

土壤腐植の金属錯化容量の pH 依存性

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
巻/号	582
掲載ページ	p. 205-208
発行年月	1987年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



土壤腐植の金属錯化容量の pH 依存性*

山田秀和**・宮田佳久***・服部共生**

キーワード 金属錯化容量, 土壤腐植, 腐植-銅錯体, コロイド滴定

土壤腐植の金属錯化部位として, カルボキシル基 (COOH) やフェノール性水酸基等の官能基が多くの研究者によって指摘されている。これらの官能基は弱酸性で, その酸解離は pH の影響を受ける。水素イオンと金属イオンとの競争反応である錯形成反応もこれら官能基の酸解離に対応して pH 依存性を示すことが予想される。そこで, 土壤腐植の金属錯化容量の pH 依存性を前報¹⁾で提案した金属錯化容量の定量法を用いて検討するとともに, コロイド滴定法による腐植負荷電量の pH 依存性との関係を調べた結果について報告する。

1. 実験方法

1) 土壤試料と試薬・装置類

前報¹⁾で供試した京都府立大学園場の沖積水田土壤 (KP) と滋賀県甲賀郡油日の非火山性黒ボク土壤 (SA) を使用し, これらの土壤から抽出精製した腐植酸とフルボ酸を実験に供試した。

なお, 供試腐植酸の腐植化度を示す色調係数 $\Delta \log K$ 値は SA-腐植酸 0.49, KP-腐植酸 0.62 で, KP-腐植に比べて SA-腐植のほうが腐植化度の高い傾向がみられる。

供試土壤の理化学性と腐植物質の土壤からの抽出・分離と精製法については, 前報で報告したとおりである。また実験に使用したクロラニール酸銅は前報と同様の方法で合成して使用した。

その他の試薬, 装置は前報と同様のものを使用した。

2) 腐植物質の金属錯化容量の pH 依存性の検討

炭素量として 2 mg の腐植酸またはフルボ酸溶液に, 0.2 M の pH 緩衝液 2.5 ml とクロラニール酸銅懸濁液 (10 mg/ml) 1 ml を加えたのち純水で全量を 10 ml と

した。これを 25°C で 2 時間振とうしたのち, ろ過 (東洋濾紙 No. 6 使用) した。ろ過後ただちにろ液中の銅を原子吸光法で直接定量し, 同様の操作で得られる試薬ブランクとの差から錯化容量を算出した。結果は腐植有機物の炭素量当たり換算して $\mu\text{mol Cu/mg C}$ または mmol Cu/g C として表示した。本法によれば条件安定度定数 (対数値) が約 8 以上の錯化力を定量的に評価することができる。

なお腐植溶液の濃度は, 立川の液体試料中の有機物の迅速定量法²⁾によって定量した。定量には標準有機物としてショ糖を使用した。また pH 緩衝液として pH 3.5~7 では $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$ 系を, pH 6~8.5 では $\text{KH}_2\text{PO}_4-\text{NaOH}$ 系を, そして pH 10.5~12 では $\text{Na}_2\text{HPO}_4-\text{NaOH}$ 系をそれぞれ使用した。

3) 腐植物質のコロイド滴定³⁾

炭素量として 0.4~0.8 mg の腐植酸またはフルボ酸溶液に, 1.2) の実験と同組成の pH 緩衝液 2.5 ml と 1/200 N メチルグリコールキトザン溶液 4 ml を加え純水で全量を約 25 ml とした。指示薬として 0.1% トルイジンブルー溶液を数滴加え, 1/400 N ポリビニール硫酸カリウム溶液で滴定した。

コロイド滴定の終点は, 通常トルイジンブルーのメタクロマジー現象によって決定されているが, 本例の場合腐植溶液自体が着色しているために, この変色がわかりにくいことが多かった。しかし終点の変色と同時に腐植物質とメチルグリコールキトザンとの複合体が凝集沈殿を始めるので, この凝集沈殿の始まる点をコロイド滴定の終点とした。

