

足下を覗いて地球を調べる：土・水の有機物分析

藤 嶽 暢 英*

はじめに

筆者は40年にわたって土壌や陸水に含まれる有機物（腐植物質や溶存有機物）に関する研究をおこなってきた。海洋化学との接点は？といえばあまりピンとこない方々もおられるだろう。しかし、腐植物質や溶存有機物は土壌のみならず地球表層のあらゆる環境にユビキタスに存在し（図1）、海洋においてもその存在は知られている。土壌や河川水中に含まれる腐植物質は、海洋の植物プランクトンなどへの栄養塩や金属元素を供給するキャリアーとして働くことが知られており、沿岸生態系に大きな影響をもたらす。さらに、土壌中に永久凍土として封じ込められていた腐植物質が地球温暖化による温度上昇によって融解し、河川を通じて海洋に流出するという点でも接点があるだろう。

ここでは筆者がこれまでに行ってきた研究の流れを振り返りながら現在に至るまでの軌跡を紹介する。

腐植物質とは

ユビキタスな有機成分



図1. 腐植物質とは

腐植物質とは

土壌有機物の起源となる物質は、落葉落枝や枯死根などの植物遺体、ならびに微生物や動物の遺体に加えて、生体が土壌に加える排泄物や代謝産物、すなわち、そうした遺体に含まれるタンパク質や脂質、糖類などのあらゆる生体成分が土壌に付加される可能性がある。ただし、これらの多くの成分は微生物によって速やかに分解されて二酸化炭素として大気圏に放出され、あるいは雨水に溶けて溶存有機物として水圏へと流出する。それでも土壌に留まった有機成分は、生物化学的分解・重縮合反応や鉄などの金属触媒による酸化作用などを経て、腐植物質と呼ばれる土壌固有の暗色無定形の有機成分が形成される¹⁾。分解や流出によって比較的短時間しか土壌に留まらない有機物と腐植物質として長時間滞留する有機物の割合は土壌環境に応じて変化する。土壌の炭素貯留量が土壌環境に左右され、そのことが陸域における炭素循環、ひいては地球温暖化に影響をもたらす要因ともなるわけだが、それについては後述する。腐植物質は土壌ではpH緩衝作用や栄養塩の保持、団粒形成作用など多くの機能を発現する重要な成分であるが（図1）、複雑多様な高分子混合物であるために200年以上の研究の歴史をもちながらも、いまだにその実態が十分に捉えられているとは言い難い。土壌学の教科書をめくっても、どのような化学構造物質をイメージすればよいかは定かではなく、現代のピュアケミストリーにおける表現型では説明できないとも言われてきた²⁾。それでも土壌における重要な役割を担っており、機能発現の根拠を明らかにすることは重要な命題の一つである。

*神戸大学大学院農学研究科生命機能科学専攻教授

腐植物質の多分散性に着目して

複雑多様な混合物である腐植物質の化学構造を把握するためには、分子サイズに応じて多分散性を減少させた試料を用意し、それらの化学構造特性と分子サイズとの関係を解析する必要があると考え（図2）、分取レベルでのゲルろ過法や高速サイズ排除クロマトグラフィー、pH別逐次抽出法などを用いた分画法を改良・開発した。その結果、分子サイズの増加が脂肪族鎖（メチレン基）の長さ依存すること、ただし、依存の仕方（影響の大きさ）は土壌によって異なることを見出し、サイズと構造特性との関係のイメージ（図3）を示した^{3,4)}。

これらの手法以外にも小角X線散乱法、メチル誘導化法など様々な手法を駆使して研究を続けて一定の成果は得られたものの⁵⁾、構造決定（推

定）には至らずに隔靴搔痒の思いを拭えなかった。

腐植物質の多様性に目を移して

この当時までは土壌の腐植物質を中心に研究していたが、日本腐植物質学会として琵琶湖水中の腐植物質を採取し、標準試料として頒布するというプロジェクトが立ち上がった。それまで有色（褐色）水の河川や湖沼からの腐植物質の分離精製は実施されていたが、我が国の多くの陸水に見られるような非有色水中の腐植物質を大量に採取した例は国内外でもなかった。この機会にオンフローの大量分取システムを開発し、156 tの水から18 gの腐植物質（フルボ酸）粉末を得ることができた⁶⁾。このシステムのスケールを適宜アップダウンすることで様々な河川や湖沼水の腐植物質を採取して分析できるようになった。結果として、世界各国の土壌腐植物質はもとより、土壌水や河川・湖沼の水系腐植物質を合わせて数百に及ぶ腐植物質を手にすることとなった。

