— 論 文 —

バクテリアの媒介によって生成するマンガン酸化物鉱物^{*†}佐藤 義夫[‡]・林 淳子・西森 真理・小野 信一^{**}・竹松 伸^{††}

要 旨

海水(Mn²⁺: 約 50 ppm; pH: 約 8.0)中でバクテリアの媒介によって生成するマンガン酸化物鉱物を, いろいろなマンガン酸化バクテリアと海水の組み合わせを用いて調べた。その結果, hydrohausmannite, feitknechtite (β -MnOOH), manganite (γ -MnOOH), unnamed MnO₂ mineral (JCPDS Card: 42 1316)および10 Å manganate (buseriteあるいはtodorokite)が生成したが, マンガン酸化物が生成しない組み合わせもかなり存在した。バクテリアのマンガン酸化活性が高いときには, 酸化状態の高い Mn(IV) 酸化物が, それが低いときには, Mn(III) 酸化物が, それぞれ生成した。各鉱物は, 中間物質を経ることなく, Mn²⁺の酸化によって直接生成したものと考えられる。海洋環境に存在する Mn(IV) 酸化物は, 純粋な無機反応よりもむしろ微生物の媒介によって生成するものと考えられる。

キーワード : マンガン酸化バクテリア, バクテリアの媒介, マンガン酸化物鉱物

1. はじめに

マンガン酸化物は, いろいろな環境において, 物質循環に重要な役割を果たしている (Krishnaswami, 1976; Chester, 1990; 竹松, 1998)。そこで, 室内実験により, マンガン酸化物の無機生成経路が検討されてきた (Bricker, 1965; Hem, 1980; Hem *et al.*, 1982; Hem and Lind, 1983; Murray *et al.*, 1985)。一方, マンガンの酸化を微生物が媒介していることが, いろいろな環境において指摘されている (Emerson *et al.*, 1982; Nealson, 1983; Cowen and Silver, 1984; Cowen *et al.*, 1986; Cowen and Li, 1991; Ehrlich, 1996)。また, 微生物による Mn²⁺ の酸化が, 室内実験によっても調べられてきた (Diem and

Stumm, 1984; Hastings and Emerson, 1986; Takematsu *et al.*, 1988; Greene and Madgwick, 1991; Mandernack *et al.*, 1995)。しかし, マンガンの微生物の媒介による酸化経路については, 議論がある。

Hastings and Emerson (1986) は, *Bacillus* sp. strain GS-1 の休眠孢子の媒介によるマンガンの酸化を調べ, Mn²⁺ の Mn(IV) への酸化は, 2段階で進行すると主張した。すなわち, 先ず, hausmannite (Mn₃O₄: ハウスマン鉱) が生成し,

次に, 不均化反応により, Mn(IV) (MnO₂) が生成する:

(1) 式と (2) 式を加えると,

となる。この中間物質 (Mn₃O₄) を経由する Mn²⁺ の酸化反応経路は, 室内実験によって調べた無機反応経路

* 2000年1月7日受理; 2000年4月21日受理

† 著作権: 日本海洋学会, 2000

‡ E-mail: ysato@scc.u-tokai.ac.jp

** 東海大学海洋学部; 〒424-8610 清水市折戸3-20-1

†† 理化学研究所; 〒351-0198 和光市広沢2-1

(Hem *et al.*, 1982; Hem and Lind, 1983)と一致し、支持されてきた。

しかし, Takematsu *et al.* (1988)は, Mn^{2+} を加えて50 ppmにした海水中において, *Pseudomonas* sp.の増菌培養によって結晶度の良い10 Å manganate (todorokite: 轟石)を作り, (3)式により, Mn^{2+} は Mn(IV) に直接酸化されると主張した。また, Greene and Madgwick (1991)は, 5,000 ppm程度の高濃度の Mn^{2+} を含む人工坑内水から, バクテリア(*Pseudomonas* sp.)-藻類(*Chlamydomonas* sp.)の組み合わせを用いて, Mn^{2+} の酸化実験を行い, $\gamma\text{-MnO}_2$ (usutite: エンスータイト)を作った。Mandernack *et al.* (1995)は, Hastings and Emerson (1986)と同じく, *Bacillus* sp. strain GS-1の休眠胞子を用いて, Mn^{2+} 濃度(10 μM -10 mM)および温度(0-80°C)を変化させて, マンガン酸化物を作らせた。その結果, 室温では, Mn^{2+} の濃度が低いときは10 Å manganateが生成したが, その濃度が高くなると, 低酸化状態のマンガン酸化物(Mn_3O_4 , $\beta\text{-MnOOH}$, $\gamma\text{-MnOOH}$ など)が生成した。また, 温度が低いときは, 10 Å manganateが生成したが, 高くなると低酸化状態のマンガン酸化物が生成した。そして, これらの結果から, 微生物による Mn^{2+} から Mn(IV) への直接酸化が, 自然環境における Mn^{2+} の普通の酸化過程であろう, と述べている。しかし, その酸化過程の詳細については, まだ十分には明らかになっていない。

本研究では, Mn^{2+} の濃度を一定にして, いろいろのマンガン酸化バクテリア-海水の組み合わせを用いて, Mn^{2+} の酸化実験を行い, 生成するマンガン酸化物鉱物を調べた。

