

ミニレビュー

腐植物質に関する近年の論争について：腐植物質パラダイム*の行方

藤嶽 暢英

神戸大学大学院農学研究科

〒657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1-1

要旨

本誌2021年vol. 16/17号の巻頭言でも触れたが、近年「腐植物質」という視点で研究・論議が行われることに対して懐疑的な見解を示す論文や、それに反論して肯定的な見解を示す論文が相次いで発表され、学界を賑わしている。ここ数回の国際腐植酸学会（International Humic Substances Society: IHSS）の国際会議でもこの話題は取り上げられ、会期中に急遽特別講演や討論会がプログラムに組み込まれたり、総会で意見交換が為されたりしてきた。そうした背景のもと、2019年に Journal of Environmental Quality 誌では賛否両論の論文で構成された特別セクションが2回にわたって掲載された。本稿ではこうした状況を踏まえ、いま腐植物質を取り巻く学界で何が起きているのかを概説する。なお、腐植物質は土壌、堆積物、水、大気などのあらゆる環境圏に存在するものとして研究されているが、ここでは腐植物質を扱ってきた歴史が最も長い土壌科学分野における腐植物質の扱いを中心とする。

Abstract

Recently, the academic world has been abuzz with papers that either express skepticism or counter skepticism about research and debate from the perspective of “humic substances”. This topic has also been taken up at the International Humic Substances Society (IHSS) conferences in recent years, and special lectures and discussions have been hurriedly incorporated into the programs during the conferences, and opinions have been exchanged at the general meetings. In this context, the Journal of Environmental Quality in 2019 published two special sections with papers from both sides of the issue. This mini-review will outline what is happening in the academic world surrounding humic acid substances in light of this situation. Although humic substances have been studied in all spheres of the earth's environment, including soil, sediment, water, and the atmosphere, this mini-review will focus on humic substances in the field of soil science, which has the longest history of dealing with humic substances.

現行の腐植物質パラダイム

Achard (1786) はピート土壌からアルカリ抽出することで暗褐色の物質を得た。この論文発表から40年後には「腐植酸」という用語が使われ始めた(Döbereiner, 1822; Sprengel, 1826)。こうして腐植物質の研究史は幕を開け、今日に至るまでの200余年にわたって連綿と研究対象とされてきた。そうした長期にわたる歴史の中では当然のごとく、腐植物質という用語の定義や物質としての対象範囲や概念、アルカ

リ溶液を中心とした抽出・分画法の問題点に関する議論が幾度も巻き起こってきた。言うなれば、こうした腐植物質の定義や概念に関する議論そのものが、腐植物質や土壌有機物の研究史であると言っても過言ではない。

19世紀後半から現在に至るまでの腐植物質パラダイムで重要な点は「自然界で生体成分が分解される過程において、二次合成反応を経て形成される腐植物質という成分が少なからず存在する」ということである。新鮮な生体成分としての有機物は環境中で単純な分解

プロセスを経て無機化 (CO₂化) する運命を辿るだけでなく、一部の成分はいわゆる二次合成反応としての腐植化というプロセスを経て、腐植物質という独特の物質へと変化し、蓄積される (いずれは分解されるとしても) という概念が基本となっている。こうした腐植物質パラダイムが形成された経緯を振り返る。

Kononova (1958, 1966) は 2 つの著書で「腐植物質は重合プロセスによって生成された巨大高分子である」と定義した。Wershaw (2000) は「土壌の腐植は、植物分解産物の構造を変えるような合成反応の最終生成物で構成されており、非腐植物質 (生体成分) とは異なる独自の特性を持つ新たに合成された物質である」と表した。これらの概念的定義に共通する鍵は、二次的反応 (腐植化) によって生成される二次合成成分 (腐植物質) の存在である。1982年に発足したIHSSは腐植物質を専門に扱う唯一の国際学会であるが、「腐植物質とは植物や微生物の遺骸の崩壊や変質する過程 (腐植化と呼ばれるプロセス) で生化学的・化学的反応によって形成された多分散物質の複雑で不均一な混合物」であると定義しており、「特徴的な暗色を土壌、水、堆積物に与える」といったことでも特徴付けられる成分であると表している (IHSS, 2007)。また、Stevenson (1994) が著書で定義した腐植物質の内容を反映して、アメリカ土壤科学会の土壤科学用語集 (SSSA, 2021) の中でも「腐植物質: 土壌中の二次合成反応によって形成される、比較的高分子量で黄色から黒色の色をした一連の着色有機物質のこと。リグニンを含む生体高分子とは異質であるという点で、土壌環境に特有の物質」と記されている。多少の表現上の齟齬があったとしても、固有あるいは独特な 2 次的合成反応プロセスが介在することで腐植物質というのが形成され、存在し得るという腐植物質パラダイムは、密かに問題点を抱えることを知りつつも今日まで幅広く支持されてきた。

パラダイムシフトの兆し?

