

## 9118 汽水域における塩類濃度と生物に対する作用

高井 康雄(東京農業大学)

地球環境問題の一つである地球温暖化に寄与する温室効果ガスは二酸化炭素、メタン、クロロフルオロカーボン(CFC)、亜酸化窒素などであるが、近年大気中の濃度が年間に1%以上という急速な割合で増加しており、温室効果に対するポテンシャルが二酸化炭素の32倍であり、しかも生物作用の寄与が大きいメタンは、温暖化の原因物質として最近急に注目を浴びつつある。IPCC(気候変化の政府間パネル)の報告によると、水田・湖沼・沼沢地・沿岸域などの湿地帯が発生源の45%を占めると計算している。これらの湿地帯の中で、沿岸域の海水・汽水の影響を受けている地帯は、アニオンとして塩素イオンとともに硫酸イオンが豊富に存在している。高井の研究(1960年)は、湛水下のメタン発酵は、硝酸還元、マンガン還元、鉄還元、硫酸還元などが行われた後に生起することを明らかにしている。この点から推測すると、海水・汽水の影響を受けている沿岸域では、有機物が供給された場合、還元状態下、硫酸イオンを微生物の電子受容体とする硫酸還元が卓越することが予想され、そのことによりとにより、メタン発酵が抑制されると考えられる。このことを証明するために、本研究においては、河川水から有機物が供給されるとともに河口から海水が供給されて淡水と混合する汽水域を対象として、硫酸還元細菌とメタン生成細菌の相互作用をモデル実験で検討しつつある。平成2年度においては、干潟から採取した堆積物と各種濃度に海水を薄めた溶液を入れた注射筒をインキュベートする実験を行い、硫化物生成量の大小は海水の希釈濃度すなわち硫酸含量と対応することを示した。また、硫化物生成量とメタン生成量が逆比例することを明らかにした。これらの相互関係をさらに明確にするために、干潟堆積物を水洗して易分解性有機物をできる限り除去した試料に、グルコースを添加したモデル実験を準備しつつある。

以上のインキュベート実験と並行して、汽水域で海水が淡水に希釈された場合の化学組成変化を検討した。淡水としては河川水及び蒸留水を用いた。何れの希釈溶液においても、海水中の硫酸イオンは希釈倍率に比例して低下する傾向を示したが、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 及び $\text{Ca}^{++}$ イオンにおいては希釈効果が認められ、高希釈倍率ほどその濃度低下は顕著であった。希釈によるpH値の変化は、河川水の場合の方が低pHに推移した。



## 9118 汽水域における塩類濃度と生物に対する作用

高井 康雄(東京農業大学)

## 1. 研究目的

近年、大気中のメタンの濃度が年間に1%以上という急速な割合で増加しており、またメタンの温暖化活性が二酸化炭素に比べて32倍の大きさであることから、メタンは温室効果を引き起こす原因物質としての関心が高まっている。大気中のメタンのかなりの部分が水田土壌、沼沢地、湖沼などの湛水土壌の嫌氣的な場所で微生物活動によって生成されたものと考えられている。自然界での二大嫌氣的微生物代謝である硫酸還元とメタン発酵の関係については、水田土壌系以外の陸水の底質、海洋の底質、嫌気発酵槽などについても関心もたれ、研究が進められている。汽水域は流入してくる有機物を基質とした微生物による還元状態が発達し、強還元状態下、硫酸還元細菌による硫化水素の発生ならびにメタン生成細菌による酢酸の脱メチル基反応および二酸化炭素還元によるメタン生成などの偏性嫌気性細菌が代謝する場と考えられるが、汽水域におけるこの両細菌の相互作用についてはほとんど研究されていない。本研究では河口域において硫酸還元菌及びメタン生成菌などの嫌気性細菌の代謝が海水と淡水との混合割合の違いによって、どのような影響をうけるかを解明することを目的として室内モデル実験を行っている。河口域の堆積物と各種濃度に海水を薄めた溶液を入れた注射筒をインキュベートし、経時的にpH、酸化還元電位、硫酸還元およびメタン生成を追跡しつつある。