なお, 海洋環境において今までに同定されているマンガン酸化物およびマンガン酸塩鉱物は, $\gamma\text{-MnOOH}$ (manganite: 水マンガン鉱), $\beta\text{-MnO}_2$ (pyrolusite: パイロルーサイトあるいは軟マンガン鉱), 10 Å manganate (buserite および todorokite: 轟石), 7 Å manganate (birnessite: バーネス鉱) および $\delta\text{-MnO}_2$ (vernadite)である(竹松, 1998)。前2者は, 真の酸化物であり, 他はケイ酸塩鉱物と同じようなマンガン酸塩である。しかし, これらの鉱物は, 一般的にはマンガン酸化物と呼ばれる。したがって, この論文では, 区別する必要がない限り, マンガン酸塩も含めて酸化物と呼ぶことにする。

2. 試料および実験方法

Table 1に, Mn^{2+} の酸化実験に用いたいろいろなマンガン酸化バクテリアと海水の組み合わせを示す。

用いたマンガン酸化バクテリアは, 東海大学海洋科学博物館の地下海水給水系から単離した *Vibrio* sp. と *Pseudomonas* sp., 四国海盆の堆積物(水深2,090 m)から単離した *Vibrio* sp. および駿河湾の表層水から単離した *Flavobacterium* sp. の4種類である。いずれも, マンガン酸化バクテリアの分離のために Neelson (1978)によって開発された K-medium (75%海水1 l中に, 0.2 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.01 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 g ペプトン, 0.5 g 酵母エキス および15 g 寒天を含む)において, Mn^{2+} の酸化活性が高いバクテリアである。マンガン酸化バクテリアの検出および酸化活性の判定には, ベンジジン 酢酸試薬 (Bromfield, 1956)を用いた。この試薬は, バクテリアが生成したマンガン酸化物と反応して, コロニーを青色に呈色する。バクテリアの同定は, 絵面, 清水(1990)の海洋細菌の簡易同定法に従って行った。その他に, バクテリアの同定には, Krieg and Holt (1984)の *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* を参考にした。

用いた海水は, 東海大学海洋科学博物館の地下海水 (Museum seawater), 沿岸水(清水港沖)および外洋水(足摺岬沖の表面水, 三陸沖の表面水と水深1,000 mの深層水)の5種類である。各海水を0.4 μm 孔径のヌクレポア フィルターで濾過し, オートクレーブ時の塩の沈殿を防ぐためイオン交換水で75%に希釈した。この希釈海水10 lをポリプロピレン製容器に入れ, 約120°Cでオートクレーブ滅菌し, 加熱滅菌した MnSO_4 溶液を50 ppm Mn^{2+} になるように添加した。バクテリアの接種は次のようにして行った。K-medium上で培養したマンガン酸化バクテリアのコロニーを集め, ボルテックス ミキサーを用いて滅菌海水に分散させた。このバクテリア懸濁液を, 上記の Mn^{2+} を含む滅菌希釈海水10 lに加えて培養し, マンガン酸化物を作らせた。培養はクラス100のクリーン ベンチ内で行った。

培養期間中に, pH, Mn, および溶存酸素を, それぞれ pH メーター, 原子吸光光度法およびウインクラー法で測定した。また, マンガン酸化バクテリアの計数は, K-mediumの平板寒天培地を用いて, 表面塗抹法で行った。

Table 1. Combinations of various manganese oxidizing bacteria and seawater for microbial oxidation of Mn^{2+} .

Case 1:	<i>Vibrio</i> sp. (Museum seawater ^a) + Museum seawater ^a
Case 2:	<i>Vibrio</i> sp. (Museum seawater ^a) + surface water off Ashizuri Point ^b
Case 3:	<i>Vibrio</i> sp. (sediment of Shikoku Basin ^c) + Museum seawater ^a
Case 4:	<i>Pseudomonas</i> sp. (Museum seawater ^a) + surface water off Sanriku ^d
Case 5:	<i>Pseudomonas</i> sp. (Museum seawater ^a) + 1,000 m depth water off Sanriku ^e
Case 6:	<i>Pseudomonas</i> sp. (Museum seawater ^a) + 1,000 m depth water off Sanriku ^e + 1% of K-medium
Case 7:	<i>Flavobacterium</i> sp. (100 m depth water in Suruga Bay ^f) + Museum seawater ^a
Case 8:	<i>Flavobacterium</i> sp. (100 m depth water in Suruga Bay ^f) + coastal surface water off Shimizu Port
Case 9:	<i>Flavobacterium</i> sp. (100 m depth water in Suruga Bay ^f) + surface water off Ashizuri Point ^b
Case 10:	<i>Flavobacterium</i> sp. (100 m depth water in Suruga Bay ^f) + 1,000 m depth water off Sanriku ^e

- a: Museum seawater: seawater pumped from under the ground at the Marine Science Museum, Tokai University
b: surface water off Ashizuri Point: 30°30'N, 134°20'E
c: sediment of Shikoku Basin: 33°29.37'N, 136°34.72'E; depth 2,090 m
d: surface water off Sanriku: 38°59.99'N, 143°00.17'E
e: 1,000 m depth water off Sanriku: 38°59.99'N, 143°00.17'E
f: 100 m depth water in Suruga Bay: 34°34.5'N, 138°34.3'E

培養終了後、生成したマンガン酸化物を集めて、X線回折法により鉱物の同定を行った。試料は、風乾、シリカゲルのデシケーター乾燥、および105°Cで2時間乾燥の3つの状態で、X線回折は、Cu-K α およびグラフアイトのモノクロメーターを用いて行った。

