

森林土壌の腐植に関する研究 第1報

腐植の形態の分析方法の検討および新しい
分析方法の提案河 田 弘⁽¹⁾Hiroshi KAWADA: Studies on Humus Form of Forest Soil Part 1
On the examination of analytical method for the determination
of humus form and a proposed improved method

要 旨：土壌の腐植の形態は環境諸因子の影響によってそれぞれ土壌ごとに特徴のある相違を示し、土壌の生成分類の立場から、また土壌化学の立場からも重要な研究課題とされている。筆者が先に森林土壌の腐植について発表〔林野土調報, 10, 1~108, (1959)〕した当時は、わが国では主として腐植の色調を重視するドイツ学派およびこの流れをくんだ方法が行なわれていた。その後腐植の組成を重視するソ連学派の分析方法がわが国に紹介された。

腐植の形態の分析方法はそれぞれ特色を有する多くの方法が提案されている。腐植の形態は分析方法が異なると得られた結果もいちじるしく異なり、相互に比較し難い欠点がある。

筆者の基本的な考え方は腐植の形態はドイツ学派の腐植の光学的性質（色調、他）とソ連学派の腐植の組成の両面を重視することにおかれているが、この点は以前の報告と同様の立場に立っている。しかし、筆者の以前の分析方法については、その後紹介されている多くの方法を考慮すると改善する必要も多いことを知ったので、わが国の森林土壌にもっとも適した方法を確立する目的で、主要な森林土壌を用いて、今までに提案されている主な分析方法を適用して比較検討を行なった。これらの方法の相互の比較、それぞれの長所、欠点等を示すとともに、その結果にもとづいてわが国の森林土壌の、腐植の形態の分析のルーティンワークとして用いる新しい方法を提案し、その詳細について述べておいた。

目 次

1. はじめに	16
2. 分析方法—筆者の提案する方法	16
3. 供試土壌	21
4. 0.1N NaOH 溶液24時間 30°C 抽出における腐植の形態に及ぼす土壌 Carbon 量 と抽出液量比の影響	21
5. 0.1N NaOH 溶液によるくりかえし抽出について	22
6. Ethanol-benzol 抽出の腐植の形態におよぼす影響	25
7. 腐植の稀アルカリ抽出における温度の影響	27
8. 0.1M Na ₄ P ₂ O ₇ -0.1N NaOH 混合液による腐植の形態の分析について (KONONOVA および BEL'CHIKOVA 法の検討)	30
9. Ca 型腐植 (Fraction 2) の定量について	32
10. R ₂ O ₃ 型腐植 (Fraction 3) ないし全結合腐植 (Fraction 2 + Fraction 3) の定 量について	35
11. Fraction 3 の定量についての補足 (H ₂ SO ₄ と NaOH 溶液の交互のくりかえし抽 出について)	39
12. 腐植酸に対する H ₂ SO ₄ 処理の濃度および温度の影響	42
13. 酸可溶腐植 (f-1a) の定量について	45
14. 腐植の形態および分析方法についての筆者の見解	46
15. おわりに	49
文 献	50
Summary	53

1. は じ め に

自然土壌に属する森林土壌では、その生成および諸性質に及ぼす環境諸因子の影響の解明は、もっとも基本的な課題の一つであろう。筆者⁴¹⁾はさきに褐色森林土、乾性および適潤性ポドゾルに属する各種土壌型間には、主として地形および気候的因子にもとづく環境諸因子の影響と関連して、腐植の形態^{*1}および化学的性質に一定の規則性のある相違が見られること、黒色土壌に属する各種土壌型の腐植の形態は2つのグループに大別しうるが、いずれも上述の土壌とはいちじるしく異なり、さらに環境諸因子の影響を認め難いこと等を報告した。

その後、わが国の森林土壌においては、大政、黒島、木立¹⁴⁾²⁸⁾⁸³⁾によって赤色土壌の研究が進展し、竹原ら⁴⁰⁾の湿性ポドゾルの研究が行なわれた。その他、その後の調査研究の進展にともなう、新たに分類上の問題点が提起されているいくつかの土壌が存在する。

わが国の森林土壌の腐植の形態に関する研究としては、上述の筆者の報告のほかには内田⁴⁵⁾の北海道の森林の堆積腐植、山谷⁴³⁾の東北地方のヒバ林土壌の腐植、朝日⁵⁾の東大北海道演習林における森林土壌の腐植、熊田ら²⁷⁾の中部地方の各種森林土壌の腐植、鷹見ら⁸⁸⁾の黒色土壌および褐色森林土の腐植についての報告があるに過ぎない。今までに提案されている各種の分析方法は、それぞれの目的に応じた特徴を有するが、分析方法が異なれば得られた結果もいちじるしい相違を示す場合も少なくない。したがって、上述の諸氏の結果から、わが国の各種森林土壌の腐植の形態について、一般的な知見を総合することはかなりの困難をともなうといえよう。

また、上述のように、わが国の主要な森林土壌の腐植の形態については、赤色土壌および湿性ポドゾルを含めてまだかなりの部分が空白のまま残されている。さらに、腐植質アロフェン土については、腐植の形態の地域性が農業関係の研究者によって論じられているが^{1)8)4)32)42)~44)}、森林土壌についても各種土壌の腐植の地域性の検討も今後の重要な課題の一つであろう。

筆者は上述の諸問題に対処するために、まず pedological な立場に立って、森林土壌の腐植の形態を検討するのにもっともふさわしい方法を確立することを目的として、今までに提案されている各種の分析方法の比較検討を行なった。

この報告では、これらの検討結果とそれにもとづいた新しい分析方法の提案について報告する。

2. 分析方法—筆者の提案する方法

筆者が森林土壌の腐植の形態の分析方法として、新たに提案するのは以下に述べる方法である。

この方法を採用するために行なった各種の方法の検討結果は、次の4~13で述べるとともに、筆者の考え方を14に総括しておいた。

2-1. 腐植の各 fraction の区分について

腐植の、土壌中の鉱質物との結合状態の相違による区分、および各 fraction の名称は TYURIN 法²⁾¹³⁾⁴¹⁾に準じた。すなわち、

1) f-1a (フルボ酸 1a): 土壌から直接冷無機酸によって抽出される fraction。遊離状態のフルボ酸類似の物質。いわゆる酸可溶腐植。

*1 この報告では腐植の形態とは腐植の組成および腐植—とくに腐植酸—の光学的性質の両者を意味する。

2) Fraction 1: 土壌から直接稀 NaOH 溶液によって抽出される腐植酸 (h-1) およびフルボ酸 (f-1)。遊離または非珪酸塩態の R_2O_3 と結合した fraction と考えられている。いわゆる遊離腐植。

3) Fraction 2: 脱 Ca 後の土壌から稀 NaOH 溶液によって抽出される腐植酸 (h-2) およびフルボ酸 (f-2)。Ca と結合した腐植。

4) Fraction 3: 土壌を酸処理後稀 NaOH 溶液によって抽出される腐植酸 (h-3) およびフルボ酸 (f-3)。土壌中の鉱質物—おそらく珪酸塩態の R_2O_3 —と強固に結合している fraction と考えられている。 R_2O_3 型腐植。

2-2. 土壌から直接 0.1N NaOH 溶液によって抽出される腐植 (f-1a および Fraction 1) の分析

2-2-1. 腐植の抽出

試料は細土ないし有機物層を粉碎して、1 mm で篩別後供試する。以下いずれの場合も同様である。

あらかじめ $K_2Cr_2O_7$ 酸化滴定法¹⁰⁾によって求めた試料の Carbon 含有率にもとづいて、Carbon 約 200 mg を含むように適量を 200 ml 三角フラスコに秤取し、新たに調製した 0.1N NaOH 溶液 100 ml を加え、密栓してときどき手で振とうし、30°C に 24 時間保つ。

翌朝 2N Na_2SO_4 溶液 25 ml を加え、8,000 rpm (6,900G) で 10~15 分遠心分離し、透明な腐植抽出液 (上澄液) を分離する。

注 1) 抽出される腐植酸の少ない試料、たとえば多くの土壌の下層土、赤色土壌等では試料秤取量および抽出液量を同じ割合で増加する。

注 2) 試料の秤取量が多くなると操作がやりにくくなるので、秤取量は抽出液 100 ml 当たり 20 g までとする。Carbon 1% 以下の試料では 200 mg に達しない。

注 3) 腐植の抽出は温度の影響を受けるので一定にすることが望ましい。30°C を選んだのは真夏の高温を考慮したためである。

注 4) 添加後の Na_2SO_4 の濃度は約 3% (2.8%) に相当する。きわめて少数例であったが、上述の条件で透明な腐植抽出液が得られない場合—たとえば赤色土等—は、2N Na_2SO_4 溶液 50 ml を加え、12,000~15,000rpm (15,500~24,000G) 15分遠心分離を行なった。

2N Na_2SO_4 溶液は、真冬には結晶が析出することがあるので 30°C に保存する。固体の Na_2SO_4 を用いても良い。

2-2-2. 腐植酸の分離

上述の腐植抽出液は一定量をビーカーにとり、1/100 容の H_2SO_4 を加え、攪拌後 1 時間以上室温に放置する。腐植酸ゲルの沈殿の形成後、遠心分離し上澄液 (フルボ酸溶液) を捨てる。沈殿 (腐植酸ゲル) は 1:100 (容量) H_2SO_4 を加え、攪拌後遠心分離し、上澄液を捨てる。このような洗浄を上澄液が無色になるまで行なう。

注 1) 沈殿 (腐植酸ゲル) は浮動しやすいので上澄液を捨てる場合には念のため濾過 (濾紙 5A) して、浮動した沈殿があれば回収する必要がある。遠心分離を行わずに濾過洗浄しても良いが、意外に時間がかかるので筆者は遠心分離を採用した。

注 2) 洗浄に脱イオン水を用いなかったのは、一部の試料では腐植酸ゲルの解膠溶出が認められたためである。1:100 H_2SO_4 洗浄を行なっても、次の 0.1N NaOH 溶液を用いて腐植酸ゲルを溶解するには支障はない。

注 3) 腐植酸ゲルの沈殿がきわめて少ない場合ないしは凝固がおそい場合には、1 夜放置する。このような例はきわめて少なかった。

2-2-3. 腐植酸溶液の吸光度の測定

洗浄を終わった腐植酸ゲルは 0.1N NaOH 溶液を用いて 100 ml (少ない場合は 50 ml) のメスフラスコ中に溶解し、必要に応じて 0.1N NaOH 溶液を用いて稀釈し、分光光度計を用いて波長 900~250 mμ について吸光度の測定を行なう。

測定波長は 900~340 m μ (近赤外および可視部) は各 25 m μ ごと, 340~250 m μ (紫外部) は各 10 m μ ごと, さらに吸収帯の出現の予想される 625~600 m μ は各 5 m μ ごとおよび 590, 560, 460 m μ とする。

これらの結果を表示するために

1) 吸光曲線

2) 色調係数 (または色度比) : $4 \log K_1 = \log K_{400} - \log K_{600}$ および $4 \log K_2 = \log K_{650} - \log K_{850}$, K_{400} , K_{600} , K_{650} および K_{850} は 400, 600, 650 および 850 m μ における吸光係数 ($4 \log K_1$ は弘法・大羽法³¹⁾ および熊田法¹⁹⁾ の $4 \log K_1$ と同じ)。腐植酸溶液の吸収スペクトルの波長軸に対する傾きを示す。

3) 相対色度 : Rf. 腐植酸溶液の Carbon 定量値を用いて, C 100 mg/l の濃度の溶液に換算した腐植酸溶液の 600 m μ における吸光係数 K_{600} を用いて示す, 腐植酸単位 Carbon 量当たりの色の濃さを示すものである。

注 1) 腐植酸ゲルは 0.1N NaOH 溶液に溶解後放置すると吸光度は減少するので, 溶解後 2 時間以内に測定する。

注 2) 紫外部の測定波長域を 250 m μ にとどめたのは, 筆者の使用した分光光度計の性能に制約されたためで, さらに短波長域まで拡大することが望ましい。

注 3) 可視および紫外部の測定波長は熊田¹⁹⁾ および大羽³¹⁾ によった。上述の吸収帯の予想される波長は熊田^{20)~22), 24)~27)} の Pg 型腐植酸によるものである。Pg 型腐植酸は筆者の現在までの結果ではポドゾルの一部および少数例ではあるが褐色森林土にも出現する。

注 4) 新鮮な落葉では 400 m μ 付近に幅の広い吸収帯が認められる場合がある。このような場合には必要に応じて測定波長を増加する必要がある。

注 5) 色調係数を 2 つ選んだのは, 一般に 600~625 m μ 付近を境にして, 短波長側と長波長側で吸収スペクトルの波長軸に対する傾きに変化する場合が多いからである。

2-2-4. 腐植抽出液および腐植酸溶液の Carbon の定量

腐植抽出液および腐植酸溶液は, それぞれ一定量を 100 ml 三角フラスコにとり, 計算量の N H₂SO₄ を用いて中和し, 湯煎上で蒸発乾固後 K₂Cr₂O₇ 酸化滴定法¹⁰⁾ で Carbon の定量を行ない, もとの土壌の Carbon 含有量に対する % で表示する。

腐植の組成は次の方法で計算する。

腐植酸 Carbon = (h-1)

腐植抽出液 Carbon - (h-1) = (f-1a) + (f-1)

後述 (2-4) で求めた (f-1a) をさしひいて (f-1) を算出する。

2-3. N Na₂SO₄ 溶液で前処理 (脱 Ca) 後 0.1N NaOH 溶液で抽出される腐植 (f-1a + Fraction 1 + Fraction 2) の分析

2-3-1. 腐植の抽出

2-2 と同様に秤取した試料に N Na₂SO₄ 溶液 100 ml/ を加え, 同様に 30°C で 24 時間抽出する。翌日 8,000 rpm で 5~10 分遠心分離し, 透明な上澄液を得る。これは N Na₂SO₄ 溶液可溶 Carbon の定量に用いる。

沈殿 (土壌) は N Na₂SO₄ 溶液を加えて攪拌後 30 分放置し, ふたたび遠心分離して上澄液を捨てる。このような洗浄を上澄液の Ca イオン反応が消失するまで行なう。洗浄終了後 0.1N NaOH 溶液 100 ml/ を用いて沈殿をもとのフラスコに戻し, 密栓して 2-2 と同様に一夜抽出を行なう。

翌朝, 2-2-1 と同様に 2N Na₂SO₄ 溶液 25 ml/ を加えて遠心分離し, 沈殿は 0.4N Na₂SO₄ 溶液を加えて攪拌後遠心分離する。このような洗浄を, 抽出液および洗浄液の含量が 250 ml/ に達するまで, 数回行なって腐植抽出液を得る。

注 1) $N Na_2SO_4$ 溶液による脱 Ca のための洗浄は pH および Ca 飽和度のとくに高い森林土壌 (pH 6.0 前後, Ca 飽和度—PRECH 法による—約 50% 以上) では, 10 回前後ないしそれ以上を必要とするが, その他の場合は 4~5 回で十分であった。この点は川口および久馬¹⁸⁾ の結果とほぼ同様であった。

注 2) 0.1N NaOH 溶液で抽出後の 0.4N Na_2SO_4 溶液による洗浄は一筆者は 50 ml の遠心管を用いたが一抽出および洗浄液の含量が 250 ml に達するまでに, 黒色土壌以外はすべて無色となった。黒色土壌の場合はなおわずかに着色していたが, 250 ml で打ち切った。

2-3-2. 腐植酸の分離, 吸光度の測定および各 fraction の Carbon の定量

腐植抽出液についてのこれらの操作は前述の 2-2 の場合と同様に行なう。

N Na_2SO_4 抽出液は一部を 100 ml 三角フラスコにとり, 湯煎上で蒸発乾固した後 $K_2Cr_2O_7$ 酸化滴定法で Carbon を定量し, 土壌 Carbon 含有量に対する % で表示する。

腐植の組成は次の方法で計算する。

$$\text{腐植酸 Carbon} = (h-1) + (h-2)$$

先に求めた (h-1) をさし引いて (h-2) を求める。

$$(\text{抽出腐植 Carbon}) + (N Na_2SO_4 \text{ 溶液可溶 Carbon}) - (\text{腐植酸 Carbon}) = (f-1a) + (f-1) + (f-2)$$

先に求めた (f-1a) + (f-1) をさし引いて (f-2) を求める。

注 1) TYURIN 法⁴¹⁾ では N Na_2SO_4 溶液可溶 Carbon を f-1a と別個の fraction として扱っているが, 筆者は (f-1a) の一部として扱った。しかし, この点については明りょうな根拠はない。

注 2) 腐植酸溶液の光学的性質は (h-1) + (h-2) の混合物として扱う。

2-4. N H_2SO_4 前処理後 (脱 Ca および R_2O_2) 0.1N NaOH 溶液で抽出される腐植の分析 (f-1a, Fraction 1 + Fraction 2 + Fraction 3 の含量)

2-2 と同様に秤取した試料に N H_2SO_4 100 ml を加え, 30°C で 24 時間抽出する。翌朝 8,000 rpm で 5~10 分遠心分離し, 得られた透明な上澄液を f-1a の定量に用いる。

沈殿 (土壌) は 2-3 と同様に, 0.4N Na_2SO_4 溶液を用いて, 上澄液が無色になるまで洗浄, 遠心分離をくり返す。

洗浄終了後, 0.1N NaOH 溶液 100 ml を用いて, もとのフラスコにもどして腐植の抽出を行なう。以後の操作はすべて 2-3 と同様である。

N H_2SO_4 抽出液は一定量を 100 ml 三角フラスコにとり, 計算量の N NaOH 溶液を加えて中和し, 湯煎上で蒸発乾固後 $K_2Cr_2O_7$ 酸化滴定法で Carbon の定量を行ない, 土壌 Carbon 含有量に対する % で表示する。

腐植の組成は次の方法で計算する。

$$N H_2SO_4 \text{ 可溶 Carbon} = (f-1a)$$

$$\text{腐植酸 Carbon} = (h-1) + (h-2) + (h-3)$$

先に求めた (h-1) + (h-2) をさし引いて (h-3) を求める。

$$\text{抽出腐植 Carbon} - \text{腐植酸 Carbon} = (f-1) + (f-2) + (f-3)$$

先に求めた (f-1) + (f-2) をさし引いて (f-3) を求める。

注 1) N H_2SO_4 処理後の 0.4N Na_2SO_4 溶液による洗浄は 5~6 回行えば十分である。

注 2) 腐植酸溶液の光学的性質は (h-1) + (h-2) + (h-3) の混合物として扱う。

2-5. そ の 他

1) TYURIN 法⁴¹⁾ では前処理後の 0.1N NaOH 溶液で抽出した残渣に, 0.02N NaOH 溶液を加えて 1~

Table 1. 分 析 試 料

Analysed sample

[On dry basis]

試料名 Name of sample	断面番 Prof. No.	土壌型 Type of soil*1	層位 Horizon	C %	N %	pH (H ₂ O)	CEC (me/100g)	Exch.		Rate of saturation		母材 Parent material
								CaO	MgO	CaO	MgO	
大 門 Daimon	P 14	B _D	A ₁ B	16.2 7.39	0.98 0.43	5.50 5.30	46.9 30.6	6.76 0.84	1.68 0.15	14.4 2.7	3.6 0.49	Volc. ash
新 見 Niimi	P 17	B _D	A ₁ B	28.7 1.91	1.35 0.13	4.35 4.40	78.7 20.5	24.1 0.14	3.29 0.24	30.6 0.7	4.2 1.2	Volc. ash and Quartz porphyry
新 見 Niimi	P 10	(B _D)	A ₁ B ₁	5.40 1.25	0.28 0.28	5.90 5.30	25.5 14.0	9.25 0.37	4.57 1.42	38.6 2.6	17.9 10.0	Volc. ash and Quartz porphyry
福 山 Fukuyama	pn-P3	B _D	A ₁ B ₁	5.71 1.42	0.39 0.13	6.40 6.65	37.2 29.5	24.5 17.5	5.08 4.62	65.3 59.3	13.7 15.8	pn-clayslate and shale
福 山 Fukuyama	P7	B _D	A	3.50	0.17	5.40	13.9	4.62	1.12	33.2	8.1	Granite
西 条 Saijō	P6	B _D (d)	A	2.44	0.10	4.70	5.58	1.12	0.29	20.1	5.2	Granite
西 条 Saijō	P14	B _D (d) ~B _A	A _m	4.06	0.19	4.75	12.0	3.15	0.74	26.3	6.2	Quartz porphyry
川 本 Kawamoto	P4	B _B	(H)-A	11.2	0.36	4.20	28.7	0.76	1.01	2.6	3.5	Granite
川 本 Kawamoto	P6	B _D	A ₁ B	9.14 1.79	0.42 0.12	5.00 5.70	25.1 8.80	2.82 0.70	1.08 0.46	11.2 8.0	4.3 5.2	Granite
熊 野 Kumano	P1	B _D	A ₁ B	5.78 2.79	0.40 0.21	4.10 4.95	24.8 1.77	2.08 2.16	2.08 0.17	8.4 12.2	2.1 1.0	Granite- porphyry
蚊 野 Kano	P1	R _B	R ₁ (A-B)	1.35	0.11	4.65	9.74	0.43	0.26	4.4	2.7	Diluvium-clay and (Volc. ash)
金 生 山 Kinshōzan	P1	dR _D (d)	A B	9.33 3.06	0.68 0.21	5.80 5.40	37.7 23.0	29.9 1.00	0.85 0.09	79.3 4.3	2.3 0.4	Limestone and (Volc. ash)
王 滝 Ōtaki	P1	P _w (i)-I	H-A A ₂ B ₁	34.1 2.93 3.25	1.67 0.18 0.17	3.50 3.90 4.10	66.5 15.7 21.8	2.12 0.26 0.28	0.78 0.09 0.07	3.2 1.7 1.3	1.2 0.6 0.3	Quartz porphyry
王 滝 Ōtaki	P4	P _w (h) -III~(B _D)	B	4.60	0.31	5.05	34.9	0.18	0.06	0.5	0.2	Basalt
弥 陀 ケ 原 Midagahara	P1	Peaty soil	A ₁ -P	23.4	1.25	4.35	58.6	0.80	0.22	1.4	0.4	Volc. ash and peat
伊 吹 山*2) Mt. Ibuki	P1		A ₁	18.5	1.85	7.00	85.7	70.0	9.00	81.7	10.5	Limestone
沖 縄*3) Okinawa	P82	Rend- sina-like soil	A ₁	8.70	0.79	7.40	51.5	62.0	5.25	12.0	10.2	Limestone

Remarks: *1 Type of soil is as follows:

B/d: Moderately moist black soil.

(B/d): Moderately moist black soil (Degraded type).

B_D: Moderately moist brown forest soil.B_D(d)~BA: Intermediate type between B_D(d)- and BA-soil.B_D(d): B_D soil that has well developed granular or nutty structure in A horizon.

BA: Dry brown forest soil (Steep slope type).

B_B: Dry brown forest soil (Gentle slope type).R_B: Dry red soil.dR_D(d): dR_D soil that has well developed granular or nutty structure in A horizon.dR_D: Moderately moist dark red soil.

Pw(i)-I: Wet podzol (Iron type).

Pw(h)-III: Wet slightly podzolic soil (Humus type).

*2 Mt. Ibuki: Its type of soil is not yet determined. It may be rendsina-like soil.

*3 Okinawa p. 82: Its data are cited from T. KURATORI and T. KOJIMA's unpublished data by their courtesy.

