

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年6月8日現在

機関番号：14401
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23651015
 研究課題名（和文）
 深海底堆積物環境におけるC1化合物分布とその微生物地球化学的循環の解明
 研究課題名（英文）
 Geochemical and geomicrobiological cycle of C1 compounds in deep-sea sediments
 研究代表者
 谷 篤史 (TANI ATSUSHI)
 大阪大学・大学院理学研究科・助教
 研究者番号：10335333

研究成果の概要（和文）：

炭素1つからなる低分子有機化合物（C1化合物）に基づいて活動する海底下微生物圏を総合的に理解するための第一歩として、既に研究が進んでいるメタンや二酸化炭素を除く、メタノールとホルムアルデヒド、アセトンに着目し、深層の嫌気環境におけるそれらの分布（これらの濃度は深くなるにつれて増加する）を明らかにした。また、メタノールは同堆積物に含まれる微生物により代謝され、二酸化炭素となることが明らかとなった。こうしたC1化合物に依存した微生物圏の存在が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Biogeochemical cycle of C1 compounds in deep-sea sedimentary environment has been investigated through porewater geochemistry and microbial activity measurements. Porewater concentrations of methanol, formaldehyde, and acetone gradually increase with sediment depth in the eastern margin of Japan Sea. In vitro microbial activity shows high rate of methanol oxidation to CO₂ under anaerobic condition. These results suggest that microbial population significantly contributes C1 compound cycling in deep-sea subsurface sediment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：地球惑星物理化学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：環境分析，深海環境，地球化学，炭素代謝，モノカーボン（C1）化合物

1. 研究開始当初の背景

嫌気環境の有機物分解過程で生成する低分子有機化合物は、微生物活動を間接的に示すことから、地下微生物圏の実態に迫る鍵になると期待されている。なかでも、メタンや二酸化炭素、酢酸などを対象とした研究が世界的に進められている。また、マイナーと考えられているその他の低分子有機化合物に関しても、例えばメタノールの炭素資源化、環境からのホルムアルデヒド除去という応用や利用という観点から、陸上土壌環境における研究が盛んになってきている。特にモノ

カーボン（C1）化合物を酸化して活動するメチロトローフと呼ばれる微生物に関する研究が活発に行われており、その酸化メカニズムについても研究が進んでいる。しかし、深海底堆積物環境では、メタノールなどC1化合物に注目した微生物学的研究はおろか、それらの濃度分布すらも明らかになっていない。

研究代表者は、自然放射線によりメタンハイドレートに生成する微量メタノールやホルムアルデヒドの定量評価を行う研究を進めてきた。2010年の日本海ガスハイドレート

調査で入手した深海底堆積物の間隙水の分析を進めたところ、間隙水に微量のメタノールやホルムアルデヒドが含まれているという予察的な結果が得られ、その生成や消費メカニズムに大変興味を持った。その解明には環境中の低分子有機化合物の系統的な測定と微生物活動の評価、双方からの解釈が必須であると考え、研究をスタートさせた。

2. 研究の目的

C 1 化合物を中心とした低分子有機化合物に基づいて活動する地下微生物圏を総合的に理解するための第一歩として、既に研究が進んでいるメタンや二酸化炭素を除く、メタノールとホルムアルデヒド、アセトンに着目し、(1) これらC 1 化合物の深海底堆積物環境中での分布を明らかにすること、ならびに(2) その環境におけるC 1 化合物(主にメタノール)を基質とする微生物候補の検討を行い、その微生物生態学的意義、ならびに地球化学的循環を明らかにすることを研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1)計測試料

MH21(メタンハイドレート資源開発研究コンソーシアム)のサポートにより2010年に日本海ガスハイドレート調査が実施され、計測対象となる深海底堆積物および間隙水を採取した。新潟県上越沖の海鷹海脚や上越海丘を中心に調査が行われ、Marion Dufresne号により長尺のピストンコア試料を採取した。この調査船では長いピストンコア試料の採取が可能で、この航海でも30mを超えるコア試料が回収された。