また汽水域においては淡水から供給される有機物、各種溶存イオンが海水と混合した場合、海水中一部金属イオン等と化合し沈澱すると考えられる。そこで海水と淡水及び蒸留水の混合割合を違えて混合し汽水状態とした時海水中の有機物含有量及び溶存イオンの変化について分析して、汽水域の化学的環境動態を解析している。

## 2. 研究方法

### 2. 1 インキュベーション実験用の供試土壌の調整及び供試海水・河川水

東京都葛西臨海公園内の西なぎさ海岸で採取した湿潤土を室内で通風乾燥し、これを風乾土とした。風乾後磁製乳鉢を用いて粉碎し、孔直径2.0 mmの円孔ふるいでし別した風乾細土を主として以下の実験に使用した。特に、土壌の全炭素および全窒素の測定には孔直径0.5 mmの円孔ふるいでし別したものを使用した。風乾細土はビニール袋またはポリ瓶に入れて低温（4℃）保存した。供試海水は神奈川県藤沢市片瀬江ノ島海岸で採水したものを使用した。

### 2. 2 インキュベーション実験の処理区設計

- i. 対照区（脱イオン水だけ）
- ii. 海水1 / 4区（海水1 : 水3）
- iii. 海水1 / 2区（海水1 : 水1）
- iv. 海水区（海水だけ）

### 2. 3 供試土壌の分析・測定方法

#### 2. 3. 1 水分量

風乾細土を秤量瓶に約5 gを正確に取り、恒温乾燥器内で105℃、5時間乾燥し減少した重量を水分量とした。

#### 2. 3. 2 pH（ガラス電極法）

脱イオン水を風乾細土の重量の2.5倍量加えて5分間攪拌を行い、懸濁状態の時にガラス電極を用いpHメーター（東亜電波KK HM-26S）で測定した。

#### 2. 3. 3 Eh（酸化還元電位）

容量200 mlの広ビンに風乾細土を3 cmの厚さになるように入れ、脱イオン水を加えて水深1 cmに調節して湛水状態にする。ゴム栓に装着した白金電極を湛水状態の土壌に挿入する。定期的に自動滴定装置（京都電子KK AT-117）で電位を測定した。

#### 2. 3. 4 全炭素量（T-C）

風乾微細土（0.5 mm円孔ふるい全通）を試料として用いチューリン法に準じて測定した。

#### 2. 3. 5 全窒素量（T-N）

風乾微細土（0.5 mm円孔ふるい全通）を試料として用いケルダール法に準じて測定

した。

### 2. 3. 6 硫化物量 ( $S^{2-}$ イオン)

湛水前として風乾細土を三角フラスコに5.0gを入れたものを、また注射筒内に風乾細土5.0gをいれて湛水状態でインキュベートした土壌を供試土壌として用いた。恒温槽の温水(30℃)中においた100mlの三角フラスコに2gの亜鉛を入れ、さらに供試土壌を投入した後、注射筒で硫酸液(1:2)を20ml注入し、土壌中の硫化物を $H_2S$ にガス化する。

次に、真空ポンプを用いて通気(700ml/min)を60分行い、土壌中から発生した $H_2S$ ガスを1N-NaOH溶液10mlに吸収させ、さらに、1N-NaOH溶液で洗浄し、全量を20mlとした。この液中の $S^{2-}$ イオンをイオン濃度計(東亜電波KKイオン濃度計1M-40S)を用いて測定した。

### 2. 3. 7 硫酸量 ( $SO_4^{2-}$ イオン)

風乾細土10.00gを200ml容三角フラスコに入れ、脱イオン水を50ml加え1時間振とう後、乾燥ろ紙を用いてろ過をした。さらに、ろ液を0.45μmミリポアフィルターを用いて再度ろ過をし、一定量をイオンクロマトアナライザー(Yokokawa Hokusin Electric IC 100)を用いて測定した。

## 2. 4 インキュベーション実験方法および成分測定法

### 2. 4. 1 pH

平成2年度の実験を継続し、先端を切断した50mlの注射筒に風乾細土5.0gと各種濃度の海水をそれぞれ入れてよく攪拌し、空気が入らないようにゴム栓で密栓してインキュベートした。2連の注射筒内の湛水土壌について、次の日程でpHを測定した。測定日は0、3、7、14、21、28、35、42、72日目。

