

Bacteriële sulfaatreduktie in de wadbodem

door

M.M. Groenendaal

Intern verslag

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1975 - 15

13231

Bacteriële sulfaatreduktie in de wadbodem

door

M.M. Groenendaal

Intern verslag

over

werkzaamheden verricht als doctorale studie  
in het tijdvak 1 september 1972 - 1 februari  
1973

aan

het NIOZ te Texel

voor

Prof. Dr. Postma  
Rijksuniversiteit Utrecht,  
onder supervisie van  
Dr. J.H. Vosjan

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLIKATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1975 - 15

Rechten voorbehouden

Van interne verslagen zijn nadruk of aanhalingen slechts toegestaan met uitdrukkelijke toestemming van het NIOZ.

# Bacteriële sulfaatreduktie in de wadbodem

door

M.M. Groenendaal

Intern verslag

## Inhoud:

I. Summary . . . . .	1
Samenvatting . . . . .	2
II. Inleiding . . . . .	3
III. Materiaal en methoden . . . . .	6
IV. Resultaten en discussie . . . . .	15
V. Litteratuur . . . . .	30
Tabellen en Figuren	

## I. SUMMARY

35 2--  
With the aid of  $\text{SO}_4^{2-}$  the rate of sulphate reduction was measured in a Wadden Sea sediment.

Thus the influence of some parameters of the sulphate reduction could be investigated.

The optimal temperature for  $\text{SO}_4^{2-}$  reduction was found to be 25-29 °C. Both at higher and at lower temperatures a swift decrease was found; at 0 ° and at 42 ° the reduction observed was negligible. At the optimum 7.5% of the sulphate present was reduced within 24 hours. (Li-lactate = 0.024 gmol/l) under experimental conditions. If the same conditions should occur in the sediment in situ the reduction would be even higher. Addition of some Li-lactate to the mud proved to stimulate the reduction. An optimal reaction was already observed with a concentration of about 0.005 gmol/l. Further additions did not have any further effect. If the sulphate concentrations was

was lowered to  $0.86 \text{gSO}_4^{2-}/\text{l}$  it was not yet a limiting factor.

Moreover it was tried to find a relation between the amount of sulphate reduction and the number of sulphate reducers present. In a sandy sea-bottom the amount of reduced sulphate was at the surface  $0.000003 \text{ g SO}_4^{2-}$  per day in 10 cc of sediment ( $20^\circ \text{C}$ , Li-lactate =  $0.025 \text{ gmol/l}$ ). This increased to  $0.00005 \text{ g}$  at depth of about 25 cm. At every depth investigated the number of sulphate reducers was about the same: 100-1000 per cc sediment. In a muddy Wadden Sea bottom, slightly below the surface, a maximal reduction of  $0.005 \text{ g SO}_4^{2-}/\text{day}$  by hours in 10 cc of sediment was measured. At a depth of 25 cm this was  $0.0006 \text{ g}$ . The number of sulphate reducers at those two depths was 20000-150000 and 1000-10000 respectively. At the surface there might have been still more sulphate reducers.

It follows from these data that the rate of sulphate reduction and the number of sulphate reducers are not quite directly proportional, but that there must be additional factors at work, which influence the amount of sulphate reduced per bacterium, e.g. the Eh.

#### SAMENVATTING

Met behulp van  $^{35}\text{SO}_4^{2-}$  werd de omzettingssnelheid van sulfaat in sulfide gemeten in wadsediment.

Aldus kon de invloed van enkele parameters van de sulfaatreduktie onderzocht worden.

De optimum temperatuur voor de  $\text{SO}_4^{2-}$  reductie lag bij  $25-29^\circ \text{C}$ . Daarboven en daaronder was er een snelle afname; bij  $0^\circ$  en bij  $42^\circ$  werd weinig reductie meer waargenomen.

Bij het optimum werd in 24 uur 7,5% van al het aanwezige sulfaat gereduceerd (Li-lactaat =  $0,024 \text{ gmol/l}$ ), onder de proef-omstandigheden; in de wadbodem zal dit nog meer zijn, indien deze omstandigheden zouden

voorkomen.

Toevoegen van een weinig Li-lactaat aan wadmodder bleek stimulerend te werken; reeds bij een concentratie van ca 0,005 g/mol/l werd optimale werking gezien. Verder opvoeren had geen positief effect meer. De sulfaatconcentratie was nog geen beperkende factor, wanneer deze verlaagd werd tot  $0,86\text{gSO}_4^{2-}/\text{l}$ .

Tevens werd getracht verband te leggen tussen de grootte van de sulfaatreduktie en het aantal aanwezige sulfaatreducerders. In zandig wad was de hoeveelheid gereduceerd sulfaat bij de oppervlakte  $0,000003\text{gSO}_4^{2-}$  per dag in 10 cc sediment ( $20^\circ\text{C}$ , Li-lactaat =  $0,025\text{g/mol/l}$ ). Dit nam toe tot  $0,00005\text{g}$  op ca 25 cm diepte. Het aantal sulfaatreducerders was daar op elke onderzochte diepte vrijwel gelijk, n.l. 100-1000 ex per cc sediment. In kleig wad werd iets onder de oppervlakte een maximale reductie gemeten van  $0,005\text{gSO}_4^{2-}/\text{dag}$  in 10 cc sediment. Op 25 cm diepte was dit  $0,0006\text{g}$ . Het aantal sulfaatreducerders op deze twee diepten was resp. 20.000-150.000 en 1000-10.000. Bij de oppervlakte waren er echte misschien nog meer sulfaatreducerders.

Uit deze gegevens volgt, dat sulfaatreduktiesnelheid en aantal sulfaatreducerders niet geheel recht evenredig zijn, maar dat ook andere factoren nog invloed moeten hebben op de hoeveelheid sulfaat die per bacterie wordt omgezet, bijv. de Eh.

## II. INLEIDING

Het bekend, dat er o.a. in de wadbodem sulfaatreducerende bacteriën voorkomen, bijv. Desulfovibrio- en Desulfotomaculum soorten. Het meest komen zij, zoals alle bacteriën, voor op plaatsen waar veel substraat aanwezig is. Dit is vnl. op plaatsen met weinig sterke stroming, en waar gesuspendeerd materiaal dientengevolge gemakkelijk kan bezinken, dus meest op slibrijke gedeelten (POSTMA, 1954; OPPENHEIMER, 1960).

Hier zal door de grote activiteit van alle micro-organismen veel organische stof en zuurstof verbruikt worden, indien dit aanwezig is. Zo kan zandig sediment 95% van al zijn organische stof verliezen t.g.v. bacteriële afbraak, door het 40 dagen bij 4 °C te bewaren. 's Winters bevat het wad nog maar ca 1% van alle organische stof (OPPENHEIMER, 1960).

Vlak bij de oppervlakte van het wad zal er steeds nieuwe zuurstof worden aangevoerd; door diffusie, door percolatie van zuurstofrijk zeewater, en bij droogvallende gronden ook door de lucht. Door het ontbreken van licht onder de oppervlakte kan er geen zuurstof door assimilatie ontstaan.

Als het zuurstofverbruik groter is dan de aanvoer, ontstaat er een anaeroob milieu. Juist in een slibrijk wad zullen water en lucht moeilijker doordringen dan in zandig wad, terwijl er door de hoge concentratie aan organische stof meer zuurstof verbruikt wordt, zodat bij het eerste vaak al op geringere diepte een anaeroob milieu ontstaat, dan bij het tweede.

De sulfaatreducerende bacteriën hebben voor hun ademhaling geen zuurstof nodig; zij kunnen de electronen uit de ademhalingsketen overdragen op sulfaat, dat hierdoor gereduceerd kan worden tot sulfide.

Het  $H_2S$  kan met metaalionen, die ofwel aanwezig zijn, ofwel door zeewater kunnen worden aangevoerd, onoplosbare sulfiden vormen. Het meest komen voor het zwarte Fe S en het grijze pyriet  $Fe S_2$ , dat voor zijn vorming wellicht een lange tijd nodig heeft (BERMER, 1964), hoewel dit niet noodzakelijk is (HARMSSEN, 1954). Biosynthese van pyriet is volgens HALLBERG (1965) ook mogelijk.

Onder de bruine oxidatielaag bij de oppervlakte bevindt zich meestal een zwarte Fe S-laag, en daaronder vaak weer een grijze pyriet-laag (SANDKVIST, 1968; HAMER 1970).

In het anaerobe milieu zal, wanneer het verbruik van sulfaat door

reduktie groter is dan de aanvoer via het zeewater, de sulfaatconcentratie in het interstitiële water afnemen, tot zich bij een lagere concentratie een nieuw dynamisch evenwicht instelt van verbruik en aanvoer. Er zijn theoretische, geïdealiseerde modellen opgesteld voor het  $\text{SO}_4^{2-}$ -verloop in de diepte (BERMER, 1963).

Het ontsane sulfide kan, als alle geschikte metaalionen in het interstitiële water zijn neergeslagen, als  $\text{H}_2\text{S}$  ontwijken. Veel sulfide kan in de oxidatielaag weer worden geoxideerd, voor een belangrijk deel door aerobe micro-organismen zoals Thiobacilli, waardoor er weer extra sulfaat ontstaat. Als de  $\text{H}_2\text{S}$  produktie erg groot is, bijvoorbeeld 's zomers bij hoge temperaturen, dan is op drooggevallen slibrijk wad bij windstil weer de overmaat  $\text{H}_2\text{S}$ , die ontwijkt, te ruiken.

Omdat de sulfaatconcentratie aldus door bacteriële activiteit kan worden verlaagd of verhoogd, en de chlorideconcentratie hierdoor niet wordt beïnvloed, is het zinvol de hoeveelheden sulfaat uit te drukken in sulfaat-chloride verhoudingen, waarbij de afwijking van de zeewaterwaarde iets zegt over de optreden bacteriële processen, en compenseert voor indamping door de zon, of verdunning door de regen, enz. (CULKIN, 1965).

De snelheid waarmee de sulfaatreduktie optreedt is een interessant gegeven dat belangrijk is om iets te kunnen zeggen over bijv. de produktie van sulfide van een bepaalde oppervlakte wadboden per jaar. de hoeveelheid organische stof die vermineraleerd wordt (VOSJAN & BEKE, 1971), de hoeveelheid metalen die als sulfiden gebonden wordt, en daarmee bijv. ook over een facet van de reinigende werking die een filtersysteem als de wadbodem kan hebben op door metalionen vervuild zeewater.

Omdat echter de aanwezige hoeveelheid sulfaat of sulfide het resultaat is van een complex geheel van factoren, zoals diffusie, welke

weer gekoppeld is aan het transport van andere ionen (BEN-YAAKOV, 1972), stroming korrelgrootteverdeling, de hoeveelheid organisch substraat, temperatuur het aantal bacteriën, concentraties in zeewater van zwavelverbindingen en metaalionen, concentraties van stoffen die bacteriële activiteit remmen, zoals bijv. zuurstof kan doen, de aanwezigheid van levende of dode (REDFIELD, KETCHUM & RICHARDS, 1963) planten of dieren, enz., is het niet mogelijk uit te meten sulfaat-chloride-verhoudingen en hoeveelheden sulfide iets te concluderen over de snelheid waarmee de sulfaatreductie verloopt.

Een methode die dit wel mogelijk maakt, is het werken met radio-actief sulfaat ( $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ ), zoals dit reeds werd gedaan door IVANOV (1956) en SOROKIN (1964, 1970), in de zwarte zee.

Het doel van de experimenten was, te onderzoeken of deze methode met  $^{35}\text{SO}_4^{2-}$  gemakkelijk bruikbaar was, en hoe groot de sulfaatreductie hier in de Nederlandse Waddenzee was onder diverse omstandigheden.

### III. MATERIAAL EN METHODEN

Om een sulfaat/chloride verloop in de diepte te kunnen meten, werd een holle buis met doorsnede 5 cm, in de Waddenzee gedrukt, en dan met een rubber stop van boven afgesloten, waarna het mogelijk was de buis met inhoud weer omhoog te trekken.

Van de aldus verkregen wadkern werden van bepaalde diepten (meestal elke  $2\frac{1}{2}$  cm) plakjes gesneden, waarin chloride en sulfaat werden bepaald. Een vooral bij slibrijk wad veel voorkomende fout is, dat bij het in de bodem drukken, de buis naarmate bij meer geweld raakt, zich steeds meer gaat gedragen als een dichte staaf i.p.v. een holle buis. Hierdoor wordt steeds meer sediment opzij gedrukt, en alleen het materiaal dat zich recht voor het midden van de buisopening bevindt, komt er nog in terecht. Een gevolg hiervan is, dat het materiaal dat zich opeen bepaalde diepte

in de buis bevindt, niet overeenkomt met de situatie in de bodem op diezelfde diepte. Het lijkt alsof de modder in de buis wordt samengedrukt, maar in werkelijkheid treden er verschuivingen op van de lagen onderling. Voor nauwkeuriger bepalingen is het daarom aanbevelenswaardig met een schop een vertikaal wandje af te steken, waaruit de monsters dan te halen zijn, ofwel een veel bredere buis te nemen, waarvan dan alleen het midden gebruikt wordt voor de bepalingen.

Voor deze bepalingen werd aan een willekeurige hoeveelheid sediment enig gedestilleerd water toegevoegd, zodat er na bezinken enkele milliliters heldere vloeistof boven stond. Uit deze oplossing werd een hoeveelheid gehaald voor sulfaat- en chloridebepalingen. Op deze manier kon alleen de verhouding  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  gemeten worden, en geen van deze ionen afzonderlijk, omdat de verdunning onbekend was.

Als de werkelijke  $\text{SO}_4^{2-}$  of  $\text{Cl}^-$  moest worden bepaald, dan werd d.m.v. centrifugeren op een filter, het interstitiële water verkregen, waarin de bepalingen verricht konden worden.

De sulfaatconcentratie werd turbidimetrisch bepaald volgens de gewijzigde methode van BERGLUND & SORBO (1960), zoals beschreven in VOSJAN & BEKE (1971). Reproduceerbare metingen bleken alleen mogelijk indien het  $\text{Ba}^{2+}$ -reagens werd geroerd tijdens het er uithalen van gml, nodig voor de toevoeging. Alvorens te roeren werd eerst het eventueel aanwezige bezinksel van de vorige dagen verwijderd.

Chloride werd de eerste tijd bepaald met de mohr-titratie (BLAEDEL & MELOCHE, 196 ), later met de chloridometer (marius micro-chlor-o-counter).

Voor sulfidebepalingen werd aanwankelijk gebruik gemaakt van de

methode, beschreven in Standard Methods for the examination of water and wastewater (1965). Deze methode werd gebruikt voor het uittesten van de effectiviteit van het uitdrijven en kwantitatief opvangen van sulfide d.m.v. aanzuren van het sediment. De methode bleek niet toepasbaar, als er slib aanwezig was; hiervan adsorbeerde de kleurstof, en verdween zo door bezinken uit de oplossing, waardoor colorimetrische bepaling onmogelijk werd. Toen later een sulfide-elektrode beschikbaar kwam, werd hiervan eens gebruik gemaakt; deze bepalingen werden verricht door G. KRAAI.

Voor het bepalen van het watergehalte, het aantal bacteriën en de omzettingssnelheid sulfaat → sulfide was iets meer sediment nodig dan kon worden verkregen uit een kern. Dit werd verkregen door met een schop wat sediment weg te graven, zodat een vertikaal wandje ontstond; van diverse diepten kon zo een voldoende grote hoeveelheid materiaal worden verzameld.

Het watergehalte van een bodemonmonster werd bepaald door een bekende hoeveelheid (10 cc) modder na weging te drogen bij ca 150 °C, tothet gewicht verder konstant bleef, waarna het nogmaals werd gewogen.

Een hoeveelheid sediment werd eerst door een 1 mm zeef geperst om schelpen en andere grotere delen te verwijderen, en vervolgens gehomogeniseerd. Hieruit werd dan 10 cc afgemeten m.b.v. een injectiespuit, waarvan de voorkant was verwijderd. (zie Fig. 1.). Bij dit afmeten van 10 cc ontstond in extreme gevallen soms een fout van wel 10%, doordat de substantie erg taai was en veel luchtballen bevatte, ofwel zeer veel water bevatte, waardoor het steeds uitvloeide, en moeilijk homogeen waste krijgen.

Voor het bepalen van het aantal bacteriën (sulfaatreducerders) werd gebruik gemaakt van de MPN-methode (most probable number) (POSTGATE, 1969), 1 cc sediment, uit en gehomogeniseerd, gezeefd monster, werd gesuspenderd in 100 ml steriel zeewater. Van deze gehomogeniseerde suspensie werd 1 ml m.b.v. een steriele pipet gebracht gebracht in een buisje dat 9 ml voedingsoplossing bevatte.

Deze oplossing had de volgende samenstelling:

0,1 g $K_2HPO_4$	5 ml Na lactaat
0,1 g $CaCl_2$	0,1 g Mohr's zout
0,1 g $MgCl_2$	20 g Na Cl
0,5 g gistextract	0,1 g assortinezuur
0,5 g trypticase (casiton)	0,1 g thioglycollyl
3 g $(NH_4)_2SO_4$	

Dit alles aangevuld tot 1 liter ; de pH werd op ca 7,5 gebracht. Enige tijd werd stikstof doorgeleid.

Uit de aldus verkregen homogene 10 ml beënte voedingsoplossing werden m.b.v. steriele pipetten vier 10x verdunningen gemaakt, zodat zich tenslotte in de 4 buizen resp. bevonden: 0,01, 0,001, 0,0001 en 0,00001 cc sediment. Boven in elke buis werd een watje gedaan met alkalische pyrogallol-oplossing, om het milieu zuurstofvrij te maken. Deze oplossing werd gemaakt door 23g NaOH op te lossen in 26 ml  $H_2O$ , en hierin weer 1,7 g pyrogallol op te lossen. Elke verdunningsreeks van 4 buizen werd in vijfvoud uitgevoerd, zodat in totaal 20 buizen vereist waren voor het bepalen van aantal bacteriën in een monster. Alle buizen werden in het donker bewaard bij kamertemperatuur, en na 1 of 2 weken was eventuele zwarting waarneembaar. Deze zwarting onstond door  $FeS$  vorming door bacteriële activiteit. M.b.v. de Tabel van Mr. Grady kon het meest waarschijnlijke aantal sulfaatreducerders bepaald worden.

