

メタンハイドレートの成因及びバイオマーカーによる メタンガス漏洩検知に関する微生物学的研究

－経済産業省MH21プロジェクトでの取り組み－

天石 文^{*1}・帆秋 利洋^{*1}

Keywords : MH21 project, methane hydrate, Nankai-Trough, methanogenic archaeon, methane oxidizing bacteria

MH21プロジェクト, メタンハイドレート, 南海トラフ, メタン生成菌, メタン酸化細菌

1. はじめに

南海トラフをはじめとした日本近海の深海底に賦存するメタンハイドレートが、我が国における次世代エネルギー資源として注目されている(図-1)。その量はおよそ 7.4 兆 m^3 と試算されており、これは我が国における天然ガス消費量の約 100 年分に相当すると推定されている¹⁾。メタンハイドレートとは、水深 500m 以上の海底の下の地層中に、低温・高圧下の条件でメタンガスの分子が水分子中に閉じ込められた白い氷状の結晶物をさす²⁾。なお、メタンハイドレート固体の $1m^3$ 分は、分解して気化すると約 $155m^3$ のメタンガスに相当する¹⁾。

2001 年度、経済産業省は「我が国におけるメタンハイドレート開発計画」を発表し、この計画推進のため、(独)石油天然ガス・金属鉱物資源機構(JOGMEC)、

(独)産業技術総合研究所(AIST)、(財)エンジニアリング振興協会(ENAA)を核とした「メタンハイドレート資源開発研究コンソーシアム(MH21)」が結成された。このコンソーシアムは以下の三分野から構成されている(図-2)。

- 1) 資源量評価分野(代表機関:JOGMEC): メタンハイドレートの分布や存在状況を調査し資源量の確認を行う。
- 2) 生産手法開発分野(代表機関:AIST): メタンハイドレートからメタンガスを効率よく生産するための手法の検討を行う。
- 3) 環境影響評価分野(代表機関:ENAA): メタンハイドレート開発に伴う環境への影響について検討する。

我々は、資源量評価分野の中の「メタンの生成集積に関する微生物学的研究」(メタンの成因解明研究)と、環境影響評価分野の中の「モニタリング技術: 間接検出法」を、それぞれ受託して研究開発に取り組んでい



図-1 日本近海におけるメタンハイドレートの賦存場所
Distribution of Methane Hydrate in the Deep Sea Sediments Surrounding Japan

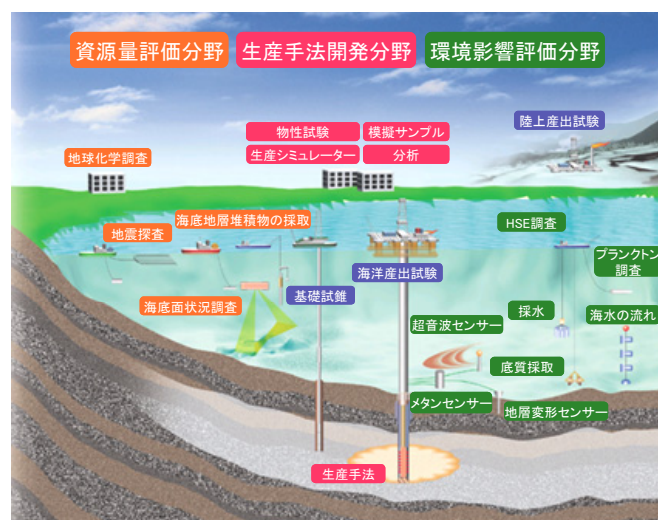


図-2 MH21 の研究開発体制と概要
Schematic Diagram and Concept of National Research Program MH21