2時間放置後、飽和 Na_2SO_4 溶液を加えて遠心分離し、このような洗浄を上澄液が無色になるまで行なっている。川口および久馬¹⁹⁾の結果では6~20回の洗浄を必要とするという。

筆者も0.1N NaOH 溶液で抽出した残渣について、0.1N NaOH 溶液を用いて同様の追試を行なったが、各種土壌の表層土では10回の洗浄後もなおかなりの着色が認められた。このような方法で腐植の各 fraction の完全な抽出を行なうには多くの時間と労力を要するので、筆者は0.4N Na_2SO_4 溶液による洗浄を採用した。この場合には後述の5および11で示したように、完全抽出に比べると80~90%の抽出率にとどまるが、各土壌の相互の比較にはとくにさしつかえないであろうと筆者は考えている。

したがって、上述の方法では、残った腐植が次の0.1N NaOH 溶液による抽出の際に、共に抽出されることが考えられたので、各 fraction の逐次抽出を採用しなかった。

2) わが国の土壌は一般に Fraction 1 が優占している。森林土壌の場合も同様である。以下に示すように(8および9参照)、Fraction 2 が優占している場合も見られたが、これらは特殊例に属するといえよう。

筆者は pH および Ca 飽和度がとくに高い場合以外は、Fraction 2 の分析は不必要であろうと考えている。一般の場合は $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 前処理によって Fraction 2 + Fraction 3 の含量を求めれば十分であろう。

3. 供 試 土 壌

今回供試した土壌は Table 1 のとおりである。

これらの土壌の詳細は第2報以後に述べる予定である。

4. 0.1N NaOH 溶液 24時間 30°C 抽出における腐植の形態に及ぼす 土壌 Carbon 量と抽出液量比の影響

4-1. 目 的

腐植の抽出に際して、土壌中の腐植含有量と抽出液量との関係について、0.1N NaOH 溶液を用いて室温抽出の場合、TYURIN 法⁴¹⁾では土壌 5~10 g に対して0.1N NaOH 溶液 200 ml を用い、PONOMAREVA 法²⁾⁸⁴⁾では0.1N NaOH 溶液 200 ml に対して土壌は腐植の含有率によって秤取量を決めているが、Carbon 含有率を基準にして概算すると、抽出倍率は約700倍以上と推定される。

筆者はまず0.1N NaOH 溶液 24時間 30°C 抽出の場合に、抽出倍率の相違が腐植の形態に及ぼす影響を検討することにした。

4-2. 分析方法

抽出倍率は試料の Carbon 量を基準にして300, 500 および1,000 倍とした。抽出液量は100 ml とし、Carbon 約330, 200 および100 mg になるように試料を秤取した。その他の操作はすべて2-2と同様に行なった。

4-3. 結果および論議

各種土壌の表層土4点についての結果は Table 2 に示すとおりであった。

いずれの場合も $300 < 500 \leq 1,000$ 倍の順に腐植酸(h-1)およびフルボ酸(f-1a + f-1)の抽出量はわずかず増大したが、500 および1,000 倍ではほとんど相違が見られなかった。

Table 2. 0.1N NaOH 溶液 24 時間 30°C 抽出における腐植の形態に及ぼす土壌 Carbon 量と抽出液量比の影響

The effect of rate of soil organic carbon amount to extractant volume on humus form in 0.1N NaOH extract for 24 hrs at 30°C of some soils

試料名・土壌型・層位 Name of sample Type of soil Horizon	土壌 C/液量 Soil org. C(g)/ Extractant (ml)	腐 植 の 組 成 Humus composition				Na-humate 溶液(h-1)の光 学的性質Optical property of Na-humate solution (h-1)		
		腐植酸* Humic acid (h-1)	フルボ酸* Fulvic acid (f-1)	計* Total	C_h/C_f	$\Delta \log K_1$	$\Delta \log K_2$	Rf_{800}
新 見 Niimi P17 B/b, A ₁	1 : 300	26.2	15.3	41.5	1.71	0.526	0.585	0.580
	1 : 500	26.3	15.5	41.8	1.70	0.528	0.585	0.582
	1 : 1000	26.4	15.6	42.0	1.69	0.529	0.586	0.586
福 山 Fukuyama pn-P3, B ₀ , A ₁	1 : 300	17.1	14.3	31.4	1.20	0.668	0.859	0.273
	1 : 500	17.3	14.4	31.7	1.20	0.669	0.862	0.275
	1 : 1000	17.3	14.5	31.8	1.19	0.668	0.860	0.275
金 生 山 Kinshōzan dR ₀ (d), A	1 : 300	13.6	16.9	30.5	0.80	0.720	0.830	0.243
	1 : 500	13.8	17.1	30.9	0.81	0.723	0.827	0.240
	1 : 1000	13.8	17.1	30.9	0.81	0.721	0.829	0.238
王 滝 Ōtaki P1 Pw(i)-1, A ₂	1 : 300	15.9	24.2	40.1	0.66	0.460	1.113	0.451
	1 : 500	16.1	24.5	40.6	0.66	0.461	1.119	0.454
	1 : 1000	16.1	24.6	40.7	0.65	0.463	1.122	0.457

注) * 腐植酸, フルボ酸および計の C 量はもとの土壌有機態 C に対する%で示した。

** C_h/C_f は腐植酸-C/フルボ酸-C

Remarks: Humus composition.

* Carbon of humus fractions is expressed as % of total soil organic carbon.

** C_h/C_f : humic acid-carbon/fulvic acid-carbon.

C_h/C_f に示される腐植の組成, $\Delta \log K_1$, $\Delta \log K_2$ および Rf に示される腐植酸溶液の光学的性質は, いずれの抽出倍率においても相違が認められなかった。

筆者は以上の結果から, その後の腐植抽出液の Carbon の定量, 腐植酸の分離定量等の操作を考慮に入れ, 抽出倍率 500 倍を採用することにした。

5. 0.1N NaOH 溶液によるくり返し抽出について

5-1. 目 的

2-5 で述べたように, 前処理後 0.1N NaOH 溶液で抽出した残渣を, 0.02N NaOH 溶液を用いて無色になるまで洗浄する TYURIN 法⁴¹⁾ は, 多くの時間と労力を要することが難点であろう。

筆者は前処理を行なった場合には 0.4N Na₂SO₄ 溶液による洗浄を用い, 直接 0.1N NaOH 溶液で抽出を行なった場合は洗浄を省略した。したがって, 筆者の場合には各 fraction の抽出率については多少の問題が残されていた。

この点を明らかにするために, 土壌を 0.1N NaOH 溶液を用いてくりかえし抽出を行ない, 最初および第 2 回目の抽出の比較を行なうことにした。なお, N H₂SO₄ 前処理を行なった場合については後の 11 で述べることにした。

5-2. 分析方法

2-2 と同様に土壌を直接 0.1N NaOH 溶液を用いて抽出し, 残渣を 2-3 および 2-4 と同様に 0.4N Na₂SO₄ 溶液を用いて抽出および洗浄液の合量が 250 ml に達するまで洗浄を行なった。

次にこの残渣を 0.1N NaOH 溶液を用いてもとのフラスコにもどし、同様に第2回目の抽出を行なった。この場合の洗浄には 0.4N Na_2SO_4 —0.1N NaOH 混合液を用いた。

最初および第2回目の腐植抽出液について、2-2と同様に腐植の組成および腐植酸の光学的性質の検討を行なった。

5-3. 結 果

各種土壌の表層土および下層土10点についての結果は、Table 3 および Fig. 1 に示すとおりであった。

第2回目の抽出の場合は 0.4N Na_2SO_4 —0.1N NaOH 洗浄液はいずれも無色になっていたので、腐植の抽出は完全に行なわれたものと考えられる。

第2回の抽出を最初の抽出と比較すると、抽出腐植は約10~35%, 腐植酸は約20~35%に達した。後述の9で示すように Fraction 2 のとくに多い福山 pn-P3—とくに B₁—では高い値を示したが、この点は Fraction 2 の一部が 0.4N Na_2SO_4 溶液による洗浄によって脱 Ca され、第2回目の抽出の際に溶解したためではないかと推定された。その他の Fraction 2 をほとんど含まない土壌では、抽出腐植は約10~20%, 腐植酸は約15~20%が最初の抽出の際に残留したものと推定された。

Table 3. 0.1N NaOH 溶液1夜 30°C でくり返し抽出を行なった場合の腐植の形態
The humus form in repeated 0.1N NaOH extracts for overnight at 30°C of some soils

試料名・土壌型 Name of sample Type of soil	層位 Horizon	抽出 Extraction	腐植の組成 Humus composition*			Na-humate溶液の光学的性質 Optical property of Na-humate solution (h-1)		
			腐植酸 Humic acid (h-1)	フルボ酸 Fulvic acid (f-1a+f1)	計 Total	$\Delta \log K_1$	$\Delta \log K_2$	Rf ₆₀₀
新見 Niimi P17 B _h	A ₁	1st	26.2	4.9+10.8	41.9	0.533	0.592	0.590
		2nd	3.5	1.2	4.7	0.610	0.543	0.401
	B	1st	17.5	17.5+ 5.3	40.3	0.490	0.610	0.954
		2nd	3.0	1.8	4.8	0.441	0.702	0.974
福山 Fukuyama pn-P3 B _h	A ₁	1st	17.6	4.0+11.7	33.3	0.665	0.839	0.280
		2nd	4.7	2.8	7.5	0.679	0.616	0.298
	B ₁	1st	7.3	8.2+12.1	27.6	0.607	0.673	0.289
		2nd	2.5	7.2	9.7	0.616	0.643	0.328
川本 Kawamoto P6 B _p	A ₁	1st	16.4	6.7+13.5	36.6	0.586	0.785	0.343
		2nd	3.1	3.3	6.4	0.607	0.680	0.362
	B	1st	11.7	15.7+ 69	34.3	0.494	0.739	0.460
		2nd	2.1	2.4	4.5	0.502	0.725	0.516
金生山 Kinshōzan P1 dR _h (d)	A	1st	14.0	7.1+10.4	31.5	0.716	0.835	0.245
		2nd	3.0	2.4	5.4	0.740	0.496	0.323
	B	1st	13.3	18.3+8.6	40.2	0.540	0.715	0.627
		2nd	2.6	4.8	7.4	0.444	0.735	0.784
王滝 Ōtaki P1 Pw(i)-I	A ₂	1st	16.4	11.1+13.7	41.2	0.468	1.130	0.442
		2nd	3.2	3.3	6.5	0.406	0.545	0.239
	B ₁	1st	10.2	33.2+ 4.3	47.7	0.600	1.135	0.371
		2nd	2.3	2.3	4.6	0.362	0.856	0.355

注) * 腐植の各フラクションの Carbon は土壌全有機 Carbon に対する % で示した。

Remarks: Carbon of humus fractions is expressed as % of total soil organic carbon.

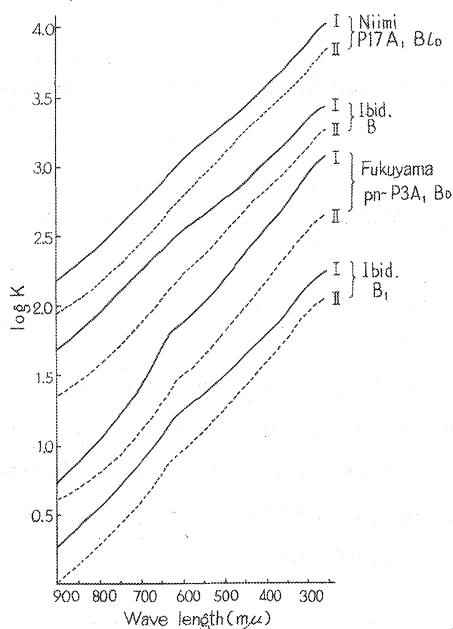


Fig. 1-(1) 0.1N NaOH 溶液 1 夜 30°C でくり返し抽出を行なった場合の Na-humate 溶液の吸収スペクトル (I : 第 1 回抽出, II : 第 2 回抽出, Na-humate 溶液の濃度は適宜換算した)

The absorption spectra of Na-humate solution (humic acid) in repeated 0.1N NaOH extract for overnight at 30°C of some soils [I : First extract, II : Second extract, Concentrations of Na-humate solution are arbitrarily chosen].

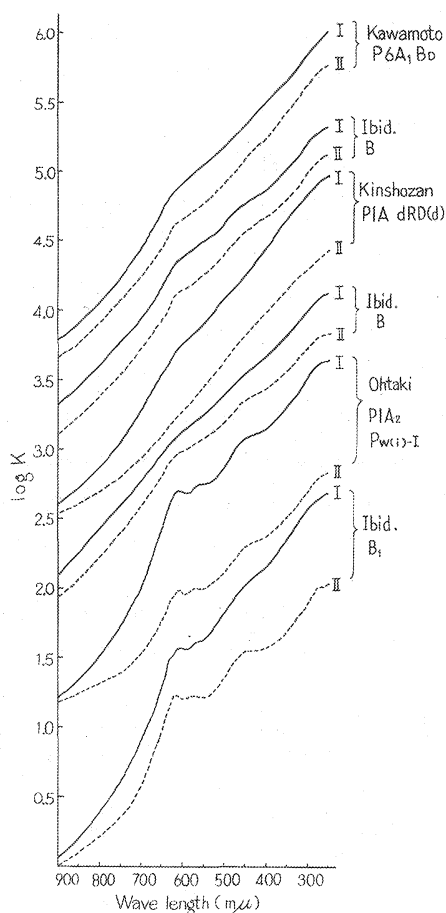


Fig. 1-(2) 同上 Ibid

腐植酸溶液の光学的性質について、第 2 回目の抽出を最初の抽出と比べると、 $\Delta \log K_1$, $\Delta \log K_2$ および R_f は一部にはかなり近似した値を示した場合も見られたが、全般的にはかなりの相違を示した場合が多かった。その相違も各土壌ごとにそれぞれ異なった傾向を示し、一定の傾向は見られなかった。

後述 (11) の $N H_2SO_4$ 前処理後、0.1N NaOH 溶液のくりかえし抽出を行なった場合もやはり同様の結果が得られたが、この点は KONONOVA¹⁵⁾、熊田²²⁾ および本田⁸⁾ らが指摘するように、腐植を hetero な重合度の高分子化合物の集合体と考えれば、これを構成している各 fraction のアルカリに対する溶解度、および腐植酸溶液の光学的性質がそれぞれかなりの相違を示すことによると考えることができよう。

筆者は 0.1N NaOH 溶液で抽出後、ふたたび 0.1N NaOH 溶液でくりかえし抽出ないし洗浄を行なうことは、多くの時間と労力を要するために採用しなかった。最初の抽出で、くりかえし抽出による完全抽出の 80~90% の腐植が抽出されるので、各土壌相互の比較にはとくに支障はないと考えられたからである。しかし、その反面各 fraction の逐次抽出の採用も断念せざるを得なかった。

6. Ethanol-benzol 抽出の腐植の形態におよぼす影響

6-1. 目 的

TYURIN 法⁴¹⁾ および PONOMAREVA 法²⁾³⁴⁾ では、試料の ethanol-benzol 抽出を行なって bitumen (ethanol-benzol 可溶物) を除去定量した後、0.1N NaOH 溶液を用いて抽出を行なっている。TYURIN²⁾¹³⁾⁴¹⁾ によれば5%以上の bitumen を含む場合には、この操作を怠ると誤った結果を与えるという。KONONOVA^{ら¹⁶⁾⁸⁰⁾} はこの操作を省略しているが、この場合無機質土壌では f-1a が増大するが、腐植酸およびフルボ酸にはほとんど影響しない。しかし泥炭等の有機質土壌ではこの操作は省略できないとしている。

筆者は ethanol-benzol 抽出の腐植の形態に及ぼす影響を明らかにするために、次のような比較を行なった。

6-2. 分 析 方 法

各試料いずれも常法どおりソックスレー抽出器を用いて、抽出液が無色になるまで12~24時間 ethanol-benzol 抽出を行なった。抽出物は 80°C で乾燥し、求めた重量を 0.72 倍¹⁵⁾⁴¹⁾ して Carbon 量を算出した。

抽出を終わった試料は、うすく拡げて10日以上風乾し、ethanol-benzol の消失後その一部を用いて腐植の形態の分析を行なった。

ethanol-benzol 抽出および無抽出の試料を用いて、0.1N NaOH 溶液による抽出および N H₂SO₄ 前処理後 0.1N NaOH 溶液による抽出を 2-2 および 2-4 と同様に行なった。

ethanol-benzol 抽出を行なった試料の腐植の組成は無抽出の試料当たりに換算して示した。

6-3. 結果および論議

ethanol-benzol 可溶物含有率の異なる各種土壌8点を用いた分析結果は、Table 4 に示すとおりであった。

福山 pn-P3 A₁, 王滝 P4-B および蚊野 P1 R₁ 等のいわゆる鉱質土壌に属する土壌では、ethanol-benzol 可溶 Carbon 含有率は 2.9~6.9% であった。これらの土壌の全腐植酸および全フルボ酸の収量は、ethanol-benzol 抽出によってそれぞれ約 6~10% および 0~7% 程度減少したが、腐植酸溶液の吸収スペクトル、 $\Delta \log K_1$, $\Delta \log K_2$ および Rf はほとんど相違が見られなかった。

新見 P17 A₁, 川本 P4(H)-A, 弥陀ヶ原 P1 A₁, 王滝 P1 H-A 等は腐植の多いいわゆる有機質土壌に属するが、それらの ethanol-benzol 可溶 Carbon 含有率は新見 P17 A₁ の 5.3% を除くと 10.6~17.2% に達し、いちじるしく多かった。これらの土壌の全腐植酸および全フルボ酸の収量は ethanol-benzol 抽出によって、それぞれ約 10% および 3~13% の減少を示した。腐植酸溶液の吸収スペクトル、 $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ は明りょうな相違を示さなかったが、Rf がかなりの増大を示し、この点で上述の鉱質土壌の場合と明りょうな相違が見られた。

西条 P14 Am は菌糸網層を含む土壌であるが、その ethanol-benzol 可溶 Carbon 含有率は 11.9% に達した。ethanol-benzol 抽出の影響は上述のいわゆる有機質土壌の場合と同様の傾向が見られたが、全腐植酸収量の減少は約 20% に達し、Rf の増大もさらにけんちょであった。

一般的な傾向としては、ethanol-benzol 抽出による収量の低下は川本 P4 および王滝 P1 の H-A 層以外は、全腐植酸の方が全フルボ酸よりけんちょであった。また、f-1a に対する影響は、上述の川本およ

Table 4. 腐植の形態に及ぼす Ethanol-benzol
The effect of ethanol-benzol extraction

試料名・土壌型 Name of sample Type of soil	層位 Horizon	エタノールベンゾール抽出 Ethanol-benzol extraction	腐植の組成 Humus					
			Ethanol-benzol soluble C	腐植酸 Humic acid			フルボ酸	
				h-1	h-(2+3)	計 Total	f-la	f-l
新見 Niimi P17, Bb	A ₁	unextr. extr.	— 5.3	26.3 25.1	0.7 0.6	27.0 25.7	4.9 4.6	10.6 10.3
弥陀ヶ原 Midagahara, Peaty soil	A ₁	unextr. extr.	— 17.2	32.2 29.1	0.4 0.3	32.6 29.4	10.7 10.0	11.3 11.2
福山 Fukuyama pn-P3, Bd	A ₁	unextr. extr.	— 3.1	17.3 16.0	4.7 4.2	22.0 20.2	4.0 4.1	10.4 10.1
川本 Kawamoto P4, Bb	(H)-A	unextr. extr.	— 13.6	23.8 21.1	1.1 1.0	24.9 22.1	4.4 3.7	10.0 9.2
西条 Saijō P14, Bd(d)~Ba	Am	unextr. extr.	— 11.9	19.4 15.8	tr. tr.	19.4 15.8	9.5 9.3	13.7 13.4
蚊野 Kano P1, Rb	R ₁ (A-B)	unextr. extr.	— 6.9	8.2 7.3	0.4 0.4	8.6 7.7	14.8 14.5	10.2 9.0
王滝 Ōtaki P1, Pw(i)-I	H-A	unextr. extr.	— 10.6	27.2 24.4	tr. tr.	27.2 24.4	5.6 4.6	15.4 14.0
王滝 Ōtaki P4, Pw(h)-III-Bd	B	unextr. extr.	— 2.9	9.4 8.6	2.4 2.3	11.8 11.1	44.7 43.3	4.3 4.0

注) * 腐植各フラクションの Carbon は土壌全有機 Carbon に対する % で示した。 Remarks : * Carbon of

び王滝の H-A 以外は収量の低下はわずかであった。

以上の結果は, ethanol-benzol 抽出は腐植の形態の分析に対して多くの問題点が含まれていることを示すものといえよう。

TYURIN 法および PONOMAREVA 法の場合には, ethanol-benzol 抽出は後述 (11) の $N H_2SO_4$ hydrolyzable carbon の定量も含めて, 土壌中の有機物を細く区分して, その全体の姿を詳細に把握し得る利点があることが認められる。しかし, 上述の結果に示されるように, ethanol-benzol によって抽出される物質は樹脂, ロウ, 油脂等だけではなく, これらの物質とは性質がいちじるしく異なると考えられる腐植酸およびフルボ酸の一部も含まれることは問題であろう。さらに, いわゆる有機質土壌および菌糸網を含む土壌では, 腐植酸 fraction 中に含まれる, おそらく無色ないし淡色で色調の面では腐植酸とかなり性質が異なるであろうと思われる物質が, ethanol-benzol 抽出によって溶出されることが推定される。

腐植の形態の分析に際して ethanol-benzol 抽出をとり入れるか否かは, 腐植酸およびフルボ酸に対する考え方一定義の方法—によって, 自ら決定される問題であろう。土壌中の稀アルカリ可溶部について, 酸による沈殿部を腐植酸, 非沈殿部をフルボ酸とするか, またはまず ethanol-benzol に対する溶解性を重視して, ethanol-benzol 可溶物 (上述の考え方による腐植酸およびフルボ酸の一部も含まれる) を除いた後に, 同様に腐植酸およびフルボ酸を区分するかは, それぞれ各研究者の考え方によって決定されるべき問題であろう。

筆者は上述の前者の見解に立って, 一般的な腐植の形態の分析の場合には ethanol-benzol 抽出を省略することにした。

抽出の影響

on the humus form of some soils

composition*				Na-humate 溶液の光学的性質 Optical property of Na-humate solution					
Fulvic acid		抽出腐植 Extra- cted humus	C_h/C_f	$\Delta \log K_1$		$\Delta \log K_2$		Rf_{600}	
f-(2+3)	計 Total			h-1	h- (1+2+3)	h-1	h- (1+2+3)	h-1	h- (1+2+3)
0.3	15.8	42.8	1.71	0.528	0.522	0.585	0.556	0.582	0.608
0.3	15.2	5.3+40.9	1.69	0.520	0.518	0.589	0.555	0.620	0.634
2.7	24.7	57.3	1.32	0.524	0.517	0.753	0.743	0.305	0.295
2.7	23.9	17.2+52.3	1.23	0.532	0.516	0.778	0.743	0.339	0.357
5.4	19.8	41.8	1.11	0.669	0.579	0.826	0.785	0.275	0.409
5.6	19.8	3.1+40.0	1.02	0.674	0.578	0.850	0.785	0.279	0.412
2.2	16.6	41.5	1.50	0.701	0.669	0.893	0.785	0.212	0.216
1.6	14.5	13.6+36.6	1.52	0.706	0.667	0.881	0.826	0.250	0.245
tr.	23.2	42.6	0.84	0.657	0.622	0.679	0.626	0.201	0.198
tr.	22.7	11.9+38.5	0.70	0.646	0.621	0.676	0.619	0.260	0.264
0.9	25.9	34.5	0.33	0.692	0.567	0.792	0.803	0.232	0.225
0.7	24.2	6.9+31.9	0.32	0.706	0.559	0.773	0.794	0.232	0.227
3.7	24.7	51.9	1.10	0.710	0.665	1.008	0.909	0.251	0.246
3.2	21.8	10.6+46.2	1.12	0.700	0.667	1.024	0.903	0.279	0.278
15.5	64.5	76.3	0.18	0.469	0.454	1.047	1.041	0.391	0.442
15.0	62.3	2.9+73.4	0.18	0.480	0.456	1.047	1.076	0.398	0.447

humus fractions is expressed as % of total soil organic carbon.