ピストンコア試料を船上で1.5mごとのセクションに分割し、そのセクション断面から微生物分析用の堆積物試料を採取した。試料をバイアル瓶に入れ、ヘッドスペースをアルゴンガスでパージすることで嫌気状態とし、冷蔵保存した。

間隙水試料は各セクションから2~4個採取した。堆積物を油圧式スクイザーにより搾り、0.2 μ mのフィルターを通して、間隙水試料を採取した。これをガラスバイアル瓶に分取した後、冷凍で保存した。長短19本のコアから500を超える間隙水試料を得た。

(2)分析方法

冷凍状態で輸送・保存していた間隙水試料を研究室で解凍した後、そのバイアル瓶のヘッドスペースをガスクロマトグラフ質量分析(GC-MS)にて分析した。分析時の加熱などの設定条件については、これまでの研究室での予備実験に基づいて設定した。この分析から、間隙水に含まれるメタノールとアセトンの評価を行った。その後、同試料の1mlを別のバイアル瓶に採取し、これに誘導体であ

るペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン(PFBOA)塩酸塩溶液を添加、誘導化された気体をGC-MSで分析することで、ホルムアルデヒドの評価を行った。

堆積物中の微生物によるメタノール消費活性を調べるため、放射性同位体でラベルした¹⁴Cメタノールを用いて培養実験を行った。堆積物試料と人工海水、¹⁴Cメタノールを嫌気雰囲気内でバイアル瓶に密栓し、4 $^{\circ}$ Cで50日間培養した。ヘッドスペースガスを分析し、¹⁴Cメタンと¹⁴CO₂の生成を評価した。

(3)研究実施体制

本研究は、環境中のC 1 化合物の分布と、その環境におけるC 1 化合物を基質とする微生物活動の2本柱となっている。それぞれ必要とされる知識や技術、実験環境が異なるため、各分野のエキスパートが2つの研究課題を分担し、研究実施体制を作った。

環境中のC 1 化合物の分析では、研究代表者の谷と研究分担者の八久保を中心に研究を行った。また、樋口と山本の二人に研究協力者として参画してもらい、分析手法の改善や間隙水試料の採取・分析を共に行った。

微生物の活性測定では、研究分担者の柳川・鈴木を中心に研究を行った。両者はともに日本海におけるメタン生成・嫌氣的メタン酸化古細菌を対象に研究を進めている専門家である。放射性・安定同位体を用いた実験経験が豊富で、C1化合物利用微生物の検出に適した技術を有している。

4. 研究成果

(1)深海底堆積物におけるC 1 化合物分布

19本のコア試料のうち短いコアから採取した間隙水試料では、メタノールやホルムアルデヒド、アセトンはほとんど検出されなかった。よって、ここでは長いコアから採取した試料について紹介する。

メタノールとホルムアルデヒド、アセトンの間隙水中の濃度はよく似た深度プロファイルを示し、ある深度(例えば10m)より深くなると深度とともに徐々に濃度が増加する傾向が見られた(図1)。より詳細に見ていくと、メタノールは海底面直下では検出限界以下であったが、深度が深くなるに従って増加し、海底面から30m付近で10-20 μ mol/lの濃度となった。ホルムアルデヒドは海底面直下にも存在し、深度とともに若干減少し、その後増加、海底面から30m付近で1-2 μ mol/lの濃度となった。アセトンは海底面直下にも存在し、深度とともに増加、海底面から30m付近で2-6 μ mol/lの濃度となった。また、いずれも濃度が急に増加する「屈曲点」が見られたが、その深度はSMI(硫酸塩-メタン境界)深度や他の地球化学指標との関連性がなく、また層序との関連性も見られなかった。

