



Elucidation of Chemical Structural Properties of Type A Humic AcidLike Substances from Plant Residues and their FormationMechanism

Khan, Nazmul Ahsan

(Degree)

博士（農学）

(Date of Degree)

2006-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲3701

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1003701>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 3 3 5 】

氏 名・（本 籍）	Nazmul Ahsan Khan	（バングラデシュ）
博士の専攻分野の名称	博士（農学）	
学 位 記 番 号	博い第108号	
学位授与の 要 件	学位規則第5条第1項該当	
学位授与の 日 付	平成18年3月25日	

【 学位論文題目 】

Elucidation of Chemical Structural Properties of Type A Humic Acid
Like Substances from Plant Residues and their Formation
Mechanism
(植物残渣から作出したA型腐植酸様物質の化学構造特性と
その作出機構の解明)

審 査 委 員

主 査	教 授	阿江	教治
	教 授	杵本	敏男
	教 授	金澤	洋一
	助教授	藤嶽	暢英

A general introduction of this dissertation was approached in the chapter I. Where volcanic ash soils and their distribution and the background of this research were articulated. A feature and properties of Humic Acids in the Andosols related to SOM dynamics was studied in Chapter II. Volcanic ash soils are the most productive soils in the world (Shoji et al., 1993). Nowadays volcanic ash soils are most extensively utilized for growing high-value horticultural crops in Japan. With proper management volcanic ash soils are capable of high productivity and long-term agricultural and environmental sustainability. Although many studies have been carried out about volcanic ash soils however the present study is a part of a basic research where elemental and nuclear magnetic resonance (NMR) were applied to characterize these soils and distribution ranges of carbon species in the spectra rather than the spectral shape were accounted. Among the studied Andosols in Japan almost all the soil profiles were slightly acidic in nature, pH (H₂O) ranged from 4.1 to 5.7, where pH (NaF) ranged from 8.1 to 11.9. Most of the samples were having more than 9.1. Phosphate retention was more than 85%. Surface A horizons are highly humified with high in RF values. RF values ranged from 112 to 318. Ogenosen (OG) can be identified as most humified Soils HA, which showed the highest RF value (318) and belonged to Type A HAs. Due to remarkably high aromatic and also high in OC content in the surface and subsurface horizons of the studied Andosols, which can support and assure a luxuriant production of plant and biomass, as well as can reduce greenhouse gasses.

Soils developed from volcanic parent materials around the Rift Valley of

Tanzania have wide range in OC content among and within the pedons. Organic Carbon and N contents generally higher in the surface horizon. Type A humic acids dominantly occur in the surface A, buried A, AB and BA horizons. These horizons are characterized by humus-rich with intense dark colors. The extracted HAs were highly aromatic, of which were consistent with Japanese volcanic ash soils HAs.

In chapter III, to clarify the chemical structural information as well as formation condition of Type A humic acids (HAs) from plant residues and contribute to reduce CO₂ emission, three plant residues were incubated for 0, 25, 50, 100 and 160 d with fresh volcanic ash and water at 90°C for producing humic acid like substances (HALS). The HALS of all incubation samples showed the decrease of log (A_{400}/A_{600}) values and increase of A_{600}/C values with increasing incubation time. When HALS were classified, only rice straw HALS of 160 d (RS160) belonged to Type A, whereas broad leaf of 160 d (BL160) and Japanese cedar sawdust of 160 d (JCSD160) HALS belonged to Type B. For elemental and NMR analysis HALS samples were prepared according to the IHSS method. Data from elemental composition of all HALS showed high contents (45.98 to 56.55) in carbon (C), low (3.19 to 5.16) in hydrogen (H), and low (0.33 to 2.36) in nitrogen (N). C content increased in RS and BL, and increased or fluctuated to some extent in the JCSD, whereas H and N contents decreased in all samples as incubation days progressed. H/C and O/C ratio showed a remarkable decreased; simultaneously O/H ratio was increased with increased incubation days, it was then suggested that oxidation occurred in the incubation system and as a result some HALS samples (RS160 and BL160) appeared in Type A region in the both H/C vs. O/C and H/C vs. O/H diagrams. HALS plotted in the figures of log (A_{400}/A_{600}) vs. A_{600}/C , H/C vs. O/C, and H/C vs. O/H diagrams were generally placed out of the area of natural soil