3. 結 果

Table 2に、生成したマンガン酸化物鉱物と培養期間中のpH, Mn^{2+} , およびマンガン酸化バクテリアの濃度を示す。博物館地下海水から単離された *Vibrio* sp. と博物館地下海水の組み合わせ (Case 1) および四国海盆の堆積物から単離された *Vibrio* sp. と博物館地下海水の組み合わせ (Case 3) の場合には、純粋な10 Å manganateが生成した (Fig. 1)。後者の場合には、2週間という短時間で結晶度の良い10 Å manganateが生成した。この10 Å manganateは、風乾に対しては安定であるが、シリカゲルおよび105°Cの乾燥に対して、9.8 Å の基底反射が、それぞれ、9.5および8.5 Å にシフトした。この10 Å manganateは、これらの処理に対して、9.8 Å の基底反射が

Fig. 1. 10 Å manganese formed in the Case 1 [*vibrio* sp. (Museum seawater) + Museum seawater] identified by XRD.

7 Å にシフトしなかったもので、層構造を持つbuserite (10 Å manganate) (JCPDS Card: 32-1128) ではないといえるが、トンネル構造を持つtodorokite (10 Å manganate) (JCPDS Card: 38-0475) であるかどうかは明らかではない。Mellin and Lei (1993) のモデルが正しければ、両者の中間的なものであろう。

Table 2. Manganese oxide minerals formed, pH, and concentrations of Mn and manganese-oxidizing bacteria during incubation.

Case 1: 10 Å manganate
after 1 day: pH 7.76, Mn 50 ppm, bacteria 2×10^5 CFU/ml
after 3 months: pH 6.86, Mn 22.3 ppm, bacteria 3×10^4 CFU/ml
Case 2: β -MnOOH
after 1 day: pH 8.12, Mn 50 ppm, bacteria 2×10^4 CFU/ml
after 3 months: pH 7.38, Mn 38.7 ppm, bacteria 6×10^3 CFU/ml
Case 3: 10 Å manganate
after 1 day: pH 7.64, Mn 54.7 ppm, bacteria 7×10^4 CFU/ml
after 2 weeks: pH 6.77, Mn 40.7 ppm, bacteria 1×10^4 CFU/ml
Case 4: β -MnOOH + γ -MnOOH
after 1 day: pH 8.12, Mn 48.0 ppm, bacteria 2×10^5 CFU/ml,
after 3 months: pH 7.40, Mn 26.0 ppm, bacteria 1×10^2 CFU/ml
Case 5: not formed
after 1 day: pH 7.66, Mn 50 ppm, bacteria 1×10^5 CFU/ml,
after 1 month: pH 7.86, Mn 50.1 ppm, bacteria 2×10^3 CFU/ml
Case 6: not formed
after 1 day: pH 7.67, Mn 50 ppm, bacteria 1×10^6 CFU/ml,
after 1 month: pH 7.94, Mn 49.0 ppm, bacteria 2×10^2 CFU/ml
Case 7: 10 Å manganate + β -MnOOH + hydrohausmannite
after 1 day: pH 7.76, Mn 47.5 ppm, bacteria 2×10^5 CFU/ml,
after 1 month: pH 7.74, Mn 47.0 ppm, bacteria 2×10^6 CFU/ml
after 1 year: pH 7.10, Mn 36.9 ppm, bacteria 3×10^5 CFU/ml
Case 8: 10 Å manganate + hydrohausmannite
after 1 day: pH 8.09, Mn 48.2 ppm, bacteria 3×10^5 CFU/ml,
after 1 month: pH 7.85, Mn 47.0 ppm, bacteria 7×10^5 CFU/ml
after 1 year: pH 6.78, Mn 37.6 ppm, bacteria 2×10^5 CFU/ml
Case 9: β -MnOOH + unnamed MnO ₂
after 1 day: pH 8.12, Mn 48.2 ppm, bacteria 2×10^5 CFU/ml,
after 1 month: pH 7.81, Mn 47.3 ppm, bacteria 2×10^5 CFU/ml
after 1 year: pH 6.90, Mn 36.7 ppm, bacteria 2×10^2 CFU/ml
Case 10: not formed
after 1 day: pH 8.06, Mn 46.0 ppm, bacteria 2×10^5 CFU/ml
after 2 months: pH 8.00, Mn 45.0 ppm, bacteria 3×10^5 CFU/ml

CFU: colony forming unit

Fig. 2. β - $MnOOH$ (feitknechtite) and γ - $MnOOH$ (manganite) formed in the Case 4 [*Pseudomonas* sp. (Museum seawater) + surface water off Sanriku] identified by XRD.