採取された場所による違いを検討した。海鷹海脚近辺で採取された MD179-3299 (海鷹海脚東部), 3301 (海鷹海脚東部), 3304 (海鷹海脚頂部), 3313 (海鷹海脚と上越海丘の間) の間隙水試料は比較的高濃度な低分子有機化合物を含んでいるが、海底溪谷の ND179-3308 やリファレンスサイト試料として採取した MD179-3312 (海鷹海脚の東にある盛り上がり) の間隙水試料ではその量が少なかった。海鷹海脚や上越海丘では下部からメタンがしみ出していることを考えると、今回の実験結果は、地下深部において生成された低分子有機化合物がメタンと一緒に拡散してきている可能性を示しているのかもしれない。

その一方で「屈曲点」の存在は、深度プロファイルが単なる拡散によるものでなく、深度 0-40m という現場での生成・消費活動を示唆しており、何らかの微生物活動との関連性が伺える。よって、深海底堆積物環境中での C1 化合物の分布からは、地下深部からの拡散と微生物による現場での生成・消費活動の両方が示唆された。

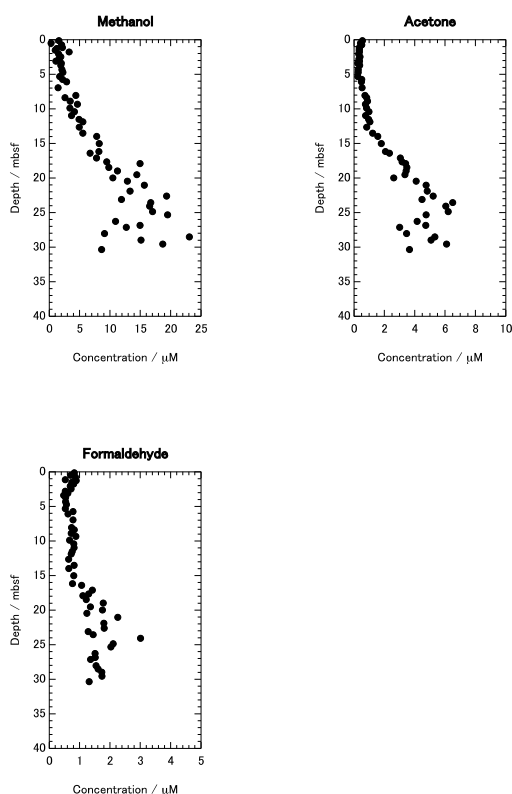


図 1. 海鷹海脚東部 (MD179-3301) から採取した間隙水に含まれるメタノール、アセトン、ホルムアルデヒドの濃度プロファイル。

(2)メタノールを基質とする微生物活動
¹⁴C メタノールを用いた消費活性培養実験

の結果、メタノールは二酸化炭素に変換されていることがわかった。その消費活性と間隙水中のメタノール濃度から、堆積物浅部でのメタノールの供給・消費速度が比較的早く、数ヶ月単位でメタノールが入れ替わると推定された。メタノールの供給には、地下深部からの拡散と微生物による現場での生成のどちらか（もしくは両方）の可能性があり、今後明らかにすべき課題と考えている。

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 3 件)

- ① 柳川勝紀, 松本良, 鈴木庸平 (2012) メタン循環に関わる海底下生命圏. 石油技術協会誌, 77, 374-383. (査読有)
- ② N. Yamamoto, T. Higuchi, A. Tani, K. Yanagawa, H. Tomaru, R. Matsumoto, Y. Muramatsu (2011) Trace analysis of methanol and formaldehyde in pore water of deep-sea sediments from eastern margin of the Sea of Japan. Proceedings of the 7th International Conference on Gas Hydrates, #443 (巻号なし). (査読無)
- ③ A. Tani, T. Higuchi, N. Yamamoto, T. Murayama (2011) Water-soluble organic compounds formed by radiation in methane and ethane hydrates. Proceedings of the 7th International Conference on Gas Hydrates, #364 (巻号なし). (査読無)

〔学会発表〕(計 10 件)

- ① 谷篤史, 樋口拓弥. メタン・エタンハイドレートにおける放射線によるアルコール・アルデヒドの生成効率. 日本地球惑星科学連合 2012 年度連合大会, 2012/5/21, 幕張メッセ 国際会議場 (千葉).
- ② 山本直弥, 谷篤史, 柳川勝紀, 戸丸仁, 村松康行, 松本良. 日本海東縁における深海底堆積物の間隙水に含まれるホルムアルデヒドの深度分布. 日本地球惑星科学連合 2012 年度連合大会, 2012/5/21, 幕張メッセ 国際会議場 (千葉).
- ③ 山本直弥, 谷篤史, 柳川勝紀, 戸丸仁, 松本良, 村松康行. 海底堆積物の間隙水に含まれる揮発性低分子有機化合物の分析. 第 3 回メタンハイドレート総合シンポジウム (CSMH3), 2011/12/1, 産業技術総合研究所 臨海副都心センター (東京).
- ④ 樋口拓弥, 谷篤史. γ 線照射により天然ガスハイドレートに生成する化合物の

生成効率. 第3回メタンハイドレート総合シンポジウム (CSMH3), 2011/11/30, 産業技術総合研究所 臨海副都心センター (東京).

- ⑤ N. Yamamoto, T. Higuchi, A. Tani, K. Yanagawa, H. Tomaru, R. Matsumoto, Y. Muramatsu. Trace analysis of methanol and formaldehyde in pore water of deep-sea sediments from eastern margin of the Sea of Japan. 7th International Conference on Gas Hydrates (ICGH7), 2011/7/18, Edinburgh International Conference Centre (Edinburgh, Scotland).
- ⑥ A. Tani, T. Higuchi, N. Yamamoto, T. Murayama. Water-soluble organic compounds formed by radiation in methane and ethane hydrates. 7th International Conference on Gas Hydrates (ICGH7), 2011/7/18, Edinburgh International Conference Centre (Edinburgh, Scotland).
- ⑦ 山本直弥, 樋口拓弥, 谷篤史, 柳川勝紀, 戸丸仁, 村松康行, 松本良. 海底堆積物の間隙水に含まれる微量揮発性有機化合物の分析. 日本地球惑星科学連合 2011 年度連合大会, 2011/5/22, 幕張メッセ 国際会議場 (千葉).
- ⑧ 谷篤史, 山本直弥, 樋口拓弥, Hailong Lu, 八久保晶弘, 松本良. 天然ガスハイドレートの分解水に含まれる微量揮発性有機化合物の分析. 日本地球惑星科学連合 2011 年度連合大会, 2011/5/22, 幕張メッセ 国際会議場 (千葉).
- ⑨ 樋口拓弥, 谷篤史. メタンハイドレートにおける γ 線による揮発性有機化合物の生成効率の検討. 日本地球惑星科学連合 2011 年度連合大会, 2011/5/22, 幕張メッセ 国際会議場 (千葉).
- ⑩ 山本直弥, 樋口拓弥, 谷篤史. 水に含まれる低分子揮発性有機化合物分析法の検討. 日本地球惑星科学連合 2011 年度連合大会, 2011/5/22, 幕張メッセ 国際会議場 (千葉).

[その他]

ホームページ等

<http://discovery.ess.sci.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷 篤史 (TANI ATSUSHI)

大阪大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号: 10335333

(2) 研究分担者

柳川 勝紀 (YANAGAWA KATSUNORI)

東京大学・大学院理学系研究科・研究員
研究者番号: 50599678

鈴木 庸平 (SUZUKI YOUHEI)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授
研究者番号: 00359168

八久保 晶弘 (HACHIKUBO AKIHIRO)

北見工業大学・工学部・准教授

研究者番号: 50312450

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

樋口 拓弥 (HIGUCHI TAKUYA)

大阪大学・大学院理学研究科

博士前期課程

山本 直弥 (YAMAMOTO NAOYA)

大阪大学・大学院理学研究科

博士前期課程