測定法

供試腐植様物質のジョ濁点を測定するのに次の二つの方法が考えられる．

（1）肉眼的に対照と比較観察する方法，（2）光電比色計によって透光度を測定して知る方法．

（1）の場合は腐植様物質約 5 mg を 50～30 ml の1％酢酸ナトリウムに溶解させ，これを2本の試験管に約 5 ml ずつ入れ，一本を対照として，他方に 1 N 塩酸または 1 N 硫酸を少量（約 0.05 ml）ずつ振り混ぜながら添加し，今まで肉眼的に透明に分散していた溶液が濁りだし，最初はこれを軽く振れば濁りがすっかり消えて透明になり，対照と変らないが，さらに少量加えると，もはやかすかな濁りが対照と比べて，明らかになった場合の pH を pH 計または東洋ロ紙の B.P.B. 試験紙または I.P.B. 試験紙でみる．この場合の酸の添加は必要最少限にとどめることが大切である．

（2）の方法は試料約 20 mg を 100 ml の1％酢酸ナトリウム液に溶かし，これを 5 ml ずつ試験管に採り，適量の 1 N 塩酸または 0.1 N カセイソーダを加えて，pH を2～8の範囲に調節した各試料溶液を造り，液量を各試験管とも一定容に希釈して，光電比色計で 530 mμ の緑色フィルターを使用して，透光度百分率（T）を測定した．また別法としては試料を約 5 mg 採り，50 ml の1％酢酸ナトリウム液に溶かしこれに 1 N または 2 N の塩酸またはカセイソーダを少量ずつ添加し，そのつど pH と T を測定した．少量ずつ用いれば，さきの多数の試験管を使用し液量を等容にして測定した結果と，ほとんど差を認められなかった．いずれの場合もアルカリを加えて pH が高くなると腐植様物質は，色調が濃くなるため，T が減少してくる．また酸を加えてジョ濁してくると，腐植様物質粒子が相互に結合して，粒子が大きくなり，したがって T が減少する．そこで pH を横軸に，透光度百分率を縦軸に曲線を描けば，台地形の曲線が得られる．これによって，そのジョ濁点を知ることができると同時に，pH による色調の変化もわかる．これを pH-T 曲線と名付けた．

第2節　pH-T 曲線の測定結果

実験室調製の硫安速成稲わらたい肥から，シュウ酸ナトリウムによって抽出した真正腐植質；およびその抽出残留物を 0.5% カセイソーダで処理して得たもののうち "SIMON の液" に不溶の部分を1％酢酸ナトリウムに溶解したもの；ならびに大阪農試で分譲を受けた稲わらたい肥（たい肥舎に積まれた下肥たい肥）のシュウ酸ナトリウム抽出物を塩酸で沈殿させ，洗浄の後 "SIMON の液" に溶けたもの；の以上三つの試料について前記の方法で pH-T 曲線を測定した．その結果は第2図に示した．

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

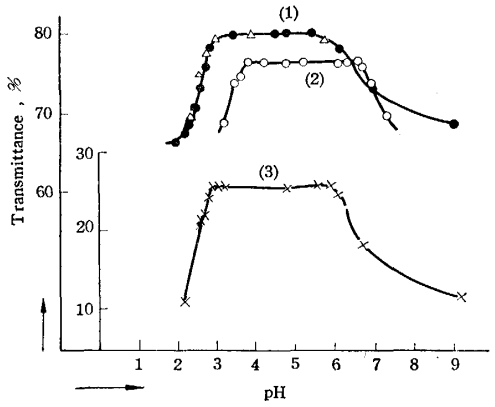

Fig. 2. pH-T curves of true humic substances (t.h.s.) and rotted products (r.p.) from two composts. (1) T.h.s., extracted from compost prepared in this laboratory, titrated: with N-HCl —•—; with N-H_2SO_4 —△—. (2) R.p. titrated with N-HCl —○—. (3) T.h.s. extracted from compost contributed by Osaka Agr. Exp. St., titrated with N-HCl —×—.

この結果によると，第2図上部（1）に示したように，1N 塩酸によって pH を変えた場合も，1N 硫酸によって行った場合も，曲線に差異はなく，よく一致した．また，実験室調製の硫安たい肥の真正腐植質（1）も，また全然別個につくられた，たい肥舎の下肥たい肥の真正腐植質（3）の場合もその pH-T 曲線は一致し，ジョ濁点はともに pH2.8～3.0 を示し，差異は認められなかった．そして，pH 6 付近までは分散の状態は変らず，pH 6 付近からさらに分散するためか，色調が濃くなり緑色フィルターを通ると T は下ってきた．そしてさらに pH が上るに従って T は下り分散状態が異なり，色調の変ることがわかる．また第2図（2）に示した "Simon の液" に不溶物の pH-T 曲線からはそのジョ濁点が pH 3.8～4.0 にあり，また pH 6.5 付近に色調の変る点があることがわかった．

また腐植様物質のうち，中性ピロリン酸ナトリウムで処理して三二酸化物を除いて後，なお "Simon の液" に溶けないところのもの，すなわち腐朽物質について，前記の方法で pH-T 曲線を描いた．さらに，たい肥をシュウ酸ナトリウムで抽出した真正腐植質の乾燥粉末 10 mg を1％酢酸ナトリウム液の 75 ml に溶解させ，塩化アルミニウム液 [Al(III) として 0.5 mg] を加えて，沈殿した試料を分離し，これに 0.1 N カセイソーダを若干量加えて，溶解させ pH-T 曲線を求め，それぞれ第3図に示した．

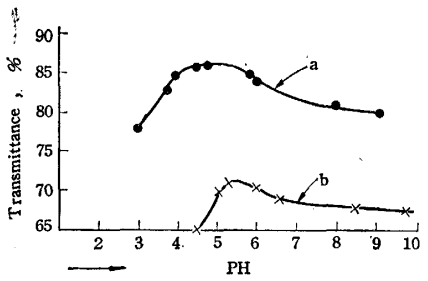

Fig. 3. pH-T curves of rotted product and true humic substance + Al (III). (a) R.p. —•—; (b) t.h.s. + 5% Al (III) —×—: both titrated with N-HCl and N-NaOH

その結果によると，たい肥の腐朽物質（a）のジョ濁点はやはり pH 4 付近にあり，前図の（2）と一致するが，pH 6 になるまでに色調が濃くなった．その点（2）の方が色調の持続する pH 間隔は長かった．また，アルミニウムを5％含んだ真正腐植質（b）は著しくジョ濁点は上昇し，pH 5 付近に存在し，高 pH 域での色調の変化は緩慢であった．

一般にナトリウムイオンが結合して，粒子が細かく分散状態にある腐植様物質を IR-120, H 形で処理して，ナトリウムイオンを除いても，陰イオンが存在しない場合は溶液はコロイド様ケイ光が強くなるように見えるが，ジョ濁の現象は起らない．しかし，腐植様物質のカセイソーダ溶液に無機酸を添加し，ナトリウムイオンが中和されて，pH が下り，陰イオンが少しでもナトリウムイオンより過剰になろうとすると腐植様物質の解離度が小となり電位が下る．したがって滲透圧的にはいっていた膨潤水も分離減少し粒子が相互に接近してジョ濁し，いよいよ陰イオンが過剰になると漸次粒子が大きくなり，ついにジョ固するに至る．このようなジョ濁の現象は，腐植様物質液中の陰イオンの活度に関係しているのである．酸の種類により腐植様物質を同一 pH にするのに添加量が異なる．今，風乾たい肥 5 g を 100 ml の pH 6.7 の N/8 シュウ酸ナトリウム液で抽出した真正腐植質液 10 ml に対し硫酸の場合は5.30ミリ当量，塩酸の場合は 4.98 ミリ当量，リン酸の場合は11.70ミリ当量で，pH 2.9 に達しジョ濁点に達した．しかし，酸の種類によってジョ濁点の pH には影響は与えなかった．また塩化ナトリウム等の塩の存在や，イオン強度の差違によっても，ジョ濁点の pH に影響はなかった．したがって，塩酸，カセイソーダなどによって可逆的にジョ濁点の測定のくり返しが可能であった．

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

ただし，Fe(III), Fe(II), Al(III), Ca(II) などの二，三価陽イオンが存在するとジョ濁点に影響が大きかった．

第3節 ジョ濁点に対する Fe (III), Al(III), ケイ酸および H-粘土などの影響

たい肥から分離した真正腐植質を 12.4 mg ずつ採って，100 ml フラスコに入れ，0.1 *N* カセイソーダの少量ずつで溶かし，これに精製したケイ酸液 (H_2SiO_3) を試料に対して 4.1%，8.2%，16.3%，および 45%の割合に加えたが，ジョ濁点および "SIMON の液" に対する態度は少しも変らなかった．

次に真正腐植質に対して Fe (III), Al (III) を加えた場合，ジョ濁点は上り，また，"SIMON の液" に対しても不溶になったが，第3表の最下列の Al 添加量は 0.41%でケイ酸が2%のとき，"SIMON の液" に対しては可溶であったがジョ濁点のみ上ったのは興味がある．

Table 3. The influences of H_2SiO_3, Fe (III), and Al(III)+H_2SiO_3 added respectively, on some properties of true humic substance from compost

Added			Flocculation-beginninng point (pH)	Solubility to "SIMON's solution"
H_2SiO_3 (%)	Fe(III) (%)	Al(III) (%)		
0	0	0	2.8～3.0	Sol.
4.1	—	—	2.8～3.0	〃
8.2	—	—	〃	〃
16.3	—	—	〃	〃
45.0	—	—	〃	〃
—	2.04	—	3.6	Ins.
—	2.87	—	4.1	〃
2.04	—	0.82	4.6	〃
2.04	—	1.22	5.0	〃
2.04	—	0.41	4.0	Sol.

これは奥田・堀[5]が土壌腐植酸において，Al+Fe(II) が0.40～0.46%では "SIMON の液" に可溶であったと述べたのと符合しているからである．

次に十分イオン交換樹脂で精製したコロイド状 H-粘土を真正腐植質に添加した場合は第4表に示すように，ジョ濁点は若干上るが，いずれも "SIMON の液" に溶解した．しかし，これに対してアルミニウムイオンを0.41%加えたものは，同液に対して沈殿した．

Table 4 The influences of H-clay, Al(III)+H-clay added, on some properties of true humic substance from compost

	Added		Flocculation-beginning point (pH)	Solubility to "SIMON's solution"
	H-clay (%)	Al(III) (%)		
	0	0	2.8～3.0	Sol.
H-Bentonite	4.2	—	3.4	〃
H-Bentonite	8.4	—	3.6	〃
H-Bentonite	2.1	0.82	4.2	Ins.
H-Bentonite	2.1	0.41	3.4	Sol.
H-Kaolinite	2.23	1.61	4.2	Ins.
H-Kaolinite	2.6	—	3.8	Sol.

第3章 各種抽出法と滴定曲線

たい肥有機物の抽出については，従来土壌腐植の抽出に準じて行われていたが，たい肥有機物の性質を明らかにするためには，どうしても段階的抽出を行うことが必要と[61]考えられたので，以下その方針に従って研究を進めた．稲わらに石灰および下肥を加えて速成たい肥法に準じて造った舎内たい肥の一部を大阪農業試験場から分譲を受け風乾の後，粉砕して試料とした（これをA-たい肥と名づけた）．

これは80%水分に換算して窒素 0.51%，リン酸 0.44%，カリは1.27%で，無水物に対する灰分量は42.66%であった．そしてこれはたい積後3カ月ほど経過していたということで，かなり腐熟の進んだものであった．また A-たい肥にさらに若干硫安を加えて腐熟を進めたものも試料とした（これを G-たい肥とした）．

第1節 種々な pH のシュウ酸ナトリウムによる抽出ならびにシュウ酸塩での抽出後にカセイソーダによって抽出した腐植様物質の滴定曲線による性状の差異[20]

抽出剤として *N*/8 シュウ酸ナトリウムを石灰を含んだA-たい肥に使用すると，その溶出液の pH は著しく高くなった．これはたい肥中のカルシウムと結合した腐植様物質，炭酸カルシウムなどの石灰がシュウ酸と沈殿し，代りにナトリウムイオンと置換するためであるが，結果的にはかなり高い pH でたい肥を抽出し

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

たのと同じになった．そこで今，たい肥に抽出剤を入れ，室温で時々かき混ぜ2日間の後，吸引ロ過した場合に抽出剤の pH と溶出液のそれを比較すると次のようであった．a）pH 4 の $N/4$ シュウ酸ナトリウムに pH 4 の 0.01 N 酢酸ナトリウムを加えた抽出液でも溶出液の pH は5.2であり，b）pH 4, $N/8$ シュウ酸ナトリウムでは pH 8.1, c）pH 5 の $N/8$ シュウ酸ナトリウムでは pH 8.75 であり，d）pH 6.3 の $N/8$ シュウ酸ナトリウムでは pH 9.5 であった．これらの溶出物を常法により "SIMON の液" で処理すると，a）が最もよく溶け，b), c), d）の順に溶解性は低くなった．

a）の溶出液は塩酸で沈殿させ水で洗浄の後，電気透析した．究極 pH は2.35であった．これを試料〔I〕とした．次に d）の溶出物は上と同じく電気透析したが究極 pH は 2.67であった．これを試料〔II〕とした．また試料〔II〕の溶出残留物を再び d）の抽出剤で処理して得た溶出物を同様に処理して試料〔III〕とした．究極 pH は2.77であった．さらに試料〔III〕の溶出残留物を0.5%カセイソーダで2日間処理したが，溶出液は塩酸で沈殿させ洗浄の後，同様に処理して，これを試料〔IV〕とした．また，この試料〔IV〕の溶出後の残留物をさらに5%カセイソーダで処理し，その溶出液を同じく遠心分離の後，塩酸で沈殿させ洗浄の後 "SIMON の液" で処理したが大部分不溶であったが，これを電気透析した．これを試料〔VI〕とした．次に上記とは別のやや未熟な稲わらたい肥について，まず塩酸で処理の後，3%カセイソーダでの処理溶出液を塩酸で沈殿させ，電気透析したものを試料〔V〕とした．これら各試料は，いずれも，減圧常温乾燥の後，粉末とした．メルクの腐植酸も比較のために試験したが，これは量が少なかったので電気透析せずに，そのまま用いた．

これらの各試料について，灰分含量およびそれらの灰分の成分を知るために分析を行った結果を第5表に示す．

これらの結果によると各試料とも陽イオン量は大差はないが，酸性透析のため，ケイ酸はほとんど分離されず，その含量は試料〔I〕から〔V〕まで抽出液のアルカリ度の高くなるに従って増していた．

次に，これらの試料について，滴定曲線を作成したが，それを第4図に示した．

以上の結果を見ると，各試料によって，その滴定曲線の形状が若干ずつ異なるが，pH 8 付近に変曲点が

Table 5. Components of ash included in six samples of humus-like substance obtained by various extraction processes from straw compost

Sample	Ash (%)	SiO_2 (%)	† Ca+Mg* (%)	† Fe** (%)	† Al*** (%)
I	0.55	0.19	0.03	0.02	0.02
II	0.77	0.46	0.03	0.04	0.02
III	1.04	0.67	0.03	0.06	0.01
IV	3.06	2.53	0.05	0.03	0.04
V	7.06	6.09	0.05	0.03	0.14
VI	0.92	0.52	0.02	0.03	0.04

† Soluble part in hot 6 NHCl was determined.
* by EDTA method of PERKIN[62].
** by method of CHENG *et al*[63].
***by method of MILNER *et al*[64].