博物館地下海水から単離した *Vibrio* sp. と足摺岬沖の外洋表面水の組み合わせ (Case 2) では, feitknechtite (β - $MnOOH$) (JCPDS Card: 18-0804) が生成したが, 同定できない X 線回折線がかなり存在した。しかし, $Mn(III)$ より高い酸化状態のマンガン酸化物に相当する X 線回折線は存在しなかった。博物館地下海水から単離した *Pseudomonas* sp. と三陸沖の外洋表面水の組み合わせ (Case 4) では, feitknechtite (β - $MnOOH$) と manganite (γ - $MnOOH$) (JCPDS Card: 41-1379) が生成した (Fig. 2)。manganite (γ - $MnOOH$) の基底反射のピーク (3.4 Å) は, 幅が広いので, 結晶度は低い。なお, 同定できない X 線回折線が存在したが, $Mn(III)$ より高い酸化状態のマンガン酸化物に相当する X 線回折線は存在しなかった。また, 博物館地下海水から単離した *Pseudomonas* sp. を用いた Case 5 および 6 の場合には, マンガン酸化物は生成しなかった。

駿河湾表層水から単離した *Flavobacterium* sp. と博物館地下海水 (Case 7), 清水港沖の沿岸表面水 (Case 8) および足摺岬沖の外洋表面水 (Case 9) との組み合わせでは, いろいろなマンガン酸化物鉱物が生成した。Case 8 では, ほぼ純粋な 10 Å manganate が生成したが, 4.67 Å に hydrohausmannite (Frondel, 1953) のものと思われるマンガン酸化物の X 線回折ピークが存在した。hydrohausmannite は, 後に, hausmannite (Mn_3O_4) と feitknechtite (β - $MnOOH$) の混合物と見なさ

れた (Feitknecht *et al.*, 1962)。Case 7 では, 10 Å manganate, feitknechtite (β - $MnOOH$) および 4.67 Å にピークを持つ hydrohausmannite が生成した。Case 9 では, feitknechtite (β - $MnOOH$) および無名二酸化マンガン鉱物 (unnamed MnO_2 mineral) (JCPDS Card: 42-1316) が生成した (Fig. 3)。この無名鉱物の X 線回折線は, 無定形の $Mn(IV)$ 酸化物のものと思われる幅の広いピークの上に乗っていたが, ピークは鋭く, 結晶度が良いことを示す。この鉱物については良く分かっていないが, 天然の ramsdellite 中に 2 次相 (second phase) として存在している (JCPDS Card: 42-1316)。海洋環境において, この鉱物の存在は今までに報告されていない。駿河湾表層水から単離した *Flavobacterium* sp. と三陸沖深層水の組み合わせ (Case 10) では, マンガン酸化物は生成しなかった。この他, Table 1 および 2 には記載しなかったが, 北太平洋深層水 (水深 5,720 m) から単離した K medium では, Mn^{2+} の酸化活性の高い *Pseudomonas* sp. と三陸沖の外洋海水以外の上記のいろいろな海水との組み合わせの場合には, いずれのマンガン酸化物も生成しなかった。以上のように, 生成したマンガン酸化物鉱物をまとめると, Table 3 のようになる。

このように, 同じマンガン酸化バクテリアを用いても, 培地である海水が違うと, 生成するマンガン酸化物が異なったり, マンガン酸化物が生成しないことがあった。一般的に, 10 Å manganate など酸化状態の高いマンガン酸化物が生成した場合には, マンガン酸化バクテリアの数が多く ($1 \times 10^4 - 3 \times 10^5$ CFU/ml) 保たれ, マンガン酸化物の生成に伴って pH は低くなっていた (Table 2)。これは, その原因は明確ではないが, バクテリアの活動が活発であったことを示す。また, 博物館地下海水を用いた場合には, 一般的に, 酸化状態の高い $Mn(IV)$ のマンガン酸塩 (10 Å manganate) が生成した。これは, この海水が, 培地として, マンガン酸化バクテリアの活動に適しているためと考えられる。

4. 考 察

Fig. 4 に, マンガン酸化物の鉱物の平衡時における pH と Mn^{2+} の関係を示す。バクテリアを接種する前の pH と Mn^{2+} の濃度を (○) 印で, 培養実験を終了したときのそれ

を(×)印で示してある。この図は、次のような化学式と Table 4 に示すような生成ギブズ自由エネルギーから計算し作成した：

なお、10 Å manganate の生成ギブズ自由エネルギーは報告されていないので、7 Å manganate (birnessite) の値を、無名二酸化マンガン鉱物のそれには $\gamma\text{-MnO}_2$ (nsutite) の値を、それぞれ仮定した。溶存酸素濃度は、海水に対する酸素の25°Cにおける飽和濃度を仮定した。また、海水中の Mn^{2+} の活量係数として、Pedersen and Price (1982) と Franklin and Morse (1983) の平均値 ($\gamma_{\text{Mn}^{2+}} = 0.12$) を計算に用いた。

Fig. 4 から、培養実験終了時には、いずれの鉱物とも過飽和で平衡に達していないと判断される。その原因は、pH の調節をしなかったため、pH の低下に伴ってマンガン酸化バクテリアの活性が低くなったためと考えられる。また、この図から、本実験の条件では、いずれのマンガン酸化物鉱物も、熱力学的には生成しうる事が分かる。

しかしながら、本実験では、マンガン酸化物が生成しない場合も数多く存在した。このように、熱力学的には生成するはずであっても、実際には生成しない場合がしばしば起こった。Diem and Stumm (1984) の室内実験によれば、 Mn^{2+} を1 ppm 程度添加した pH 8.4 の湖水 (MnCO_3 や $\text{Mn}(\text{OH})_2$ に関して飽和していない) からは、 6×10^{-7} M 程度のマンガン酸化物 ($\gamma\text{-MnOOH}$ や buserite) を添加しても、数年間は新たなマンガン酸化物は沈殿しなかった。ただし、湖水から分離した懸濁物 (Mn -バクテリアを含む) を加えると、1 か月程度で速やかに沈殿した。また、Mandernack *et al.* (1995) は、1 mM 以下の Mn^{2+} 濃度では、*Bacillus* sp. strain GS-1 の休眠胞子を加えなければ、マンガン酸化物は沈殿しないと、述べている。したがって、本実験で、マンガン酸化バクテリアを加えてもマンガン酸化物が沈殿しなかった場合は、培地としての海水がバクテリアの Mn^{2+} を酸化する活性の発現に適さなかったものと考えられる。本実験で用いたマンガン酸化バクテ

Fig. 3. $\beta\text{-MnOOH}$ (feitknechtite) and unnamed MnO_2 mineral (JCPDS Card 42-1316) formed in the Case 9 [*Flavobacterium* sp. (100 m depth water in Suruga Bay) + surface water off Ashizuri Point] identified by XRD.

