

平成21年6月22日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19612003  
 研究課題名（和文） 水溶性天然ガス鉱床における微生物メタン生成のために利用される堆積有機物の解明  
 研究課題名（英文） Sedimentary organic matter used for microbial methane production in water-dissolved gas deposits  
 研究代表者  
 吉岡 秀佳（YOSHIOKA HIDEYOSHI）  
 独立行政法人産業技術総合研究所・地圏資源環境研究部門・研究員  
 研究者番号：30415765

研究成果の概要：水溶性天然ガス鉱床における微生物によるメタン生成プロセスに注目し、地下における微生物活動によってどのような堆積有機物が分解されメタン生成に利用されているのか解明する。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：地球システム変動

キーワード：天然ガス、地球化学、生物圏現象

## 1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、国内の水溶性天然ガス鉱床の地下環境における『現在』の微生物活動を評価する目的で、千葉県茂原市や、新潟県胎内市および東新潟のガス会社の坑井において汲み出されたかん水（古海水）とスラッジ（堆積物）を採取し、微生物学および地球化学的研究を行い次のような結果を得ている。（1）水溶性天然ガス鉱床から採取されたかん水中には、CO<sub>2</sub>還元経路のみならず、酢酸分解経路でメタンを生成する菌、メチル化合物を利用してメタンを作る菌等様々なメタン生成菌が含まれている（Mochimaru et al. 2007）。（2）スラッジとかん水を嫌気条件に保ち、地下温度条件で培養したところ、活発なメタン生成が起こる。（3）<sup>14</sup>Cでラベル化した基質（重炭酸ナトリウム、酢酸ナト

リウム、メタノール）を用いたトレーサー実験によって、千葉県茂原市のスラッジには、CO<sub>2</sub>還元経路のみならず、酢酸分解経路やメタノールを利用した経路によりメタン生成が起こっている。これらの結果は、天然ガス鉱床の分布する地下環境では、現在も微生物が存在し、メタン生成を行っている可能性を示唆している。

## 2. 研究の目的

水溶性天然ガス鉱床における地下環境では、現在も微生物がメタン生成を行っている可能性があることから、我々は、水溶性天然ガス鉱床のガス貯留地域において採取されたボーリングコア堆積物を用いて、（1）地下条件を模擬した培養実験を行い、微生物によ

るメタン生成が起こるのか調査し、メタンが生成した場合、堆積物 1g 当たりのメタン生成率（転換率）を評価する。(2) メタン生成に利用された物質を解明し、メタン生成ポテンシャルの要因を評価する。

### 3. 研究の方法

(1) 関東天然瓦斯開発株式会社により千葉県一宮町において掘削されたボーリングコア試料（更新世堆積物である上総層群大田代層から黄和田層；深度 247m から 607m）を用い、嫌気条件を保ったまま地下環境に近い温度条件で培養実験を行った。3 種類の深度（247m, 427m, 606m）と 2 種類の岩相（泥岩と砂岩；ただし、247m は泥岩のみ）を選んで培養実験を行った。コントロール実験として、それぞれの試料でメタン生成菌の阻害剤（bromoethanesulfonate）を入れた試料もセットした。各々のバイアルのヘッドスペースのガス成分をガスクロマトグラフ（GC）で適宜（初めの 1 ヶ月は 1 週間に 1 度、その後は 2 週間間隔で）測定し、メタン、水素、二酸化炭素の濃度をモニターした。培養実験は 1 年を目安に継続し、メタン生成が終息することが確認できるまで行った。生成したメタンの定量及び、メタンの炭素同位体比の測定を行った。比較のために、かん水の溶存無機炭素量および有機炭素量の定量、堆積有機物の炭素の定量及び、炭素同位体比の測定も行った。定量的な見積りによって、メタンの炭素の元となった物質を推定し、堆積物 1g 当たりのメタンへの転換率を評価する。