腐植物質が起源となる物質（木本成分主体かプランクトン主体かなど）や生成環境（温度や水分）、生成年代（時間）によって多様な化学構造特性を示すことを、今更ながら改めて実感することとなった。すなわち、腐植物質の多様性に目を移して機能性との関係を探ることに基本方針を修正した。

腐植物質の化学構造特性の多様性を整理すると、例えば土壌の腐植物質（フミン酸）の一部（n=126）を取り上げただけでも図4（a）のように多様な特性を示し、分布範囲は著しく広い範囲であることがわかる。この分布範囲の広さ（多様性）を逆手に取り、腐植物質の機能性と化学構造特性との関係を効率的に進める方針で研究を進めた。例えば、図4（b）に示したように、横軸を窒素含量、縦軸をNMR分析に基づいた芳香族度（構成炭素のうち芳香族炭素の占める割合）で表した散布図をもとに、およそ5つのクラスターに分別し、それぞれのクラスターから数個ずつの代表試料を選定して機能性試験を実施することで、効率的な解析が可能となる。図5は多様な化学構造特性を

分子サイズ別分画法



図2. 腐植物質研究のストラテジー

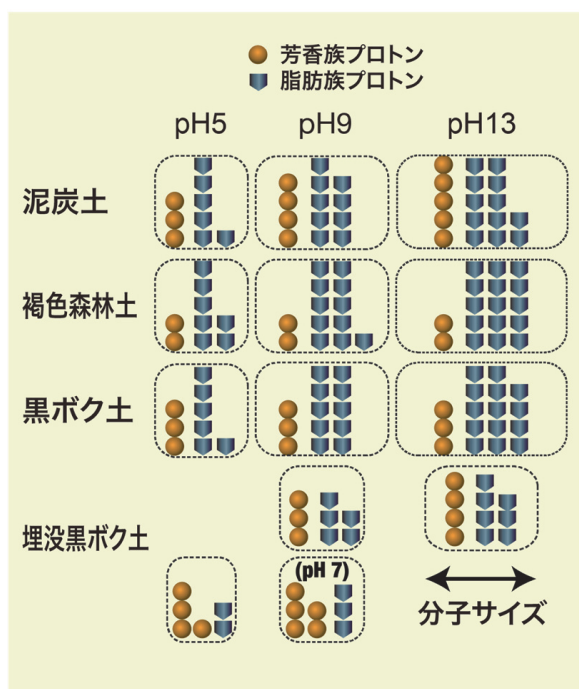


図3. 腐植物質の分子サイズと化学構造特性の関係のイメージ図

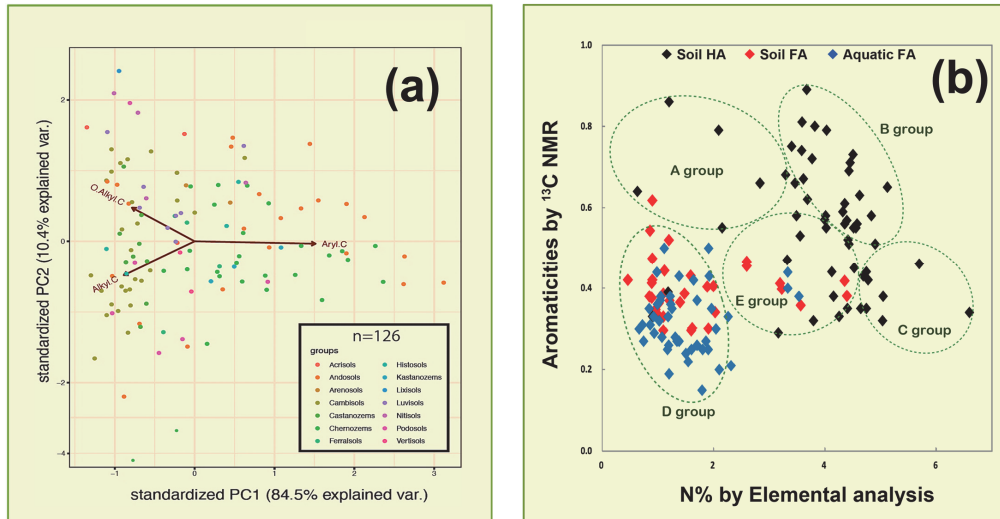


図 4. 腐植物質の化学構造特性の多様性の例：(a) ^{13}C NMR 分析による土壌フミン酸の官能基組成比を説明変数とした主成分分析の結果 (b) ^{13}C NMR 分析による芳香族度と元素分析による N% の散布図