7. 腐植の稀アルカリ抽出における温度の影響

7-1. 目的

稀 NaOH 溶液による腐植の抽出の場合には、加熱抽出ないし室温抽出が行なわれている。SIMON⁸⁵⁾、小坂・井礦⁹⁾¹⁷⁾、TYURIN⁴¹⁾、PONOMAREVA²⁾⁸⁴⁾らは室温抽出を、SPRINGER⁹⁶⁾⁹⁷⁾、弘法・大羽⁸¹⁾、熊田¹⁹⁾、筆者の前報¹¹⁾の場合は加熱抽出を用いている。

この両抽出法はそれぞれ利害得失を有するものと思われるが、同時に抽出される腐植の形態が異なることも予想される。したがって、筆者は腐植の形態に及ぼす抽出温度の影響を明らかにするために、次のような検討を行なった。

7-2. 分析方法

分析方法は 30°C 抽出の場合は 2-2 と同様に行なった。

加熱抽出の場合は筆者の以前の報告¹¹⁾と同様に、Carbon 約 330 mg を含むように試料を 200 ml 三角フラスコに秤取し、100 ml の 0.5% NaOH 溶液を加え、冷却管をつけて沸騰湯煎中で 1 時間加熱し、放冷後密栓して 30°C に 1 夜放置し、翌日 30°C 抽出の場合と同様に以後の操作を行なった。

注) 弘法・大羽法⁸¹⁾および熊田法¹⁹⁾では Carbon 200 mg, 0.5% NaOH 溶液 60 ml で 100 ml 三角フラスコを用い、30分加熱しているが、筆者の場合は液量およびフラスコが大きいので上述の方法を用いた。

7-3. 結果および論議

各種土壌の表層土および下層土 10 点についての結果は、Table 5 および Fig. 2 に示すとおりであった。この 2 つの抽出方法を比べると次のような結果が得られた。

1) いずれの土壌も加熱抽出は、30°C 抽出に比べると腐植酸およびフルボ酸抽出量は増大した。その割合は数%から約 2 倍に達し、いちじるしい相違が見られたが、供試土壌では全般に黒色土壌一とくに B

Table 5. 0.1N NaOH 溶液 24時間 30°C 抽出および 0.5% NaOH 溶液 1時間
The humus form in 0.1N NaOH extract for 24 hrs at 30°C and that
1hr in a boiling water bath of some soils

試料名・土壌型 Name of sample Type of soil	層位 Horizon	抽出 Extraction	腐植の組成 Humus composition**			
			腐植酸 Humic acid	フルボ酸 Fulvic acid	計 Total	C_h/C_f
新見 Niimi P17 B/b	A ₁	a	26.3	15.5	41.8	1.70
		b	35.5	22.1	57.6	1.61
	B	a	17.5	22.6	40.1	0.85
新見 Niimi P10 (B) _b	A ₁	b	18.1	24.8	42.9	0.73
		a	16.2	15.4	31.6	1.05
	B ₁	b	27.5	24.4	51.9	1.13
		a	11.9	20.5	32.4	0.58
福山 Fukuyama pn-P3 Bb	A ₁	b	14.8	32.6	47.7	0.45
		a	17.3	14.4	31.7	1.20
	B ₁	b	31.5	29.1	60.6	1.08
		a	6.2	16.7	22.9	0.37
金生山 Kinshōzan P1 dRb(d)	A	b	13.4	33.1	46.5	0.40
		a	13.8	17.1	30.9	0.81
	B	b	25.5	29.5	55.0	0.86
		a	13.2	26.7	39.9	0.49
王滝 Ōtaki P1 Pw(i)-I	A ₂	b	19.6	36.7	56.3	0.53
		a	16.1	24.5	40.6	0.66
	B ₁	b	25.8	31.7	57.5	0.81
		a	16.1	37.2	47.6	0.25
		b	15.3	45.8	61.1	0.33

注) *抽出 a……0.1N NaOH 24時間30°C, b……0.5% NaOH 1時間湯煎中。

**腐植の各 fraction の Carbon は土壌全有機 Carbon に対する % で示した。

Remarks : * Extraction. a……0.1N NaOH extract for 24hrs at 30°C.

b……0.5% NaOH extract for 1hr in a boiling water bath.

**Carbon of humus fractions is expressed as % of total soil organic carbon.

層一がもっとも小さく、退色型黒色土壌、暗赤色土、湿性ポドゾルがこれに次ぎ、褐色森林土がもっとも大きかった。

2) C_h/C_f は抽出温度によってとくに大きな相違を示さなかった。加熱または 30°C 抽出のいずれが大きいかという点は、各土壌に共通の傾向は見られなかった。

3) 各土壌の吸収スペクトルの型は第 2 報以下で詳述する予定であるが、加熱および 30°C 抽出はどれも近似し、各土壌の特徴を明りょうに示していた。

4) 湿性ポドゾルにおける 615, 570 および 450 mμ 付近に見られる熊田の Pg 型腐植酸の特徴を示す吸収帯は、加熱抽出の場合は 30°C 抽出に比べると弱くなる傾向が見られた。

5) $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ はそれぞれ全般的にかなり近似した値を示した場合が多かったが、そのいずれか、または両者が加熱抽出によってかなり減少した場合も少なくなかった。

6) Rf は黒色土壌の A₁ および B, 退色型黒色土壌の A₁, 湿性ポドゾルの A₂ および B₁ では減少し、褐色森林土の A₁ および B₁ では増大し、その他の場合は近似した値を示し、一定の傾向を見出しにくかった。

腐植酸の化学的構造は、芳香族化合物の網目状の重合部とこれに付属する側鎖の部分から成り、重合部が腐植酸の光学的性質、すなわち吸収スペクトルの特性を示すものと考えられている¹⁵⁾²¹⁾²²⁾。以上の結果は、加熱抽出による重合部の変性ないし分解は、とくに重視しなくてもさしつかえないことを示している。

湯煎中抽出における腐植の形態
in 0.5% NaOH extract for

Na-humate 溶液の光学的性質 Optical property of Na-humate solution		
$\Delta \log K_1$	$\Delta \log K_2$	Rf_{600}
0.528	0.585	0.582
0.531	0.593	0.516
0.498	0.620	0.957
0.504	0.616	0.860
0.654	0.705	0.410
0.633	0.708	0.348
0.550	0.691	0.606
0.528	0.656	0.602
0.669	0.826	0.275
0.661	0.790	0.302
0.671	0.740	0.251
0.608	0.739	0.337
0.723	0.827	0.240
0.682	0.763	0.228
0.549	0.708	0.637
0.526	0.698	0.626
0.461	1.119	0.454
0.480	1.015	0.349
0.592	1.149	0.362
0.579	1.099	0.327

ように思われる。

加熱抽出による腐植抽出量の増大は、稀アルカリ室温不溶の Humin の一部が、熱アルカリに溶出するためであろう。

筆者は一般的な腐植の形態の分析方法として 30°C 抽出を用いることにした。腐植酸の含有量の少ない試料では、加熱抽出の方が便利であるが、今回未発表のデータ（上述の結果とはほぼ同様である）も含めて、各土壌ごとの腐植酸の光学的性質の特徴は 30°C 抽出の方がさらに明りように示されること、および腐植の変性の危険性一上述のように重視する必要はないと思われるが一が 30°C 抽出の方が少ないであろうと考えられたからである。

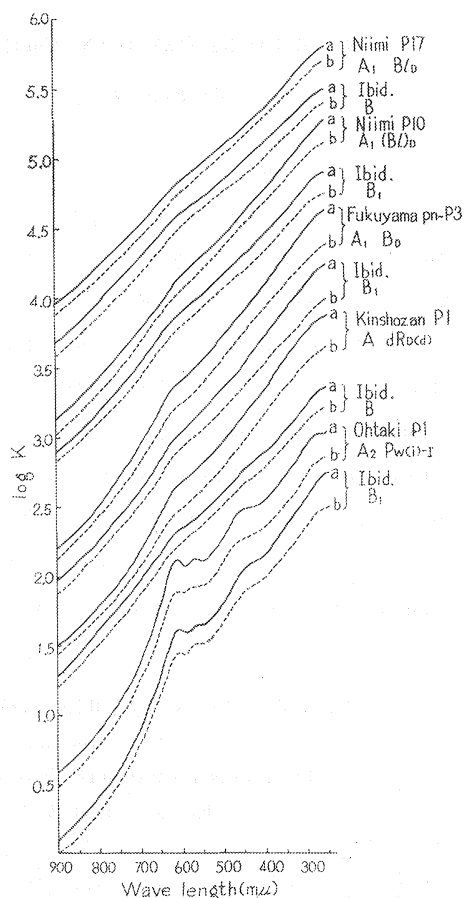


Fig. 2 0.1N NaOH 溶液 24時間 30°C および 0.5% NaOH 溶液 1時間湯煎中抽出における Na-humate 溶液の吸収スペクトル (a: 0.1N NaOH 抽出, b: 0.5% NaOH 抽出, Na-humate の濃度は適宜換算した)

The absorption spectra of Na-humate solution (humic acid) in 0.1N NaOH extract for 24 hrs at 30°C and 0.5% NaOH extract for 1 hr in a boiling water bath (a: 0.1N NaOH extract, b: 0.5% NaOH extract. Concentrations of Na-humate solution are arbitrarily chosen).

8. 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH 混合液による腐植の形態の分析について(KONONOVA および BEL'CHIKOVA 法¹⁵⁾¹⁶⁾⁸⁰⁾ の検討)

8-1. 目 的

一般に広く行なわれている稀アルカリによる腐植の抽出に対して、抽出中に腐植の変性が行なわれるとの批判も少なくないが、同時にこれによって、腐植の本質的な変化ないし腐植質の人為的な生成を示す根拠は、なにもないといわれている¹⁵⁾。

これに対して、NaF または シュウ酸塩溶液を用いる温和な条件の抽出も古くから用いられているが、最近では中性ピロリン酸ナトリウム溶液を用いる場合も多く見られる。これらの温和な抽出の場合には、アルカリ抽出より腐植の抽出量がいちじるしく少ないことが欠点とされている。

KONONOVA および BEL'CHIKOVA¹⁵⁾¹⁶⁾⁸⁰⁾ は 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH 混合液による腐植の抽出法を提案し、これによって TYURIN 法⁴¹⁾による脱 Ca 後 0.1N NaOH 溶液で抽出した腐植酸およびフルボ酸と同程度の収量が得られるとして、TYURIN 法の簡便法として用いている。

Ca 型腐植 (Fraction 2) を重視するのはソ連学派の伝統的な流れであるが、わが国の一般の Ca の少

Table 6. 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH 混合液 24時間 30°C 抽出における腐植の形態(KONONOVA and BEL'CHIKOVA 法¹⁶⁾)The humus form in 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH extract for 24 hrs at 30°C(KONONOVA and BEL'CHIKOVA's method¹⁶⁾ of some soils

試料名・土壌型 Name of sample Type of soil	層 位 Horizon	腐 植 の 組 成 Humus composition*				Na-humate 溶液の光学的 性質 Optical property Na- humate solution		
		腐植酸 Humic acid	フルボ酸 Fulvic acid	計 Total	C_h/C_f	$\Delta \log K_1$	$\Delta \log K_2$	Rf_{600}
大 門 Daimon P14 B/b	A ₁	27.5	18.0	45.5	1.53	0.536	0.606	0.606
	B	20.9	25.1	46.0	0.83	0.493	0.599	0.765
新 見 Niimi P17 B/b	A ₁	22.1	14.8	36.9	1.49	0.541	0.611	0.600
新 見 Niimi P10(B) _D	A ₁	16.1	16.5	32.6	0.98	0.644	0.756	0.413
福 山 Fukuyama pn-P3 B _D	A ₁	20.6	17.7	38.3	1.16	0.596	0.786	0.392
	B ₁	14.6	24.7	39.3	0.59	0.522	0.701	0.545
金 生 山 Kinshōzan P1 dR _D (d)	A	15.6	21.3	36.9	0.73	0.632	0.851	0.267
	B	12.9	27.6	40.5	0.47	0.551	0.723	0.649
王 滝 Ōtaki P1 Pw(i)-I	A ₂	15.3	25.6	40.9	0.60	0.437	1.263	0.476
	B ₁	9.2	37.4	46.6	0.25	0.576	1.290	0.366
伊吹山 Mt. Ibuki P1	A ₁	17.1	24.9	42.0	0.69	0.667	0.834	0.257
沖 縄 Okinawa P82	A ₁	16.9	14.2	31.1	1.19	0.587	0.671	0.483

注) * 腐植の各フラクションの Carbon は土壌全有機 Carbon に対する % で示した。

Remarks: * Carbon of humus fractions is expressed as % of total soil organic carbon.

ない土壌、とくにその傾向の強い森林土壌にこの方法を用いた場合に、どのような結果が得られるかを明らかにするために以下の検討を行った。

8-2. 分析方法

新たに調製した $0.1M Na_4P_2O_7-0.1N NaOH$ 混合液 (pH 約 13) を用いて、その他はすべて 2-2 の $0.1N NaOH$ 溶液による抽出の場合と同様に行なった。

8-3. 結果および論議

各種土壌12点についての結果は Table 6 および Fig. 3 に示すとおりであった。

後述 (10) の Table 8 に示した腐植の各 fraction 別の組成、および腐植酸の光学的性質と比べると、次のような結果が得られた。

伊吹山 P1, 沖縄 P82, 金生山 P1A 等の石灰岩に由来する土壌および福山 pn-P3 の古生層に由来する土壌等のように、置換性 Ca 飽和度および pH がいちじるしく高い土壌では、腐植酸およびフルボ酸の収量, C_h/C_f , 腐植酸溶液の吸収スペクトル, $\Delta \log K_1$, $\Delta \log K_2$ および Rf 等は、いずれも $N Na_2SO_4$ 溶液前処理による脱 Ca 後 $0.1N NaOH$ 溶液で抽出を行なった場合、すなわち f-1a + Fraction 1 + Fraction 2 と近似的な値を示した。これらの結果は KONONOVA および BEL'CHIKOVA¹⁶⁾ とよ

く一致していた。しかし、 $N H_2SO_4$ 前処理後 $0.1N NaOH$ 溶液で抽出した f-1a + Fraction 1 + Fraction 2 + Fraction 3 と比べると、腐植酸およびフルボ酸の収量はいずれの場合も低かった。また、腐植酸溶液の $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ は多少大きく、Rf は多少小さかったが、それらの相違はとくにいちじるしいものではなかった。

このような結果は、 $0.1M Na_4P_2O_7-0.1N NaOH$ 混合液抽出の場合は、Ca と結合している Fraction の抽出は行なわれるが、珪酸塩態の R_2O_3 と結合していると考えられている Fraction 3 の抽出は、行なわれないことを示すものといえよう。同時に、h-2 と h-3 の光学的性質はとくに大きな相違が見られないことを示すものといえよう。

わが国の森林土壌は一般に酸性が強く、置換性塩基の飽和度が低い場合が多い。上述の土壌のように、高い飽和度および pH を示す土壌の分布は、きわめて限られたものといえよう。さらに、伊吹山 P1, 沖

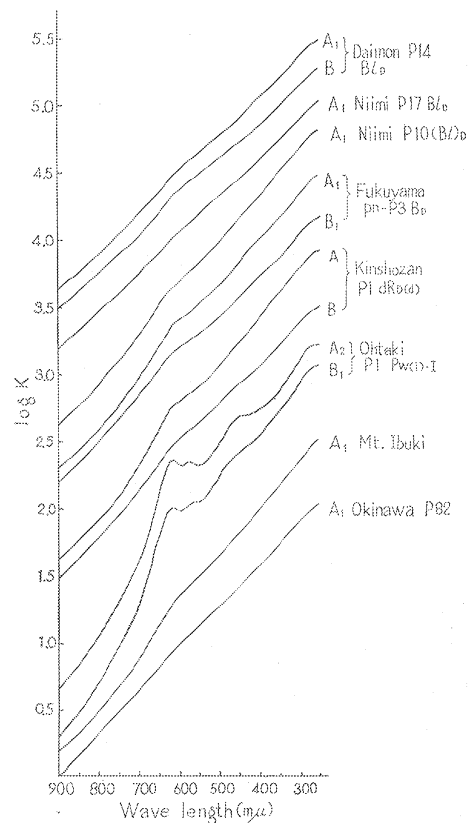


Fig. 3 $0.1M Na_4P_2O_7-0.1N NaOH$ 混合液 24 時間 $30^\circ C$ 抽出における Na-humate 溶液の吸収スペクトル (濃度は適宜換算した)

The absorption spectra of Na-humate solution (humic acid) in $0.1M Na_4P_2O_7-0.1N NaOH$ mixture extract for 24 hrs at $30^\circ C$ of some soils (Concentrations of Na-humate solution are arbitrarily chosen).

繩 P82, 福山 pn-P3 B₁ のように, Ca と結合している Fraction 2 が優占している場合は特殊例と見なすべきであろう。

その他の黒色土壌, 同退色型, 暗赤色土 (B) および湿性ポドゾル等では, 腐植酸およびフルボ酸の収量は 0.1N NaOH 溶液で直接抽出される f-1a + Fraction 1 より低かった。また, 腐植酸溶液の吸収スペクトル, $\Delta \log K_1$, $\Delta \log K_2$ および Rf 等も h-1 と近似した値を示した。これらの土壌はいずれも pH および置換性塩基飽和度が低いか, または高いとはいえない土壌であった。さらに褐色森林土の場合も含めて, 同様の性質を有する他の試料について追試した場合も (未発表データ), 同様の結果を確認した。

筆者は当初 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ と Ca および R_2O_3 との結合が行なわれることによって, 全結合腐植 (Fraction 2 + Fraction 3) の抽出を期待したが, 満足すべき結果は得られなかった。上述の各土壌に対する 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH 混合液抽出の結果は, これをわが国の森林土壌の, 腐植の分析に用いることは困難であることを示すものと思われる。

9. Ca 型腐植 (Fraction 2) の定量について

9-1. 目 的

土壌中で Ca と結合し, 0.1N NaOH 溶液によって抽出されない Ca 型腐植 (Fraction 2) の分析には, いくつかの方法が提案されている。

0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH 混合液抽出については 8 で述べたとおりであるが, その他次のような方法が行なわれている。

1) SIMON⁸⁵⁾ は腐植と結合している Ca を除くために, NaF ないし $(\text{COONa})_2$ 溶液による腐植の抽出を行なっている。これらの溶液による腐植の抽出は, 一般に他の方法で脱 Ca 後 0.1N NaOH 溶液で抽出を行なった場合より, かなり少ない。したがって, この方法は腐植の組成を定量的に把握するためには十分とはいえない。

2) SPRINGER⁸⁶⁾⁸⁷⁾ は土壌を 5% HCl を用いて 70~80°C で 30 分加温し, Ca および Mg を除いた後 0.5% NaOH 溶液を用いて加熱抽出を行ない, 5% HCl 無処理の場合との差から Ca および Mg 型腐植を定量している。

3) TYURIN⁴¹⁾ は N Na_2SO_4 溶液を用いて, 土壌を脱 Ca 後, 0.1N NaOH 溶液を用いて室温抽出を行ない, 無処理の場合との差から Ca 型腐植を定量している。

4) PONOMAREVA²⁾⁸⁴⁾ は N Na_2SO_4 溶液の代わりに 0.1N H_2SO_4 を用いて, TYURIN 法と同様に行なっている。

SPRINGER 法の場合には, 5% HCl 前処理液中に多量の Fe および Al の溶出が認められる。また, この方法を用いた筆者の以前の報告¹¹⁾ では, 塩基飽和度および pH がいちじるしく低い場合にも, 結合腐植の存在が認められた。筆者はこの fraction を Ca および Mg と結合した腐植だけとは考えにくいので, 鉍質物 (Ca, Mg, Fe および Al) と結合した腐植として扱った。

したがって, Ca 型腐植 (Fraction 2) の定量のための脱 Ca には, TYURIN 法ないし PONOMAREVA 法のいずれかを用いるのが適当であろうと考えられたので, 両者の比較検討を試みることにした。

9-2. 分析 方 法

分析方法は前処理に N Na_2SO_4 溶液ないし 0.1N H_2SO_4 を用いたほかはすべて, 2-3 と同様に行なった。

Table 7. N Na₂SO₄ 溶液または 0.1N H₂SO₄ 前処理によって脱 Ca 後 0.1N NaOH 溶液 1 夜 30°C 抽出における腐植の形態 (TYURIN 法^{a)}と PONOMAREVA 法^{b)}の比較)
The humus form in 0.1N NaOH extract for overnight at 30°C after decalcification with N Na₂SO₄ solution or 0.1N H₂SO₄ pretreatment of some soils (The comparison of TYURIN^{a)} and PONOMAREVA^{b)} method)

試料名 Name of sample Type of soil	層位 Horizon	前処理 Pre-treat- ment*	腐植の組成			Humus composition**		Na-humate 溶液の光学的性質 Optical property of Na-humate solution					
			腐植酸 Humic acid h-1	植酸 Fulvic acid h-2	フルボ酸 Fulvic acid h-2	N Na ₂ SO ₄ 抽出 soluble C	0.1N H ₂ SO ₄ 抽出 soluble C	計 Total	Δ log K ₁		Δ log K ₂		Rf
									h-1	h-(1+2)	h-1	h-(1+2)	
大 Daimon P14 Bb	A ₁	a b	32.6	tr.	17.8 11.8	1.3 —	— 7.4	51.7 51.8	0.546 0.543	0.593 0.595	0.599 0.595	0.610 0.615	
	B	a b	22.9	1.5 1.7	22.2 18.9	3.9 —	— 7.4	50.5 50.9	0.492 0.509	0.594 0.610	0.606 0.610	0.798 0.821	
新見 Nimi Pic(B) _b	A ₁	a b	16.2	1.4 2.9	14.5 14.0	1.1 —	— 3.0	33.2 36.1	0.654 0.623	0.705 0.682	0.693 0.682	0.410 0.424	
	A ₁	a b	17.3	3.2 4.3	17.7 16.5	0.5 —	— 1.8	38.7 40.1	0.669 0.589	0.862 0.773	0.773 0.751	0.275 0.406	
福山 Fukuyama pa-P3 Bo	B ₁	a b	6.2	9.1 10.9	20.5 20.9	0.5 —	— 2.1	36.3 40.1	0.671 0.513	0.740 0.693	0.667 0.693	0.251 0.537	
	A	a b	13.8	2.7 3.7	17.9 15.3	2.0 —	— 2.1	36.4 37.5	0.723 0.645	0.827 0.770	0.809 0.770	0.240 0.282	
金生山 Kinsōzan P1 dRo(d)	B	a b	13.2	tr. 3.0	24.3 25.3	2.6 —	— 5.2	40.1 46.7	0.549 0.522	0.708 0.712	0.706 0.712	0.640 0.666	
	A ₂	a b	16.1	tr. 1.9	22.1 17.8	2.6 —	— 7.6	40.8 43.4	0.461 0.461	1.119 1.019	1.112 1.019	0.462 0.454	
王 Ōtaki P1 Pw(O-I)	B ₁	a b	10.4	tr. 1.7	34.6 28.3	2.6 —	— 10.1	47.6 50.5	0.572 0.531	1.149 1.162	1.122 1.162	0.345 0.364	
	A ₁	a b	5.1	9.9 14.2	8.0 12.2	2.7 —	— 3.4	25.7 34.9	0.791 0.566	0.828 0.652	0.670 0.652	0.494 0.500	
沖縄 Okinawa P82													

注) * 前処理 a: N Na₂SO₄ 溶液 24 時間 30°C, b: 0.1N H₂SO₄ 24 時間 30°C.

