

## PO型腐植酸の形態変化について

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	大塚, 紘雄 熊田, 恭一
巻/号	45巻10号
掲載ページ	p. 463-468
発行年月	1974年10月

# P<sub>0</sub> 型腐植酸の形態変化について

鹿児島県垂水市大野原の火山性土壌に関する研究 (第4報)

大塚 紘雄\*・熊田 恭一\*\*

前2報<sup>1,2)</sup>においては、標記火山性土壌の表層土および腐植質埋没土層から抽出した腐植酸、およびそれらをセファデックスまたはアルコール分別沈殿によって分画した腐植酸の諸性質を比較検討した。その結果、この火山灰土壌における腐植酸の進化には、R<sub>P</sub>型→B型→A型とR<sub>P</sub>型→P<sub>0</sub>型→B型→A型の2系列が存在することを推論した。ここにいうP<sub>0</sub>型とはRF-Δlog k図において、P型腐植酸の領域に位置するが、いわゆるP<sub>g</sub>部分<sup>3)</sup>に特有な吸収帯をまったく欠き、RF, Δlog kともに低い値をとる腐植酸である。この型の腐植酸は、もしもRFの増大があれば、B型をへてA型に変化する可能性をもつと考えられる。

ところで、RFとは腐植酸炭素単位量あたりの色の濃さ(波長600mμにおける吸光度)を表わすものであるから、腐植酸中にこの波長点における光吸収にほとんどあるいはまったく関係しない有機物が共存すれば、その多少によってRF値は左右されるはずである。

かつて熊田<sup>4)</sup>は、腐植酸を塩酸処理(5% HCl, 70°C, 30分間加熱)することにより、酸可溶部を除外した腐植酸炭素単位量当りの光吸収が増大することを示し、その理由として酸処理が非腐植化部(おそらくはヘミセルローズ、ポリウロナイド、蛋白質、セルローズなど)ならびに腐植化の程度の低い物質を腐植酸粒子から除去するためであろうと推定し、腐植酸は腐植化部と非腐植化部からなるものと考えた。また熊田は<sup>5)</sup>、R<sub>P</sub>型腐植酸を0.1N水酸化ナトリウムに溶解し、沸とう湯浴中で10分間加熱し、冷却することなく酸を加えてただちにろ過して放置すれば、最初透明であったろ液は次第に白濁する事例を経験している。この事実もまた腐植酸が暗色の腐植化部とともに無色の非腐植化部を含有することを示唆するものである。

標記土壌の表層土は大正3年の桜島噴火のさいの降灰堆積物の上に形成されたものであって、その腐植酸はP<sub>0</sub>型に属するが<sup>6)</sup>、この腐植酸は無色有機物を失うことにより、埋没腐植酸と同様なA型に変化することが予想される。

本報は、P<sub>0</sub>型腐植酸がB型をへてA型へ進化する過程を実験室的に再現することを目的として、表層土の腐植酸を酸性で加熱処理し、熱時ろ過を行ない、沈殿部とろ液に分離し、加熱腐植酸については光学的性質と元素組成を測定し、ろ液については糖、ウロン酸、および窒素量を定量することにより、P<sub>0</sub>型腐植酸の形態変化について考察したものである。

## 1. 供試腐植酸

表層土(OH-1)から常法<sup>7)</sup>により0.1N水酸化ナトリウムで腐植を加熱抽出した。この腐植溶液100mlに対して1mlの濃硫酸を加えて腐植酸を沈殿させ、ろ紙でろ過し、硫酸(1:100)および水で洗浄した。次に0.01N水酸化ナトリウムを用いてろ紙上の腐植酸を溶解し、これを供試腐植酸溶液(溶液10ml当たり0.1N KMnO<sub>4</sub>消費量19.2ml)とした。

## 2. 実験方法

### 1) 腐植酸の希硫酸加熱処理

① 上記腐植酸溶液25mlをピーカーにとり、硫酸を添加し、pHを0.5, 1.0, 2.0に調整した。次にこれを50mlメスフラスコに移し、沸とう湯浴中(100°C)で1時間加熱した。加熱後、ただちに東洋ろ紙No.6を用いて熱時ろ過を行ない、ろ液は氷冷した50mlメスフラスコに受け、水で定容とした。