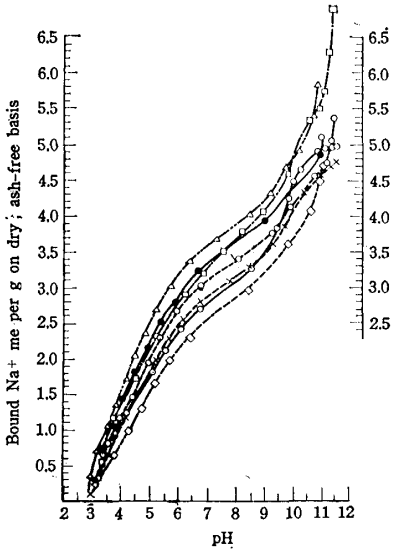

Fig. 4. Titration curves of humus-like substances extracted from A-compost first with Na-oxalate solution having different pH, and of those extracted from the above treated residue secondly with pH 6.3 Na-oxalate, and then with 0.5% NaOH and 5% NaOH.
Sample [I] —△—, extracted with pH 4, $N/4$ Na-oxal. + pH4, 0.01 N Na-acet; Sample [II] —•—, extracted with pH 6.3, $N/8$ Na-oxal.; Sample (III) --∘--, extracted with pH 6.3, $N/8$ Na-oxal. from the residue of Sample [II]; Sample [IV] —×—, extracted with 0.5% NaOH from the residue of Sample [III]; Sample [VI] --◇--. extracted with 5% NaOH from the residue of Sample [IV]; Sample [V] —∘—, extracted with 3% NaOH from another compost; •—□—• Merck's humic acid.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

見られる．これらの点における Na^+ 結合量の値はそれぞれの腐植様物質の持つ酸性基の含量を示すと思われる．また特に試料〔V〕には pH 10 以上に大きな湾曲が見られるが，これは多量に含まれたケイ酸によると思われる．試料〔V〕以外の曲線にも，その含有ケイ酸の含量に応じて若干の高まりが見られた．第4図において，各曲線の位置は試料〔VI〕を除いて，あたかも灰分量と逆比例するように見えるが，それらの灰分は主としてケイ酸であって塩基は少ないので解離基が mask されたと考えるよりも，その差は腐植様物質自身のもつ性質の差によるほうが大きいと思われる．これらの各試料の酸性基の含量について，各曲線の変曲点から求め，そのミリ当量値を次表に示した．

Table 6. Results obtained from titration curves of six samples and Merck's humic acid

Sample	Acid radicals	Saturation point		Chemical equivalent
	me/g	pH	me/g	
I	3.90	10.5	4.96	202
II	3.65	11.0	4.84	207
III	3.38	11.2	4.76	210
IV	3.12	11.3	4.70	213
V	3.10	—	—	—
VI	2.80	11.0	4.40	228
Merck's humic acid	3.60	11.2	5.55	180

今，酸性基の含量の大きいほど腐植様物質自身の腐熟度の[21]進んだ[22]ものと考えるならば，上表においてpH 4 のシュウ酸ナトリウム液と pH 4 の酢酸ナトリウム液との混合液で抽出した場合に，たい肥試料中の最も腐熟の進んだ腐植様物質のみが溶出されたことを示し，pH 6.3 シュウ酸ナトリウム液では，それより広い範囲の真正腐植質群が溶出されたことを示す．pH 6.3 のシュウ酸ナトリウム液での第2回目の抽出では，さらに酸性基の少ないものが溶出されたわけである．この溶出残分を 0.5 %カセイソーダで抽出した試料〔IV〕は既に腐朽物質に近いものがでている．試料〔V〕は A-たい肥に比べて，経過日数の少ないたい肥であるので，最初から 3 %カセイソーダで抽出したが，腐朽物質がかなり混じていると考えられ〔IV〕とよく似た曲線を示した．また試料〔VI〕は試料〔IV〕の残分を，さらに 5 %カセイソーダで抽出しているので，ケイ酸含量は少なく，灰分 0.92%で，うちケイ酸は 0.55%，鉄，アルミニウムは 0.37%以下であって，これら鉄，アルミニウムのために "SIMON の液" に不溶になったものでなくて，酸性基の少ない腐朽物質であるために不溶の性質を持つたものと考えられる．

上表においては，また各試料の曲線から求めた飽和点および化学当量の計算値を示したが，ここで，化学当量とは 1,000 mg を飽和点における解離基量の概数で除したものである．

なお，飽和点の位置については pH 10.5 から pH 11 付近で，その曲線が比較的急峻に上った点を各曲線に準じて定めたのである．さて試料〔I〕から〔VI〕まで，この化学当量の概算値は少しずつ増しており，これら腐植様物質群は相互に差異があることを示している．

次にメルク腐植酸は SPRINGER によれば，純な褐色腐植酸[23]と考えられ，たい肥腐植様物質とは来歴が異なるが，その滴定曲線は試料〔I〕に甚だ似ていたことは興味がある．大杉・森田[24]らは水酸化バリウム溶液で滴定を行い，メルク腐植酸の化学当量を 178 と計算したが，筆者の値もこれに近似していた．また，石川・高市[6]らは，コロイド滴定法によって得たリグニンの化学当量を300乃至560とした．

第2節 同一抽出剤での抽出順序を異にする場合の滴定曲線による性状の差異

本節では中性アルカリ塩または酸性塩で抽出をくり返し，exhaustive extraction を行い，その各回の抽出液中の腐植様物質およびその残留たい肥をカセイソーダで抽出を行って得られた腐植様物質等について，それぞれの滴定曲線を求め，性状を調べた結果を(1)ピロリン酸ナトリウムによるもの，(2)シュウ酸ナトリウムによるもの，および(3)再透析処理を行ったものの3項に分けて述べる．

第1項 ピロリン酸ナトリウムおよびカセイソーダを用いた場合[25]

たい肥試料としてはG-たい肥を用いた．これはA-たい肥よりも若干色，外観ともに腐熟は進んでいた．G-たい肥を乾物として 300 g に抽出剤として氷酢酸若干を加えて pH 7 にした 0.14M ピロリン酸ナトリウムを 1.2l 加え，2l のビーカー中で時々かき混ぜて2日間放置後，口過し，口液をさらに遠心分離ののち塩酸を加え，腐植様物質を沈殿させ，フルボ酸を除き水で洗浄して少し分散しだしてからやめ，これを陰イオン交換樹脂で処理して，次いで陽イオン交換樹脂で

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

処理し，カセイソーダを加えて pH 9 でアルカリ性透析を行った．陽極室にケイ酸反応[26]がほとんどなくなるまで続けた．腐植様物質は室温で減圧乾燥して粉末とし試料名を Napp-h (1) とした．第1回の抽出たい肥をビーカーに移し，さらに新たに抽出液を加えて2日間おき第2回目の溶出物を採り，上と同様に処理して Napp-h(2) とした．第2回目の抽出残留たい肥を第3回目に同様に処理して Napp-h(3) とした．このようにして以下続けて exhaustive extraction を行って試料をつくった．

第1回以後は抽出試料の量は漸次少なくなり，およそ5回目で非常に少量となったのでやめた．2回目以下の各試料は，それぞれ混合して Napp-h(2,3) および Napp-h(4,5) とした．

次にこれらの残留たい肥に5％カセイソーダを加えて，時々かき混ぜ，2日間おいた．そして遠心分離を行って溶出液を分離した．

これらの試料は上と同様にして電気透析を行ったが，ケイ酸を分離するのに，かなり長時間かかった．電気透析が進みイオンが除かれてくると，ピロリン酸抽出の場合と異なり，ゲル状になって腐植様物質は水層から分離沈殿したり，陽極膜上に凝結した．それぞれ減圧乾燥の後，粉砕して試料とした．

次にこれら各試料の水分，灰分およびケイ酸量を第7表に示す．

Table 7. Ash and silica contents of humus-like substances, after electrodialysis, extracted first with 0.14 *M* $Na_4P_2O_7$ exhaustively and then with 0.5%NaOH subsequently, from G-compost, a well-rotted straw compost

Sample	Moisture (%)	Ash(%)*	Silica in ash (%)
Napp -h (1)	13.41	0.80	0.16
Napp -h (2,3)	13.48	0.96	0.12
Napp -h (4,5)	12.98	0.81	0.14
NaOH-h (1)	10.65	0.31	0.22
NaOH-h (2)	10.31	0.46	0.14
NaOH-h (3)	6.57	0.61	0.25

* Percent on the basis of abs. dry matter except moisture.

これらはアルカリ性透析のため，前節の試料に比べケイ酸含量は非常に少なく，腐植様物質相互の間に灰分含量には大きな差異はなかった．

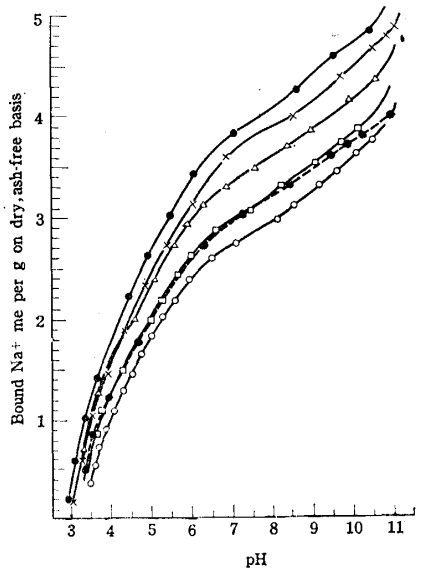

Fig. 5. Titration curves of humus-like substances extracted from G-compost, a well-rotted one with pH7, 0.14*M* $Na_4P_2O_7$ exhaustively in succession and then with 5% NaOH. Napp-h (1) —•—, Ist extract with 0.14 *M* $Na_4P_2O_7$; Napp-h (2, 3) —×—, joined together 2nd and 3rd extracts; Napp-h (4, 5) —△—, joined together 4th and 5 th extracts. NaOH-h (1) --•--; NaOH-h (2) —□—; NaOH-h (3) —○—: extracted with 5% NaOH from 0.14 *M* $Na_4P_2O_7$ insoluble residue, respectively.

次に，これらの試料について滴定曲線を求めた．その結果を第5図に示す．

以上の結果を見ると，Napp-h(1) から Napp-h (2,3) および Napp-h (4,5) に至るに従い，その曲線の位置および酸性基の含量は低くなっていた．一方これら各真正腐植質の含有灰分量の差異は少ないから，無機成分による各曲線の相互の影響は無視できる．

今，変曲点を求めると，図において pH 7.5～8 の間に存在すると認められ，その位置におけるミリ当量値から，酸性基の含量をみると，Napp-h(1) から順次，g当り 3.98, 3.83, 3.56 各ミリ当量であった．このように何回も抽出をくり返す exhaustive extraction の場合抽出順序によってその性質が相違することから，たい肥中には易溶出性の真正腐植質と緩和な抽出剤では比較的難溶出性の腐植様物質が存在するといえる．

これは腐熟した真正腐植質はおおむね，真正腐植質の石灰塩になっていることにもよろうが，また酸性基

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

含量の多少と溶出性との間に関聯があるものと思う．

NaOH-h は試料の灰分含量は少なかったが，"SIMON の液" には不溶であった．そして酸性基含量は 3.16，3.15，2.84 各ミリ当量で明らかに真正腐植質群よりも，酸性基量は少ないことを示していた．

第2項 シュウ酸ナトリウムおよびカセイソーダを用いた場合[27]

たい肥試料としては前項に用いた G-たい肥を風乾のまま1カ年経過したものを用いた．本項においては第1節において酸性基含量の高い腐熟した部分を抽出分離したところの pH 4 に調節したシュウ酸ナトリウム緩衝液を用いて，溶出液の pH を 6 付近に保って exhaustive extraction を行う目的であった．

試料風乾 390 g を採取し，2 *l* のビーカーに入れ，これに第1節の試料〔I〕の抽出条件に準じて，pH 4, *N*/4 シュウ酸ナトリウムと，pH 4, *N*/20 酢酸ナトリウムの当量混液 1.6 *l* を添加し，時々かき混ぜて，1日おきその上液 1 *l* をサイホンで採った．溶出液の pH は6であった．次に上記抽出剤を 1 *l* 補充し，かき混ぜてから1日おき，翌日同様にして 1 *l* を採った．この溶出液の pH は4.8となった．第3回目の溶出液は，さらに pH は下ったが，この両三回行った溶出液を合せて塩酸を加え沈殿させ，Ox-h(1,2,3) と略称した．2回目からは pH が下ってしまったのは，もはやカルシウムによる補償作用がなくなったと考えられたので，第4回目からは抽出剤としては pH 6 の *N*/8 シュウ酸ナトリウムを 1 *l* ずつ補充し，同じく1日経過後上液を採取した．第4回目の溶出液の pH は5で第5回目，第6回目はそれぞれ pH 5 および pH 5.5 で第8回目に pH 6 になった．これらを合わせて塩酸で沈殿させ腐植様物質を分離して Ox-h(4,5,6,7,8) とした．

次に第8回目の抽出残分に 0.5% カセイソーダを加えて1日おき，サイホンで採取することを3回続けたが，その第1回目の溶出腐植質量は Ox-h(1,2,3) と Ox-h(4,5) の中間量であったが，第2回目の溶出量は前回よりも多かった．いずれも，ケイ酸含量が多く，いったん塩酸で沈殿させてからカセイソーダを加えて pH 6 にして遠心分離したが，ゲル状に固まったケイ酸が除かれたが，なおケイ酸の除去は十分でなかった．第3回目の溶出液には始めから少量ずつ塩酸を加えて pH 6 に調節し，1晩放置して，ケイ酸が凝固して浮んでくるのを待って分離を行ったが，この操作によると腐植様物質と抱合することの少ないケイ酸ゲルを十分に除くことができた．0.5% カセイソーダによる第4回目および第5回目の抽出はヌッツエを使用した．そして，第4回目，第5回目を合わせて OH-h (4,5) とした．

第6回目以下第9回目までは 2.5% カセイソーダを用いた．それぞれ，ケイ酸を分離除去して OH-h(6) とし，7回以下を合わせて OH-h(7,8,9) とした．

これらの各腐植様物質試料は，それぞれ，既述の方法によりイオン交換樹脂処理，アルカリ性電気透析を行い減圧乾燥の後，粉砕して供試した．なお Ox-h(1,2,3) および Ox-h(4,5,6,7,8) は電気透析の時，大部分ゾル状に分離され，一部ゲリー状の沈積物も含まれていたが，これは除いて試料を調製した．

また OH-h(1,2,3) は中性ピロリン酸での処理後は 'SIMON の液" に可溶であった．また OH-h(4,5) も同様，鉄，アルミニウム除去後は "SIMON の液" にやっと溶解した．このようにサイホンによって上液をとる緩和な抽出による場合，シュウ酸ナトリウムで8

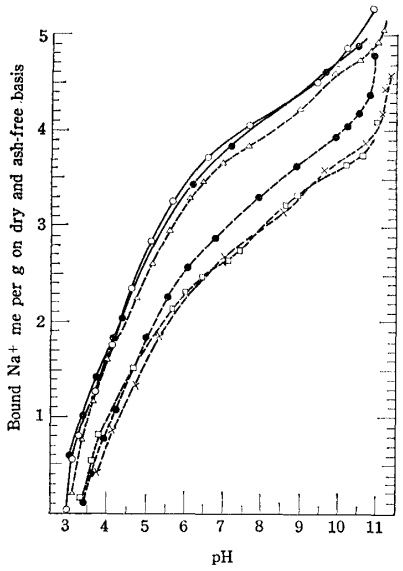

Fig. 6. Titration curves of humus-like substances extracted with *N*/8 Na-oxalate exhaustively, and then with 0.5% NaOH. Ox-h (1, 2, 3) —○—, joined together 1st, 2nd, and 3rd extracts with pH4, *N*/4 Na-oxal. + pH4, *N*/20 Na-acet.; Napp-h (1) —●—, cf. footnote of Fig. 5; Ox-h (4, 5, 6, 7, 8) --△--, joined together 4th, 5th, 6th, 7th, and 8th extracts with pH6, N/8 Na-oxal.; OH-h (4, 5) --●--, joined together 4th and 5th extracts with 0.5% NaOH; OH-h (6) --□--, 6th extract with 0.5% NaOH; OH-h (7, 8, 9) --×--, 7th, 8th, and 9th extracts with 0.5% NaOH.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

回まで抽出を行っても，よく腐熟した真正腐植質のみ溶出され，やや未熟の真正腐植質が残留していたものが，0.5% カセイソーダによる抽出のくり返しによって得られたものと考えられる．しかし，カセイソーダによる6回目以下の溶出腐植様物質の場合，OH-h(6)の灰分は非常に少ないが "SIMON の液" に不溶であり，OH-h(7,8,9) も全く不溶であった．これらは明らかに腐朽物質と考えられる．

これらの各試料の滴定曲線を第6図に示した．

なお Ox-h(1,2,3) の灰分は0.91%，Ox-h(4,5,6,7,8) は1.38%，OH-h(4,5) は 1.83%，OH-h(6) は 0.32% でこれは特に透析処理を長時間行ったものである．OH-h(7,8,9) は1.7%であった．

次に，この滴定曲線から酸性基ならびに飽和点を調べると第8表のようである．

Table 8. Results obtained from titration-curves of Ox-h* and OH-h*

Sample	Acid radicals me/g	Saturation point	
		pH	me/g
Ox-h (1,2,3)	4.08	10.65	5.20
Ox-h (4,5,6,7,8)	3.92	11.20	5.10
OH-h (4,5)	3.32	10.65	4.40
OH-h (6)	2.95	11.00	4.10
OH-h (7,8,9)	2.94	11.00	3.99

* These samples are explained in footnotes of Fig. 6.