** 腐植の各フラクションの Carbon は土壌全有機 Carbon に対する % で示した。

Remarks: * Pretreatment. a) with N Na₂SO₄ for 24 hrs at 30°C, b) with 0.1N H₂SO₄ for 24 hrs at 30°C.
*** The carbon of humus fraction is expressed as % of total soil organic carbon.

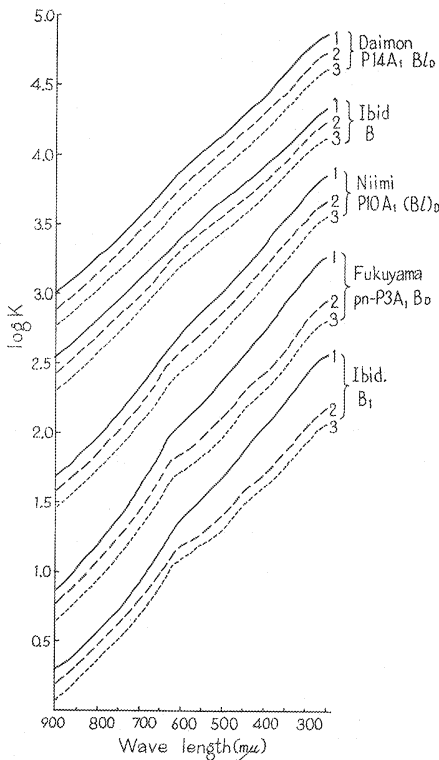


Fig. 4-(1)

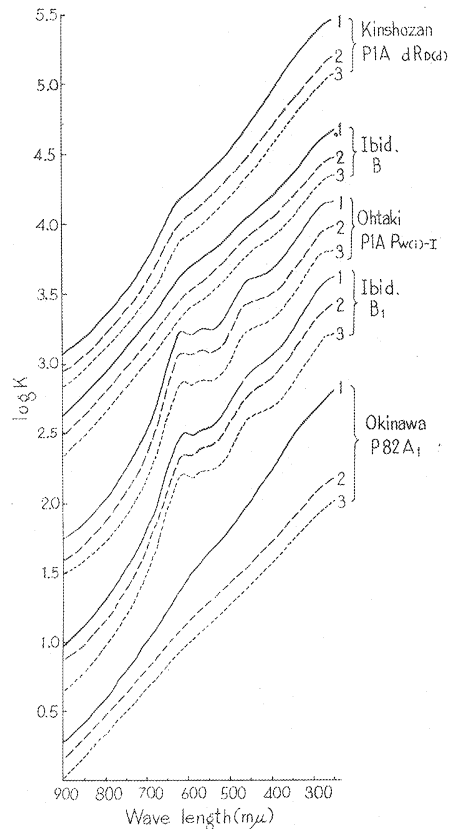


Fig. 4-(2)

Fig. 4-(1)~(2) N Na_2SO_4 溶液または 0.1N H_2SO_4 による脱 Ca 後 0.1N NaOH 溶液 1 夜 30°C 抽出における Na-humate 溶液の吸収スペクトル (1: 無前処理, 2: N Na_2SO_4 溶液前処理, 3: 0.1N H_2SO_4 前処理, Na-humate 溶液の濃度は適宜換算した)

The absorption spectra of Na-humate solution (humic acid) in 0.1N NaOH extract for overnight at 30°C of some soils after decalcification with N Na_2SO_4 solution or 0.1N H_2SO_4 pretreatment (1: without pretreatment) (undecalcified soil), 2: with N Na_2SO_4 pretreatment, 3: with 0.1N H_2SO_4 pretreatment. Concentrations of Na-humate solution are arbitrarily chosen).

9-3. 結果および論議

各種土壌 10 点の結果は Table 7 および Fig. 4 に示すとおりであった。

腐植酸およびフルボ酸の収量は、全結合腐植 (Fraction 2 + Fraction 3) のきわめて少なかった大門 P14A₁ の場合には相違が見られなかったが、その他の場合はいずれも、0.1N H_2SO_4 前処理の方が N Na_2SO_4 溶液前処理の場合より多かった。王滝 P1A₂ および B₁、金生山 P1B では N Na_2SO_4 溶液前処理の場合は (h-2) は認められなかったが、0.1N H_2SO_4 前処理の場合には明りょうに認められた。これらの土壌はいずれも置換性塩基に乏しく、強酸性で、Ca 型腐植の存在を予想し難い土壌であった。また、石灰岩に由来する沖縄 P82 の場合も、(h-2) は 0.1N H_2SO_4 前処理の方がいじりしく多かった。

筆者はこのような結果から、0.1N H_2SO_4 前処理の場合脱 Ca による Ca 型腐植の溶出とともに、脱 R_2O_3 による R_2O_3 型腐植 (Fraction 3) のかなりの部分の溶出が行なわれるのではないかと推定してい

る。徳留および菅野^{42)~44)}は腐植質アロフェン土について TYURIN 法と PONOMAREVA 法を比較した結果、Ca のきわめて少ない試料で、PONOMAREVA 法は TYURIN 法より Fraction 2 の抽出量が多いことから、PONOMAREVA 法による Fraction 2 の全部が、Ca と安定な腐植を形成しているとは考えられないことを指摘している。

腐植酸 (h-1 + h-2) の光学的性質については、吸収スペクトル、 $\Delta \log K_1$ 、 $\Delta \log K_2$ および Rf 等は、いずれの土壌も両抽出法は大きな相違を示さず近似していた。この点はいずれの土壌も、Ca 型 (h-2) および R_2O_8 型 (h-3) 腐植酸が近似した性質を有することによるものと推定された。

以上の結果にもとづいて、筆者は、Ca 型腐植 (Fraction 2) の定量のための脱 Ca を行なうには $N Na_2SO_4$ 溶液による前処理を採用することにした。

10. R_2O_8 型腐植 (Fraction 3) ないし全結合腐植 (Fraction 2 + Fraction 3) の定量について

10-1. 目 的

R_2O_8 型腐植 (Fraction 3) の定量法として、

1) TYURIN⁴¹⁾ は Ca 型腐植 (Fraction 2) の抽出残渣を 0.5N H_2SO_4 室温 24 時間前処理後、0.1N NaOH 溶液で抽出を行ない、その残渣をふたたび N H_2SO_4 を用いて、湯煎上で 1 時間加熱処理後 0.02N NaOH 溶液で抽出し、両者の合計を Fraction 3 とし、同時に 2 回の H_2SO_4 処理における可溶性 Carbon を H_2SO_4 hydrolyzable carbon として定量している。

2) PONOMAREVA²⁾⁸⁴⁾ は TYURIN 法を簡便化して Ca 型腐植の抽出残渣を N H_2SO_4 を用いて湯煎上で 2 時間処理後、0.1N NaOH 溶液で抽出を行なって Fraction 3 を定量し、同時に N H_2SO_4 可溶 Carbon を f-4 として定量している。

その他、3) 熊田²⁸⁾ は 0.1N NaOH 溶液で加熱抽出した残渣を、0.1M $Na_4P_2O_7$ 溶液を用いて加熱抽出し、結合腐植を定量している。

筆者は前述のように、Ca 型腐植の定量に脱 Ca 後 0.1N NaOH 溶液を用いて抽出後、0.4N Na_2SO_4 溶液による洗浄を採用した。この場合には 5 および 11 で示すように、なお多少の腐植が残留し、逐次抽出を行なった場合には次の 0.1N NaOH 溶液で抽出の際に共に抽出されるために、誤差を生ずることが予想されたので逐次抽出を断念せざるを得なかった。

筆者は前報¹¹⁾において、わが国の森林土壌は一般に結合腐植が少ないことを明らかにした。川口および久馬¹⁸⁾、小坂および井碓¹⁸⁾ はわが国の土壌は Ca 型腐植は少ないとしている。したがって、前述 (2-5) のように、特殊な場合を除けば Fraction 2 + Fraction 3 の含量の定量を行なえば十分であろうと考えられる。

以上の考え方によって、筆者は Fraction 2 + Fraction 3 の含量の定量に必要な前処理の条件を求めることとした。

10-2. 分析方法

前処理の条件として

- 1) TYURIN 法に準じて 0.5N H_2SO_4 24 時間 30°C
- 2) これと比較のために N H_2SO_4 24 時間 30°C

Table 8. 各種 H_2SO_4 前処理によって脱 Ca および脱 R_2O_3
 The humus form in 0.1N NaOH extract for overnight at 30°C after

試料名 Name of sample Type of soil	層位 Horizon	H_2SO_4 前処理 H_2SO_4 pretreat- ment*	腐植の組成				
			腐植酸 Humic acid			計 Total	f-1 _a
			h-1	h-2	h-3		
新見 Niimi P17 B/b	A ₁	a b c	26.3 " "	0.1 " "	0.5 0.6	26.9 27.0 26.3	4.4 4.9 16.3
	B	a b c	17.5 " "	tr. " "	12.1 12.4	29.6 29.9 28.8	15.9 17.5 22.1
福山 Fukuyama pn-P3 B/b	A ₁	a b c	17.3 " "	3.2 " "	1.4 1.5	21.9 22.0 21.2	3.3 4.0 16.2
	B ₁	a b c	6.2 " "	9.1 " "	4.2 5.0	19.5 20.3 19.2	6.1 8.2 19.1
金生山 Kinshōzan P1 dRb(d)	A	a b c	13.8 " "	2.7 " "	2.8 3.0	19.3 19.5 19.1	6.6 7.1 20.8
	B	a b c	13.2 " "	tr. " "	4.8 5.2	18.0 18.4 17.6	17.2 18.3 26.3
王滝 Ōtaki P1 Pw(I)-I	A ₂	a b c	16.1 " "	tr. " "	1.9 2.0	18.0 18.1 17.6	10.3 11.1 21.9
	B ₁	a b c	10.4 " "	tr. " "	5.7 5.9	16.1 16.3 15.7	33.0 33.2 41.3
沖縄 Okinawa P82	A ₁	a b c	5.1 " "	9.9 " "	4.5 4.7	19.5 19.7 18.8	4.4 4.8 16.6
大門 Daimon P14 B/b	A ₁	b	32.6	tr.		32.6	10.8
	B	b	22.9	2.1		25.0	17.2
新見 Niimi P10(B)/D	A ₁	b	16.2	1.4	1.8	19.4	5.3
伊吹山 Mt. Ibuki P1	A ₁	b	9.6	8.9	1.3	19.8	7.6

注) * H_2SO_4 前処理 a) 0.5N H_2SO_4 24時間 30°C.

b) N H_2SO_4 24時間 30°C.

c) N H_2SO_4 2時間湯煎上.

** 腐植の各 fraction の Carbon は土壤の全有機 Carbon に対する % で示した.

Remarks : * Pretreatment a) with 0.5N H_2SO_4 for 24 hrs at 30°C.

b) with N H_2SO_4 for 24 hrs at 30°C.

c) with N H_2SO_4 for 2 hrs on a boiling water bath.

** The carbon of humus fractions is expressed as % of total soil organic carbon.

後 0.1N NaOH 溶液 1 夜 30°C 抽出における腐植の形態

removal of Ca and R₂O₃ by various H₂SO₄ treatments of some soils

Humus composition**						Na-humate 溶液の光学的性質 Optical property of Na-hu- mate solution [h-(1+2+3)]			
フルボ酸 Fulvic acid				抽出腐植 Extracted humus	C _h /C _f	Δ log K ₁	Δ log K ₂	Rf ₆₀₀	
f-1	f-2	f-3	計 Total						
11.1 10.6	0.3 " 35	tr. " "	15.8 15.8 19.8	42.7 42.8 46.1	1.70 1.71 1.33	0.522 0.522 0.481	0.560 0.556 0.558	0.611 0.608 0.662	
6.7 5.1	tr. " 8.5	4.9 5.1 "	27.5 27.7 30.6	57.1 57.6 59.4	1.08 1.07 0.94	0.486 0.465 0.465	0.619 0.594 0.583	1.071 1.082 1.206	
11.4 10.4	3.8 " 8.2	0.9 1.6 "	19.4 19.8 24.4	41.3 41.8 45.4	1.15 1.11 0.86	0.585 0.579 0.545	0.788 0.785 0.651	0.400 0.409 0.451	
10.6 8.5	4.3 " 15.0	2.3 3.9 "	23.3 24.9 34.1	42.8 45.2 53.3	0.84 0.82 0.56	0.514 0.515 0.503	0.688 0.661 0.619	0.548 0.553 0.637	
10.5 10.0	2.8 " 10.1	1.4 1.6 "	21.3 21.5 30.9	40.6 41.0 51.7	0.91 0.91 0.62	0.640 0.638 0.560	0.782 0.789 0.690	0.298 0.303 0.344	
9.4 8.4	0.2 " 9.3	6.5 6.6 "	33.1 33.5 35.6	51.1 51.9 52.2	0.54 0.55 0.49	0.512 0.508 0.512	0.700 0.702 0.666	0.701 0.695 0.780	
14.2 13.4	0.2 " 9.2	1.9 2.2 "	26.6 26.9 31.1	44.6 45.0 48.7	0.68 0.67 0.57	0.467 0.454 0.454	1.046 1.062 0.925	0.457 0.458 0.480	
4.2 4.0	tr. tr. 9.3	9.8 9.6 "	47.0 46.8 50.6	63.1 63.1 66.3	0.34 0.35 0.31	0.500 0.505 0.481	1.110 1.084 0.989	0.367 0.356 0.394	
5.2 4.8	1.1 " 7.6	5.7 5.9 "	16.4 16.6 24.2	35.9 36.3 43.0	1.19 1.19 0.83	0.565 0.567 0.554	0.657 0.655 0.644	0.502 0.499 0.520	
8.3	0.2		19.3	51.9	1.69	0.538	0.577	0.634	
7.9	1.4		26.4	51.4	0.95	0.506	0.600	0.787	
10.1	0.2	1.4	17.0	36.4	1.14	0.606	0.670	0.428	
10.4	3.9	6.3	28.2	48.0	0.70	0.617	0.722	0.261	

3) PONOMAREVA 法に準じて $N H_2SO_4$ 2時間湯煎上加熱について比較を行なった。

1) および 2) は 2-4 と同様に行ない、3) は $N H_2SO_4$ 100 ml を加え、冷却管をつけて 2 時間湯煎上で加熱し、放冷後の操作を 1) および 2) と同様に行なった。

10-3. 結果および論議

各種土壌 9 点についての結果は Table 8 および Fig. 5 に示すとおりであった。

$N H_2SO_4$ および $0.5N H_2SO_4$ $30^\circ C$ 24 時間前処理の場合を比較すると、いずれの場合も R_2O_3 型の腐植酸 (h-3), フルボ酸 (f-3) および酸可溶腐植 (f-1 a: H_2SO_4 可溶 Carbon) の収量は $N H_2SO_4$ 前処理の方が高かったが、両者の差はわずかであった。

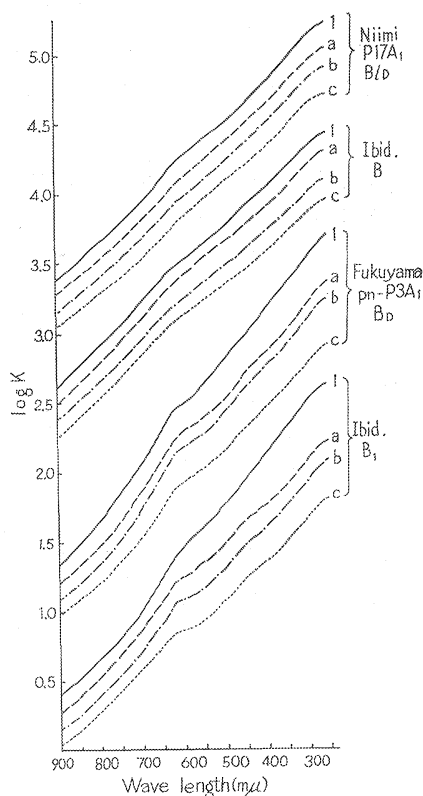


Fig. 5-(1)

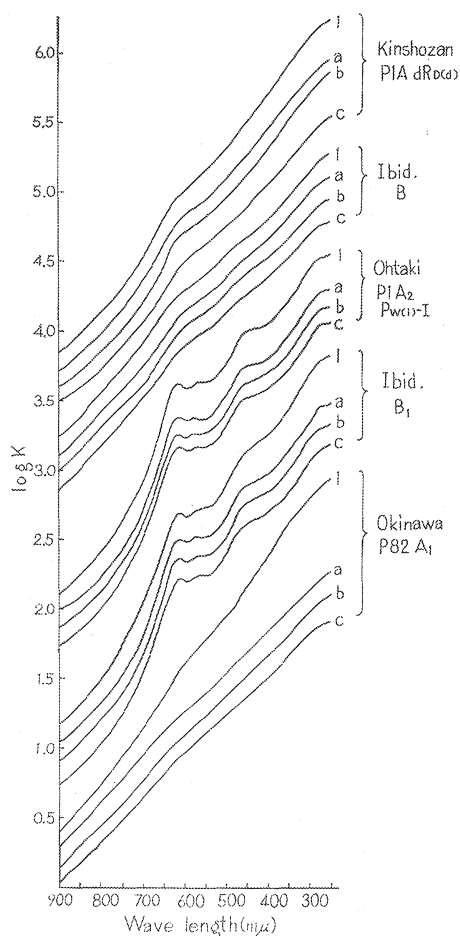


Fig. 5-(2)

Fig. 5-(1)~(2) 無前処理および各種 H_2SO_4 前処理後 $0.1N NaOH$ 溶液 1 夜 $30^\circ C$ 抽出における Na-humate 溶液の吸収スペクトル (1: 無前処理, a: $0.5N H_2SO_4$ 24 時間 $30^\circ C$ 前処理, b: $N H_2SO_4$ 24 時間 $30^\circ C$ 前処理, c: $N H_2SO_4$ 2 時間湯煎上前処理, Na-humate 溶液の濃度は適宜換算した)。

The absorption spectra of Na-humate solution (humic acid) in $0.1N NaOH$ extract for overnight at $30^\circ C$ without or with various H_2SO_4 pretreatments of some soils (1: without pretreatment, a: $0.5N H_2SO_4$ for 24 hrs at $30^\circ C$, b: $N H_2SO_4$ for 24 hrs at $30^\circ C$, c: $N H_2SO_4$ for 2 hrs on a water bath. Concentrations of Na-humate solution are arbitrarily chosen).

N H_2SO_4 2時間加熱前処理の結果を N H_2SO_4 24時間 30°C 前処理の結果と比べると、いずれの土壌も酸可溶腐植 (f-1a) は増大し、腐植酸含量 (h-1 + h-2 + h-3) はほぼ近似的な値を示したが、フルボ酸含量 (f-1 + f-2 + f-3) は減少を示し、さらに酸可溶腐植を含めた全フルボ酸量は増大を示した。

N H_2SO_4 加熱前処理の場合の酸可溶腐植 (f-1a) の増大と、フルボ酸含量 (f-1 + f-2 + f-3) の減少は次のような理由によるものと考えられる。TYURIN⁴¹⁾ は、土壌中で腐植酸とフルボ酸は結合して複合体をなして存在するが、アルカリ溶液中では両者がはなれて溶解することを想定している。同様の仮説にもとづいて、N H_2SO_4 加熱前処理の場合にはこれらの複合体の一部がはなれて (30°C の場合にははなれない)、フルボ酸の一部が N H_2SO_4 可溶部 (酸可溶腐植, f-1a) に移行する (腐植酸は沈殿, 不溶) のものと考えれば、上述の現象は容易に説明されよう。さらに、次の 11 および 12 で述べるように、N H_2SO_4 加熱処理によって腐植酸の一部の加水分解物および N H_2SO_4 hydrolyzable carbon が、N H_2SO_4 可溶 carbon として加えられることは、酸可溶腐植 (f-1a) の増大を助長するとともに、酸可溶腐植を含めた全フルボ酸の増大をもたらしているものと考えられる。

N H_2SO_4 加熱前処理によって得られる腐植酸は、次の 12 で示すようにこの処理によって生ずる腐植酸の一部の分解による減少 (H_2SO_4 濃度は土壌中の鉱質物のために多少低下するので、分解の度合は多少低いと思われる)、11 で示すようにこの処理によって新たに 0.1N NaOH 溶液に可溶性となる腐植酸による増大、およびおそらくフルボ酸の減少にともなう腐植酸の 0.1N NaOH 溶液に対する溶解度の増大等、各種の因子の影響下に得られたものであろう。したがって、各土壌はいずれも N H_2SO_4 24時間 30°C 前処理の場合と比べると、腐植酸の収量は多少の減少を示したに過ぎなかったが、質的にはかなり異質なものと考えらるべきであろう。この点は次に述べる腐植酸溶液の光学的性質の相違にも明りょうに反映していた。

腐植酸溶液の光学的性質について、この3つの処理を比較すると次のような結果が得られた。 $\Delta \log K_1$, $\Delta \log K_2$ および Rf は、いずれの土壌も 0.5N H_2SO_4 および N H_2SO_4 30°C 処理の場合は近似的な値を示し、相違が見られなかった。N H_2SO_4 加熱処理の場合は他の2つの処理と比べると、多くの場合 $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ のいずれか、または両方が減少を示し、Rf はポドゾルおよび黒色土壌は明りょうな相違を示さなかったが、その他の土壌では増大を示した。このような N H_2SO_4 30°C および加熱前処理にともなう腐植酸溶液の光学的性質の相違は、N H_2SO_4 加熱処理にともなう腐植酸の変性 (12参照)、およびこの処理によって新たに 0.1N NaOH 溶液に可溶となる腐植酸の存在 (11参照) の影響によるものである。

筆者は以上の結果から、Fraction 3 の定量のための前処理には N H_2SO_4 24時間 30°C 前処理を用いることにした。この点は、1) 0.5N H_2SO_4 24時間 30°C 前処理より腐植酸およびフルボ酸の収量が多いこと、2) 次の 12 で示すように、この条件では腐植酸の分解が認められないこと等の理由によるものである。

11. Fraction 3 の定量についての補足

(H_2SO_4 と NaOH 溶液の交互のくりかえし抽出について)

11-1. 目 的

Fraction 3 の定量について、TYURIN⁴¹⁾ は 10 で述べたように H_2SO_4 と NaOH の交互のくりかえし抽出の必要性を指摘し、この処理を行なわないと Fraction 3 の抽出は不完全であるとしている。

Table 9. N H₂SO₄ 24 時間 30°C 前処理後 (脱 Ca および R₂O₃) 0.1N NaOH 溶液で 1 夜 30°C 抽出を行なった残渣をふたたび N H₂SO₄ 湯煎上 1 時間加熱処理後, またはこの処理を行わずに 0.1N NaOH 溶液を用いて, 1 夜 30°C くりかえし抽出を行なった場合の腐植の形態

The humus form in repeated 0.1N NaOH extract for overnight at 30°C with or without N H₂SO₄ treatment for 1 hr on a water bath of some soils those primarily extracted with 0.1N NaOH solution for overnight at 30°C after removed Ca and R₂O₃ with N H₂SO₄ pretreatment for 24 hrs at 30°C

試土 Name of sample	料 名 Type of soil	層 位 Horizon	抽出方法 Method of extraction*	腐 植 の 組 成 Humus composition**				Na-humate 溶液の光学的性質 Optical property of Na-humate solution		
				腐植酸 Humic acid	フルボ酸 Fulvic acid	NH ₂ SO ₄ hydrolyzable C	計 Total	$\Delta \log K_1$	$\Delta \log K_2$	Rf ₆₀₀
新 見	Niimi P17 B/b	A ₁	a	3.7	1.2	4.5	9.4	0.485	0.455	0.492
			b	4.2	1.7	—	5.9	0.630	0.549	0.408
		B	a	3.2	1.3	2.0	6.5	0.430	0.554	0.770
			b	3.5	2.1	—	5.6	0.459	0.570	0.606
福 山	Fukuyama pn-P3 Bb	A ₁	a	4.1	5.3	4.6	14.0	0.561	0.628	0.312
			b	4.5	5.6	—	10.1	0.700	0.652	0.272
		B ₁	a	2.4	7.3	1.9	11.6	0.463	0.586	0.408
			b	2.7	7.9	—	10.2	0.504	0.655	0.323
金 生 山	Kinshōzan P1 dRb(d)	A	a	4.3	3.3	7.7	15.3	0.573	0.557	0.307
			b	4.5	4.6	—	9.1	0.637	0.506	0.229
		B	a	3.6	1.8	3.2	8.6	0.453	0.648	0.669
			b	3.7	1.9	—	5.6	0.497	0.641	0.452
王 滝	Ōtaki P1 Pw(i)-I	A ₂	a	2.4	5.2	4.1	11.7	0.396	0.547	0.306
			b	2.6	6.4	—	9.0	0.438	0.461	0.238
		B ₁	a	2.0	1.1	2.3	5.4	0.389	0.628	0.217
			b	2.2	1.4	—	3.6	0.427	0.445	0.191

注) * 抽出方法 a) N H₂SO₄ 1 時間湯煎上加熱後 0.1N NaOH 再抽出。

b) N H₂SO₄ 加熱処理を行わずに 0.1N NaOH 再抽出。

** 腐植各フラクションの Carbon は土壌全有機 Carbon に対する % で示した。

Remarks: * Method of repeated extraction:

a) Repeated 0.1N NaOH extraction with N H₂SO₄ treatment for 1 hr on a boiling water bath.

b) Repeated 0.1N NaOH extraction without N H₂SO₄ treatment.