* 1 技術センター土木技術研究所水域・生物環境研究室

る。本報では、これらの研究概要について紹介する。

2. メタンの成因解明研究^{3) 4) 5) 6)}

2.1 研究の目的

メタンは、海底や大深度地下に代表される自然の還元環境において、微生物の働きにより有機性堆積物の最終分解産物として生成される(図-3)⁷⁾。また、地下深部の 100℃ 付近の高熱環境下でも H_2/CO_2 を利用して超好熱性メタン生成菌によりメタンが生成される(図-3中のピンク楕円で囲んだ反応)⁸⁾。メタンハイドレートにおけるメタンの起源としては、このような微生物起源によるものと、熱分解起源によるものとが考えられている⁹⁾。我が国におけるメタンハイドレートの代表的な賦存地域である南海トラフ海域のメタンは、炭素同位体比等の検証結果より、微生物起源であると考えられている¹⁰⁾。しかしながらそのメタンについて、いつ、どこで、何から、どのようにして、どのような微生物により生成されたかについての知見は現在のところ皆無である。そこで本課題では、メタン生成菌を中心に各種微生物群集の生理・生態を解析することで、深海底に賦存するメタンハイドレートの成因を解明することを目的とした。

2.2 陸上水溶性ガス田試料の解析

2002～2003 年度はメタンハイドレート賦存域の試料入手が困難なため、南海トラフ海域と同様に微生物起源と言われている陸上水溶性ガス田を調査対象として、メタンの生成についての微生物学的メカニズム解明の研究を開始した。調査対象は、千葉県茂原市にある関東天然瓦斯開発(株)及び、新潟県新潟市にある三菱ガス化学(株)が管轄する水溶性ガス田とした。

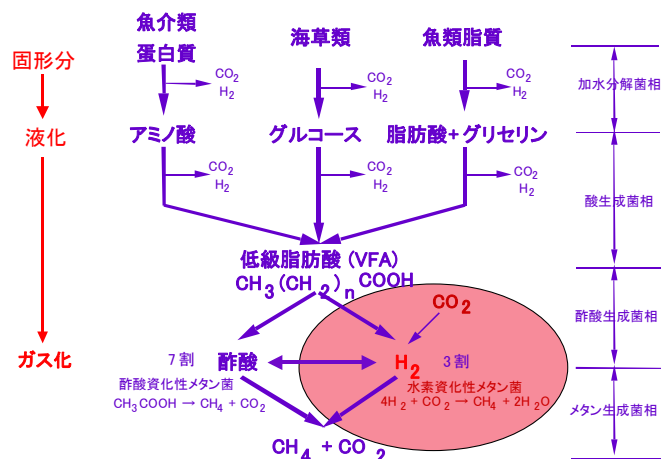


図-3 メタン生成経路概念図

Conceptual Diagram of Methane-Producing Pathway



写真-1 茂原 DA-7 号井の気液分離槽
Separator of DA-7 Well, Mobara

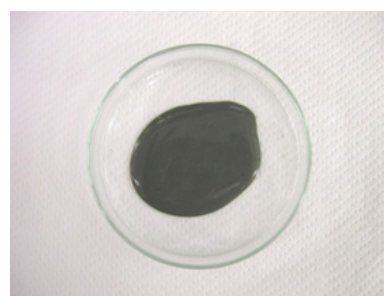


写真-2 茂原 DA-7 号井スラッジ試料
Sludge Sample Collected
from DA-7 Well, Mobara



写真-3 新潟 K6 号井の気液分離槽
Separator of K6 Well, Niigata

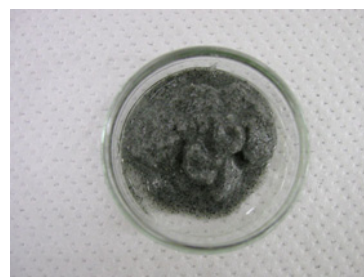


写真-4 新潟 1,000m スラッジ試料
Sludge Sample Collected
from 1,000m depth of K6 Well, Niigata

試料は、ガス生産井の湧水（カン水）に混入して地上に汲み出された地下土壌（スラッジ）を用いた。茂原の試料は2002年11月にDA-7号井（深度619-1,132m、写真-1）の気液分離槽に堆積していたスラッジを採取した。ここで得られた堆積物は写真-2に示すようにシルト状のスラッジであった。新潟の試料は、2003年2月10日にK-6号井の550mと1,000mのガス層よりそれぞれ採取されたガスの気液分離槽において、茂原と同様に堆積していたスラッジを採取しサンプルに供した（写真-3）。ここで得られた地下土壌試料は、写真-4に見られるように砂状のものであった。