各 pH についてこの滴定値と腐植物質を加えない場合のブランク値との差から腐植物質の解離当量を算出し, 腐植炭素当たり換算して me/g C として表示した。

2. 結果と考察

1) 土壤腐植のコロイド滴定

腐植の錯形成に関与していると考えられるカルボキシル基やフェノール性水酸基は弱酸性で, その解離は系の pH によって支配されていると考えられる。しかも個々の官能基の酸解離定数 (K_a) はそれらの官能基の結合している有機物中の部位によって種々の程度に異なってい

* 土壤腐植の金属錯化容量に関する研究 (第 2 報)

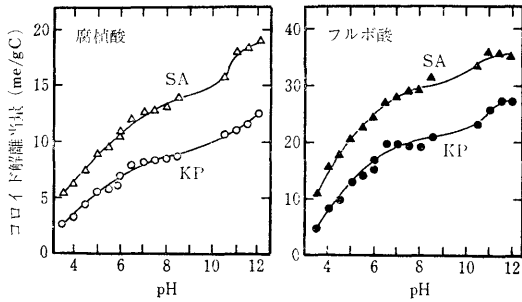
本研究の費用の一部は, 文部省科学研究費補助金 (昭和 59 年度奨励研究, 課題番号 59760054) による。またこの報文の要旨は, 昭和 58 年 4 月, 日本土壤肥科学会 (京都) および昭和 58 年 10 月, 日本地球化学会年会 (東京) において発表した。

** 京都府立大学農学部 (606 京都市左京区下鴨半木町)

*** 京都府立大学農学部 (現在, 京都市立洛南中学校 601 京都市南区吉祥院落合町 31)

昭和 61 年 4 月 24 日受理

日本土壤肥科学雑誌 第 58 巻 第 2 号 p. 205~208 (1987)



第 1 図 土壤腐植酸、フルボ酸のコロイド滴定曲線

る。そのため、単純なたとえば酢酸のように一定した K_a 値を示す場合とは異なり、腐植有機物分子全体としての K_a 値を与えることはできない。分子全体としての酸解離はかなり広い範囲の pH 域で pH の上昇とともに連続的に進行しているものと考えられる。

そこで土壤腐植の官能基解離の pH 依存性をコロイド滴定法によって検討してみた。その結果を第 1 図に示した。コロイド滴定法によれば、主として酸性官能基の解離に由来すると考えられる腐植酸やフルボ酸(コロイド)の負荷電量を定量することができる³⁻⁶⁾。

腐植酸、フルボ酸ともに pH の上昇とともにそれらの負荷電量は徐々に増加し、pH 7~8 でわずかに平坦化を示したのち pH 9~10 以上で再び上昇する。コロイド滴定曲線の pH 8 までの負荷電量はカルボキシル基の解離に、また pH 9 以上のそれはフェノール性水酸基の解離によるものと考えられている³⁾。第 1 図は、土壤腐植中には K_a 値を異にする種々のカルボキシル基が存在し、pH 3 から pH 8 までの広がりを見ながら pH の上昇とともにカルボキシル基が徐々に解離していく様子を示していると理解できる。そして pH 7 で、カルボキシル基が完全解離し、その結果滴定曲線が平坦化したものと考えられる。

ところで一般に腐植等の高分子電解質の官能基解離は、pH のほか高分子電解質の濃度や共存塩類の有無によって変化する。さらにコロイド滴定の場合には、試料とは反対荷電のコロイド滴定試薬(本例の場合メチルグリコールキトザン)の強い静電力によって、当該 pH 域では本来未解離の解離基が強制的に解離し、コロイド滴定にかかっていることが考えられる。そのため第 1 図のコロイド滴定曲線の pH 3~7 では解離が進行中で個々の pH における解離量を正確に示しているとは考えにくい。厳密には試料が完全解離する pH 条件でのコロイド滴定値のみが真に意義のある結果といえる。