** The carbon of humus fractions is expressed as % of total soil organic carbon.

筆者は 10 で述べたように Fraction 3 の定量のための前処理として N H₂SO₄ 24 時間 30°C 処理を採用したが, TYURIN の指摘する第 2 回目の H₂SO₄ と NaOH 溶液の抽出を省略した場合に, どの程度の影響を受けるかを明らかにするために, 次のような検討を行なった。

11-2. 分析 方法

2-4 と同様の方法で N H₂SO₄ 24 時間 30°C 前処理後 0.1N NaOH 溶液抽出を行ない, 0.4N Na₂SO₄ 溶液を用いて洗浄を行なった 2 組の試料を用いて, 一方は冷却管をつけて N H₂SO₄ 1 時間湯煎上で加熱処理後, ふたたび 0.1N NaOH 溶液で抽出を行ない, 他は直接 0.1N NaOH 溶液でふたたび抽出を行なって両者の比較を行なった。

分析方法は 2-4 と同様の操作を用いたが, 第 2 回目の 0.1N NaOH 溶液で抽出後の残渣の洗浄は 0.1N NaOH-0.4N Na₂SO₄ 混合液を用いた。いずれの土壌も抽出および洗浄液の含量が 250 ml に達するまでに完全に無色になったので, 腐植の抽出は完全に行なわれたものと考えられる。

11-3. 結果および論議

前述の 10 と同じ試料中沖繩 P82 を除いた 8 点についての分析結果は, Table 9 および Fig. 6 に示すとおりであった。

N H_2SO_4 加熱処理を行わずに第2回目の 0.1N NaOH 溶液の抽出によって得られた腐植を, 最初の N H_2SO_4 24時間 30°C 前処理後溶液 0.1N NaOH の抽出によって得られた腐植と比べると, 次のような結果が得られた。

- 1) 腐植酸の収量は約 10~20 %であった。
- 2) 腐植酸溶液の光学的性質は次のようになり異なっていた。

2)-1. 湿性ポドゾルの A_2 および B_1 では $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ は低下—とくに前者の低下がいちじるしい—し, Pg 型腐植酸の特徴を示す吸収帯は認められたが, 吸収スペクトルは全体としてはかなり異なっていた。

2)-2. その他の土壌は下層土では $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ はいずれも低下を示したが, 表層土では一定の傾向が見られなかった。ポドゾルを除く他の土壌の表層土では, 第2回目の 0.1N NaOH 溶液による抽出の場合に, $\Delta \log K_1$ は $\Delta \log K_2$ より大きかったが, この点は今までに見られなかった現象であった。

2)-3. Rf はいずれの場合も明りように低下を示していた。

以上の諸点はすでに 5-3 で述べたように, 腐植は hetero な重合度の高分子化合物の集合体で, 各 fraction のアルカリに対する溶解度, および腐植酸の光学的性質の相違によるものであらうと考えられる。

次に第2回目の 0.1N NaOH 溶液の抽出によって得られる腐植について, N H_2SO_4 加熱処理を行なった場合を無処理の場合と比較すると, 次のような結果が得られた。

1) 腐植酸およびフルボ酸の収量はいずれの場合も少なかったが, N H_2SO_4 hydrolyzable carbon を加えると全抽出量では大きかった。

2) 腐植酸溶液の光学的性質はいずれの場合も $\Delta \log K_1$ は減少を示したが, $\Delta \log K_2$ は一定の傾向を示さなかった。また, Rf はいずれの場合も増大を示した。

以上の結果は, 加熱 H_2SO_4 処理による腐植酸の収量の減少および光学的性質の変化は, 腐植酸の一部が分解によって失われることを示すものと思われたが, この点は次の 12 において実証した。しかし, 各

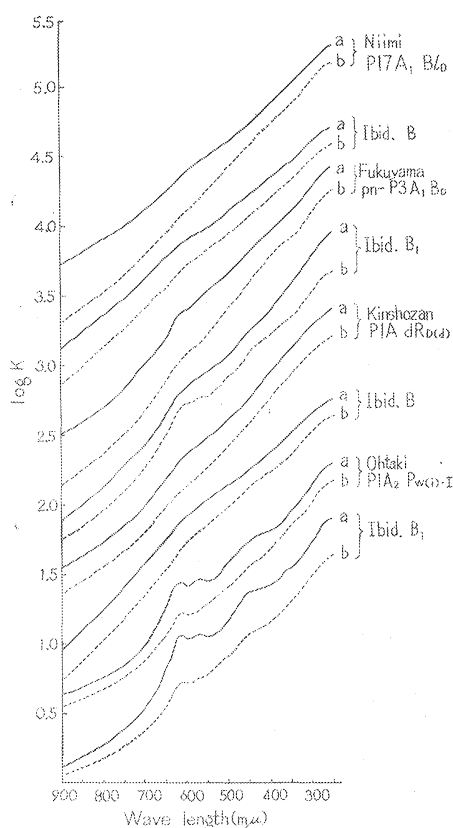


Fig. 6 N H_2SO_4 処理後 0.1N NaOH 抽出残渣をふたたび N H_2SO_4 湯煎上 1 時間加熱処理後, またはこの処理を行わずに 0.1N NaOH 溶液 30°C 1 夜くりかえし抽出を行なった場合の Na-humate 溶液の吸収スペクトル (a: N H_2SO_4 加熱処理後, b: N H_2SO_4 加熱処理を行なわない場合, Na-humate の濃度は適宜換算した)

The absorption spectra of Na-humate solution (humic acid) in repeated 0.1 N NaOH extract for overnight at 30 °C with or without N H_2SO_4 secondary treatment for 1 hr on a water bath after 0.1N NaOH extraction with N H_2SO_4 pretreatment of some soils (a: with secondary hot H_2SO_4 treatment, b: without secondary hot N H_2SO_4 treatment. Concentrations of Na-humate solution are arbitrarily chosen).

土壌の加熱 H_2SO_4 処理にともなう腐植酸の減少の割合が、12 に示した腐植抽出液の場合より少ないことは、1) TYURIN の指摘した $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 加熱処理によって、新たに 0.1N NaOH 溶液に可溶となる腐植酸の存在によるためか、2) 0.1N NaOH 溶液のくりかえし抽出によって得られる腐植酸の加熱 H_2SO_4 処理に対する抵抗力が大きいいためか、いずれかの理由によるものであろう。

しかし、いずれの理由によるものにしても、加熱 H_2SO_4 処理によって新たに 0.1N NaOH 溶液に可溶となる fraction は、わずかな量に過ぎないものと推定された。

$\text{N H}_2\text{SO}_4$ hydrolyzable carbon はいずれの場合も、同じ断面では表層土の方が下層土より多かった。 $\text{N H}_2\text{SO}_4$ hydrolyzable carbon についての知見は、先に述べた ethanol-benzol 可溶 carbon についての知見とともに、土壌中の腐植の組成の全体の状況をさらに詳細に把握し得る利点を有する。

しかし、筆者は加熱 H_2SO_4 処理によって新たに得られる腐植の量がわずかで、しかも腐植酸の分解および変性をともなう等の欠点が認められるので、Fraction 3 の定量の場合に $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 加熱処理と 0.1N NaOH 溶液の抽出のくりかえしの操作は省略することにした。

12. 腐植酸に対する H_2SO_4 処理の濃度および温度の影響

12-1. 目 的

11 で述べたように $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 加熱処理によって、腐植酸の一部の分解および光学的性質の変化が推定された。したがって、基本的な問題として腐植酸に対する H_2SO_4 の濃度、および温度の影響を明らかにするために、以下の検討を行なった。

12-2. 分 析 方 法

2-2 と同様の方法を用いて 0.1N NaOH 溶液で抽出を行ない、得られた腐植抽出液 (f-1a および Fraction 1) をそれぞれ 100 ml/ ずつ 200 ml の三角フラスコに分取し、以下の濃度になるように濃度既知の H_2SO_4 を添加し、次のような処理を行なった。

- 1) 0.26N H_2SO_4 酸性、室温、1 時間放置 (2-2 の腐植酸の分離法と同じ)。
- 2) 0.5N H_2SO_4 酸性、30°C、1 夜放置。
- 3) N H_2SO_4 酸性、30°C、1 夜放置。
- 4) N H_2SO_4 酸性、湯煎上で 2 時間加熱後、30°C、1 夜放置。

Fraction 2 + Fraction 3 が優占していた福山 pn-P3 B および沖繩 P82 A₁ の場合は、2-4 と同様に $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 前処理後の 0.1N NaOH 抽出液について同様の処理を行なった。

H_2SO_4 処理以後の操作はすべて 2-2 と同様であった。

12-3. 結果および論議

各種土壌の表層土および下層土 14 点についての結果は、Table 10 に示すとおりであった。

最初に新見 P17 A₁、福山 pn-P3 A₁、同 P7 A および王滝 P₁B₁ について行なった結果、これらの土壌は腐植の組成および腐植酸の光学的性質はいちじるしい相違を示していたにもかかわらず、いずれの場合も 0.26N、0.5N および N H_2SO_4 酸性 30°C の場合は、腐植酸の収量および光学的性質は相違が見られなかった。しかし、王滝 P₁B₁ では 0.5N および N H_2SO_4 酸性の場合は、0.26N H_2SO_4 酸性の場合と比べると、腐植酸の収量がわずかに増大し、 $4 \log K_1$ および $4 \log K_2$ もわずかな相違を示した。この場合は腐植酸ゲルの凝固沈殿の速度が、酸濃度および時間によってわずかに影響を受けるといえるが、全般

Table 10. 各種 H_2SO_4 処理が土壌の 0.1N NaOH 抽出液の腐植酸の収量
および光学的性質におよぼす影響The effect of various H_2SO_4 treatments on the yield and optical
property of humic acid in 0.1N NaOH extract of various soils

試料名 土壌名 Type of soil	層位 Horizon	H_2SO_4 処理 H_2SO_4 treatment			腐植酸 Humic acid			
		濃度 Concentration	温度 Temperature	時間 Time	収量 Yield* (%)	Na-humate 溶液の光学的性質 Optical property of Na-humate solution		
						$\Delta \log K_1$	$\Delta \log K_2$	Rf_{600}
新見 Niimi P17 B ₀	A ₁	0.26N	laboratory temp.	1hr	100	0.528	0.585	0.582
		0.5 N	30°C	24hrs	100.5	0.532	0.583	0.580
		N	30°C	24hrs	100.3	0.530	0.583	0.583
		N	on a water bath	2hrs	89.0	0.518	0.579	0.645
		N	in a water bath	2hrs	85.1	0.506	0.577	0.712
	B	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.494	0.628	0.957
		N	on a water bath	2hrs	85.7	0.481	0.591	1.110
		N	in a water bath	2hrs	82.9	0.478	0.585	1.152
新見 Niimi P10 (B ₁) ₀	A ₁	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.654	0.705	0.410
		N	on a water bath	2hrs	83.9	0.611	0.665	0.463
		N	in a water bath	2hrs	81.6	0.611	0.658	0.483
	B ₁	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.500	0.691	0.606
		N	on a water bath	2hrs	78.8	0.488	0.662	0.742
		N	in a water bath	2hrs	76.5	0.483	0.649	0.764
福山 Fukuyama pn-P3 B ₀	A ₁	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.669	0.862	0.275
		0.5 N	30°C	24hrs	99.6	0.665	0.858	0.274
		N	30°C	24hrs	100.2	0.665	0.854	0.278
		N	on a water bath	2hrs	83.4	0.628	0.838	0.342
		N	in a water bath	2hrs	79.3	0.629	0.831	0.363
	B ₁ **	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.515	0.661	0.553
		N	on a water bath	2hrs	74.6	0.498	0.626	0.694
		N	in a water bath	2hrs	71.5	0.464	0.621	0.735
福山 Fukuyama P7 B ₀	A	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.699	0.842	0.189
		0.5 N	30°C	24hrs	100.8	0.697	0.848	0.186
		N	30°C	24hrs	101.0	0.696	0.846	0.188
		N	on a water bath	2hrs	80.5	0.644	0.836	0.252
		N	in a water bath	2hrs	—	—	—	—
西条 Saijō P6B ₀ (d)	A	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.678	0.891	0.176
		N	"	24hrs	101	0.676	0.908	0.174
		N	in a water bath	2hrs	—	—	—	—
熊野 Kumano P1 B ₀	A ₁	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.571	0.906	0.334
		N	on a water bath	2hrs	85.3	0.540	0.857	0.424
		N	in a water bath	2hrs	79.8	0.541	0.851	0.454
	B	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.490	0.811	0.553
		N	on a water bath	2hrs	73.4	0.454	0.781	0.694
		N	in a water bath	2hrs	70.5	0.457	0.746	0.735
金生山 Kinshōzan P1 dR ₀ (d)	A	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.723	0.827	0.240
		N	on a water bath	2hrs	84.0	0.678	0.796	0.276
		N	in a water bath	2hrs	75.4	0.621	0.750	0.327
	B	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.549	0.708	0.653
		N	on a water bath	2hrs	81.7	0.510	0.657	0.785
		N	in a water bath	2hrs	74.1	0.507	0.646	0.798

試料名 土壌型 Name of sample Type of soil	層位 Horizon	H ₂ SO ₄ 処理 H ₂ SO ₄ treatment			腐植酸 Humic acid			
		濃度 Concentration	温度 Temperature	時間 Time	収量 Yield* (%)	Na-humate 溶液の光学的性質 Optical property of Na-humate solution		
						$\Delta \log K_1$	$\Delta \log K_2$	Rf ₆₀₀
王滝 Otaki P ₁ Pw(I)-I	A ₂	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.461	1.119	0.454
		N	on a water bath	2hrs	77.6	4.443	1.060	0.549
		N	in a water bath	2hrs	75.4	0.431	0.954	0.564
	B ₁	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.592	1.149	0.342
		0.5 N	30°C	24hrs	102.8	0.602	1.139	0.338
		N	30°C	24hrs	102.6	0.605	1.128	0.339
		N	on a water bath	2hrs	78.1	0.572	1.085	0.441
		N	in a water bath	2hrs	76.8	0.540	0.985	0.462
沖縄 Okinawa P82	A ₁ **	0.26N	lab. temp.	1hr	100	0.560	0.659	0.491
		N	on a water bath	2hrs	84.0	0.543	0.629	0.591
		N	in a water bath	2hrs	81.6	0.539	0.613	0.625

注) * 腐植酸収量は 0.26N H₂SO₄ 室温 1 時間の収量に対する %。

** N H₂SO₄ 前処理土。

Remarks: * The humic acid yield with various H₂SO₄ treatments is expressed as % of that with 0.26N H₂SO₄ treatment for 1 hr at laboratory temperature.

** N H₂SO₄ pretreated soil.

的に 2-2-2 で示した 0.26N H₂SO₄ 酸性 1 時間以上室温放置の条件で、十分なことを示しているといえよう。

N H₂SO₄ 酸性 2 時間加熱処理の場合は N H₂SO₄ 24 時間、30°C の場合に比べると、腐植酸の 0.1N NaOH 溶解度および収量の低下、光学的性質の変化が見られたが、その程度は各土壌ごとにかんがりの相違を示していた。この点をさらに確認するために他の試料を用いて追試した結果、N H₂SO₄ 酸性 2 時間加熱処理が腐植酸に及ぼす影響として、次の諸点が確認された。

1) 黒色土壌に属する新見 P17 A₁ および B の場合は、腐植酸は室温で容易に 0.1N NaOH 溶液に溶解した。その他の土壌の場合はそれぞれ程度の相違は見られたが、いずれも溶解度は低下し、以後の Carbon の定量および吸光度の測定のために、100 ml/ 以内に溶解するには、0.1N NaOH 加熱溶液を用いなければならなかった。

2) N H₂SO₄ 酸性加熱処理にともなう腐植酸の収量の減少は表層土では 11~22%，下層土では 14~27% に達し、同じ断面ではいずれの場合も下層土の方が大きかった。

3) N H₂SO₄ 酸性加熱処理にともなう腐植酸の光学的性質の変化は、いずれの場合も $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ の減少と、Rf の増大が明りように認められたが、吸収スペクトルの型はとくに変化は認められなかった。

これらの諸点は 7 で述べたように、腐植酸の光学的性質が、腐植酸を構成している芳香族の網目状の重合部によるものと考えれば、N H₂SO₄ 加熱処理の影響はこれらの重合部より、むしろこれに付属する側鎖の部分に対して大きく作用し、この部分の分解を示唆するものといえよう。

以上のように、腐植酸に対する H₂SO₄ 処理の影響は、加熱によって急激にあらわれる。この点について、西条 P6 A (B₀(d)~B_A 型土壌) を追加して、N H₂SO₄ 酸性湯煎中 2 時間加熱処理を試みた。この

場合には黒色土壌を除く他の土壌は、いずれも腐植酸の 0.1N NaOH 溶液に対する溶解度はさらに低下し、福山 P7 A₁ および西条 P6 A の場合は 0.1N NaOH 加熱溶液を用いても、完全な溶解は不可能であった。また、その他の土壌では腐植酸の収量の低下、 $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ の減少、および Rf の増大が促進された。

以上の諸点は、特異な吸収スペクトルを示す湿性ポドゾル以外の他の土壌を、表層土および下層土についてそれぞれ比較すると、全般的に腐植酸溶液の Rf が小さく、 $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ が大きいほど、N H₂SO₄ 酸性加熱処理による腐植酸の 0.1N NaOH 溶液に対する溶解度と収量の低下が増大する傾向を示しているように思われた。同じ断面では下層土は表層土より Rf は大きく、 $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ は小さいにもかかわらず、N H₂SO₄ 酸性加熱処理にともなう腐植酸の収量の低下が大きかった。この点は腐植酸の芳香族化合物の重合度が進むほど、 $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ の低下および Rf の増大が進むものと考えれば、下層土は表層土に比べると、腐植酸の芳香族化合物の重合部の量的な比率は少なく、側鎖の量的な比率が大きい、重合度が進んでいるのではないかと推定された。

13. 酸可溶腐植 (f-1a) の定量について

13-1. 目 的

TYURIN⁽⁴¹⁾ は腐植は土壌中で腐植酸とフルボ酸が結合して複合体を形成し、遊離状態または Ca ないし R₂O₃ と結合して存在し、これらはいずれも酸に不溶性であるがこれらの物質とは別にフルボ酸と同様の性質を有する腐植酸とは結合せず、酸によって溶出する fraction が存在することを認め、これを酸可溶腐植 (フルボ酸の fraction 1a : f-1a) と命名している。

SPRINGER⁽⁸⁶⁾⁽⁸⁷⁾ も同様に土壌腐植中の酸で、抽出される fraction を酸可溶腐植として区分している。

酸可溶腐植の定量にはいくつかの方法が提案されている。すなわち、

- 1) SPRINGER 法⁽⁸⁶⁾⁽⁸⁷⁾ : 5% H₂SO₄ (約 1 N) を用いて 70~80°C で 30 分加熱抽出。
 - 2) TYURIN 法⁽⁴¹⁾ : 0.5N H₂SO₄ を用いて室温で 24 時間抽出。
 - 3) PONOMAREVA 法⁽⁹⁾⁽⁸⁵⁾ : 0.1N H₂SO₄ を用いて室温で 24 時間抽出 (土壌の脱 Ca と同時に行なう)。
- 筆者はさらに、4) N H₂SO₄ を用いて 30°C 24 時間抽出 (土壌の脱 Ca および R₂O₃ と同時に行なう) を加えて、これらの 4 種類の方法について比較検討を行なうことにした。

13-2. 分析方法

いずれの場合も、Carbon 約 200 mg を含む土壌を 200 ml 三角フラスコに秤取し、それぞれの濃度の H₂SO₄ 100 ml を加え、SPRINGER 法以外は前述の 2-4 と同様に処理して酸可溶腐植を定量した。

SPRINGER 法の場合は H₂SO₄ 濃度を 1N とし、冷却管をつけて 75°±5°C の湯煎中で 30 分加熱し、放冷後密栓して 30°C に 24 時間保ち、以後の操作は 2-4 と同様に行なった。

13-3. 結果および論議

各種土壌の表層土および下層土 12 点についての結果は、Table 11 に示すとおりであった。

いずれの場合も酸可溶腐植 (f-1a) の収量は、0.1N H₂SO₄ < 0.5N H₂SO₄ < N H₂SO₄ (30°C) < N H₂SO₄ (75±5°C) の順に増大した。

N H₂SO₄ (30°C) および 0.5N H₂SO₄ (30°C) 抽出における酸可溶腐植の収量の相違は、いずれの土壌においても比較的小さかった。0.1N H₂SO₄ (30°C) と 0.5N H₂SO₄ (30°C) 抽出の相違、および N

Table 11. 各種 H_2SO_4 抽出による酸可溶腐植の収量
Yield of acid soluble humus (f-1a) with various H_2SO_4 extracts

試料名・土壌型 Name of sample Type of soil	層位 Horizon	酸可溶腐植の収量 Yield of acid soluble humus*			
		0.1N H_2SO_4 for 24 hrs at 30°C	0.5N H_2SO_4 for 24hrs at 30°C	N H_2SO_4 for 24 hrs at 30°C	N H_2SO_4 for 1 hr at 75±5°C
新 見 Niimi P17 B/b	A ₁	3.3	4.4	4.9	6.0
	B	9.6	15.9	17.7	22.3
新 見 Niimi P10 (B/d)	A ₁	3.0	4.9	5.3	7.9
	B ₁	7.8	12.7	13.7	18.2
福 山 Fukuyama pn-P3 B _D	A ₁	1.8	3.3	4.0	5.6
	B ₁	2.1	6.1	8.2	10.4
福 山 Fukuyama P7 B _D	A	4.3	5.2	6.6	6.9
西 条 Saijō P6 B _D (d)	A	6.3	8.6	9.4	9.9
金 生 山 Kinshōzan P1 dR _D (d)	A	4.3	6.4	7.1	8.7
	B	13.0	17.2	18.3	21.7
王 滝 Ôtaki P1 Pw(i)-I	A ₂	7.6	9.3	11.1	13.2
	B ₁	10.1	33.0	33.2	38.3

注) * 酸可溶腐植の Carbon は土壌全有機 Carbon に対する % で示した。

Remarks: * The carbon of acid soluble humus is expressed as % of total soil organic carbon.