これらの結果から，溶出 pH を6または，それ以下で抽出したものは，サイホンでの8回のくり返しにもかかわらず，前項の Napp-h(1) に近似した曲線を示し，腐熟の進んだ部分のみが分別的に溶出されたものと考えられる．また，OH-h(4,5) は真正腐植質と腐朽物質の恐らく中間的段階のものであり，OH-h(6) および OH-h(7,8,9) は明らかに腐朽物質であると考えられる．

第3項 再透析処理によって得たピロリン酸ナトリウム液抽出真正腐植質およびカセイソーダ液抽出腐朽物質について

第1項の滴定曲線の測定に使用した Napp-h(1), Napp-h (2,3) および Napp-h (4,5) などを滴定曲線測定後 pH 1.5～2 で沈殿させ約7カ月間貯蔵してあったものを合わせて，遠心分離し，十分洗浄してから陰イオン交換樹脂処理を行い，次ににpH 9 にして，あらためて電気透析を行った．その結果はゾル状に沈降する部分とともに一部，ゲル状に分離するものが混在した．このうち，ゾル部分を採り減圧乾燥して試料とし，Napp-h(t) と名付けた．

また上と同じく，5%NaOH-h の各回の滴定曲線に使用済みのものを，同様に処理し電気透析した．その結果，大部分ゲル状であったが若干ゾル状のものも含んでいたことを知った．そこで，ゲル部分のみを採取して試料を調製し NaOH-h(t) と名付けた．

第9表に，これら試料の諸性質を示した．

すなわち，ゾル部分が真正腐植質，ゲル部分は腐朽物質と考えることができる．

さて，これらの試料についての滴定曲線を第7図に示す．

これらの滴定曲線の変曲点における，各試料の解離する酸性基の me 数は，Napp-h(t) は 4.03 で，NaOH-h(t) は2.85であった．また，その飽和点のpHはいずれも11付近にあり，その解離基量ミリ当量数は5.04および4.18であった．

Napp-h(t) の解離基は前項の Napp-h(1), Napp-h (2,3) および Napp-h(4,5) のほぼ平均になる当初の予想であったが，若干，ゲル状部分も存在し，これを完全に除去し，ゾル部分のみを試料とすると，平均よりは酸性基量は多く，ほとんど Ox-h (1,2,3) に近く，曲線の形もこれとあまり変らなかった．このことはさきの試料がゾルの精製，分離を特に行わなかったことによるものと考える．

しかし，NaOH-h (t) は第1項の NaOH-h (1),

Table 9. Properties of Napp-h(t) and NaOH-h(t) which were separated into sol and gel portions exactly after re-electrodialysis

Sample	Electro-dialysis	Dried matter	Ash (%)	SiO_2 (%)	Sesqui-oxides (%)	Nitrogen (%)	"SIMON's solution"	Flocculation-beginning point (pH)
Napp -h(t)	Sol	Lustrous	0.51	0.19	0.32	3.66	Sol.	2.8～3.0
NaOH-h(t)	Gel	Dim	0.46	0.28	0.18	3.80	Ins.	3.8～4.0

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

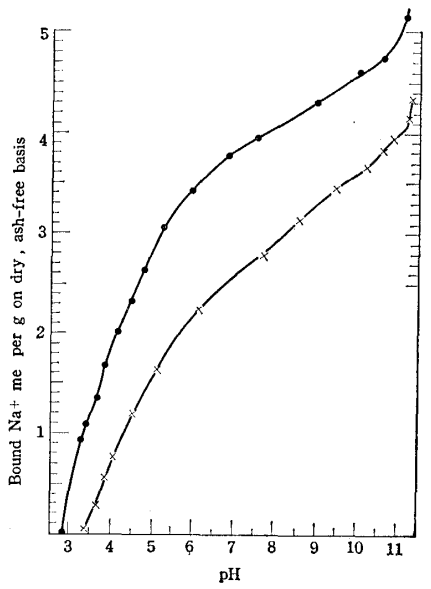

Fig. 7. Titration curves of Napp-h (t) and NaOH-h (t) which are true humic substance and rotted product, respectively.
Napp-h (t) —•—, the sol portion obtained, after re-elctrodialysis, from collection of several extracts with 0.14 *M* $Na_4P_2O_7$ from well-rotted compost.
NaOH-h (t) —×—, the gel portion obtained, after re-electrodialysis, from collection of several extracts with 5% NaOH from residue remaining after extraction with 0.14 *M* $Na_4P_2O_7$.

NaOH-h(2) および NaOH-h(3)〔第5図参照〕よりは，かなり酸性基量は少なく，第2項の OH-h(7,8,9) ゲル（第6図）よりも，また若干低く，かつ大変似かよった曲線を呈するようになった．これもおそらく，第1項の試料はゾル，ゲルの分離が不十分で，若干ゾル部分を混じていたためであろう．これらのことから少なくとも G-たい肥の腐植様物質は Napp-h(t) を頂点として，これより少し酸性基の少ない真正腐植質群と，NaOH-h(t) を下限として，これより少し同基の多い腐朽物質の二群に分けられ，その中間にこれらの混在物が存在するものと考えられる．

第3節　希薄アルカリ性試薬による真正腐植質の抽出と5%カセイソーダによる真正腐植質の変質について[28)]

前節に述べたシュウ酸ナトリウム，ピロリン酸ナトリウムのような緩和な抽出剤を用いた場合，安全にたい肥から真正腐植質を分離することができたが，その溶出力はいずれも割合少なく，常温では何度も抽出をくり返すことを要した．

そこでピロリン酸ナトリウムで加熱した場合とか，希薄カセイソーダによる場合等の比較的激しい処理では一度の抽出でも，かなり多量の腐植様物質が抽出されるのはもちろんであるが，同時に真正腐植質が若干変質しはしないかと考えた．それでこれらの処理によって抽出した場合の腐植様物質の性質を，その滴定曲線から検討したいと思う．さらに濃厚なカセイソーダによる加熱処理によって，真正腐植質がどのように変質するか，また，その受ける影響等を滴定曲線その他から調べることが基礎的知見として重要と考えるので本節においては，これらについて述べる．

(1) 0.1 *M* ピロリン酸ナトリウム（pH 9.8）で1時間加熱抽出の場合

Choudri と Stevenson[29)]は種々な実験の結果，pH 7 の 0.1 *M* ピロリン酸ナトリウムよりも pH 9 の同抽出剤のほうが，土壌腐植酸を能率よく抽出すると述べているので，筆者はたい肥の腐植様物質の抽出に対して 0.1 *M* ピロリン酸ナトリウム溶液をそのままを抽出剤として用いた実験を行った．そのpHは9.8であった．

前節に用いたのと同様の G-たい肥の 2.5 g を 200 ml フラスコに入れ，この抽出剤 100 ml を加え，沸騰水浴中で1時間加熱処理した．溶出液を遠心分離し，さらにその残留物を1回，同抽出剤で洗浄し遠心分離を行った．溶出液および洗液を合わせて塩酸で沈殿させ，イオン交換樹脂処理を行って電気透析の結果ゾル状に沈降した．したがって，これは真正腐植質と考えられる．

(2)同じく G-たい肥を 10 g 採り，0.5%カセイソーダ 200 ml で3時間，80°C の水浴中で処理した．これも電気透析の結果は，ほとんどゾル状であった．

(3)同じく G-たい肥を 50 g とり0.4%カセイソーダ，1 *l* を加え，常温で時々振りまぜて，3日間静置し，上澄液をとり，既述の方法でケイ酸ゲルを除き，電気透析を行い，そのゾル部分を採った．

これら(1)，(2)，および(3)の各試料はいずれも“Simon の液”に可溶であり，真正腐植質に属するといえる．これらの各試料の滴定曲線を第8図に示した．比較のために，前節の Napp-h (1) および Ox-h(4,5,6,7,8) の曲線図もしるした．

これらの滴定曲線から，変曲点における酸性基の数を見ると Napp-h(1)，0.4% カセイソーダ常温抽出の

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

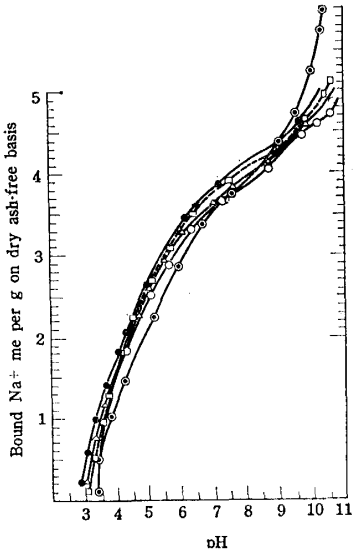

Fig. 8. Titration curves of true humic substances from G-compost extracted: with dil. solution of NaOH; and with 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 9.8).
—•— Napp-h (1) cf. Fig. 5;
--□-- extracted with 0.4% NaOH at room temp. for 3days;
—△— Ox-h (4, 5, 6, 7, 8) cf. Fig. 6;
—○— extracted with 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$(pH 9.8) at 100°C for 1hr.;
—◉— extracted with 0.5% NaOH at 80 °C for 3 hrs.

もの，Ox-h(4,5,6,7,8)，pH 9.8 のピロリン酸ナトリウムで1時間加熱抽出のもの，および0.5% カセイソーダで 80°C，3時間処理のものの順序に4.08，4.02，3.92，3.85および3.81ミリ当量/g であった．すなわちカセイソーダで加熱抽出の場合はただ一回の抽出であっても，あたかも中性ピロリン酸ナトリウムで2回，3回と抽出をくり返して得られたそれぞれの腐植様物質の混合物のような数値を示した．そして，希薄カセイソーダによる抽出のものあるいはアルカリ性ピロリン酸ナトリウムによる加温抽出の場合はピロリン酸ナトリウムまたはシュウ酸ナトリウムによる常温抽出よりも，より広範囲の腐植様物質が一度に溶出されたと考えられる．

このことは，これらアルカリ液でのたい肥からの腐植様物質の溶出量を比較すれば明らかである．次表に腐熟たい肥試料 1g からの腐植様物質の収量を示す．

なお腐植様物質およびフルボ酸の定量には，Springer と Klee[30] の方法を用いた．

この結果によると，アルカリ性の強いほど同量のたい肥からの溶出量は多く，また抽出温度を高くすれば希薄カセイソーダでも，かなり多く溶出したことがわかる．すなわち抽出力の強いほど，より広範囲に腐植様物質を溶出していると考えられる．そして，その滴定曲線は溶出腐植様物質群の平均値を表わすものであろう．

Table 10. Comparison of amounts of humus-like substance extracted from well-rotted compost by various extraction processes

Extraction processes		Humus-like substance (%)*	Fulvic acid (%)*
(Condition)	(Extractant)		
Stirring at times, for 24 hrs., at room temp.	5%NaOH	19.26	7.38
	First, 0.5%NaOH	9.45	5.23
	Secondly, 0.5%NaOH	4.85	2.69
	0.1 *M* $Na_4P_2O_7$	6.01	4.80
	First, *N*/25 HCl	—	1.94
Heated at 80 °C for 3 hrs.	Secondly, 0.35%NaOH	13.70	2.51
	0.4%NaOH	18.30	6.87

* Percent on the basis of organic matter of compost.

この場合，なお一つの疑が起こる．すなわち，たい肥腐植様物質はアルカリ抽出処理の途中に，その解離基の一部が破壊されて，Na^+ 結合量が減少するのではないかと．この問題を明らかにするために次の実験を行った．

さきのたい肥真正腐植質試料の Ox-h のゾル部分，Napp-h(t)，および 0.4%NaOH-h のゾル部分等の各試料をそれぞれ 0.25 g ずつ採り，200 ml のフラスコ中で 50 ml の5%カセイソーダを加えて溶解させ，還流冷却器をつけて，一定時間加熱した．これには，直火で軽く煮沸するのと，沸騰水浴中で熱するのと二つの処理を行った．それぞれ，3～22時間の処理の後 1 *N* 塩酸を加えて pH 1～2 まで酸性にして沈殿する残留腐植様物質を遠心分離で可溶部と分け，さらに沈殿を2,3回希酸液で洗浄して，洗液を可溶部に加えて一定容にし，また残留腐植様物質も 0.1 *N* カセイソーダに溶解させて一定容にし，それぞれ一部ずつをとり，炭素の定量を行い，また両者を合量したものと供試真正腐植質量との差を分解されてガスとして逸出したものとした．そして，それぞれ供試真正腐植質量に対する百分率を計算した．また，それぞれの溶液につ

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

Table 11. Denaturation of true humic substance from straw compost, under heating treatment at a temperature of 100°C in 5% NaOH for several hours

Original sample		Duration of treatment (hrs.)	Result				
			Fled gas	True humic substance		Fulvic acid	
Name	*$\Delta\log K$		Yield (%)	Yield (%)	*$\Delta\log K$	Yield (%)	*$\Delta\log K$
Ox-h(1,2,3)	0.606	3	9.2	67.8	0.600	22.9	0.745
〃	〃	6	12.7	54.2	0.577	32.9	1.035
Napp-h(t)	0.595	3	7.9	70.0	0.587	23.1	0.762
0.4%NaOH-h	0.614	7	19.9	50.1	0.540	30.0	0.843
〃	〃	10	21.7	39.8	—	38.4	—
〃	〃	13	34.4	28.2	0.520	36.9	—
〃	〃	19	35.8	23.9	0.508	39.8	—
〃	〃	22	36.0	20.8	0.507	42.7	—

* $\Delta\log K=\log K_{400}-\log K_{500}$.

いて pH 10 以上で Beckmann DU 型分光光度計を用いて，400 mμ および 500 mμ の波長における吸光係数を測定し，その差を色調係数とした．これらをまとめて第11表に示した．

加熱時間の経過とともに，残留腐植様物質の収量は減少し，直火で22時間の処理では，その量は供試量の約⅙になり，また同じく½弱が酸可溶有機物(フルボ酸)になり，残りはガスとして逸出した．かつ，残留腐植様物質の色調係数は供試真正腐植質のそれよりもかなり小となった．すなわち，吸光曲線の波長軸に対する角度は小さくなり，腐熟度が進んだ場合と同様の結果に見えた．

これは真正腐植質の一部の分解とともに側鎖の酸化や，ポリフェノールの結合配置にも大きな影響があったものと思われる．また分解産物と考えられる酸可溶有機物部分の色調係数は酸による沈殿部のそれとは，かなり大きな差異が認められた．

Mattson と Koutler-Anderson[31] らは土壌有機物を過酸化水素または酸素気中でアルカリ液によって自動酸化させた場合，残留物の acidoid の含量は高くなり，酸に可溶な β-acids および有機酸，炭酸ガスが生成されると述べた．また Springer と Wagner[32]は麦わらたい肥の腐植様物質を0.5%カセイソーダで長時間煮沸した場合，これを酸で沈殿させて得た残留腐植様物質はわずかに 7.4% に過ぎなかったが，色の特性は変化していなかったと述べている．

なお，これらの残留物はそのままでは，多くの場合 "Simon の液" に不溶であった．それはカセイソーダでの加熱分解過程中に，二，三価陽イオンとの結合

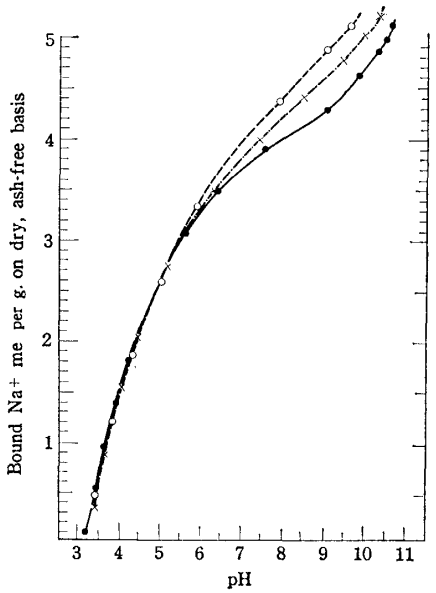

Fig. 9. Titration curves of denatured t. h. s. recovered from treatment of t. h. s. with 5% NaOH at 100°C for 7 hrs. and 19 hrs.
—•— Control, 0.4% NaOH-h, cf. Fig. 8; --o-- denatured t. h. s. by treatment for 19 hrs.; —•—×—•— denatured t. h. s. by treatment for 7 hrs.