Eenmaal werd aan de kweekbuizen 10% gelatine toegevoegd, waarna

de pH was teruggebracht op 7,25. In gelatine blijft elke kolonie zichtbaar als een zwart bolletje, waardoor een nauwkeuriger telling mogelijk wordt. Door de veel aanwezige gelatine afbrekers was dit echter een minder geschikte methode. De gevonden waarden kwamen ongeveer overeen met de buizen zonder gelatine.

Voor het bepalen van de sulfaatreduktiesnelheid werd 10 cc sediment in een buis samengebracht met 15 ml zeewater, en eventueel wat lactaat, enz. Er boven werd stikstof geblazen, en de buis afgesloten op de gewenste incubatietemperatuur gebracht.

Op het tijdstip  $t_0$  werd een hoeveelheid carrier-vreeradioactief sulfaat toegevoegd (1 ml van ca 0,02 m Curie). Na een bepaalde incubatietijd, meest 24 uur, bij een zekere temperatuur, kon worden bepaald hoeveel radioactief sulfide er was gevormd. Als deze bepaling niet direkt kon geschieden, dan werd de incubatie beëindigd door de buis in de diepvries te plaatsen.

Voor de bepaling werd het radioactieve monster m.b.v. een trechter kwantitatief overgebracht in een kolfje A, dat werd aangesloten op de opstelling, weergegeven in figuur 2. Dergelijke opstellingen zijn ook beschreven door IVANOV (1956) en NIKAIDO (1970). In kolfje C bevond zich 90 ml 1% Zn Ac-oplossing. 90 ml was een gunstige vloeistofhoogte in het kolfje. Via B werd 2 ml geconcentreerd HCl toegevoegd, nagespoeld met ca 10 ml water. Als dragergas werd  $N_2$  gebruikt; dit borrelde door achtereenvolgens A en C. De stijpstukken werden met siliconenvet gasdicht gemaakt.

Na voorzichtig aanzuren, waarbij vaak heftige gasontwikkeling optrad ( $H_2S$ ,  $CO_2$ ), werd langzaam  $N_2$  doorgeleid, nadat de soms gevormde hoeveelheid schuim voldoende was gezakt. Na een half uur zachtjes doorleiden werd de hele opstelling zodanig geschud, dat de inhoud van kolfje

A goed werd gehomogeniseerd, en ook het tot nu onaangetaast gebleven zwarte Fe S met het zuur in contact kwam, en ontkleurde. Ook hierbij ontstond soms schuim, en de nodig voorzichtigheid moest bij het schudden betracht worden, evenals bij het aanzuren in het begin en het starten der  $N_2$ -stroom, opdat niets van de vloeistof of het schuim van kolfje A in C terecht zou komen. Na het schudden werd nogmaals een half uur  $N_2$  doorgeleid, dus in totaal nu een uur.

Gebleken is, dat op deze wijze de hoeveelheid sulfide voldoende nauwkeurig kon worden bepaald. Om dit te onderzoeken werd eerst een standaard  $Na_2S$ -oplossing op de aangegeven wijze aangezuurd en de hoeveelheid overgekomen sulfide als Zn Ac in kolfje C bepaald volgens de vermelde colorimetrische methode.

Na 5 min langzaam  $N_2$  doorleiden na aanzuren was 53% overgekomen. In het daarop volgende kwartier sneller  $N_2$  doorleiden 13%; nog 2% was toen aanwezig in A, zodat 14% verloren ging, waarschijnlijk voornamelijk door te snel doorleiden, waardoor niet alles tot Zn Ac werd gebonden. Bij 10 min langzaam, gevolgd door 5 min snel doorleiden werd in totaal resp. 83% en 95% teruggevonden als Zn Ac. Deze gegevens hebben alle een goede overeenkomst met het latere experiment, waarin tijdens het hele proces steeds monsters werden genomen uit het opvangvatje C, en daarin de hoeveelheid  $^{35}S^{2-}$  bepaalds. Het verloop van het hele proces is te zien in Fig. 3. In holfje A bevond zich 10 cc modder (van de NIOZ haven), 15 ml zeewater, 0,05g li-lactaat, dit werd 24 uur bij  $17^{\circ}C$  geïncubeerd met  $^{35}SO_4^{2-}$ . Eerst werd de  $N_2$ -stroom aangezet (langzaam), zonder dat er aangezuurd was. Dit om de hoeveelheid vrij  $H_2^{35}S$  te meten, die tijdens de incubatietijd was gevormd. Na 5 min was ca 0,5% van al het gevormde  $^{35}S$  als Zn  $^{35}S$  terug te vinden in het opvangvatje C. Nu werd de  $N_2$ -stroom gestopt, en 2 ml gec. HCl toegevoegd, en nagespoel met 10 ml gedestilleerd water. Ondanks flink schuimen was er nog maar een geringe

Zn  $^{35}\text{S}$ - toename binnen 9 min na HCl-toevoegen. Het meeste  $\text{H}_2^{35}\text{S}$  had de Zn Ac-oplossing nog niet bereikt. Snel kwam hierin verandering na het opnieuw starten der langzame  $\text{N}_2$ -stroom. Nu werd reeds na 5 min meer dan 50% van al het gevormde radioactieve sulfide aangetroffen, en na 15,25 en 35 min resp. 75%, 83% en 88%. Na het schudden was er na enkele minuten weer een verhoogd vrijkomen van  $\text{H}_2^{35}\text{S}$  waar te nemen. Na ongeveer 1 uur na het starten der  $\text{N}_2$  stroom na aanzuren was er in totaal 2,10% van al het toegevoegde  $^{35}\text{SO}_4^{2-}$  als  $\text{H}_2^{35}\text{S}$  overgekomen, en tot Zn  $^{35}\text{S}$  gebonden. Deze hoeveelheid was voor dit geval 100%, zoals werd geconcludeerd uit de vorm van de grafiek.

Aldus werd uit de gehomogeniseerde inhoud van kolfje C 1 ml overgebracht in een telpotje, waarin zich 10 ml telvloeistof bevond. Als telvloeistof werd gebruikt een oplossing, bevattende:

5,5 g PPO(2,5-diphenyloxazol)  
 0,1 g POPOP(2,2 - P-phenylen bis- (5-phenyloxazol))  
 667 ml toluen  
 333 ml triton x100 (iso- octylphenoxy polyethoxyethanol met  
 ca 10 mol ethyleneoxide)

Na minstens een half uur koelen ( $4^{\circ}\text{C}$ ) werd dit potje geteld in de liquid scintillation counter (nuclear Chicago, Mark I). Het lege gekoelde telpotje met 10 ml telvloeistof was voorheen reeds als blanco geteld om de achtergrondstrating te meten en eventuele radioactieve verontreinigingen van het potje.

Gemeten werd tussen de drempelwaarden 0,00 en 9,99, met een versterking van E 3,00. Indien mogelijk werd er 4 min geteld, en aldus het aantal counts per minuut (CPM) verkregen. Als het potje een te hoge activiteit bevatte, werd er korter geteld. Als referentie werd 0,01 ml actieve sulfaatoplossing toegevoegd aan een telpotje met 10 ml telvloeistof en 1 ml gedestilleerd water.

Nu kan m.b.v. de volgende formule berekend worden het percentage

omgezette sulfaat in 24 uur:

$$\frac{90}{100} \times \frac{\text{CPM monster}}{\text{CPM referentie}} \times \frac{24}{\text{incubatielijd}} \times 100\% \quad (\text{SOROKIN, 1964, 1970})$$

met 90 = aantal ml 1% Zn Ac, waarvan 1 ml geteld werd.

en 100 = verdunning referentie; in kolfje A werd 100x zoveel toegevoegd dan werd geteld als referentie.

Eerst werd gecontroleerd of pH veranderingen (3-7), zuurstofgehalte, HCl, Zn Ac, sulfide, enz, in dit geval extra doving veroorzaakten. Dit bleek niet meetbaar het geval te zijn, zodat vergelijking met de referentie was toegestaan.

Het gevonden omgezette percentage had betrekking op de werkelijke  $\text{SO}_4^{2-}$  waarmee begonnen was; deze concentratie moest berekend worden uit de  $\text{SO}_4^{2-}$  an de toegevoegde 15 ml zeewater, en van het interstitiele water van het sediment, en van het watergehalte daarvan. Deze grootheden werden dan ook steeds eerst bepaald. De totale teefficiency was 71%, d.w.z. van elke 100 desintegraties werden er 71 als counts geregistreerd.

Radioactief afval, dat zich in waterige oplossing bevond, werd steeds in een fles geconcentreerd door  $\text{Ba Cl}_2$  toe te voegen, en dan te homogeniseren. Na enkele dagen was het  $\text{Ba } ^{35}\text{SO}_4$  zo veel bezonken, dat radioactiviteit in de heldere bovenstaande vloeistof nauwelijks meer aantoonbaar was, zodat het water door aftreden kon worden verwijderd.

Een fout die bij al deze bepalingen optrad, was het aangroeien van het doorleidbuisje in kolfje C, met Zn S. Dit sulfide werd niet gemeten. Hoe groot deze fout was, is niet bekend, maar vermoedelijk niet groter dan een paar procent. Ook rook het aangezuurde sediment na afloop nog steeds naar  $\text{H}_2\text{S}$ , zodat niet alles overkwam. Deze fout is naar schatting kleiner dan 1%. Een totale fout in de bepaling van de hoeveelheid gereduceerd sulfaat van ca 10% lijkt aannemelijk.

Het zich vormen van  $^{35}\text{S}^{2-}$  uit  $^{35}\text{SO}_4^{2-}$  is onder de gehandhaafde

omstandigheden alleen mogelijk bij aanwezigheid van levende organismen; bij een experiment werden twee buizen vergeleken onder gunstige omstandigheden, 20°C en met 0,05 g li-laactaat-toevoeging, uitgaande van dezelfde anaerobe modder. Eén der buizen werd gesteriliseerd voor toevoegen van  $^{35}\text{SO}_4$ ; in deze buis werd geen radioactief sulfide gevormd (slechts 0,014% van al het sulfaat werd omgezet, i.t.t. de normale buis: 5,50% omzetting).

Korrelgroottebepaling. Deze bepaling werd uitgevoerd volgens de methode beschreven in BEGHEIJN & SCHUYTENBORG (1971).

Hierbij werd het sediment ontdaan van organisch materiaal en kalk resp. door oxidatie met  $\text{H}_2\text{O}_2$  en toevoegen van HCl. Na wegwassen van zouten (op een 0,5 $\mu$ -filters) werden fracties kleiner en groter dan 50 $\mu$  gescheiden door een zeef. De fractie >50 $\mu$  werd gedroogd en d.m.v. een systeem van zeven verder in 10 kleinere fracties opgevangen. Van de fracties <50 $\mu$  werd de korrelgrootte bepaald d.m.v. de valsnelheid der deeltjes in water. Zo werden nog 8 fracties onderscheiden. Uitgegaan werd van 10 cc sediment, dat gedroogd werd voor bewerking met  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Door van een grotere hoeveelheid uit te gaan, wordt wellicht een grotere nauwkeurigheid verkregen, vooral voor de fracties die schaars vertegenwoordigd waren; het is echter meer tijdrovend en een grotere nauwkeurigheid is hier niet noodzakelijk.

Na enige tijd uitproberen van de diverse bepalingen en technieken, konden de volgende gegevens worden verzameld:

- 1<sup>e</sup>) VLIETER -- beschrijving van een wadkern van 1,15m diep, en het
  - $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -verloop daarin
- 2<sup>e</sup>) NIOZ-WAD -- van een homogene hoeveelheid modder:
  - $\text{SO}_4^{2-}$ ,
  - watergehalte
  - korrelgrootteverdeling

- aantal sulfaatreducerende bacterien
  - sulfaatreduktiesnelheid.
- 3<sup>e</sup>) NIOZ-WAD - van dezelfde modder als 2<sup>e</sup>)
- invloed temperatuur op sulfaatreduktiesnelheid,
  - berekening activeringsenergie en Q10 en optimum-temperatuur
  - invloed li-lactaat op sulfaatreduktiesnelheid
  - invloed  $\text{SO}_4^{2-}$  op sulfaatreduktiesnelheid.
- 4<sup>e</sup>) BALGZAND - zandig wad; op verschillende diepte steeds
- beschrijving kern
  - $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -verloop
  - watergehalte
  - korrelgrootteverdelingen
  - aantal sulfaatreducerende bacterien
  - sulfaatreduktiesnelheid.
- 5<sup>e</sup>) BALGZAND - kleiigwad (grondsoort zware zavel), idem als 4<sup>e</sup>), en bovendien:
- $\text{H}_2\text{S}$  en
  - totaal sulfide (niet in absolute grootheden)

De juiste plaatsen, waar de monsters werden genomen, staan aangegeven in Fig. 4a en van de Balgzand monsters bovendien in Fig. 4b.

#### IV. RESULTATEN EN DISCUSSIE

##### 1. VLIETER 21 november 1972.

Er werd een kern onderzocht van 1.15m lengte; de oppervlakte van het sediment lag 7,5 m onder water. Het  $\text{SO}_4^{2-}$ -verloop in de diepte en de beschrijving van de kern zijn weggegeven in Fig. 5.

Bij de oppervlakte van de kern blijkt de verhouding  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  ca 0,17 te zijn. Dat is hoger dan de gemiddelde zeewatersamenstelling. Deze is meestal ongeveer 0,14 (VOSJAN & BEKE, 1971).

Omdat geen zeewatermonster aldaar genomen is, kan de mogelijkheid niet worden uitgesloten, dat de verhouding ter plaatse 0,17 was. Meer waarschijnlijk lijkt, dat vlak onder de oppervlakte meer sulfaat aanwezig is door de activiteit van thiobacilli. Het pakje oppervlak van de kern, waarin de verhouding bepaald is, is in feite 0,5- 1 cm dik, zodat deze vrij hoge waarde goed te verklaren is. Waarden hoger dan de zeewatersamenstelling werden bijv. ook gevonden door KAPLAN; EMERY & RITTENBERG (1963) in San Diego Trough ten zuiden van Californië. Er volgt verder de diepte in een vrij snelle afname van  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ ; op 25 cm diepte is een minimum waarde bereikt, die verder t/m 110 cm ongeveer konstant blijft, n.l. ca. 0,008. Ook zojuist vermelde auteurs vonden een dergelijk verloop in het Santa Barbara basin, hoewel  $\text{SO}_4^{2-}$  niet zó sterk afnam. Tevens is er een vrij goede overeenkomst met het geïdealiseerde theoretische model, opgesteld door BRENER (1963).

## 2. NIOZ-WAD 16 januari 1973.

Een hoeveelheid slibrijk materiaal werd verzameld op drooggevallen wad, van de bovenste 10 cm. Vooral veel materiaal kwam van de bovenste paar centimeters, minder van 10 cm diepte. 10 cc van de gezeefde en gehomogeniseerde substantie woog 13,6 g; het drooggewicht was 6,45 g, zodat 10 cc 7,1 ml water bevatte. De korrelgrootteverdeling was als weergegeven in Fig. 6. Het totaal van alle fracties was 0.300 g, terwijl 1 cc 0,645 g droge stof bevatte. 0,345g moet dus hebben bestaan uit organisch materiaal, kalk en zouten. De HCl-behandeling was niet volledig, zodat nog wat kalk in de fracties achterbleef, vooral in de grootste fracties.

Op 17 november werd van ongeveer dezelfde plaats op 3-5cm diepte de sulfideconcentratie gemeten. Vrij  $\text{H}_2\text{S}$  was niet aantoonbaar; gebonden

$S^{2-}$  had een concentratie van  $1,10^{-4}$  gram  $S^{2-}$ /gram grooogew. sed.

De sulfaatreduktiesnelheid werd gemeten bij ca  $20^{\circ}C$  en met en zonder li-lactaat-toevoegen (0,1g) Zie Tabel I-

De kolom hoeveelheid  $SO_4^{2-}$ -omzetting geeft de waarde per 24 uur per 10 cc sediment. Deze notatie zal hier verder worden aangehouden.  $SO_4^{2-}/Cl^{-}$  in het interstitiele water was 0,134; in het toegevoegde zeewater 0,144. De uiteindelijke  $SO_4^{2-}$  onder incubatieomstandigheden was 1,91 g  $SO_4^{2-}$ /l. Hieruit kon de hoeveelheid sulfaatreduktie berekend worden via het %  $SO_4$ -omzetting.

Bij ca  $20^{\circ}C$  zonder lactaattoevoeging werd omgezet 0,00015 g  $SO_4^{2-}$ /10cc/dag. KAPLAN, EMERY & RITTENBERG vonden een omzettingssnelheid van  $6,10^{-6}$  g  $SO_4^{2-}$ /dag/10cc sed. Dit was het gemiddelde over een heel jaar, en over de bovenste 10 cm van het sediment, dus bij een lagere temperatuur. SOROKIN (1964) vond in het bodem oppervlak van de Zwarte Zee een reductie snelheid van gemiddeld 0,000026 g  $SO_4^{2-}$ /10cc/dag (variatie : 0,000008 tot 0,000065) op verschillende plaatsen aldaar; en vermoedelijk bij een veel lagere temperatuur dan  $20^{\circ}C$ . De temperatuur werd niet vermeld, maar hij geeft welaan dat de temperatuur van het diepere water ongeveer  $4^{\circ}C$  is. In 1970 vond hij gemiddeld 0,000014 g  $SO_4^{2-}$ /10cc/dag (variatie 0,000008-0,000042), ook nu wellicht bij lagere temperaturen. Zoals verderop in dit verslag zal blijken verloopt de sulfaatreduktie bij  $40^{\circ}C$  ca 10x zo langzaam als bij  $20^{\circ}C$ .

Opwerkt dient te worden, dat onder dezelfde omstandigheden in het wad procentueel veel meer  $SO_4^{2-}$  wordt gereduceerd dan bij de hier uitgevoerde experimenten in de buizen. Als het watergehalte van 10cc sed. 7,1 ml  $H_2O$  is, dan is het wad slechts de sulfaat uit 7,1 ml beschikbaar, terwijl er nu  $7,1 + 15 = 22,1$  ml  $SO_4$ -oplossing beschikbaar is. Ofwel, de  $SO_4^{2-}$  zal er 3,1 x zo snel afnemen, tot de  $SO_4^{2-}$  zo laag is, dat ze beperkend wordt.