H_2SO_4 (30°C) および N H_2SO_4 (75±5°C) 抽出の相違は、多くの場合上述の場合に比べるとかなり増大を示したが、その程度はそれぞれ土壌ごとに異なっていた。

酸可溶腐植の収量は同じ断面では、表層土より下層土の方が大きかったが、各土壌ごとに比べると湿性ポドゾル B₁ がいちじるしく多く、赤色土壌 R₁、暗赤色土 B、黒色土壌および退色型黒色土壌の B もかなり高い値を示した。

以上の結果から、筆者は酸可溶腐植の定量法として、N H_2SO_4 24時間 30°C 抽出を採用した。これらの操作は 2-4 で述べた土壌の脱 Ca および脱 R₂O₃ のための前処理として同時に行なうことにした。

14. 腐植の形態および分析方法についての筆者の見解

14-1. 腐植の形態について

わが国における腐植の研究は、第 2 次大戦後しだいに盛んになったが、これらの研究は SIMON²⁶⁾, SPRINGER²⁶⁾²⁷⁾, HOCK²⁷⁾ らのドイツ学派の流れをくみ、その影響を強く受けているといえよう。

かれらは腐植酸の色調を重視して、腐植化が進むにつれて Lignin→腐植物質→褐色腐植酸→灰色腐植酸→Humin の順に、黄色ないし赤褐色から、褐色ないし黒褐色へとしだいに黒色の色調が増加するという基本的な考え方立って、それぞれ分析および表示方法は異なるが、主な Great soil groups の腐植を色調の面から質的に把握することに重点をおいた。

一方、TYURIN⁴¹⁾ を中心とするソ連学派の研究がわが国に紹介され始めたのは、1950 年代の後半であった。TYURIN⁴¹⁾ は腐植の組成を bitumen (ethanol-benzol 可溶物)、f-1a (酸可溶腐植)、Fraction 1

(遊離腐植), Fraction 2 (Ca 型腐植), Fraction 3 (R_2O_3 型腐植) および Humin に区分し, 腐植の全体の組成を量的に把握することに重点をおいた。かれはソ連における Great soil groups の地理的な分布と腐植の組成との間に, 一定の法則性があることを明らかにし, 土壌の腐植の研究に対して新しい方向を示した。

筆者は土壌の生成に関与する環境諸因子の影響は, 土壌の腐植の生成過程にも反映し, その結果, 腐植の組成に示される量的な面と, 主として腐植酸の光学的性質に示される質的な面の相違として示されるであろうとする基本的な考え方は, 以前の報告¹¹⁾と全く同じである。

筆者の前報の結果では, 現在の環境諸因子の影響下に, 生成過程が進行していると考えられる褐色森林土およびポドゾルにおいては, 腐植の組成と腐植酸の光学的性質の間には, 相互に関連性が見られることが明らかにされている。

ドイツ学派およびソ連学派の研究は, いずれも主として Great soil groups を対象としている。しかし, わが国の森林土壌の腐植を研究する場合には, 各 Great soil groups を対象とするだけでは十分でなく, さらに主として地形にもとづく水分環境の相違によって細分された, 同じ soil group に属する各種土壌(土壌型)の腐植の特性を明らかにする必要に迫られる場合も, 少なくないであろうと思われる。

わが国の森林帯は南西諸島の亜熱帯林帯, 西南日本の暖温帯性照葉樹林帯, 本州東北部および北海道西南部の落葉広葉樹林帯, および北海道中部以北の亜寒帯性常緑針葉樹林帯まで, 気候条件の相違に応じて変化に富んだ水平分布が見られる。また山岳地域においては, それぞれの地域における平地の森林帯から, 海拔高に応じて亜高山性針葉樹林帯(亜寒帯林に対応)までの垂直分布が見られる。

さらにこまかく見ると, 同じ森林帯に属する地方でも, 気候, その他の環境因子がかなり異なる場合も少なくない。このような気候, 森林植生, 地形, その他の環境諸因子の相違が森林土壌に及ぼす影響の解明は, わが国の森林土壌としては重視しなければならない問題であろう。このような立場に立って, 各森林土壌の腐植の形態を明らかにするためには, 腐植の質的および量的な2つの面からの, 詳細な検討が必要であろうと思われる。

14-2. 腐植の形態の分析方法について

腐植の形態の分析方法としては, すでに多くの方法が提案されている。わが国においては弘法・大羽法⁸¹⁾, 熊田法¹⁹⁾, 小坂・井積法⁹⁾等が行なわれているが, 近年 TYURIN 法⁴¹⁾, PONOMAREVA 法²¹⁾³⁴⁾ が用いられている場合も少なくない。

弘法・大羽法⁸¹⁾, 熊田法¹⁹⁾は腐植—主として腐植酸—の光学的性質の分析法としてはすぐれているが, 加熱抽出であること, 結合腐植の定量法を欠くこと*, 各 fraction の定量に $KMnO_4$ 酸化滴定法を用いていること等の面で, 筆者に十分な満足を与えるに至らなかった。

TYURIN⁴¹⁾法は, 腐植と土壌鉱質物との結合状態による区分および腐植の組成の面では, その全体を把握し得る点ですぐれているが, 腐植酸の光学的性質の分析を欠く点で物足りなさを感じさせた。

筆者は TYURIN 法による腐植の組成の定量と, 弘法・大羽法および熊田法による腐植酸の光学的性質の測定を組み合わせることによって, 上述の目的に対応し得るように, 筆者の以前の方法を改良することを計画した。しかし, TYURIN 法が非常に多くの時間と労力を要することに難点が認められた。ソ連においてもその後 PONOMAREVA²¹⁾³⁴⁾, KONONOVA および BEL'CHIKOVA¹⁵⁾¹⁶⁾³⁰⁾によって, 同法の簡便化が提案されて

*1 熊田ら²⁸⁾はその後結合腐植の定量法を付加している。

いるのも同じ理由によるものであろう。したがって、同法に腐植酸の光学的性質の測定を組み合わせることは、難点を助長するものといえよう。

筆者は TYURIN 法の簡便化を目的として、今までに提案されている多くの分析方法について検討した結果を 3~13 に示し、また筆者が新たに提案する方法は 2 に示した。これについて、要約および補足すると次のとおりである。

1) 腐植の抽出法として提案されている多くの方法の中で、無機酸塩または有機酸塩による温和な条件下の抽出は、腐植の変性の危険性は少ないとしても、抽出量が少ないために、稀アルカリ抽出と腐植と結合している鉱質物を除くための、無機塩ないし酸前処理の組合せを用いなければならなかった。

2) 稀アルカリ抽出の場合に加熱抽出を行なうか、常温抽出を行なうかは、各研究者の考え方によって意見の分かれるところであろう。筆者が前報¹¹⁾の加熱抽出を 30°C 抽出に改めたのは、腐植酸の吸収スペクトルの特徴がさらに明りょうに示されること、腐植の変性の危険性がさらに少ないであろうと考えられたからである。

3) 稀アルカリによる腐植の抽出に際して、引きつづき稀アルカリ洗浄による各 fraction の完全な抽出を行なうことは、多くの時間と労力を要するために採用せず、0.4N Na_2SO_4 溶液による洗浄を採用した。そのために、結合腐植の定量の場合には逐次抽出を用いずに、個別抽出を用いて遊離および各結合腐植の含量と遊離腐植を求め、それぞれの差から各 fraction の定量を行なうことにした。

4) ethanol-benzol 抽出物は樹脂、ロウおよび油脂等だけではなく、腐植酸およびフルボ酸の一部も含まれることが認められたので、ethanol-benzol 抽出は取り入れなかった。この点は 5 で述べたように、腐植酸およびフルボ酸の定義についての各研究者の考え方によって、決められるべき問題であろう。

5) わが国の土壌の腐植は、一般に大部分が遊離型 (Fraction 1) で、Ca 型腐植は少ないとされている^{4)(18)(20)(81)(42)~(44)}。わが国の森林土壌は、一般に酸性が強く塩基の溶脱が進んでいるので、Ca 型腐植は少ないと考えられる。したがって、一般には Ca 型と R_2O_3 型腐植の含量 (Fraction 2 + Fraction 3) を全結合腐植として求めれば十分であろう。この場合には、 R_2O_3 型腐植が優占するものと考えられる。しかし、pH 約 6.0 前後、Ca 飽和度約 50% 以上のようなわが国の森林土壌としては、塩基の豊富な土壌では Ca 型腐植の定量も必要であろう。

KONONOVA および BEL'CHIKOVA¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽⁸⁰⁾ の 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH 混合液による腐植の抽出は、Ca 型腐植が優占している土壌では、遊離および Ca 型腐植の含量を抽出することを認めたが、一般の森林土壌の、腐植の組成の定量に用いることには難点が認められた。

Ca 型腐植の定量には、TYURIN 法⁴¹⁾の N Na_2SO_4 溶液の前処理で脱 Ca 後、0.1N NaOH 溶液による抽出がもっとも適当と思われた。

6) わが国の森林土壌では、一般に結合型腐植 (Ca 型および R_2O_3 型) 含有率はとくに高いものではないと考えられる¹¹⁾。KONONOVA ら¹⁶⁾⁽⁸⁰⁾ は、 R_2O_3 型腐植 (Fraction 3) は各 Great soil groups についての特徴的な Fraction とは考えていない。筆者は R_2O_3 型腐植が環境諸条件の影響と、どのように関連しているかはまだ十分に把握するに至っていないが、各種土壌間ないし各土壌の各層位間におけるこの Fraction の変化は、必ずしも無意味なものではないであろうと考えている。

TYURIN 法の Fraction 3 (R_2O_3 型腐植) の定量における H_2SO_4 加熱処理と、NaOH 溶液抽出のくりかえしについては、第 2 回目の N H_2SO_4 加熱処理によって、新たに NaOH 溶液可溶となる腐植の量は

きわめて少なく、同時に $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 加熱処理によって腐植酸の分解が生ずることが認められたので、このくりかえし処理は省略した。

筆者が R_2O_3 型腐植 (Fraction 3) の定量の際に、前処理の条件として $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 24時間 30°C を用いたのは、TYURIN 法の $0.5\text{N H}_2\text{SO}_4$ 前処理よりとくに多くはないが R_2O_3 型腐植の収量が多いこと、また $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 24時間 30°C の場合には腐植酸の分解が認められなかったからである。

熊田ら²⁸⁾ は 0.1N NaOH 溶液を用いて加熱抽出を行なった残渣を、 $0.1\text{M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液を用いて加熱抽出を行ない結合腐植の定量を行なっている。筆者は $0.1\text{M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ — 0.1N NaOH 混合液24時間 30°C 抽出の場合に、 R_2O_3 型腐植の抽出が認め難かったこと、 $0.1\text{N Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液による腐植の抽出は 0.1N NaOH 溶液との混合液より低下すること、前述の理由によって逐次抽出をさけたこと等の理由によって、熊田らの方法を 30°C で追試することは省略した。

7) 酸可溶腐植 (f-1a) の定量については、 $\text{N H}_2\text{SO}_4$ 抽出を用いて、 R_2O_3 型腐植の定量の前処理を兼ねて行なうことにした。この場合には、TYURIN 法⁴¹⁾ の $0.5\text{N H}_2\text{SO}_4$ 抽出より収量は多少大きくなるが、その相違はとくにいちじるしいものではない。

酸可溶腐植は podzolic ないし lateritic な土壌ではとくに多く、これらの土壌の特徴をなしているといわれている³⁶⁾³⁷⁾⁴¹⁾。podzolic な土壌の分布の少なくないわが国の森林土壌では、この fraction の定量は重要な問題であろう。

8) 腐植の各 fraction の定量には前報¹³⁾ およびソ連派と同様に、 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 酸化滴定法を用いた。

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 酸化滴定法による各土壌の Carbon 定量値を、乾式燃焼法と比べると、褐色森林土およびポドゾル等ではほぼ近似的な値を示すが、黒色土壌の場合には低いことが指摘されている¹²⁾。この点は黒色土壌の腐植—おそらく腐植酸—が、他の土壌の場合よりも $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 酸化に対する抵抗力が大きいことを示すものと思われる。しかし、土壌の Carbon 定量法として慣用されている $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 酸化滴定法を用いて、腐植の各 fraction の Carbon 量の、土壌の Carbon 量に対する per cent 表示を行なうことは、腐植の組成の表示法として適切であろうと考えられる。

9) 腐植酸の吸収スペクトルの測定範囲を近赤外部の $900\text{m}\mu$ まで拡大した。一般に、およそ $600\sim 625\text{m}\mu$ 付近を境にして、長波長側の吸収曲線の、波長軸に対する傾きは短波長側より急になるが、その程度は各土壌グループごとに、さらに同じ土壌グループに属する各種土壌ごとにかんがりの相違が見られる。したがって、 $\Delta \log K_1$ および $\Delta \log K_2$ は、各土壌の腐植酸の光学的性質の特徴を示す有力な指標として役立つものと思われる。

10) R_f は前報と同様に、腐植酸 Carbon 100mg/l の濃度の溶液に換算した $600\text{m}\mu$ の吸収係数を用いることにした。

15. お わ り に

1) この報告はわが国の森林土壌の、腐植の形態の分析方法を確立するために、今までに提案されている種々の方法について検討した結果、およびそれにもとづいた新しい分析方法の提案を報告したものである。

2) 主な検討事項は次のとおりである。

i) 0.1N NaOH 溶液による 30°C 抽出と加熱抽出の比較。

- ii) 0.1N NaOH 溶液24時間 30°C 抽出における抽出倍率。
 - iii) ethanol-benzol 抽出の影響。
 - iv) 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -0.1N NaOH 混合液抽出。
 - v) Ca 型腐植の定量法。
 - vi) R_2O_3 型腐植の定量法。
 - vii) 腐植酸の H_2SO_4 濃度および温度に対する安定性。
 - viii) 酸可溶腐植の定量法。
- 2) 以上の結果, 次のような腐植の分析方法を採用することにした。
- i) N H_2SO_4 24時間 30°C 前処理後, 0.1N NaOH 溶液 1 夜 30°C 抽出による遊離 +Ca 型 + R_2O_3 型腐植の含量の定量。N H_2SO_4 前処理溶液を用いる酸可溶腐植の定量。
 - ii) N Na_2SO_4 溶液24時間 30°C 前処理後, 0.1N NaOH 溶液 1 夜 30°C 抽出による遊離および Ca 型腐植の含量の定量。
 - iii) 0.1N NaOH 溶液 24 時間 30°C 抽出による遊離腐植の定量。
- 以上の組合せによる遊離, Ca 型および R_2O_3 型腐植 (腐植酸およびフルボ酸), 酸可溶腐植の各 fraction をそれぞれ求めて, 腐植の組成を明らかにする。
- iv) 各腐植酸溶液について近赤外部, 可視部および紫外部について 吸光度の測定を行ない, $\Delta \log K_1$, $\Delta \log K_2$, Rf および吸光曲線を求める。
- 4) 以上の腐植の組成および腐植酸の光学的性質の組合せによって, 土壤の腐植の形態の特徴の把握, および各種土壤相互の類別を行なうため分析方法を確立し得たものと思われる。

稿を終るに当たり, 貴重な沖縄の土壤を分与して下さった本場土壤部土壤調査科長 黒鳥 忠博士および同主任研究官小島俊郎技官に心からの感謝をささげる。また, この研究を行なうに当たって多大のご配慮をいただいた当支場の各位に感謝する。

文 献

- 1) 足立嗣雄: 火山灰土壤の腐植組成に関する考察, ペドロジスト, 7, 22~14, (1963)
- 2) 同 : 土壤腐植研究法 II TYURIN 腐植分別定量法とその簡便法, ペドロジスト, 8, 97~107, (1964)
- 3) 同 : 火山灰土壤における腐植組成の地域性について, ペドロジスト, 10, 115~121, (1966)
- 4) 同 : 火山灰土壤の腐植に関する研究 (第 1 報) 九州北部に分布する火山灰土壤の腐植組成について, 日土肥誌, 37, 207~212, (1966), (第 2 報) 九州南部に分布する火山灰土壤の腐植組成について, 同, 37, 505~510, (1966), (第 3 報) 東北地方に分布する火山灰土壤の腐植組成について, 同, 39, 343~348, (1968), (第 4 報) 北海道に分布する火山灰土壤の腐植組成について, 同, 41, 345~352, (1970), (第 5 報) 四国地方に分布する火山灰土壤の腐植組成について, 同, 42, 52~57, (1971), (第 6 報) 北陸山陰および東海地方に分布する火山灰土壤の腐植組成について, 同, 42, 89~94, (1971)
- 5) 朝日正美: 東京大学北海道演習林における森林土壤の分類に関する研究, 東大演報, 58, 1~132, (1963)
- 6) Hock, A.: Farbtiefe und Farbtonwerte als charakteristische Kennzeichen für Humusformen und Humustyp im Boden nach neuen Verfahren. Bodenk. u. Pflanzenernähr., 2, 304~315,

- (1937)
- 7) Ders. : Weitere Untersuchungen zur Humuscharakterisierung im Boden. Evenda, 5, 1~24, (1937)
 - 8) 本田親史 : 北海道の畑地土壌の腐植に見られる縮重合同族体混合物としての性格, 北海道農試彙報, 95, 1~10, (1969)
 - 9) 井磧 昭 : 土壌腐植の研究法Ⅱ 小坂・井磧法(シモン変法), ペドロジスト, 8, 106~108, (1964)
 - 10) 河田 弘 (KAWADA, H.) : TYURIN 法による土壌有機炭素の定量の検討およびその改良について (An examination of the TYURIN's method for determination of soil organic carbon and a proposed modification of the chromic acid titration method), 林野土調報 (Forest soils of Japan), 8, 67~80, (1957)
 - 11) 同 (Ibid.) : 森林土壌の化学的性質 および 腐植の形態に関する研究 (A study of chemical properties and humus forms of forest soil), 同 (Ibid.), 10, 1~108, (1959)
 - 12) 河田 弘・西田豊昭 : 土壌の化学分析法についての二, 三の改良と検討, 森林立地, XII, 1, 26~30, (1970)
 - 13) 川口桂三郎・久馬一剛 : イ・ヴェ・チューリンの方法による土壌腐植組成の定量的研究, 日土肥誌, 29, 527~530, (1959)
 - 14) 木立正嗣・大政正隆 : 赤色土壌の研究Ⅲ 本邦赤色土壌の生成に関する地質学ならびに 鉱物学的研究, 林野土調報, 14, 1~126, (1963)
 - 15) KONONOVA, M. M. : Soil organic matter. Pergamon Press, Oxford, (1966)
 - 16) KONONOVA, M. M. and BEL'CHIKOVA, N. P. : Rapid method of determining the humus composition of mineral soils. Pochvovedenie, 10, 75, (1961) [15, 30 から引用]
 - 17) 小坂二郎 : 土壌型と腐植の形態との関係に関する研究, 農技研報, B 2 号, 49~67, (1953)
 - 18) 小坂二郎・井磧 昭 : 腐植の結合に関する研究, 農技研報, B 7 号, 161~183, (1957)
 - 19) 熊田恭一 : 腐植の形態分析, 分析化学講座 9 C, 共立出版社, 22~27, (1957)
 - 20) 同 : ペドロロジーと腐植, ペドロジスト, 10, 104~108, (1966)
 - 21) KUMADA, K. : Absorption spectra of humic acid. Soil and plant food, 1, 29~30, (1955)
 - 22) Ibid. : Studies on the color of humic acid. Part 1, On the concepts of humic substances and humification. Soil sci. and plant nutrition, 11, 151~156, (1965)
 - 23) 熊田恭一・太田信婦 : 腐植の抽出について, 日土肥誌, 34, 417~422, (1963)
 - 24) 熊田恭一・佐藤 修 : ポドゾル腐植の形態 [P 型腐植酸に関する研究 (第2報)], 日土肥誌, 36, 373~378, (1969)
 - 25) 熊田恭一・太田信婦・大角泰夫 : 日本アルプスの高山草原土壌の腐植について, 日土肥誌, 37, 289~293, (1966)
 - 26) KUMADA, K. and SATO O. : Chromatographic separation of green humic acid from podzol humus. Soil sci. and plant nutrition, 8, 2, 31~33, (1962)
 - 27) KUMADA, K., SATO, O., OHSUMI, Y. and OHTA, S. : Humus composition of mountain soil in central Japan with special reference to the distribution of P type humic acid. Ibid., 13, 151~158, (1967)
 - 28) 黒鳥 忠・大政正隆 : 赤色土壌の研究Ⅱ 九州地方の赤色土とこれに伴う黒色土壌について, 林野土調報, 13, 1~88, (1963)
 - 29) 黒鳥 忠・小島俊郎 : 沖縄の森林土壌概説, 日林誌, 51, 227~230, (1969)
 - 30) 久馬一剛 : チューリン腐植研究法の簡便法について, ペドロジスト, 10, 104~108, (1966)
 - 31) 大羽 裕 (OBA, Y.) : 土壌腐植研究法Ⅱ, 弘法・大羽法 (Determination of humus forms improved by Kobo and Oba), ペドロジスト (Pedologist), 8, 108~116, (1964) (in Japanese)
 - 32) 同 : 火山灰土壌の腐植, ペドロジスト, 9, 26~30, (1965)

- 33) 大政正隆・黒鳥 忠・木立正嗣：赤色土壌の研究 I 新潟県に分布する赤色森林土壌の分布，形態的性質および生成について，林野土調報，8，1～23，(1957)
- 34) PONOMAREVA, V. V. : Procedure for studying the composition of humus by TYURIN's scheme. Pochvovedenie, 8, 66, (1957) [2 から引用]
- 35) SIMON, K. und SPEICHERMANN, H. : Beiträge zur Humusuntersuchungsmethodik. Bodenk. u. Pflanzenernähr., 8, 129～152, (1938)
- 36) SPRINGER, U. : Zur Kenntnis der Bedingungsformen der Humusstoffe besonders in Waldböden. Z. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenk. A, 45, 327, (1936)
- 37) Ders. : Der heutige Stand der Humusuntersuchungsmethoden., Bodenk. u. Pflanzenernähr., 6, 312, (1938)
- 38) 鷹見守兄・松井光瑤：黒色土壌の有機物組成について，日林講集78回，269～272，(1967)
- 39) 同 同：森林土壌の有機物組成について，II 黒色土壌と褐色森林土の比較，同 80 回，107～108，(1969)
- 40) 竹原秀雄・久保哲茂・細川一信：木曽地方における石英斑岩に由来するポドゾル化土壌について，日林誌，39，419～426 (1957)
- 41) TYURIN, I. V. : Analytical procedure for a comparative study of soil humus. Trudy poch. Inst. Dokuchaeva, 38, 5～21, (1951)
- 42) 徳留昭一・菅野一郎：腐植質アロフェン土の腐植の性状，ペドロジスト，7，82～95，(1965)
- 43) TOKUDOME, S. and KANNO, I. : Characterization of humus of humic allophane soils in Japan. Part 1., Bull. Kyushu Agr. Exp. Stat., 10, 185～193, (1964)
- 44) Ibid. : Nature of humus of humic allophane soils in Japan., Soil sci. and plant nutrition, 11, 185～192, (1965)
- 45) 内田丈夫：北海道における針葉樹林の堆積腐植に関する研究，林試研報，114，53～205，(1959)
- 46) 山谷孝一：ヒバ林地帯における土壌と森林生育との関係，林野土調報，12，1～155，(1962)

Studies on Humus Form of Forest Soil Part 1

On the examination of analytical method for the determination of humus form and a proposed improved method

Hiroshi KAWADA⁽¹⁾

Summary

1. Introduction

Previously a work on the correlation between the types of soil of the brown forest soils, podzolic soils, and black soils (Ando soils) and their humus forms and chemical properties from the pedological point of view was done by the author⁽¹⁾ to make clear the mutual relations of the taxonomic position of each type of soil, and the following results were obtained:

The effects of the environmental factors, especially the topographical factor, cause clear differences of the humus forms and chemical properties among the types of soil of the brown forest soils and podzolic soils. But those of black soils are unaffected by the environmental influences.

