

浅海域の微生物学的研究—Ⅳ

底質中の硫化物の挙動ならびに
底層無酸素化との関係

藤田雄二・谷口忠敬・飯塚昭二・銭谷武平

Microbiological Studies on Shallow Marine Areas—IV
On the Liberation and Accumulation of Sulfides in Mud Sediment,
and Its Relation to the Formation of Anoxic Layer

Yuji FUJITA, Tadataka TANIGUTI, Shoji IZUKA and Buhei ZENITANI

Abstract

The liberation and accumulation of sulfides in the mud sediment are discussed on the basis of results of observation at Omura Bay in 1966 and 1967.

In the bottom sediments, the sulfate-reducing bacteria increase with the rising of seawater temperature in summer, and play a major role in the production of sulfides. In the earlier period, free hydrogen sulfides liberated by bacterial actions are bound mainly with the iron which is present in the mud, and accumulated in bottom sediments but they are sometimes suspended in the bottom water as iron sulfides depending on the condition of seawater and bottom. In the latter period, free hydrogen sulfides, due to lack of available iron, either diffuse onto bottom water or partially stay in the bottom sediments depending on the condition of the mud. These tendencies seem remarkable in pearl farm.

Judging from the above facts and the vertical observations, it seems that anoxic layer formation in the central part of this bay is caused by abiological or biological oxidation of sulfides diffused in the bottom water from mud sediments.

緒 言

先に、大村湾内の真珠漁場を中心として、底質の成分変化と有機栄養細菌との関係を調査した結果、母貝排泄物やプランクトンの遷移に伴ない、沈降・堆積した遺がいの有機物分解の過程を通じて、漁場では硫化物の集積が多いことを指摘¹⁾した。しかも、後半期にかけては、底質集積硫化物が減少する事実を認めたが、生成硫化物とその集積との関係は、漁場管理上からも重要なものの一つと思われる。

浅海域や沿岸漁場で、魚貝類に最も有害な作用を及ぼすものは、遊離硫化水素であって、主として硫酸還元細菌の作用によって生成する。発生硫化水素の固定集積、水層への拡散あるいは酸化の過程は、浅海域における無酸素層形成などの海況変化の一因とも考えられるので、この報告では、硫化物の挙動について、主として野外調査の結果を基に考察して見たいと思う。

実 験 方 法

1. 観測定点および時期

観測定点は、1966年の定点1(漁場)と定点3の2点とした¹⁾。1967年6月から10月にわたってこの2定点で8回の観測を行ない、他に適当な時期を選んで、定点4付近で3回の垂直観測をも行なった。

2. 底質・海水試料の採取

海水の採取に北原式採水器を用いた外は、前報¹⁾と全く同様に実施した。

3. 底質成分の分析法

(1) 全硫化物、(2) 有機酸の定量は前報に同じ。

(3) イオン状態になりうる二価鉄：小山の方法²⁾に準じて、試料を $\alpha\text{-}\alpha'$ ジピリジル溶液と酢酸緩衝液(pH4.5)の混液中に投入し、発色させてから濾過し比色定量した。これをイオン状鉄として示した。

(4) 第二鉄・全鉄：小山の方法²⁾によった。

(5) Eh：柱状採泥管を採泥したままの状態で行き帰り、白金電極を挿入して日立・堀場M5型pH計により測定した。

(6) pH：二酸化炭素不含の蒸留水で倍量に希釈し、ガラス電極によった。

4. 海水成分の分析法

(1) 塩分量は塩分計により、(2) 溶存酸素量はウインクラー法、また(3) pHは海水用比色計によった。(4) 全炭酸量はWATTENBERG法によって滴定アルカリ度を測定し、全炭酸量³⁾を算出した。(5) 遊離硫化水素は試料海水に直ちに発色剤を加えて、St. LORANT法⁴⁾で比色定量した。なお、溶存酸素飽和量⁵⁾と全炭酸の理論飽和量³⁾はそれぞれ数値表によった。

5. 硫化水素生成細菌数の測定

試料の取り扱いと硫酸還元細菌数の測定は前報に同じ。有機硫黄化合物から硫化水素生成細菌はGUNKEL & OPPENHEIMER法⁶⁾によって、その菌数を測定した。