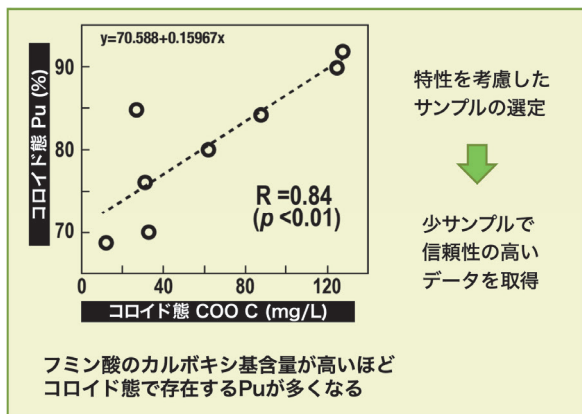


図 5. Pu の存在形態に影響を及ぼすフミン酸の構造特性

持つ 8 つのフミン酸を選定して試験することで、少サンプルでも信頼性の高いデータを効率よく取得した好例である⁷⁾。図 4 (b) の同じクラスター内から 8 サンプルを用意していた場合、こうした結果は見出せなかったと考えられる。

腐植物質から炭素循環へ

腐植物質の多様性を踏まえた上で、鉄や放射性核種、有機汚染物質などとの相互作用について研究を進める中で、腐植物質の分解性（安定性）との関係についても着手していた。折しも、土壌中の炭素貯留量が地球温暖化に深く関わるのが、主に生態学分野でトピックスとなり、IPCC の報告書でも土壌への炭素固定に関する話題に触れ

られるようになってきた。IPCC の 2021 年の報告書⁸⁾では、土壌中の炭素は大気中の二酸化炭素の炭素量の 2 倍存在し、地上バイオマス炭素（植物体炭素）の 4 倍量に相当することが示されている。すなわち、陸域生態系における土壌炭素の動態は炭素循環に多大な影響を与え、ひいては地球温暖化に直結する課題の一つであることが認識されるようになった。陸域生態系の炭素循環を図 6 に示したが、この図の中の土壌に付加される炭素（落葉落枝や枯死根の炭素）と土壌から大気へ二酸化炭素として放出する炭素の量を把握することは比較的容易である。しかし、土壌の中で速やかに分解される生体分子と土壌に長時間滞留する腐植物質の実態をつかまなければ、土壌中での炭素

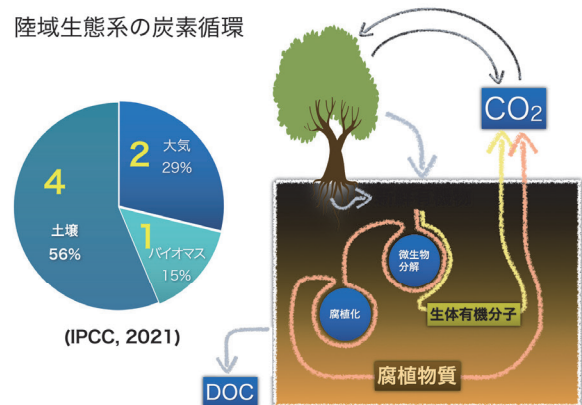
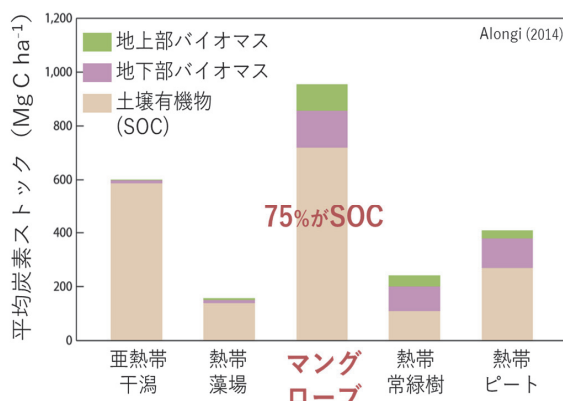


図 6. 陸域生態系における炭素循環

生態系別の単位面積当たりの平均炭素貯蓄量



マングローブ林は炭素貯留能力が極めて高い

炭素貯留メカニズムの仮説

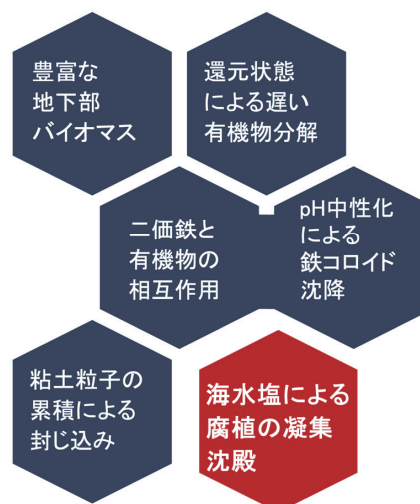


図7. マングローブ林生態系における土壌炭素貯留

動態を把握することは難しい。そもそも土壌有機物を研究している研究者が数少なかったために生態学の研究者たちから誘いを受けて炭素循環研究にも足を踏み入れる運びとなった。