が行われたためと考える．なぜなら，これを十分ピロリン酸ナトリウムで精製処理すれば，すべての場合 "Simon の液" に可溶であったからである．

これらの事実は相当苛烈なアルカリ加熱処理によっても，真正腐植質が腐朽物質に変成する可能性はないことを物語っている．そして恐らく酸素を吸収して真正腐植質の一部が酸可溶成分に分解しても，その残り

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

の部分はあくまで真正腐植質の性質を示し，かつ色調係数の値も小さくこそなれ，決して大きくはならないことがわかった．したがって，腐朽物質は決して抽出途上において，人工的に造成されたものでないことが明らかである．

次に第11表の0.4%カセイソーダで抽出した腐植様物質のゾル部分を上記条件で7時間処理したもの，および同じく19時間処理したものの，それぞれ残留真正腐植質について，滴定曲線を求め対照と比較した．これを第9図にしるした．

この結果によると，処理をしない対照のものとあまり大きな変化はなかった．しかし，曲線の上の変曲点を求めると，対照（1）は pH 7.5～8 にあるが，処理物（4）および（7）はその変曲点は右寄りになっている．そして酸性基の含量は顕著に増加していた．これは，フエノール性水酸基の一部が酸化されたものと思われる．いずれにせよ，滴定曲線の形状が図において低くなる現象は認められなかった．したがって，さきに述べた0.4%カセイソーダ常温抽出や0.5%カセイソーダ加熱抽出によって得られた真正腐植質の滴定曲線が若干低かったことは，単位腐植様物質の解離基がカセイソーダ処理によって増しこそすれ，減少したのではなくて，より低度の解離基を持つ真正腐植質ゾル群も，ともに抽出されたためと考えるのが妥当である．すなわち腐熟たい肥には，電気透析によってゾル状に沈殿する真正腐植質中においても，解離基量に若干の差異のあるものが混在していたと解される．

第4節　たい肥の腐植様物質のゾル，ゲリーおよびゲルならびに稲わらリグニンの諸性質

第2節および第3節に既述のように，腐熟たい肥の腐植様物質はこれを精製の後，カセイソーダを加えて pH 9 にして電気透析を行えば，まずナトリウムイオンが陰極に，微量の塩素やまた残っていたケイ酸イオン等が陽極へ出てくる．そしてナトリウムイオンが出尽してくると有機物自身が水と分れてくるが，その様式に，ゾル，ゲリーおよびゲルの三通りを観察することができた．

真正腐植質の場合は過剰の水と層状に分れて，液状のまま沈降してくるが，これは水との親和力が強いため，ゾル状に安定に保たれ，陽極膜に析出してこない．そして，この場合は滴定曲線によると，酸性基が多く，また“Simon の液”に可溶であった．

しかし一方，腐朽物質や後述のリグニンなどは，ナトリウムイオンが除かれてくると，分散していた水との安定性が破れ，泳動して陽極膜へ沈着し，またはゲル状になって下方へ沈降した．そして，これは“Simon の液”には不溶であった．

また真正腐植質と腐朽物質の中間の滴定曲線を示すところの OH-h（4,5）などはゾルとゲルの中間ともいえるゲリーの状態を呈した．すなわち陽極膜に析出するが，析出したものはゲルよりも多く水を含み，よく振ると水に容易に分散した．そのゲリーは“Simon の液”で処理すると可溶であり，この点において腐朽物質のゲルとの差異は明らかである．

また非透析性のケイ酸を含んでいたために真正腐植質がゲリー状になったものや，また真正腐植質に鉄，アルミニウム等を含んでいたために，ゲル状を呈したものは，それぞれ精製を行って，再び電気透析をすれば，ゾル状態に復原した．

次に，たい肥腐植様物質の構成に関係のあると考えられる稲わらリグニンの滴定曲線を，たい肥腐植様物質のそれらと比較した．

第1項　稲わらリグニンの滴定曲線

（1）　フイリップス・リグニンの調製

稲わらの粉砕試料から Phillips[33]の方法によって，フイリップス・リグニンを作製した．これは外観は黄色で，灰分は3.09%存在し，希薄（0.1 *N*）カセイソーダに不溶解の部分も若干存在したので，滴定曲線の試験のために精製を行った．すなわち，これを 1.8g とって，0.1*N* カセイソーダ 50 ml を添加し，かき混ぜて pH は 9 になったが，これを遠心分離して，コロイド状不溶部分を除き，さらに少量の塩酸を加えて沈殿させ，これを遠心分離し，また水を加えて洗浄した．

腐植様物質と異なり，pH 5～6 でも沈殿は分散せず，pH 6 以上で初めて分散した．さて，これに 0.1 *N* カセイソーダ 20 ml を加えて溶解させ，陰イオン交換樹脂で処理した．次に pH 9 にして電気透析を行ったが比較的多量のケイ酸が除去された．そしてリグニンは陽極膜上にゲル状に析出した．透析前は黄色であったものが，やや褐色になった．このゲル部分を常温，減圧乾燥して試料とした．外観は褐色を帯びているがカセイソーダに溶かすと黄色を呈した．

灰分は0.76%と少なくなり，ジョ濁点は pH 5.5 で，“Simon の液”に不溶であった．これを精製リグニンと名付けた．

（2）　アルカリリグニンの調製

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

稲わら細断物 200 g に対して 30 g のカセイソーダを水 1 l に溶解し，蒸解タンクで加圧・加熱し，100 °C で一たんブローし，160°C で2時間，蒸解を行い蒸解液を口過し，pH 6 にして一日おくとケイ酸がゲル状になって固まってきたから，これを遠心分離で除き，分離液に塩酸を加えて沈殿させ，水で何度も洗浄し洗液が無色になってから，沈殿を陰イオン交換樹脂で処理後，アルカリ性電気透析を行った．これは陽極膜上にゲル状につき，11時間後，中室液はほとんど無色になった．ゲルは減圧乾燥の後，試料とした．外観はたい肥腐朽物質に酷似していた．ジョ濁点は精製リグニンと同様 pH 5.5 であり，灰分は0.53%であって，また "SIMON の液" に不溶であった．

さて，リグニンの滴定曲線については，石川，高市[6]らがスギ材粉から得たリグニンを寺山のコロイド滴定法によって試験を行い，リグニン中にはカルボキシル基およびフエノール性水酸基が存在すると述べた．筆者は，上記（1）精製リグニンおよび（2）アルカリリグニン各試料について腐植様物質と同様にして滴定曲線を求めたが，それを第10図に示した．

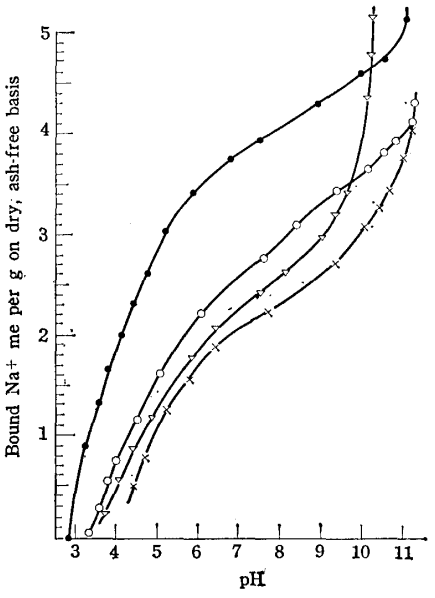

Fig. 10. Comparison of titration curve of rice straw lignin with those of humus-like substances from straw compost. —•— Napp-h (t), cf. footnote of Fig. 7; —○— NaOH-h(t), cf. footnote of Fig. 7; —▽— alkali lignin, obtained by cooking of straw with 3% NaOH, at 160 °C for 2 hrs.; —×— refined lignin, refined of PHILLIPS' lignin by reflocculation.

Table 12. Results obtained from titration curves of rice straw lignin

Sample	Acid radicals	Saturation point		Chemical equivalent
	me/g	pH	me/g	
Refined PHILIPS' lignin	2.25	10.85	3.58	279
Alkali lignin	2.50	9.85	3.64	275

なお，この図には比較のために，Napp-h(t) および NaOH-h(t) を示した．この図の変曲点から，その酸性基の me 数を調べ，また飽和点等をしるすと第12表のようである．

図においても明らかなようにリグニンの酸性基は腐朽物質に比べてもなお小さい値を示している．アルカリリグニンはアルカリによる高温高圧処理を経ているのでフエノール性水酸基の一部が酸化・分解され，またはカルボキシル基に転位したものと考えられ，精製リグニンに比べて，酸性基量は多くなっている．次にリグニンの化学当量については，HÄGGLUND[34]らが木材のブタノールリグニンおよびアシルアルコールリグニンを氷酢酸を溶媒として，氷点降下法によって，分子量を測定した結果では，254および319であって筆者の滴定曲線から算出した稲わらリグニンの値も近似していた．

第2項 稲わら腐植様物質ゾル，ゲリー，ゲルおよび稲わらリグニンの吸光曲線，色調係数（$\Delta\log K$）およびメトキシル基の測定

（1） 色調係数および吸光曲線について

第3節に述べたと同様の方法で，色調係数 $\Delta\log_{400}K_{500}$ を次表に示す各試料について測定した．

Table 13. Absorption coefficients of various samples of humus-like substance from G-compost

Sample	$\Delta\log_{400}K_{500}$
Ox-h(1,2,3)	0.606
OH-h(1,2,3)	0.627
OH-h (4,5)	0.654
OH-h (6)	0.699
OH-h(7,8,9)	0.691
Napp-h(t)	0.595
Napp-h(pH 9.8)	0.601
0.4%NaOH-h*	0.592
NaOH-h(t)	0.709

* Extracted at room temp.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

Table 14. Absorption coefficients of various samples

Sample	$\Delta\log_{400}K_{500}$
PHILLIPS' lignin	1.066
Refined PHILLIPS' lignin	0.965
Alkali lignin	0.543
* Denatured true humic substance for 7 hrs.	0.508
* Denatured true humic substance for 4 hrs.	0.540

* cf. Table 11.

第2節，第2項の各試料についての測定結果は，たい肥からの抽出順序に従って，その色調係数は大きくなる傾向を示した．そして，これは第6図に示した滴定曲線の順序とよく一致し，滴定曲線における解離基量の多いほど，色調係数は小さくなっていた．また0.4%NaOH-h すなわち0.4%カセイソーダで常温抽出の腐植様物質はその色調係数は Napp-h(t) と甲乙はなかった．しかし，腐朽物質である NaOH-h(t) は，その値は大きく，前表の OH-h(7,8,9) などとほとんど変らなかった．

また第14表における精製リグニンおよびフイリップス・リグニンはいずれもその値は大きく，殊に後者は大であった．ここに，興味あることはアルカリリグニンの色調係数が小さいことであって，精製リグニンおよびフイリップス・リグニンの約½の値であり，真正腐植質よりも小さく，5%カセイソーダで4時間加熱処理を行った残留真正腐植質に大体等しいことである．これはアルカリによる加圧・加熱処理によって，リグニンの構造上大きな化学的変化を受けたためであろう．また上述の4時間および7時間処理を受けた残留真正腐植質はいずれももとの試料 0.4%NaOH-h に比べてもちろん小さくなっている．

次に吸光曲線を測定した．その結果は第11図および第12図に示した．

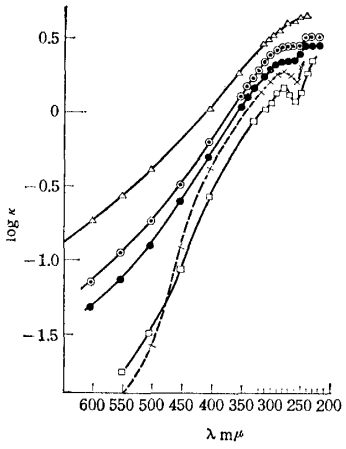

Fig. 11. Absorption spectra of humic acid, humus-like substance, and lignin.
—△— Soil humic acid, Daisen-cho, alluvial soil; —⊙— Napp-h(t); —•— NaOH-h(t); --×-- PHILLIPS' lignin; —□— refined PHILLIPS' lignin.

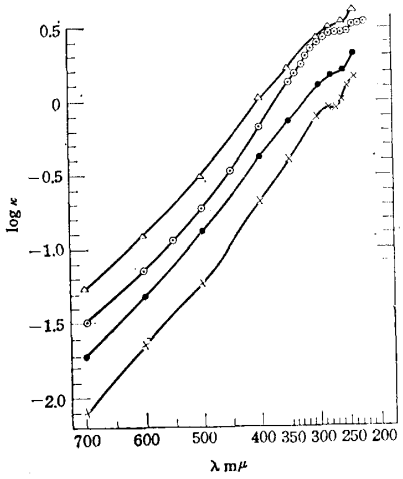

Fig. 12. Comparison of absorption spectra of alkali lignin with those of denatured true humic substance.
—△— Denatured t. h. s., treated of t. h. s. with 5 % NaOH, at 100 °C for 7 hrs.; —⊙— Napp-h(t); —•— t. h. s. extracted with 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 7) from compost decomposed at 60°C; —×— alkali lignin (cf. Fig. 9).

これらの結果によると，第11図のリグニンの吸光曲線はいずれも可視部における波長軸となす角度は大きく，280 mμ にリグニン特有の極大吸収点が見られ，また 260 mμ に大きな湾曲が見られた．一方 G-たい肥から抽出した試料 Napp-h(t) および NaOH-h(t) はともに 280 mμ の極大吸収点は明らかではないが，波長軸にほぼ平行になり，260 mμ 以後曲線は急激に上っている．そして前記リグニンとわずかながら近縁性が認められた．しかし，可視部波長における曲線の傾きはリグニンとは著しく異なっている．また真正腐植質である Napp-h(t) は腐朽物質である NaOH-h(t) よりも波長軸との傾きは若干ゆるやかであった．また参考のため，府大冲積層土壌のピロリン酸ナトリウム液による抽出腐植酸の吸光曲線も示したが，これはほとんど直線的であった．また可視部における波長軸との角度はたい肥の場合よりも，ずっと小さくなっ

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

ていた．

また第12図に示すように5％カセイソーダで7時間処理した残留真正腐植質は可視部の角度は濃アルカリによる長時間加熱処理によって Napp-h(t) よりも小さくなっており，蒸解タンクで加圧．加熱処理を受けたアルカリリグニンは紫外部において起伏が若干平板になったと同時に可視部において，もとのリグニンの特性が著しく少なくなっていた．これはアルカリによる激しい処理によってかなり変化を受けているものと考えられる．

さて熊田[35]は土壌腐植酸の吸収スペクトルを測定して，種々の土壌腐植酸の質的差異は結局，吸光曲線と波長軸とのなす角度あるいは傾きに帰一し，腐植化が進むと傾きが小さくなることを意味すると述べているが，この観点を，たい肥に含まれる腐植様物質に適用すれば，リグニンからたい肥腐朽物質およびたい肥真正腐植質へと分解度の順序が認められ，土壌の腐植酸はさらに分解腐熟度が進んだものと考えられる．

（2） メトキシル基について

メトキシル基はリグニンに多量存在しているが，酸・アルカリに対して抵抗性強く，エーテル結合によって結合している[36]と言われている．ところが土壌腐植酸が腐熟して行くに従い，メトキシル基が減ることはすでに1934年 WAKSMAN[37] により述べられている．小坂[38]は各種の土壌のA型，B型腐植酸のメトキシル基を測定し，その含量はA型はB型よりも少なく，従来の種々の性質と一致すると述べている．また熊田[39]もわが国の土壌腐植酸の腐熟の進んだものと，進まないものとを色調係数の順番に並らべ，メトキシル基を調べると，腐熟の進んだものほど小さくなっていることを認めた．

筆者は既述の各種抽出法を異にする腐植様物質の間に，メトキシル基含量の差異があるか，否かについて試験した．その結果を第15表に示す．なお精製リグニンについても測定した．このデータは三点分析の平均値を示している．

この結果によると Napp-h(t) は NaOH-h(t) よりもメトキシル基含量は少なく，また Ox-h(1,2,3) と OH-h(6) や OH-h(7,8,9) 等との比較でも，G-たい肥から各試料作製の際の抽出順序のおそいものほど，メトキシル基含量は大きい傾向が認められた．この事は，腐熟した部分ほど緩和な抽出剤によって抽出されやすく，緩和な抽出剤で抽出後にカセイソーダで溶出した腐朽物質は真正腐植質よりもメトキシル基が多いことがわかる．メルク腐植酸，褐色腐植酸および黒土腐植酸のメトキシル基含量[40]の一例を示すと，それぞれ2.22％，1.59％および0.24％であったが，これらの数値に比べて，たい肥の腐植様物質にはなお，相当多量のメトキシル基が含まれている．そして，たい肥の腐植様物質は土壌腐植酸に比べて，前駆的段階のものであることが明らかである．これらのたい肥が土壌に施され分解，腐熟してゆくときに，さらに，続いて脱メトキシル基作用が進み，安定化してゆくものであろう．

Table 15. Content of methoxyl radical in each sample

Sample	Percent on dry basis	Percent on basis of organic matter of sample
Napp-h(t)	7.38	7.42
NaOH-h(t)	8.18	8.21
Ox-h(1,2,3)	6.57	6.63
OH-h(6)	7.20	7.21
OH-h(7,8,9)	7.35	7.48
Refined lignin	10.26	10.33

第4章 たい肥の腐植様物質の滴定曲線に対する種々の無機成分の影響[41]

MEHLICH[42] は土壌コロイドの滴定曲線は解離基の性質を知るのに有効であるが，そのコロイドをあらかじめ精製してシリカ，アルミナ，酸化鉄等を除かないと，曲線に影響を与えると言っている．また腐植酸に Fe(II)，Fe(III)，Al(III) が結合して Fe-腐植酸，Al-腐植酸ができること[43]が論ぜられているが，たい肥の腐植様物質の滴定曲線を描く場合に，これらのイオンが多量に存在すると曲線にどのような影響を与えるかを知り，また酸性透析ではケイ酸は試料から分離しにくいが，このような場合に滴定曲線はどのように変るかなどを明らかにする目的で本章の研究を行った．なお，Fe(III) や Al(III) とキレートをつくるキレート試薬 EDTA の2Na塩の滴定曲線およびイオン交換樹脂に対する Fe(III)，Al(III) の作用について，また腐植様物質とホウ酸との相互作用についても滴定曲線による研究を行って，これらの間に複合体の生成の有無につき検討した．

第1節 たい肥の真正腐植質に対して陰荷電を持つ無機コロイドの添加の影響

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

第1項 たい肥の真正腐植質に対する H-ベントナイト，ケイ酸添加試験

供試試料は Napp-h(1) で，これは稲わらたい肥を中性ピロリン酸ナトリウムで抽出した後，電気透析して精製したものである．これに対してコロイド状の H-ベントナイトは3.5%，ケイ酸は5%をそれぞれ添加して滴定曲線を求めた．第13図にその結果を示す．なお，イオン強度が0.15になるように計算量の塩化ナトリウムを加えた．ここにコロイド状ベントナイトおよびケイ酸は16頁に記述のように調製したものである．

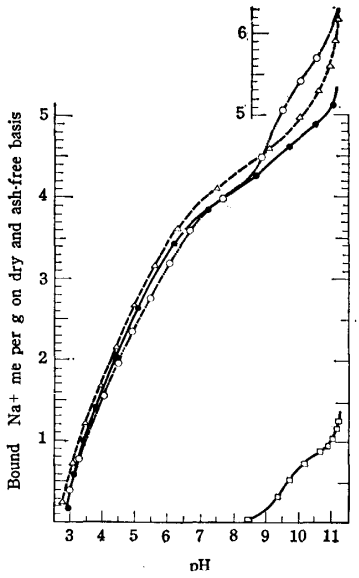

Fig. 13. Influence of purified silicic acid and H-colloid of bentonite on titration curve of true humic substance.
—•— Napp-h (1), cf. footnote of Fig. 5; --▵-- added 3.5% H-bentonite colloid to Napp-h (1); —···—○—···— added 5% silicic acid to Napp-h(1); —□— silicic acid alone.