(2) 培養実験前後の堆積有機物の分析  
微生物に利用された有機物成分を推定するために、培養実験前後のスラッジおよびコア堆積物に含まれる有機物を分析した。試料は、メタン生成活動が観察された千葉県茂原市と新潟県胎内市および東新潟の水溶性天然ガス田のスラッジ（6 試料）と千葉県一宮町のボーリングコア試料（4 試料）の計 10 個。有機溶媒で抽出できる成分は、ジクロロメタン/メタノール等の有機溶媒を用いたソックスレー抽出法によって脂質成分を抽出し、中性画分と酸性画分を分画し、さらに、シリカゲルクロマトグラフィーによって極性毎に分画した後、適宜誘導体化してから GC とガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いて定性および定量分析を行った。不溶性のケロジェンについては、ロックエバル分析によって元素組成とケロジェンタイプを分析した。培養実験前後の分析結果を比較することによって各成分の変化を評価する。

### 4. 研究成果

#### (1) コア試料を用いた培養実験

千葉県一宮町において採取されたボーリングコア試料を用いて、嫌気条件を保ったまま地下環境に近い温度条件で培養実験を行った。その結果、培養開始直後メタンは生成されなかったが、実験開始してから 100 日経過した後、606m の泥岩を培養した試料から活発なメタン生成が起った（図 1）。その他、247m の泥岩、427m の泥岩と砂岩のそれぞれの培養サンプルから 190 日から 270 日の停滞期を経て活発なメタン生成が起ることを発見した。阻害剤を入れたコントロール実験ではメタン生成が観察されなかったことから、これらの現象はメタン生成菌による活動であると考えられる。生成されたメタンの炭素の元の物質を推定するために、かん水中の溶存無機炭素量、有機炭素量、それから堆積有機物の炭素量を測定した結果、堆積有機物炭素が、培養後に減少していることが分かった（図 2）。生成したメタンの炭素量は、堆積有機物炭素量の約 6 から 20% 近くに相当する。これらの値は、これまで千葉や新潟のガス会社の坑井で採取されたスラッジ堆積物を用いた培養実験において観察されたメ

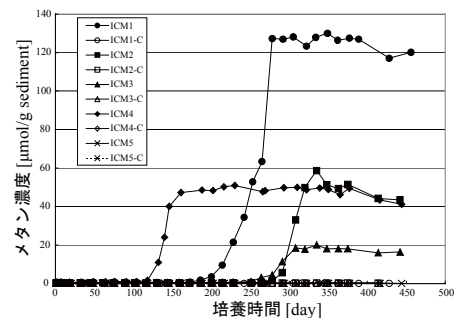


図 1 コア堆積物の培養実験によって生成したメタン濃度の変化

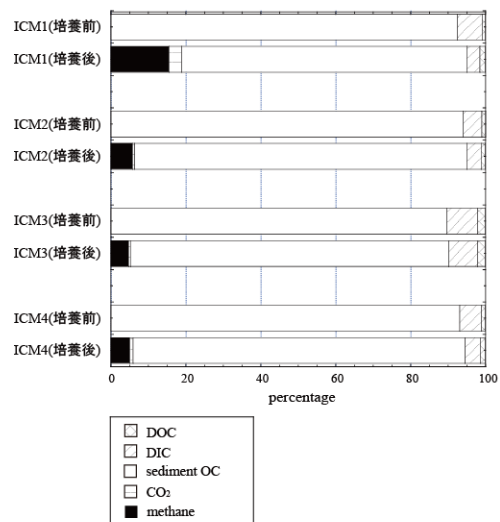


図 2 コア試料の培養実験前後の炭素収支

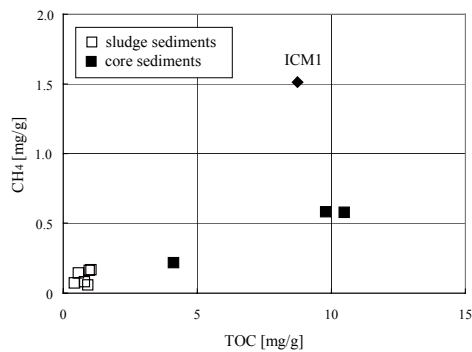


図3 生成メタン量と堆積有機物濃度の関係

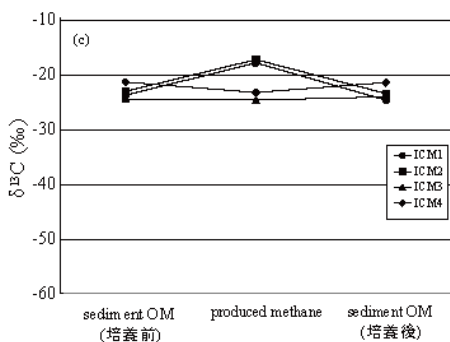


図4 生成したメタンの炭素同位体比と培養実験前後の堆積有機炭素の炭素同位体比

タン転換率と同程度である(図3)。生成したメタンの炭素同位体比を分析したところ、通常ガス田で採取されたメタンガスの炭素同位体比(-60~-70‰; Igari and Sakata, 1989, 金子ら, 2002)と全く異なる値(-25~-17‰)を示し、スラッジやコア試料の堆積有機物の炭素同位体比(-21~-24‰)に近い値を示したことから(図4)、微生物によるメタン生成の際に、急速に堆積有機物を分解したために炭素同位体の分別効果が小さくなったと解釈される。観察された活発なメタン生成は、地下で実際に起こっている可能性は小さいが、地下の微生物が現地において生成することのできるメタンのポテンシャル量と考えることができる。

(2) 培養実験前後の堆積有機物成分の変化千葉県茂原市と新潟県胎内市と東新潟の水溶性天然ガス田のスラッジ堆積物と千葉県一宮町のボーリングコア堆積物試料について、メタン生成が起こった培養実験の前後の堆積物試料に含まれる脂質成分とケロジェン成分を調べた。脂質成分は、脂肪酸炭化水素、芳香族炭化水素、アルコール、脂肪酸を測定した。培養前の試料には、主に、*n*-アルカン(炭素数14-35)、ペリレン、*n*-アルコー

ル(炭素数12-32)、直鎖脂肪酸(炭素数16-32)、不飽和脂肪酸、ヒドロキシ脂肪酸等が含まれていた。それらの成分は、スラッジ堆積物を培養した場合には実験後に増加し、コア堆積物を培養した場合には培養後にやや減少していたが、生成したメタンの量を説明できる成分量の変化は認められなかった(図5, 6, 7)、培養前後のケロジェン組成の変化を調べるためにロックエバル分析を行った結果、スラッジ堆積物およびコア堆積物に含まれているケロジェンは、高等植物由来のタイプIIIに分類され、培養後に酸素インデックス(OI)や水素インデックス(HI)が減少することが分かった(図8)。以上の結果から、メタン生成に利用された堆積有機物は、*n*-アルカン、アルケン、芳香族炭化水素、脂肪酸等の脂質成分ではなく、不溶性の巨大有機分子、ケロジェンであると結論した。堆積物中のバクテリ