Bacteriën tellen. Gevonden werd een aantal van 22.000 sulfaatreducerders per cc sediment. (5.700-70.000). SANDKVIST (1968) telde er in de oxidatielaag van een slibrijk wad bij een mosselbank, onder Nes Ameland, 3000-20.000, en in de er onder liggende reductielaag 1000-200.000. Dit was bij temperaturen van 4- 17°C, waarschijnlijk gemiddeld 10-15°C. De temperatuur van het NIOZ-wad slib was ca 2-5°C. SOROKIN (1964) vond aan de oppervlakte van de Zwarte Zee bodem 1000-6600 ex/cc sed., en OPPENHEIMER (1952) op 1 cm diepte in de bodem van Aransas Bay, Texas, 1000-5000 ex/cc.

Door KAPLAN, EMERY & RITTENBERG (1963) werd voor sedimenten ten zuiden van Californië m.b.v. isotopische fractionering ( $^{34}\text{S}$ ) berekend, dat aldaar  $3,5 \cdot 10^7$  cellen sulfaatreducerende bacteriën per cc sed. aanwezig moesten zijn, als gemiddelde over het jaar en de bovenste 10cm van de bodem. Zij hadden litteratuurwaarden aan van ZOBELL (1938), die er  $10^3$ - $10^4$  ex/gram sed. vond in de reductielaag en SKERMAN (1960) met  $10^5$  ex/gram in een reductielaag in Nieuw Zeeland. EMERY & RITTENBERG (1952) kweekten er onder optimale omstandigheden zelfs  $10^9$  ex/gram sed.

Of de MPN-methode betrouwbare getallen levert lijkt enigszins onzeker; juist in de sterkste verdunningen komt zo weinig sediment terecht, dat de weinige aanwezige bacteriën daar toch wellicht en te grote overgang moeten meemaken naar een geheel nieuwe omgeving (grote Eh verandering), en zo misschien niet zo gemakkelijk aanslaan en zwarting veroorzaken. Deze methode bleef toch gehandhaafd omdat hij relatief eenvoudig is en waarden oplevert, die goed vergelijkbaar zijn met andere litteratuur waarden, welke volgens dezelfde methode werden verkregen.

In Tabel I is tevens weergegeven hoeveel gram sulfaat er in 24 uur gemiddeld per bacterie werd gereduceerd onder deze omstandigheden. Opmerkelijk is het verschil in % omgezet sulfaat tussen met of zonder lactaat-toevoeging. De hoeveelheid geschikt organisch materiaal is in

deze tijd van het in in voldoende mate aanwezige om de sulfaatreductie (bij ca 20°C) optimaal te laten verlopen. SOROKIN (1964) vond aan de oppervlakte van de Zwarte Zee bodem een sulfaatreductie van resp.  $0,2 \cdot 10^{-9}$ ,  $1 \cdot 10^{-9}$ ,  $1,2 \cdot 10^{-9}$  en  $3 \cdot 10^{-9}$  g  $\text{SO}_4^{2-}$ /dag op 4 verschillende plaatsen. Dit is goed in overeenstemming met de hier gevonden waarde van  $0,7 \cdot 10^{-9}$  ( $0,2 \cdot 10^{-9}$  -  $2 \cdot 10^{-9}$ ) g  $\text{SO}_4^{2-}$ /cel/dag voor 20°C en zonder lactaat.

Tijdens de incubatie neemt  $\text{SO}_4^{2-}$  slechts zo weinig af in 24 uur, dat we deze als konstant kunnen beschouwen.

Een volgend experiment zal moeten aantonen in hoeverre de sulfaatreductie afhankelijk is van  $\text{SO}_4^{2-}$ . (zie verder in dit verslag). Een experiment bij lagere temperaturen zal noodzakelijk zijn om informatie te verkrijgen over hoeveel sulfaat en onder natuurlijke omstandigheden zal worden gereduceerd.

3. NIOZ-WAD 30 januari 1973, 5 februari 1973, 14 februari 1973 en 10 april 1973.

Slib werd steeds gehaald van dezelfde plaats als 16 januari, behalve 10 april; toen enkele tientallen meters verder.

$\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  was 0,138 in het interstitiële water. Dit is voor 1 datum bepaald. Dit is ongeveer de zeewaterverhouding, en ook de andere monsters kwamen van de oppervlakte, zodat deze waarde ook voor de andere data werd aangenomen. 10cc van dit sediment werd aangevuld met 15 ml zeewater met  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^- = 0,144$ . Boven alle buizen werd  $\text{N}_2$  geblazen.

#### Temperatuurreeks

De omzettingssnelheid werd gemeten zonder extra lactaat toe te voren. De temperatuur liep van -5°C tot + 22°C. Het percentage gereduceerde sulfaat varieerde tussen resp. 0,004% en 0,660%. De resultaten zijn weergegeven in Tabel II en III en in Figuur 7a en b. Tabel III en

Fig. 7b hebben betrekking op een serieduplo's. Van 5°C tot + 22°C is er steeds een geleidelijke toename. Bekend was reeds dat de sulfaat-reduktie 's winters veel lager was dan 's zomers. ASAKAWA (1972) vond 's winters zelfs helemaal geen omzetting, wat bij deze experimenten duidelijk wel het geval was.

In Fig. 7 is tevens de waarneming opgenomen van 16 januari (zie p. 17). De twee curven blijken een vrij goede overeenkomst te hebben. De lijn van 16 februari ligt steeds iets hoger dan van 2 februari m.v.v. het punt bij + 1°C, dat op 2 februari wellicht t.g.v. een fout iets te hoog lag.

Door deze twee curven is een lijn te trekken zoals getoond wordt in Fig. 8, welke, indien we  $\log(\%SO_4^{2-}\text{-omzetting})$  uitzetten tegen  $\frac{1}{T} \cdot 10^3$ , een rechte oplevert (Fig. 9). Hieruit is de Q10 waarde te bepalen voor de omzettingsreactie  $SO_4^{2-} \rightarrow S^{2-}$ , evenals de activerings-energie. Als dit gedaan wordt voor het traject 0-10°C, dan wordt gevonden:

$$Q_{10} = \frac{k_{t+10}}{k_t} = \frac{0,161}{0,031} = 4,7 \text{ en } E = 0,457 \times 283 \times 273 \times 0,675 = 23,9 \text{ kcal/mol.}$$

Dit zijn erg hoge waarden. Voor het traject 10-20°C worden ze veel lager:

$$Q_{10} = \frac{k_{t+10}}{k_t} = \frac{0,550}{0,161} = 4,1 \text{ en } E = 0,457 \times 293 \times 283 \times 0,61 = 23,1 \text{ kcal/mol.}$$

Het is echter mogelijk, dat tijdens de incubatietijd het aantal bacteriën is toegenomen onder de incubatieomstandigheden. Hiervoor zou gecorrigeerd moeten worden.

Uit een experiment, uitgevoerd op 20 februari 1973, bleek dat bij het variëren van de incubatietijd van 20 tot 53 uur, het percentage  $SO_4^{2-}$ -omzetting per 24 uur ongeveer konstant bleef, zodat vermeerdering der bacteriën hier niet optrad, of in elk geval geen verhoogde sulfaat-reduktiesnelheid deed veroorzaken. Interessant zou zijn, dergelijke temperatuurreksen ook uit te voeren onder dezelfde incubatiromstandigheden, maar uitgaande van sediment, verkregen in verschillende jaartijden.

Hieruit kan volgen, hoe de temperatuurreeks verloopt bij bacterie populaties waarvan de samenstelling aangepast is aan de gemiddelde wadtemperatuur van die jaargetijden. (NEDWELL & FLOODGATE, 1971).

Op 10 april werd weer een temperatuurreeks gemaakt, nu bij hogere temperaturen, van  $+7^{\circ}\text{C}$ , met de bedoeling de optimum-temperatuur te bepalen. Bij deze experimenten werd er steeds li-lactaat toegevoegd, zodat li-lactaat =  $0,024 \text{ gmol/l}$ . De resultaten zijn samengevat in Tabel IV en Fig. 10. Het optimum blijkt waarschijnlijk te liggen bij  $25-29^{\circ}\text{C}$ . Volgens NEDWELL & FLOODGATE (1972) is dit kenmerkend voor bacteriën die lang geïncubeerd zijn en die aangepast zijn aan een temperatuur van ca  $30^{\circ}\text{C}$ . Zij vonden bij in mei verzamelde bacteriën een optimum van  $20^{\circ}\text{C}$ . Zij onderzochten geen temperaturen tussen  $20^{\circ}\text{C}$  en  $30^{\circ}\text{C}$ . Echter de gevonden waarden bij  $20^{\circ}$  zijn hier ongeveer even hoog als bij genoemde auteurs, terwijl zij bij  $20^{\circ}$  veel meer sulfaatreduktie waarnamen dan bij  $30^{\circ}$ , i.t.t. de hier gevonden resultaten, zodat deze experimenten hiermee niet geheel in overeenstemming zijn.

#### Lactaatreeks

Deze incubaties verliepen bij  $40^{\circ}\text{C}$ ; de li-lactaat liep op van 0 tot  $0,2 \text{ g}$  li-lactaat toevoeging bij  $10 \text{ cc}$  sed +  $15 \text{ ml}$  zeewater. Zie hiervoor Tabel V en VI en figuur 11a en b. Er blijkt een optimum op te treden tussen 0 en  $0,02 \text{ g}$  li-lactaat toevoeging; dan is li-lactaat =  $0,005 \text{ gmol/l}$ . Op 6 februari werden tevens lactaatreeksen ingezet bij  $18,1^{\circ}\text{C}$ , zie Tabel VI en Fig. 11c en d. Bij  $4^{\circ}\text{C}$  werd resp. toegevoegd  $0, 0,005, 0,010, 0,015, 0,020$  en  $0,052 \text{ g}$  li-lactaat, overeenkomende met li-lactaat ( $\text{gmol/l}$ )  $0, 0,0025, 0,0047, 0,0069, 0,0096$  en  $0,0242$ . Bij  $18,1^{\circ}\text{C}$  hetzelfde, behalve 0 toevoeging; en met  $0,1015$  en  $0,1012 \text{ g}$  toevoeging (is  $0,0477$  en  $0,0477$  en  $0,0476 \text{ gmol/l}$ ).

$4^{\circ}$  kwam overeen met de wadtemperatuur op deze dag.

Bij grotere concentraties liepen de twee duplo-waarden bij 18,1°C iets uiteen. Verder is er een goede overeenkomst, behalve voor het afwijkende punt bij li-lactaat = 0,0476 g/mol/l.

Alle waarden bij 18°C liggen veel hoger dan bij 4°C.

Het optimum bij 4°C was bij 18°C niet terug te vinden, of lag hier buiten het waarnemingsgebied.

Invloed  $\text{SO}_4^{2-}$  op sulfaatreduktiesnelheid.

Tot nu toe werd steeds uitgegaan van modder, die een  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  -waarde had van ca 0,14, zodat aanvullen van 10 cc ervan met 15 ml zee-water geen noemenswaardige veranderingen in de  $\text{SO}_4^{2-}$  veroorzaakte. Bij het nemen van monsters van grotere diepte, waar er minder sulfaat aanwezig is, is dit echter wel het geval. Het is belangrijk, te weten of de hoeveelheid omgezet sulfaat gelijk blijft, of dat er bij kleinere sulfaatconcentraties ook kleinere absolute hoeveelheden worden omgezet.

Er werd zwarte, anaerobe modder van het NIOZ-WAD gebruikt. 10 cc woog 17,4519 gram; na drogen 12,4416 gram, opwel 10 cc bevat 5,01 ml water. Het interstitiële water bevatte 2,076 g  $\text{SO}_4^{2-}$ /l. Het toe te voegen zeewater 2,260 g  $\text{SO}_4^{2-}$ /l. Het verschil was wellicht te klein om een eventuele verminderde omzettingssnelheid te kunnen meten. Daarom werd dit door centrifugeren verkregen interstitiële water behandeld met zoveel  $\text{Ba Cl}_2$ , dat er nog een niet al te kleine sulfaatconcentratie overbleef. Het gevormde  $\text{Ba SO}_4$  werd m.b.v. een 0,5µ filter verwijderd. De nieuwe  $\text{SO}_4^{2-}$  was 0,408 g  $\text{SO}_4^{2-}$ /l. Door deze behandelning zullen eveneens uit het water verdwijnen de carbonaten, fosfaten en sulfide. Hierdoor verliep de pH van het water van 8,0 naar 7,7. Door de bufferende werking van de 10 cc sediment zal dit nauwelijks effect hebben. Ook fosfaten en sulfiden zullen waarschijnlijk zoveel in het sediment voorkomen, dat het toevoegen van 15 ml water, waarin weinig van deze ionen voorkomt, geen grote invloed zal hebben. Om dit te controleren werd aan een incubatiebuis wat extra fosfaat toegevoegd.

De aanvankelijk ingezette seriebuizen bij  $4^{\circ}\text{C}$  en zonder lactaat vertoonde steeds zo weinig omzetting, dat een duidelijk effect niet was te constateren. Daarom werd dit experiment herhaald met toevoegen van 0,05g li-lactaat aan elke buis (zie Tabel VII). Ook werden er buizen ingezet die dezelfde  $\text{SO}_4^{2-}$  bevatten als de met  $\text{Ba Cl}_2$  behandelde monsters, echter nu door gewoon zeewater met gedestilleerd water te verdunnen.

Aan een met  $\text{Ba Cl}_2$  behandeld monster werd in 1 geval weer zoveel  $\text{SO}_4^{2-}$  toegevoegd, dat weer de oorspronkelijk zeewater concentratie werd bereikt. Dat om te controleren of de  $\text{Ba Cl}_2$ -behandeling ook invloed had op de activiteit van de bacteriën.

In de buizen met 15 ml met  $\text{Ba Cl}_2$ -behandeld interstitieël water blijkt een grotere procentuele omzetting plaats te vinden. Als weer zoveel sulfaat aan het medium was toegevoegd, dat de uiteindelijke  $\text{SO}_4^{2-} = 2,06 \text{ g SO}_4^{2-}/\text{l}$  was, zoals in buis 3 (Tabel VII), dan weer minder. In absolute hoeveelheden zijn de waarden vrijwel gelijk.

Aangezien volkomen homogeniteit van het wadmonster niet gemakkelijk te verwezenlijke was, en dus ook bijv. het watergehalte in elke buis wat gevarieërd zal hebben, valt het verschil binnen de meetfout, zodat geconstateerd kan worden dat de sulfaatconcentratie bij een waarde van 0,86g/l waarschijnlijk no niet beperkend is voor de omzettingssnelheid.

Deze waarde komt overeen met  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^- = 0,04$ . Bij nog minder sulfaat zou dit wel beperkend kunnen zijn, bijv. misschien wel bij 0,008; dit was de in de diepte konstant blijvende minimum waarde van  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  in het Vlieter-experiment. (p. 16).

De behandeling met  $\text{Ba Cl}_2$  heeft misschien enige invloed gehad op de activiteit der bacteriën; vergelijk buis 3 met buis 6 en 7. omdat van buis 3 geen duplo waarde is bepaald, bestaat hierover weinig zekerheid. Bij de buizen, waarbij 10 cc sed is aangevuld met 15 ml verdund

zeewater, blijkt veel minder sulfaat te zijn omgezet. Dit is ongetwijfeld een gevolg van de lagere osmotische waarde van het incubatie-milieu of van andere neven-effecten van de verdunning aangezien ook het extra toevoegen van fosfaat ( $6 \text{ mg K}_2\text{HPO}_4 + 1,8 \text{ mg KH}_2\text{PO}_4$ ) geen effect had, was ook de fosfaatconcentratie geen beperkende factor.

De waarde van buis 6 en 7 liggen iets hoger dan tot dusverre verkregen waarde bij  $4^\circ\text{C}$  en  $0,05 \text{ g li-lactaat}$  toevoeging (vergelijk de waarde  $0,36$  uit Tabel VI). Dit is wellicht een gevolg van het feit, dat de voor deze experimenten gebruikte modder duidelijk zwarter en anaerober was, dan het materiaal waarmee vorige experimenten verricht werden.

4. BALGZAND, zandig wad; 7 maart 1973.

Van een kern van ca  $40 \text{ cm}$  diep werd het  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -verloop gemeten.

Van 4 diepten werd meer materiaal verzameld, n.l.  $0,8, 16$  en  $24 \text{ cm}$  diepte.

Deze monsters worden verder steeds aangeduid met I, II, III en IV.

Het wad bij het monsterpunt viel bij de monstername net droog. De kern met het  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -verloop is weergegeven in Fig. 12. De sulfaatchloride verhouding was aan de oppervlakte  $0,148$ ; dit is ongeveer de zeewater-samenstelling. In de diepte nam de sulfaatconcentratie iets toe, tot  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^- = 0,175$  bij  $30 \text{ cm}$  diep. Op nog grotere diepte leek er weer een afname van sulfaat op te gaan treden. Dit is een geheel ander verloop dan dat van de Vlieter (Fig. 5). Dit verschil wordt veroorzaakt door het veel meer aerobe milieu van het balgzandmonster. Zuurstof dringt in dit steeds droogvallende zandige wad veel beter door dan in de compacte, kleige, steeds diep onder water staande Vlieter-bodem. De  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -waarden groter dan  $0,15$  lijken te wijzen op thiobacillus-activiteit tot op grotere diepte ( $30 \text{ cm}$ ).

Zoals reeds eerder genoemd vonden ook KAPLAN, EMERY & RITTENBERG (1963) in San Diego Trough (Californië) waarden hoger dan de

zeewatersamenstelling. Vermeldenswaardig is, dat zich in de kern in het monsterplakje van  $27\frac{1}{2}$  cm diep een stukje dood, rottend organisme bevond. In het afgesloten potje veroorzaakte dit snel een anaerob milieu, met snel dalend sulfaatgehalte. Zo was  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$  reeds spoedig 0,124 geworden. Het monster verspreidde een rottingslucht, terwijl dit ten tijde van de monsternamen niet het geval was. In het tamelijk aerobe milieu kan deze bron van sulfide (afkomstig uit afgebroken eiwitten), door thiobacillus-activiteit omgezet worden in een bron van sulfaat. Door de voldoende aanwezigheid van organisch substraat zullen deze microorganismen wellicht goed kunnen werken.

De watergehalten en gewichten van het sediment en  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -waarden van het interstitieel water op resp. 0,8, 16 en 24 cm diepte zijn samengevat in Tabel VIII. Omdat van het waterrijke, snel uitvloeiende zand moeilijk 10 cc was af te passen, konden de watergehalten niet zo nauwkeurig worden bepaald en waren in werkelijkheid iets groter dan hier wordt aangegeven.