### 2. 4. 2 Eh

容量200mlの広口瓶に風乾細土を詰めて土層の厚さ3cm、表面水の厚さを1.5cmとした。土層の上部から1.5cmの位置に白金電極を2本挿入して恒温器内(30℃)でインキュベートした。2連の広口瓶内の湛水土壌について、次の日程でEhを測定した。測定日は0、1、3、5、7、9、11、13、14、21、28、35、42、72日目。

#### 2. 4. 3 硫化物量 ( $S^{2-}$ )

先端を切断した50mlの注射筒に風乾細土5.0gと各種濃度の海水20mlを入れて、空気が入らないようにゴム栓で密栓をしてインキュベートした。3連の注射筒内湛水土壤について、次の日程で硫化物量を測定した。測定日は0、7、17、21、28、35、42、72日目。

#### 2. 4. 4 メタン量 ( $CH_4$ )

先端を切断した20mlの注射筒に風乾細土5.00gと各種濃度の海水をそれぞれ20mlを入れ、空気が入らないようにゴム栓で密栓してインキュベートした。各測定日に発生した気体の体積を測定した後、注射筒のゴム栓部分からマイクロシリンジ（イトーマイクロシリンジ MS-GAN100）を挿入し、気体0.2mlを採取し、気体中のメタン量を水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（島津製作所 GC-6A）で測定した。メタンはモレキュラーシーブ5Aを充填したステンレスカラム（内径3mm、長さ2m）を用いて分離した。キャリアーガスHeの流量は50ml/min、カラムおよび検出器の温度はそれぞれ50℃、150℃の測定条件で行った。2連の注射筒内湛水土壤について、次の日程でメタン発生量を測定した。測定日は0、7、14、28、35、42、72日目。

#### 2. 5 化学動態実験用の供試海水及び淡水（河川水）

海水及び淡水の混合実験は、混合後半日程度静置した後上澄液について分析を実施した。供試海水は、神奈川県鎌倉市由比が浜海岸でまた淡水としての河川水は東京都世田谷区二子橋付近の多摩川で採取した。

#### 2. 6 化学動態実験用の海水と淡水及び蒸留水の混合

- |               |               |
|---------------|---------------|
| (1) 対照区（海水）   | (2) 海水3：淡水1区  |
| (3) 海水1：淡水1区  | (4) 海水1：淡水4区  |
| (5) 淡水4：蒸留水1区 | (6) 海水1：蒸留水1区 |

#### 2. 7 供試海水及び淡水の分析

##### 2. 7. 1 化学的酸素消費量 (COD)

化学的酸素消費量(COD)の分析には、高温(100℃)酸性過マンガン酸カリウム法を用いた。試料を硫酸酸性とした後酸化剤としての過マンガン酸カリウムを加えて沸騰水浴中で、30分加熱反応させ、その際消費した過マンガン酸カリウムの量から相当する酸素量の消費量を求めた。なお海水中には高濃度の塩素イオンを含んでいるため、塩素イオンの

遊離塩素への酸化を防止するため塩素イオン227mg当たり1gの硫酸銀を、酸化剤添加前に加えた。

## 2. 7. 2 海水及び混合水の化学成分

供試海水及び混合水の前処理として、Milli-Q Water Reagent System（日本ミリポア・りみてっと社製）で精製した後、さらに脱気したものを試料とし、各種無機イオンの分析には、Shimadzuイオンクロマトグラフ HIC-6A型（島津製作所製）を使用し、常法にて分析を実施した。分析用カラムとして、1価及び2価の陽イオンの分析にはShimpak IC-C1をまた、陰イオンの分析にはShimpak IC-A1を使用した。

## 3. 研究結果

### 3. 1 供試土壌の理化学性（表1）

供試土壌（風乾土）の土性が砂壤土SLで粗粒質であるため、水分量は1.86%と低く、pHは海水の影響下にあるために微アルカリ性である。全炭素量は1.70%、全窒素量は0.11%で、人工なぎさにある表土層のため有機物がある程度集積していること、またSO<sub>4</sub>量は0.088%で海水中の硫酸根の影響を受けていることが示されている。