今世紀に入ると、従来の腐植物質パラダイムに対して、いわゆるパラダイムシフトを求める風潮が広がり始めた。特に「アルカリ抽出を基本とする腐植物質 (という物質や命名) は土壌や堆積物の有機物の実態を研究する上では適切ではない」という考えが散見されるようになってきた。Simpson et al. (2002) は「陸域環境における腐植物質の分子構造とその関連性」と題した論文の中で、当時最新の様々なパルスシーケンスを用いた 2D NMR 分析を駆使した結果から、1) 腐

植物質と定義される混合物のうちの、主たる分子構成成分はよく知られる比較的低分子な生体成分であることを、またさらに、2) それまで広く受け入れられていた腐植物質の特性 (つまり、架橋された高分子ネットワークを持つという特性) は、金属カチオンとの複合化で形成された混合物の凝集態として説明できると報告した。すなわち、土壌固有の腐植成分なるものは見当たらないとする見解で、その後の論文「土壌中の腐植物質: それは真に化学的に異なるものなのか (Kelleher and Simpson, 2006)」の中でも、彼らが実験に使用した試料とは種類が違うものや不溶画分についてまでは否定できないものの、NMR 分析の結果は腐植高分子と呼ばれるような独立した化学的カテゴリー成分はほとんど含まれないことを示唆すると記述している。同時期に同様の論旨の Sutton and Sposito (2005) や Lehmann et al. (2008) などの論文が Environmental Science and Technology 誌や Nature Geoscience 誌などの著名な雑誌に掲載された。この頃から急速にある種のトレンドとして、腐植物質という成分の存在そのものに対して懐疑的な見方をする風潮が広がり始めた。さらに Nature 誌のミニレビュー (Perspective) として「生態系の特性としての土壌有機物の持続性」と題した論文 (Schmidt et al., 2011) が掲載され、その中で腐植高分子の存在はいまだに認められないことや、アルカリ抽出による変質の問題などが強調されたことが追い討ちをかけ、腐植高分子の不在説が喧伝されるようになった。

ディベートの行方

こうした腐植不在説ともいえる風潮の広がりに危機感を抱いた IHSS では、2015 年の第 18 回金沢大会や 2018 年のバルナ (ブルガリア) 大会でこの話題に関する特別講演や討論会が企画された。その際には従来の腐植物質パラダイムによって得られてきた知見は、土壌や堆積物の有機物を研究する上で多大な貢献をもたらしてきたし、その重要性は将来的にも疑うべく無いたの意見がもつばらであったが、懐疑的な風潮の広がりに対して肯定的な見解を積極的に示す機会を設けるべきであるという対抗策が取り沙汰された。

こうした流れの中で、2019 年に Journal of Environmental Quality 誌で「腐植物質研究の将来に対する見解」と題した特別セクション (48 巻 2 号) が組まれた。編集担当の Janzen 博士は巻頭言で「腐植物質という観点で研究する事の功罪」に対する議論 (ディベート) の場を設けた意義について以下のように述べ

ている (Janzen, 2019)。「土壌や堆積物のアルカリ抽出法で定義された「腐植物質」の視点は、陸生・水生生態系における有機物動態の理解において、まだ意味のある進歩を約束しているのか」という問いについて、相対する回答を提示する2組の著者の論文 (Kleber and Lehmann, 2019; Olk et al., 2019) を特別セクションとして用意した。両者による見解を熟考して秤にかけ、思慮深い議論の応酬を通じてサイエンスの啓発が促されることを読者に期待して特集が組まれたと説明している。従来の腐植物質パラダイムに対して否定的見解の論文として用意された Kleber and Lehmann (2019) は、アルカリ抽出による問題点を指摘し、「腐植物質」という用語の命名とその基礎概念は、土壌有機物研究を推進していく上で適切ではないと結論付けている。この論文の中で特筆すべきは本文と共に用意された十数頁にわたる Supplementary Online Material である。腐植物質の概念や定義などを時系列的にピックアップし、著者らのコメントも加筆されたもので、腐植に関心のある研究者であれば一度は目を通して良い代物である。一方、肯定的見解の論文として用意された Olk et al. (2019) では、アルカリ抽出や腐植酸・フルボ酸といった分画操作が腐植物質の多様な研究課題に対して多くの問題解決をもたらしてきたことを具体的な事例を挙げて解説し、結論として「腐植物質という観点とそれを得る手法」の有効性は揺るがないことを主張している。