② 腐植酸溶液25mlを4ケの50mlメスフラスコにそれぞれとり、0.25mlの濃硫酸を加えてpHを約1.0とし、15分、30分、60分または120分間沸とう湯浴中(100°C)で加熱した。①と同様に50mlメスフラスコの中に熱時ろ過し、沈殿部とろ液に分け、沈殿部はろ液の全量が50mlとなるまで水で洗浄した。

### 2) 腐植酸の濃硫酸加熱処理

上記腐植酸溶液25mlに濃硫酸0.25mlを加え、攪拌し遠心分離して腐植酸を沈殿させ、熊田<sup>9)</sup>の方法に準じ、沈殿した腐植酸を濃硫酸30mlにてケルダール分解フラスコへ移し、沸とう湯浴中で15分、30分、60分間、または弱い直火で5分、10分、30分間加熱した。加熱処理放冷後、約300mlの水に静かに注ぎ、攪拌、静置後、東洋ろ紙No.6でろ過し、水で洗浄した。

### 3) 可視および紫外外部吸収スペクトルとRF, Δlog kの測定

\* 鹿児島大学農学部(鹿児島市上荒田町)

\*\* 名古屋大学農学部(名古屋市千種区不老町)

昭和48年11月5日受理

日本土壤肥料学雑誌 第45巻 第10号 p.463~468(1974)

熊田<sup>7)</sup>の方法に従い、加熱腐植酸の沈殿部を 0.01 N 水酸化ナトリウムに溶解し、可視および紫外部吸収スペクトルと RF,  $\Delta \log k$  を測定した。なお対照として、60 分間加熱処理後、熱時ろ過を行なうことなく、水酸化ナトリウムで pH 12 に調整した試料についても測定した。

#### 4) 元素分析

加熱腐植酸の沈殿を塩酸(1:100)、水で洗浄し、100°C で乾そうした試料について、有機マイクロ分析の常法により、炭素、窒素および水素を定量した。なお対照およびろ液については、ダイアフロー膜(分子量 500 以下透過)で硫酸、硫酸ナトリウムなどを除去したのち、100°C で乾そうしたものを供試した。結果は原子数比(%)で示した。

#### 5) 糖の定量

OADES<sup>9)</sup> と YOSHIZAKI<sup>10)</sup> らの方法に準じ、熱時ろ過液試料 2 ml と 0.2% アンスロン試薬(硫酸 100 g に 0.2 g アンスロンを溶かしたもの) 4 ml を 10 ml 試験管にとり、沸とう湯浴中で 7 分間加熱した後、水道水で冷却後、ただちに日立 101 型比色計で 625 m $\mu$  の吸光度を測定した。比色値は検量線よりグルコースに換算して表示した。

#### 6) ウロン酸の定量

BITTER<sup>11)</sup> らの方法に従い、ろ過液試料 1 ml を 10 ml 試験管にとり、0.025 M 四ホウ酸ナトリウムを含む濃硫酸 5 ml を加え、沸とう湯浴中で 10 分間加熱した後、冷却し、0.2 ml のカルバゾル試薬(エタノール 100 g にカルバゾル 0.125 g を溶かしたもの)を加えて再び

15 分間加熱し、氷冷後、ただちに 530 m $\mu$  の吸光度を測定した。比色値は検量線よりグルクロン酸に換算して表示した。

#### 7) 窒素量

ろ液 30 ml を用い、ケルダール法により全窒素を定量した。

### 3. 実験結果と考察

硫酸によって pH を 2.0, 1.0 または 0.5 に調整した腐植酸溶液を 60 分間、および pH 約 1.0 の腐植酸溶液を 15 分ないし 120 分間加熱処理した後、熱時ろ過して沈殿部(加熱腐植酸)とろ液とに分別し、両者の 0.1 N 過マンガン酸カリウム(以下  $\text{KMnO}_4$  と記す)消費量と加熱腐植酸の RF と、 $\Delta \log k$ 、さらに濃硫酸で加熱処理した腐植酸の RF,  $\Delta \log k$  について得られた結果を第 1 表に示した。