リアは、K medium で Mn^{2+} を酸化する活性の高いバクテリアである。K medium と実験に用いた種々の海水とでは、バクテリアの Mn^{2+} を酸化する活性の発現を支配する成分が異なることは十分に考えられる。マンガン酸化物の無機的な合成では、平衡に近い Mn^{2+} と pH 条件で反応を始めることはなく、pH や Mn^{2+} 濃度は本実験より高い条件が使われている。例えば、10 Å manganate (buserite) は、高い pH と Mn^{2+} 濃度において $\text{Mn}(\text{OH})_2$ を沈殿させ、これを空気酸化して合成する (Wadsley, 1950; Giovanoli *et al.*, 1975)。また、このようにして調製した buserite を風乾すると、7 Å manganate (birnessite) に変化する。

本実験で、マンガン酸化バクテリアの媒介によって生成したマンガン酸化物 (manganese oxide) およびマンガン酸塩 (manganate) は、hydrohausmannite, $\beta\text{-MnOOH}$ (feitknechtite), $\gamma\text{-MnOOH}$ (manganite), 無名二酸化マンガン鉱物 (unnamed MnO_2 mineral: JCPDS Card: 42-1316) および 10 Å manganate (buserite あるいは todorokite) であった。既に述べたように、Fig. 4 から、本実験の条件では、熱力学的には、いずれの鉱物も生成し得る。

結論から先に述べれば、本実験で生成したこれらの鉱物は、他の鉱物から転移したものではなく、溶液から直接生成したものと考えられる。いろいろな研究者が主張しているが (Hem and Lind, 1983; Hastings and Emerson, 1986), あるマンガン酸化物鉱物から他の鉱物への転移は

Table 3. Manganese oxide minerals formed in various bacteria-seawater combinations.

Media	Species used for Mn^{2+} oxidation				
	<i>Vibrio</i> sp. Museum seawater	<i>Vibrio</i> sp. Shikoku Basin sediment	<i>Pseudomonas</i> sp. Museum seawater	<i>Flavobacterium</i> sp. Suruga Bay seawater at 100 m	<i>Pseudomonas</i> sp.* N. Pacific seawater at 5,720 m
Museum seawater	Case 1 10 Å manganate	Case 3 10 Å manganate		Case 7 10 Å manganate + β - $MnOOH$ + hydrohausmannite	No
Surface seawater off Shimizu Port				Case 8 10 Å manganate + hydrohausmannite	No
Surface seawater off Ashizuri Point	Case 2 β - $MnOOH$			Case 9 β - $MnOOH$ + unnamed MnO_2	No
Surface seawater off Sauriku			Case 4 β - $MnOOH$ + γ - $MnOOH$		
1,000 m seawater off Sanriku			Case 5 No Case 6** No	Case 10 No	

*) not stated in Tables 1 and 2.

**) Case 5 + 1% K-medium

ないと考えられる。鉱物間の転移には、2つの場合がある。1つは、結晶から結晶への転移である。これは結晶型がお互いに類似している場合に限られる。もう1つは、最初で来た結晶が準安定で溶解し、より安定な別の結晶が析出する場合である。この場合には、最初の準安定相の沈殿に伴って、溶液中の問題の元素濃度 (Mn^{2+}) が準安定相の平衡濃度近くまで低下する。安定相の沈殿開始に伴って、準安定相が溶解し、安定相に移行する。本実験では、鉱物の生成に伴って、溶液中の Mn^{2+} 濃度が余り低下していないので、上記の場合は当てはまらない。本実験において、異なる鉱物が混在して生成している場合には、マンガン酸化バクテリアの活性が培養期間中に変化して、異なった酸化状態のマンガン酸化物鉱物が生成したものと

考えられる。例えば、マンガンの酸化活性が高いときには、10 Å manganate が生成し、その活性の低下によって β - $MnOOH$ が生成する。

Hastings and Emerson (1986) は、*Bacillus* sp. strain GS-1 の休眠胞子の媒介によるマンガンの酸化を調べ、最初 Mn_3O_4 (hausmannite) を生成し、不均化反応により $Mn(IV)$ 酸化物が生成する ((1) 式および (2) 式) という2段階の酸化機構を主張した。しかし、低酸化状態の酸化物 (Mn_3O_4 や β - $MnOOH$) が (2) 式のような不均化反応によって無機的に MnO_2 に酸化されるためには、pH と Mn^{2+} 濃度を低く保って熟成する必要がある。一方、Murray *et al.* (1985) は、 1.6×10^{-2} M Mn^{2+} の溶液を用いて、pH を9に保って、 Mn^{2+} の酸素による詳細な

Fig. 4. Dissolved Mn^{2+} concentration-pH relationships in equilibrium between aerated seawater and manganese oxides. (1) β - MnOOH , (2) γ - MnOOH , (3) birnessite ($7 \text{ \AA}$ manganate) and (4) muscovite (γ - MnO_2).