各試料は試料中の全菌数を計数すると共に、メタン生成菌を対象として、現場温度でのMPN法による生菌数を計数した。また、試料中の微生物群集構造解析は、16S rDNAのクローニング法による系統解析により行った。

茂原及び新潟の各試料中の全菌数は、 $10^6 \sim 10^7$ cells/gのオーダーで計数された。このうちメタン生成菌の生菌数は、DA-7号井では 10^5 cells/g（培養温度20℃）、K6号井-550mでは 10^4 cells/g（培養温度30℃）と高密度で計数された。同じくK6号井-1000mでは 10^2 cells/g（培養温度42℃）と他の試料と比べて低い計数値であった。そこで、このK6号井-1000m試料を採取した現場温度よりも高い55℃で培養したところ、より多くのメタン生成菌が生育したことから、深度の深い場所ではその地温に相応して高い温度を至適温度とする好熱性メタン

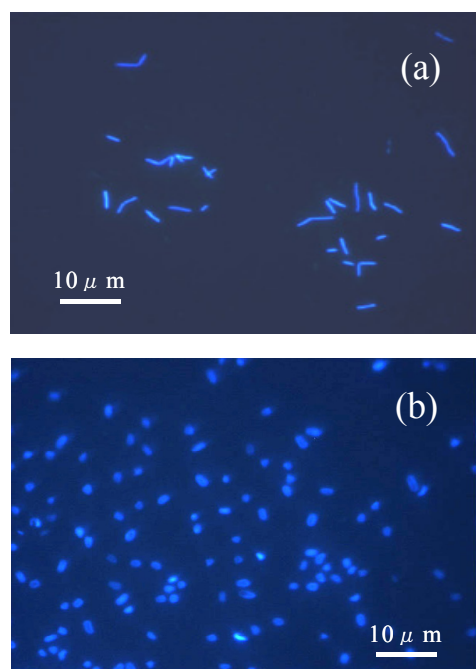


写真-5 メタン生成菌の観察
Observation of Methanogen

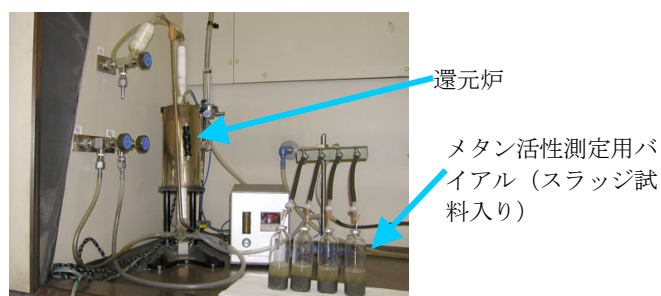


写真-6 還元銅カラムによる脱酸素装置
Oxygen Removal Apparatus by Reduced Copper Column

生成菌が棲息していることが示唆された。なお、培養により観察されたメタン生成菌の落射蛍光顕微鏡による観察結果を写真-5に示した。これはUV励起下で観察されるメタン生成菌特有の補酵素による青緑色の自家蛍光⁸⁾を捉えたもので、桿状(a)や不定球状(b)の細胞が観察された。また、16S rDNAを指標とした遺伝子クローニング解析結果から、多様な種類のメタン生成菌の存在が確認され、更に未知の微生物グループの存在も確認された。

一方、茂原のスラッジには有機物が5.5%（強熱減量として）含まれていた。そこで、水溶性ガス田における現在のメタン生成ポテンシャルを評価するための実験を行った。写真-6に示したように、ガス生産井より採取したスラッジとカン水を一定量入れたバイアル瓶に、還元銅カラム（酸素除去装置）を通過させた窒素ガスを封入して内部を完全に酸素が存在しない嫌気状態にし、10℃、20℃、30℃、35℃、40℃の各温度で培養して生じたガス量とメタン濃度からメタン生成活性を測定した。その結果、35℃、40℃で保温した培養から0.8～4.8 ml-CH₄/kg-sludge・dayのメタンガスが生産されることが明らかとなった。

以上の結果から、茂原及び新潟の各陸上水溶性ガス田の地下環境中においては、未知のメタン生成菌を含む特殊な微生物群集構造が形成されており、これらによって現在もなおメタンが生産されている可能性が示唆された。今後メタンガス生成に関わるメタン生成菌並びにメタン生成菌が利用可能な有機物を供給していると思われる嫌気従属栄養細菌の分離培養を行い、それら分離株の個々の代謝特性を基に地下環境でのメタン生成メカニズムの解明を試みる予定である。