### 3. 2 インキュベーション実験

#### 3. 2. 1 インキュベーション実験に用いられた海水溶液中の硫酸根濃度

表2によると、海水そのままと、海水を脱イオン水で2分の1及び4分の1に希釈した各溶液のSO<sub>4</sub>濃度は、それぞれ0.219%、0.152%及び0.051%と低下していた。

#### 3. 2. 2 pHの変化

図1に示されるように、pHの経時的変化は6.7～7.4の範囲で、塩類の緩衝性により大きな変化が認められなかった。

#### 3. 2. 3 Ehの変化

図2に示されるように、Ehは各区ともに湛水後3日から5日頃まで急速に低下し、0V付近に達した。その後は、蒸留水の対照区はさらに-0.15V付近まで低下したが、他の区は大きな変動を示さなかった。

#### 3. 2. 4 硫化物生成

図3に示されるように、硫化物生成は、各区ともに1-3週間にかけて徐々に増加し、インキュベーション終了時の72日目で最大生成量を示した。72日目では、硫化物生成量の大小は海水区>海水1/2区>海水1/4区>脱イオン水区の順で、硫酸根を多量に含む海水区で最大で、硫酸根含量のもっとも少ない脱イオン水区で最小となった。本実験条件下では、インキュベート土壌中の硫酸根含量と硫化物生成量がよく比例する結果を示した。

### 3. 2. 5 メタン生成

インキュベーション終了時の72日目のメタンの生成量を表3に示したが、メタン生成量は海水のみの区では皆無であり、海水1/2区で1.4mg/100g、海水1/4区で21mg、脱イオン水区で63mgであった。この結果は、3.2.4で示される各区の硫化物生成量の大小と逆の順序であり、第一年度の予備実験と同様に、硫酸還元反応が活発に行われた区ではメタン生成が皆無であるか、ある程度抑制されることを示した。

### 3. 2. 6 水洗土壌試料の調整

供試したなぎさ堆積物自体の中に海水の影響により硫酸根が含まれているので、水洗によりできる限り硫酸根を除去した土壌試料を調整することを試みた。未水洗土壌と水洗土壌の水抽出液のイオン組成を表4に示したが、水洗調整した土壌中の硫酸根イオンが著しく減少していることが分かる。

### 3. 3 海水の淡水及び蒸留水による希釈

海水を河川水（淡水）及び蒸留水を各種の比率で希釈した結果を表5に示した。淡水・蒸留水の希釈割合の増加に伴ってpH値、COD及び各種溶存イオンの濃度は低下している。海水に淡水を希釈した時のpH値は、淡水のpH値が蒸留水のそれよりも高いにもかかわらず、混合液のpH値はいずれの混合割合の変化に於いても低下した。蒸留水混合の場合特に $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ に於いて顕著に混合による希釈効果が大きく濃度低下が大きかった。メタン生成に影響する $SO_4^{2-}$ は、淡水と蒸留水間に差はなく、各々の希釈割合における濃度は、希釈率にほぼ比例している。

## 4. 考察

本研究は、海水の塩分が河川の淡水で薄められる沿岸の汽水域における硫酸還元細菌とメタン生成細菌の相互作用を解明し、沿岸域の有機物汚染とメタン放出の関係を理解することを最終目的としている。

本研究には、耐塩性のこれら偏性嫌気性菌を含有する堆積物を使用する必要がありまた



易分解性有機物量を含むことも一つの要件となる。これらの条件を勘案して、葛西臨海公園のなぎさの泥土を供試することとした。第一年度と同様に、塩分濃度を3段階に分け、海水そのものの区、海水を脱イオン水で2分の1にうすめた区及び海水を脱イオン水で4分の1にうすめた区に、対照として脱イオン水のみを設けた。

Ehを指標とした酸化還元変化は、各区ともに3～5日前後で0mVの低電位に達し、対照区では-0.15V前後まで低下し、何れもインキュベーション終了時までこの低電位を保った。