De  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -waarden van punt II, III en IV liggen iets lager dan de punten van de wadkern; opgemerkt dient te worden dat het verzamelen van het materiaal voor de monster I t/m IV op enkele decimeters afstand moest geschieden van de plaats waar de kern genomen werd. Ook voor deze 4 punten geldt dat de  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -waarden niet of nauwelijks lager zijn dan de zeewatersamenstelling.

Voor de korrelgrootteverdeling zie Fig. 13a t/m d (komt overeen met resp. I t/m IV). De samenstelling blijkt vrijwel konstant in de diepte. Slechts de fractie 160-200 $\mu$  is op 16 cm diepte sterker vertegenwoordigd. Bij het NIOZ-wad bevatte de fractie 80-160 $\mu$  de meeste stof. Een groot verschil wordt gevormd door de fracties der kleinere deeltjes; deeltjes kleiner dan 32 $\mu$  werden in deze (zandige) balgzandmonsters nauwelijks aangetroffen; bij het NIOZ-wadmonster vormde dit bijna de

helft van het totaalgewicht. Als consequenties lijken aannemelijk voor de zandige balgzandmonsters een lager gehalte aan organische stof, en wat ook al uit de kleur blijkt, een grotere  $O_2$ . Hiermee in overeenstemming is, dat het aantal sulfaatreducerders hier veel kleiner was dan in het NIOZ-wadmonster, zoals blijkt uit Tabel IX. Het aantal verloopt niet merkbaar van 0 tot 25 cm diepte. Een zelfde verschil vond SANDKVIIST (1968) voor zandig arenicola wad en slikkig wad van dichtbij een mosselbank. In de oxidatielaag waren er in zandig resp. slikkig wad 2000 en 10,000 sulfaatreducerders; in de reductielaag resp. 3000 en 60,000, en in de pyrietlaag weinig verschil: 300 en 200 ex. De Balgzand aantallen veranderen niet met de diepte, vermoedelijk werd hiervoor niet diep genoeg gemonsterd. De sulfaatreduktiesnelheid werd onder twee omstandigheden gemeten: gunstige omstandigheden ( $20^\circ$  en 0,05 g li-lactaat toevoeging) en wadomstandigheden ( $4^\circ C$ , geen li.lactaat). Zie weer Tabel IX. De waarden zonder lactaat zijn lager dan SOROKIN (1964 en 1970) en KAPLAN, EMERY & RITTENBERG (1952) vonden, (zie p. 17 en 18). Het toevoegen van gelijke hoeveelheden li-lactaat resulteerde in iets verschillende eindconcentratie door de verschillende watergehalten van het sediment. Gezien het verloop van Fig. 11 zijn deze iets verschillende waarden ongeveer als gelijk te beschouwen; het erdoor veroorzaakte verschil in hoeveelheid  $SO_4$ -omzetting is vrijwel nihil. Door de kleine getallen is de fout bij  $4^\circ$  en zonder lactaat groot. Er is bij de oppervlakte 50-100+ zo weinig omgezet als bij het NIOZ-wad; met 0,05 g li-lactaattoevoeging en  $20^\circ$  zelfs ca 400x zo weinig. Vergelijk met waarden uit Fig. 7 en 11.

Er bevinden zich bij de oppervlakte ca 40x (4x tot 400x) zo weinig bacteriën. Per bacterie werd hier omgezet: (zie Tabel X), bij  $20^\circ C$  + 0,05 g li-lactaat:  $0,7 \cdot 10^{-9}$  g  $SO_4^{2-}$ /dag ( $0,3 \cdot 10^{-9}$  -  $2 \cdot 10^{-9}$ ). Dit is ongeveer 10x (1x à 75+) zo weinig als 16 januari gemeten voor het NIOZ-wad.

De grote fout in het aantal bacteriën maakt het onmogelijk hier iets nauwkeuriger te zijn.

Door dat in het zandige Balgzandmonster de  $O_2$  waarschijnlijk hoger ligt dan in het meer anaerobe NIOZ-wadmonster, zullen de bacteriën in het zandige monster wellicht toch onder minder gunstige omstandigheden moeten werken, ondanks het vervangen van de luchtzuurstof door stikstof; immers de sulfaatreducerende bacteriën zijn obligaat anaeroob.

Bij  $4^{\circ}C$  en zonder lactaattoevoeging werd aan de oppervlakte  $0,04 \cdot 10^{-9}$  tot  $0,3 \cdot 10^{-9}$  g  $SO_4^{2-}$ /cel/dag omgezet. Deze waarden zijn lager dan gevonden door SOROKIN (1963) in de bodem van de Zwarte Zee.

Er lijkt in de diepte (lagere Eh) meer sulfaat per bacterie omgezet te worden dan aan de oppervlakte; ook dit zal waarschijnlijk door de  $O_2$  veroorzaakt worden.

##### 5. BALGZAND, kleig wad; 29 maart 1973.

Evenals bij het zandige Balgzand werd ook hier een kern genomen, nu van ca 30 cm diep, en werd er van 4 diepten (0,8, 16 en 24 cm) weer wat meer materiaal verzameld, weer aangeduid met resp. I, II, III en IV. Het wad bij het monsterpunt lag dichtbij de dijk, en was al geruime tijd droog, waarvan de scheuren in het wadoppervlak getuigden. De door de zon beschenen oppervlakte had een temperatuur van  $15^{\circ}C$ . Dieper dan 5 cm was de temperatuur reeds ongeveer konstant ( $8-9^{\circ}C$ ).

Het  $SO_4^{2-}/Cl^{-}$ -verloop in de kern is afgebeeld in Fig. 14, evenals een beschrijving van de kleur van de kern. De sulfaatchlorideverhouding aan de oppervlakte was 0,114; dit is veel lager dan de gemiddelde zee-watersamenstelling. Dit is mogelijk doordat reeds vele vloedden dit hooggelegen stuk wad niet hebben overspoeld.

Op 5 cm diepte is er een minimum van ca 0,10, waarna het weer toeneemt tot 0,144 op ca 20 cm diepte. Weer dieper neemt het weer af.

Waarom er zulke hoge sulfaatgehalten voorkomen van 15-20 cm diepte is niet duidelijk. Misschien dat kwelwater van onder de dijk hier een rol speelt. De monsters I t/m IV, enkele dm. verderop verkregen van de plaats waar de kern is genomen, vertonen nog wat meer extreme waarden voor  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ : I en II zijn lager, III is hoger dan de waarden van de kern op overeenkomstige diepten.

In Tabel XI zijn weergegeven de gewichten, watergehalten en  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -waarden van de 4 monsters I t/m IV. Alle  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -waarden zijn lager dan het zandige wad op overeenkomstige diepten m.v.v. punt III, dat een even hoge waarde heeft.

In Fig. 15 staan de korrelgrootteverdelingen van monster I t/m IV. Ook hier is evenals bij de zandige Balgzandmonsters veel overeenkomst tussen de boven elkaar liggende lagen. I.t.t. het zandige wad is hier de fractie 32-50 $\mu$  het best vertegenwoordigd; bij het zandige wad 100-160 $\mu$ . De fractie 50-80 $\mu$  was alleen bij de oppervlakte sterk aanwezig. Nog hogere fracties bevatten nog minder materiaal. Opmerkelijk was, dat er nauwelijks deeltjes werden aangetroffen kleiner dan 32 $\mu$ , dit i.t.t. het NIOZ-wad.

Tabel XII bevat de gegevens van omzettingssnelheden en getelde aantallen bacteriën.

Er waren zeer veel sulfaatreducerende bacteriën aanwezig, vooral vlak onder de oppervlakte. Dit verloop komt vrij goed overeen met gevonden waarden van SANDKVIIST (1968) onder Ameland. Hij vond in de oxidatielaag, reductielaag en pyriet-laag van slikkig wad resp. 10.000, 60.000 en 200 sulfaatreducerders per cc sediment. In het geval van het Balgzandmonster ontbrak vrijwel de oxidatielaag, reeds direkt onder de oppervlakte was er veel sulfide te vinden.

De hoge bacterie-aantallen waren waarschijnlijk een gevolg van de grote substraatconcentratie, de hoge temperaturen en het toch reeds vlak

onder de oppervlakte tamelijk anaerobe milieu. Het aantal was aan de oppervlakte 100x zo groot, en beneden 15 cm 10x zo groot als op het zandige wad, en vergelijkbaar met of groter dan het NIOZ-wad.

De omzettingssnelheden werden weer bij twee omstandigheden bekeken, resp. bij 20°C met 0,05 g li-lactaattoevoeging en bij 4°C zonder li-lactaat.

De hoeveelheid omzetting was het grootst op 8 cm diepte, terwijl ook aan de oppervlakte veel werd omgezet; de kleinste omzettingen vonden plaats op 16 en 24 cm diepte; deze laatste twee waarden waren steeds gelijk. Zoals steeds zijn ook hier weer de omzettingen bij 4°C en zonder lactaat veel kleiner dan bij 20°C + 0,05 g li-lactaat.

Er is overal veel meer omgezet dan in de overeenkomstige situaties op het zandige balgzand-wad. (Vergelijk met Tabel IX). De gevonden waarden van de omzettingssnelheden bij de oppervlakte komen goed overeen met de waarden van het NIOZ-wad (Tabel II en VI).

Als wij de gevonden waarden van de hoeveelheden gereduceerd sulfaat per 24 uur per bacterie beschouwen (Tabel XIII), dan blijkt ook hier weer, dat in de diepere lagen onder dezelfde omstandigheden wat betreft temperatuur en li-lactaat meer sulfaat wordt gereduceerd dan aan de oppervlakte. Waarschijnlijk weer een gevolg van de lager wordende Eh met de diepte. Om dezelfde reden wellicht liggen de waarden voor het kleige wad hoger dan voor het zandige wad. (Vergelijk Tabel X en XIII).

In de wadkern werd voor verschillende diepten het vrije H<sub>2</sub>S gemeten, evenals het totale gebonden sulfide. Van het laatste werden geen absolute waarden bekend; alleen minimum - getallen zijn gegeven. Zowel het verloop van H<sub>2</sub>S als totaal S<sup>2-</sup> is uitgezet in Fig. 16. (naast het SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/Cl<sup>-</sup> -verloop dat ook reeds in Fig. 14 werd weergegeven). Er is een duidelijke overeenkomst tussen het verloop van H<sub>2</sub>S en totaal S<sup>2-</sup>, en het SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/Cl<sup>-</sup> minimum op ca 5 cm diepte correspondeert met maxima van H<sub>2</sub>S en totaal sulfide aldaar.

Het lijkt zinvol bij eventueel voortgezette experimenten de Eh steeds te meten en eventueel op een vaste waarde te brengen, zodat onderzocht kan worden of dan hoeveelheid gereduceerd sulfaat per 24 uur (bij standaardomstandigheden zoals bij 20°C en 0,05 g li-lactaat-toevoegen) een maat is voor het aantal sulfaatreducerende bacteriën in de wadbodem.

#### V. LITTERATUUR

- ASAKAWA, S. 1972. An experiment on the sulfate reducing activity of sea bottom mud. J. Fac. Fish. Anim. Husl. Hiroshima Univ., 11: p. 59-64.
- BEGHEYN, L. TH., & J. VAN SCHUYTENBORG, 1971. Determination of the particle-size distribution; methods for the analysis of soils. Wageningen, p. 8-14.
- BEN-YAAKOV, S., 1972. Diffusion of sea water ions-I. Diffusion of sea water into a dilute solution; Geochim. Cosmochim. Acta, 36 : p. 1395-1406.
- BERGLUND, F. & B. SÖRBO, 1960. Turbidimetric analysis of inorganic sulfate in serum, plasma and urine. Scand. J. Clin. Lab. Investig. 12 : p. 147-153.
- BERNER, R.A., 1963. An idealized model of dissolved sulphate distribution in recent sediments; Geochim. Cosmochim. Acta 1964, 28 : p. 1497-1503.
- , 1964. Distribution of sulphur in some sediments from the Gulf of California; marine Geology 1 : p. 117-140.
- BIOCHEMISCHES TASCHENBUCH, 1964, H.M. RAUEN, Springer Verslag Berlin, II, p. 167-169.
- BLAEDEL W.J. & V.W. MELOCHE, 1964. Elementary quantitative analysis. Harper & Row, New York, p. 281-303.

- CULKIN, F. 1965. The major constituents of sea water. In: Riley, T.P. & G. Skirrow: Chemical Oceanography 1, p. 121-161.
- HALLBERG, R., 1965. Notes on biosynthesis of pyrite; Stockholm contributions in geology 13, 4, p. 35-37.
- HAMER, R.J., 1970. Over sulfaatreductie en het voorkomen van Fe in het wad, NIOZ-publicaties en verslagen nr. 1970-1.
- HARMSSEN, G.W., 1954. Observations on the formation and oxidation of pyrite in the soil. Plant and Soil. 5 : p. 324-348.
- IVANOV, M.W., 1956. On the use of isotopes for the study of rate of sulphate reduction in the lake Belovod; Microbiologia, Moscow. 25 : p. 305-312.
- KAPLAN, I.R., K.O. EMERY & S.C. RITTENBERG, 1963. The distribution and isotopic abundance of sulphur in recent marine sediments off southern California. Geochim. Cosmochim. Acta, 27 : p. 297-331.
- NEDWELL, D.B. & G.D. FLOODGATE, 1971. The seasonal selection by temperature of heterotrophic bacteria in an intertidal sediment. Mar. Biol. 11 (4): p. 306-310.
- , 1972. Temperature-induced changes in the formation of sulphide in a marine sediment. Mar. Biol. 14 : p. 18-24.
- NIKAIDO, M., 1970. Distribution of reduced inorganic compounds and their oxidation in lakes. Mem. Ehime. Univ. Sci., Ser. B, 6 (3): p. 27-40.
- OPPERHEIMER, C.H., 1960. Bacterial activity in sediments of shallow marine bays. Geochim. Cosmochim. Acta 19: p. 244-260.
- POSTGATE, J.R., 1969. Viable counts and Viability - Methods in microbiology. Academic Press, London, I.: p. 611-628.
- POSTMA, H., 1954. Hydrography of the Dutch Wadden Sea. Arch. Néerl. de Zoologie. 10 (4): p. 1-106.

- REDFIELD, A.C., B.H. KETCHUM & F.A. RICHARDS, 1963. The influence of organisms on the composition of sea water In: Hill, M.N.: The Sea 11: p. 26-77.
- SANDKVI ST, A., 1968. Microbiological investigation of modern Dutch tidal sediments. Stockholm Contrib. Geol. 15: p. 67-113.
- SKERMAN, T.M., 1960. Nutritional Patterns in marine Bacterial Populations. In: Marine Microbiology, Ed. Oppenheimer. p. 685-698.
- SOROKIN, YU. I., 1964. On the primary production and bacterial activities in the Black Sea. J. l'Explor. Mer. 29: p. 41-60.
- , 1970. Interrelations between sulphur and carbon turnover in meromictic lakes - Arch. Hydrobiol. 66 (4): p. 391-446.
- STANDARD methods for the examination of water and wastewater, including bottom sediments and sludges (1965). American public health association. p. 429.
- VOSJAN, J.H. & C.F. BEKE, 1971. Sulfaat in water en sediment van de Waddenzee. NIOZ publicaties en verslagen nr. 1971-11.
- ZOBELL, E., 1938. Studies on the bacterial flora of marine bottom sediments. Sed. petrol. p. 10-18.

Tabel I

Aantal sulfaatreducerende bacteriën en sulfaatreduktiesnelheden bij ca 20°C en met en zonder 0,1g Li-Lactaat toevoeging. NIOZ-wad sediment; 16 januari 1973.

Li lact. ( $\mu\text{mol/l}$ )	Temp. (°C)	% $\text{SO}_4$ gereduc. bep.	$\text{SO}_4$ (g) gereduc.	Aant. bact. (per cc sed.)	$\text{SO}_4$ gereduc. per bact.	
0,047	19-23	3,1				
			4,30	0,0018	22.000	$8 \cdot 10^{-9}$
0,047	19-23	5,5		(5700-70.000)	( $2 \cdot 10^{-9}$ - $2 \cdot 10^{-9}$ )	
--	19-23	0,44				
			0,36	0,00015	22.000	$0,7 \cdot 10^{-9}$
--	19-23	0,28		(5.700-70.000)	( $92 \cdot 10^{-9}$ - $2 \cdot 10^{-9}$ )	

Tabel II

Sulfaatreduktiesnelheden bij verschillende temperaturen, zonder Lactaattoevoeging. NIOZ-wad sediment, 30 januari 1973.

Temperatuur (°C)	%-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur	hoeveelheid (g) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting, in 24 uur per 10 cc sediment
- 5,0	0,004	0,000003
- 2,0	0,032	0,000020
+ 1,0	0,148 (?)	0,000093 (?)
+ 4,0	0,034	0,000035
+ 7,1	0,095	0,000060
+10,5	0,155	0,000098
+13,5	0,230	0,000145
+16,6	0,310	0,000206
+19,5	0,540	0,000339
+22,3	0,770	0,000486

Tabel III

Sulfaatreduktiesnelheden bij verschillende temperaturen, zonder Lactaattoevoeging. NIOZ-wad sediment, 14 februari 1973.

Temperatuur (°C)	%-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur	hoeveelheid (g) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> omzetting in 24 uur per 10 cc sediment
- 4,5	0,02	0,000015
- 1,5	0,05	0,000031
+ 1,5	0,06	0,000038
+ 4,5	0,11	0,000069
+ 7,5	0,13	0,000081
+10,5	0,19	0,000119
+13,5	0,36	0,000226
+16,5	0,48	0,000301
+19,5	0,53	0,000333
+22,5	0,96	0,000601

Tabel IV

Sulfaatreduktiesnelheden bij verschillende temperaturen, Li-lactaat=  
0,024 gemol/l; NIOZ-wad sediment, 10 april 1973.

Temperatuur (°C)	%-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur	hoeveelheid (g) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur per 10 cc sediment
7	0,31	0,000194
12	0,69	0,000433
17	2,02	0,001270
22	3,85	0,002410
27	7,31	0,004590
32	1,76	0,001100
37	0,41	0,000256
42	0,09	0,000056
47	?	?

Tabel V

Sulfaatreduktiesnelheid bij verschillende con. (lactaat en + 4°C; NIOZ-wad sediment, 30 januari 1973.

Li-lact. (gmol/l.)	%-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur	hoeveelheid (g) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur per 10 cc sediment
0	0,09	0,000071
0,0041	0,52	0,000324
0,0093	0,45	0,000280
0,0232	0,33	0,000207
0,0472	0,35	0,000221
0,0941	0,26	0,000162

Tabel VI

Sulfaatreduktiesnelheden bij verschillende con. lactaat en bij twee temperaturen (4° en 18,1°C); NICZ-wad sediment, 5 februari 1973.