酸化実験をおこなった。そして、最初にできるマンガン酸化物は、 Mn_3O_4 (hausmannite) であり、 β - MnOOH (feitknechtite) を経て、 γ - MnOOH (manganite) に酸化された。しかし、1.5年の熟成の後にも(2)式のような不均化反応によって Mn(IV) 酸化物が生成することはなかった、と述べている。したがって、中性の pH 領域における不均化反応による Mn_3O_4 の MnO_2 への酸化には疑問がある。

既に述べたが、Mandernack *et al.* (1995) は、緩衝剤 HEPES を用いて pH を 7.4–8.0 に保って、 Mn^{2+} ($10 \mu\text{M}$ – 10 mM) と温度 (3 – 70°C) を変化させて、*Bacillus* sp. strain GS-1 の休眠胞子の媒介によるマンガンの酸化を調べた。 Mn^{2+} 濃度が高い時や温度が高い時は、低酸化状態のマンガン酸化物 (Mn_3O_4 , β - MnOOH および γ - MnOOH) が、一方それらが低いときには、酸化状態の高い鉱物 ($10 \text{ \AA}$ manganate) が、それぞれ生成した。ただし、 Mn_3O_4 は、 10 mM Mn^{2+} , 50°C の条件でのみ生成し、1年間の熟成の後 γ - MnOOH に変化した。本実験では、 Mn^{2+} 濃度と温度共にこれより低いので、 Mn_3O_4 は生成していない。また、 $10 \text{ \AA}$ manganate の結晶度は、本実験で生成したものに比べると可成り低かった。彼らの実験で、低酸化状態の

マンガン酸化物 (Mn_3O_4 , β - MnOOH および γ - MnOOH) が生成した理由は、次のように解釈されている。*Bacillus* sp. strain GS-1 の休眠胞子は、 Mn^{2+} を酸化するタンパク質を胞子表面に持っている (Rosson and Nealson 1982)。胞子表面がマンガン酸化物で覆われると、酸化力が低下し、酸化物の自己触媒による化学的酸化反応が進むかあるいは低酸化状態のマンガン酸化物が生成する。

本実験、Takematsu *et al.* (1988), および Mandernack *et al.* (1995) の結果から、バクテリアの媒介によって生成する Mn(IV) の酸化物およびマンガン酸塩は、中間物質を経ることなく直接生成する。海洋環境における Mn 濃度と pH の条件では (Fig. 4 に、SW としてプロットしてある), Mn(IV) の酸化物およびマンガン酸塩のみならず、 Mn(III) である manganite (γ - MnOOH) も生成する可能性がある。これに関連して、Grill (1982) は、海水中における Mn の濃度は manganite の溶解度によって支配されている可能性がある、と述べている。彼は、サーニッチ入江の懸濁物中のマンガンの酸化状態が、+3.05 であることをその根拠の1つに挙げている。しかし、海洋環境においては、manganite は、堆積物中深く埋没した古いマンガン団塊中に見つかっているに過ぎない。しかも、変成作用によって二次的に生成した可能性がある (Usui and Itoh, 1994)。海水のような塩濃度の高い環境で、真の酸化物が生成することは、特殊な場合であろう。実際、真の Mn(IV) 酸化物である pyrolusite (β - MnO_2) が見ついているが (Usui *et al.*, 1986; Hein *et al.*, 1997), それは熱水域のような Mn 濃度の高い環境においてである。しかも、これは稀な場合である。熱水域でも、普通生成するマンガン鉱物は、 $10 \text{ \AA}$ manganate などのマンガン酸塩である。

内湾、外洋および熱水域の海水中で、バクテリアの媒介によってマンガン酸化物が生成している (Emerson *et al.*, 1982; Cowen and Silver, 1984; Cowen and Bruland, 1985; Cowen *et al.*, 1986; Mandernack and Tebo, 1993)。しかし、残念ながら、マンガン酸化物の酸化状態や鉱物までは調べられていない。

海底環境で生成しているマンガン団塊中の主なマンガン鉱物は、 $10 \text{ \AA}$ manganate (buserite および todorokite), $7 \text{ \AA}$ manganate (birnessite) および δ - MnO_2 (vernadite) の3種類である (竹松, 佐藤, 1995)。いずれもマンガンの酸

Table 4. Gibbs free energy of formation of species used in calculations (Hem *et al.*, 1982).

Species	Gibbs free energy kcal/mole	Species	Gibbs free energy kcal/mole
β -MnOOH	-129.8	Mn^{2+} (aq)	-54.5
γ -MnOOH	-133.3	O_2 (aq)	3.9
birnessite	-108.3	H_2O (l)	-56.69
nusutite	-109.1		

化状態が高い Mn(IV) のマンガネ酸塩である。そして、堆積物およびマンガネ団塊中にはマンガネ酸化バクテリアが豊富に繁殖していることが明らかにされている (Ehrlich *et al.*, 1972; Nealson, 1978; Schütt and Ottow, 1978; Edenborn *et al.*, 1985)。また, Beveridge (1989) は, 海洋環境で生成している Mn(IV) 酸化物は, 微生物起源であることを示す, と報告している。本実験や Mandernack *et al.* (1995) のそれから, バクテリアの媒介により結晶度の良い 10 Å manganate が生成したことは, この説を支持している。