硫化物生成は、硫酸根含量の多い海水区でもっとも急速に大量に起こったが、硫酸根含量の少ない脱イオン水区で緩慢に起こり、また生成量はもっとも少なかった。インキュベーション終了時の72日目のメタン生成量は硫化物生成量の最大の海水区で皆無であり、硫化物生成量の最小の脱イオン水区で最大であった。この成績は、第一年度の予備実験に引き続き、汽水域では海水に由来する硫酸根の硫酸還元細菌による還元反応がメタン生成細菌の活動を抑制することを示したものと考えられる。

化学動態実験において海水を希釈するために使用された淡水すなわち多摩川から採水した河川水は比較的汚れが少なく、従ってメタン発酵の炭素源となる有機物含有量が少ないと同時に各種の溶存イオン類濃度も低かった。従って海水中に淡水から有機物が供給された結果海水中の一部金属と化合して海水の化学組成が変化する様子は認められなかった。しかし、pH値の変化は、海水希釈に淡水を用いた場合に蒸留水の場合と相違を見せ、何れの希釈割合においても下回っていた。すなわち海水が有する緩衝作用が蒸留水に強く影響し、pH値低下現象が抑えられたためと考えられる。また淡水中の硫酸イオンの濃度が海水のそれに比較して低濃度で蒸留水と同様希釈率に比例して低下している。これ等の希釈倍率でもその他の各種溶存イオンは希釈により海水存在割合が低下すると共に濃度は低下しその低下率は蒸留水の場合が顕著で、希釈水としての働きが大きい。

## 5. 今後の課題

本年度の実験では、汽水域から採取した堆積物と海水各種濃度溶液のインキュベーション実験におけるpH、Eh、硫化物量及びメタン量の経時的測定に重点をおいた。

供試したなぎさ堆積物自体の中に海水の影響による硫酸根が含まれているので、これのできるかぎり取り除いた水洗土壌試料を調製したので、第3年度にはこの土壌試料を用い、硫酸還元細菌とメタン生成細菌の相互作用についての実験を進め、両者の関係をさらに明確にしたいと計画している。

化学動態実験においては、海水と高濃度の有機物を含有する排水あるいは土壌を混合し、硫酸還元及びメタン生成作用と海水の緩衝能との関係並びにpH値の変化の関係を、pH適定曲線と各種溶存イオンの組成変化の測定により更に追求する必要がある。

表1 供試土壌の理化学性

水分(%)	p H (H <sub>2</sub> O)	p H (KCl)	全炭素(%)	全窒素(%)	C / N 比
1.86	7.29	7.04	1.70	0.11	15.45

表2 海水及び希釈海水の化学分析結果

試料名	海水	海水1/2希釈	海水1/4希釈
p H	7.81	7.90	7.61
C O D (ppm)	18.40	15.40	7.75
N a <sup>+</sup> (ppm)	10,200	6,200	3,550
K <sup>+</sup> (ppm)	434	200	105
M g <sup>2+</sup> (ppm)	1,627	671	336
C a <sup>2+</sup> (ppm)	830	240	139
C l <sup>-</sup> (ppm)	19,000	11,280	4,390
S O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (ppm)	2,192	1,522	513

表3 72日目のメタン生成量

対 照 区	63.450
海 水 1/4 区	21.440
海 水 1/2 区	1.429
海 水 区	0.000

(単位 : mg/100g-dry soil)