2.3 南海トラフ基礎試験調査

我々は、2004年3月～4月にかけてJOGMECによって実施された「海上基礎試験・熊野灘～東海沖」の東海沖及び第二渥美海丘におけるフルコアリングに参加し



写真-7 基礎試錐で使用した米国海底掘削船
ジョイデスリソリューション号
Seafloor Drilling Ship, JOIDES Resolution,
Used for Fundamental Drilling Experiment



写真-8 船中央に立つ掘削用檣
Drilling Scaffold in Center of the Ship



写真-9 メタンハイドレートが含まれる回収コア試料
Recovered Core Sample Including Methane Hydrate

た。ここでは、米国海底掘削船ジョイデスリソリューション号(写真-7, 写真-8)を用いてメタンハイドレート層を含む地層、約 300m~400m の連続コア試料(東海沖；水深 730m~980m、第二渥美海丘；水深 1,016m~

1,400m) を採取した(写真-9)。今後、これらの試料について茂原や新潟のガス田と同様の方法を用いて、陸上水溶性ガス田と海底メタンハイドレート堆積層におけるメタンの成因について比較検討していく予定である。

3. メタンの漏洩検知技術の開発¹¹⁾

3.1 研究の目的

本研究は、メタンハイドレート開発が具体的な操業体制に入った段階において、海底からのメタンガスの漏洩防止対策の開発を目的としたものである。メタンの漏洩は、掘削ならびにメタンハイドレート回収に伴った地盤変形等の影響により発生する可能性がある。メタンガス漏洩は資源回収量の低下はもとより、海底生態系への影響が懸念される。そこで、メタンハイドレート層から海底面へのメタンガス漏洩をいち早く検知するために、バイオマーカーに着目した。

自然界には、前章で述べたメタン生成菌とは逆にメタンを炭素源として消費して増殖するメタン酸化細菌が存在する¹²⁾。我々はこのメタン酸化細菌に着目し、微生物生態の基礎的な知見を収集することで、将来的にメタン酸化細菌をバイオマーカーとした漏洩箇所の検知技術、間接的メタンガス漏洩検知システムの構築を目指している。

3.2 海洋堆積物からのメタン酸化細菌の探索

前述課題と同様、我々にとってメタンハイドレート賦存域試料が入手不可であった期間中は、海洋堆積物中における海洋性メタン酸化細菌の分離培養、およびそれらの特性評価を試みた。試料は、有機性堆積物(ヘドロ)由来のメタンガスが海底から生成されている場所として、函館近郊の港湾底泥及び東京湾底泥を選定し、簡易コアサンプラーを用いて底泥表層を採取した。堆積物試料をメタン酸化細菌用培地に接種し、気相部をメタン 20%+空気 80%で置換して 20℃で培養を行った。その結果、函館湾、東京湾のいずれの試料からも微生物の増殖が確認され、菌が増殖した培養液には写真のような集塊が形成された(写真-10)。これらの培養前後におけるガス組成の変化を分析したところ、メタンガスが減少し二酸化炭素が増加していたことから、増殖した微生物はメタン酸化細菌であるものと推察された。そこで、増殖した集積培養菌体について 16S rDNA の塩基配列を解読し系統解析を行ったところ、解析したクローン遺伝子のほとんどがメタン酸化細菌に分類されることが明らかになった(図-4 中線部分)。