この特集では、2つの論文に続いて、Myneni博士による「天然の有機物 (NOM) の化学—更なる展開：腐植物質ディベートに対するコメント」と題した解説が用意されている (Myneni, 2019)。その中で述べられていることを掻い摘んで紹介する。抽出という行為が自然に存在する本来の NOM の姿を見失わせるとすれば、抽出しないで直接分析する方法が求められるのだが、最も有効とされる固体 NMR では鉄分が多く NOM の割合が低い多くの土壌や堆積物にはほとんど利用できない。また、FT-ICR MS などの質量分析法では多くのサンプルに対して抽出や精製なしで使用できない上に、小分子やイオン化できない分子には適していない。X線法や赤外線法は、土壌や堆積物中の分子構造を直接探ることができる優れたツールだが、異なる官能基やその構造について得られる情報が限られている。このように詳細な分子構造を知るためのツールが不足する中で NOM の化学を研究する次のステップとは何だろうか。少なくとも、今後 NOM を研究する研究者は、抽出された NOM は重要な手掛かりをもたらすものの、抽出という行為による制限が含まれて

おり、抽出された NOM の命名に関する問題点（すなわち、それらを腐植物質と呼ぶか否か）に加えて、抽出された NOM を自然に存在する本来の NOM の姿として捉えることに対して疑念を抱いておく必要がある。そうした意味では Kleber and Lehmann (2019) が示唆しているように、アルカリ抽出有機物を腐植物質というような独特の成分を表すような用語とせずに、新たに再定義し、再定義された用語を厳密に守ることが科学界にとって有用かもしれないと解説している。

ここで私見を交え、旧来の腐植物質パラダイムがもたらした貢献は多大なものと認められるが、ゴールをどこに見定めるかに応じてその評価の程度は変わるし、ネガティブな影響をもたらしてきた場合もあるだろうと思われる。ただし、腐植物質の本来ある？姿を説明できるような、抽出操作なしで直接分析可能であり、かつ、詳細かつ多量の情報をもたらすような画期的手法や装置の開発に期待を寄せるということだけでは、NOM 研究の将来は霞に包まれたままである。となれば、従来のパラダイムを見つめ直してブレークスルーを果たす時期が来るべくして来たのかもしれない。

さらなる議論とその行方

驚いたことに、Journal of Environmental Quality 誌で刺激的な特別セクション（48巻2号、2019年3月）が組まれてから一年も経ないうちに、同誌で再び腐植物質パラダイムに関連した「環境のプロセスを理解するためにアルカリ抽出法を用いること」と題する特別セクションが生まれ、10編の論文が掲載された（48巻6号、2019年11-12月）。Ohno et al. (2019) は特集を企画した背景として、土壌有機物と腐植物質の研究はいずれも多様で幅広い範囲であるために前回の特集で用意された2本の論文だけではカバーしきれない。そこで、アルカリ抽出物を用いた環境・生態プロセスの理解に関する知見の現状を紹介するために10編の論文を用意したと述べている。ここで用意された論文は、(i) 腐植物質の化学、(ii) 環境プロセスにおける腐植物質、(iii) 腐植物質のケーススタディとレビュー、という3つの大きなテーマに分類されている。

各論文の主要な知見は Ohno et al. (2019) の中でテーマごとにレビューされており、いずれの論文も精読されるべきものである。参考までに和訳した論文題目の一覧（目次）を表1に示した。Ohno et al. (2019) は結論の中で、従来の腐植物質パラダイムが過去60年以上にわたって土壤科学界に貢献し、生物地球科学的

表1 Journal of Environmental Quality 誌48巻6号の特別セクション「環境のプロセスを理解するためにアルカリ抽出法を用いること」に掲載された論文題目一覧（和訳）

カテゴリー	題 目	著 者	掲載ページ
冒頭レビュー	土壌有機物と環境プロセスを研究する上で土壌アルカリ抽出法を使用することへの現在の理解	Ohno, T., Hess, N.J., Qafoku, N.P.	1561-1564
化学	糸状菌分解による腐植酸の脂肪族成分へのリグニンの寄与	Khatami, S., Deng, Y., Tien, M., Hatcher, P.G.	1565-1570
	固相 ¹³ C NMRに基づいた泥炭土における腐植酸の存在の証拠	Hatcher, P.G., Waggoner, D.C., Chen, H.	1571-1577
	水酸化ナトリウム抽出にともなう土壌有機物成分の化学構造変化の可能性について	Chen, X., Jin, M., Xu, Y., Chu, W., Olk, D.C., Hu, J., Jiang, Y., Mao, J., Gao, H., Thompson, M.L.	1578-1586
	フルビック、ヒューミック、ヒューミンの各炭素画分は意味のある生物的、物理的、化学的炭素プールを表しているのか？	Sherrod, L.A., Vigil, M.F., Stewart, C.E.	1587-1593
環境プロセス	腐植物質とアーバスキュラー菌根菌の組み合わせがトウモロコシの生育に及ぼす影響について	Pinos, N.Q., Berbara, R.L.L., Elias, S.S., Castro, T.A.T., Garcia, A.C.	1594-1604
	腐植物質は塩ストレスや干ばつの条件下で土壌の肥沃度を改善できるか？	Suddarth, S.R.P., Ferreira, J.F.S., Cavalcante, L.F., Fraga, V.S., Anderson, R.G., Halvorson, J.J., Bezerra, F.T.C., Medeiros, S.A.S., Costa, C.R.G., Dias, N.S.	1605-1613
	腐植酸添加は鉄(III)の還元とリンの脱着を触媒する一方で、酸化還元条件が振動する高地土壌からの二酸化炭素排出量を増加させる。	Wilmoth, J.L., Sexstone, A.J., McDonald, L.M.	1614-1621
事例研究とレビュー	植物根の成長調整における腐植物質の構造-特性-機能の関係：レビュー	Garcia, G.A., Castro, T.A.T., Santos, L.A., Tavares, O.C.H., Castro, R.N., Berbara, R.L.L., Garcia-Mina, J.M.	1622-1632
	土壌と水における天然有機物プロセスを理解するために腐植画分を使用することについて：選り抜きの研究と応用	Olk, D.C., Bloom, P.R., De Nobili, M., Chen, Y., McKnight, D.M., Wells, M.J.M., Weber, J.	1633-1643
	有機物論争に対する超分子の答え	Wells, M.J.M	1644-1651

メカニズムに関する新しい概念や予測モデルの開発につながったことを評価している。その上で、完全な理解や詳細はこれからであるが、今はエキサイティングな時期であり、土壌科学界は、従来の概念と新しい概念のフレームワークの両方が、一致する部分と一致しない部分の両方を探っている移行期の真只中にある。このような大変動を経験した他の科学分野と同様に、新しい情報を広い視野で検討し、初期の研究の貢献を振り返ることが重要であると締め括っている。

さらに最近の情報として、2021年9月時点でのIHSSホームページのトップページとNews欄（IHSS 2021）には、「腐植物質研究の将来への見解」と題してOlk et al. (2019a；2019b) の論文に加えて、「土壌有機物成分の自然に起こる二次合成：土壌連続体モデル理論の批判的検証」（Nobili et al., 2020）や「土

壌や水に含まれる有機物の重要な構成要素としての腐植物質の正当性」（Hays and Swift, 2020）が公表されていることを積極的にアナウンスしている。

おわりに

定義や手法がどうであれ、天然に存在する有機物の実態と機能・役割を理解することの重要性は変わらない。ゴールを目指す道筋がまとまっている方が情報共有しやすいという利点があるものの、異なる道筋を辿ることの必要性ももちろんある。今できることに最善を尽くして取り組むことを積み重ねるのか、従来の概念を捨てて新たな展開に突き進むべきなのか。有機物研究に携わる我々が、天動説か地動説か、光の波動説か粒子説か、とも言えるようなマイルストーンを今ま