HAs. In case of ^1H NMR the spectral shape of RS, BL and JCSD were different from that of natural soil HAs. Only the ^1H NMR spectrum of RS160 is very similar to that of Type A soil HA. Changes of the composition of proton species in HALS showed that percentages of aromatic protons (H_{ar}) increased as increasing incubation days. Spectra obtained by ^{13}C NMR revealed that RS and BL HALS were different from natural soil HAs, whereas RS160 showed almost similar of Type A HA spectra. In the spectra of RS HALS, the signal intensities of carbohydrate C (around 74 and 105 ppm) and methoxyl C (around 56 ppm), decreased gradually as incubation time progressed as well as those of carboxylic C (around 175 ppm) increased, simultaneously, other distinct signals became broad and overlapped each other. As a result, the changes in RS HALS spectra suggested that, a progress in the oxidation of lignin and the oxidative degradation of polysaccharides structure, and the spectrum of RS160 became similar spectra of Type A HA. Although the only signal due to phenolic C (around 150 ppm) still appeared in RS160, however, it was observed that the signal intensity decreased and became broader and weaker from RS0 to RS160 with incubation time. Therefore, it was concluded that RS HALS might form a completely similar spectra as to that of the natural Type A HAs with longer incubation time.

In the following chapter to clarify the mechanism of Type A Humic Acid Like Substances (HALS) creation and to evaluate the similarities with natural Humic Acids (HAs) simple organic compound and fresh volcanic ash were incubated for 30 d at 90°C for producing HALS. Although in the previous chapter HALS were produced from plant residues, however, there was a possibility to form melanoidin by the oxidative condensation of sugar and amino acids from plant residues. However to avoid the confliction, it was attempted to produce HALS using sugar and amino acids by the same

manner. Where almost 30 set-ups of sugar, amino acid (individual and in combination), lignin and cellulose were used. Glutamic acid of 30 d (Glu30) belonged to Type A in $\log(A_{400}/A_{600})-A_{600}/\text{C}$ analysis and some HALS appeared or nearly appeared into Type A area by elemental analysis. ^{13}C NMR spectra revealed that all HALSs including Glu30 were completely different from natural soil HAs as well as melanoidin. These results suggested that the HALS created by thermal incubation depend on lignin degradation rather than melanoidin formation.

Therefore the present study is a complete feature of humic substances in the Andosols especially Type A HAs their occurrence in the soils was described. Furthermore Type A HALS was successfully produced which have a eminent interests among the scientist due to their great impacts to contribute in reducing CO_2 emission in the atmosphere as well as organic fertilizer.

氏名	Nazmul Ahsan Khan		
論文 題目	Elucidation of chemical structural properties of Type A humic acid like substances from plant residues and their formation mechanism. (植物残渣から作出した A 型腐植酸様物質の化学構造特性とその作出機構の解明)		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教 授	阿江 教治
	副 査	教 授	杵本 敏男
	副 査	教 授	金澤 洋一
	副 査	助教授	藤嶽 暢英
	副 査		
要 旨			
<p>火山灰土壌は環太平洋火山地帯やアフリカ大地溝帯に位置する国々（日本、インドネシア、ニュージーランド、チリ、タンザニア、ケニアなど）に広く分布し、他の土壌にくらべて特有の、極めて黒味の強い腐植物質をもつことが特徴のひとつとされている。黒味の強い腐植物質の本体は A 型腐植酸と呼ばれる成分であり、腐植としての成熟度が高く、長期にわたって土壌中で安定な難分解性有機物であることが知られている。難分解性の A 型腐植酸を人為的に短期間で作成できれば、炭素を土壌中に長期固定できるという発想のもと、火山灰を利用したインキュベーション法によってこれを作出するための研究がおこなわれている。しかし、こうして作出された A 型腐植酸（A 型腐植酸様物質）が、構造化学的に天然の A 型腐植酸との類似性を備えているのかについては不明である。本論文では天然の A 型腐植酸の化学構造特性を明らかにし、A 型腐植酸様物質の作出過程で生じた中間産物や最終産物の化学構造特性を天然のものと比較し、作出のメカニズムを構造化学的側面から解析した。</p> <p>第 1 章の緒論では本研究の背景と目的について論述した。</p> <p>第 2 章では、火山灰土壌から抽出・精製した A 型腐植酸の化学構造特性を明らかにした。腐植物質の構造特性解析手法の中で、今日最も信頼できる手法とされる元素分析と NMR 分光分析法を用い、日本およびタンザニアの各地の火山灰土壌から採取した A 型腐植酸の分析をおこなった。¹³C NMR の結果から、A 型腐植酸は芳香族性炭素に富み、次いでカルボキシル基炭素が多く、逆に脂肪族性炭素や糖性炭素、メトキシル基炭素、フェノール性炭素が乏しく、他の腐植酸に見られない特徴を持つことを明らかにした。これまでも数点の NMR データから A 型腐植酸が同様の特徴を持つことは指摘されていたが、本研究では多数の NMR データをもとに解析しているため、各官能基組成値の分布範囲が明確になり、従来にない化学的根拠の高い情報が得られた。</p> <p>第 3 章では、植物残渣と新鮮火山灰を混和し、90℃での乾燥と注水を所定期間（0、25、50、75、100、160 日間）繰り返すインキュベーション法で作出した各腐植酸様物質について、元素分析と NMR 分光分析法などの測定をおこない、構造特性の解析をおこなった。¹³C NMR のシグナル強度に注目した結果、植物残渣がイナワラの場合、インキュベーション期間の増加にともない糖性炭素やリグニンのメトキシル基やフェノール性炭素に由来するシグ</p>			

氏名	Nazmul Ahsan Khan
<p>ナルの相対強度が減少し、同時にカルボキシル基炭素のそれが増加することを明らかにした。さらに、スペクトル形状の観察結果から、インキュベーションにともなってリグニンの芳香族性炭素に由来する多数の鋭いピーク状シグナルが徐々にひとつの幅広いピークへと変化し、160 日後には天然の A 型腐植酸に類似したスペクトル形状をもつ A 型腐植酸様物質が生成されることを見出した。元素分析による不飽和結合の増加傾向も考え合わせた結果から、インキュベーションによってイナワラの構成成分であるリグニンの酸化変質反応と多糖成分の酸化分解反応が促進されるプロセス、あるいは多糖成分とタンパク成分の重合反応（メラノイジン反応）が促進されるプロセスの 2 つのプロセスの可能性を挙げた。ただし、後者のプロセスは他の文献にもとづくスペクトルや続く第 4 章の結果から可能性は低く、結論としてリグニンの酸化変質反応と多糖成分の酸化分解反応が促進されるプロセスによって A 型腐植酸様物質が生成されることを結論付けた。さらに、0～75 日間の各腐植酸様物質のスペクトル形状は土壌腐植酸のそれとは本質的に異なること、木質系植物残渣とイナワラでも反応機構が異なることを見出した。</p> <p>第 4 章では、第 3 章で提唱した 2 つの反応プロセスのうちいずれが主要なものであるかを検証するために、市販化合物を用いて第 3 章と同様のインキュベーションをおこなった。糖とアミノ酸の単独区ならびに両者の混合区、リグニン、セルロース区など、約 30 種の試験区について、10、20、30 日間の腐植形態分析をおこなった結果から、リグニンとセルロースを除くすべての試験区で Rp 型から A 型ないし B 型に移行することを明らかにした。4 章の植物残渣による試験区では 50 日を経ても Rp 型が持続されていたことから、糖やアミノ酸による反応（メラノイジン反応）は植物残渣からの A 型腐植酸様物質生成の主要なプロセスであるとは考えにくいことを推察した。逆に、リグニン区では形態分析の値の変化程度が植物残渣の試験区と類似していることから、リグニン変質説が有力であると考察した。さらに、各試験区の ¹³C NMR スペクトルによる分析をおこなった結果、糖やアミノ酸の試験区はメラノイジンや植物残渣試験区とも異なるスペクトル形状を示すこと、リグニン 30 日区はイナワラ 25 日区と類似していることを明らかにした。これらの結果を総合して、イナワラからインキュベーションによって作出した A 型腐植酸様物質はメラノイジン形成によるよりもむしろリグニン変性によって形成されることを結論付けた。</p> <p>以上のように、本研究は天然の火山灰土壌に存在する A 型腐植酸とこれに類似する人工作出物質、すなわち A 型腐植酸様物質の類似性と相違性、ならびに人工作出過程のメカニズムについて、構造化学的根拠のある多くの知見を得ている。難分解性 A 型腐植酸の人工作出は温暖化抑制対策や廃棄物リサイクル、地力増進につながり、その評価や解析に構造化学的根拠を付与する重要な知見を得たものとして価値ある集積であることを認める。</p> <p>よって、学位申請者の Nazmul Ahsan Khan は、博士（農学）の学位を得る資格があると認める。</p>	