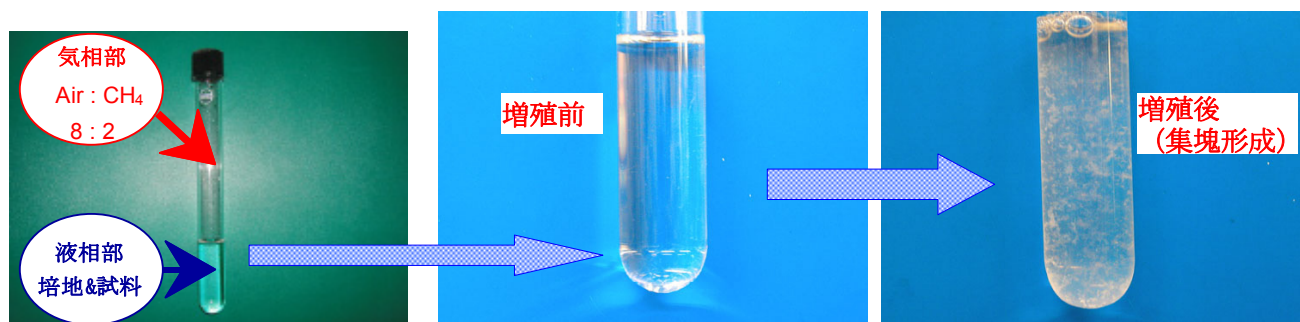


写真-10 メタン酸化細菌の増殖特性

Growth Characteristics of Methane Oxidizing Bacteria

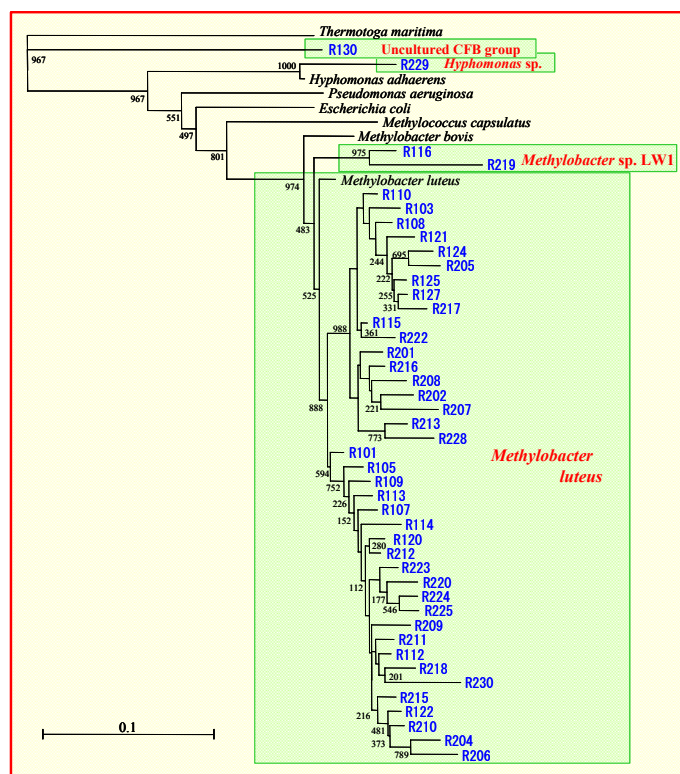


図-4 集積培養菌体の 16S rDNA 系統解析
Phylogenetic Analysis determined by 16 S rDNA
of Enriched Culture

3.3 バイオマーカーとしての可能性

海洋性メタン酸化細菌はその存在自体があまり詳しくは知られていない。深海底の冷湧水性浸出域（メタンシープ）ではメタン酸化細菌を細胞内に共生させた二枚貝のコロニーが棲息するなどの報告¹³⁾はあるが、菌の培養に成功した事例はない。そこで、メタンの漏洩箇所や溶存メタン濃度とメタン酸化細菌の棲息環境との関係について、メタンハイドレートが賦存する実海域で調査することを計画している。

一方、メタン酸化細菌はメタンを唯一の炭素源として利用できるが、その際、同時に酸素を消費して最終的に二酸化炭素と水に変換する¹²⁾。このとき、メタン酸化細菌は、理論上 1mol のメタンを利用するために 2mol の酸素を消費する¹²⁾。すなわち、この原理を利用

して酸素消費量をモニタリングすることにより、海底中の溶存メタン濃度を逆算して知ることが可能となる。なおこれまでに、応答性評価として上述の手法で培養したメタン酸化細菌群のメタン消費速度を密栓型バイアル実験により測定している。その結果、20℃の条件下では 40～45 μM/s で溶存メタンガスが消費されていくことを明らかにした。実際の海底は 2～4℃であるため、低温活性のあるメタン酸化細菌群が棲息すれば、原位置での溶存メタン濃度を間接的にモニタリングすることが可能となる。

3.4 南海トラフのベースライン調査

2003 年 11 月～12 月に、我々は、熊野灘海域から東海沖にかけて基礎試錐掘削前の海底の状態を把握するためのベースライン調査に参加した。

本調査では、東海大学が所有する海洋実習船「望星丸」(写真-11)を用いて、海底表層のピストンコア試料(写真-12)や海底直上水を含むマルチプルコア試料(写真-13)を採取した。

今後は、実際のメタンハイドレート賦存海域である南海トラフにおけるメタン酸化細菌の分布に関する実態を把握し、バイオマーカー適用の可能性について詳細に検証していく予定である。



写真-11 ベースライン調査に使用した東海大学望星丸
Bousei-Marui of Univ. Tokai
Used for Base-line Investigation



写真-12 回収されたピストンコア試料
Recovered Piston-Core Sample



写真-13 回収されたマルチプルコア試料
Recovered Multiple-Core Samples

4. おわりに

次世代エネルギー資源として期待される「深海底に眠るメタンハイドレート」の研究開発は途についたばかりである。今後、海洋での生産試験、生産手法の検証を2011年までに行い、引き続き、経済性・環境影響評価や商業産出準備を経て、2016年以降に商業産出開始が計画されている。我々人類が足を踏み入れることの出来ない地下の奥深くで微生物によってどのようにしてエネルギーが創られているのか、サイエンスとしての興味は勿論のこと、我々は将来、本研究成果が地球環境とエネルギー問題の双方に貢献出来るものと期待している。

なお、本報掲載にあたっては、MH21 プロジェクトのご許可を頂くとともに、本文で使用した図-1、図-2はMH21 広報用パンフレット「燃える氷「メタンハイドレート」」に使用されているものをJOGMECのご許可を得て引用したものであり、ここに深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 佐藤幹夫, 前川竜男, 奥田義久: 天然ガスハイドレートのメタン量と資源量の推定, 地質学雑誌, Vol.102, pp.959-971, 1996.
- 2) 成田英夫: メタンハイドレートの基礎—物性・特性—, 海洋と生物, Vol.23, pp.434-438, 2001.
- 3) 天石文, 沖田紀子, 落合浩志, 帆秋利洋: 陸上ガス田におけるメタン菌の解析, 日本 Archaea 研究会第16回講演会, 2003.
- 4) 天石文, 沖田紀子, 帆秋利洋: 茂原陸上水溶性ガス田における微生物群集構造の解析とメタン生成古細菌の分離, 第19回日本微生物生態学会, 2003.
- 5) 帆秋利洋, 天石文, 沖田紀子: 新潟陸上水溶性ガス田における微生物群集構造について, 第19回日本微生物生態学会, 2003.
- 6) Hoaki,T., Amaishi,A., Okita,N., Kunii,N. and Takahara,S. : Population Analysis of Methanogenic Archaea in Subterranean Gas Fields, Microbial Ecology ISME-10, 2004.
- 7) 古賀洋介, 亀倉正博編: 古細菌の生物学, 東京大学出版会, pp.40-46, 1998.
- 8) 上木勝司, 永井史郎編著: 嫌気微生物学, 養賢堂, pp.95-117, 1993.
- 9) 早稲田周: 天然メタンハイドレート中のメタンの起源, 海洋と生物, Vol.23, pp.446-450, 2001.
- 10) Waseda,A., Uchida,T., Lu,H., Tomaru,H. and Matsumoto,R. : Origin of Methane in Gas Hydrates from the MITI Nankai Trough Well, abstracts for the 2000 Western Pacific Geophysical Meeting, 2000.
- 11) Hoaki,T., Kunii,N., Okita,N. and Takahara,S. : Distribution of Methane Oxidizing Bacteria in Marine Sediments, Microbial Ecology ISME-10, 2004.
- 12) Hanson,R.S. and Hanson,T.E. : Methanotrophic bacteria, Microbiological Reviews, Vol.60, pp.439-471, 1996.
- 13) Distel,D.L., Lee,H.K. and Cavanaugh,C.M. : Intracellular Coexistence of Methano- and Thioautotrophic Bacteria in a Hydrothermal Vent Mussel, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 92, pp.9598-9602, 1995.