さに目の前にしているとすれば、いずれにしても研究者冥利に尽きるのではないだろうか。

引用文献

- Achard, F.K. (1786) Chemische untersuchung des torfs. *Crell's Chemical Annals* 2, 391-403.
- Döbereiner, J.W. (1822) III. Zur pneumatischen Phytochemie. In: *Zur pneumatischen Chemie*. Cröker, Jena, Germany. pp. 64-74.
- Hayes, M.H.B. and Swift, R.S. (2020) Vindication of humic substances as a key component of organic matter in soil and water. *Adv. Agron.* **163**, 1-37.
- IHSS (2007) What are humic substances? International Humic Substances Society. <https://humic-substances.org/what-are-humic-substances-2/> (accessed September 2021).
- IHSS (2021) Viewpoints on the future of humic substances research. <https://humic-substances.org/viewpoints-on-the-future-of-humic-substances-research/> (accessed September 2021).
- Janzen, H. (2019) The future of humic substances research: Preface to a debate. *J. Environ. Qual.* **48**, 205-206.
- Kelleher, B.P. and Simpson, A.J. (2006) Humic substances in soils: Are they really chemically distinct? *Environ. Sci. Technol.* **40**, 4605-4611.
- Kleber, M., and Lehmann, J. (2019) Humic substances extracted by alkali are invalid proxies for the dynamics and functions of organic matter in terrestrial and aquatic ecosystems. *J. Environ. Qual.* **48**, 207-216.
- Kononova, M.M. (1958) In: *Die Humusstoffe des Bodens*. Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin.
- Kononova, M.M. (1966) In: *Soil organic matter. Its nature, its role in soil formation and in soil fertility*. Pergamon Press, Oxford, UK.
- Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Dathe, L., Wirrick, S. and Jacobsen C. (2008) Spatial complexity of soil organic matter forms at nanometre scales. *Nature Geosci.* **1**, 238-242.
- Myneni, S.C.B. (2019) Chemistry of natural organic matter-The next step: Commentary on a humic substances debate. *J. Environ. Qual.* **48**, 233-235.
- De Nobili, M., Bravo, C., Chen, Y. (2020) The spontaneous secondary synthesis of soil organic matter components: A critical examination of the soil continuum model theory. *App. Soil Ecol.* **154**, 103655.
- Ohno, T., Hess, N.J. and Qafoku N.P. (2019) Current understanding of the use of alkaline extractions of soils to investigate soil organic matter and environmental processes. *J. Environ. Qual.* **48**, 1561-1564.
- Olk, D.C., Bloom, P.R., Perdue, E.M., Chen, Y., McKnight, D.M., Farenhorst, A., Senesi, N., Chin, Y.-P., Schmitt-Koplin, P., Hertkorn, N., Harir, M. (2019a) Environmental and agricultural relevance of humic fractions extracted by alkali from soils and natural waters. *J. Environ. Qual.* **48**, 217-232.
- Olk, D.C., Bloom, P.R., De Nobili, M., Chen, Y., McKnight, D.M., Wells, M.J.M. and Weber, J. (2019b) Using humicfractions to understand natural organic matter processes in soil and water: Selected studies and applications. *J. Environ. Qual.* **48**, 1633-1643
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S. and Trumbore, S.E. (2011) Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* **478**, 49-56.
- Simpson, A.J., Kingery, W.L., Hayes, M.H.B., Spraul, M., Humpfer, E, Dvortsak, P., Kerssebaum, R., Godejohann, M. and Hofmann M. (2002) Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften* **89**, 84-88.
- Sprengel, C. (1826) Über Pflanzenhumus, Humussäure und humussaure Salze [About plant humus, humic acids and salts of humic acids]. *Arch. Gesammte Naturl.* **8**, 145-220.
- SSSA (2021) Glossary of soil science terms. Soil Science Society of America. <https://www.soils.org/publications/soils-glossary#> (accessed September 2021).
- Stevenson, F.J. 1994. In: *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*. 2nd ed., John Wiley & Sons, New York. p. 32-33
- Sutton, R. and Sposito, G. (2005) Molecular structure

in soil humic substances: the new view. *Environ. Sci. Technol.* **39**, 9009-9015.

Wershaw, R.L. (2000) The study of humic substances: In search of a paradigm. In: *Humic substances: Versatile components of plants, soil, and water*. E.A. Ghabbour and G. Davies, editors, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. p. 1-7.