希硫酸加熱の場合には、pH が低いものほど、また加熱時間が長くなるものほど、沈殿部の  $\text{KMnO}_4$  消費量は 38.5 ml から 35.0 ml へと減少し、逆にろ液のそれは 8.5 ml から 13.5 ml と増加した。これらの沈殿部とろ液の  $\text{KMnO}_4$  消費量の合計は 48.5 ないし 45.5 ml であったが、1 時間加熱したのみでろ過を行なわなかった対照では 48.0 ml であったから、pH 0.5 の場合わずかに減少した以外は、加熱によって  $\text{KMnO}_4$  消費量合計はほとんど変化しなかったといえる。しかし PQ に相当する沈殿部/合計は 82% ないし 72% であって、処理条件がはげしいほど酸可溶性の有機物の増加が認められた。濃硫酸加熱処理後の腐植酸(沈殿部)の  $\text{KMnO}_4$  消費量

第 1 表 加熱処理による腐植酸の変化

処 理 条 件			0.1 N $\text{KMnO}_4$ 消費量 ml				沈 殿 部		
加熱方法	時 間	pH	沈殿部	ろ液	合計	沈殿部/合計	$\Delta \log k$	RF	腐植酸の型
沸とう湯浴中	60 分*	約 1	48.0		48.0	1.00	0.645	42	P <sub>0</sub>
	60 分	2.0	38.4	8.5	46.9	0.80	0.594	59	P <sub>0</sub>
		1.0	37.0	10.0	47.0	0.79	0.586	66	B
		0.5	34.5	11.0	45.5	0.76			
	15 分	約 1	38.5	8.5	47.0	0.82	0.609	54	P <sub>0</sub>
			35.5	11.0	46.5	0.76	0.600	60	B
			35.0	11.5	48.5	0.75	0.603	61	B
			35.0	13.5	48.5	0.72	0.582	68	B
	15 分	0.1 以下**	31.2				0.506	107	A
			27.6				0.493	119	A
						0.484	135	A	
直 火	0.1 以下**	25.8				0.141	221	A	
		19.2				0.391	240	A	
		4.2				0.656	73	B	

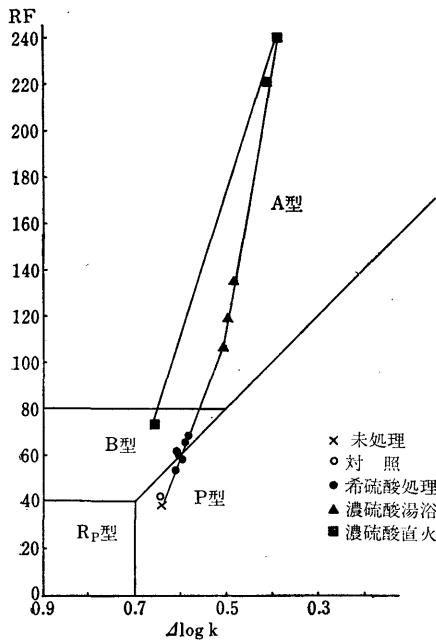
\* 熱時ろ過を行わず、加熱処理後水酸化ナトリウムで pH 12 に調整した。

\*\* 濃硫酸で加熱処理

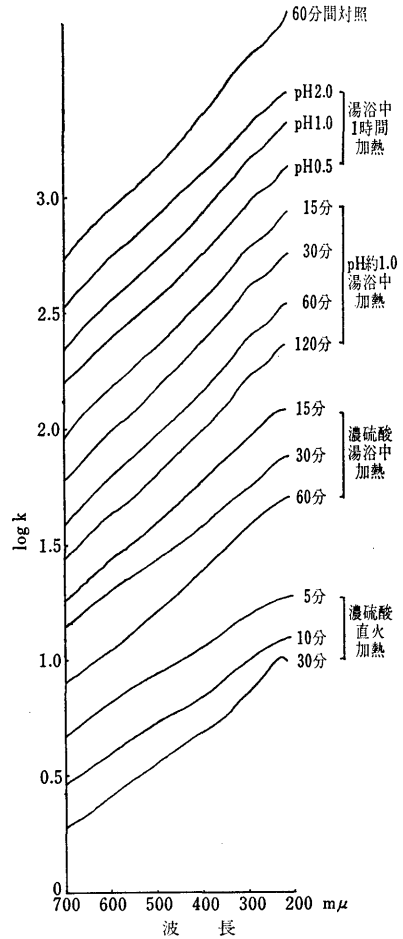
も、処理条件がはげしいほど減少する傾向が明らかであった。濃硫酸加熱処理によって腐植酸の一部が酸可溶性となり、さらに無機化したものと考えられる。