6. 硫化物生成能

湿泥100mlを100ml容の広口瓶に入れて密栓し、30°C、2週間放置した後に、全硫化物量を測定した。これをもって底質の硫化物生成能とした。この場合、硫化物の表面酸化による損失はあっても、水層への拡散による損失はないものと考えた。

実 験 結 果 と 考 察

1966年における大村湾内底質中の硫化物の消長には、一定の傾向(Fig. 1-A)が見られ、6月から7月中にかけて集積を見たが、8月から次第に減少して平衡を示すに至った。そこで、先

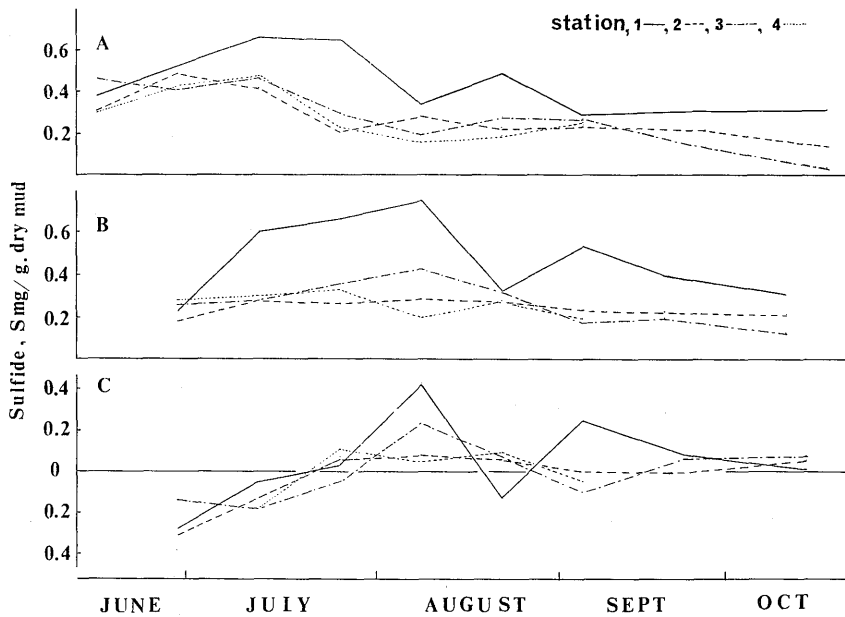


Fig. 1 Variation in concentration of total sulfides in mud sediment.
 A. The concentration of sulfides accumulated in mud sediments observed in 1966.
 B. The concentration of sulfides accumulated in the same sample after having been bottled for 2 weeks at 30°C.
 C. The differences between A and B; the values over a zero line mean the loss from mud sediments.

ずこの現象に見られる硫化物の消長の、動的な面を考察して見たいと思う。

もし、底質から拡散による硫化物の損失がないものとする、それぞれ2週間後の現地底質中の集積硫化物すなわち硫化物生成能は Fig. 1-B のようになる筈で、硫化物集積の盛期はおくれることになる。硫化物生成能と底質中の全硫化物との間には、他の要因が影響してくるため、底質中の全硫化物量を以って、にわかに硫化物生成能の程度を推定することはできない。いま、Fig. 1-A と B との差を求めて、比較して見る。この際、現地温度と試料放置温度の差、より深部からの硫化物の拡散の影響、空気暴露面の酸化、放置試料と2週間後の現地試料が、元来同じ性状であったか否かなどの、いくつかの条件において、一応著しい相違、あるいは影響がないものと仮定する。Fig. 1-C に示したように、2週間放置によって、硫化物が減少したり増加する場合が認められる。前者の場合は、硫化物がそれ以上集積しないで、むしろ酸化などで減少し、硫化物の集積が飽和に近い状態を示し、他方後者の場合は、強い硫酸還元能によって硫化物を生成する余力があることを現わしている。すなわち、Fig. 1-C の硫化物が0以上の時期は、硫化物が底質中に十分に固定・集積されずに失われたことを意味し、Fig. 1-A の減少期に当る。この減少の主原因は、大部分が遊離硫化水素として水層へ拡散したためであろう。したがって Fig. 1-A の減少期には、硫化物生成が少ないのではなく、生成した硫化物（遊離硫化水素やコロイド状硫化鉄類）が、水層へかなり拡散あるいは浮上したと思われる。なお、定点1（漁場）は潮の交流がよいため、拡散硫化物が多いけれども酸化されやすく、その影響は界面の一部に留まるのであろう。

硫酸還元細菌数の消長は Fig. 2 に示したが、1967年は前年に比べ水温上昇がおくれたため、

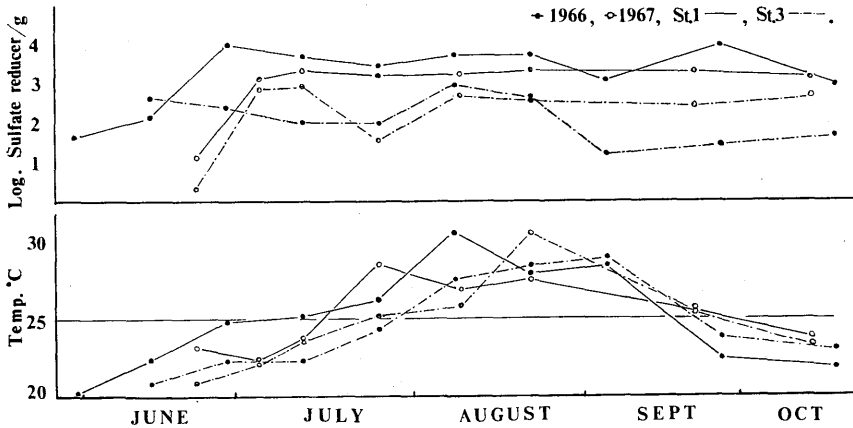


Fig. 2 Viable counts of sulfate-reducing bacteria from stations 1 and 3 in 1966 and 1967, showing their increase along with rise of seawater temperature (one meter over bottom).

菌数増加の時期に、その影響を認めた以外は、全く同じ傾向をたどっている。したがって、硫酸還元細菌の菌数変化について見るかぎりでは、前年度に比べて硫化物生成能が僅かに劣るにすぎないと思われる。水温上昇後の漁場では、硫酸還元細菌数は、極端な増減もなく動的平衡を維持しつつ、温度に比例して硫酸還元能を発揮しているものと思う。上野⁷⁾は伊勢湾の真珠漁場で、硫化水素臭が強くなった頃に、硫酸還元細菌が急に出現したと述べているが、これは浮泥を試料としたため、該当部の Eh が低下して始めて増殖を見た訳で、著者らの結果と矛盾するものではない。これらの硫酸還元細菌の生棲環境として底質中の pH と Eh を見ると、Table 1 に示したように、いずれも硫酸還元細菌の活性を持続する好適範囲内にある。なお、

Table 1 Variations in value of pH, Eh and concentrations of organic acid in mud sediments.

Date of Sampling	pH				Eh(mV)						Organic acid 0.01N NaOH ml/10g dry mud	
	St. 1		St. 3		St. 1			St. 3			St. 1	St. 3
	Sea water	Mud	Sea water	Mud	0-5*	5-10	10-15	0-5	5-10	10-15		
1. 23 June '67	—	7.91	—	7.95	-153	—	—	-152	—	—	2.70	1.91
2. 5 July '67	8.3	7.91	8.3	8.11	-123	-161	-179	-84	-121	-131	2.69	2.80
3. 13 July '67	8.3	7.96	8.1	7.95	-110	-122	-127	-116	-123	-127	3.89	3.10
4. 25 July '67	8.3	7.92	7.9	8.10	-127	-129	-131	-110	-128	-138	2.96	4.67
5. 9 Aug. '67	8.2	7.93	7.9	7.89	-129	-132	-129	-119	—	—	2.43	2.43
6. 22 Aug. '67	8.3	7.99	7.9	8.18	-131	-142	-141	-154	—	—	3.17	2.06
7. 21 Sept. '67	8.4	7.95	7.4	8.09	-151	-161	-150	-179	-185	-185	2.71	1.20
8. 12 Oct. '67	8.4	7.81	8.3	7.80	-137	-140	-142	-187	-196	-197	2.30	2.10

*Depth of mud core. ...cm

pH of seawater and that of mud were measured colorimetrically and electrometrically, respectively.