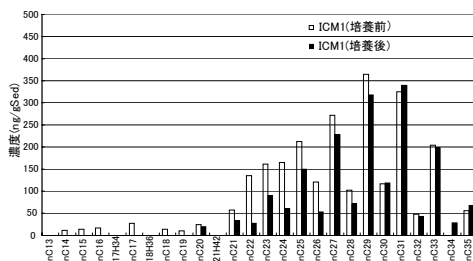


図5 コア堆積物の培養実験前後の *n*-アルカンの濃度

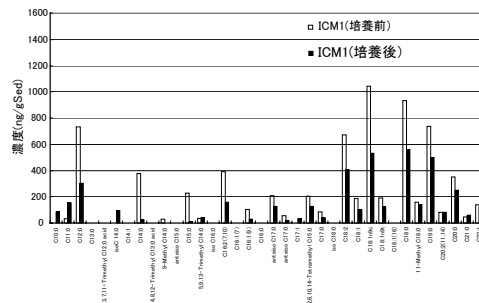


図6 コア堆積物の培養実験前後の脂肪酸の濃度

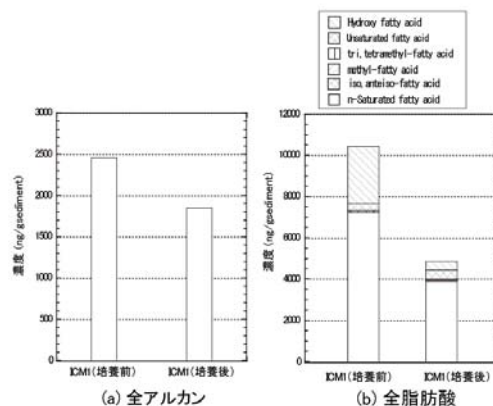


図7 コア堆積物の培養実験前後のアルカン、脂肪酸の全濃度

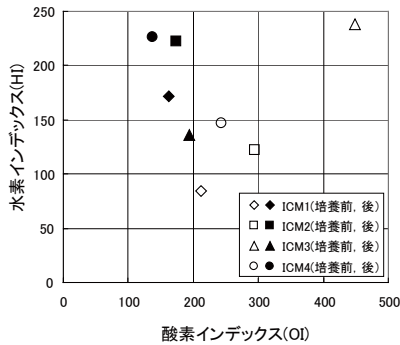


図8 培養実験によって変化したケロジェン組成

アの働きによってケロジェンが分解され、その結果、CO<sub>2</sub>や酢酸が作られメタン生成菌に利用されたと考えられる。このようなケロジェン分解-メタン生成経路は、これまで、湖沼や水田などの表層環境において考えられていた多糖類やタンパク質が分解されてメタンが出来る経路 (Zinder, 1993) とは、全く異なる分解経路であり、地下圏における物質循環を考える上で重要な発見である。メタン生成ポテンシャルの違いは、浅い深度の試料 (247m) が最も大きいメタン転換率を示したことから (図3)、埋没による続成作用と関連していると考えられる。

#### 参考文献

- Igari, S., and Sakata, S. (1989) Origin of natural gas of dissolved-in-water type in Japan inferred from chemical and isotopic compositions: Occurrence of dissolved gas of thermogenic origin. *Geochemical Journal* 23, 139-142.
- 金子信行, 前川竜男, 猪狩俊一郎 (2002) アークアによるメタンの生成と間隙水への濃集機構. *石油技術協会誌* 67, 97-110.
- Mochimaru H., Uchiyama H., Yoshioka H., Imachi H., Hoaki T., Tamaki H., Nakamura K., Sekiguchi Y., Kamagata Y. (2007) Methanogen diversity in deep subsurface gas-associated water at the Minami-kanto gas field in Japan. *Geomicrobiology Journal* 24: 93-100.
- Zinder S. H. (1993) Physiological ecology of methanogens. *Methanogenesis. Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics* (Ferry, J. G., ed), 128-206, Chapman & Hall.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 吉岡秀佳, 持丸華子, 坂田将, 鎌形洋一, 武田洋, 吉田聡, 「水溶性天然ガス田のコア堆積物の微生物によるメタン生成について」, 石油技術協会春季講演会, 新潟, 2008
- ② 吉岡秀佳, 持丸華子, 武田洋, 吉田聡, 坂田将, 鎌形洋一, 「水溶性天然ガス田のかん水沈殿物の微生物によるメタン生成について」, 石油技術協会春季講演会, 代々木, 2007
- ③ 吉岡秀佳, 持丸華子, 坂田将, 天石文, 帆秋利洋, 「水溶性ガス田のかん水沈殿物およびコア堆積物の微生物によるメタン生成について」, 日本地球化学会, 岡山, 2007

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

#### 研究組織

##### (1) 研究代表者

吉岡 秀佳 (YOSHIOKA HIDEYOSHI)  
産業技術総合研究所・地圏資源環境研究部門・研究員  
研究者番号: 30415765

##### (2) 研究分担者

坂田 将 (SAKATA SUSUMU)  
産業技術総合研究所・地圏資源環境研究部門・研究グループ長  
研究者番号: 70357101

##### (3) 連携研究者

なし