第1表にみられるように、供試腐植酸溶液をpH約1とし、沸とう湯浴中で60分間加熱したのち、ろ過することなくアルカリ性とした溶液の $\Delta \log k$ は0.645、RFは42であった。これを一対照腐植酸とし、酸処理によってえられた沈殿部の $\Delta \log k$ とRFをみると、次のようにまとめることができる。すなわち、希硫酸処理の場合には、pHが低いほど、また加熱時間の長いほど、濃硫酸処理の場合には加熱時間が長いほど、また処理温度が高いほど、得られた沈殿部の $\Delta \log k$ は小さく、RFは高い。ただし濃硫酸直火30分間加熱の沈殿部は10分間加熱に比し、 $\Delta \log k$ が大きく、RFは低い。これは過度の濃硫酸処理によって腐植酸が解重合したことを意味すると考えられる。

未処理腐植酸、加熱してろ過を行なわなかった対照腐植酸および加熱腐植酸をRF- $\Delta \log k$ 図にプロットすると第1図のとおりである。加熱処理はRFの増大と $\Delta \log k$ の低下を引きおこし、未処理および対照腐植酸から、希硫酸処理、濃硫酸・沸とう湯浴処理をへて濃硫酸直火加熱10分間処理にいたるまで、 $\Delta \log k$ の低下とRFの著しい増加がみられた。すなわち、処理腐植酸はRF- $\Delta \log k$ 図上でほぼ直線上に分布し、腐植酸の型は希硫酸処理ではP<sub>0</sub>型またはRF 60、 $\Delta \log k$  0.6付近



第1図 加熱腐植酸の形態変化



第2図 加熱腐植酸の吸収スペクトル

を境としてP<sub>0</sub>型からB型へ転移し、濃硫酸処理によってA型へ移行している。なお上述のように濃硫酸直火30分加熱の腐植酸はB型であった。

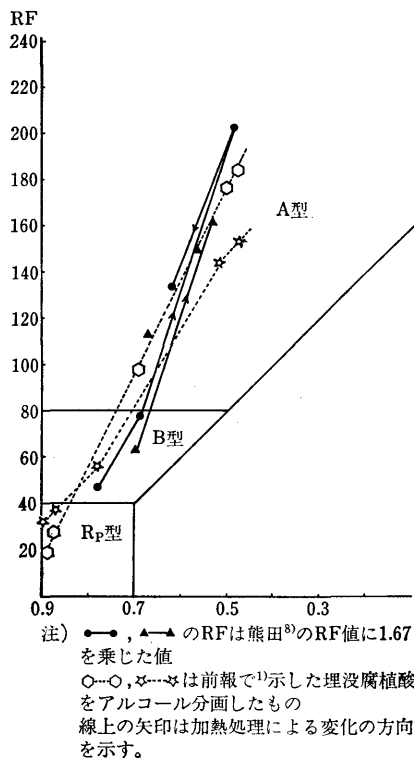
加熱腐植酸の可視紫外吸収スペクトルは第2図に示した。pH 2.0ないし0.5で60分間、pH約1で15分ないし120分間湯浴中加熱ではほとんど処理間の差は認められないが、濃硫酸処理すれば、270 mμ付近の吸収帯は消失し、さらに直火加熱では、30分加熱をのぞき、熊田<sup>9)</sup>のA型腐植酸に相当する弓形の吸収曲線がえられた。

硫酸加熱処理腐植酸についてえられた上述の結果は、加熱後の熱時ろ過によりろ液に移行した無着色またはうすい着色有機物が、RF低く、 $\Delta \log k$ の大きな物質であることによって説明できよう。ただしB型からA型への移行には、無色およびうすい着色有機物の離脱とともに濃硫酸処理による腐植酸自体の質的变化、おそら

くは酸化的重合が同時におこっていることも考えねばならない。

先述のように腐植酸の進化の道筋として、 $\Delta \log k$  の減少に続いて RF の増大する進化系列、つまり  $R_P$  型→ $P_0$  型→(B 型)→A 型の存在を前報で推定した。本実験で示された加熱処理による  $P_0$  型腐植酸の B 型および A 型への変化は、純化学的手段によってえられたものであるが、自然条件下における  $P_0$  型→B 型→A 型の進化を示唆していると思われる。