5. 結 論

いろいろなマンガネ酸化バクテリアと海水の組み合わせを用いて, マンガン酸化物を作らせた。その結果, 低酸化状態の Mn(III) 酸化物, 高酸化状態の Mn(IV) 酸化物およびマンガネ酸塩が生成した。これらの鉱物は, マンガン酸化バクテリアの媒介によって, 中間物質を経ることなく, Mn^{2+} の酸化によって直接生成したものと考えられる。しかし, 海洋環境では, Mn(III) 酸化物の存在は極稀である。海洋環境に存在する Mn(IV) のマンガネ酸塩は, 微生物の媒介によって生成したものと考えられる。バクテリア-海水の組み合わせによっては, マンガン酸化物やマンガネ酸塩が生成しないので, 海水の微量成分組成などマンガネ酸化バクテリアの Mn^{2+} 酸化活性を支配する因子を調べる必要がある。

謝 辞

理化学研究所分子構造解析室の飯村 康紘氏には, 試料の X 線回折測定と鉱物の検索をして頂いた。ここに, 深

甚なる感謝の意を表する。本研究は, 文部省科学研究費補助金(基盤研究C 課題番号 09640585, 代表者 佐藤 義夫, 課題「マンガネ酸化物の生成・成長過程とその鉱物組成に関する研究」)および1998年度東海大学海洋研究所の研究助成(代表者 佐藤 義夫, 課題「微生物によって生成したマンガネ酸化物」)の援助を受けて実施された。この論文は, 査読者のコメントによっても, 大いに改善されました。記して感謝の意を表します。

References

- Beveridge, T. J. (1989): Role of cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization. *Annu. Rev. Microbiol.*, **43**, 147-171.
- Bricker, O. (1965): Some stability relations in the system $\text{Mn}-\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}$ at 25° and one atmosphere total pressure. *Amer. Mineral.*, **50**, 1296-1354.
- Bromfield, S. M. (1956): Oxidation of manganese by soil microorganisms. *Aust. J. Biol. Sci.*, **9**, 238-252.
- Chester, R. (1990): *Marine Geochemistry*. Unwin Hyman, London, 698pp.
- Cowen, J. P. and M. W. Silver (1984): The association of iron and manganese with bacteria on marine macroparticulate material. *Science*, **224**, 1340-1342.
- Cowen, J. P. and K. W. Bruland (1985): Metal deposits associated with bacteria: implications for Fe and Mn marine biochemistry. *Deep-Sea Res.*, **32**, 253-272.
- Cowen, J. P. and Y.-H. Li (1991): The influence of a changing bacterial community on trace metal scavenging in a deep-sea particle plume. *J. Mar. Res.*, **49**, 517-542.
- Cowen, J. P., G. J. Massoth, and E. T. Baker (1986): Bacterial scavenging of Mn and Fe in a mid- to far-field hydrothermal particle plume. *Nature*, **322**, 169-171.