Table 2 Variations in concentration of ionic Fe²⁺, total iron and of total sulfides in mud sediments.

Date of sampling	Station 1				Station 3			
	Ionic* Fe ²⁺	Total iron	Fe ²⁺ /Total iron	Sulfide-S	Ionic Fe ²⁺	Total iron	Fe ²⁺ /Total iron	Sulfide-S
1. 23 June '67	2.9	235.6	46.7	2.0	0.9	180.7	43.7	1.6
2. 5 July '67	1.6	224.7	50.0	1.8	0.9	254.8	31.6	0.6
3. 13 July '67	1.1	204.3	49.5	2.2	1.1	228.8	46.7	1.0
4. 25 July '67	0.9	211.4	35.5	1.4	0.6	232.2	37.4	0.8
5. 9 Aug. '67	1.7	234.0	48.5	3.2	1.2	222.8	49.2	1.3
6. 22 Aug. '67	2.2	224.5	38.5	1.9	1.0	253.1	35.0	1.6
7. 21 Sept. '67	2.7	238.0	51.7	4.6	1.2	240.8	44.0	1.2
8. 12 Oct. '67	2.0	224.2	43.5	2.8	1.5	255.3	50.0	1.8
Mean	1.9	224.5	45.5	2.5	1.0	222.3	42.2	1.2

Data expressed as mg/10g dry mud, except % of Fe²⁺/Total iron.

*"Ionic iron" means the ferrous iron dissolved from muds by a procedure of determination, as there is little or no true ionic iron in test mud; detail in text.

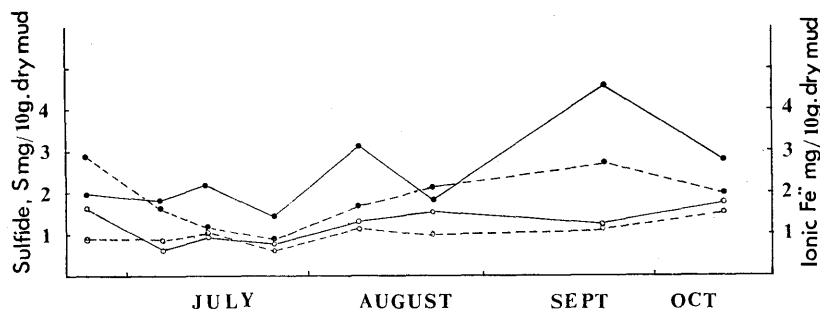


Fig. 3 Variations in concentration of total sulfides (solid line) and of ionic iron (broken line) in mud sediment at stations 1 (solid circles) and 3 (open circles) in 1967.

底質層の pH を 0~5, 5~10 および 10~15cm 層について比較測定した結果は、むしろ表層の方が低い。また、Eh は概ね -110~-150mV である。したがって、これらの条件よりは、生育に必要な栄養源の多少が、その活性に一層影響を与えているのではなかろうか。底質中の硫化物の生成は、主として硫酸還元細菌の作用によるが、有機硫黄化合物からの硫化水素の発生も指摘^{6,8)}されている。そこで、1967年には、この湾の底質を試料として、有機硫黄化合物からの硫化水素生成細菌数を測定したが、いずれも少なく、むしろ硫化物生成の主体は硫酸還元細菌の作用によるとする畑の見解⁹⁾を支持する結果を得た。

処で、1967年の6月から10月にかけての、底質全硫化物量の消長は、Fig. 3に示したように1966年の結果(Fig. 1-A)とは相違し、かなり不規則な増減を示す。1966年を平常年とすれば、1967年は夏季に降雨が全くなく、8月下旬に赤潮の発生を見た。さて、硫酸還元細菌が、高温

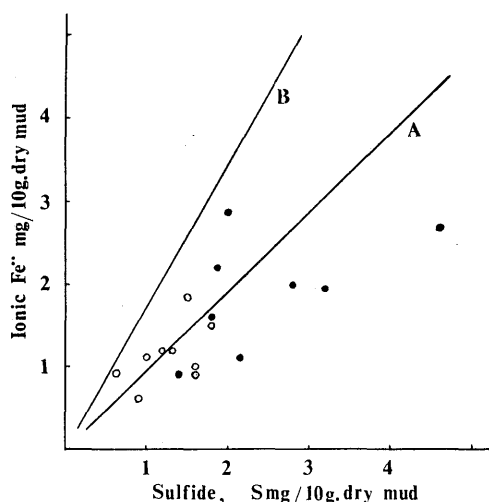


Fig. 4 Correlation of ionic iron (ferrous) to sulfide-S in mud sediment.
 A. $\text{Fe}(\text{SH})_2$, disulphydryl iron, $\text{Fe}/2\text{S}=0.96$.
 B. FeS or $\text{Fe}(\text{SH})(\text{OH})$, hydrotroilite, $\text{Fe}/\text{S}=1.74$.
 Solid circles ; station 1 (pearl farm), open circles ; station 3.

期を通じて、活発にその機能を発揮しつづけるとしても、集積硫化物量の、このような変動は何に原因するであろうか。底質の pH は、硫化物から硫化水素の遊離を促す程の酸性でもない。発生硫化水素を固定するのは、主として二価鉄である。そこで、1966年後半期における硫化物の底質からの損失 (Fig. 1・C) や、1967年の硫化物集積の不規則な変化と鉄との関連性を検討するために、底質中の鉄含有量を測定した結果は Table 2 のようで、漁場と非漁場では全鉄量に大差はなく、その40~50%は二価鉄であった。したがって鉄量そのものから見れば、その不足は考えられず、むしろ、その存在形態や硫化水素との親和性が問題になる。イオン状鉄として測定されるものは、極く少量にすぎない。

次に、底質中の硫化物と鉄との関係を見ることにする。底質硫化物のうち、測定した硫化物は、 $\text{FeS}\cdot n\text{H}_2\text{O}$ (あるいは $\text{Fe}(\text{SH})(\text{OH})$)、 $\text{Fe}(\text{SH})_2$ 、 H_2S のような易解離性のもので、Pyrite-S は比較的多いがこの方法では測定できない¹⁰⁾。一方、海水環境下では化学的に検出し得るイオン状鉄は存在しないから¹¹⁾、イオン状鉄として測定したものは、 FeS 、 $\text{Fe}(\text{SH})_2$ などのような易解離性鉄塩として含まれるものがほとんどである。また磷酸鉄は pH 4 で解離し¹¹⁾、おそらくこの方法では完全に測定されていないと思う。BAAS BECKING¹²⁾によると、底質中で発生した硫化水素は Fe^{2+} と反応して、 $\text{Fe}(\text{SH})_2$ Disulphydryl iron を経て $\text{Fe}(\text{SH})(\text{OH})$ Hydrotroilite になり、徐々に Pyrite になる。生成まもない堆積物 (recent sediment) 中のものとして、測定した Fe^{2+} と S^{2-} の相関を見ると、Fig. 4 のようで、概ね FeS 、 $\text{Fe}(\text{SH})_2$ の形態を想定してよい範囲内にあるが、漁場では明らかに対応する活性鉄の不足を認める場合がある。

このように見れば、1967年後半における硫化物の不規則に増加している場合は、発生した硫化水素に対応する活性鉄が不足して固定されず、しかも水層へ拡散されずに一部分が底質中に未結合状態であったことを示すものと考えられる。また、イオン状鉄として測定されたものは漁場底質中ではほとんど FeS 、 $\text{Fe}(\text{SH})_2$ の形態で存在するものと見なしてよい。Fig. 3 に示し

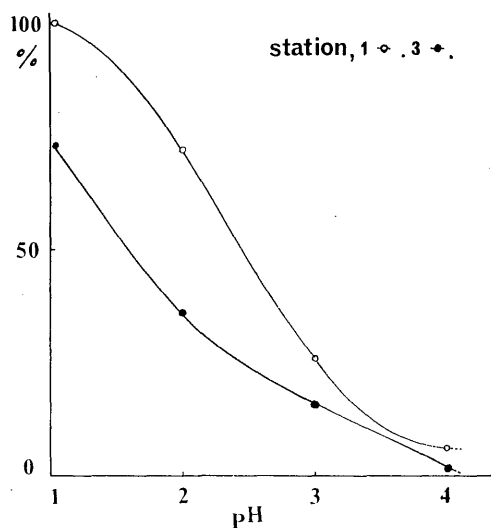


Fig. 5 Differences between muds of stations 1 and 3 in concentration of ferrous ions dissolved at different pH. Data are the mean value obtained from all samples and [expressed in percentage to ferrous ions at pH 1 of the sample of station 1.

た1967年の漁場と定点3のイオン状鉄の消長を見ると、7月下旬から8月上旬にかけて減少を認め、これはFeS、Fe(SH)₂の形で底質から失われたことを示唆している。遊離硫化水素の底質から水層への拡散に際して、これら硫化鉄懸濁質の随伴浮揚もあり得る。両硫化鉄は、海水に懸濁してゾル状を呈し、腐臭を放つ¹³⁾。おそらく、1967年の漁場硫化物の挙動は、“中の海”で梶川¹⁴⁾が指摘したのと類似現象が小規模におきたものと思われ、また伊勢湾の真珠漁場で¹⁵⁾、斃死の直前直後の海域で水色が黒づんで見え、かつ鉄が検出されたとしているのは、これら硫化鉄の底質から拡散・浮揚によるのではなからうか。また、このような現象に関連し漁場堆積排泄物中の磷酸鉄が硫化水素と、 $\text{FePO}_4 + 2\text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{Fe(SH)}_2 + \text{H}_2\text{PO}_4^-$ の反応¹⁶⁾で磷酸塩の溶出も促すが、これを裏書するような事実は既に上野ら¹⁷⁾によって、真珠・カキ漁場について報告されている。

以上の考察から1966年の底質硫化物の集積状況を平常年の型とすれば、1967年のそれは、硫化物として集積されるべきFeSやFe(SH)₂が海況・底質状態によって一部が拡散・浮揚し、あるいは後半では活性鉄不足のため、硫化水素が底層に一部未結合状態で存在した変型と見るべきものである。硫化物生成力から見れば、本質的には同じ程度で、むしろ拡散・浮揚などに影響する環境条件が今後の解明すべき点である。1966年の後半期における遊離硫化水素の水層への拡散と1967年に見られた硫化水素の未結合状態での存在は、活性鉄の不足を推定させるものである。底質中の鉄塩の形態に関して、各pHにおけるFe²⁺溶出状態から、その側面を伺って見ると、Fig. 5のような相違を示す。漁場では、非漁場に較べ弱酸易溶性鉄が比較的多い。これを時期的に見れば1966年の硫化物集積期、1967年の硫化鉄としての浮揚期(Fig. 6)に当る。おそらく、この期間には硫化水素と反応しやすい活性鉄が、供給されやすい状況にあるものと

※湿泥試料100mgを、所要pHの希釈硫酸50mlと共に、十分にふりまぜてから室温5時間放置後、溶出2価鉄を小山の方法に準じて測定した。なお、pHが少し変化するおそれがあつたので、度々pHの測定を行ない調整した。

推察される。定点3でも類似の傾向を認めたが、漁場ほどには顕著ではなかった。

硫化水素と反応性鉄の不足の原因は、鉄自体の不足よりは、むしろ先に示した鉄の存在形態や反応速度が影響するものと思われる。水田土壌においては、鉄などの活性化の速度と硫酸塩還元速度との相対的な問題¹⁸⁾とされている。おそらく、腐軟泥質の大村湾内底質では、鉄の大部分は有機コロイドや微粒状の有機質で被覆され、直接硫化水素と反応しにくい状態にありまた保護膠質で陰電荷をおびる¹⁹⁾などの理由で、鉄は絶対量は多いが、大部分は硫化水素と非～難反応性の状況にあるものと推察される。そのため、硫酸還元細菌の作用で発生した硫化水素は、共存鉄の活性部分と前半期では結合されるが、間もなく飽和に達すると、その残余は遊離の状態で水層へ拡散、あるいは状況によっては底質中に貯留するものと思う。そして潮の交流のよい場所では酸化されるため、その影響は、底質界面の一部に留まり、一方成層状態の海域では無酸素層生成の主因になる。

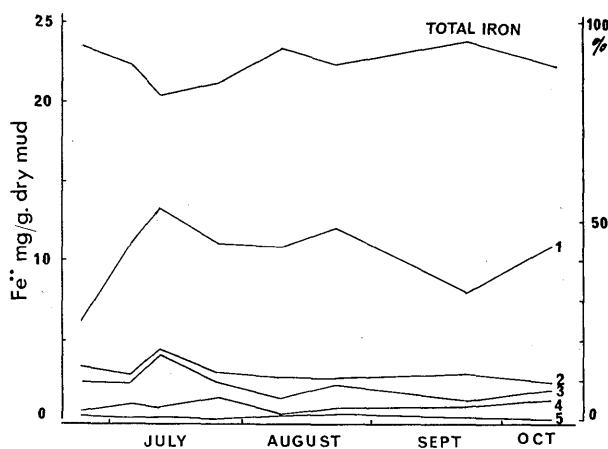


Fig. 6 Changes in concentration of total iron and of ferrous ions solubilized at various pH (Station 1 : pearl farm). Ferrous iron was expressed in percentage to the total iron. 1 : total ferrous ion; 2, 3, 4, and 5 : ferrous ions produced at pH 1, 2, 3 and 4 respectively.

湾中央の底層無酸素化現象については、底質中の有機栄養細菌類の消長から、既に考察¹⁾してみたが、今回は垂直観測の結果をあげて見る。Fig. 7 に示したように、8月上旬では、表層は植物プランクトンの発生によって、溶存酸素は過飽和状態であるが、底層になるに従って減少し、最低層では拡散上昇した硫化水素が検出される。さらに時日が経つと、溶存酸素の減少はかなり上層までおよび、同時に硫化水素が検出された。他方全炭酸も減少することから、富栄養湖に見られるような発酵現象ではない。それ故、大村湾の無酸素層は、水温上昇につれて底質中の有機物分解が進み、硫酸還元細菌の活性が高まり、底質中に集積されずに水層へ拡散、あるいは浮揚した硫化物の酸化のために、次第に溶存酸素を消費し、一方成層状態にあるため酸素の補給が伴わなわいために、形成されるものと思う。この際、硫化物の化学的酸化と同時に、微生物学的な酸化、すなわち硫黄細菌などによることも考えられる。底層水から硫黄細菌を検出・分離しているが、これについては更に検討する予定である。