以前に熊田<sup>9)</sup> は濃硫酸処理による腐植酸の吸収スペクトル、RF、 $\Delta \log k$  などの経時的变化をしらべ、 $R_P$  または B 型腐植酸は A 型腐植酸様物質に変化したのち、さらに長く処理すれば次第に分解することを認めた。第 3 図は B 型を用いた熊田<sup>9)</sup> の実験結果と前報<sup>2)</sup> のアルコール分腐植酸を RF- $\Delta \log k$  図上にプロットしたものである。熊田のえた濃硫酸処理腐植酸は加熱の程度が進めば、前報で報告した埋没腐植酸 (OH-25, 30) のアルコール分腐植酸の分布とほぼ一致するようになることがこの図から明らかである。したがって、濃硫酸処理は自然条件下における  $R_P$  型→B 型→A 型の進化のモデルともなりうることを付言しておきたい。



第 3 図 熊田の濃硫酸加熱腐植酸と、アルコール分画腐植酸の分布

第 2 表 加熱腐植酸とろ液の元素組成 (無水分・無灰分当たり)

加熱時間	[C]	[N]	[H]	[C]/[N]	[C]/[H]
60 分*	35.70	2.30	41.48	15.5	0.86
15 分	36.00	2.27	42.80	15.9	0.84
30 分	36.25	2.22	43.72	16.3	0.83
120 分	37.69	2.17	44.31	17.4	0.85
ろ液**	29.34	3.49	42.02	8.4	0.70

\* 対照：加熱後、ろ過を行なわないで、ダイアフロー膜 (分子量 500 以下) でろ過脱塩、脱硫酸し膜上に残留したものを供した。

\*\* 希硫酸処理 (pH 約 1, 15 分~120 分加熱) の各ろ液を混合し、ダイアフロー膜 (分子量 500 以下) で脱塩、脱硫酸し膜上に残留したものを供した。

腐植酸の元素分析は希硫酸処理腐植酸の一部についてのみ実施したが、その結果は第 2 表に示した。炭素含量は対照が 35.70% であるのに対し、36.00% から 37.69% と加熱処理によって増加し、窒素含量は対照で 2.30% であったものが、2.27% から 2.17% へ減少した。したがって C/N は対照の 15.5 に対し、15.9 ないし 17.4 へ増加した。水素含量も加熱処理によって増加したが、C/H は約 0.85 で一定であった。希硫酸加熱処理腐植酸の炭素含量と窒素含量の変化は、ろ液の炭素含量が低く窒素含量が高いことから説明できるであろう。この結果は腐植酸を多環芳香族と炭水化物、ポリペプチド、フェノールからなる物質と考え、熱水または酸で腐植酸を処理することによって、処理腐植酸の炭素含量の増加、窒素含量の減少などを認めた CHESHIRE<sup>12)</sup> らの結果と同様な傾向を示している。

さて熱時ろ過のろ液を氷冷フラスコ中で約 20~30 分間放置すると白濁し始める。pH 2.0 の加熱時間が長いほど白濁は強いことが観察された。ただし濃硫酸加熱処理ではこの白濁は認められなかった。また熱時ろ過でなく、放冷後ろ過すれば白色沈殿はえられない。このことは加熱によって溶解した白色沈殿物が温度降下によりふたたび凝析し、暗色の腐植酸とともにろ紙上にとどまることを意味する。この白色沈殿物が暗色腐植酸と結合状態にあるか単なる混合状態にあるかは明らかでない。なお、実験操作の中で、ろ液を氷冷フラスコにうけたのは、別に実施している土壌中のポリサッカライドの分離と同じ条件を採用したためであって、以下に述べる本報の実験では氷冷は不必要である。

第 3 表には白色沈殿物を含むろ液の全炭素、糖、ウロン酸および全窒素を定量した結果を示した。ろ液中の全有機物量は 5.0 mg ないし 10.3 mg、糖量はグルコースとして 1.18 mg ないし 1.94 mg であり、加熱時の pH が低いほど、加熱時間が長いほど多い。しかし全有機物