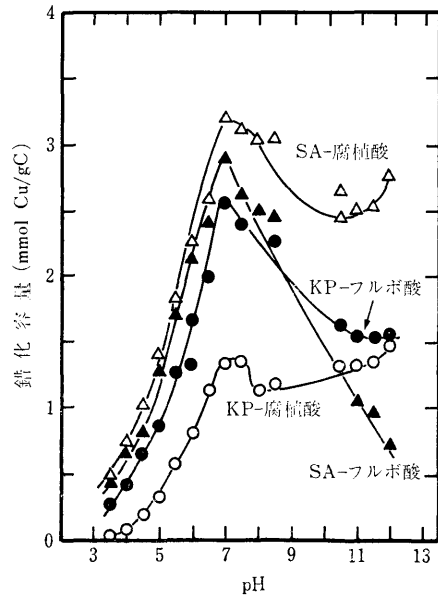
そこでカルボキシル基が完全解離していると考えられる pH 8 でのコロイド滴定値からカルボキシル基量を求

めてみた。その結果、カルボキシル基量 (me/g C) は、SA-フルボ酸 29.6, KP-フルボ酸 19.4, SA-腐植酸 13.1, KP-腐植酸 8.4 で、腐植酸に比べてフルボ酸で高い傾向がみられる。また KP 由来の腐植に比べて $d \log K$ 値が低く腐植化度の高い SA 由来の腐植でカルボキシル基含量の高い傾向がみられる。これは腐植化の進行とともにメトキシル基等の官能基が酸化してカルボキシル基量が増加することを反映した結果であると考えられる。

一方、フェノール性水酸基に由来する pH 9~10 以上での負荷電量の増加は、カルボキシル基に由来する pH 3~8 のそれに比べて小さく、腐植分子中のフェノール性水酸基量はカルボキシル基量に比べてきわめて少ないことが示唆される。しかし、腐植化度の高い SA-腐植酸では、フェノール性水酸基の解離に起因する負荷電量の増加が顕著に認められる。これは SA-腐植酸は KP-腐植酸に比べて腐植化度が高く芳香環構造の発達の著しいことを反映したものと考えられる。

2) 土壤腐植の金属錯化容量の pH 依存性

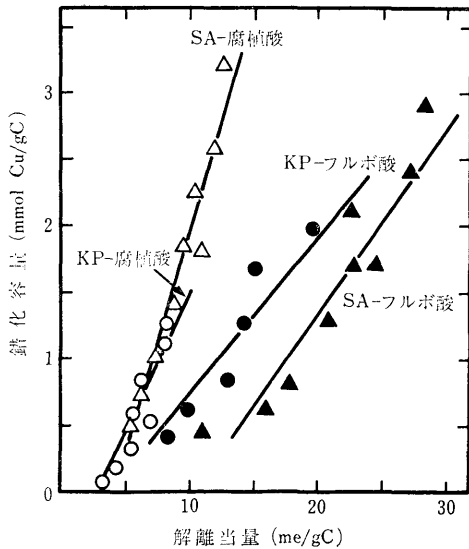
土壤腐植の金属錯化容量の pH 依存性を系の pH を 3 から 12 まで変化させて検討した結果を第 2 図に示した。腐植酸、フルボ酸ともにその金属錯化容量は pH 依存性が著しく、前報で示したように pH 依存性の認められない EDTA の結果と対照的である。腐植酸の錯化容量は pH が 3 から 7 へと上昇するにつれて急増し、pH 7 付近で最大値を示したのち若干低下し、pH 10 以上になると再び上昇する。フルボ酸の錯化容量も、腐植酸の場合と



第 2 図 土壤腐植の金属錯化容量の pH 依存性

同様の傾向を示すが、pH 10 付近からの再上昇はわずかしみられない。

腐植酸、フルボ酸の錯化容量の pH 3 から 7 にかけての上昇は、第 1 図に示した腐植酸、フルボ酸のコロイド解離当量の pH 3 から 7 にかけての上昇パターンとよく類似している。類似性を明らかにするため、pH 3~7 でのコロイド解離当量と錯化容量との関連性を第 3 図に示した。腐植酸、フルボ酸いずれの場合にも錯化容量と解離当量の間には比例関係が認められる。前述したように pH 3~7 での解離当量は、カルボキシル基の解離が進行中であるために、正確な値を示しているとはいえない。いずれの pH の解離当量も偏差を伴ったものである



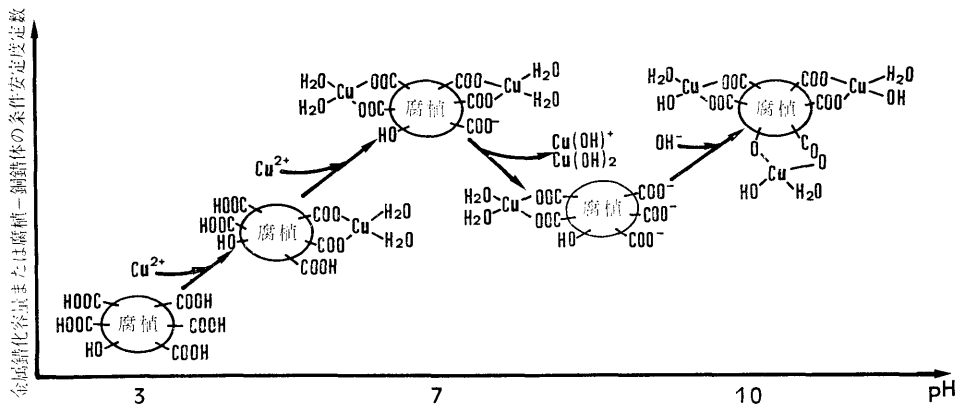
第 3 図 土壤腐植のコロイド解離当量と金属錯化容量との関連性

と考えられるが、錯化容量との間にほとんど直線関係に近い比例関係が認められることから考えると、pH 3~7 での腐植酸、フルボ酸の錯化容量の上昇は、カルボキシル基の酸解離に基づく錯化部位の増加に起因しているものと推定される。

pH 7 以上でみられる錯化容量の低下は、銅イオンの副反応の影響を受けるためと考えられる。銅イオンは溶液の pH が中~アルカリ性になると CuOH^+ や $\text{Cu}(\text{OH})_2$ を生成するため、腐植酸-Cu 錯体やフルボ酸-Cu 錯体の条件安定度定数が低下するためと考えられる。

腐植酸でみられる pH 10 付近からの錯化容量の再上昇は、フェノール性水酸基の酸解離に由来するコロイド解離当量と対応しており、解離したフェノール性水酸基の錯形成への関与が原因していると思われる。とくに芳香環構造の多いと考えられる腐植酸で、また腐植酸のなかでも腐植化が高く、かつコロイド滴定曲線でもフェノール性水酸基の存在が顕著に認められた SA-腐植酸で錯化容量のこの上昇が明らかに認められることから、フェノール性水酸基の関与が予想できる。錯形成へフェノール性水酸基が関与し、新たなキレート環の形成による錯化部位の増加や安定度の増大の結果、錯化容量が上昇することになったものと考えられる。

高 pH では、フェノール性水酸基の関与以外にさらに塩基性錯体（ヒドロキソ錯体）の生成に伴う腐植-銅錯体の安定化が関与していることも考えられる。EDTA のような強力な錯化剤の場合でも、その銅錯体の条件安定度定数は pH 7 以上で低下するがさらに pH が上昇するとヒドロキソ錯体を形成して安定化することが知られている⁷⁾。腐植と結合した銅の残余配位座に水酸イオンが配位し腐植-銅錯体の安定化に寄与しているものと



第 4 図 土壤腐植の金属錯化容量の pH 依存性の推定機構
-OH はフェノール性水酸基を示す。

予想される。

以上の錯化容量の pH 依存性の論議を図示すると第 4 図のように示すことができる。

生成した Cu-腐植酸錯体, Cu-フルボ酸錯体の電荷をみるため, カルボキシル基が完全解離していると考えられる pH 8 でのコロイド解離当量値に対する錯化容量 (当量に換算した場合) の割合を求めてみた。たとえば, 錯化容量が最大値を示す pH 7 での錯化容量から求めたこの割合は, 平均で 32% である。立体障害等の問題もあり, 腐植中のすべてのカルボキシル基が錯形成に関与するわけではないが, 条件安定度定数 (対数值) が 8 以上の比較的安定な錯化部位は全解離当量の 30% 程度であると判断される。なお, 解離当量が銅で完全に中和されず Cu-腐植酸錯体や Cu-フルボ酸錯体がかかなり多量の負電荷をもつため, これらの錯体が溶液中で安定に溶存できるものと考えられる。

3. 要 約

既報で提案した土壤腐植の金属錯化容量の定量法を応用して, 土壤腐植の錯化容量の pH 依存性を検討した。

さらに, コロイド滴定法を利用して腐植の主として酸性官能基であるカルボキシル基とフェノール性水酸基の解離に起因する負荷電量の pH 依存性についてもあわせて検討を行った。その結果, 以下の知見を得た。

1. 腐植酸, フルボ酸の金属錯化容量は, pH 3 から 7 にかけて pH の上昇とともに増大した。この金属錯化容量の増大傾向は, コロイド滴定法から求めた腐植酸, フルボ酸のカルボキシル基に由来する解離当量の増大傾向とよく一致した。これらのことから, カルボキシル基

が腐植酸, フルボ酸の錯化部位であると推定した。

2. 腐植後, フルボ酸の金属錯化容量は pH 7 以上で低下する傾向を示した。高 pH では銅が CuOH^+ や $\text{Cu}(\text{OH})_2$ を生成する副反応が加わるため, 腐植-銅錯体の条件安定度定数が低下することが原因しているものと考えられた。

3. pH 7 以上で低下傾向を示す腐植酸, フルボ酸の金属錯化容量も, pH が 9~10 以上になるとわずかに上昇する傾向がみられた。この傾向は芳香環構造の発達していると考えられる腐植化度の高い腐植酸で顕著に認められた。またこの傾向は腐植酸のコロイド滴定曲線の pH 9~10 以上でみられるフェノール性水酸基に由来する解離当量の増大ともよく対応した。これらのことから pH 9~10 以上では, フェノール性水酸基が錯形成に関与しているものと推定した。

文 献

- 1) 山田秀和・宮田佳久・服部共生：土壤腐植の金属錯化容量の定量法, 土肥誌, **58**, 199~204 (1987)
- 2) 立川 涼：土壤及び液体試料中の有機物の迅速定量法ならびに糖類に関する二, 三の定量法, 同上, **37**, 28~33 (1966)
- 3) 千手諒一：コロイド滴定法, p. 84~91, 南江堂, 東京 (1969)
- 4) 奥田 東・堀 士郎：コロイド滴定法による腐植酸の研究, 京都大学食糧科学研究所報告, **9**, 24~32 (1952)
- 5) 柏木大安・横井 肇・高田隆子：土壤コロイドの構造に関する研究(第 2 報), 滋賀農業短大報, **1**, 91~96 (1952)
- 6) 林 常孟・長井武雄：土壤腐植酸の Component に就いて (第 5 報), 各 Component のコロイド滴定, 土肥誌, **28**, 25~29 (1957)
- 7) RINGEOM, A. 著, 田中信行・杉 晴子共訳：錯形成反応, p. 39~48, 産業図書, 東京 (1965)