Temp. (°C)	Li-lact. (gmol/l)	%-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur	hoeveelheid (g) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur per 10 cc sediment
+ 4	0	0,061	0,000038
+ 4	0,0025	0,418	0,000262
+ 4	0,0047	0,519	0,000325
+ 4	0,0069	0,293	0,000184
+ 4	0,0096	0,368	0,000231
+ 4	0,0242	0,358	0,000225
+18,1	0,0027	1,47	0,000920
+18,1	0,0050	2,30	0,001440
+18,1	0,0071	2,23	0,001400
+18,1	0,0094	2,95	0,001850
+18,1	0,0236	3,11	0,001950
+18,1	0,0477	3,11	0,001950
+18,1	0,0024	0,99	0,000620
+18,1	0,0048	2,66	0,001670
+18,1	0,0073	2,53	0,001590
+18,1	0,0090	3,27	0,002050
+18,1	0,0235	3,82	0,002390
+18,1	0,0476	2,02 ?	0,001260 ?

Tabel VII

Invloed  $\text{SO}_4^{2-}$  op sulfaatreduktiesnelheden;  $+4$  à  $+5^\circ\text{C}$ ; Li-lactaat =  $0,026 \text{ gmol/l}$ ; NIOZ-wad sediment (anaeroob); 20 februari 1973. Aan buis 2 was extra toegevoed:  $6 \text{ mg K}_2\text{HPO}_4 + 1,8 \text{ mg KH}_2\text{PO}_4$ .

Buis nr.	eindconc. $\text{SO}_4^{2-}$ (g/l)	bereiding $\text{SO}_4^{2-}$	% $\text{SO}_4^{2-}$ -omzetting in 24 uur	hoeveelheid (g) $\text{SO}_4^{2-}$ -omzetting in 24 uur per 10 cc sediment
1	0,86	Ba $\text{Cl}_2$ -behandeling	1,06	0,00018
2	0,86	Ba $\text{Cl}_2$ -behandeling	1,01	0,00017
3	2,06	Ba $\text{Cl}_2$ -behandeling; extra $\text{SO}_4^{2-}$ toegevoegd	0,36	0,00015
4	0,86	verdund zeewater	0,53 0,65	0,00011
5	0,86	verdund zeewater	0,72	
6	2,06	zeewater	0,56 0,53	0,00022
7	2,06	zeewater	0,49	

Tabel VIII

Gewichten, watergehalten en  $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ -waarden van zandig Balgzandmonster, 7 maart 1973.

---

Monster	diepte (cm)	gewicht 10 cc nat sed.	droog- gewicht	watergehalte (ml) van 10 cc (nat) sed.	$\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$
I	0	18,09	14,20	3,89	0,149
II	8	18,21	13,97	4,24	0,172
III	16	17,99	13,09	4,90	0,154
IV	24	17,80	13,66	4,22	0,141

---

Tabel IX

Aantal sulfaatreducerende bacteriën en sulfaatreduktiesnelheden bij verschillende temperaturen en Li-lactaat, in 4 zandige Balgzandmonsters van 1 plaats van 4 diepte; 7 maart 1973.

Monster	Aant. sulfaat-reduc. bact. per cc sed.	Temp. (°C)	Li-lact. (gmol/l)	%SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur	hoeveelheid (g) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur per 10 cc sediment
I	490 (170-1260)	+20	0,028	0,009	
				0,008	0,0000033
II	490 (170-1260)	+20	0,028	0,007	
		+20	0,027	0,024	0,0000114
III	330 (110-930)	+20	0,027	0,033	
		+20	0,026	0,029	0,0000122
IV	490 (170-1260)	+20	0,026	0,027	
		+20	0,027	0,014	0,0000487
I	490 (170-1260)	+20	0,027	0,012	0,0000162
		+20	0,027	0,011	
I	490 (170-1260)	+ 4	--	0,001	0,0000004
II	490 (170-1260)	+ 4	--	0,002	0,0000008
III	330 (110-930)	+ 4	--	0,005	0,0000022
IV	490 (170-1260)	+ 4	--	0,004	0,0000162

Tabel X

Hoeveelheid gereduceerd sulfaat per sulfaatreducerende bacterie; op 4 diepten op 1 plaats op zandig Balgzand; bij twee temperaturen en Li-lactaat; 7 maart 1973.

Diepte (cm)	Temp. (°C)	Li-lact. (gmol/l)	Hoeveelheid (g) $SO_4^{2-}$ omzetting per bacterie per 24 uur
0	+20	0,028	$0,7 \cdot 10^{-9}$ ( $0,3 \cdot 10^{-9}$ - $2 \cdot 10^{-9}$ )
8	+20	0,027	$2 \cdot 10^{-9}$ ( $1 \cdot 10^{-9}$ - $7 \cdot 10^{-9}$ )
16	+20	0,026	$4 \cdot 10^{-9}$ ( $1 \cdot 10^{-9}$ - $13 \cdot 10^{-9}$ )
24	+20	0,027	$9 \cdot 10^{-9}$ ( $4 \cdot 10^{-9}$ - $30 \cdot 10^{-9}$ )
0	+4	-	$0,1 \cdot 10^{-9}$ ( $0,04 \cdot 10^{-9}$ - $0,3 \cdot 10^{-9}$ )
8	+4	-	$0,1 \cdot 10^{-9}$ ( $0,1 \cdot 10^{-9}$ - $0,5 \cdot 10^{-9}$ )
16	+4	-	$0,7 \cdot 10^{-9}$ ( $0,2 \cdot 10^{-9}$ - $2 \cdot 10^{-9}$ )
24	+4	-	$3 \cdot 10^{-9}$ ( $1 \cdot 10^{-9}$ - $10 \cdot 10^{-9}$ )

Tabel XI

Gewichten, watergehalten en  $SO_4^{2-}/Cl^-$  van kleig Balgzandmonster, op 1 plaats op 4 diepten; 29 maart 1973.

Monster	Diepte (cm)	Gewicht 10 cc (nat) sed.	Droog- gewicht	Watergehalte (ml) van 10 cc (nat) sed.	$SO_4^{2-}/Cl^-$
I	0	17,5276	12,9763	4,55	0,098
II	8	12,7604	5,3287	7,43	0,099
III	16	14,7528	8,2895	6,46	0,161
IV	24	15,5638	9,1085	6,45	0,120

Tabel XII

Aantallen sulfaatreducerende bacteriën en sulfaatreduktiesnelheden van kleige Balgzandmonsters van 1 plaats op 4 diepten, bij verschillende temperaturen en Li-lactaat; 29 maart 1973.

Mon-ster	Aant. sulfaatred. bact. per cc sediment	Temp. (°C)	Li-lact. (gmol/l)	%SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> omzetting in 24 uur	Hoeveelheid (g) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -omzetting in 24 uur per 10 cc sediment
I	>54.200 (>18.000- ? )	+20	0,027	2,80	
				2,69	0,001050
I	>54.200 (>18.000- ? )	+20	0,027	2,58	
II	54.200 (18.000-140.500)	+20	0,023	10,80	
				10,88	0,004900
II	54.200 (18.000-140.500)	+20	0,023	10,97	
III	4.900 (1.700-12.600)	+20	0,022	1,30	0,000660
IV	3.300 (1.100- 9.300)	+20	0,022	1,39	0,000640
I	>54.200 (>18.000- ? )	+ 4	-	0,05	0,000020
II	54.200 (18.000-140.500)	+ 4	-	0,07	0,000032
III	4.900 (1.700-12.600)	+ 4	-	0,01	0,000005
IV	3.300 (1.100- 9.300)	+ 4	-	0,01	0,000005

Tabel XIII

Hoeveelheid gereduceerd sulfaat per sulfaatreducerende bacterie;  
op 4 diepten op 1 plaats op kleig Balgzand; bij twee temperaturen  
en Li-lactaat; 29 maart 1973.

Diepte (cm)	Temp. (°C)	Li-lact. (gmol/l)	Hoeveelheid (g) $\text{SO}_4^{2-}$ -omzetting per sulfaatred. bacterie per 24 uur
0	+20	0,027	$2 \cdot 10^{-9}$ ( - $< 6 \cdot 10^{-9}$ )
8	+20	0,023	$9 \cdot 10^{-9}$ ( $3 \cdot 10^{-9}$ - $27 \cdot 10^{-9}$ )
16	+20	0,022	$13 \cdot 10^{-9}$ ( $5 \cdot 10^{-9}$ - $39 \cdot 10^{-9}$ )
24	+20	0,022	$19 \cdot 10^{-9}$ ( $7 \cdot 10^{-9}$ - $57 \cdot 10^{-9}$ )
0	+ 4	-	$< 0,04 \cdot 10^{-9}$ ( 0,1 $\cdot 10^{-9}$ )
8	+ 4	-	$0,06 \cdot 10^{-9}$ ( $0,02 \cdot 10^{-9}$ - $0,2 \cdot 10^{-9}$ )
16	+ 4	-	$0,1 \cdot 10^{-9}$ ( $0,04 \cdot 10^{-9}$ - $0,3 \cdot 10^{-9}$ )
24	+ 4	-	$0,2 \cdot 10^{-9}$ ( $0,05 \cdot 10^{-9}$ - $0,4 \cdot 10^{-9}$ )

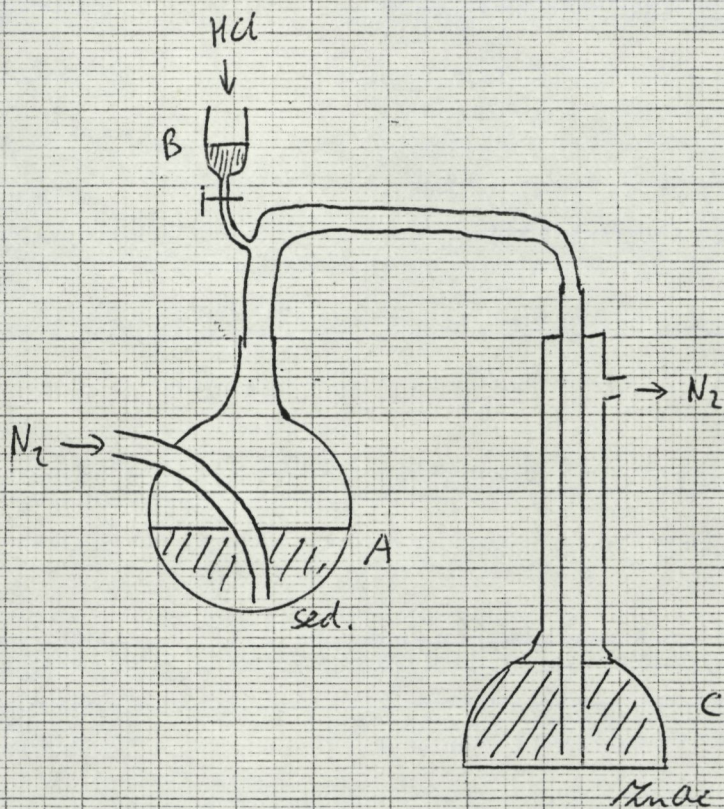


fig 2 Apparaat dat gebruikt werd voor bepaling van de gevormde hoeveelheid  $S_2^{2-}$  of sulfide in het algemeen. Voor verklaring der tekens zie tekst.

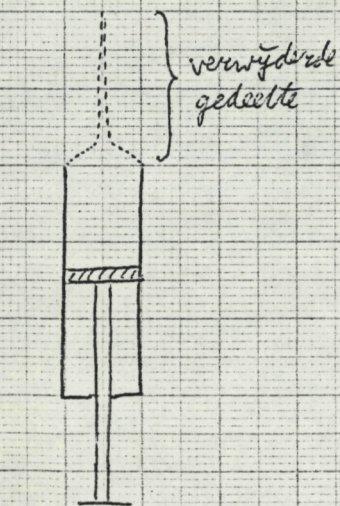


fig 1 Apparaat ter verkrijging van 10cc sed.

%  $\text{SO}_4^{2-}$  - omzetting per 24 uur,  
 laatste meting is tijdens  
 het proces van  $\text{H}_2\text{S}$  overbrengen.

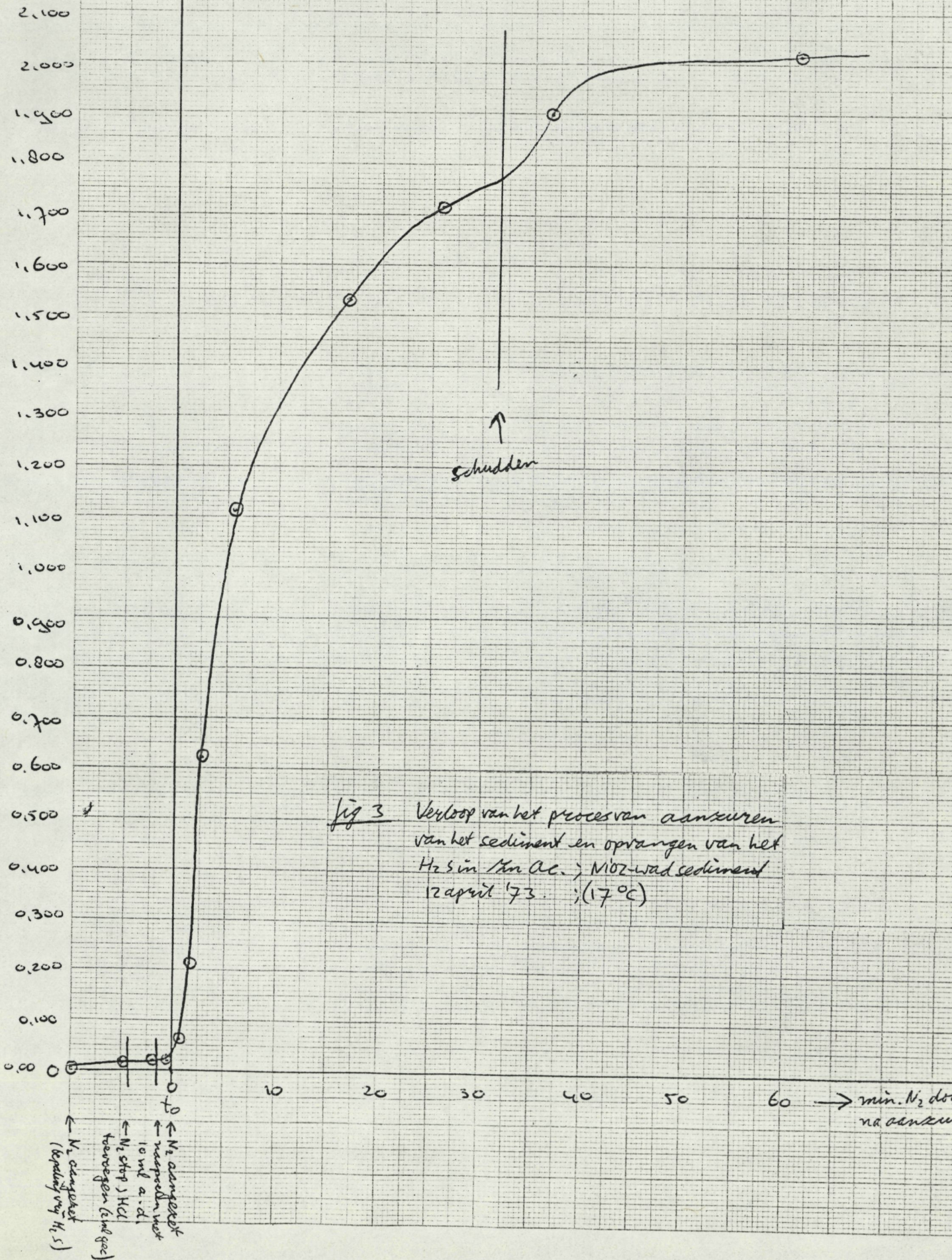


fig 3 Verloop van het proces van aansluiten van het sediment en opruimen van het  $\text{H}_2\text{S}$  in 1 km a.c. ; M02-wad sediment 12 april '73. ; (17°C)

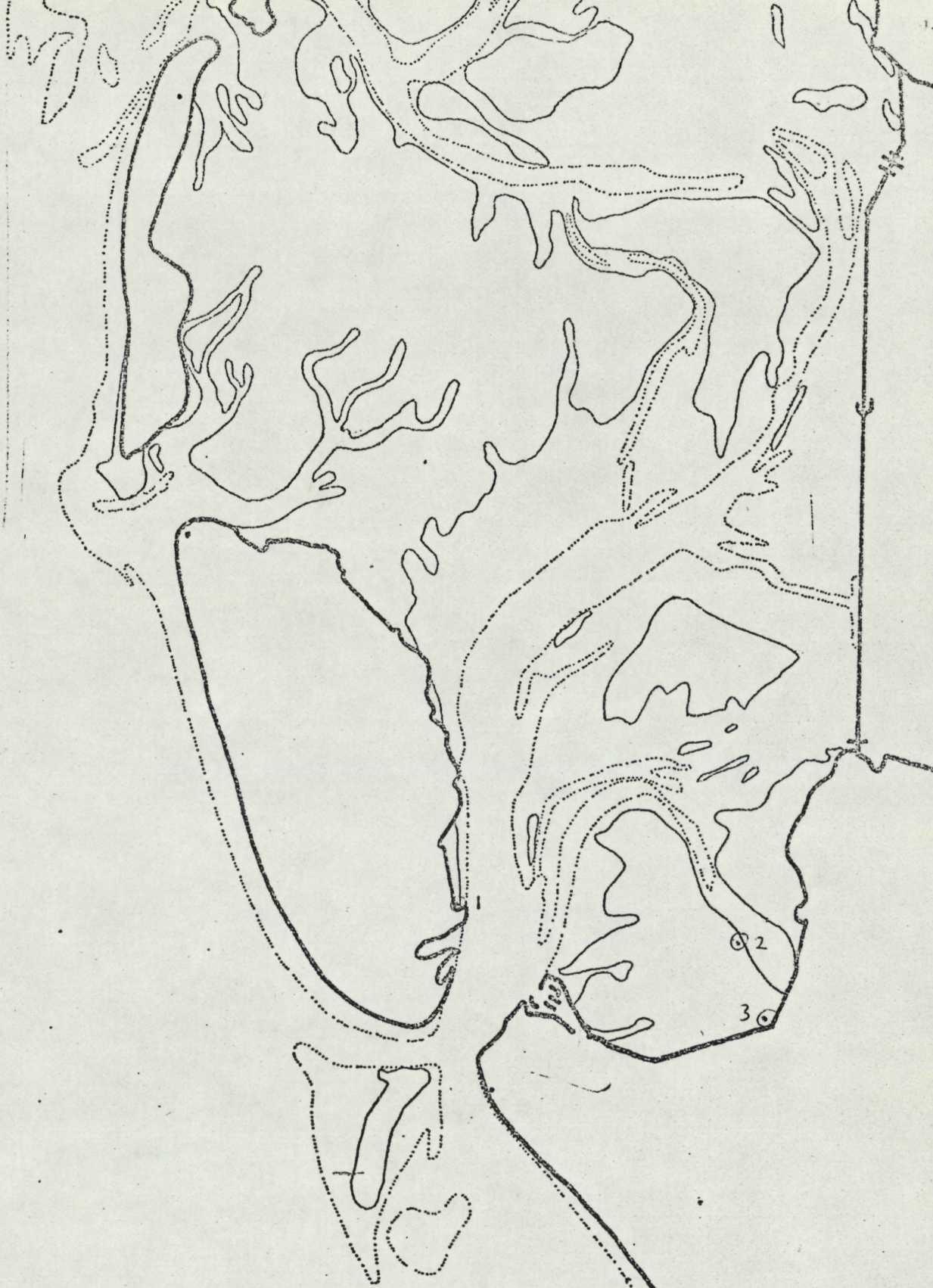
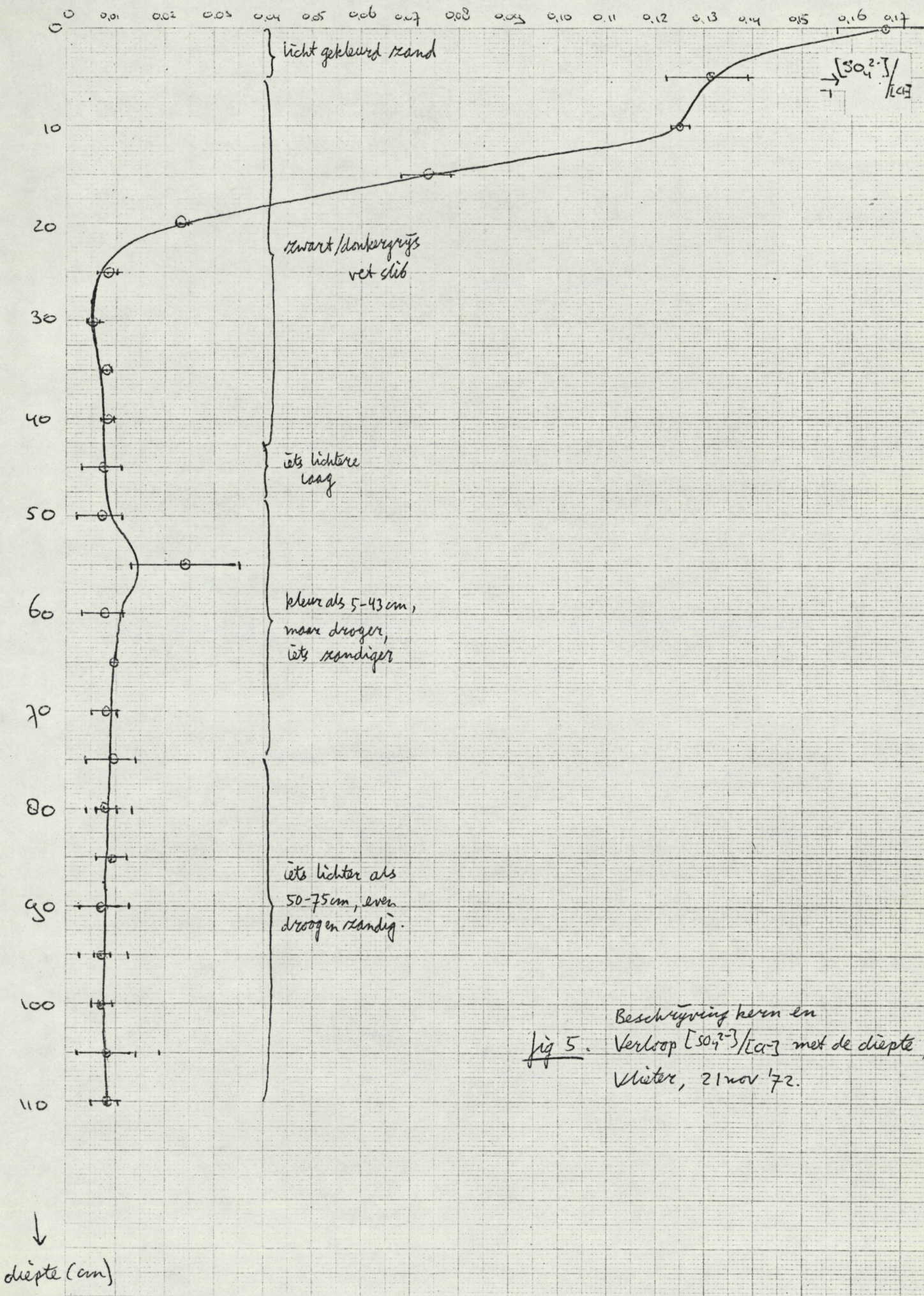


fig 4a

Plaatsen waar monsters werden genomen.

- 1) Nioz wad
- 2) Balgzand, zandig wad
- 3) Balgzand, kleiig wad





Beschrijving kern en  
 fig 5. Verloop  $\frac{[SO_2]}{[Ca]}$  met de diepte;  
 Vlieter, 21 nov '72.

Fig 6 Korrelgrootteverdeling  
 M10Z-wad sediment  
 0-10 cm diep

aantal gram, aanwezig  
 in elke fractie per 100 sed.

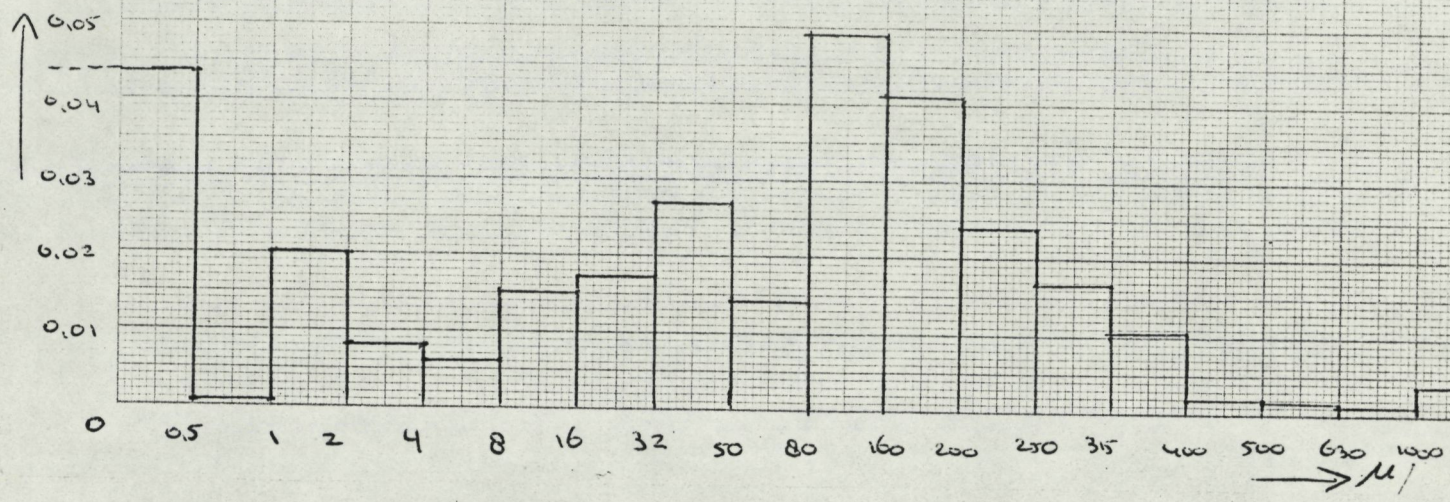
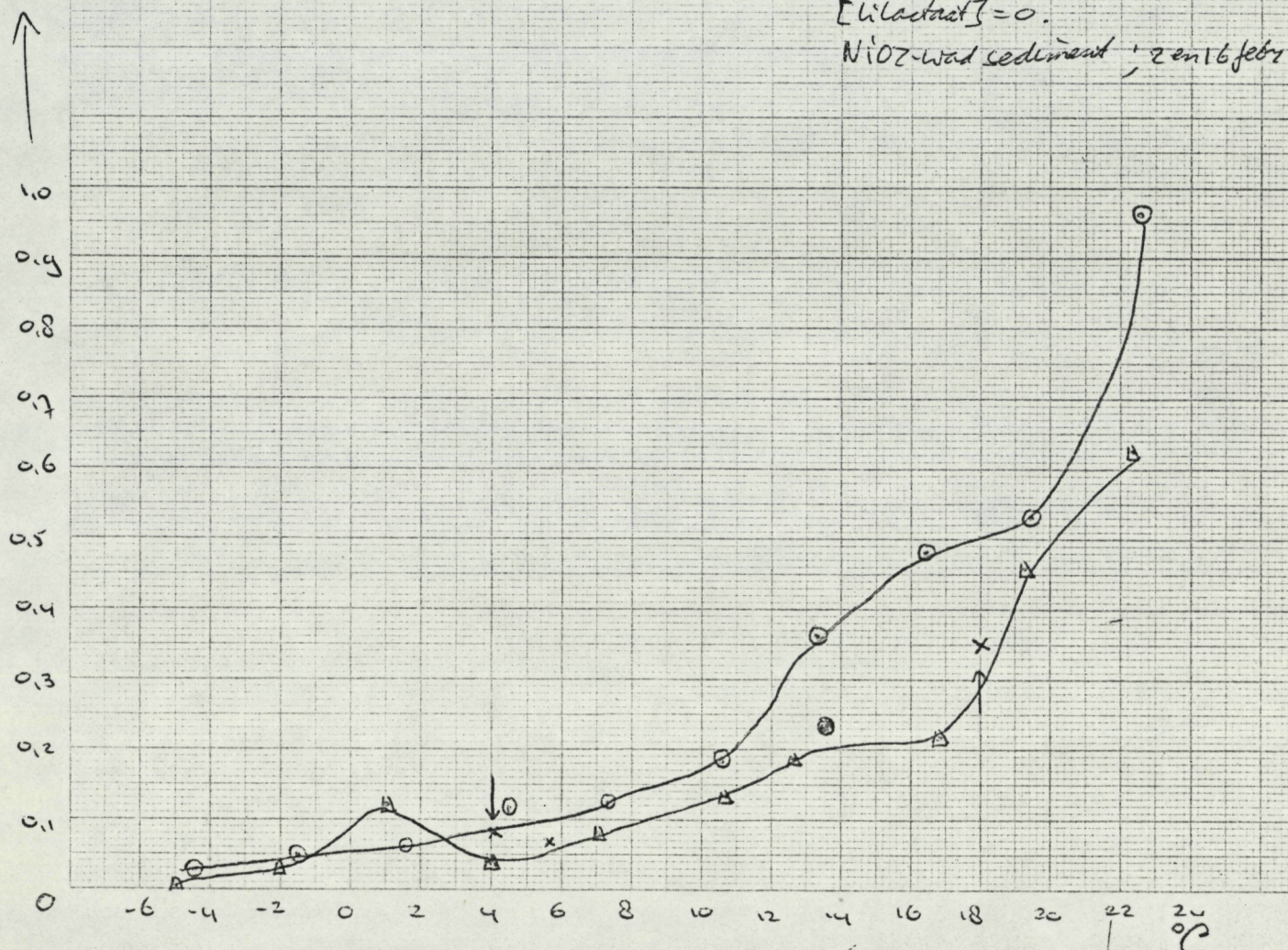


Fig 7 % SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-omzetting per 24 uur  
 bij verschillende temperaturen  
 [Lactaat] = 0.  
 M10Z-wad sediment; 2 en 16 febr.

% SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-omzetting per 24 uur



%  $SO_4^{2-}$  omzetting per 24 uur

fig 8 sulfaatreductiesnelheid als functie van de temperatuur. Geen lactaat is toegevoegd. NiO<sub>2</sub>-wod-sediment. 2 en 16 feb '73.

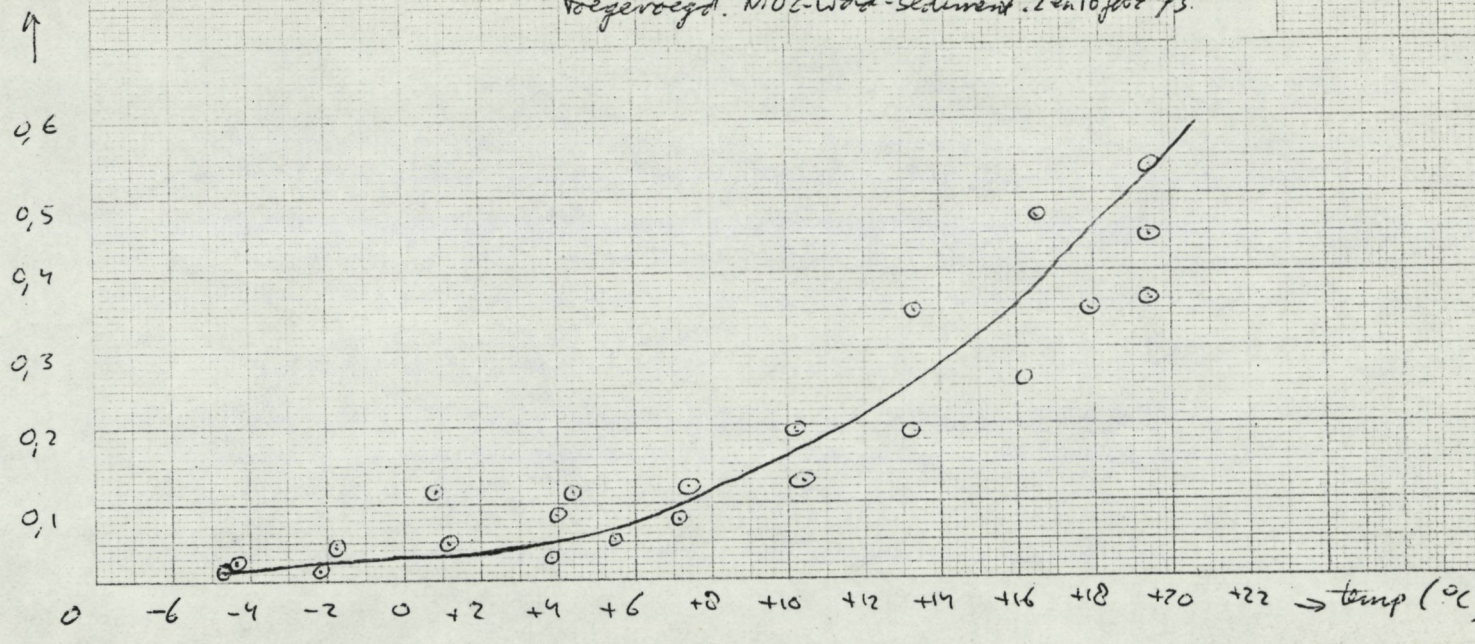
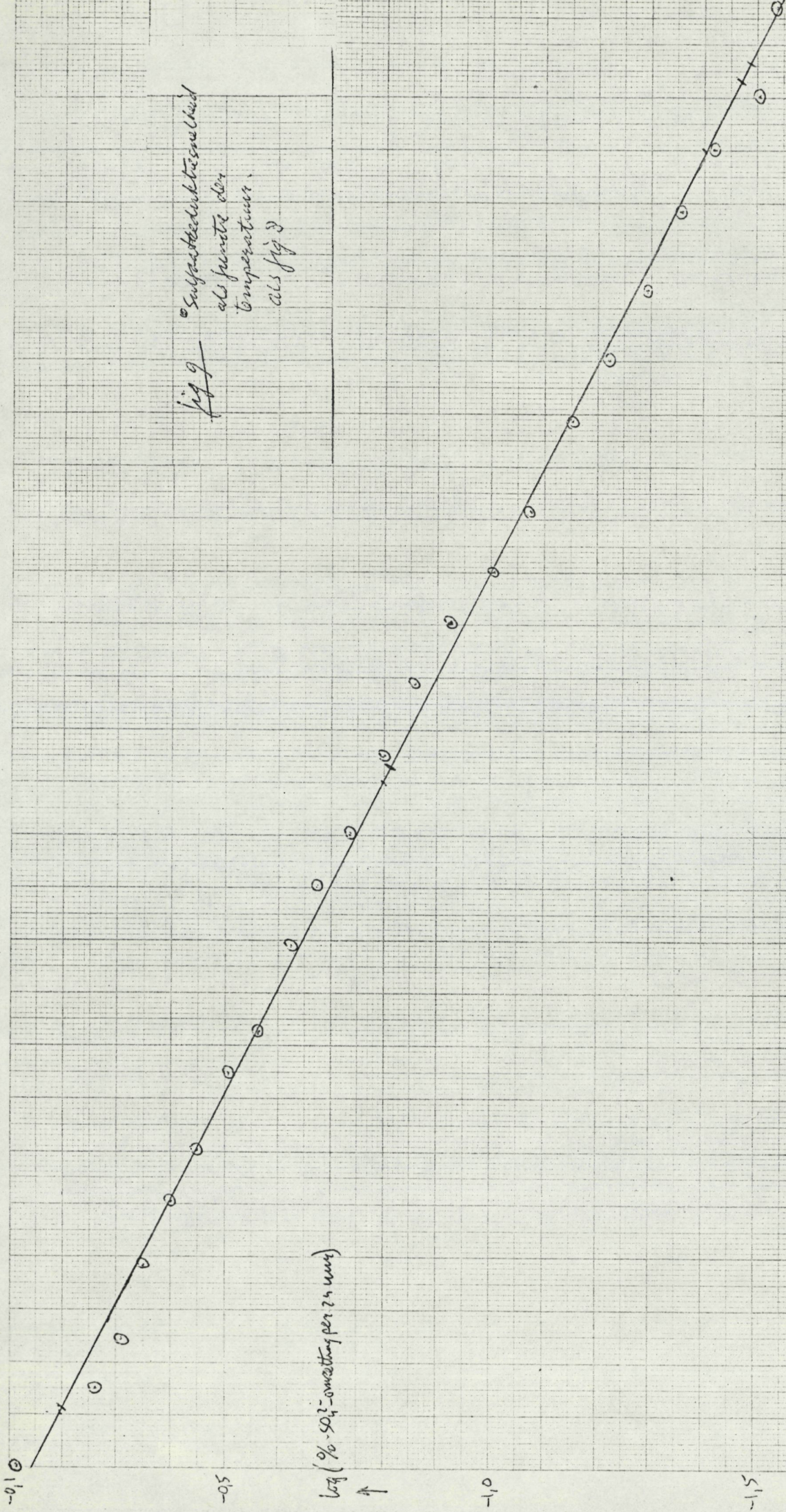


fig 9  
 Suggestechnische  
 als Punkte der  
 Temperatur.  
 als fig 8

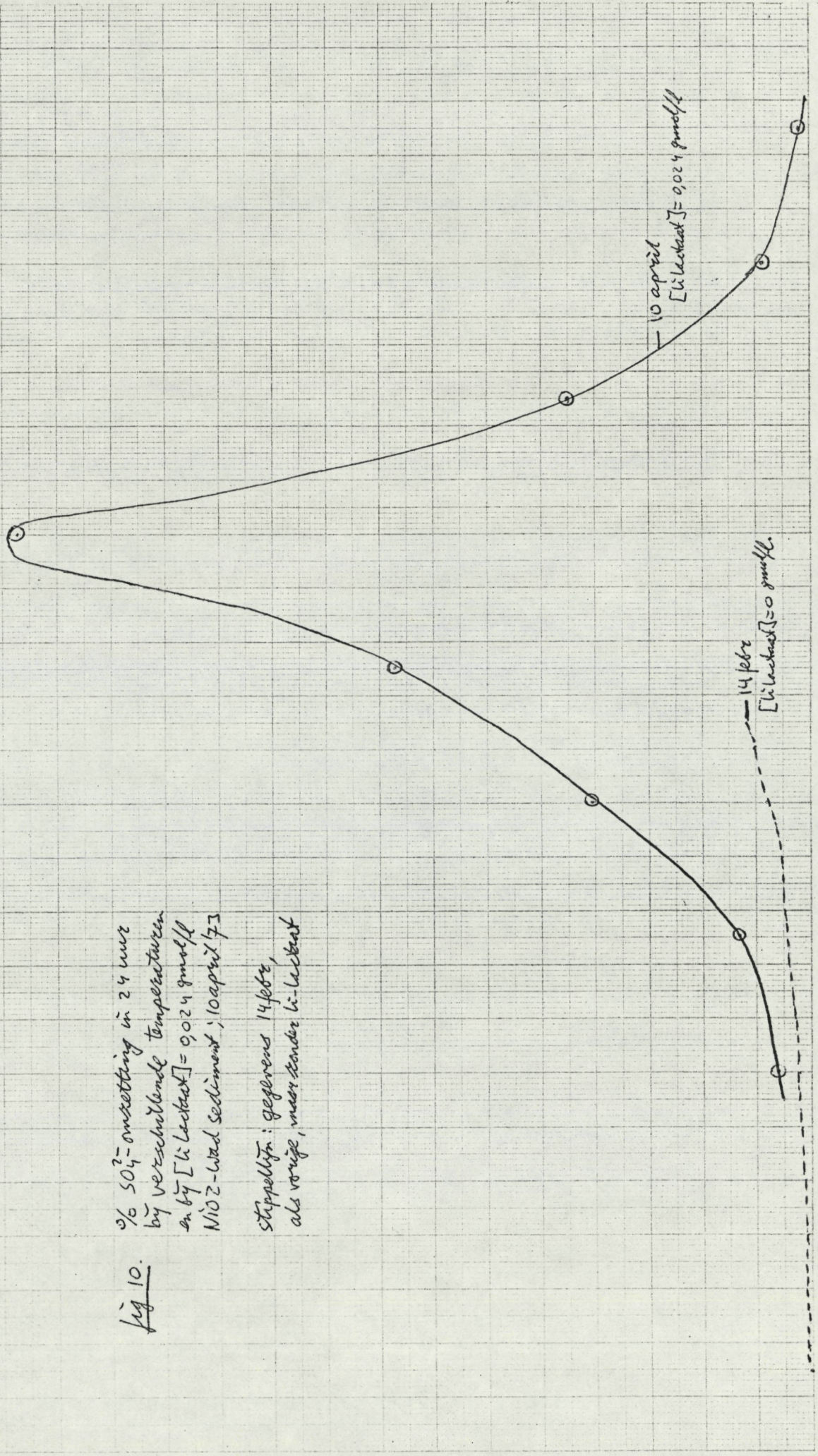


%  $SO_4^{2-}$ -omsætting  
per 24 uur.

↑ 7 6 5 4 3 2 1

Fig 10.  
%  $SO_4^{2-}$ -omsætting in 24 uur  
bij verschillende temperaturen  
in bij  $[Li\text{-lectaat}] = 0,024 \text{ g mol/l}$   
NiOZ-luad sediment, 10 april '73

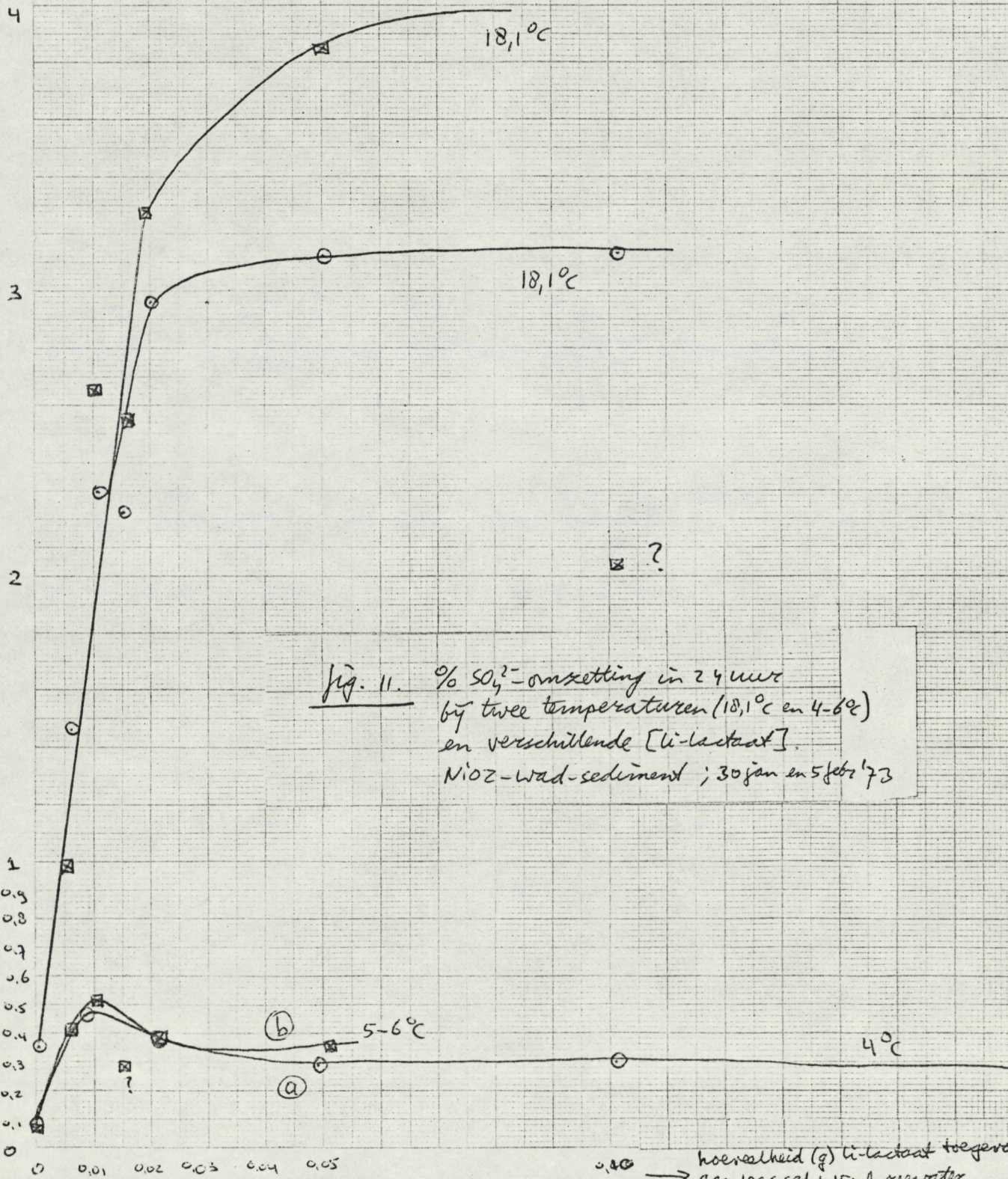
stoppelijn: gegevens 14 febr,  
als vorige, maar zonder Li-lectaat



-3 -1 0 1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41 43 45 47  
→ temp. (°C)

%  $SO_4^{2-}$ -omzetting per 24 uur

↑



diepte (cm)

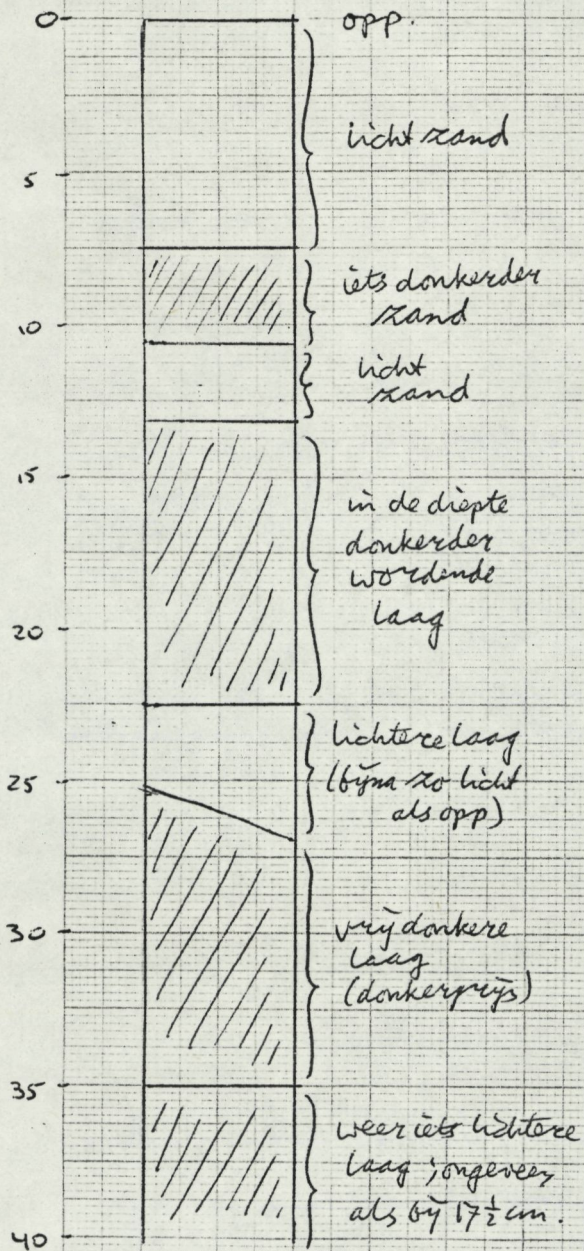
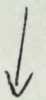
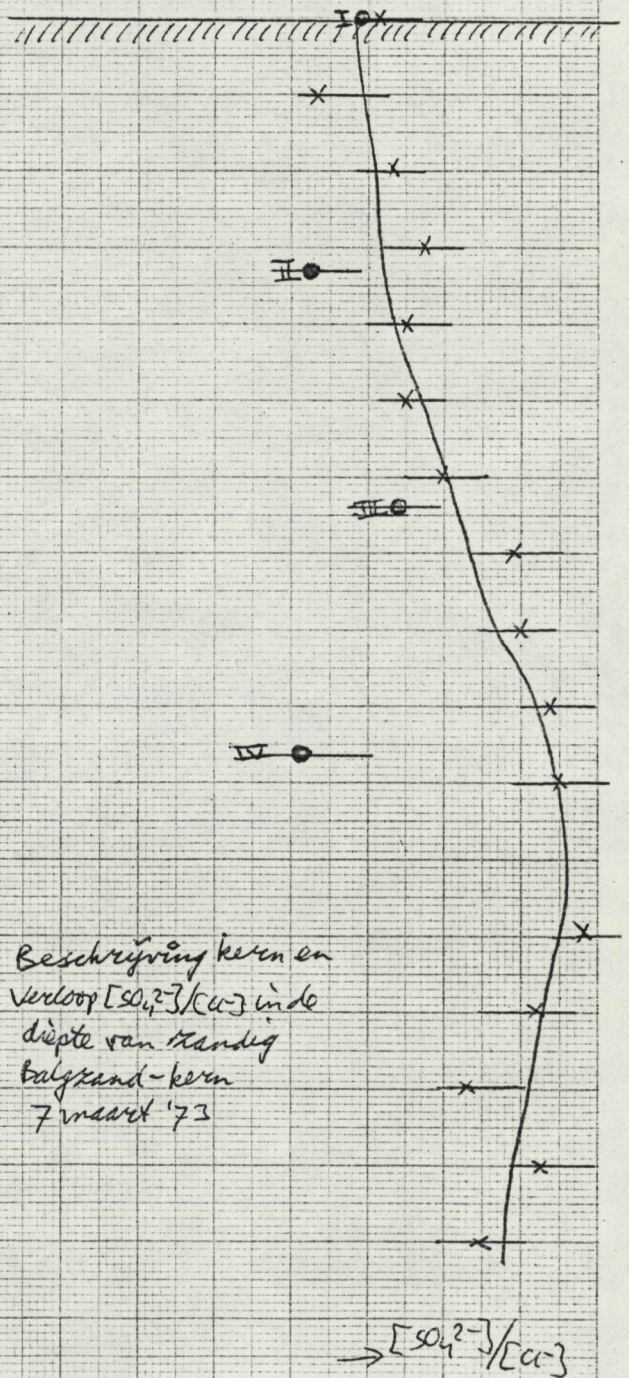


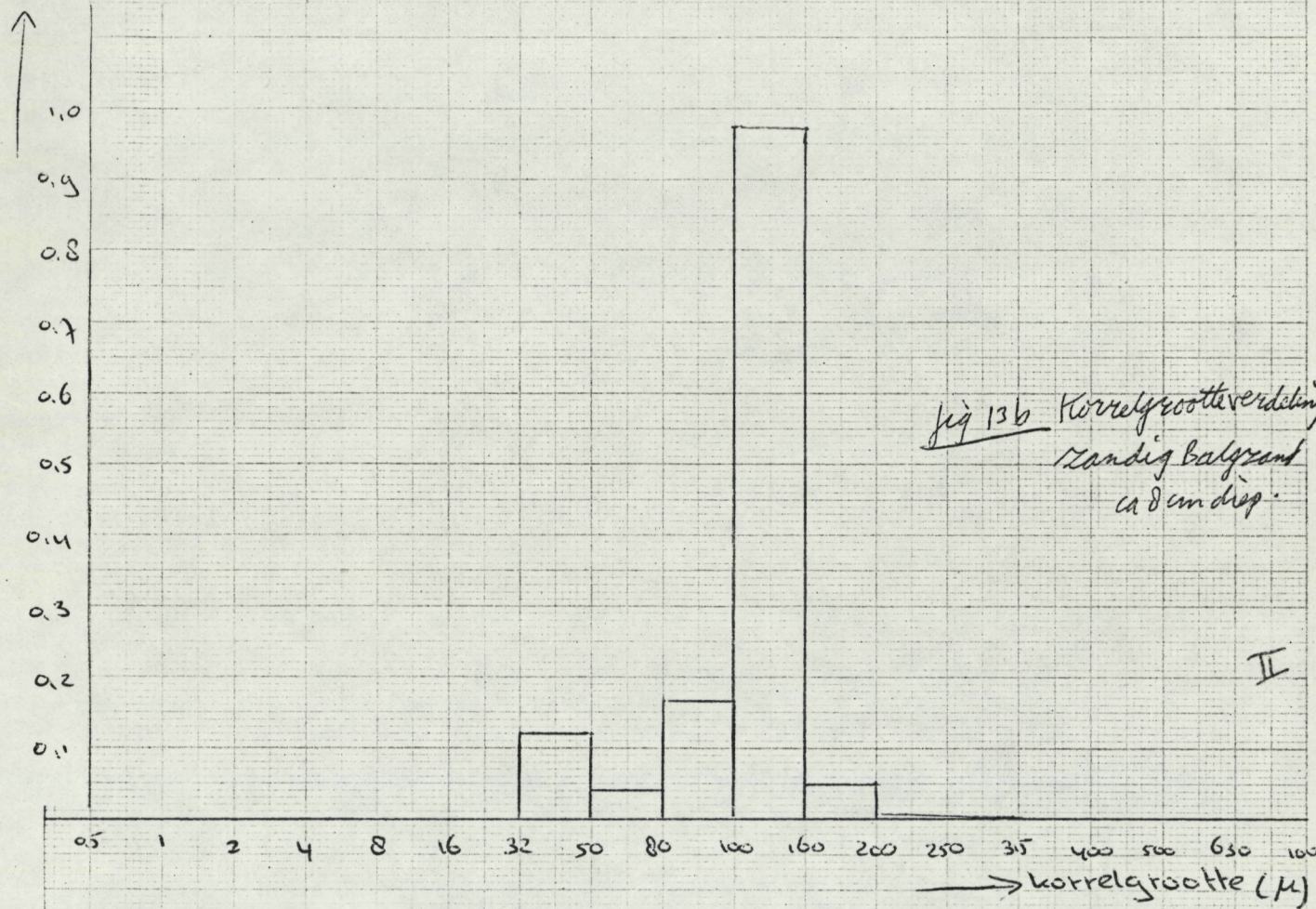
fig 12

Beschrijving kern en verloop  $[SO_4^{2-}]/[Ca]$  in de diepte van handig balgzand-kern 7 maart '73