世界の3極地と炭素循環

北極や南極に高標高のチベット高原を加えた世界の3極地と呼ばれる地域は、生物にとって著しく厳しい生存環境である。したがって、わずかな気候変動に対してでも、他地域より敏感、かつ脆弱に反応する生態系であり、温暖化の影響をより強く反映する場である。そうした理由から、3つの極地に足を運び、調査研究をすることとなった。はじめに、チベット高原の標高4000 m付近の草地において予想以上の炭素が蓄積していることや、その蓄積メカニズムを一部明らかにした⁹⁾。ただし、当初予定していた温暖化影響試験については相手国の諸事情によって中断を余儀なくされ、研究はお蔵入りとなった。次いで、高緯度北極地域スバル諸島(北緯79°)における湿原生態系の炭素循環を調査し、凍土の夏期融解による溶存有機物の流出量の実態をモニタリングした。その結果、湿原のコケ類による光合成固定炭素量や湿原から排出される土壌呼吸炭素量にくらべて、河川を通じて湿原系外に流出する溶存有機炭素量

はそれらを凌駕する値であることを示した¹⁰⁾。さらに、58次南極地域観測隊隊員として南極を訪れ、露岩域における湖沼や河川水の特異性解析などもおこなった^{11,12)}。これら極地の研究については、まだ追跡調査が必要な項目が残されていたりする関係で、成果は十分には追いついていないのが実情であるが継続して研究を行なっている。これらの極地に加えて汽水沿岸域のマングローブ林地帯で、土壌炭素が卓越して多く貯留していることが知らされ¹³⁾、その炭素貯留メカニズムの解明にも力を注いでいる(図7)。従来からのメカニズムとして、嫌気条件による低分解活性、多大な根密度、鉄との複合体形成などの幾つかの仮説が提唱されていたが、我々の研究によって、腐植物質が海水塩の影響によって凝集沈殿する機構が新たに唱えられることとなった¹⁴⁾。

おわりに

自身まだまだ研究途上であり、研究を進めれば進めるほど、土壌そのものについてもブラックボックスに溢れていることに気付かされる。腐植物質の実態についても冒頭で触れたように、現代のピュアケミストリーの表現系(化学構造式)で対応しきれない、動的な物質に思われ、むしろ数理統計学的手法で表現されるべき物質ではないか

と感じている。森の構成成分である木の一本一本の性質や量、それらの持つ機能を克明に理解できたとしても、森という集合体の持つ機能を十分に説明できるとは限らない。土壌や腐植物質についても、そのロジックは当てはまるのではないだろうか。こうした複雑系、集合体としての機能や評価は今後もますます重要性を増す課題となるに違いない。微力ながら今少しこの分野の発展に貢献できるように尽力する所存です。

引用文献

- 1) Stevenson, F. J. (1994) "Humus Chemistry: Genesis, composition, and reaction", 2nd ed., J. Wiley & Sons, New York.
- 2) 藤嶽 (2016) 学術の動向, **21**, 49-53.
- 3) Kawahigashi et al. (1996) *Soil Sci. Plant Nutri.*, **42**, 355-360.
- 4) Fujitake et al. (2003) *Soil Sci. Plant Nutri.*, **49**, 347-353.
- 5) 藤嶽 (2020) 土肥誌, **91**, 317-320.
- 6) Fujitake et al. (2009) *Humic Subst. Res.*, **5/6**, 45-53.
- 7) Lin et al. (2017) *Environ. Sci. Technol.*, **51**, 11742-11751.
- 8) IPCC (2021) *Climate Change 2021: The Physical Science Basis, Full Report*, 717.
- 9) Han et al. (2019) *Soil Sci. Plant Nutri.*, **65**, 11-19.
- 10) 藤嶽 (2020) 土と微生物, **74**, 54-59.
- 11) Kida et al. (2021) *Environ. Sci. Technol.*, **55**, 10175-10185.
- 12) Kida et al. (2023) *Environ. Sci. Technol.*, **57**, 5464-5473.
- 13) Alongi (2014) *Annu. Rev. Mar. Sci.*, **6**, 195-219.
- 14) Kida & Fujitake (2020) *Forests*, **11**, 1041.