腐植と粘土との間に相互作用の存否については多年論議されており，腐植は粘土分子を吸着するか，または吸着されるものと推定されているがその機構についてはなお明らかでない．MYERS[44] は電気透析した各地の土壌の粘土溶液と，わら，トウモロコシ茎，アルファルファ等あるいは，たい肥の腐植コロイドの電気透析したものとの間の相互作用の有無を置換容量の差で調べたが，若干結合すると述べている．これに対し JUNG[45] は腐植酸とK-および Ca-モンモリロナイトとの相互作用を調べて，これは Van der Waals 型の吸着であるとし，両者を混合しても全置換量はなんら減少しないと言った．

筆者の上の実験結果からは腐植様物質の滴定曲線の上に，添加した粘土溶液のそれが，さらに累加された形になっており，精製したコロイド状ベントナイトの場合は相互作用をなして解離基の減少を来した証拠は得られなかった．しかしケイ酸の場合は，pH 8 以上では図の下方に示したケイ酸の滴定曲線をそのまま累加した形になって相互作用はなかったが，それ以下では対照より若干解離基が影響を受けているようであるが，これは恐らく Siloxan の形成によって腐植様物質の一部を抱合したのではないかと考える．

なお，粘土，ケイ酸等とともに，二価，三価陽イオンを含む場合の複合体形成については今後の研究問題である．

第2項 無機成分（特にケイ酸）の多い腐植様物質の滴定曲線と再精製後の滴定曲線との比較

第3章，第1節に述べた試料〔V〕は未熟な野外積込の稲わらたい肥を3%カセイソーダで抽出して精製不十分のまま，酸性電気透析をしたもので，灰分を7.06%も含み特にケイ酸含量多く，その滴定曲線においては高 pH 域で Na^+ 結合量の著増が見られたが，これについて次のような精製試験を行い，その滴定曲線によって吟味した．

（1） イオン交換樹脂による精製

前記試料〔V〕の腐植様物質を風乾 1.1810 g 採取し（無水無灰物として 0.9858 g に当る），1 *N* カセイソーダ 2 ml を加えて溶解させた．その pH は8であった．これにアンバーライト IRA-400, OH 形を添加し，一日放置したが，粘土様のものが一部沈殿し清澄な溶液部分と分離した．IRA-400 はデカンテーションで分け，水洗の後，樹脂をカセイソーダで溶離した．溶離液について定性分析を行ったがケイ酸反応強く，またアルミニウムも存在した．

上の清澄な腐植様物質溶液を IR-120, H 形で処理して，pH 4.5 となり，樹脂と分離後遠心分離を行ったが，なお若干粘土質のものが分離された．次に，この分離液に 6 *N* 塩酸を 0.3 ml 加え沈殿させ，これを十分洗浄してナトリウムイオンを除いてから，続いて IRA-400, OH 形で処理し，サラン綿で樹脂を除き 200 ml のメスフラスコに液を満した．このうち一部をとって有機物量および灰分量を調べ，残りの無水無灰物として 0.738 g に相当した試料について滴定曲線を求めた，

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

（2） 再透析，精製の場合

試料〔V〕を風乾 1.4 g をとり，1 *N* カセイソーダを 5 ml 加えて溶解させ遠心分離すると，粘土様のものが沈殿した．次に，IRA-400, OH 形で処理の後，IR-120, H 形樹脂を通した．その液の pH は3.8であった．これを遠心分離したが再び粘土様のものが若干沈殿した．さて，この沈殿物につき分析した結果，無水物 21.8 mg に相当するものの強熱灰化物は 8.9 mg でかなり有機物を含んでいた．この灰化物 8.9 mg をフッ化水素処理を行って後，残留した無機物は1.9mg であった．したがって，これは粘土ではなくて，たい肥微細物と考えられる．

試料液はカセイソーダを加えて pH 9 とし，150 ボルトで電気透析を行った．10時間後，試料はゲル状に陽極透析膜上に析出した．少量のゾル状の真正腐植質も存在したが透析完了後，ゲル部分のみを真空乾燥して試料をつくった．灰分1.33%であった．(1),(2)の各試料についての滴定曲線は第14図に示す．

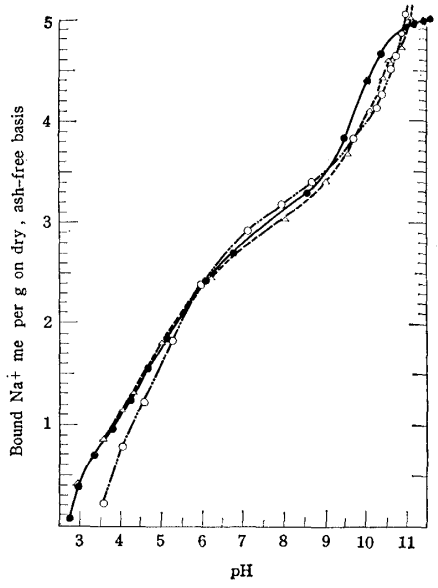

Fig. 14. Comparison of titration curve of unpurified humus-like substance(Sample V) which include a plenty of silicic acid, with those of the refined.
—•— Sample [V] cf. footnote of Fig. 4;
--△-- refined with ion-exchange resin;
•—○—• refined with ion-exchange resins and electrodialysis.

第14図において，イオン交換樹脂のみの精製の場合は低 pH 域では，対照とほとんど一致するが pH 7 以上では少しずつ曲線は下り，高 pH 域における対照のケイ酸による曲線の高まりは軽減されている．これはイオン交換樹脂によって，ケイ酸が相当量除去されたためであると思う．しかし，なおイオン交換樹脂および電気透析処理のものに比べて若干量残り，イオン交換樹脂のみではこの場合は不十分であることを示した．アルカリ性電気透析により，分子分散性ケイ酸がさらに除かれると高 pH 域における高まりはなくなった．また中性付近での若干の変化は Siloxan による抱合が除かれたためとたい肥微細物の除去によるものと考える．なお低 pH 域の曲線の右寄りはこれはゲルのみを試料としたためと思う．いずれにせよ，試料〔V〕の高 pH 域での Na^+ 結合の異状な増加はケイ酸によることが立証された．

第2節 たい肥の腐植様物質に対するホウ酸の影響

ホウ酸がマニトールやグリセロールその他，ある種の炭水化物に対して結合して，その酸性を高めることは知られている．一般に環式あるいは非環式化合物のオルトまたはシス形の水酸基を持つポリヒドロキシ化合物はホウ酸と結合して，ホウ酸複合体をつくると言われている．

筆者は，たい肥腐植様物質の構造の一端を知るために，このようなオルトまたはシス形の水酸基が存在するか否かをホウ酸を添加した滴定曲線から知ろうと企図した．もしもこのような水酸基が存在すればホウ酸自体は解離定数は低いがホウ酸複合体が形成されて，これは比較的強い一塩基酸となるから，その曲線は pH 7 以下においても対照に比べて，Na^+ 結合量に著しい増加が現れるはずである．*o*-ヒドロキシル化合物であるピロカテキンや没食子酸等について筆者が行った実験[46]では明らかにそれらの滴定曲線において，ホウ酸を添加したものは各 pH 域にわたって対照に比べて Na^+ 結合量の変化が現われ，ホウ素を中心として Antipod をつくった Bisdiol ホウ酸複合体を生成することが認められた．第15図にその滴定曲線の結果を示す．

次に真正腐植質および腐朽物質のそれぞれについて，ホウ酸を添加して試験を行った．これは第16図に示す．

この結果によると，たい肥真正腐植質および腐朽物質ともに pH 7 以上で対照に比べて，ホウ酸添加のものは累加的に高くなっているが，これはホウ酸複合体の曲線ではなく，ホウ酸自身のアルカリ液における滴

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

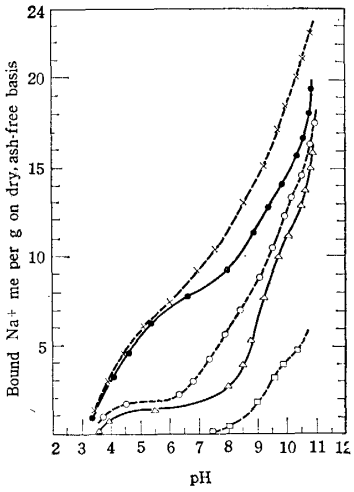

Fig. 15. The non-additive effect on titration curve, when complex formation takes place.
—▵— 0.1084g pyrocatechol alone taken, 20 m*l* of 0.1 *N* NaOH, 56m*l* of 0.5 *M* NaCl added, titrated with 1*N* HCl; --○-- 0.1081g of pyrocatechol+ 0.5 m*M* boric-acid, 22.5 m*l* of 0.1*N* NaOH, 55.5m*l* of 0.5*M* NaCl added, i.q.; —•— 0.0914g gallic acid alone taken, 20 m*l* of 0.1 *N* NaOH, 56 m*l* of 0.5 *M* NaCl added, i.q.; --×-- 0.0900 g gallic acid + 0.5 m*M* boric acid, 22.5 m*l* of 0.1 *N* NaOH, 55.5 m*l* of 0.5 *M* NaCl added, i.q.; --□-- 0.5 m*M* boric acid alone.

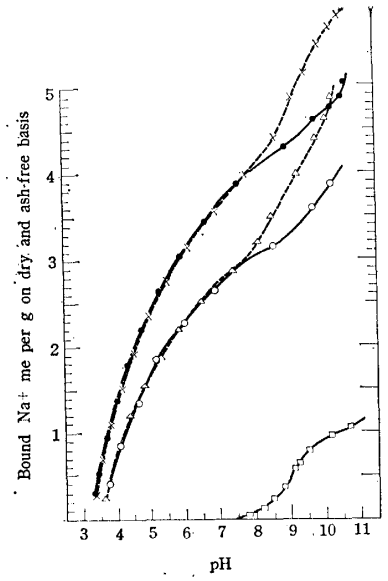

Fig. 16. The additive effect on titration curve, when no complex formation takes place.
—•— Ox-h (4, 5, 6, 7, 8), a true humic substance; --×-- 0.1717g of Ox-h (4, 5, 6, 7, 8) taken and added 0.2m*M* boric acid; —○— OH-h (7, 8, 9), a rotted product; --▵-- 0.2117g of OH-h (7. 8, 9) taken and added 0.2 m*M* boric acid; —□— 0.2 m*M* boric acid (12.37 mg) alone.

定曲線が累加されているのである．そして pH 7 以下では対照と全然変らないから Bisdiol-ホウ酸複合体ができていないことは明らかである．

したがって，これらの腐植様物質に含まれた水酸基はかりに隣接したものであったとしても，それはオルトまたはシス形のものではなくてメタ，パラの位置またはトランス形のいずれかであると推定される．

第3節 たい肥の腐植様物質および EDTA に対する三価金属イオンの影響

土壌腐植酸と Al(III), Fe(III) 等との結合の機構については多くの人々によって種々な説が述べられている．たとえば Deb[47] は土壌の B 層中において，鉄と有機物とは相互凝固または錯化合物を生成するといっている．

Schnitzer と Delong[13] は葉の抽出液は鉄を結合して移動することができるが，キレート結合をしている確かな証左がない．おそらくペプタイザーまたは保護コロイドとして作用するのであろうと述べている．しかし，Broadbent[48] は腐植酸には二種の官能基があり，一つはカルボキシル基，エノール形水酸基，他はアミノ基，環状アミノ基あるいはカルボニル基であるからキレートする力があると言っている．筆者は腐植様物質に Al(III), Fe(III) が存在するときに滴定曲線の上に，どのような影響を与えるかを知るために既知量のこれら三価金属イオンを加え，その滴定曲線を比較して，その影響を調べた．また，その結合の機構に関して知見を得るために，イオン交換樹脂 IRC-50 に対する Al(III) 添加の影響，ならびにキレート試薬 EDTA と Al-EDTA および Fe-EDTA とのそれぞれの滴定曲線を比較した．

第1項 たい肥の腐植様物質に Al(III) を加えた場合

試料は真正腐植質として Ox-h(4,5,6,7,8) および腐朽物質として OH-h(7,8,9,) を採り，それぞれの試料に対して2.6%の Al(III) を添加して滴定曲線を求め対照と比較した．この場合 Al(III) のみを加えることはできないので，塩化アルミニウムとして一定量を

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

加え，含まれた塩素イオン量を中和するだけのカセイソーダ量を別に添加し，Al(III) 以外のイオン強度を0.15にするために，この中和によってできた塩化ナトリウム量をも含めて，計算量の 0.5 M 塩化ナトリウムを添加した．これらの滴定曲線の結果は第17図に示した．

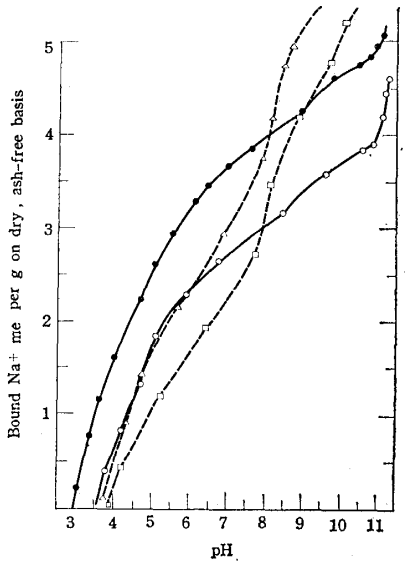

Fig. 17. The influence of Al(III) added, on the titration curve of humus-like substance from compost.
—•— Ox-h (4, 5, 6, 7, 8) cf. footnote of Fig. 6; --▵-- 0.0859 g of Ox-h (4, 5, 6, 7, 8) taken, 8.26 m*l* of 0.01 *M* $AlCl_3$ (Al (III) is equivalent to 2.6%), 8.24 m*l* of 0.1 *N* NaOH, and 58.35 m*l* of 0.5 *M* NaCl added, $C°_{OH^-} = 0.57$ me, titrated with 0.683 *N* HCl; —○— OH-h (7, 8, 9) cf. footnote of Fig. 6;--□-- 0.0916 g of OH-h (7, 8, 9) taken, 8.83 m*l* of 0.01 *M* $AlCl_3$ (Al (III):2.6%), 8.71 m*l* of 0.1 *N* NaOH, and 58.26 m*l* of 0.5 *M* NaCl added, $C°_{OH^-} = 0.6$me, titrated with 0.683 *N* HCl.

この結果によると Al(III) を加えた場合，いずれも高 pH 域で，アルミン酸になるため，その Na^+ 結合量が試料の曲線に累加され，その滴定曲線は非常に高くなった．しかし，pH 9 以下ではアルミニウムの形態が変るにつれて，試料の解離基とすみやかに結合作用が起り，Na^+結合量は対照に比べて減少をきたした．そしてこの反応は非常に速く，かき混ぜて一分間以内に平衡に達した．

Martin と Reeve[49] はポドソールの腐植酸について，C/Al の比の大きなものと，小さいものとの滴定曲線を比較した結果，Al の多いほど Na^+吸着量が少なかったと報じているが，この腐植様物質に対して Al (III) を添加した場合の対照の曲線との関係と一致している．また Harward と Coleman[18] が粘土酸に対する Al(III) の干渉を滴定曲線で調べているがその傾向も同様である．

次にカルボキシル基を持つ弱酸性イオン交換樹脂 IRC-50 に対して Al(III) を添加した場合の滴定曲線とその対照とを比較試験[41]した．その結果によると，腐植様物質と全く同様に，pH 9 まではアルミン酸として Na^+ の結合量は累加され，pH 9 以下においてIRC-50 の置換基と結合するために，交換樹脂の Na^+結合量を減少させた．清水[17,c]は各種金属陽イオンとイオン交換樹脂との交換吸着性の順位について，一価のアルカリ金属では水和説と一致するが，多価金属陽イオンでは水和説と必ずしも一致せず，非常に複雑であるが，これは配位結合をするからであると述べている．

多価金属陽イオンは腐植様物質に対しても配位的に結合するものと思われる．しかし塩酸洗浄によってイオン交換樹脂や置換性アルミニウムを含む粘土酸からはアルミニウムは除かれるが，腐植様物質からはアルミニウムを塩酸洗浄によっては完全に除去することは困難であったから，腐植様物質の場合はなお複雑であることが推定される．

第2項 たい肥の腐植様物質に Fe(III) を加えた場合

真正腐植質試料 Napp-h(t) および腐朽物質試料 OH-h(7,8,9) に対して Fe(III) を加えて滴定曲線を求め，対照と比較した．Fe(III) の試薬としては 0.05 *M* 塩化第二鉄液を使用した．これの調製にはメルクの純鉄線 2.7925 g を比重 1.16 の塩酸 10 ml に溶解し，比重1.42の硝酸を数 ml 加えて酸化した後，蒸留水で 1 *l* に希釈した．これには Fe(III) のほか，もちろん塩素イオン，硝酸イオンを含む．そこで Mohr 法およびニトロン法で定量した結果，10倍に希釈した 0.005 *M* Fe (III) 試薬中 10 ml 当り塩素イオンは 0.172 me，硝酸イオンは 0.0507 me を含んでいた．したがって，一定量の Fe(III) 試薬を試料に添加した場合，これに含まれた陰イオンを中和するカセイソーダ量を別に加える必要があった．

滴定曲線の結果は第18図に示す．

この結果によると，Al(III) と同様 Fe(III) は腐植様物質と混合した場合，亜鉄酸塩の形をとり，高 pH

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

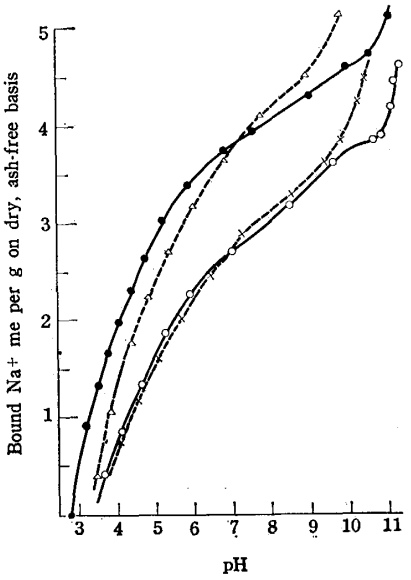

Fig. 18. Influence of Fe(III) added, on titration curve of humus-like substance from compost. —•— Napp-h (t) cf. footnote of Fig. 7; --▵-- 0.0753 g of Napp-h (t) taken, 6.5 m*l* of 0.005 *M* Fe (III) reagent, 0.63 me NaOH, and 58.71 m*l* of 0.5 *M* NaCl added, $C°_{OH^-}$=0.485 me: deducted the equivalent for neutralization of anions of Fe (III) reagent. —○— OH-h (7, 8, 9) cf. footnote of Fig. 6; --×-- 0.0819 g of OH-h (7, 8, 9) taken, 7.5 m*l* of 0.005 *M* Fe (III) reagent, 0.65 me NaOH, and 58.66 m*l* of 0.5 *M* NaCl added. Deducting from added NaOH the equivalent for neutralization of anions of Fe (III) reagent, $C°_{OH^-}$=0.48 me.

域ではむしろ，滴定曲線は高くなった．そして酸性になるに従い，真正腐植質の場合は対照よりも Na^+結合量が減ってきたが，その平衡に要する時間がAl(III)の場合に比べて長かった．腐朽物質の場合はさらに長くて，実際上全然結合作用がないかのような曲線を呈した．これは各 pH 域での鉄の形態が複雑[50]なために，腐植様物質との結合作用に時間を要するものと考える．

さて上例のように，直接 Fe(III) 試薬を加えた場合は塩素および硝酸各イオンの中和補正が必要であるので，腐植様物質に Fe(III) 試薬を加えてから，イオン交換樹脂でまず塩素，硝酸等を除去してから，Fe (III) を結合させた場合も同様であるかどうかを次の二方法で試験した．

（イ） 真正腐植質 Ox-h(1,2,3), 0.3005 g をとり，カセイソーダを加えて溶解させ，上記 0.05*M* Fe(III) 試薬を 5.4 ml 加えてできた沈殿を遠心分離し数回 *N*/100 塩酸で洗浄して，沈殿に包含したナトリウムイオンを除き，あと水で洗浄して腐植様物質が少し分散し始めるようになってから，これに IRA-400, OH 形を加えた．そして吸着した微量の陰イオンを除くと，腐植様物質はコロイド液状に分散したから，デカンテーションによって試料液を分離し，50 ml ずつ二点をとり，一つは滴定曲線用試料に，他は有機物含量および鉄含量の分析に用いた．その結果鉄含量は 4.66 %であった．

（ロ） Ox-h(1,2,3) 試料を 0.3058 g とり，カセイソーダを加えて溶解させ，次に IR-120, H 形で処理してナトリウムを除いたが，これに前記 0.05*M* Fe (III) 試薬を 3.35 ml 添加した．pH は2となったが，これに湿った IRA-400, OH 形樹脂 10 ml を加え，塩酸，硝酸を除いた結果，pH は5となった．デカンテーションにより樹脂を分離し，試料液をとり 50 ml を試料の定量および鉄含量の分析に用い他の 50 ml は滴定曲線用試料とした．酸化鉄として試料の鉄含量は3.75%であった．

これらの滴定曲線の結果を第19図に示す．

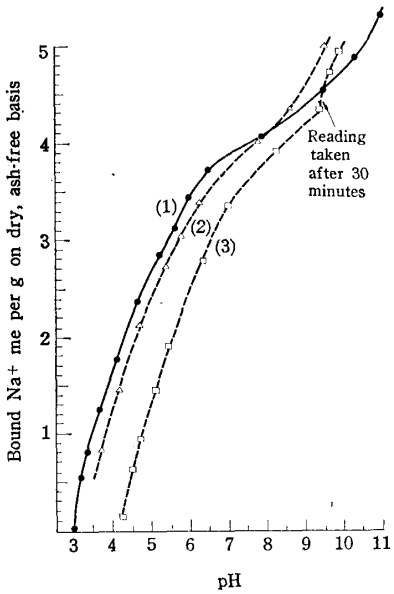

Fig. 19. Influence of Fe-(III) added, on titration curve of humus-like substance when the reading time of pH was prolonged from usual 3 min. to 30 min.
(1) —•— Control, Ox-h (1, 2, 3) cf. footnote of Fig. 6; (2) --▵-- control + Fe (III), readings were taken 2 or 3 min. as usually; (3) --□-- control + Fe(III), readings were taken after 30 min. from the point of arrow, successively.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

この図において（1）の曲線は鉄無添加の対照であり，（2）は上記（イ）の方法で対照と同じ真正腐植質に4.66%の鉄を加えたものであって供試物は無水物として 0.0668 g，無水無灰物として 0.0637 g であった．この滴定曲線の条件は最初に加えたカセイソーダの量すなわち $C°_{OH^-}$=0.4 me で，0.5 M 塩化ナトリウムの添加量は 59.2 ml，滴定用塩酸は 0.683 N を用いた．そして塩酸添加のつど平衡時間を3～4分ずつおいて pH を読んでいったのであるが，その結果は第18図の場合と同じく対照と比べて，あまり大きな差異は見られなかった．（3）の曲線は（ロ）の方法で対照と同じ真正腐植質に対して3.75%の鉄を加えたものであるが供試試料は無水物として 0.1119 g を用いた．無水無灰物としては 0.1077 g に当る．そして $C°_{OH^-}$ = 0.7 me, 0.5 M 塩化ナトリウム 58.6 ml を添加し，滴定用塩酸は同じく 0.683 N を用いた．初めは通常のように3～4分の時間をおいて pH を測定したが矢印の点から平衡時間を30分おいて pH を読んだ．このようにした場合に得られた滴定曲線の結果は対照に比べて差異が大きくアルミニウムの場合と同じく鉄による相互作用が顕著に現れて鉄の存在によって真正腐植質の解離基が mask されたことがわかる．これらの結果から，一たん酸性において腐植様物質と結合した鉄も高アルカリ側においては亜鉄酸塩の形になり腐植様物質との結合が緩むのであるが，そののち，酸の添加により一たん腐植様物質から離れた鉄イオンが再結合する場合，アルミニウムの場合は極めて速やかであるが鉄の場合はアルミニウムよりも，かなり時間を要することが推定できる．

なお，参考のためキレート試薬としてよく知られている EDTA に対する多価陽イオンの結合の模様を腐植様物質のそれと対比するために次の実験を行った．

第3項 EDTA の滴定曲線と Fe(III), Al(III) 添加の影響試験

分析用 EDTA をあらかじめ精製した．すなわち 10 g をとり蒸留水 100 ml に溶かし，アルコールを加えて生じた白濁を口別し，口液に等容積のアルコールを加えて生じた沈殿を口過し，アセトン，エチルエーテルで洗い 30°C で一夜乾燥して用いた．その組成は $Na_2H_2C_{10}H_{12}O_8N_2 \cdot 2H_2O$（分子量 372.25 g）である．この試料 0.3723 g（1 mM）を採り，Fe(III) および Al(III) をそれぞれ 0.2 mM ずつ加えた．この際，0.05 M Fe(III) 試薬および 0.1 M 塩化アルミニウム液を用いたから塩素，硝酸等の陰イオン中和用に計算量のカセイソーダを加え，そして 0.5 M 塩化ナトリウム添加量を計算量減らしてイオン強度を調節した．滴定曲線の方法は腐植様物質の場合と全く同様にして行った．EDTA 1 mM は 1 mM の Fe(III), Al(III) と結合するが，本実験では 1 mM に対してその⅕の Fe(III) または Al(III) に相当する．これは EDTA に対して Fe(III), Al(III) の割合はそれぞれ3%および1.45%に当り腐植様物質の実験と照応させた．これらの滴定曲線の結果は第20図に示した．

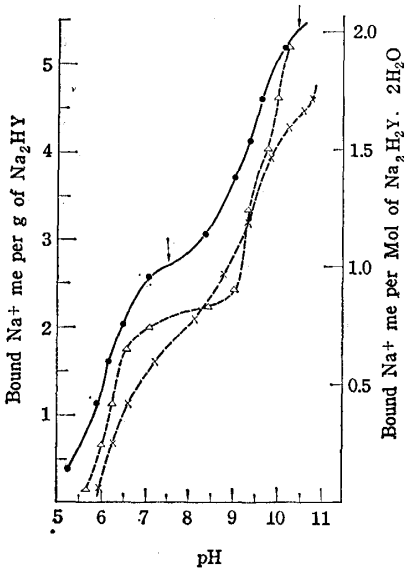

Fig. 20. Comparison of titration curve of EDTA with those of EDTA added Al (III) or Fe (III). —•— Control, EDTA (1mM); --▵-- EDTA (1mM) + Al (III) (0.2 mM); --×-- EDTA (1 mM) + Fe (III) (0.2 mM).

EDTA では腐植様物質と異り Fe(III) の場合も Al(III) の場合と同様に平衡時間はすみやかであった．

なお対照（1）の曲線において，pH 7.5 付近に EDTA の第3番目の H^+ が Na^+ に置換する変曲点があり，これは 1 mM 当り1ミリ当量に当る．また pH 10.4 付近に第4番目の H^+ が Na^+ に置換する変曲点が曲線に現われている．これは EDTA 1 mM 当り，2 ミリ当量である．

Al(III), Fe(III) 添加 EDTA の Na^+ 結合量は対照に比べ，それぞれ下っているが，非常に規則性があり，腐植様物質の場合のように比較的単調でない．Jones と Long[51] が 0.010 M Fe-EDTA (1 : 1) について行った滴定曲線と筆者の Fe-EDTA(0.2 : 1) とは pH の位置は異なるが，曲線の形状は酷似してい

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

た．なお，EDTA に対しても，腐植様物質に対しても種々の割合の多価陽イオンを加えて，比較検討しないと確たることは言えないが，たい肥腐植様物質の場合は粘土酸あるいはイオン交換樹脂 IRC-50 とキレート試薬 EDTA の中間のような配位化合物の性質を持つものと考えられる．

第2部　各種腐熟条件による，たい肥の腐植様物質の生成

第1部においては腐熟たい肥について，その含有する腐植様物質の特性を種々の面から解析を行ってきたが，実際に農家で使用されるたい肥は，その分解腐熟の程度には千差があり，またそのたい積，製造の条件により，その性状も異なってくる．

そこで，各種の腐熟条件によって得られたたい肥の腐植様物質の質的，量的な性状ならびにその生成の過程を第1部における知見に基づいて研究し，あわせてたい肥製造上の一参考資料に供したいために実験を行った．

第1章　各種腐熟条件の設計と生成腐植様物質の試験方法

第1節　設　　計

たい肥原料として稲わらを用い，切断わらと粉砕わらを調製した．切断わらは乾燥したわらを押し切りで 1 cm ないし 5 mm の長さに切って用いた．粉砕わらはこれをさらに，ウイレー粉砕器で粉砕し，2 mm のフルイを通ったものを用いた．

いずれも，500 ml ビーカーまたはフラスコにそれぞれ 50 g（風乾）ずつをはかり，最好気性，好気性，中庸および嫌気性の各種類について；窒素無添加のもの，尿素を稲わらに対して 0.65% 加えたもの（窒素として 0.3%），尿素 1.3% 加えたもの（窒素として 0.6%）；カルシウム無添加のもの，炭カル 5% を加えたもの，炭カル 10% を加えたもの；の各組合せをつくり水を最好気性のものはそれぞれ 150 ml ずつ，好気性のものおよび中庸のものはそれぞれ 200 ml ずつ，嫌気性のものは 300 ml ずつ最初に添加し，よく混和した．

最好気性の場合はビニール・パイプの一端をビーカー中に入れ，これを通して空気圧縮器によって時々空気を吹込んだ．ビーカーの上には時計皿をかぶせたが，水の蒸発がかなり激しく，時々水を補給しなければならなかった．

好気性のものは，空気は吹込まないが，ビーカーの内容物を時々かき混ぜ，時計皿でふたをして，同じく時々水を補給した．

中庸というのはフラスコを用い，綿栓をしたが，空気の供給は丁度自然条件におけるたい肥つみ込みと大体同程度の空気供給状況と考えられる．この場合は水の補給を要しなかった．

嫌気性のものは，三角フラスコに切れ目を入れたゴムのキャップをつけ，フラスコ中で発生したガスは内圧で外へ出るが，外からは空気ははいらないようにした．

さて，これらは保温のため 30°C に調節したサーモスタット中に入れたが，自体の発熱によりサーモスタット内の温度は 35°C 程度に上っていた．

なお別に好熱分解のものは 55°C ないし 60°C に調節したサーモスタット中に入れた．

各組合せの同種のものを二個ずつ調製して，1カ月目（嫌気性の場合のみは70日目）および3カ月目（好熱分解のものは分解が早かったので2カ月目）に試料を風乾させて，はかり，そのうち一部をとり，水分，灰分を測定して，たい肥の無水物および有機物の収量を計算した．そして，さらに粉砕後，腐植様物質の抽出用試料とした．嫌気性の場合は，水分多量のため乾燥に日時を要した．風乾途上，湿潤した部分が日光，空気に触れると，その部分が変色し，ヒドロキノンの存在[52]が暗示された．また，きゆう肥様の臭が強かった．

最好気性のものは黒化するのが最も速やかであった．嫌気性の場合は2カ月後も上部数 mm は若干黒くなっていたが，中間は白く，大部分はわらの色を変えていなかった．

各たい肥ともに，一時的には白い菌糸が多生し，黒い胞子を生じるカビが観察された．60°C の好熱分解のものでも短期間ではあるが旺盛であった．たい肥中の分解にあずかる微生物の純粋分離を試みたが各種の細菌，放線菌，カビ等の集落があった．

これらの各たい肥試料の原料風乾稲わらに対する収量を第16表に示した．

第2節　腐植様物質の抽出分離条件の決定とその定量法[53]

第一部に述べたようによく腐熟したたい肥中には，真正腐植質および腐朽物質が存在し，かつ，それぞれ

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

Table 16. Yields of composts on dry basis obtained under various conditions to initial air dry straw material

N supplied (%)	Ca added (%)	Elapsed time (Months)	at 35°C							at 60°C	
			The most aerobic (%)	Aer. (%)	Aer.* (%)	Moderate aer. (%)	Moder.* aer. (%)	(Months)	Anaer. (%)	(Months)	Moder. aer. (%)
0	0	1	50.0			55.0		2	77.6	1	58.8
		3	38.7			39.8		3	75.5	2	49.6
0	5	1	58.1			59.1		2	76.5	1	60.8
		3	43.2			49.4		3	74.9	2	53.8
0	10	1	61.7			66.1		2	84.5	1	71.4
		3	47.0			55.0		3	83.1	2	61.8
0.3	0	1	46.4	54.0	55.0	47.5	52.2	2	78.8	1	45.4
		3	37.1	45.0	45.1	35.8	49.9	3	74.1	2	33.7
0.3	5	1	52.2	61.0	59.5	49.0	55.0	2	77.0	1	49.7
		3	41.4	55.7	53.1	44.8	47.2	3	74.7	2	39.3
0.3	10	1	54.9	66.7	67.7	56.0	62.7	2	78.5	1	57.7
		3	49.9	59.2	54.4	46.6	50.9	3	76.5	2	41.4
0.6	0	1				43.6		2	72.6	1	47.1
		3				36.3		3	68.9	2	31.4
0.6	5	1				49.0		2	74.5	1	48.4
		3				41.8		3	71.6	2	32.0
0.6	10	1				51.4		2	80.5	1	53.0
		3				43.4		3	75.5	2	39.2

* Cutting straw was used as sample.