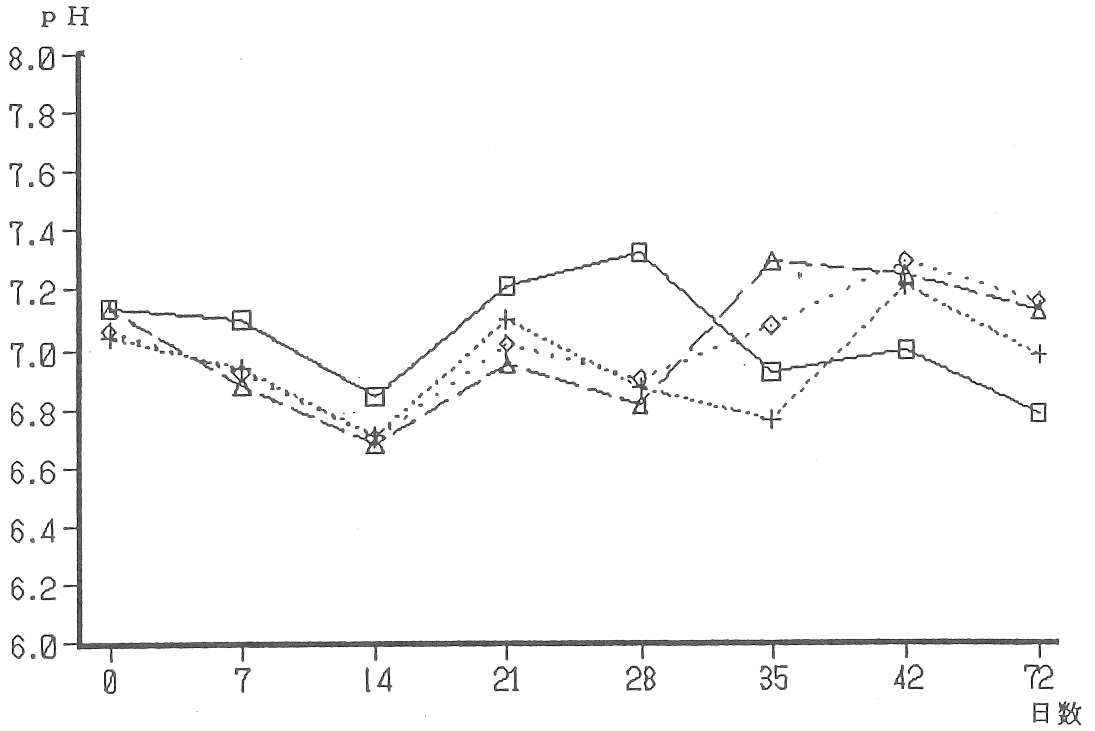
表4 未水洗土壌と水洗土壌の水抽出液のイオン組成

試 料 名	未水洗土壌	水洗土壌
N a <sup>+</sup> (ppm)	375.72	30.58
K <sup>+</sup> (ppm)	22.25	3.94
M g <sup>2+</sup> (ppm)	17.88	0.96
C a <sup>2+</sup> (ppm)	15.69	1.52
C l <sup>-</sup> (ppm)	584.83	6.29
S O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (ppm)	214.54	35.31

表5 海水、淡水及び混合希釈水の化学分析結果

	pH	COD (ppm)	Na <sup>+</sup> (ppm)	K <sup>+</sup> (ppm)	Ca <sup>2+</sup> (ppm)	Mg <sup>2+</sup> (ppm)	Cl <sup>-</sup> (ppm)	SO <sub>4</sub> (ppm)
海 水	8.08	18.4	11450	514	407	1384	21360	2794
淡水(河川水)	6.99	3.1	6	8	18	1	12	53
海水3:淡水1	7.94	15.9	8250	375	303	1026	15910	2115
海水1:淡水1	7.71	14.2	5497	240	214	709	13970	1423
海水1:淡水3	7.55	7.8	2669	104	116	350	8480	681
海水3:蒸留水1	8.06	13.6	8272	363	304	1060	17800	2022
海水1:蒸留水1	8.03	12.2	5816	184	196	732	10990	1424
海水1:蒸留水3	7.79	5.7	2629	87	98	346	6140	612