- Diem, D. and W. Stumm (1984): Is dissolved Mn^{2+} being oxidized by O_2 in absence of Mn-bacteria or surface catalysts? *Geochim. Cosmochim. Acta*, **48**, 1571-1573.
- Edenborn, H. M., Y. Paquin, and G. Chateaufneuf (1985): Bacterial contribution to manganese oxidation in a deep coastal sediment. *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.*, **21**, 801-815.
- Ehrlich, H. L. (1996): *Geomicrobiology* (3rd ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, 719pp.
- Ehrlich, H. L., W. C. Ghiorse, and G. L. Johnson II (1972): Distribution of microbes in manganese nodules from the Atlantic and Pacific Oceans. *Develop. Ind. Microbiol.*, **13**, 57-65.
- Emerson, S., S. Kallhorn, L. Jacobs, B. M. Tebo, K. H. Nealson, and R. A. Rosson (1982): Environmental oxidation rate of manganese(II): bacterial catalysis. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **46**, 1073-1079.
- 絵面 良男, 清水 潮 (1990): 細菌相に関する調査, p.357-372. 沿岸環境調査マニュアル[水質・微生物篇], 日本海洋学会編, 恒星社厚生閣, 東京.
- Feitknecht, W., W. E. Richmond, and H. T. Evans, Jr. (1962): Studies of the manganese oxides V, Ramsdellite, MnO_2 , and orthorhombic dimorph of pyrolusite. *Am. Mineral.*, **47**, 47-58.
- Franklin, M. L. and J. W. Morse (1983): The interaction of manganese(II) with the surface of calcite in dilute solutions and seawater. *Mar. Chem.*, **12**, 241-254.
- Fron del, C. (1953): New manganese oxides: hydrohausmannite and woodruffite. *Am. Mineral.*, **38**, 761-769.
- Giovanoli, R., P. Bürki, M. Giuffredi, and W. Stumm (1975): Layer structured manganese oxide hydroxides. IV: The buserite group; Structures stabilization by transition elements. *Chimia*, **29**, 517-520.
- Greene, A. C. and J. C. Madgwick (1991): Microbial formation of manganese oxides. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1114-1120.
- Grill, E. V. (1982): Kinetic and thermodynamic factors controlling manganese concentrations in oceanic waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **46**, 2435-2446.
- Hastings, D. and S. Emerson (1986): Oxidation of manganese by spores of a marine bacillus: Kinetic and thermodynamic considerations. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **50**, 1819-1824.
- Hein, J. R., A. Koschinsky, P. Halbach, F. T. Manheim, M. Bau, J.-K. Kang, and N. Lubick (1997): Iron and manganese oxide mineralization in the Pacific, p.123-138. *in* Manganese Mineralization: Geochemistry and Mineralogy of Terrestrial and Marine Deposits, ed. by K. Nicholson, J.R. Hein, B. Böhn and S. Dasgupta, Geological Society Special Publication, No.119.
- Hem, J. D. (1980): Redox coprecipitation mechanisms of manganese oxides, p.45-72. *in* Particulates in Water, ed. by M. C. Kavanaugh and J. O. Leckie, American Chemical Society, Washington, D. C.
- Hem, J. D. and C. J. Lind (1983): Nonequilibrium models for predicting forms of precipitated manganese oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **47**, 2037-2046.
- Hem, J. D., C. E. Roberson, and R. B. Fournier (1982): Stability of β $MnOOH$ and manganese oxide deposition from springwater. *Water Resour. Res.*, **18**, 563-570.
- Krieg, N. R. and J. G. Holt (1984): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore. 964pp.
- Krishnaswami, S. (1976): Authigenic transition elements in Pacific pelagic clays. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **40**, 425-434.
- Mandernack, K. W. and B. M. Tebo (1993): Manganese scavenging and oxidation at hydrothermal vents and in vent plumes. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **57**, 3907-3923.
- Mandernack, K. W., J. Post, and B. M. Tebo (1995): Manganese mineral formation by bacterial spores of the marine *Bacillus*, strain SG-1: Evidence for the direct oxidation of Mn(II) to Mn(IV). *Geochim. Cosmochim. Acta*, **59**, 4393-4408.
- Mellin, T. A. and G. Lei (1993): Stabilization of 10 Å-manganates by interlayer cations and hydrothermal treatment: Implications for mineralogy of marine manganese concretions. *Mar. Geol.*, **115**, 67-83.
- Murray, J. W., J. G. Dillard, R. Giovanoli, H. Moers, and W. Stumm (1985): Oxidation of Mn(II): Initial mineralogy, oxidation state and ageing. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **49**, 463-470.
- Nealson, K. H. (1978): The isolation and characterization of marine bacteria which catalyze manganese oxidation, p.847-858. *in* Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology, Vol. 3, ed. by W.E. Krumbein, Ann Arbor Science Publishers, Inc., Ann Arbor, Mich.
- Nealson, K. H. (1983): The microbial manganese cycle, p.191-221. *in* Microbial Geochemistry, ed. by W. E. Krumbein, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Pedersen, T. F. and N. B. Price (1982): The geochemistry of manganese carbonate in Panama Basin sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **46**, 59-68.

- Rosson, R. A. and K. H. Nealson (1982): Manganese binding and oxidation by spores of a marine bacillus. *J. Bacteriol.*, **151**, 1027-1034.
- Schütt, C. and J. C. G. Ottow (1978): Distribution and identification of manganese-precipitating bacteria from non-contaminated ferromanganese nodules, p.869-878. *in* Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology, Vol. 3, ed. by W. E. Krumbein, Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, Mich.
- 竹松 伸 (1998) : マンガン団塊—その生成機構と役割. 恒星社厚生閣, 東京, 188 pp.
- 竹松 伸, 佐藤 義夫 (1995) : 海洋に産するマンガン酸化物の鉱物学. 海の研究, **4**, 269-286.
- Takematsu, N., H. Kusakabe, Y. Sato and S. Okabe (1988): Todorokite formation in seawater by microbial mediation. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **44**, 235-243.
- Usui, A., M. Yuasa, M. Yokota, A. Nishimura and F. Murakami (1986): Submarine hydrothermal manganese deposits from the Ogasawara (Bonin) Arc, off the Japan Islands. *Mar. Geol.*, **73**, 311-322.
- Usui, A. and T. Itoh (1994): Fossil manganese deposits buried within DSDP/ODP cores, Legs 1-126. *Mar. Geol.*, **119**, 111-136.
- Wadsley, A. D. (1950): A hydrous manganese oxide with exchange properties. *J. Amer. Chem. Soc.*, **72**, 1781-1784.

Manganese Oxide Minerals Formed by Microbial Mediation

Yoshio Sato, Junko Hayashi, Mari Nishimori, Shin-ichi Ono*, and Noburu Takematsu†

Abstract

We investigated precipitation of manganese oxide minerals by the action of various manganese-oxidizing bacteria in several types of seawater. The minerals produced were hydrohausmannite, feitknechtite (β -MnOOH), manganite (γ -MnOOH), an unnamed MnO₂ mineral (JCPDS Card: 42-1316) and 10 Å manganate (buserite or todorokite), although in some cases the manganese oxides did not precipitate by the action of bacteria. High valence oxides were precipitated by direct oxidation by bacteria of high oxidizing activity. Mn(IV) oxide minerals in marine environments are produced by microbial catalytic action rather than by pure inorganic processes.

Key words : manganese oxidizing bacteria; microbial mediation; manganese oxide mineral

(Corresponding author e-mail address : ysato@scc.u-tokai.ac.jp)

(January 7, 2000 received; April 21, 2000 accepted.)

(Copyright by The Oceanographic Society of Japan, 2000)

*School of Marine Science and Technology, Tokai University, 3-20-1 Orido, Shimizu 424-8610, Japan

†The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN), 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan