

神奈川県横浜・川崎地域に湧出する黒湯の 腐植物質元素成分と紫外・可視吸光度の関係

高野敬志^{1)*}, 井上源喜²⁾, 内野栄治¹⁾

(令和3年6月10日受付, 令和3年7月9日受理)

Relationship between elemental humus components and UV · VIS absorbance of Kuroyu (blackish spring water) in the Yokohama and Kawasaki area, Kanagawa, Japan

Keishi TAKANO^{1)*}, Genki I. MATSUMOTO²⁾ and Eiji UCHINO¹⁾

Abstract

We measured the UV · VIS absorbance, ranged between 200 and 800 nm wavelength, of humic acid (HA) and fulvic acid (FA) solutions extracted from the ten Kuroyu springs in the Yokohama and Kawasaki area in Kanagawa prefecture. The higher absorbance appeared at the 200 nm wavelength in all HA and FA solutions. The longer the wavelength, the lower the absorbance measurements, with no remarkable peaks. For the FA solution with the higher FA carbon concentration, the convexity was observed around 230 nm wavelength. This reason might be due to the existence of organic compound with the conjugated double bond. In addition, the relationships between each HA and FA elemental concentrations (carbon, nitrogen and phosphorus concentrations) or elemental ratios (C/N mol and C/P mol ratios) and the several terms about UV · VIS absorbance were determined by the spearman's rank correlation analysis. The HA carbon and nitrogen concentrations and HA C/P mol ratio had the significant positive correlation with the wavelength at 0.1 and 0.25 of relative absorbance to the max absorbance and the net absorbances at 200, 300 and 400 nm. In specially, a strong correlation revealed between HA carbon concentration and net absorbance at 300 nm. The FA nitrogen concentrations had a significant positive correlation with the net absorbances at 300 and 400 nm wavelength, and the FA C/N mol ratio had a significant negative correlation with the net absorbance at 300 and 400 nm wavelength. These results suggested that ①HA carbon was involved in the absorbance in HA solution and the absorbance was affected by the content of aromatic carbon which related with the progress of humification. FA carbon was not involved in the absorbance and FA carbon components were

¹⁾北海道立衛生研究所 〒060-0819 北海道札幌市北区北19条西12丁目。 ¹⁾Hokkaido Institute of Public Health, Kitaku Kita 19 Nishi 12, Sapporo 060-0819, Japan. *Corresponding author : E-mail takakei@iph.pref.hokkaido.jp, TEL 011-747-2735, FAX 011-736-9476.

²⁾大妻女子大学人間生活文化研究所 〒102-8357 東京都千代田区三番町12。 ²⁾Institute of Human Culture Studies, Otsuma Women's University, Sanban-cho 12, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8357, Japan.

dominated by the carbon of organic components with the weak effect on the absorbance. ② HA and FA nitrogen was involved in the absorbance in HA and FA solutions, respectively, and both absorbance were affected by the contents of aromatic nitrogen. ③ HA C/P mol ratio rather than HA C/N mol ratio could be recognized as index of humification, ④ FA C/N mol ratio had a negative correlation with the net absorbance owing to the increase in aromatic nitrogen accompanied by decomposition of organic carbon compounds in darkening of humus but FA C/P mol ratio was not involved in the absorbance.

Key words : Humic acid, fulvic acid, UV・VIS absorbance, CNP concentration, CNP mol ratio

要 旨

神奈川県横浜・川崎地域に湧出する黒湯 10 温泉から抽出したフミン酸とフルボ酸溶液の 200—800 nm の紫外・可視吸光度を測定した。全ての温泉のフミン酸およびフルボ酸溶液で、200 nm の吸光度が最大となり、高波長になるにつれて減衰し、顕著なピークは認められなかった。フルボ酸炭素濃度が最も高い温泉のみ、吸光度曲線の 230 nm 付近に凸状の隆起が認められた。この原因として、共役二重結合の少ない有機化合物の存在が推定された。さらにフミン酸およびフルボ酸の元素濃度（炭素、窒素およびリン濃度）および元素比（C/N モル比および C/P モル比）と紫外・可視吸光度の関係をスピアマンの順位相関検定を行うことにより調べた。フミン酸では、炭素、窒素濃度および C/P モル比と最大吸光度を 1 としたときの比吸光度が 0.25 および 0.1 に低下した波長、波長 200, 300 および 400 nm の正味の吸光度、これら全ての間に正の相関が認められた。特にフミン酸炭素濃度と波長 300 nm における正味の吸光度に強い相関が認められた。フルボ酸では、窒素濃度と波長 300 および 400 nm の正味の吸光度の間に正の相関が認められ、C/N モル比と波長 300 および 400 nm の正味の吸光度の間に負の相関が認められた。これらの結果から次のことが推定された。①フミン酸溶液の吸光度に対してフミン酸炭素が関与し、腐植化の進行に関連する芳香族系有機物の含有量に影響される。フルボ酸溶液の吸光度に対してフルボ酸炭素は関与しなく、フルボ酸炭素成分は吸光度に対して影響が弱い有機物成分由来の炭素の割合が大きい。②フミン酸溶液およびフルボ酸溶液の吸光度に対してフミン酸窒素およびフルボ酸窒素がそれぞれ関与し、双方、芳香族系窒素含有量に影響される。③フミン酸の C/P モル比は C/N モル比よりも腐植化・暗色化の指標となる。④フルボ酸溶液の吸光度に対して C/P モル比は関与せず、有機物の分解で炭素が減少するに伴って芳香族系窒素が蓄積したことで C/N モル比と正味の吸光度との間に負の相関が認められた。

キーワード：フミン酸, フルボ酸, UV・VIS 吸光度, CNP 濃度, CNP モル比

1. はじめに

温泉には含有成分の影響により特定の呈色や濁りを生じる例がある。鉄やマンガンを多く含有することで赤色から黒色の濁りのある呈色を示す例は数多く認められており、また硫黄やケイ酸による青みがかった呈色に関するメカニズムも報告されている（大沢, 2011）。さらに、有機成分である腐植物質による黒褐色から黄褐色の呈色を有する温泉が全国的に分布しており、黒湯またはモール系温泉と呼ばれている（井上, 1994；村松, 2011）。温泉に含まれる腐植物質成分は水溶性のフミン酸およびフルボ酸であり、酸による可溶性により両成分を区別している。環境省によって温泉分析の公定法を網羅した鉱泉分析法指針には「腐植質」という名称の項目でフミン酸の簡易的な分析が解説されている（環境省自然環境局, 2014）。北海道立衛生研究所では 1997 年から指針の分析法によって腐植質の分析を行っており、北海道内のフミン酸に富む温泉の分布を明らかにしてきた（青柳ら, 2005）。

Kumada (1955) はフミン酸の形成過程を明らかにするため、様々な土壌から抽出したフミン酸

溶液の紫外 (UV) および可視 (VIS) 吸光度の測定を行った。腐植化は腐植物質の暗褐色の度合いが大きくなることを意味しており、特定の波長の VIS 吸光度から計算された $\Delta \log K$ 値や KF 値に代表される腐植化度 (黒色度) は腐植化の進行ならびに腐植物質の起源を推定する指標として用いられている (Kumada, 1987)。その KF 値 (A_{600}/C , A_{600} : 試料中の 600 nm における吸光度, C: 試料中の有機炭素濃度) は、値が高い (腐植物質濃度当たりの吸光度が高い) と腐植化が進行しているとされるが、吸光度に関与しない腐植物質の構成有機物成分の分解が進むと、吸光度の変化が起きなくとも有機炭素濃度が低くなるため、見かけ上の KF 値は高くなり、吸光度の大きさと腐植化度が関連しない例もある (渡邊, 2019)。その場合、吸光度に関する化学的な特性を検証することにより腐植化度を再評価する必要があると考えられる。UV・VIS 吸光度に加えて、フミン酸やフルボ酸の赤外吸収スペクトルや蛍光スペクトルの測定によって官能基の検出など化学構造を明らかにする試みが行われており (石渡・半谷, 1965; 長尾ら, 1997)、腐植物質の光学的な知見は、その化学的特性を理解するために役立っている。

関東地方で湧出する温泉の中には腐植物質に富んでいるものが認められ (中山・小室, 1990; 前田ら, 2011)、黒湯と呼ばれて親しまれている。黒湯に含まれるフミン酸の脂肪酸組成など、化学的性質を詳細に調べた報告があるが (井上・大宮, 2019; Matsumoto, *et al.*, 2020)、光学的特徴と含有する腐植物質との関係を明らかにした報告は我々が知る限りでは見当たらない。我々は神奈川県横浜および川崎地域に湧出する黒湯を採取し、黒湯に含まれるフミン酸およびフルボ酸の炭素、窒素およびリンの含有比を調べ、黒湯の化学的特徴の一部を明らかにした (高野ら, 2020)。今回、さらに同じ試料を材料として UV・VIS 吸光度を測定し、フミン酸とフルボ酸の炭素、窒素およびリン含量とそれらの含有比との関係を調べ、腐植物質を構成する主要元素が温泉水の光学的な特徴にどのように関わっているかを明らかにすることを目的とした。

2. 材料と方法

2.1 試料採取および物理化学的成分の分析

2017 年 8 月に神奈川県東部の横浜市 7 温泉および川崎市 3 温泉、全 10 温泉において、それぞれの温泉水を利用している入浴施設で源泉を採取した。試料採取地点を Fig. 1 に示した。なお、採取地点番号は高野ら (2020) の報告と同じである。

温泉水からのフミン酸およびフルボ酸の分離方法および両成分中の炭素、窒素およびリン濃度の分析法は高野ら (2020) の報告による。なお、フルボ酸の分離は Thurman and Malcolm (1981) の方法に従った。

2.2 フミン酸およびフミン酸の UV・VIS 吸光度の測定

温泉水から分離したフミン酸およびフルボ酸溶液の UV・VIS 吸光度は、吸光度計 (Hitachi U-1500) により、1 cm セルを用いて、

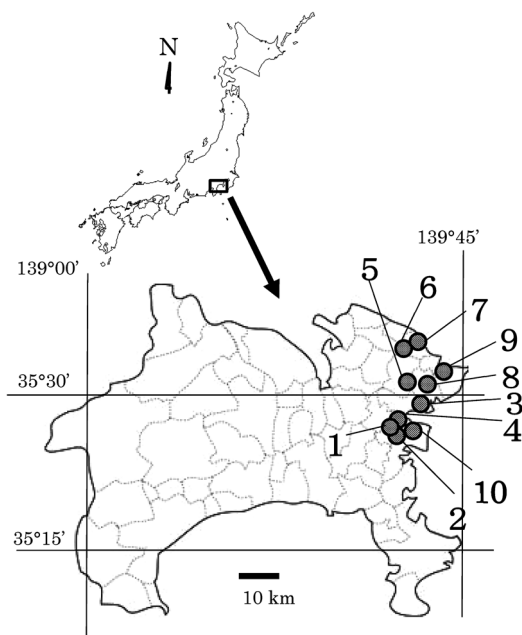


Fig. 1 Location of spring water sample collection

図 1 温泉水採取地

200—800 nm の範囲で 5 nm ごとに測定した。なお、試料を測定する前に精製水を用いて全波長においてセル補正を行い、精製水を対照として試料の測定を行った。全てのフミン酸およびフルボ酸溶液で、200 nm で吸光度が最高値を示したため、200 nm の吸光度を 1 として比吸光度曲線を作成した。すなわち、比吸光度は測定した吸光度 (A) を最大吸光度 (A_{max}) で割った値 (A/A_{max}) である。

3. 結果および考察

3.1 黒湯の物理化学的特徴

全 10 温泉の泉温、pH、主要イオン濃度などの基本情報は高野ら (2020) により報告された。すなわち、全ての温泉の水温は 25℃ 未満の冷鉱泉であり、pH が 7.5 以上の弱アルカリ性またはアルカリ性泉、全ての温泉の陽イオンはナトリウムが卓越し、陰イオンは 2 つの温泉で塩化物イオンが卓越していた他は炭酸水素イオンが卓越していた。Sta. 8 はナトリウムおよび塩化物イオン濃度が高く、両イオンが 240 mval/kg 以上である強塩泉に該当した。ほとんどの井戸の深さは 200 m より浅く、Sta. 8 のみ深さ 1500 m であった。

3.2 フミン酸およびフルボ酸溶液の炭素、窒素およびリン濃度

黒湯のフミン酸およびフルボ酸の炭素、窒素およびリン濃度を Table 1 に示した。全 10 地点のうち Sta. 3 ではフミン酸の炭素、窒素およびリン濃度が最も高かった。Sta. 8 ではフミン酸の炭素および窒素濃度が最も低かったが、同地点におけるフルボ酸のそれら 3 元素濃度は最も高かった。その他、各地点のフミン酸およびフルボ酸の元素濃度の詳細は、前報 (高野ら, 2020) で発表した。

Table 1 Carbon, nitrogen and phosphorus concentrations in humic and fulvic acids in Kuroyo
表 1 黒湯のフミン酸およびフルボ酸の炭素、窒素およびリン濃度

Station No.	Humic acid			Fulvic acid		
	Carbon concentration (mmol/L)	Nitrogen concentration (mmol/L)	Phosphorus concentration (μ mol/L)	Carbon concentration (mmol/L)	Nitrogen concentration (mmol/L)	Phosphorus concentration (μ mol/L)
1	2.825	0.205	1.67	0.509	0.027	1.05
2	1.534	0.135	0.97	0.467	0.068	0.54
3	4.451	0.264	1.90	0.447	0.022	0.80
4	1.292	0.125	1.05	0.345	0.046	0.90
5	2.488	0.193	1.06	0.350	0.034	0.68
6	0.477	0.051	1.23	0.175	0.023	0.93
7	2.129	0.142	1.74	0.321	0.062	1.22
8	0.037	0.010	1.26	1.141	0.182	1.43
9	0.282	0.011	1.00	0.229	0.011	0.72
10	0.795	0.050	1.35	0.291	0.048	0.87

The data in the table were presented by Takano *et al.* (2020)

表内のデータは高野ら (2020) により発表されたものである

3.3 フミン酸およびフルボ酸溶液の UV・VIS 比吸光度曲線

黒湯のフミン酸およびフルボ酸溶液の UV・VIS 比吸光度曲線をそれぞれ Fig. 2 および 3 に示した。さらに両者の波長 200, 300 および 400 nm における吸光度を Table 2 に示した。全ての吸光度曲線は特定の波長で顕著なピークがないという腐植物質の特徴(筒木, 2011)と同様な結果であった。ただし, Sta. 8 のフルボ酸の吸光度曲線では, 230 nm の波長付近で凸状の不連続域が認められた。

フミン酸は, 全地点で 200 nm から 400 nm 付近まで指数関数的に減衰し, Sta. 8 を除いて 400 nm

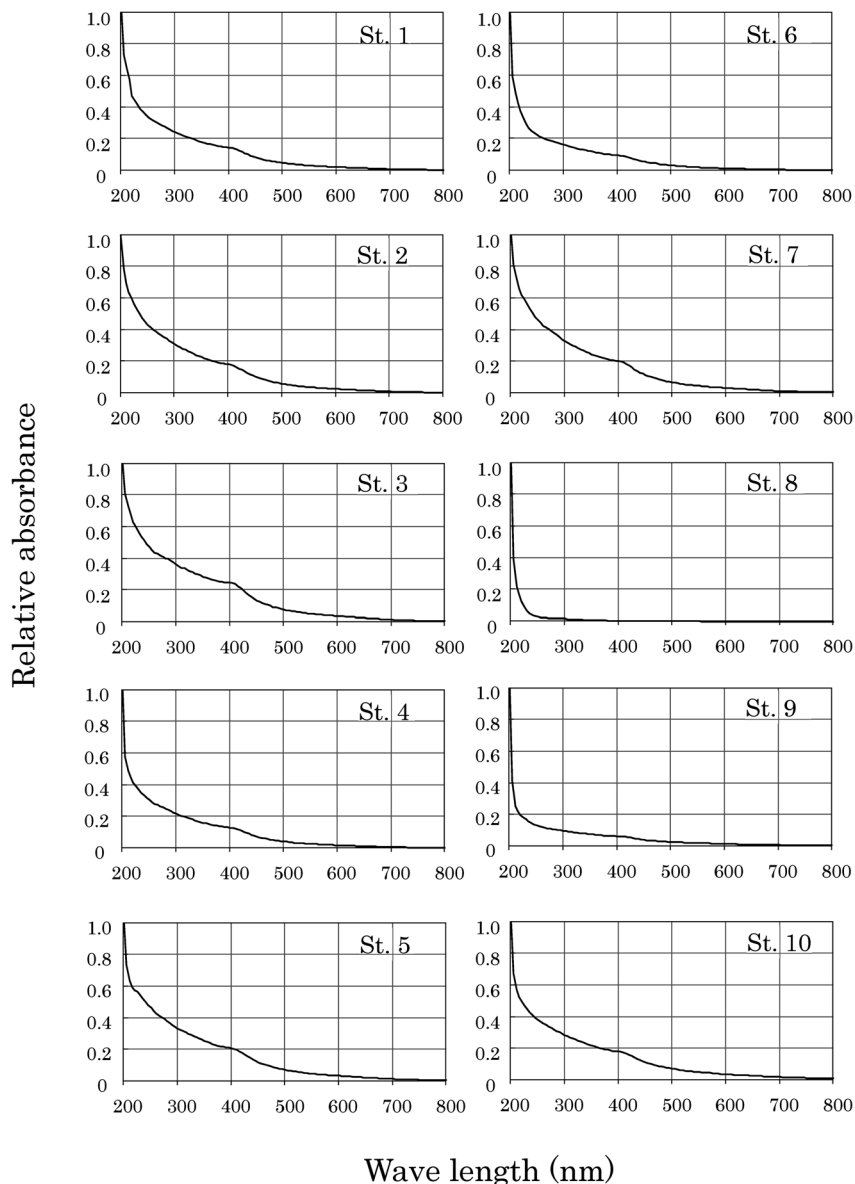


Fig. 2 Relative absorbance curves of humic acid solutions for Kuroyu

図 2 黒湯のフミン酸溶液の比吸光度曲線

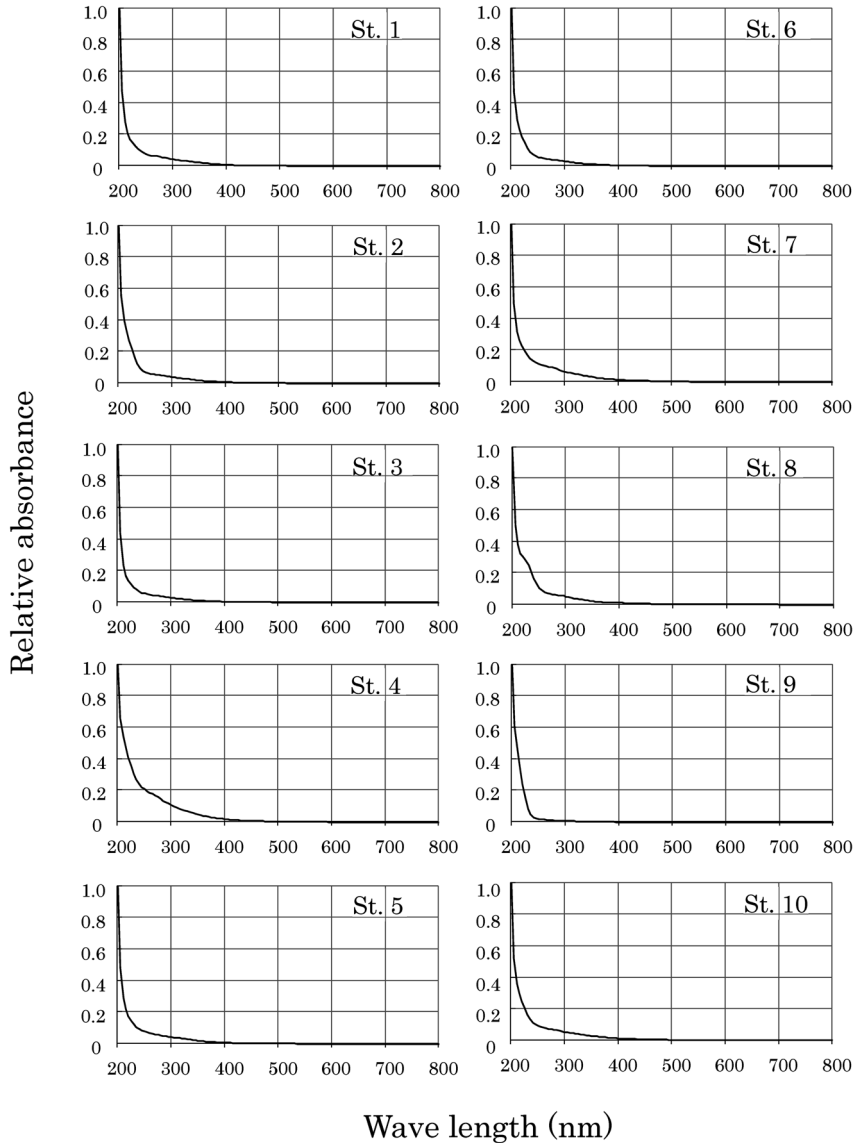


Fig. 3 Relative absorbance curves of fulvic acid solutions for Kuroyu

図 3 黒湯のフルボ酸溶液の比吸光度曲線

からさらに急速に減衰した。石渡 (2010) は、堆積物フミン酸の吸光度において、410 nm 付近に「肩様」な変化や僅かなピークが現れることがあり、フェオ色素由来によるものと報告している。フェオ色素は植物プランクトン由来の色素でもあり、本研究においても黒湯の腐植物質の起源として植物プランクトンが寄与していることが示唆されている (高野ら, 2020)。比吸光度が高波長側に向かって緩慢に減衰したのは、Sta. 3, 5 および 7 で、465—480 nm で比吸光度 0.1 を下回った。逆に急速に減衰したのは Sta. 8 および 9 で、それぞれ 225 および 300 nm で比吸光度 0.1 を下回った。波長 200, 300 および 400 nm で正味の吸光度が最も高かったのは Sta. 3 で、次いで Sta. 1 および 5 が高かった。波長 200 nm で最も低かったのは Sta. 6 で、波長 300 および 400 nm では Sta. 8 が最も低かった。

Table 2 Net absorbance of humic and fulvic acid solutions at wavelengths of 200, 300 and 400 nm in Kuroyu

表 2 黒湯の波長 200, 300 および 400 nm におけるフミン酸およびフルボ酸溶液の正味の吸光度

Station No.	Humic acid			Fulvic acid		
	200 nm	300 nm	400 nm	200 nm	300 nm	400 nm
1	6.100	1.478	0.892	1.837	0.078	0.014
2	2.697	0.832	0.491	1.700	0.068	0.013
3	6.460	2.370	1.615	1.317	0.038	0.006
4	3.620	0.787	0.475	1.254	0.134	0.023
5	4.390	1.471	0.926	1.539	0.064	0.012
6	0.796	0.129	0.078	1.313	0.037	0.005
7	3.550	1.175	0.721	1.394	0.089	0.019
8	0.834	0.013	0.004	4.320	0.212	0.047
9	0.914	0.090	0.060	1.913	0.017	0.000
10	2.169	0.619	0.395	1.597	0.089	0.024

フルボ酸は、全地点で 200 nm から長波長側に比吸光度が急速に減衰し、285—440 nm で 0.01 を下回った。比吸光度が緩慢に減衰したのは、順に Sta. 4 および 7 で、それぞれ 305 および 265 nm で比吸光度 0.1 を下回った。急速に減衰したのは Sta. 3 および 9 で双方 230 nm で比吸光度 0.1 を下回った。波長 200, 300 および 400 nm で正味の吸光度が最も高かったのは Sta. 8 であった。波長 200 nm では Sta. 8 に次いで Sta. 1 および 9、波長 300 nm では次いで 4, 7 および 10、波長 400 nm では次いで 4 および 10 が高かった。最も低かったのは波長 200 nm で Sta. 4、波長 300 および 400 nm で Sta. 9 であった。

腐植物質には、270 nm 付近の波長で不連続な「肩様」の吸光度曲線を示すものがあり、芳香族系有機物であるリグニン質に起因するとされている (小倉, 1969; Cunha, 2009)。フルボ酸の吸光曲線では、Sta. 8 で 270 nm よりも低波長付近に凸状となる吸光度曲線が示されたが、他の地点の腐植物質ではそのような特徴が明確に認められなかった。230 nm 付近の吸光度のピークは臭化物イオンや硝酸イオンなどの無機物由来であるという報告もあるが (小倉, 1969)、本研究においてフミン酸およびフルボ酸溶液試料中のそれらの濃度は低いことを確認しており、有機物由来と考えられる。北海道東部に湧出し、フミン酸よりフルボ酸が優占する温泉において、Sta. 8 と近い波長で凸状となる吸光曲線を示す例が認められており (高野ら, 2019)、その由来となる物質は特定されていないが、両者のフルボ酸の構造に共通点がある可能性も考えられる。長鎖状および多環状炭化水素は、共役二重結合の数が多くなるほど長波長側に最大吸収波長が移動し、ベンゼン系化合物ではベンゼン環の数が 1 から 5 の数で 200—590 nm の範囲で変化する (松岡, 1980)。Sta. 8 のフルボ酸の波長 230 nm 付近の凸状曲線の原因に関して本研究では特定できなかったが、共役二重結合やベンゼン環の比較的少ない有機物が存在することが推定された。

3.4 フミン酸およびフルボ酸の元素濃度および元素比と UV・VIS 吸光度の関係

黒湯のフミン酸およびフルボ酸の炭素、窒素、リン濃度と、UV・VIS 比吸光度が 0.1 および 0.25

における波長の長さ, 波長 200, 300 および 400 nm の 3 波長における正味の吸光度のそれぞれのスピアマンの順位相関係数を求め, 順位相関検定を行った結果を Table 3 に示した. この順位相関係数は 2 変量正規分布が仮定できない場合に 2 つの変量間の相関の大きさを測る際に用いられる (丹後, 1983). 今回, データ数が十分に多くなく, 2 変量正規分布は明白ではない. フミン酸の炭素および窒素濃度は, UV・VIS 吸光度に関する全ての項目の間に相関が認められ, 特に炭素および窒素濃度と波長 300 および 400 nm における正味の吸光度との間に強い相関が認められた. このことは, フミン酸炭素濃度が高いほど吸光度曲線が UV 域から VIS 域にかけて緩慢に減衰することを意

Table 3 Spearman's rank correlation coefficients between elemental concentrations (carbon, nitrogen and phosphorus) and wavelengths at 0.25 and 0.1 as relative absorbance (which is the measured absorbance (A) divided by the max absorbance (A_{max}) : A/A_{max}) as well as net absorbance at wavelengths of 200, 300 and 400 nm for humic acid (HA) and fulvic acid (FA) of Kuroyu

表 3 フミン酸およびフルボ酸の元素濃度 (炭素, 窒素およびリン) と比吸光度 (測定した吸光度 (A) を最大吸光度 (A_{max}) で割った値 : A/A_{max}) が 0.25 および 0.1 における波長ならびに波長 200, 300 および 400 nm における正味の吸光度との間のスピアマンの順位相関係数

UV-VIS absorbance of HA	HA carbon	HA nitrogen	HA phosphorus
Wave length at 0.25 in relative absorbance	0.855**	0.818**	0.382
Wave length at 0.1 in relative absorbance	0.794**	0.733*	0.430
Net absorbance at 200 nm	0.927**	0.891**	0.394
Net absorbance at 300 nm	1.000**	0.988**	0.467
Net absorbance at 400 nm	0.988**	0.976**	0.418
UV-VIS absorbance of FA	FA carbon	FA nitrogen	FA phosphorus
Wave length at 0.25 in relative absorbance	0.018	0.624	0.091
Wave length at 0.1 in relative absorbance	-0.140	0.321	0.333
Net absorbance at 200 nm	0.430	0.224	0.042
Net absorbance at 300 nm	0.464	0.803**	0.579
Net absorbance at 400 nm	0.430	0.806**	0.527

Significant levels, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$

有意水準, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$

味する。さらに、フミン酸炭素濃度と波長 300 nm における正味の吸光度との相関係数が 1 であることから、この波長の吸光度がフミン酸炭素含量を最も表していることが示唆された。フミン酸の腐植化・暗色化が進行すると伴にリグニン、蛋白質および多糖類が減少し、芳香族性の高い有機物が生成されるという (筒木, 1995)。また、フミン酸の芳香族炭素量と黒色度との間に相関が認められ、それも単環構造ではなく縮合芳香族構造が重要であることが報告されている (渡邊, 2019)。黒湯の吸光度も、縮合環を持つ芳香族系有機物の含有量に影響されたと考えられる。すなわち、フミン酸炭素濃度が高ければ芳香族系有機物の含有量も高いことが考えられる。

フルボ酸の炭素およびリン濃度は吸光度に関する全ての項目の間に相関は認められなかったが ($p > 0.05$)、窒素濃度は波長 300 および 400 nm における吸光度の間に相関が認められた ($p < 0.01$)。このことから、フルボ酸炭素濃度は吸光度に影響することはなく、フルボ酸の構成有機物は吸光度に関連を持たないもの、例えば脂肪酸やリグニン由来のフェノール類 (渡邊, 2019) の含量の割合が大きいことが示唆された。さらに窒素含量が高いほど波長 300 nm 付近から長波長において吸光度が高い傾向が明らかになった。

フミン酸に含有する窒素に関して、芳香族系窒素量と黒色度の間に正の相関が、ペプチド窒素量と黒色度の間には負の相関が認められることが報告されている (Abe and Watanabe, 2004)。すなわち、腐植物質中の形態別の窒素量により、腐植物質溶液の吸光度に違いが生じることが考えられる。本報告も同様に、黒湯のフミン酸およびフルボ酸溶液中の窒素濃度が高ければ芳香族系窒素含量も高く、その量が吸光度に影響する可能性が示唆された。

黒湯のフミン酸およびフルボ酸の C/N モル比および C/P モル比と、吸光度に関する各項目のスピアマンの順位相関係数を Table 4 に示した。フミン酸は C/N モル比と吸光度に関する全ての項目に相関は認められなかったが、C/P モル比は全ての項目の間に相関が認められた。腐植物質の C/N モル比は起源となる生物の C/N モル比をある程度反映していると考えられているが、一方では、腐植物質など土壌有機物の分解が進み腐植化が進行するにつれ有機物中の炭素が窒素よりも多く消費されて C/N モル比が低くなる傾向が認められている (八木・近藤, 1996)。従って、C/N モル比の減少とフミン酸の腐植化・暗色化が同時に進み、C/N モル比と正味の吸光度の間に負の相関が認められるはずであるが、本研究において両者の間に相関が認められなかった。Sta. 8 および 9 の例では、2 地点ともフミン酸炭素および窒素濃度が低いことで高波長に向かうにつれて吸光度が急速に減衰し、正味の吸光度が低い値を示したが、両者の C/N モル比は大きく異なっていた。フミン酸 C/N モル比と吸光度の相関はフミン酸炭素およびフミン酸窒素濃度と吸光度の相関に比較して弱く、黒湯のフミン酸 C/N モル比は腐植化・暗色化の進行を示す指標としてはふさわしくないことが示唆された。Abe and Watanabe (2004) は、フミン酸の全窒素中の芳香族系窒素の割合とフミン酸中の全窒素の割合の間には負の相関が認められたことから、芳香族系窒素はフミン酸中に選択的に保存されていると提唱している。このことは、フミン酸窒素濃度が高ければ芳香族系窒素含量が高くなるが、C/N モル比が低くなるほど腐植物質の暗色化に関与しない窒素成分も多くなることを意味しており、C/N モル比と吸光度の間に相関が認められない一因となると考えられる。一般的な土壌の C/P モル比は 186 と見積もられており (Cleveland and Liptzin, 2007)、本研究における黒湯のフミン酸の C/P モル比は Sta. 8 を除けばその値よりも高かった。土壌中の有機態リンは、化学的および生物的に加水分解されることにより無機態リンに変換され、微生物等に再利用される (新井・杉原, 1987)。フミン酸の分解によって炭素の脱離が起こる状況下で、無機化等によるリンの脱離が顕著であったため、C/P モル比が増加したと考えられた。従って、黒湯のフミン酸の C/P モル比はフミン酸を構成する有機物の分解の進行を感度よく表す数値であり、腐植物質の腐植化・暗色化に対して適した指標であると考えられた。Sta. 8 の腐植物質構成はフミン酸

Table 4 Spearman's rank correlation coefficients between elemental ratios (C/N and C/P) and wavelengths at 0.25 and 0.1 relative absorbance as well as net absorbance at wavelength of 200, 300 and 400 nm for humic acid (HA) and fulvic acid (FA) of Kuroyu

表 4 フミン酸およびフルボ酸の元素比 (C/N 比および C/P 比) と比吸光度が 0.25 および 0.1 における波長ならびに波長 200, 300 および 400 nm における正味の吸光度との間のスピアマンの順位相関係数

UV-VIS absorbance of HA	HA C/N	HA C/P
Wave length at 0.25 in relative absorbance	0.406	0.830 **
Wave length at 0.1 in relative absorbance	0.467	0.782 *
Net absorbance at 200 nm	0.370	0.891 **
Net absorbance at 300 nm	0.345	0.927 **
Net absorbance at 400 nm	0.333	0.952 **
UV-VIS absorbance of FA	FA C/N	FA C/P
Wave length at 0.25 in relative absorbance	-0.539	0.115
Wave length at 0.1 in relative absorbance	-0.333	-0.212
Net absorbance at 200 nm	0.055	0.370
Net absorbance at 300 nm	-0.724 *	0.252
Net absorbance at 400 nm	-0.758 *	0.248

Significant levels, ** ; $p < 0.01$, * ; $p < 0.05$

有意水準, ** ; $p < 0.01$, * ; $p < 0.05$

よりもフルボ酸が主体であり, フミン酸の生成が進行していないと考えられ, リンの脱離が起こっていないため C/P モル比が低いと推定される。

フルボ酸では C/N モル比と 300 および 400 nm の吸光度の間に負の相関が認められ, フルボ酸の窒素含有率が吸光度に対して影響を及ぼすことが示唆された。フルボ酸の正味の吸光度はフミン酸のそれに比較して, 全波長に渡って低い値であり, フルボ酸の腐植化・暗色化はフミン酸よりも進行していない。従って, 黒湯のフルボ酸では, 腐植物質の暗色化に深く関わっている縮合芳香族系炭素が吸光度に影響を与えるほど十分に蓄積していない場合が多いと考えられる。しかしながら, 同じく腐植物質の暗色化に関わる芳香族系窒素は, フミン酸ほどの程度には及ばないが, フルボ酸

有機物の分解とともに徐々に蓄積されて吸光度の増加に寄与したと推定され、C/N モル比と吸光度の間に負の相関が認められたと考えられる。C/P モル比と吸光度の間には全ての項目で相関が認められなかった。一般的に海洋フルボ酸の C/P モル比の値は海洋フミン酸のそれよりも 4 分の 1 程度の低い値であり (Nissenbaum, 1979), 本研究も同様に黒湯に含まれるフルボ酸の C/P モル比はフミン酸の C/P モル比と比較して低い値であった (高野ら, 2020)。このことからフルボ酸に含まれるリンは腐植物質中の有機物の分解が進んでも無機化がそれほど進行していないことが示唆された。

本研究では、黒湯から調整したフミン酸およびフルボ酸溶液の UV・VIS 吸光度を測定し、先に発表した同試料に含まれる炭素、窒素およびリン含量の関係を調べ、黒湯の腐植物質の特性について推察を行った。しかしながら、UV・VIS 吸光度から得られる化学構造の情報は限られており (篠塚, 1994), 今後、黒湯に含有するフミン酸およびフルボ酸について、より詳細な光学的かつ化学的調査が進められ、黒湯の特徴のある外観 (光学的特性) を決定する様々な要因や、最終的には黒湯の腐植物質の特性がさらに解明されることが期待される。

ま と め

本研究では、横浜・川崎地区の 10 地点に湧出する黒湯から調整したフミン酸およびフルボ酸溶液の 200—800 nm の波長における UV・VIS 吸光度を測定し、吸光度と含有する元素濃度および元素比との関係を明らかにすることを目的とした。その結果、フミン酸とフルボ酸では UV・VIS 吸光度に対する元素の影響について、一部共通しているものの、異なった特徴が認められた。すなわちフミン酸では炭素および窒素濃度、および C/P 比が高波長側への吸光度の減衰や吸光度の大きさに関与し、フルボ酸では窒素濃度および C/N 比が吸光度の大きさに関与していたことが示唆された。このようなフミン酸とフルボ酸の違いには、両者の縮合芳香族系炭素および芳香環窒素の蓄積やリンの無機化の進行具合が関わっていると推定された。

謝 辞

横浜および川崎地域の黒湯の試料採取では、大妻女子大学社会情報学部の米須美穂氏、小野明日香氏のご協力に深謝致します。また、黒湯の試料採取にあたり、温泉分析書の提供などご協力頂いた温泉関係者各位に心より感謝致します。

引用文献

- Abe, T. and Watanabe, A. (2004) : X-ray photoelectron spectroscopy of nitrogen functional groups in soil humic acids, *Soil Science*, **169**, 35-43.
- 青柳直樹・市橋大山・内野栄治 (2005) : 北海道の温泉の腐植質濃度, 第 58 回日本温泉科学会大会講演要旨集, p. 50.
- 新井重光, 杉原 進 (1987) : 土壤中における窒素・リンの挙動, *水質汚濁研究*, **10**, 402-406.
- Cleveland, C.C. and Liptzin, D. (2007) : C:N:P stoichiometry in soil : is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, **85**, 235-252.
- Cunha, T.J.F., Novotny, E.H., Madari, B.E., Martin-Neto, L., Rezende, M.O. de O., Canelas, L.P. and Benites, V. de M. (2009) : Spectroscopy characterization of humic acids isolated from Amazonian dark earth soils (terra preta de índio), 363-372, *Amazonian dark earths : Wim sombroek's vision*, Woods, W.I., Teixeira, W.G., Lehmann, J., Steiner, C., WinklerPrins, A., Rebellato, L.

- (eds), Springer, Dordrecht.
- 井上源喜 (1994) : 陸上の熱水環境 (温泉) における脂質バイオマーカーの有機地球科学的研究, 温泉科学, **64**, 209-242.
- 井上源喜, 大宮麻里 (2019) : 東京都蒲田地域の黒湯温泉中のフミン酸の熱分解 TMAH メチル化 GC/MS 法による脂肪酸の分析, 温泉科学, **68**, 230-239.
- 石渡良志 (2010) : 現世堆積物有機物の地球科学的研究, 地球化学, **44**, 31-41.
- 石渡良志, 半谷高久 (1965) : 赤外吸収スペクトルから見た現世堆積物中の腐植物質の特徴, 日本化学雑誌, **86**, 1270-1274.
- 環境省自然環境局 (2014) : 鉱泉分析法指針, 環境省自然環境局, 東京.
- Kumada, K. (1955) : Absorption spectra of humic acids, *Soil Sci. Plant Nutri.*, **1**, 29-30.
- Kumada, K. (1987) : Chemistry of soil organic matter, Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- 前田眞治, 市川 勝, 原 麻理子, 櫻井好美, 平野絵美, 小暮英輔, 山本 潤 (2011) : 東京都 23 区内の温泉と期待される温泉医学的効果, 日温気物医誌, **74**, 246-255.
- Matsumoto, G.I., Shimizu, R. and Nagaura, M. (2020) : Geochemical characteristics of Kuroyu hot spring in the Ohta-ku area of Tokyo, *J. Hot Spring Sci.*, **70**, 150-169.
- 松岡 賢 (1980) : 色素の発色メカニズムとその合成への応用, 色材, **53**, 724-739.
- 村松容一 (2011) : 日本の温泉成分の特徴と起源, 化学と教育, **59**, 398-401.
- 長尾誠也, 鈴木康弘, 中口 譲, 妹尾宗明, 平木敬三 (1997) : 三次元分光蛍光光度計による天然水腐植物質の蛍光特性の直接測定法, 分析化学, **46**, 335-342.
- 中山和好, 小室芳洵 (1990) : イオンクロマトグラフィーにおけるフミン酸類を含む鉱泉水の前処理法の検討, 千葉衛研報告, **14**, 37-40.
- Nissenbaum, A. (1979) : Phosphorus in marine and non-marine humic substances, *Geochem. Cosmochem. Acta*, **43**, 1973-1978.
- 小倉紀雄 (1969) : 天然水中の紫外吸光物質, 日本化学雑誌, **90**, 601-611.
- 大沢信二 (2011) : 水文科学が解き明かす不思議な天然水 3. 様々な色を呈する別府の地獄, 日本水文科学会誌, **41**, 103-110.
- 篠塚則子 (1994) : フミン物質の分離・分画とキャラクターゼーション, 生産研究, **46**, 589-595.
- 高野敬志, 内野栄治, 青柳直樹 (2019) : 北海道におけるモール系温泉の腐植物質成分と外観指標, 温泉科学, **68**, 240-251.
- 高野敬志, 井上源喜, 内野栄治 (2020) : 炭素/窒素比および炭素/リン比からみた神奈川県横浜・川崎地域に湧出する黒湯に含まれる腐植物質の特性, 温泉科学, **70**, 137-149.
- 丹後俊郎 (1983) : 医学への統計学, 古川俊之 (監修), 朝倉書店, 東京.
- Thurman, E.M. and Malcolm, R.L. (1981) : Preparative isolation of aquatic humic substances, *Environ. Sci. Tech.*, **15**, 463-466.
- 筒木 潔 (1995) : フミン物質とその水環境へのかかわり, 水環境学会誌, **18**, 252-256.
- 筒木 潔 (2011) : 3 腐植物質の分析法, 3-4. 紫外・可視吸光分析, 127-132, 環境中の腐植物質その特徴と研究方法, 石渡良志・米林甲陽・宮島徹編, 三共出版, 東京.
- 八木久義, 近藤秀樹 (1996) : 熱帯の土壌 (II-16) C-N 比, 熱帯林業, **35**, 73-76.
- 渡邊 彰 (2019) : 腐植物質の難分解性の鍵構造としての縮合芳香環構造, *Humic Substances Research*, **15**, 1-9.