蒸留水のpHは、pH6.16



□	対照区	+	海水 1 / 4
◇	海水 1 / 2 区	△	海水区

図1 土壤 pH の経時的変化

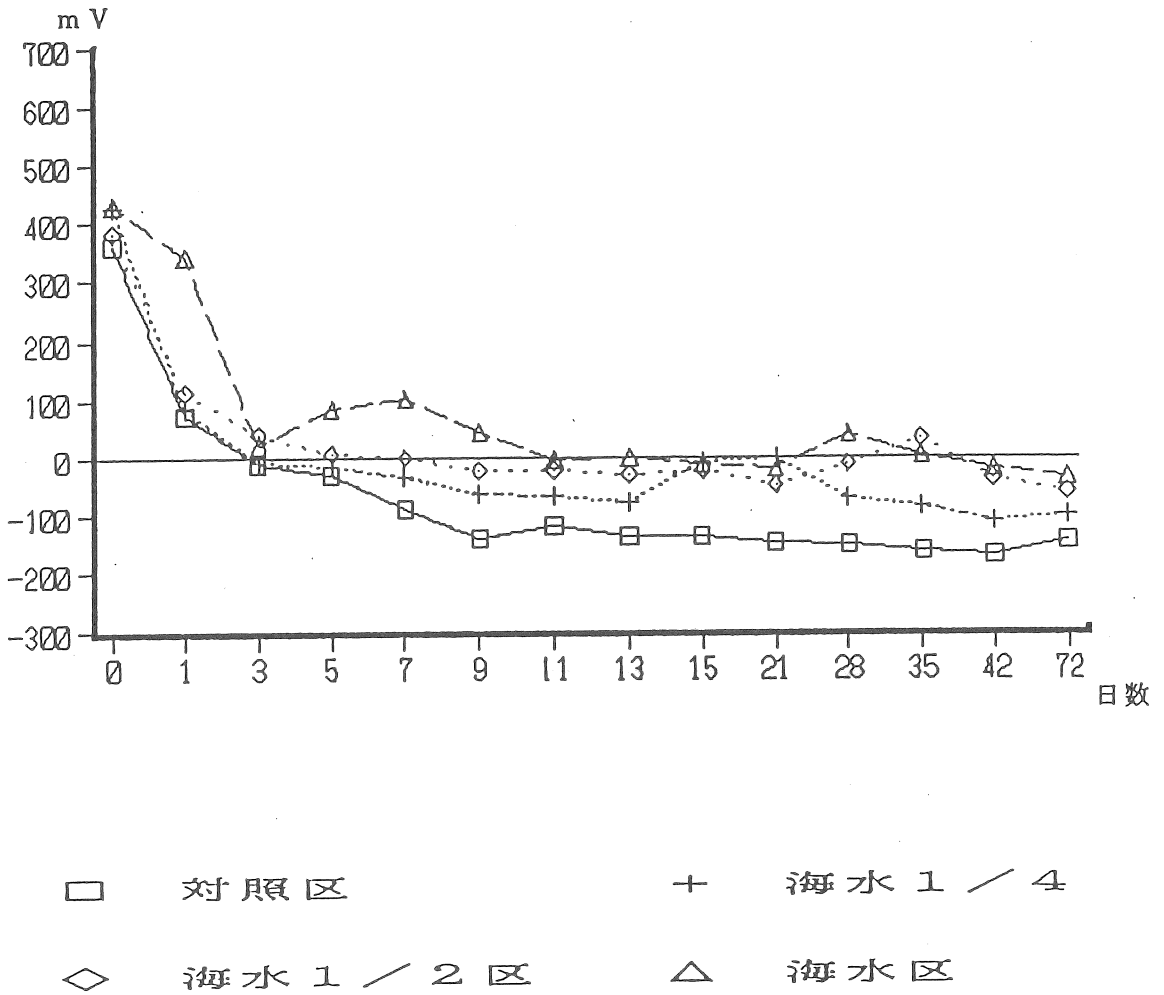


図2 土壤Ehの経時的変化

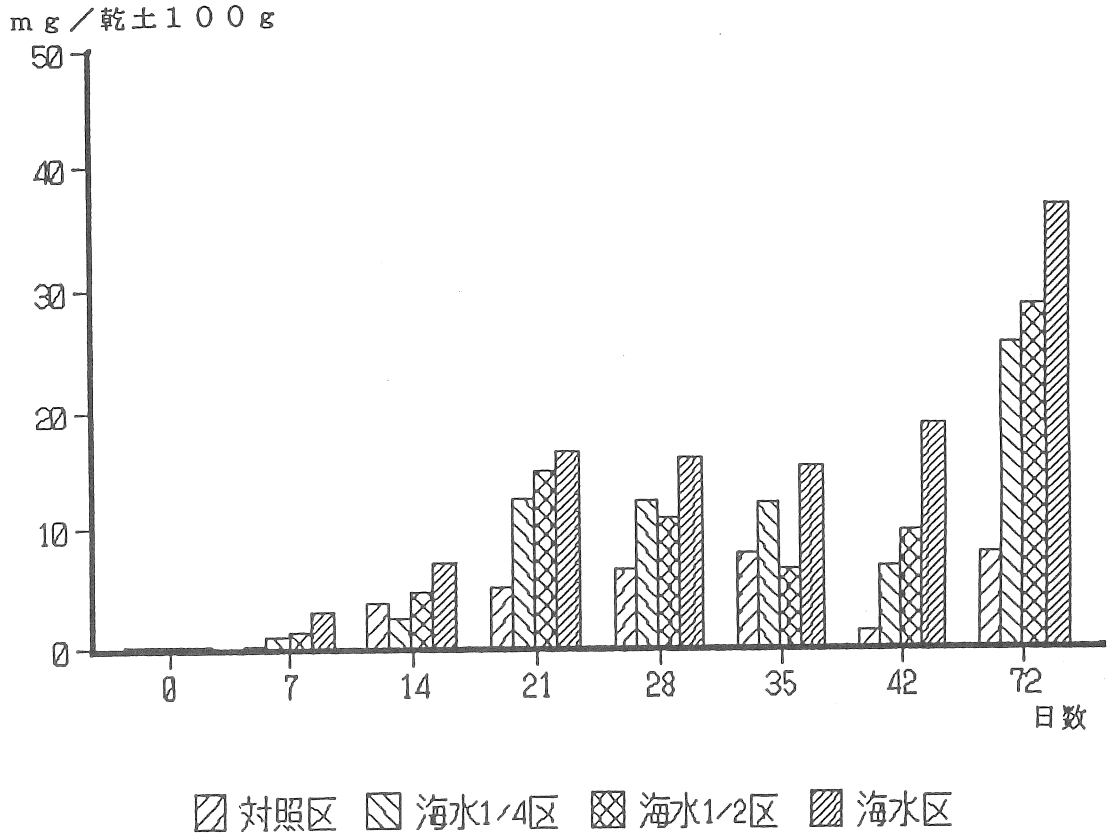


図3 土壌中の硫化物生成量

## EFFECTS OF SALINITY ON BIOLOGICAL METABOLISM IN BRACKISH WATER ECOSYSTEM

YASUO TAKAI\*, AKIKUNI USHIKUBO\* AND SEIJI TAKESHIMA\*\*

\* Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

\*\* Faculty of Agriculture, Tamagawa University

### SUMMARY

Concern on the global warming caused by the increment of greenhouse gases such as  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  and others has indeed become more and more pressing. The share of the anthropogenic greenhouse effect is 49% by  $\text{CO}_2$  and 17% by  $\text{CH}_4$ . As regards  $\text{CH}_4$ , the greenhouse effect rising potential relative to  $\text{CO}_2$  is 32 times, the increase per year 1.1%, and the most may originate from biological resources. According to the report issued by IPCC in June of 1990, the 45% of methane emission may derive from paddy field, lake, marsh and coastal zone. In 1960, Takai elucidated that the reductive development under waterlogging occurred successively from aerobic oxygen respiration, via nitrate respiration, manganese, iron and sulfate reductions, to methane fermentation. Deduced from this theory, sulfate reducing reaction may predominate over methane forming reaction in the coastal zone where the supply of sulfate ion from sea or brackish water is abundant.

From the above idea, this study aims to make clear of the interaction between sulfate reducing bacteria and methane forming bacteria, and to contribute the progress of knowledges on the sources of methane emission to the atmosphere. The second year, pH, Eh, sulfide and methane have been periodically determined for the soil samples waterlogged with sea water, sea water diluted solutions or deionized water, which were incubated for 72 days at 30°C. In brief, the amount of sulfide produced at each plot was in the following decreasing order: Sea water Plot > Sea Water 1/2 Plot > Sea water 1/4 > Deionized Water. The decreasing order coincided both with the decreasing order for the amount of sulfate ion contained in the solution and with the increasing order for the amount of methane produced for 72 days' incubation. The result shows that the predominance of sulfate reducing reaction may suppress methane forming reaction in brackish water zone.

By chemical analysis for sea water and its diluent with river water or fresh water (distilled water), it has been found that the dilution effect for cations such as  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  takes place with the dilution of sea water into fresh water. No dilution effect for sulfate ion took place.