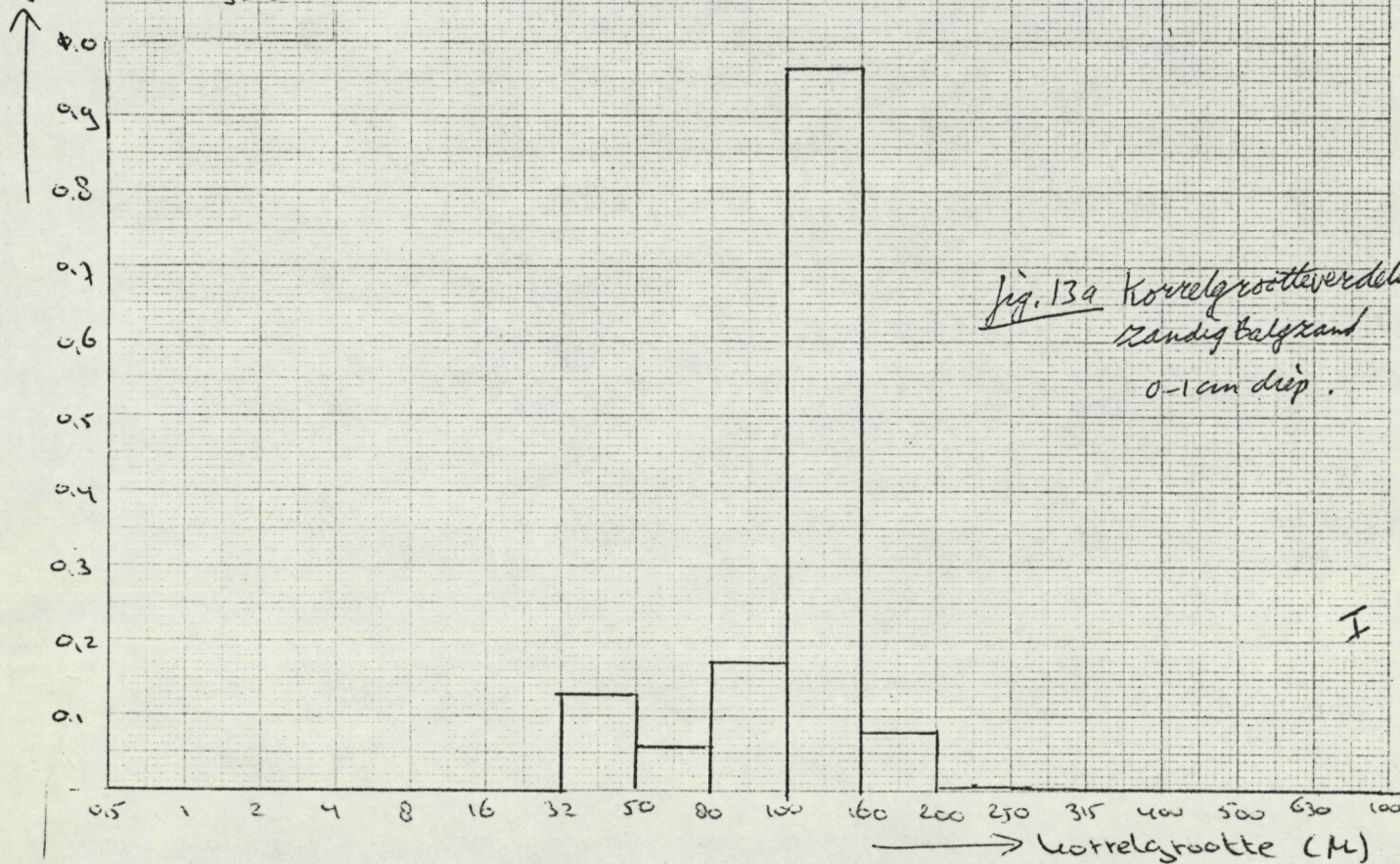


0.09 0.10 0.11 0.12 0.13 0.14 0.15 0.16 0.17 0.8

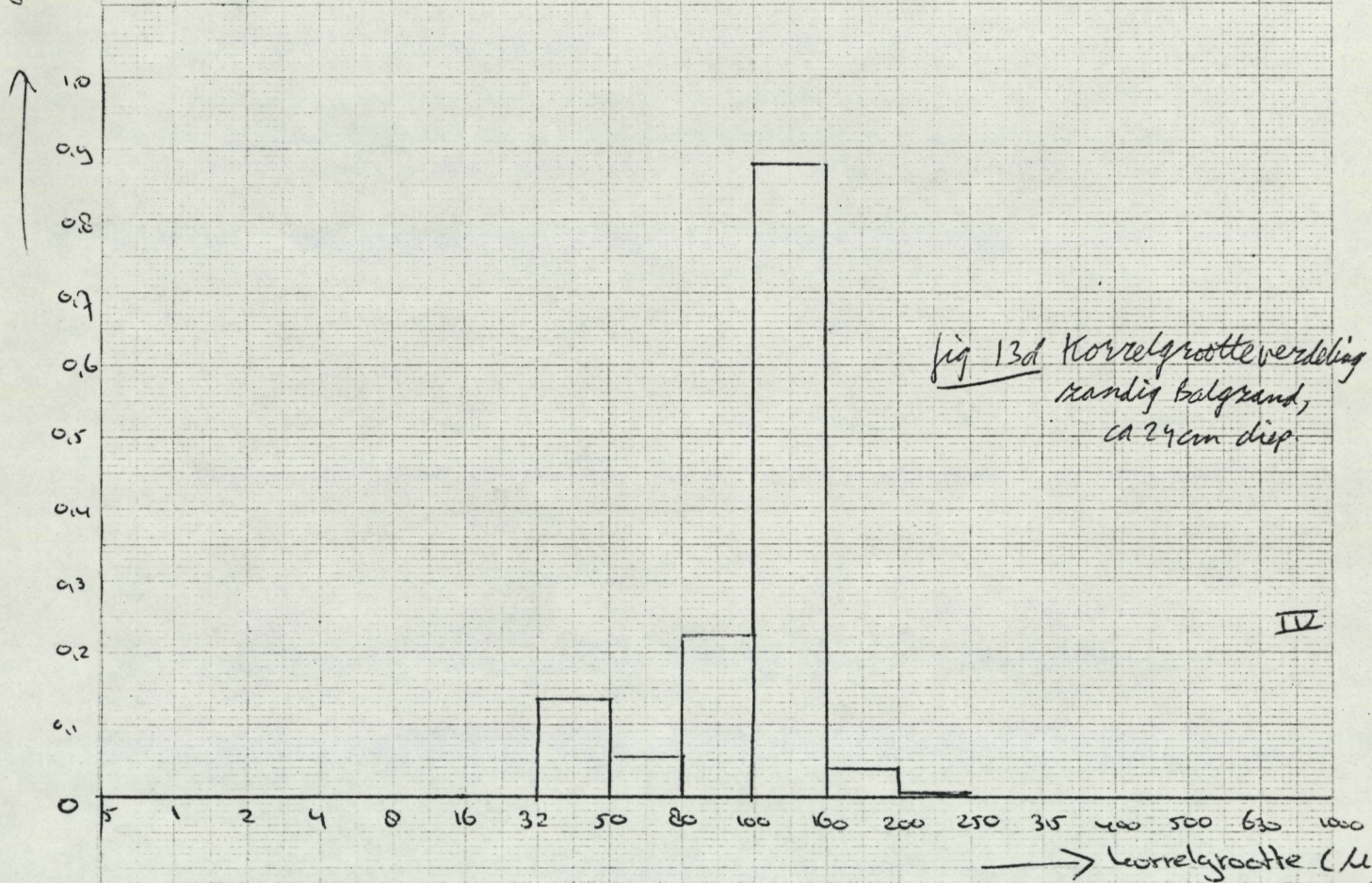
hoeveelheid (gr)  
per 1 cc (nat) sed.



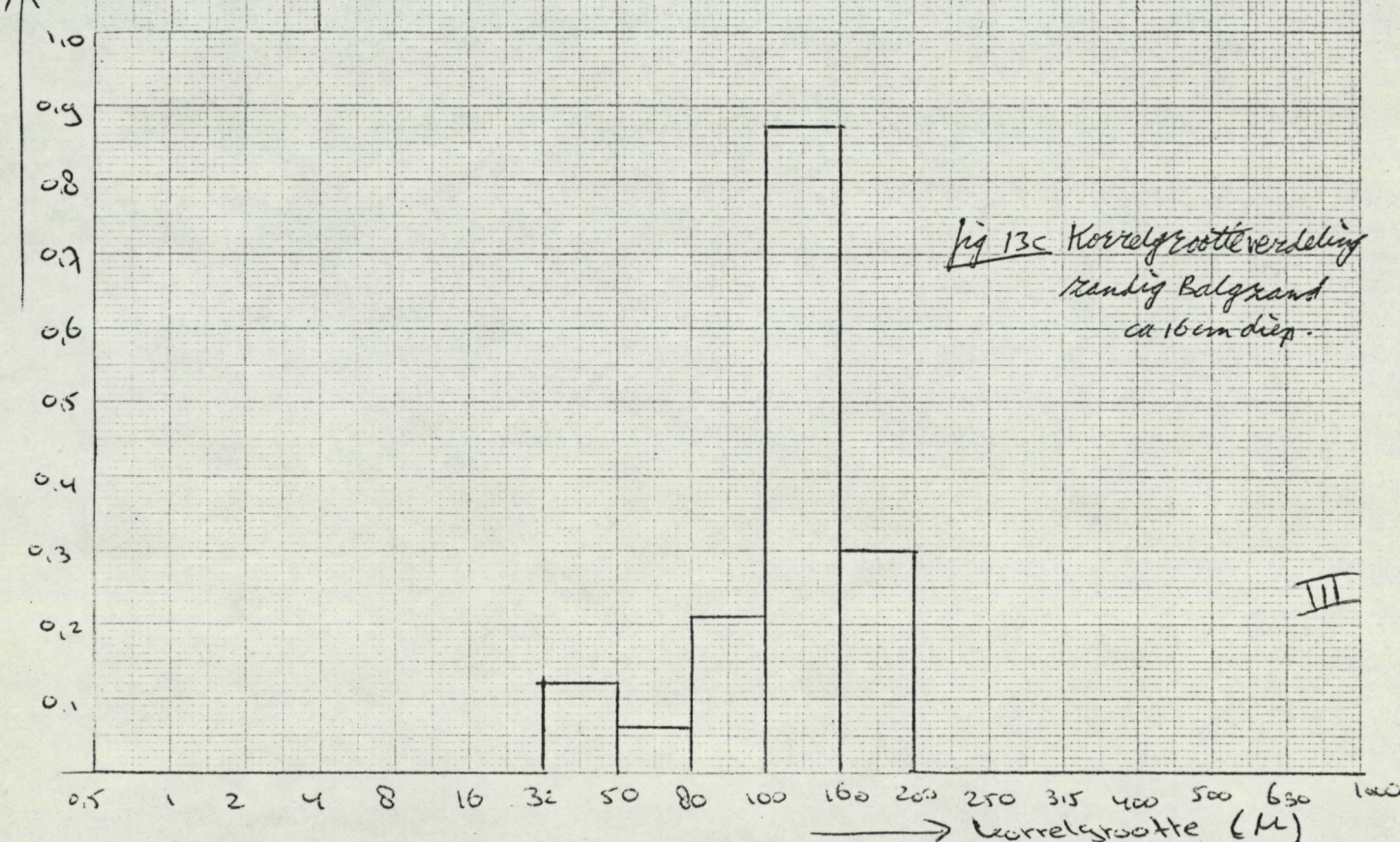
hoeveelheid (gr)  
per 1 cc (nat) sed.



hoeveelheid (gr)  
per 1cc (nat) sed



hoeveelheid (gr.)  
per 1cc (nat) sed.



diepte (cm)



0 lichtgruif  
lichtgruif  
5 iets donkerder  
weer donkerder  
10 lichter als opp.  
als 5cm diep.  
15 als 5cm diep  
als 7½cm diep  
20 donkerder  
nog donkerder  
25 zwart  
zwart  
30 zwart

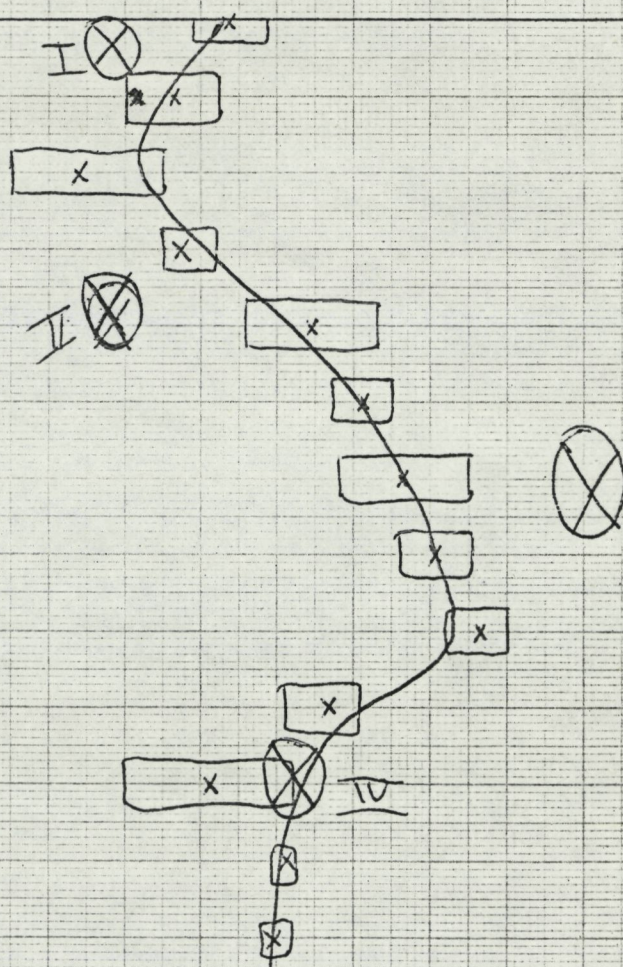


fig 14

Beschrijving kern en  
verloop  $[SO_4^{2-}]/[Ca^{2+}]$  met  
de diepte in een kleinge  
Balgrandkern, 29 maart '73.

35

40

0

0,05

0,10 0,11 0,12 0,13 0,14 0,15 0,16 0,17

hoeveelheid (gr)  
per 1cc (nat) sed.

↑

1.0  
0.9  
0.8  
0.7  
0.6  
0.5  
0.4  
0.3  
0.2  
0.1

0 0.5 1 2 4 8 16 32 50 80 100 160 200 250 315 400 500 630  
→ korrelgrootte (N)

Fig 15b Korrelgrootteverdeling  
klein Balgzand,  
ca 8 cm diep.

II

hoeveelheid (gr)  
per 1cc (nat) sed.

↑

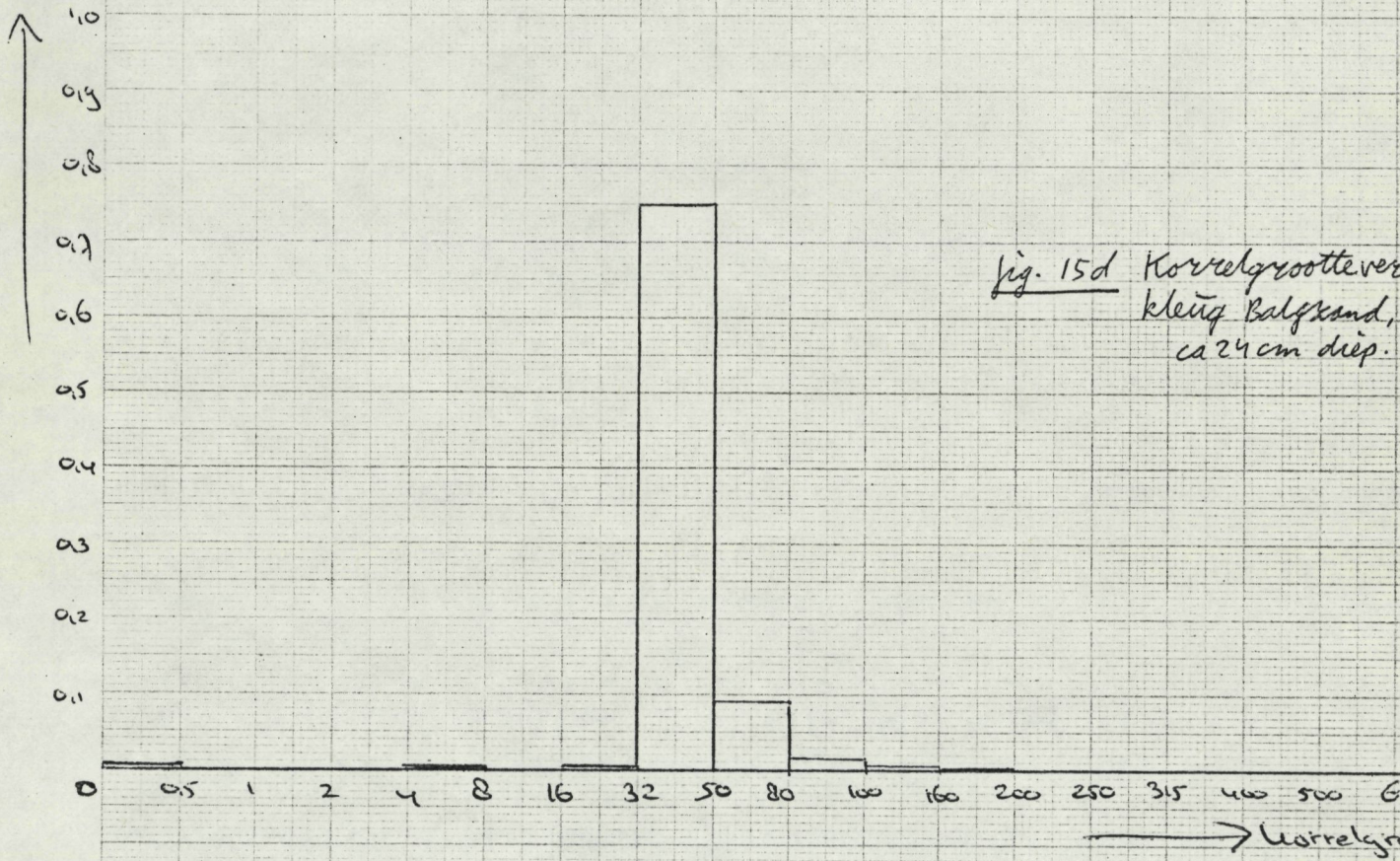
1.0  
0.9  
0.8  
0.7  
0.6  
0.5  
0.4  
0.3  
0.2  
0.1

0 0.5 1 2 4 8 16 32 50 80 100 160 200 250 315 400 500 630  
→ korrelgrootte (N)

Fig. 15a Korrelgrootteverdeling  
klein Balgzand,  
0-10cm diep

I

hoeveelheid (gr)  
per cc (nat) sed.



hoeveelheid (gr)  
per cc (nat) sed.