以上、大村湾内における夏季の底質硫化物の挙動について考察したが、極く素描にすぎず、更に深く検討して一層理解を深めたいと思う。

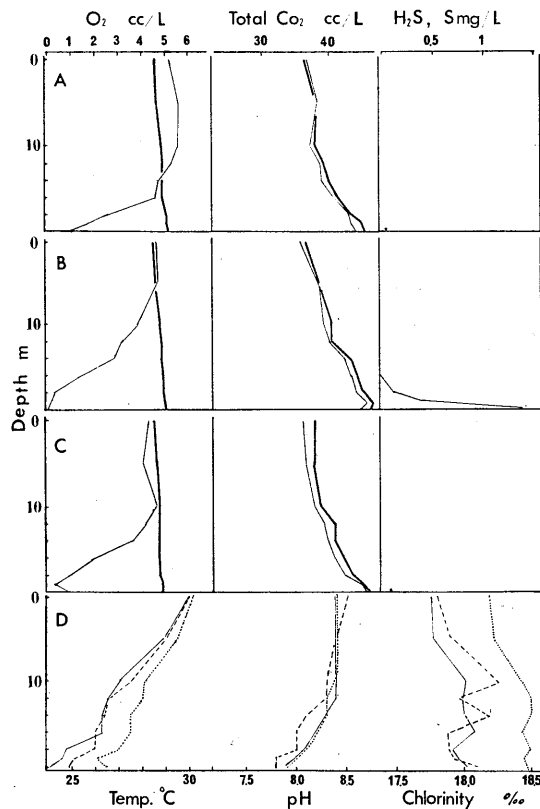


Fig. 7 A process of anoxic layer formation in central part of Omura Bay. Thick lines and thin lines in A, B and C are theoretical and observed values respectively. A; 4 Aug., B; 12 Aug., and C; 19 Aug. 1967. D; Solid line - 4 Aug., broken line - 12 Aug., and dotted line - 19 Aug. 1967.

要 約

1966年と1967年の観測結果を基に、底質中の硫化物の挙動について、次のような考察を行なった。

大村湾内の底質中においては、夏季水温上昇と共に、硫酸還元細菌数が増加し、硫化物生成の主役を演じ、その結果発生した硫化水素は、前半期では固定・集積されるが、海況・泥質の状態によっては懸濁硫化鉄として浮揚する。また後半期では硫化水素は、易反応性鉄が不足するため、遊離の状態では水層へ拡散するか、あるいは底質の状況によってその中に一部未結合状態で存在する。これらの傾向は、真珠漁場で著しい。また、湾中央部無酸素層の生成は、これらの水層拡散、あるいは浮揚硫化物の酸化のために、溶存酸素が消費されるのが主因である。

終りに、熱心に協力された花岡哲・松永秀明両君に謝意を表します。なお、本研究は昭和41年度農林漁業試験研究費の一部に拠った。

文 献

- 1) 藤田・谷口・銭谷：本誌，**23**，187~196(1967)
- 2) 小山忠四郎：実験化学講座，**14**，地球化学，P.369，丸善，東京(1958)
- 3) HARVEY, H. W. : The Chemistry and Fertility of Sea Waters, The Cambridge Univ. Press, P. 160-177(1955)
- 4) 田宮信雄：化学の領域，増刊 **34**，p.1 (1958)
- 5) 日本海洋学会：海洋観測常用表，p.61(1967)
- 6) GUNKEL, W. and C. H. OPPENHEIMER : *Symp. Mar. Microbiol.*, C. C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, P. 674-684 (1963)
- 7) 上野福三：三重県立大学水産学部紀要，**6**(2)，145-169(1964)
- 8) KRISSE, A. E. : 飯塚・山田共訳：海洋微生物学，P.195~211(1959)
- 9) 畑 幸彦：水産大学校研究報告，**14**(2)，37~85(1965)
- 10) SUGAWARA, K., T. KOYAMA and A. KOZAWA: *J. Earth Sci.*, Nagoya Univ., **2**，1-4(1954)
- 11) COOPER, L. H. N. : *J. Mar. Biol. Assoc.*, **27**，314-321(1948)
- 12) BAAS BECKING, L. G. M. : *Proc. K. Ned. Akad. Wet.*, B **59**，182-189 (1956)
- 13) BAAS BECKING, L. G. M. : New Zealand Oceanographic Institute Memoir, No. **3**，48-64(1959)
- 14) 梶川豊明：鳥取県水産試験場研究報告，**35**，1~364(1955)
- 15) 日本水産資源保護協会：赤潮に関する研究協議会，P.95-98(1966)
- 16) BAAS BECKING, L. G. M., and M. Mackay : *Proc. K. Ned. Akad. Wet.*, B **59**，109-123 (1956)
- 17) 上野・井上：国立真珠研究所報告，**7**，829-864(1961)
上野福三：三重県立大学水産学部紀要，**6**(2)，145-169(1964)
UYENO, F. : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **23**(11)，1635-1652 (1969)
- 18) 佐藤・山根：東北大学農学研究所彙報，**11**，145~157(1959)
- 19) HARVEY, H. W. : *J. Mar. Biol. Asscc.*, **22**，203-219(1937)