各段階の混合物があることを明らかにしたが，これらを分取するのに緩和な抽出剤，たとえばピロリン酸ナトリウムで抽出するのが安全であるが常温では抽出力弱く，数回の処理を必要とした．

そこで多数の試料の定量に適するように 100°C 加熱抽出の場合の抽出剤の適当な pH，試料に対する液量，処理時間等の決定をするための実験を行った．第17表および第18表にその結果を示す．

これらの結果により，pH 9.8 のピロリン酸ナトリウムによっても pH 7 の同抽出剤もともに G-たい肥から溶出された腐植様物質は "Simon の液" に可溶であり，真正腐植質に属し，腐朽物質は混じていないことがわかった．そして pH 9.8 のピロリン酸ナトリウム抽出残留物を 0.5% カセイソーダで2時間加熱抽出したものは腐朽物質であって真正腐植質を含んでいなかった．しかし，pH 7 のピロリン酸ナトリウム抽出残留物を 0.5% カセイソーダで加熱抽出を行った溶出液中には大部分腐朽物質であるがなお，若干 "Simon の液" に可溶の真正腐植質が残っていた．したがって，

Table 17. Comparison of the effect of 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 7) with that of 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 9.8) on the amounts of extractable humus-like substance from well-rotted compost first with those reagents and then with 0.5%NaOH, respectively

Extractants	Treating time* (hrs.)	Humus-like substance (%)	Fulvic acid (%)
0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH9.8)	1	16.1	6.5
0.5%NaOH	2	24.0	1.5
0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 7)	1	14.3	5.5
0.5%NaOH	2	24.6	2.9

* At a temperature of about 100°C.

Table 18. The effects of the ratio of extractant vs. sample on the extraction of organic matter from compost first with 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 9.8) and then with 0.5%NaOH

Extractants*	Ratio	Organic matter (%)
0.1 *M* $Na_4P_2O_7$	40	18.4
0.5%NaOH	40	29.4
0.1 *M* $Na_4P_2O_7$	80	18.6
0.5%NaOH	80	29.2

* Extracted at a temperature of about 100°C for 2 hrs.

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

pH 9.8 の同抽出液による1時間の加熱抽出では全真正腐植質を溶出し得たが pH 7 の抽出液ではやや不十分であり，pH 9.8 の抽出液で2時間の加熱では真正腐植質とともに一部腐朽物質が混じてきたわけである．なお第18表においては各条件のたい肥試料の一部混合したものについて液量対試料の差による溶出有機物量を調べたが40倍および80倍ではほとんど変らないことがわかった．上述の実験から本分画定量法として，各条件のすべてに適当であるとはいえないが，比較の便のためよく腐熟した G-たい肥についての実験結果を基礎にして次の方法によった．すなわち抽出容器として，小ガラス円筒に 0.25 g のよく粉砕した平均試料を入れ，0.1 M ピロリン酸ナトリウム（pH 9.8）の抽出剤，10 ml を加え，1時間沸騰水中で時々かき混ぜて抽出し，溶出液を分離してその残分に，0.5% カセイソーダを 10 ml 加え，加熱して2時間処理抽出することにした．(なお2時間としたのはだいたい加熱し始めて30分で液は着色し始め，1時間30分で溶出量が最大量に達することが予備試験によってわかったので，念のため2時間とした)．

また溶出された腐植様物質の腐熟分解度を知るには色調係度を見るのが最も簡単であるので，各たい肥の溶出液および腐植様物質について，Beckman DU 型分光光度計で 400 mμ および 500 mμ の吸光係数を測定し，色調係数 $\Delta\log_{400}K_{500}$ を求めた．

第3節　腐植様物質のミクロ定量法

土壌腐植の定量法として Tjurin の腐植迅速測定法は広く使用されているが，本研究のたい肥腐植様物質およびフルボ酸の炭素量の定量には安定性の高い 0.1 N 重クロム酸カリを滴定液に用いるほうがよいと思われた．Rauterberg と Kremkus[54] は 2 N 重クロム酸カリ液および濃硫酸を試料に加え，3時間沸騰水浴中に置き，うち一部をとって硫酸第一鉄液を若干過剰に加え，ジフェニルアミンスルホン酸液を指示薬として N/10 重クロム酸カリ液で滴定した．また，Springer と Klee[30] は金網の上で10分間軽く煮沸して酸化を行った．のちさらに，かれらは[55]これを改良して，80mg の炭素に相当する試料，またはそれ以下のものに固体の重クロム酸カリ，あるいは重クロム酸ナトリウムを入れ，40 ml の50%硫酸を加え，156～157°C で10分間加熱し遠心分離の後，比色によって測定する方法を述べている．この直火の方法は加熱時間は短くて済むが温度の調節の上下によって結果にバラツキが出ることが多い．したがって，Rauterberg らのように3時間加熱するほうが実験操作上，安全性があると考える．またこれらの方法は Tjurin 法以外はいずれも試料一点あたり試薬をかなり多く要し，筆者の各試料の分析には適しないと思われたので，次のように改良した．

内径 18 mm の試験管に腐植様物質含量 6 mg（炭素 3.47 mg に当る）またはそれ以下の試料（液状または粉状）を入れ，1 N 重クロム酸カリ 2 ml，濃硫酸 1.3 ml を加え，3時間沸騰水浴中で処理してのち内容液を 200 ml の三角フラスコに約 50 ml の蒸留水で洗い込み，0.1 N 硫酸第一鉄アンモンを 25 ml，硫酸含有リン酸を 2 ml，2滴のジフェニルアミンスルホン酸等を順次加え，これを 0.1 N 重クロム酸カリで紫色をわずかに呈するまで滴定した．そして空試験との差を求め，0.1 N 重クロム酸カリ 1ml＝0.3 mg 炭素≒0.516 mg 腐植様物質，として計算した．

この方法の特長としては直径約 24 cm の円形水浴中で1回に約30本の試験管を加熱処理することができるから，加熱に3時間を要する不利を償うことができた．また温度の調節が均一に行われ，結果にバラツキが少なかった．なお，実施にあたり次のことに注意が必要であった．(イ) 1 N 重クロム酸カリ液は試験管壁に付着しないように添加すること，(ロ)液状の試料の場合，濃硫酸は徐々に管壁を伝わらせて入れ，液の底にたまるようにし，直ちに混合しないで，水浴中で加熱処理後約30分ののちに一度軽く振り動かして，硫酸および重クロム酸カリを十分混ぜるようにした．これは加熱処理以前に混合すると発熱，突沸することがあるからである．

第2章　各種腐熟条件と生成腐植様物質の性状

第1節　原料稲わらに対する腐植様物質の生成割合

前章の設計および実験方法に基づき得られた各たい肥試料について，有機物含量，有機物中 pH 9.8 のピロリン酸ナトリウムでの溶出液中の酸沈殿物，酸可溶物すなわちフルボ酸含量および 0.5% カセイソーダでの溶出液中の腐朽物質，フルボ酸の含量等を定量し，これと各たい肥の収量から原料風乾稲わらからの生成量を算出して第21図および第22図に示した．この図には比較のため，原料粉砕わらについても上記抽出液で，処理して得られた溶出液中の有機物量およびそれぞれ酸

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

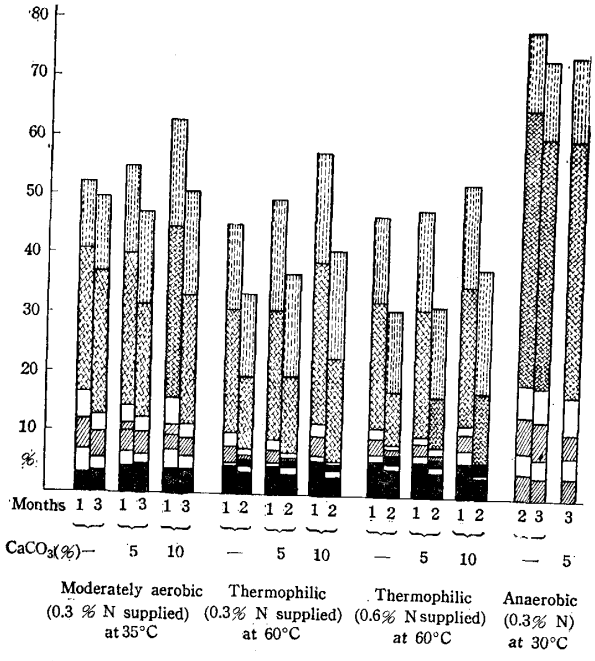

Fig. 21. Comparison of humus-like substance and total organic matter from two or three months elapsed compost with those from one month elapsed one in yields to the initial air dry straw material.

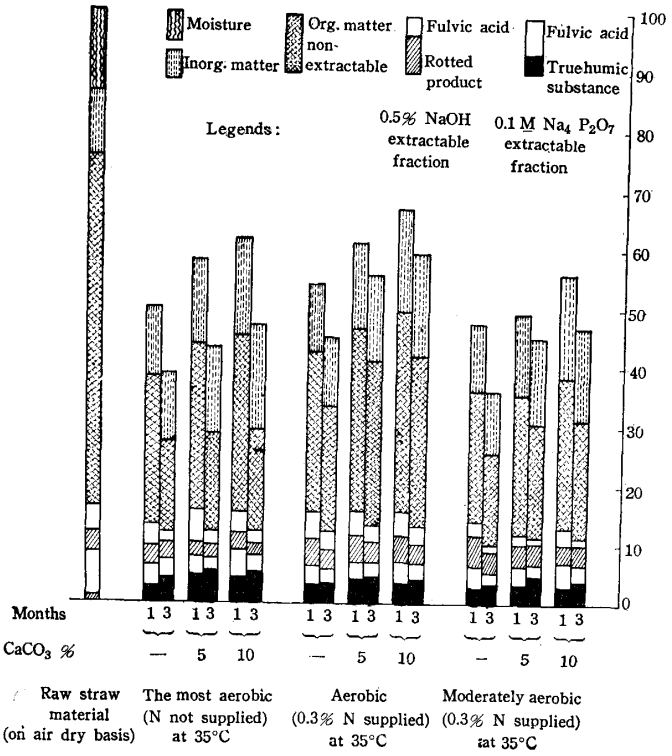

Fig. 22. Comparison of humus-like substance and total organic matter from two or three months elapsed compost with those from one month elapsed one in yields to the initial air dry straw material.

で沈殿して得られた画分についても図示した．この場合はピロリン酸ナトリウムによる溶出沈殿物は若干存在したが，"SIMON の液" に不溶で色調係数の値も高く，腐朽物質に属するものとして図には斜線で示した．

この図において，嫌気性分解の場合，分解が少ないため有機物の含量は多いが，そのうちピロリン酸画分およびカセイソーダ画分の生成量はあまり大きな差異はないが，各画分中フルボ酸が比較的多いようであり，酸沈殿部はいずれも "SIMON の液" に不溶の腐朽物質であり，真正腐植質は生成していなかった．すなわち，本分画法はよく腐熟した G-たい肥を標準にして定めたものであるから未熟のものにはかなり烈しい抽出分画法に相当するが，この完全に嫌気性の試料については別にもっと緩和な抽出法，たとえば 0.1 *M* ピロリン酸ナトリウムでの常温処理によっても真正腐植質は得られなかった．また好気性ないし中庸好気で分解を行ったたい肥試料ではそのピロリン酸画分中に含まれた腐植様物質は大部分真正腐植質であったが中には若干腐朽物質までも溶出混在した可能性は後記の第20表の色調係数からも推察できる．

しかし最好気性の試料は非常に分解が早く，窒素不添加のものでも，35°C 分解の他の窒素添加のものに比べて真正腐植質の生成量が多く，腐朽物質の生成率はやや少ない傾向が見られた．

一方，60°C で好熱分解を行ったものは，有機物の分解度は高く，したがって原料風乾稲わらに対する歩どまりは減少しているが，腐熟は進んでおり，その中のピロリン酸画分の収量は多く，かつ，これは全部真正腐植質であり，0.5% カセイソーダ画分中の腐朽物質の量は著しく減少していた．

概観して，同一条件のたい肥間では腐熟期間の経過したものほど，原料稲わらに対して，たい肥の収量および有機物含量は顕著に減少するが，その中の真正腐植質の集積量は多くなり，かつ腐朽物質の溶出量は減ってくる傾向が見られた．

しかし，60°C で好熱分解を行ったものの真正腐植質の含量が1カ月のものに比べて，2カ月のものはやや減っているように見えるが，これは 0.5% カセイソーダ画分のものも色調係数は小さく，"SIMON の液"

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

に溶ける真正腐植質であったから，これを加算すると，真正腐植質の収量はほとんど減少していないことがわかる．ただ石灰大量添加のものは真正腐植質は1カ月では非常に多く集積しているが2カ月目ではやや分解を受けているようである．これはアルカリ度が非度に高くなったためと考えられる．

わら中のピロリン酸画分にはペントザン，タンニン，色素，窒素質物，脂油成分，ポリフェノール等が抽出されるが，塩酸を入れて沈殿する部分はわずかであった．ところが，これが腐熟分解を受けた場合，微生物によって合成されたポリペプタイド，ウロン酸等が加わり一方植物成分の分解によってポリフェノールの生成も多くなるから，酸素の吸収を伴いつつこれらとの結合が行われ，真正腐植質の集積量が増してゆくものと思われる．

第2節 色 調 係 数

いま，好熱分解のたい肥，嫌気性分解のものおよび原料稲わら粉砕物のピロリン酸画分，0.5% カセイソーダ画分等の塩酸沈殿部分について 400 mμ および 500 mμ における吸光係数から色調係数を求めると次頁第19表のようである．またその他のものを比較したものは第20表に示す．

これらの結果でもわかるように，最好気性，好気性および中庸好気のものも，35°C 位の比較的低温で分解したものは，3カ月でもなお好熱分解のものの2カ月のものに比べて腐熟は進まなかった．好熱分解のものは1カ月でもかなり進んでおり2カ月目では分解が急速に進んでいた．そして，やや過熟と考えられる．これに反して，嫌気性のものは腐熟分解が進んでいないことは明らかである．そして原料稲わら自身の画分の色調係数との隔たりは少なかった．さて，ピロリン酸画分の色調係数から，その分解度の順位[56]を掲げると稲わら自身→嫌気性（35°C）→中庸（35°C）→好気性（35°C）→最好気性（35°C）→好熱分解（60°C）であって，たい肥真正腐植質の生成には好気性菌の活動が大きな因子であること，そしてさらに好熱条件が分解を早めることが明らかである．このことからダノ式塵埃処理装置その他の高速たい肥装置などでは空気の吹込み，高温保持が必須条件であることの理由が首肯される．

SPRINGER と LEHNER[57]はライ麦わら，その他を室温，70%の水分で腐熟させ¼年，1年，2年および4年の各時期に試料をとり，腐植質を定量した結果，好気性のほうが嫌気性（ガラスのフタをしたとき）のものよりも，アセチル・ブロマイド法で真正腐植質の生成が多かったことを確めている．

次に，石灰の添加については H. KICK[58] は弱酸性の土壌に，石灰とわら等を添加して，石灰添加によって分解速度はほとんど影響はなかったと述べている．しかし，佐伯・東[59]は土壌中では分解を早め，粗腐植および真正腐植酸の集積量は石灰無添加のものより多かったと報じている．ALLISON と COVER[60] も short leaf pine の鋸屑を土壌に入れた時の分解率を炭酸ガスの測定によって試験したが，160日間の実施で石灰を0.4%，窒素を1%まで添加した場合が最も分解率が高かったと述べている．また速成たい肥法でも，窒素源として硫安を用いた場合には，わらに対して5%の石灰の添加が，有機酸および酸度の調節のため勧奨されている．

本研究では窒素源として尿素を用いているから，有機酸の生成以外酸根がふえてくることはないから，5%，10%の炭カルを加えた場合，有機物の分解率をみるとむしろ無添加のものが最も高い結果を得たが，それにもかかわらず原料稲わら風乾物に対するピロリン酸画分の生成率からすると，炭酸石灰5%添加のものが最も多かった．

第3節 滴 定 曲 線

次に本実験での 35°C，やや好気性分解の試料（窒素0.3%添加）および好熱分解の試料（窒素0.3%添加）の二種類について，風乾試料 20～10 g に対し，300ml の 0.1 *M* ピロリン酸ナトリウム（pH 7）を加え常温で，2日間，時々かき混ぜて溶出液を分離した．溶出液中の塩酸沈殿物は割合少なかったが，分離の後，水での洗浄，イオン交換樹脂処理，電気透析の各処理および乾燥の順序で試料をつくった．なお乾燥には新たに直径 30 cm の真空デシケーターに乾燥シリカゲルを半ば満たし，試料をシヤーレの中に液深が 1 cm 以内になるように入れて，これをデシケーターのゲル上に置き，¼馬力，到着真空度 1×10^{-3}mmHg の性能をもつ真空ポンプで器内を排気し，試料を膨脹凍結させて，そのまま一日おき水分をシリカゲルに吸収させて，乾燥した．この方法によると，腐植様物質を粉砕の必要がなく，容積の大きな極微粉末状の乾燥試料が得られた．

腐植様物質の色調係数 $\Delta\log_{400}K_{500}$ は，前者は 0.682，後者は 0.635であった．これらについて滴定曲線を

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

Table 19. Absorption coefficients of humus-like substance in two fractions extracted first with 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 9.8) and then with 0.5% NaOH from (1) thermophilically fermented straw, (2) anaerobically fermented straw, and (3) initial raw straw material

Sample			0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ extracted fraction ($\Delta\log_{400}K_{500}$)	0.5% NaOH extr. fraction ($\Delta\log_{400}K_{500}$)
Condition	Ca added (%)	Elapsed Months		
Thermophilic : 0.3%N supplied at 60°C	—	1	0.616	0.673
	—	2	0.582	0.631
	5	1	0.651	0.680
	5	2	0.587	0.595
	10	1	0.649	0.677
	10	2	0.578	0.610
Thermophilic : 0.6%N supplied at 60°C	—	1	0.615	0.634
	—	2	0.588	0.647
	5	1	0.604	0.629
	5	2	0.580	0.600
	10	1	0.618	0.662
	10	2	0.549	0.611
Anaerobic : 0.3%N supplied at 35°C	—	2	0.743	0.873
	—	3	0.740	0.850
	5	2	0.791	0.865
	5	3	0.788	0.830
	10	2	0.772	0.792
	10	3	0.760	0.832
Pulverized straw			0.898	0.958
Alc.-benz. extracted straw			1.000	1.043

Table 20. Absorption coefficients of each humus-like substance in two fractions extracted with 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ and then with 0.5% NaOH from composts fermented aerobically with and without supply of nitrogen

Sample			0.1*M* $Na_4P_2O_7$ ($\Delta\log_{400}K_{500}$)	0.5% NaOH ($\Delta\log_{400}K_{500}$)
Condition	Ca added (%)	Elapsed months		
The most aerobic : but N not supplied, fermented at 35°C	—	1	0.678	0.720
	—	3	0.668	0.701
	5	1	0.654	0.682
	5	3	0.634	0.660
	10	1	0.714	0.728
	10	3	0.666	0.689
Moderately aerobic : 0.3%N supplied with Urea, fermented at 35°C	—	1	0.702	0.732
	—	3	0.650	0.683
	5	1	0.746	0.764
	5	3	0.628	0.650
	10	1	0.750	0.787
	10	3	0.591	0.628

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

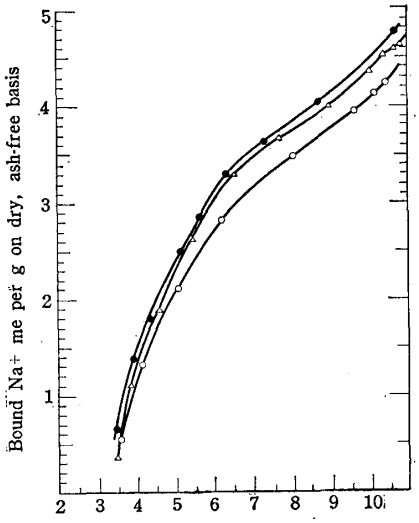

Fig. 23. Comparison of the titration curve of humus-like substance extracted from thermophilically decomposed compost with that from aerobically but at low temp. decomposed one.
—•— Control, extracted from G-compost with 0.1 *M* $Na_4P_2O_7$ (pH 9.8) at 100°C for 1 hr.;
—▵— extracted from compost decomposed at 60°C with the same reagent;
—○— extracted from compost decomposed aerobically but at 35°C with the same reagent.

Table 21. Acid radicals of humus-like substance extracted from some composts and their absorption coefficients

Humus-like subst. from compost	Acid radicals me/g	$\Delta\log_{400}K_{500}$
G-compost	3.80	0.610
Acompost fermented at 60°C	3.70	0.635
Acompost fermented at 35°C	3.40	0.682

求めた結果を示すと第23図のようである．

この図には比較の便のために，G-たい肥のピロリン酸ナトリウム抽出の腐植様物質の滴定曲線をともに示した．この図の pH 7.5～8 付近の変曲点から得られた各酸性基の me 数およびそれぞれの色調係数を対比すると第21表のようである．

この表でも明らかなように，色調係数の小さいものほど，その滴定曲線の示す酸性基の値が大きいことを，第一部での実験結果と同様にここでも示している．なお G-たい肥はたい肥舎で高温発酵をしてできたたい肥をさらに，硫安を加えて分解を進めたものであるから，実験室で好熱分解を行ったものよりも腐熟が進んでいたことは納得できることである．

総括と結論

土壌腐植酸に関しては従来多くの研究結果があるが，地力の維持増進に関聯の深いたい肥の腐植様物質の性状およびその生成に関する研究は今まで少なく，またその研究方法も確立されていなかった．

筆者は腐植様物質の解離基の研究に TANFORD らの滴定曲線の方法を導入し，また pH-T 曲線（ジョ濁点）の測定法，イオン交換樹脂と電気透析を組合わせた腐植様物質の精製方法，およびたい肥から腐植様物質の抽出分離の方法等を考案し，その性状の解明に資したが，これらの諸方法の一部は今後，土壌の腐植酸の性状の研究にも適用しうると考える．

次に第一部および第二部から得られた結論をまとめると次のようである．

I．たい肥の腐植様物質中の真正腐植質および腐朽物質

腐熟たい肥を緩和な抽出剤，たとえばピロリン酸ナトリウム，シュウ酸ナトリウムあるいは希薄カセイソーダ等で抽出すると“SIMON の液”に可溶な真正腐植質が得られるが，これをイオン交換樹脂で精製の後，電気透析をするとゾル状に沈降してくる．これは真正腐植質の特性であって，酸性基含量の多い親水性によるものと考える．土壌腐植酸においても，この現象が見られこの点真正腐植質は土壌腐植酸と明らかに近縁性が見られる．

一方，真正腐植質を抽出した残留たい肥をカセイソーダで処理すると，腐朽物質が得られる．これは中性ピロリン酸ソーダで鉄，アルミニウム等を除いた後も“SIMON の液”に不溶である．

土壌腐植酸の場合は中性ピロリン酸ソーダで抽出し，二，三価金属イオンを除いた後は“SIMON の液”に不溶のものはほとんどないことが奥田・堀によって明らかにされたが，この点は高位地土壌腐植酸とたい肥の腐植様物質との顕著な差異の一つである．

たい肥腐朽物質はイオン交換樹脂処理の後，電気透析によってゲル状に析出する．またこれは酸性基含量少なく，疎水性の特長を持ち，ジョ濁点も高い．

また，腐朽物質はカセイソーダ処理により，二次的にできたものでないことは真正腐植質を強アルカリで加熱処理しても，フルボ酸への移行は認められたが腐

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

朽物質の性質を持つものの生成は起らなかったことから明らかである．

そして腐植様物質ゾルおよびゲルは各々一定の組成を持ったものではなくて，それぞれ若干の段階，差異があり，ゾル群，ゲル群を意味することを滴定曲線，色調係数等から明らかにした．

他方，稲わらフィリップス・リグニン，アルカリリグニン等を調製し，前記同様電気透析をすると，ゲル状に析出し，その他ジョ濁点，解離基量，炭素含量，メトキシル基量，色調係数等についてもリグニン，腐朽物質および真正腐植質の間に漸進的に差異があるように見える．

Ⅱ．たい肥腐植様物質と無機成分との相互作用

純粋なたい肥腐植様物質と H-ベントナイトとは相互作用のないことは滴定曲線により明らかにした．腐植様物質とアルミニウムとは容易に配位結合をすることはわかったが三価鉄イオンは各 pH 域におけるその形態が複雑なために，結合をするのにアルミニウムよりは時間がかかることを見いだした．また腐植様物質はホウ酸とは複合体をつくらないことから，これらの腐植様物質に含まれた水酸基はかりに隣接したものであったとしても，それはオルトまたはシス形のものではなく，メタ，パラの位置またはトランス形のいずれかであると推定される．

Ⅲ．たい肥腐植様物質の生成について

たい肥が腐熟してゆくに従い，その腐植様物質の酸性基の多くなることを滴定曲線から認めた．また，同時に色調係数も小さくなることを知った．稲わらの発酵分解には好気的条件，中庸度の石灰添加，窒素の添加，高温発酵（50～60°C）および適切な腐熟期間等の諸条件において，分解腐熟は促進され，真正腐植質の生成量は多くなるが，反対に腐朽物質は相対的に少なくなる傾向がみられ，真正腐植質は腐朽物質から移行したことが類推される．そして完全嫌気条件では，分解がきわめておそく3カ月でも真正腐植質の生成はほとんどなく，腐朽物質で占められていた．

さて，各種腐熟条件により得たたい肥の原料に対する収量，腐朽物質および真正腐植質の生成量等を見ると，その条件における微生物の種類，活力に関係があることがわかるが，たい肥の腐植様物質の生成はリグニンあるいはその微生物による解重合産物，ポリフェノール等が媒質として働き，またセルロース等の分解産物からの芳香族生産物等も加わり，微生物のタンパク質，ポリペプタイドおよびその代謝産物であるウロン酸化合物等が相互に縮合反応をした多様性のものであって，腐朽物質の段階では，いまだ反応の初期の状態にあり，真正腐植質の段階では，化学当量も腐朽物質よりも小さくなって，ペプタイド，ウロン酸等との縮合反応も一歩進んだ状態であり，土壌のB型腐植酸とはある程度近い性質を持つに至ったものと考えられる．

謝　辞

本研究に関し適切な御指導を戴いた京都大学奥田東総長に対し，また御激励を賜った京都大学館勇名与教授に対し深く謝意を表します．また御指導と研究に便宜を図って戴いた本学名与教授野田昌也氏に対し厚く感謝します．

文　献

1) G. Barbier & R. Guennelon : *Compt Rend.*, **232**, 550～1 (1951)
2) B.L. Brage, M.J. Thompson & A.G. Caldwell : *Agron. J.*, **44**, 17 (1952)
3) S. Oden : Die Huminsäure (1919)
4) K. Simon & H. Speichermann : *Bodenk. u. Pflanzenernähr.*, **8**, 129 (1938)
5) 奥田・堀：土肥誌，**26**，201 (1955)
6) 石川・高市：木材学会誌，**2**，162 (1956)
7) E.J. Cohn, A.A. Green & M.H. Blanchard : *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 509 (1937)
8) A.A. Green : *Ibid.*, **60**, 1109 (1938)
9) C. Tanford : *Ibid.*, **72**, 441 (1950)
10) H.S. Harned & W.J. Hamer : *J. Am. Chem. Soc.*, **55**, 2194 (1933)
11) Linderström-Lang : *Trans. Faraday Soc.*, **31**, 324 (1935)
12) 立野：土肥学会講要集，**2**，11 (1956)
13) M. Schnitzer & W.A. Delong : *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **19**, 363 (1955)
14) 立野：土肥学会講要集，**3**，11 (1957)
15) 立野：土肥学会講要集，**2**，77 (1956)
16) 細田・高田：鳥取農学会報，**11**，9 (1956)
17) 清水：イオン交換樹脂，a)170頁 (1953)，b) 13頁 (1953)，c)105頁 (1953)
18) M.E. Harward & N.T. Coleman : *Soil Sci.*, **78**, 181 (1954)
19) 野田・立野：土肥誌，**23**，230 (1953)〔講要〕
20) 立野：土肥誌，**27**，325 (1956)
21) T. Tatsuno : *Bulletin of Univ. of Osaka Pref. Series B*, **7**, 57 (1957)
22) F.E. Broadbent : *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **18**, 165 (1954)
23) K. Nehring & R. Schiemann : *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.*, **57**, 204 (1952)
24) 大杉・森田：農化誌，**9**，274 (1933)

NII-Electronic Library Service

Osaka Prefecture University

25) 立野：土肥誌，**28**，452 (1958)
26) I.M. KOLTHOFF & E.B. SANDELL : *Text Book of Quantitative Inorganic Analysis*, 638 (1936)
27) 立野：土肥学会講要集，**4**，9 (1958)
28) 立野：*Ibid*, **5**, 37 (1959)
29) M.B. CHOUDHRI & F.J. STEVENSON : *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.*, **64**, 1 (1954)
30) U. SPRINGER & J. KLEE : *Ibid.*, **71**, 193～208 (1955)
31) MATTSON & KOUTLER-ANDERSON : *Ann.*, **10**, 284～332 (1942)
32) U. SPRINGER & A. WAGNER : *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.*, **64**, 259 (1954)
33) M. PHILLIPS : *J. Am. Chem. Soc.*, **49**, 2037 (1927)
34) E. HÄGGLUND & H. URBAN : *Cellulose Chem.*, **8**, 69 (1927)
35) K. KUMADA : *Soil & Plant Food*, **1**, 29 (1955)
36) 八浜・上代：リグニンの化学，363 (1947)
37) S.A. WAKSMAN & H.W. SMITH : *J. Am. Chem. Soc.*, **56**, 1225 (1934)
38) 小坂・本田：土肥誌，**27**，438 (1957)
39) K. KUMADA : *Soil & Plant Food*, **I**, 75-76 (1955)
40) K. NEHRING & R. SIEMAN : *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.*, **57**, 204 (1952)
41) 立野：土肥誌，**29**，354 (1958)
42) A. MEHLICH : *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **16**, 154 (1941)
43) 川口・久馬：土肥学会講要集，**5**，38 (1959)
44) H.E. MYERS : *Soil Sci.*, **14**, 331 (1937)
45) E. JUNG : *Bodenk. u. Pflanzenerähr.*, **32**, 325 (1943)
46) 立野：土肥学会講要集，**6**，35 (1960)
47) B.C. DEB : *J. Soil Sci.*, **1**, 112 (1949)
48) F.E. BROADBENT : *Soil Sci.*, **79**, 107 (1955)
49) A.E. MARTIN & R. REEVE : *J. Soil Sci.*, **9**, 89 (1958)
50) MOLAY & P.W. SELWOOD : *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2693 (1955)
51) S.S. JONES &. F.A. LONG : *J. Physical Chemistry*, **56**, 25 (1952)
52) F.E. BEAR : *Chemistry of the Soil*, 164 (1955)
53) 立野：土肥学会講要集，**5**，97 (1959)
54) E. RAUTERBERG & F. KREMKUS : *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.*, **54**, 240～249 (1951)
55) U. SPRINGER & J. KLEE : *Ibid.*, **71**, 193～208 (1955)
56) 立野：土肥学会講要集，**6**，95 (1960)
57) U. SPRINGER & A. LEHNER : *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.*, **58**, 193 (1952) : **59**, 1 (1952)
58) H. KICK : *Ibid.*, **74**, 1～10 (1956)
59) 佐伯・東：兵庫農大研究報告，**2**，41 (1955)
60) F.E. ALLISON & R.G. COVER : *Soil. Sci.*, **89**, 194 (1960)
61) 野田・立野：浪速大学紀要，**B**, **2**, 75 (1952)
62) A.T. PERKINS : *Soil Sci.*, **74**, 443 (1952)
63) K.L. CHENG, R.H. BRAY & T. KURTZ : *Anal. Chem.*, **25**, 347 (1953)
64) G.W.C. MILNER & J.L. WOODHEAD : *Analyst*, **79**, 363 (1954)
65) S. PRÁT : "*Studies about humus*" *Symposition Humus and Plant Praha and Brno* (28, Sept.-6, Oct. 1961) p. 223 (1962), Prague

NII-Electronic Library Service