第3表 ろ液の全有機物、糖、ウロン酸および粗蛋白質量（ろ液 50 ml 当たり）

加熱時間	pH	炭素量*	全有機物量**	糖		ウロン酸		窒素	粗蛋白質***		糖+ウロン酸+粗蛋白質	
		mg	mg	mg	%†	mg	%†	mg	mg	%†	mg	%†
60分	2.0	3.8	6.5	1.25	19.2	1.19	18.3					
	1.0	4.5	7.7	1.40	18.2	1.26	16.4					
	0.5	5.0	9.4	1.73	18.4	1.28	13.6					
15分	約1	2.9	5.0	1.18	23.6	1.06	21.2	0.51	3.19	63.8	5.43	108.6
30		5.0	8.4	1.73	20.6	1.18	14.0	0.61	3.81	45.4	6.72	80.0
60		5.2	8.8	1.75	19.9	1.17	13.3	0.65	4.06	46.1	6.98	79.3
120		6.1	10.3	1.94	18.8	1.48	14.4	0.84	5.25	51.0	8.67	84.2

\* 0.1 N KMnO<sub>4</sub> 1ml=C 0.45 mg として算出

\*\* 炭素量 mg×1.7=有機物量として算出

\*\*\* 窒素量 mg×6.25=粗蛋白質量として算出

† 有機物に対する糖、ウロン酸、粗蛋白質の割合(%)

に対する糖の割合は約 18~24% であり、pH が低いほど、加熱時間が長いほど、この割合は減少する傾向がみられた。

ウロン酸量はグルクロン酸として 1.06~1.48 mg であり、pH の低いほど、また加熱時間の長いほど多量に含まれる傾向を示す。ろ液中の全有機物量に対するウロン酸の割合は 9.3~15.0% であり、120 分間加熱処理を除くと、pH が低いほど、また加熱時間が長いほど減少する傾向があった。

ろ液中の全窒素量は加熱処理にともなって 0.51 mg から 0.81 mg へ増加した。全窒素量に 6.25 を乗じて粗蛋白質とすれば、この粗蛋白質量は 3.19 mg から 5.25 mg と加熱時間の長いほど多いが、全有機物に対する粗蛋白質の割合は 45% 以上であり、加熱時間との相関は認められなかった。ろ液中のウロン酸、粗蛋白質の含量は 5.43~8.67 mg と加熱時間の長いほど増加するが、ろ液の全有機物に対する割合は 108.6%~79.3% であり、120 分間加熱を除くと加熱時間の長いほど減少する傾向を示した。

以上のことから、加熱処理による P<sub>0</sub> 型腐植酸の RF の増大、すなわち P<sub>0</sub> 型→B 型→A 型のうち P<sub>0</sub> 型から B 型への腐植酸の型の転換は 18 ないし 28% の無色あるいはごく弱く着色した有機物の除去によること、またこれの有機物の少なくとも 79% はポリサッカライド、ポリウロナイド、蛋白様物質などによって占められていると推定される。

化学的処理による P<sub>0</sub> 型から B 型への変換が自然条件でそのまま実現しているとは考えがたい。しかしながらここに得られた結果は、もしも土壌中において P<sub>0</sub> 型腐植酸からポリサッカライド、ポリウロナイド、蛋白様物質などの無色有機物がきりはなされる何らかの条件があれば、B 型への進化は容易に達成されることを示唆している。たとえば P<sub>0</sub> 型の有色（腐植化）部分と無色部分が、アルミニウム、カルシウムなどの多価カチオンある

いは粘土との結合力を異にし、前者が大きいと仮定すれば、土壌進化の過程において有色部分と上記の無機成分との結合が強まるとともに、無色部分は腐植酸の系外に出ることになり、腐植酸の型は B（または A）型に変化することが想定されよう。

また前述のように、熊田の人工腐植酸に関する実験に準じた濃硫酸処理によれば、P<sub>0</sub> 型→B 型→A 型への変換は容易に進行することは確かであり、R<sub>P</sub> 型から B 型をへて A 型に進行する経路も推定される。

本報に記載した R<sub>P</sub> または P<sub>0</sub> 型から B 型または A 型への変換は、いずれも純化学的方法であるが、腐植酸の進化に関するモデル実験として意義をもつと考える。

#### 4. 要 約

P<sub>0</sub> 型腐植酸の形態変化を明らかにするために、表層土の腐植酸 (P<sub>0</sub> 型) を希硫酸または濃硫酸加熱処理を行ない、沈殿部とろ液に分離し、沈殿部（加熱腐植酸）については光学的性質と元素組成、そしてろ液については全有機物、糖、ウロン酸と全窒素を定量した。なお全窒素より粗蛋白質を算出した。結果を要約すれば次のとおりである。