Remarks: The type of soil is a unit type of every great soil group in the forest soil classification system of forest soil survey in our country.

After that time the pedological studies on the red-yellow soil group and wet podzolic soil under forest advanced, and some soils whose genetical processes and taxonomic positions became an issue were discovered. The humus forms of these soils were left blank. Some agricultural researchers pointed to differences of humus form of the humic allophane soils (black soils, Ando soils) in dependence of their geographical distribution. However, these problems on the forest soil were still left for future clarification.

The recent advances of the pedological studies of the forest soil and those of humus form prompted the author to supplement his previous information. At the beginning of these studies, the author wished to establish the most suitable analytical method for our forest soil by the examination of the various methods proposed up to the present.

This paper deals with the results of the examination and a proposition of a newly improved method.

2. The analytical method for the determination of humus form proposed by the author

2-1. The fractionation of humus

The author adopted the fractionation of humus after TYURIN⁽²⁾. It was as follows:

1) f-1a: So-called the acid soluble humus, the fulvic acid-like substances extracted with dilute mineral acid.

2) Fraction 1: So-called the free humus, the humic acid (h-1) and fulvic acid (f-1) extracted with dilute NaOH solution without any pretreatment.

Received January 28, 1972

(1) Kansai Branch Station

3) Fraction 2: So-called the humus combined with Ca, the humic acid (h-2) and fulvic acid (f-2) extracted with dilute NaOH solution after decalcification of soil.

4) Fraction 3: So-called the humus combined with R_2O_3 in stable silicate form, humic acid (h-3) and fulvic acid (f-3) extracted with dilute NaOH solution after the removal of R_2O_3 of soil.

2-2. The determination of humus form extracted with dilute NaOH solution (f-1a and Fraction 1)

2-2-1. The extraction of humus.

The ground, 1 mm sieved, air-dried soil containing about 200 mg of organic carbon is placed in a 200 ml ERLNMEYER flask and the freshly prepared 100 ml of 0.1 N NaOH solution is added. The flask is tightly stoppered and kept for 24 hrs at 30°C with occasional stirrings. The next morning 25 ml of 2 N Na_2SO_4 solution is added and well mixed. The mixture is centrifuged at 8,000 rpm for 15 min. The clear supernatant, the humus extract, is collected by decantation and the precipitate is discarded.

If the supernatant is cloudy, it is put back into the original flask, supplemented with 25 ml of Na_2SO_4 solution and centrifuged again at 12,000~15,000 rpm for 15 min.

2-2-2. The separation of humic acid.

An aliquot of humus extract is pipetted into a beaker and 1:100 volume of H_2SO_4 is added drop by drop, stirring the solution with a glass rod. After the humic acid gel precipitated, more than 1 hr later, the content of beaker is centrifuged and the supernatant, the fulvic acid, is discarded by decantation. If the amount of humic acid is very scanty or its coagulation is slow, the beaker is left overnight at laboratory temperature. As the humic acid gel is floatable, it should be necessary to filter the supernatant before discarding or the loss of humic acid may occur. The precipitate, humic acid, is washed with 1:100 H_2SO_4 several times until the supernatant becomes colorless.

2-2-3. The determination of optical property of Na-humate solution.

The humic acid gel in the centrifuge bottle and on the filter paper is dissolved into a 100 ml or 50 ml volume flask depending on its amount with 0.1 N NaOH solution. Na-humate solution is diluted with the same solution, if necessary, and its optical densities in the wave length region from 900 to 250 $m\mu$ are determined within 2 hrs after solution. The results are expressed as follows:

1) The absorption curve ($\log k - \lambda$ curve).

2) The color quotients (or color ratios) expressed by $\Delta \log k_1 = \log k_{400} - \log k_{600}$ and $\Delta \log k_2 = \log k_{650} - \log k_{850}$ where k_{400} , k_{600} , k_{650} and k_{850} are absorption coefficients at 400, 600, 650 and 850 $m\mu$. They represent the inclinations of the absorption curve against the wave length axis.

3) Rf is expressed with the absorption coefficient at 600 $m\mu$ of the Na-humate solution containing carbon 100 mg per litter. It reflects the relative intensity of color depth of Na-humate solution.

Remarks: $\Delta \log k_1$ is the same as $\Delta \log k$ after KOBAYASHI³¹⁾ and KUMADA²¹⁾²²⁾

2-2-4. The carbon determination of humus extract and Na-humate solution.

An aliquot of the humus extract and Na-humate solution, respectively, is pipetted into a 100 ml ERLNMEYER flask, neutralized with N H_2SO_4 and evaporated to dryness on a water bath. Its carbon content is determined by $K_2Cr_2O_7$ oxidometry¹⁰⁾.

The carbon of humus fractions is calculated as follows:

humus extract C—humic acid C=(f-1a)+(f-1)=(A)

humic acid C=(h-1)

(A)−(f-1a)=(f-1)

The determination of f-1a is described hereafter in 2-4.

The carbon of humus fractions is expressed as carbon per cent of the total original soil organic carbon.

2-3. The determination of humus form extracted with 0.1 N NaOH solution after decalcification of soil with N Na₂SO₄ solution (f-1a, Fraction 1 and Fraction 2)

The same amount of sample as that described in 2-2 is placed in a 200 ml Erlenmeyer flask and 100 ml of N Na₂SO₄ solution is added. The flask is tightly stoppered and kept for 24 hrs, 30°C with occasional stirrings. The next morning the content of flask is centrifuged at 8,000 rpm for 15 min. The clear supernatant is collected by decantation for the determination of N Na₂SO₄ soluble carbon. The residue is added with the same solution, stirred with a glass rod, left for 30 min. and centrifuged. The supernatant this time is discarded. The washing of residue is repeated until Ca ion reaction in the supernatant disappears. More than ten times of washing are necessary for Ca rich soil but four or five times are sufficient for our usual forest soil.

After that, the residue in the centrifuge bottle is returned into the original flask with 100 ml of 0.1 N NaOH solution. The extraction of humus is performed in the same way as that described in 2-2. The next morning 25 ml of 2 N Na₂SO₄ solution is added and the mixture is centrifuged as described in 2-2. The residue is added with 0.4 N Na₂SO₄ solution, stirring with a glass rod and centrifuged. The washing is repeated until the 250 ml volumetric flask where the humus extract and washing solution are collected is filled up.

Remarks : The author usually used a 50 ml centrifuge bottle and the last washing solution of most soils was almost colorless but that of the black soils was still faintly colored.

The subsequent procedures are the same as those described in 2-2.

An aliquot of Na₂SO₄ extract is pipetted into a 100 ml Erlenmeyer flask and evaporated to dryness on a water bath. Its carbon content is determined by K₂Cr₂O₇ oxidometry.

The carbon of humus fractions is calculated as follows:

humus extract C+N Na₂SO₄ soluble C=f-1a+Fraction 1+Fraction 2=(B)

humic acid C=(h-1)+(h-2)=(C) (C)−(h-1)=(h-2)

(B)−(C)=(f-1a)+(f-1)+(f-2)=(D) (D)−(A)=(f-2)

It is expressed as carbon per cent of the total original soil organic carbon.

2-4. The determination of humus form extracted with 0.1 N NaOH solution after pretreatment with N H₂SO₄ (f-1a, Fraction 1, Fraction 2 and Fraction 3)

The pretreatment is carried out in the same manner as that described in 2-3 with N H₂SO₄ in place of N Na₂SO₄ solution. The next morning the content of flask is centrifuged at 8,000 rpm for 15 min. The clear supernatant is collected by decantation for the determination of acid soluble humus (f-1a).

The washing of residue in the centrifuge bottle is repeated with 0.4 N Na₂SO₄ solution several times as described in 2-3 until the washing solution becomes colorless. After that, the residue is returned into the original flask with 100 ml of 0.1 N NaOH solution. The subsequent procedures are the same as those described in 2-3.

An aliquot of N H₂SO₄ extract is pipetted into 100 ml Erlenmeyer flask, neutralized with

N NaOH solution and evaporated to dryness on a water bath. Its carbon content is determined by $K_2Cr_2O_7$ oxidometry. It expresses the acid soluble humus (f-1a).

The carbon of humus fractions is calculated as follows:

$$\text{humus extract } C = \text{Fraction 1} + \text{Fraction 2} + \text{Fraction 3} = (E)$$

$$\text{humic acid } C = (h-1) + (h-2) + (h-3) = (F) \quad (F) - (C) = (h-3)$$

$$(E) - (F) = (f-1) + (f-2) + (f-3) = (G) \quad (G) - (f-1 + f-2) = (f-3)$$

$$N \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ soluble } C = (f-1a)$$

It is expressed as carbon per cent of the total original soil organic carbon.

2-5. Miscellaneous

The complete extraction of humus fraction with the repeated washing of the 0.1 N NaOH extracted soil residue with 0.02 N NaOH solution until the washing solution became colorless had been carried out after TYURIN's method⁴¹⁾. The author examined his method and found that it involved a great deal of work and took much time; so he adopted the washing of the soil residue with 0.4 N Na_2SO_4 solution. The yield of extracted humus with the author's method is limited to 80~90% of that of the complete extraction as described hereafter in 5.

In the author's opinion, to compare the humus forms of various soils and to get the information on their characteristics would be beneficial; however, he had to abandon the successive extraction of humus fractions.

The author suggested that Fraction 1 was dominant and Fraction 2 and 3 were little on the humus compositions of our forest soil in his previous report⁴¹⁾. A few forest soils containing abundant Fraction 2 as described later in 9 have been found up to the present time, but their distribution was very limited and they belonged to the specific case in our country. In the author's opinion, the determination of the sum of Fraction 2 and 3 by the method described in 2-4 would be sufficient for the humus form determination of our usual forest soil. The determination of Fraction 2 should be necessary only on the forest soil rich in exchangeable Ca (their rates of saturation are more than about 50%) and with high pH value (more than about 6.0).

3. The analysed sample

The type of soil and chemical property of analysed soils were expressed in Table 1. Their detailed information will appear in the following reports.

4. The effect of rate of humus amount of soil to extractant volume on the humus form in 0.1 N NaOH extract

4-1. The objective

The following examinations were carried out to make clear the effect of the rate of humus amount (organic carbon) of soil to the extractant volume on the humus form in 0.1 N NaOH extract for 24 hrs at 30°C.

4-2. The analytical method

Four surface soils of various soil groups were analysed.

The volume of 0.1 N NaOH solution fixed on 100 ml/ and the humus amount of soil (organic carbon) were variable as 330, 200 and 100 mg, respectively. Thus the rates of carbon to extractant were 1 : 300, 1 : 500 and 1 : 1,000.

The analytical procedures were the same as those described in 2-2.

4-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 2.

The yield of humic (h-1) and fulvic (f-1a and f-1) acids was slightly increased in the following order as $1:300 < 1:500 \leq 1:1,000$. The C_h/C_f (the ratio of humic acid C/fulvic acid C), color quotients and Rf were almost the same in all extracts of every soil.

Considering these results, the author adopted 1:500 as the standard rate for the humus extraction.

5. The effect of repeated extraction with 0.1 N NaOH solution on the humus form

5-1. The objective

The repeated washing of the residue extracted with 0.1 N NaOH solution until the washing solution became colorless with 0.02 N NaOH solution was adopted by TYURIN in his analytical method⁴¹⁾. It was said that from six to twenty times of washing should be necessary for the complete extraction of humus⁴¹⁾. The author obtained similar results on some forest soils, too. The great deal of work and time involved for the complete extraction would be a cumbersome point for the determination of humus form.

The author carried out the following examinations to make clear the effect of repeated extraction with 0.1 N NaOH solution on the humus form.

5-2. The analytical method

Ten surface and lower soils of various soil groups were analysed.

The first extraction with 0.1 N NaOH solution was the same as that described in 2-2. In the present instance the centrifuged residue was washed with 0.4 N Na_2SO_4 solution as described in 2-3. After the washing, the residue was returned into the original flask with 100 ml of 0.1 N NaOH solution. The second extraction was done in the same manner as the first one using 0.1 N NaOH-0.4 N Na_2SO_4 mixed solution for the wash. The last washing solution was colorless in every soil. The subsequent procedures were the same as those described in 2-2.

5-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 3 and Fig. 1.

The yield of extracted humus and humic acid in the second extract was about 10~20% and 15~20% of that in the first extract, respectively, on the analysed soils except A_1 and B_1 of Fukuyama pn-P 3, especially the latter. Their higher yield than that of other soils might be on account of their abundant Fraction 2 content as expressed in Table 7. Their partial decalcification by the washing with Na_2SO_4 solution in the first extraction might bring the partial solution of Fraction 2 in the second NaOH extraction.

Comparing the optical property of humic acids in both extracts, $\Delta\log k_1$, $\Delta\log k_2$ and Rf were fairly different with some exceptions. However, no certain trend was found on their alteration among the examined soils. Similar results were obtained on the humus forms of the repeated 0.1 N NaOH extracts after N H_2SO_4 pretreatment as described later in 11.

These facts were easily comprehensible by the following opinion that the humus would be a complex mixture of polymers different from the solubility in NaOH solution and the optical property of humic acid.

To lessen work procedures and to save time, the author abandoned the complete extraction

of humus with repeated washing of dilute alkaline solution. In his opinion, there may be no difficulty to compare the humus form of various soils with their first 0.1 N NaOH extract as since it contains 80~90% of total extractable humus. However, as stated, he abandoned the successive extraction of the remaining fractions.

6. The effect of ethanol-benzol extraction on the humus form

6-1. The objective

The humus extraction with 0.1 N NaOH solution followed after ethanol-benzol extraction of soil after TYURIN⁴¹⁾ and PONOMAREVA³⁴⁾ in their analytical methods. TYURIN pointed out that a faulty result would be obtained without this extraction on the soils whose ethanol-benzol soluble carbon was more than 5% of their total organic carbon. However, KONONOVA and BEL'CHIKOVA¹⁶⁾ omitted this extraction except the organic soils, such as peat. They said that the increase of yield of acid soluble humus would occur but the yield of humic acid and fulvic acid was unaffected on the mineral soils without this extraction.

The author wished to examine the effect of ethanol-benzol extraction on the humus form.

6-2. The analytical method

The soils of various soil groups with widely different ethanol-benzol soluble carbon content were analysed.

The samples were extracted with ethanol-benzol mixture (1:1) in a SOXHLET apparatus for 12~20 hrs on a water bath as usual. The ethanol-benzol soluble carbon was calculated by multiplying the dry weight of ethanol-benzol soluble matter by 0.72¹⁶⁾⁴¹⁾ and it was expressed as carbon per cent of the total original organic carbon of the soil.

The extracted soils were dried at laboratory temperature until the smell of the solvent disappeared. The humus forms of ethanol-benzol extracted or unextracted soils were determined by such methods as those described in 2-2 and 2-4. The humus composition of ethanol-benzol extracted soil was converted into the original soil basis.

6-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 4.

The effects of ethanol-benzol extraction on the humus form were divided into the following three types:

1) On A₁ of Fukuyama pn-p 3, B of Ôtaki P 4 and R₁ (A-B) of Kano belonging to the so-called mineral soil, their ethanol-benzol soluble carbon was from 2.9 to 6.9% of their total organic carbon. Their yield of total humic acid (h-1, 2 and 3) and fulvic acid (f-1a, 1, 2 and 3) decreased about 6~10% and 0~7%, respectively, by this extraction. Their absorption spectra, $\Delta \log k_1$, $\Delta \log k_2$ and Rf of Na-humate solution were unaffected.

2) On A₁ of Niimi P 17, (H)-A of Kawamoto P 4, A₁ of Midagahara and H-A of Ôtaki P 1 belonging to the so-called organic soil, they were rich in organic matter and their ethanol-benzol soluble carbon was from 10.3 to 17.2% of their total organic carbon except A₁ of Niimi that was 5.3%.

Their yield of total humic acid and fulvic acid decreased about 10% and 3~13%, respectively, by this extraction. Their absorption spectra, $\Delta \log k_1$ and $\log k_2$ were unaffected but their Rf values were fairly increased.

3) On A_m of Saijô P 14 that contained the mycellial substances and belonged to a rather specific soil, its ethanol-benzol soluble carbon was 11.9% of the total organic carbon. The

effect of this extraction on the humus form showed the same trend as the so-called organic soil. But its decrease of total humic acid yield was very distinguished (about 20%) and its increase of Rf value was very remarkable, too.

As a general trend, the decrease of the yield of humic acid by this extraction was more pronounced than that of fulvic acid, and the decrease of acid soluble humus (f-1a) was little except (H)-A of Kawamoto P 4 and H-A of Ôtaki P 1.

The following facts were suggested from the above-mentioned results:

- 1) The ethanol-benzol mixture extracted not only the wax, fat and resin but also a part of humic acid and fulvic acid.
- 2) The humic acid fractions of the so-called organic soils and the soil containing mycelial substances contained the colorless or faintly colored substances extractable with ethanol-benzol mixture.

In the author's opinion, the determination of ethanol-benzol soluble C and the $\text{N H}_2\text{SO}_4$ hydrolyzable C after TYURIN⁴¹⁾ as described in 11 would be profitable to get the information on the whole humus status in detail. However, the humic acid and fulvic acid fractions are the heterogeneous mixtures of the polymers, thus it becomes a matter of every researcher's own definition of them whether the solubility in alkaline solution and the precipitability with acid are accorded great importance or that the solubility in ethanol-benzol mixture is regarded as vital and the ethanol-benzol soluble substances are separated from the humic acid and fulvic acid fractions.

The author omitted the ethanol-benzol extraction in the routine analytical procedures.

7. The effect of temperature on the humus form in dilute NaOH extract

7-1. The objective

Some researchers extracted the humus with dilute alkaline solution at temperate condition, but others in a boiling water bath. The author wished to get information on the effect of the temperature of extraction on the humus form.

7-2. The analytical method

The analytical method for the extraction at 30°C was the same as that described in 2-2. The extraction in a boiling water bath was carried out as follows, and it was the same as the method of the author's previous work¹¹⁾:

The soil containing about 330 mg organic carbon was placed in a 200 ml Erlenmeyer flask, 100 ml of 0.5% solution was added and connected with a condenser. It was kept for 1 hr in a boiling water bath. After it cooled, the flask was stoppered tightly and left overnight at 30°C. The subsequent procedures were the same as those described in 2-2.

Ten soils of various soil groups were analysed.

7-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 5 and Fig. 2.

Comparing both extractions of each soil, the following results were obtained:

- 1) The yield of humic acid (h-1) and fulvic acid (f-1a and f-1) in hot extraction was higher than that in temperate extraction. Their rates of increase of yield by hot extraction to those by the temperate one were similar, and they were from several per cent to two times. They increased in the following order as black soil, especially its B horizon < degraded black soil, dark red soil, wet podzol < brown forest soil.

- 2) The difference of C_h/C_f ratio between both extractions was rather small.
- 3) The form of absorption spectra of Na-humate solutions of both extracts was similar. But the absorption bands at about 615, 570 and 450 $m\mu$ of the spectra of A_2 and B_1 of Ōtaki P 1 (wet podzol) weakened by hot extraction.
- 4) The $\Delta \log k_1$, $\Delta \log k_2$ and Rf were usually similar in both extractions. But some soils expressed decreases either of $\Delta \log k_1$ and $\Delta \log k_2$ or both of them and Rf.

The chemical structure of humic acid is supposed to be composed of the highly condensed aromatic carbon nets and the side-chains attached to them¹⁵⁾²²⁾. The optical property of Na-humate solution is supposed to be dependent on the status of aromatic carbon net structure. Considering the above-mentioned results, it may safely be said that the aromatic carbon net structure would be unaffected substantially with the hot dilute alkaline extraction.

The increments of the yield of the extracted humus by hot dilute alkaline extraction is dependent on the partial solution of humin that is unextractable with temperate alkaline solution.

Though the more abundant yield of humus extracted with hot dilute alkaline extraction than that with temperate one may be convenient on the soils poor in extractable humus, the differences of the absorption spectra of Na-humate solution among the soils are expressed more clearly and the possibility of alteration of humic acid may increase with hot extraction in comparison with those with temperate one. Considering these results, the author adopted the temperate extraction for the routine analysis.

8. The humus form in 0.1 M Na-pyrophosphate-0.1 N NaOH mixture extract

8-1. The objective

A number of researchers criticized the humus extraction with alkaline solution, asserting that it brought about an alteration of the humus. The humus extraction with NaF or Na-oxalate solution in temperate condition had been used by some authors. The neutral $Na_4P_2O_7$ solution has often been used for the same purpose in recent times. However, the yield of extracted humus with these solutions is clearly less than that with alkaline solution.

Recently KONONOVA and BEL'CHIKOVA¹⁶⁾ proposed a method of humus extraction with 0.1 M $Na_4P_2O_7$ -0.1 N NaOH mixture. They said that the yield of humic acid and fulvic acid extracted with this mixture was equivalent to that with 0.1 N NaOH solution after decalcification of soil by TYURIN's method⁴¹⁾. They recommended it as a simplified TYURIN's method.

The USSR researchers used to attach great importance to the humus combined with Ca (Fraction 2). However, as the soils, especially forest soils, in our country are usually acidic and poor in Ca, the author wished to try their method on our forest soils.

8-2. The analytical method

Twelve soils of various soil groups, including the neutral or slightly alkaline soils of limestone origin, were analysed.

The analytical procedures were the same as those described in 2-2 with the freshly prepared 0.1 M $Na_4P_2O_7$ -0.1 N NaOH mixture (pH value was about 13) in place of 0.1 N NaOH solution.

8-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 6 and Fig. 3.

Comparing with the whole humus composition expressed in Table 8 and the absorption

spectra of the fractionated humic acids in Fig. 4 and 5, the following results were obtained:

On the soils very rich in exchangeable Ca and with high pH value, A₁ of Mt. Ibuki P 1 and Okinawa P 82 and A of Kinshozan P 1 of limestone origin, and A₁ and B₁ of Fukuyama pn-P 3 of paeleozoic rock origin, their humus composition and optical property of humic acid were similar to those in 0.1 N NaOH extract after being decalcified with N Na₂SO₄ solution. These results agreed well with those by KONONOVA and BEL'CHIKOVA¹⁶⁾. However, the yield of humic acid and fulvic acid was less, $\Delta \log k_1$ and $\Delta \log k_2$ were increased and R_f value was decreased as compared with those in 0.1 N NaOH extract after N H₂SO₄ pretreatment on these soils.