1) 腐植酸の希硫酸加熱処理によって、沈殿部の 0.1 N KMnO<sub>4</sub> 消費量は減少し、ろ液のそれは増加した。濃硫酸処理によっても時間の経過とともに沈殿部の 0.1 N KMnO<sub>4</sub> 消費量は減少する傾向を示した。

2) 加熱処理の pH が低いほど、また時間が長いほど、加熱腐植酸の  $\Delta \log k$  の減少、RF の増大が認められ、RF- $\Delta \log k$  関係図上ではほぼ直線的に分布することが認められた。ただし濃硫酸直火 30 分間加熱では  $\Delta \log k$  の増大、RF の著しい減少が認められた。

3) 可視-紫外外部吸収スペクトルは希硫酸処理ではほとんど処理間の差を認めなかったが、濃硫酸加熱処理では 270 m $\mu$  付近の消失が認められた。

4) pH 約 1、湯浴中加熱腐植酸の元素組成は、加熱時間が長いほど炭素量の増加、窒素量の減少、従って

C/N の増加を示し、また水素量の増加、C/H は一定値をとることを示した。

5) ろ液は熱時ろ過水冷により白濁することが観察され、白濁は pH の低いほど、加熱時間の長いほど強い傾向が認められた。ただし濃硫酸処理ではこの白濁は認められなかった。

6) ろ液中の糖、ウロン酸、粗蛋白質量は加熱処理の pH が低いほど、時間の長いほど増加したが、ろ液の全有機物理に対するこれらの成分の割合は減少する傾向を示した。

7) 加熱処理による I<sub>0</sub> 型から B 型への腐植酸の移行は、主にポリサッカライド、ポリウロナイド、蛋白質質などの無色物質が腐植酸の系外へ溶出したことに基づいていと推論した。

8) 純化学的にはあるが、実験室内において腐植酸進化のモデル実験すなわち P<sub>0</sub> 型→B 型→A 型の変換に成功した。

#### 文 献

- 1) 大塚紘雄：腐植質埋没土層のセファデックス分画，鹿児島県垂水市大野原の火山性土壌に関する研究（第 2 報），土肥誌，45，405-410（1974）
- 2) 大塚紘雄：腐植酸のアルコール分別沈殿法による分画，鹿児島県垂水市大野原の火山性土壌に関する研究（第 3 報），土肥誌，45，411-415（1974）
- 3) KUMADA, K. and SATO, O. : Chromatographic Separation of Green Humic Acid from Podzol Humus, *Soil Sci. Plant Nutri.*, 8, 31-33 (1962)
- 4) 熊田恭一：腐植酸の形成に関する物理化学的研究（第 7 報），抽出を異にする腐植酸の比較，土肥誌，26，231-234（1955）
- 5) 熊田恭一：未発表
- 6) 大塚紘雄：鹿児島県垂水市大野原の火山性土壌に関する研究（第 1 報），断面形態と表土および腐植質埋没土層の腐植の形態，土肥誌，45，197-203（1974）
- 7) 熊田恭一・太田信婦：豊橋市近郊の石灰岩に由来する土壌における腐植化過程（第 2 報），土肥誌，57-62（1965）
- 8) KUMADA, K. : A Model for a Type Humic Acid, *Soil Plant Food*, 4, 145-150 (1958)
- 9) OADES, J. M. : Carbohydrates in Some Australian Soil, *Aust. J. Soil Res.* 5, 103-115 (1967)
- 10) YOSHIZAKI, K., SAKAGAMI, K., HAMADA, R., KUROBE, T. and MATSUI, T. : A Characterization of Polysaccharides by UV Method and Nature of Humus Obtained from Burried Humic Horizons of Ashitaka Loam Formation, *Res., Inst. Natural Resources*, 74, 32-43 (1970)
- 11) BITTER, T. and MUIR, H. M. : A Modified Uronic Acid Carbazol Reaction, *Analyt. Biochem.* 4, 330-334 (1962)
- 12) CHESHIRE, M. V., CRANWELL, P. A., FLASHAW, C. P., FLOYD, A. J. and HAWORTH, R. D. : Humic Acid II, Structure of Humic Acids, *Tetrahedron*, 23, 1669-1682 (1967)