These facts suggest that the Fraction 3 (strongly combined with R₂O₃ in silicate form) was unextractable with 0.1 M Na₄P₂O₇-0.1 N NaOH mixture.

Forest soils in our country being usually acidic and poor in exchangeable Ca, the distribution of these soils rich in Ca and Fraction 2 is limited and rather exceptional here.

On the other soils, A₁ and B of Daimon, A₁ of Niimi P 17 and P 10, B of Kinshozan P 1, A₂ and B₁ of Ōtaki P 1, the yield of humic acid and fulvic acid in 0.1 M Na₄P₂O₇-0.1 N NaOH extract was less than that in 0.1 N NaOH extract without pretreatment. But the optical property of humic acid in both extracts was similar. These soils were acidic and poor in exchangeable Ca. Furthermore, the author confirmed similar results on various soils belonging to the same type (unpublished).

The extraction of the free and all combined humus fractions (Fraction 1, 2 and 3) with this mixture was expected; however, in view of the above-mentioned results, the author abandoned their extraction with this mixture for the routine analysis of the humus form of our forest soil.

9. The determination of Fraction 2 (humus combined with Ca)

9-1. The objective

Methods for the determination of humus combined with Ca were proposed. Some authors used NaF or Na-oxalate extraction. However, the yield of extracted humus in these extracts was less than that in 0.1 N NaOH extract after the decalcification of the soil. These extractions are rather qualitative and insufficient for the quantitative determination of Fraction 2.

The other methods determined this fraction by the difference between the amounts of humus in dilute NaOH extracts with or without decalcification of soil. SPRINGER³⁶⁾³⁷⁾ used 5% HCl for 30 min. at 70~80°C, TYURIN⁴¹⁾ N Na₂SO₄ solution for 24 hrs at laboratory temperature, and PONOMAREVA³⁴⁾ 0.1 N H₂SO₄ for 24 hrs at laboratory temperature for the decalcification of the soil.

The author had used SPRINGER's pretreatment in his previous work¹¹⁾, but he interpreted that it removed not only Ca and Mg but also R₂O₃ combined with humus. In his opinion, either of the pretreatments after TYURIN and PONOMAREVA would be useful for the decalcification of soil. He wished to compare the two pretreatments.

9-2. The analytical method

Ten soils of various soil groups were analysed.

The analytical procedures were the same as those described in 2-3 with N Na₂SO₄ solution or 0.1 N H₂SO₄ pretreatment.

9-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 7 and Fig. 4.

More abundant humic acid and fulvic acid were obtained in 0.1 N NaOH extract after 0.1 N H_2SO_4 pretreatment than that after N Na_2SO_4 pretreatment except A_1 of Daimon that was very poor in humus combined with Ca and R_2O_3 (Fraction 2 and 3).

The Fraction 2 was undetectable after N Na_2SO_4 pretreatment but an appreciable amount of it was found after 0.1 N H_2SO_4 pretreatment on A_2 and B_1 of Ôtaki P 1 and B of Kinshozan P 1. Ôtaki P 1 belonged to the wet podzol and Kinshôzan P 1 to dark red soil. As they were acidic and very poor in exchangeable Ca, the occurrence of Fraction 2 was not anticipated. Furthermore, on A_1 of Okinawa P 82 of limestone origin, the yield of Fraction 2 was fairly much increased after 0.1 N H_2SO_4 pretreatment comparing with that after N Na_2SO_4 pretreatment. In the author's opinion, the inconsistency between the Ca status and the yield of Fraction 2 after 0.1 N H_2SO_4 pretreatment suggested that a part of Fraction 3 (humus combined with R_2O_3 in silicate form) was added to Fraction 2 after this pretreatment. Some researchers of our country⁴³⁾⁴⁴⁾ obtained similar result on the humic allophane soils.

The optical property of humic acid after both pretreatments was similar on most soils. The fact suggested the similarity of the optical property of humic acid in Fraction 2 and 3 (h-2 and h-3).

Considering the above-mentioned results, the author adopted the N Na_2SO_4 pretreatment for the determination of Fraction 2.

10. The determination of Fraction 3 (humus combined with R_2O_3 in silicate form)

10-1. The objective

The analytical method for Fraction 3 (humus combined with R_2O_3 in silicate form) was proposed by TYURIN⁴¹⁾ and his method was simplified by PONOMAREVA⁴⁴⁾. It was successively extracted from the residue that Fraction 1 and 2 were extracted in these methods. The author adopted the washing of the residue with 0.4 N Na_2SO_4 solution in the extraction of Fraction 1 and 2. In this case 10~20% of extractable humus would remain in the residue and it would be extracted in the successive 0.1 N NaOH extract at the following isolation of Fraction 3 as above-mentioned in 5 and described later in 11. Therefore, the author had to adopt the separate extraction of Fraction 3. If the removal of Ca and R_2O_3 in silicate form combined with humus with any pretreatment and the following extraction of Fraction 1, 2 and 3 with 0.1 N NaOH solution is possible, the yield of Fraction 3 is easily determined by subtracting the sum of Fraction 1 and 2.

The author pointed out in his previous work¹¹⁾ that the amount of humus combined with minerals was usually little in our forest soil. Some agricultural researchers contend that the amount of Fraction 2 was usually little in the soils of our country, too. In the author's opinion, as above-mentioned in 2-5, the determination of the sum of Fraction 2 and 3 would be sufficient for the humus forms of our usual forest soil. With this in mind, an examination of the effect of various pretreatments was undertaken.

10-2. The analytical method

The author selected the following pretreatments:

1) 0.5 N H_2SO_4 for 24 hrs at 30°C, 2) N H_2SO_4 for 24 hrs at 30°C and 3) N H_2SO_4 for 2 hrs on a water bath.

1) was adopted by TYURIN⁴¹⁾ and 3) by PONOMAREVA⁸⁴⁾ as the pretreatment for the determination of Fraction 3 on the residue after the extraction of Fraction 1 and 2. 2) was added by the author.

Nine soils of various soil groups were analysed.

10-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 8 and Fig. 4.

The yield of humic acid and fulvic acid was slightly increased with N H₂SO₄ pretreatment at 30°C in comparison with that with 0.5 N H₂SO₄ pretreatment at 30°C on every soil.

Comparing the humus composition with N H₂SO₄ pretreatment on a water bath with that with N H₂SO₄ pretreatment at 30°C, the increased yield of acid soluble humus (f-1a), the approximate or slightly decreased yield of humic acid (h-1+h-2+h-3) and the decreased yield of fulvic acid (f-1+f-2+f-3) were obtained on all soils examined. However, the sum of acid soluble humus (f-1a) and fulvic acid (f-1+f-2+f-3) were increased.

In TYURIN's opinion, the humus status in the soil is the complex of humic acid and fulvic acid and it separates into both fractions in alkaline solution by hydrolization. On the basis of the same opinion and the following assumption that the combination of humic acid and fulvic acid is partially decomposed by hot N H₂SO₄ treatment and a part of fulvic acid dissolved into N H₂SO₄, the above-mentioned increase of acid soluble humus and the decrease of fulvic acid by this treatment is easily acceptable. The addition of the hydrolyzed fraction of a part of humic acid and the N H₂SO₄ hydrolyzable carbon as described in 11 and 12 would help the increase of the sum of acid soluble humus (f-1a) and the total fulvic acid (f-1+f-2+f-3).

The following agencies would have an effect on the humic acid by hot N H₂SO₄ treatment:

1) The partial decomposition of humic acid as described later in 12. The rate of decomposition would be somewhat less than that expressed in Table 10 as the acidity of H₂SO₄ would be decreased by the soil minerals.

2) The occurrence of the humic acid afresh extractable with 0.1 N NaOH solution as described later in 11.

3) Presumably the increase of solubility of humic acid in 0.1 N NaOH solution by the decrease of fulvic acid.

Though the yield of humic acid of every soil with hot H₂SO₄ pretreatment was somewhat less than that with temperate N H₂SO₄ pretreatment, the alteration of the humic acid was forecasted. It was ascertained by its optical property.

Comparing the effect of these three H₂SO₄ pretreatments on the optical property of humic acid, the following facts were confirmed:

1) The forms of absorption spectra were similar.

2) $\Delta \log k_1$, $\Delta \log k_2$ and Rf by 0.5 N H₂SO₄ and N H₂SO₄ treatment at 30°C were almost the same.

3) The decrease of either of $\Delta \log k_1$ and $\Delta \log k_2$ or both of them and the increase of Rf with hot H₂SO₄ treatment in most soils in comparison with those with temperate N H₂SO₄ treatment.

The heterogeneity of the optical property of humic acid with both N H₂SO₄ treatments would be on account of the alteration of the humic acid with hot N H₂SO₄ treatment as described later in 12.

Considering the above-mentioned results, the author adopted N H₂SO₄ treatment for 24 hrs at 30°C for the determination of Fraction 3.

11. The supplement of the determination of Fraction 3 (the effect of the alternately repeated treatment of $N H_2SO_4$ and 0.1 N NaOH solution after TYURIN⁴¹⁾)

11-1. The objective

The author wished to examine the effect of the alternately repeated treatment of H_2SO_4 and NaOH solution after TYURIN⁴¹⁾ on the determination of Fraction 3.

11-2. The analytical method

Two couples of soil extracted with 0.1 N NaOH solution after temperate H_2SO_4 pretreatment as described in 2-4 were provided. One of them was repeatedly extracted with 0.1 N NaOH solution after $N H_2SO_4$ treatment for 1 hr on a water bath, and the other without any H_2SO_4 treatment. The analytical procedures were the same as those described in 2-4 but 0.1 N NaOH-0.4 N Na_2SO_4 mixture was used for the washing solution in the secondary 0.1 N NaOH extraction. As the last washing solution of every soil was colorless, the extraction of humus was deemed complete.

Eight samples of various soil groups were analysed.

11-3. The result and discussion

The analytical results were expressed in Table 9 and Fig. 5.

Comparing the humus composition and optical property of humic acid in repeated 0.1 N NaOH extract without secondary hot $N H_2SO_4$ treatment with those in the first NaOH extract, the following results were obtained:

- 1) The yield of humic acid of every soil was about 10~20%.
- 2) On the optical property of humic acid of A_2 and B_1 of Ôtaki P 1, the decrease of $\Delta \log k_1$ and $\Delta \log k_2$ was very distinct and their form of absorption spectra was fairly different, though the characteristic absorption bands of Pg type humic acid at about 615, 570 and 450 $m\mu$ were still observed.
- 3) $\Delta \log k_1$ and $\Delta \log k_2$ of lower horizon of other soils were decreased but their alterations of upper horizon did not indicate any certain trend.
- 4) The fact that $\Delta \log k_1$ was increased comparing with $\Delta \log k_2$ in the secondary 0.1 N NaOH extract of surface horizon of every soil except Ôtaki P 1 was specific. It was never found by the author in other cases up to the present.
- 5) Rf was clearly decreased in every soil.

The above-mentioned facts suggested that the humus would be the heterogeneous mixture of polymers different from their solubility in NaOH solution and the optical property of humic acid as described in 5-3.

The following results were obtained on the humus composition and the optical properties of humic acid in the secondary 0.1 N NaOH extract with repeated hot $N H_2SO_4$ treatment comparing with those without H_2SO_4 treatment:

- 1) The yield of humic acid and fulvic acid was decreased but the yield of total humus extract including the $N H_2SO_4$ -hydrolyzable carbon was increased in every soil. The decreased yield and the altered optical property of humic acid with hot $N H_2SO_4$ treatment would be on account of the partial decomposition of humic acid as described later in 12. However, the fact that the rate of decrease of humic acid yield in this case was less than that on the humus extract as described in 12 was on account of the existence of humus fraction altered to 0.1 N NaOH extractable status with hot H_2SO_4 treatment, and the rate of partial decomposition of humic acid in this case was less than in the humic acid (h-1) in 0.1 N NaOH

extraction. Taking either of these assumptions or both of them, it would be supposed that the amount of humus altered to 0.1 N NaOH extractable status by the secondary hot N H_2SO_4 treatment would be scanty.

2) The N H_2SO_4 -hydrolyzable carbon content of surface soil was more abundant than that of the lower soil in every profile.

3) $\Delta \log k_1$ decreased and Rf increased in every soil. But the alteration of $\Delta \log k_2$ of every soil was different and it was of no certain trend.

Considering the above-mentioned results, the author abandoned the alternately repeated hot H_2SO_4 and 0.1 N NaOH treatment for the determination of Fraction 3.

12. The effect of temperature and acidity of H_2SO_4 treatment on humic acid

12-1. The objective

The results described in 11 suggested the partial decomposition of humic acid and the alteration of its optical property with hot H_2SO_4 treatment. Proceeding further, the author wished to clarify the effect of temperature and acidity of H_2SO_4 treatment on the humic acid as basic information for the determination of the humus form.

12-2. The analytical method

Fourteen soils of various soil groups were analysed.

Adequate 0.1 N NaOH extract of most soils without any pretreatment and that of a part of soils with N H_2SO_4 pretreatment were prepared by the same procedures as described in 2-2 and 2-4, respectively. 100 ml of each extract was pipetted into 200 ml Erlenmeyer flask and its acidity was adjusted with adding the necessary volume of 1:3 H_2SO_4 .

The following four treatments were examined:

1) 0.26 N H_2SO_4 acidic for 1 hr at laboratory temperature. It is the same as the ordinary procedure for the separation of humic acid described in 2-2-2.

2) 0.5 N H_2SO_4 acidic for overnight at 30°C.

3) N H_2SO_4 acidic for overnight at 30°C.

4) N H_2SO_4 acidic for 2 hrs on a water bath.

The following procedures for the determination of yield and optical property of humic acid were the same as those described in 2-2-3 and 2-2-4.

12-3. The result and discussion

The results were expressed in Table 10.

At the beginning of this examination the above-mentioned four treatments were carried out on four soils, A₁ of Niimi P 17, A₁ of Fukuyama pn-P 3, A of Fukuyama P 7 and B₁ of Ôtaki P 1. The author chose soils the humus forms of which were widely different as expressed in Table 10. No clear difference was found on the yield and optical property of humic acid of every soil except B₁ of Ôtaki P 1 with 0.26 N, 0.5 N and N H_2SO_4 acidic temperate treatments. The yield of humic acid was slightly increased and its $\Delta \log k_1$ and $\Delta \log k_2$ were slightly altered by 0.5 N and N H_2SO_4 acidic treatments for 24 hrs comparing with that by 0.26 N H_2SO_4 acidic for 1 hr treatment. It suggested that the acidity of H_2SO_4 and the time of reaction slightly affected the coagulation of humic acid gel of some soils. However, as its difference was very slight, 0.26 N H_2SO_4 acidic treatment for more than 1 hr as described in 2-2-2 would be practically sufficient for the separation of humic acid from humus extract.

The decrease of the solubility in 0.1 N NaOH solution and the yield of humic acid, and its alteration of optical property were observed with hot H_2SO_4 acidic treatment in comparison with those with temperate N H_2SO_4 acidic treatment. The degree of decrease and alteration was different in every soil.

The author supplemented investigation on these points with other soils and he found the following facts on the humic acid with the hot N H_2SO_4 acidic treatment comparing with that with the temperate H_2SO_4 acidic treatment:

1) The solubility of humic acid in 0.1 N NaOH solution decreased except that of A_1 and B of Niimi P 17, which seemed to be unaffected. The hot 0.1 N NaOH solution had to be used for the complete solution of humic acid in 100 ml/ volume flask.

2) The yield of humic acid was decreased. The rate of decrease was from 11 to 27%. It was more distinct in lower soil than that in surface soil on every profile.

3) Comparing the surface and lower soil, respectively, the solubility and yield of humic acid decreased with the decreasing of their Rf except the humic acids of A_2 and B_1 of Ôtaki P 1, which expressed a unique absorption spectra from other soils.

4) The decrease of $\Delta \log k_1$ and $\Delta \log k_2$ and the increase of Rf of the humic acid were found, but their form of absorption spectra expressed no clear difference with hot H_2SO_4 treatment. Assuming that the optical property of humic acid would be dependent upon its aromatic carbon net structure as described in 7, it suggested that hot N H_2SO_4 acidic treatment would not affect its aromatic carbon net structure, but would partially decompose the side-chains attached to it.

13. The determination of f-la (acid soluble humus)

13-1. The objective

In TYURIN'S opinion⁴¹⁾, the humic acid and fulvic acid compose a complex in the soil. They are free from minerals, weakly combined with R_2O_3 or strongly combined with Ca or R_2O_3 in silicate form. There is another humus fraction, the so-called acid soluble humus (f-1a) in the soil. Its property is similar to that of the fulvic acid and it dissolves into dilute mineral acid as it does not compose a complex with humic acid.

The proposals for the determination of acid soluble humus were as follows:

- 1) 5% H_2SO_4 extraction for 30 min. at 70~80°C after SPRINGER³⁶⁾³⁷⁾.
- 2) 0.5 N H_2SO_4 extraction for 24 hrs at laboratory temperature after TYURIN⁴¹⁾.
- 3) 0.1 N H_2SO_4 extraction for 24 hrs at laboratory temperature after PONOMAREVA³⁴⁾.
- 4) The author added N H_2SO_4 extraction for 24 hrs at 30°C. If it is possible, the determination of acid soluble humus could be conducted simultaneously with the pretreatment for the determination of Fraction 3.

The author wished to compare these four methods.

13-2. The analytical method

Twelve soils of various soil groups were analysed.

Sample containing about 200 mg organic carbon was placed in 200 ml/ ERLLENMEYER flask and 100 ml/ of H_2SO_4 with desired acidity was added. It was kept for 24 hrs at 30°C with occasional stirrings or for 30 min. at 75±5°C in a water bath, and after that it was left for overnight at 30°C. The following procedures were the same as those described in 2-4.

13-3. The result and discussion

The yield of acid soluble humus of every soil increased in the following order as $0.1\text{ N H}_2\text{SO}_4 < 0.5\text{ N H}_2\text{SO}_4 < \text{N H}_2\text{SO}_4$ at $30^\circ\text{C} < \text{N H}_2\text{SO}_4$ at $75 \pm 5^\circ\text{C}$. The difference of the yield between $0.5\text{ N H}_2\text{SO}_4$ and $\text{N H}_2\text{SO}_4$ temperate extraction was little on all soils analysed. The difference between $0.1\text{ N H}_2\text{SO}_4$ and $0.5\text{ N H}_2\text{SO}_4$ extraction and that between $\text{N H}_2\text{SO}_4$ extractions at 30°C and $75 \pm 5^\circ\text{C}$ were increased fairly much on most soils.

Considering the above-mentioned results, the author chose the $\text{N H}_2\text{SO}_4$ extraction for 24 hrs at 30°C for the determination of acid soluble humus, as it was able to be done simultaneously with determination of Fraction 3.

14. The basal opinion of the author on the humus form and the analytical method for its determination

14-1. On the humus form

The study of soil humus has drawn the active attention of agricultural researchers in our country since the end of World War II. Until that time the studies of the German School, SIMON⁸⁵⁾, SPRINGER⁸⁶⁾³⁷⁾ and HOCK⁶⁷⁾, on the humus had infused an important effect on their early works. The German researchers attached importance to the optical property, the color tone of humus, especially that of humic acid. In their basal opinion, the color tone of the humic acid altered, increasing the blackish tone, in the following order as yellow→reddish brown→brown→blackish brown with the progress of humification as expressed in the following order as lignin→humic substance→brown humic acid→gray humic acid→humin. They applied this fundamental concept to the humus form of various soil groups and clarified their characteristic and their mutual relation. The characteristic of their work should be expressed as the qualitative grasp of the humus form.

The introduction of the studies of the USSR School into our country was since the latter half of 1950. TYURIN's work⁴¹⁾ on the analytical method for the determination of humus composition of various soil groups in the USSR and its geographical principle, was very stimulative. The works of the USSR School that attached an importance to the humus composition should be characterized as the quantitative grasp of the humus form.

The author's basal opinion is as follows, and it is the same as that of his previous work¹¹⁾:

The effects of the environmental factors on the genetic process of forest soils would be reflected on the difference of their humus form, especially the humus composition and the optical property of humic acid. He pointed out the correlation between the humus form, e. g. the content of humic acid, C_h/C_f ratio, the color quotient and R_f of humic acid, of the various types of soil of the brown forest soil and podzolic soil group, respectively, where their genetic processes advanced under the effect of the prevailing environmental factors.

The main object of the studies on humus form by the German and the USSR Schools was the various great soil groups. However, in the author's opinion, it should be necessary to clarify the characteristic of humus form of not only the various great soil groups under forest but also the types of soil of each great soil group in our country.

The transition of the forest vegetational zone in our country is as follows:

The warm-temperate broad-leaved evergreen forest in southwest Honshû, Shikoku and Kyûshû including the subtropical forest in the Southwest Islands, the cool-temperate deciduous forest in northwest Honshû and southwest of Hokkaidô, and the subboreal coniferous forest

in the north of Hokkaidô are found in horizontal distribution. On mountains, the similar transition to the subalpine coniferous forest is found in accordance with their elevation in the vertical distribution.

The clarification of the effect of these environmental factors, climate, forest vegetation, topography, etc., on the humus form of our forest soil is the problem to which our forest soil researchers have to direct their efforts. Allowing this, detailed information on the humus form with the combination of humus composition and optical property of humic acid would be necessary, and in fact essential.

14-2. On the analytical method for the determination of humus form

The author set his mind to modifying his previous method on the determination of humus form accepting the information gained up to the present time.

The Kobo and OHBA's⁸¹⁾ and KUMADA's⁸²⁾ methods for the determination of the humus form were fairly prevalent in our country. In the author's opinion they were excellent on the determination of the optical property of the humic acid. However, he was dissatisfied with the following points; hot NaOH extraction, the lack of the determination of the humus fraction strongly combined with soil minerals, and the KMnO_4 oxidometry for the determination of the humus fractions.

The TYURIN's method⁴¹⁾ was excellent on the determination of the humus composition. Nevertheless, as the determination of the optical property of humic acid was insufficiently dealt with for the author's requirements, the author designed a newly improved method with the combination of TYURIN's method for the determination of the humus composition and Kobo and OHBA's and KUMADA's methods for the determination of the optical property of humic acid.

However, the consumption of a great deal of work and time was an obstacle to TYURIN's method, and the combination of the optical determination of every humic acid with his method remarkably increased the difficulty. The propositions of the modification (simplification) of his method by the researchers of his country¹⁶⁾⁸⁴⁾ were on account of the same reason. The author wished to simplify his method, too.

The results of the examination of the various methods for the determination of humus were described in 3-13.

The author modified the optical determination of humic acid after Kobo and OHBA, and KUMADA as follows:

- 1) He extended the wave length region from 700 $\text{m}\mu$ to 900 $\text{m}\mu$. It would be useful for the clarification of the characteristic of the humic acid of various soil groups and the soil types. The differences among them will be expressed in the following reports.

- 2) The R_f of humic acid is expressed with the absorption coefficient at 600 $\text{m}\mu$ of the Na-humate solution containing carbon 100 mg per liter. It was the same as that of the author's previous work⁴¹⁾.

The new method for the determination of humus form proposed by the author was described in 2.

15. Acknowledgement

The author gratefully acknowledges the friendly cooperation of Dr. Kurotori T. and Mr. Kojima T., Soil Division of the Experiment Station, Tokyo, in their presenting to him the Okinawa soil. He is also indebted to the Director of this Branch for his encouragement in carrying out this work.