

南海トラフ海底堆積物のバイオマーカー組成

荻原 成騎*¹ 濱田 欣孝*¹ 松本 良*¹ 戸丸 仁*¹ 芦 寿一郎*² 廣木 義久*³

海洋科学技術センターの潜水調査船「しんかい6500」によって南海トラフ(潜水594,水深2353m)より採取した柱状試料について,有機地化学分析を行い,バイオマーカーを用いた特徴付けを行った。その結果,表層堆積物(0-4cm)は,石油起源の汚染である $\alpha\beta$ 型ホパンとUCM humpが検出された。 $\beta\beta$ 型ホパンと $\Delta^{22(29)}$ ホペンが卓越すること及び奇数優位性を持たない低炭素数 n -アルカンの分布から,表層堆積物(0-4cm)中ではバクテリアの活動度が高いことが示された。また,メタン細菌起源のスクワレンを初めとするイソプレノイド炭化水素が見い出された。イソプレノイド炭化水素は,メタン湧出地点を特徴つけるバイオマーカーとなりうる。深度4-16cmでは,バクテリア起源の n -アルカンは見られず, $\Delta^{22(29)}$ ホペン及びイソプレノイド炭化水素は初期続生作用による構造変化が始まっている。この深度では,表層と同じ種類のバクテリアの活動は活発でない。

キーワード: バイオマーカー, ホパン, イソプレノイド炭化水素, メタン湧出, 南海トラフ

Biomarker composition of deep sea sediment from Nankai Trough

Shigenori OGIHARA*⁴ Yoshitaka HAMADA*⁴ Ryo MATSUMOTO*⁴
Hitoshi TOMARU*⁴ Juichiro ASHI*⁵ Yoshihisa HIROKI*⁶

The core sample collected from Nankai Trough ("Shinkai 6500" Dive 594, 2353m in depth) has been investigated in terms of biomarkers. $\alpha\beta$ -Hopane and UCM hump, which are originated in the pollutant of petroleum, are detected only from surface sediment (0-4cm in the depth). $\beta\beta$ -Hopane and $\Delta^{22(29)}$ hopene are dominant hopanoid hydrocarbons in surface sediment, which showing the highly activity of the bacteria. Squalene and a series of isoprenoid hydrocarbons, which are special biomarker of methanogen, are detected from surface and they would be good biomarker of methane seepage in the deep sea sediment. Structural transformations of $\Delta^{22(29)}$ hopene and isoprenoid hydrocarbons by the early diagenesis are observed at the depth of 4-16 cm. The bacterial activity at the depth of 4-16 cm is lower than surface (0-4 cm), judging from biomarker composition.

Keywords : Biomarker, hopane, isoprenoid hydrocarbon, methane seep, n -alkane, Nankai Trough

*1 東京大学大学院理学系研究科

*2 東京大学海洋研究所

*3 大阪教育大学理科教育講座

*4 Department of Earth and Planetary Science, The University of Tokyo

*5 Ocean Research Institute, The University of Tokyo

*6 Division of Science Education, Osaka Kyoiku University

1. はじめに

メタンガスの生成と分解に関与するバクテリアをバイオマーカー(生物指標有機化合物)を用いて特定することは、メタンハイドレートガスの起源を議論する上で新たな情報となる。本研究では、バクテリア起源バイオマーカーの分析方法の確立と基礎的データの収集を目的として、メタン湧水の影響を受けた可能性の高い深海堆積物について有機地化学分析を行った。

2. 試料

研究に用いた試料は、海洋科学技術センターの潜水調査船「しんかい16500」によって南海トラフ YK00-10航海、第二節、潜水594、水深2353mより採取した柱状試料である。試料は表層から4cmごとに細分し、凍結乾燥の後に有機地化学分析に用いた。

3. 分析手順

凍結乾燥した試料は、LECO社製元素分析計CNS-2000を用いて全有機炭素量、全窒素量、硫黄量を測定した。ピチュメン(抽出性有機物)は、ヘキサン/エーテル(9/1)溶媒を用いて超音波抽出法によって抽出した。抽出したピチュメンは、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮乾固した後に、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって以下のフラクションに分画した。すなわち、N-1フラクション(飽和炭化水素)、N-2フラクション(PAH及びスクワレン)、N-3フラクション(脂肪族ケトン)及びN-4フラクション(アルコール及びステロール)の4フラクションである。本研究では、N-1及びN-2フラクションについてGC/MS分析を行った。使用したGC/MSはTermoQuest社製Voyagerである。分析条件は、オンカラムモードで注入し、40℃で1分間保持した後、300℃まで4℃/分で昇温し300℃にて25分保持した。キャピラリーカラムはHP-5MS(30m×0.32mm×0.25μm)を使用した。

4. 分析結果

4.1. 元素分析

Table 1に各深度における元素分析計によって求めた有機炭素量、窒素量、硫黄量を示す。有機炭素量は、表層(0-4cm)における1.43%から、深度12-16cmにおける0.84%と下方に向かって減少している。この傾向は窒素についても同様である。C/N比は、表層における8.4から8-12cmにおける13と増加している。これに対して、硫黄は表層(0-4cm)にお

表1 南海トラフ、潜水594、水深2353mより得られた深海堆積物の全有機炭素量、窒素量及び硫黄量。

Table 1 Organic carbon, nitrogen and sulfur contents in deep sea sediment from Nankai Trough, Dive 594, in the depth of 2353m.

Depth	org C (wt%)	N (wt%)	S (wt%)	C/N	C/S
0-4cm	1.43	0.17	0.05	8.4	29
4-8cm	0.95	0.11	0.14	8.6	6.8
8-12cm	0.88	0.07	0.65	13	1.4
12-16cm	0.84	0.07	0.55	12	1.5

ける0.05%から8-12cmにおける0.65%と、下位に向かって急激に増加している。

4.2. バイオマーカー分析

Figure 1に深度0-4cm、4-8cm及び12-16cmのN-1フラクションのm/z85のマスプロトグラムを示す。下段に示す12-16cmでは、検出されたn-アルカンは、ほぼC₁₃からC₃₅までの範囲であり、分布の頂点はC₂₉及びC₃₁である。著しい奇数優位性を示し、CPI値(Carbon Preference Index)は、5.84である(Table 1)。これに対してFig. 1の上段に示す表層堆積物(0-4cm)では、12-16cmで認められたC₂₉とC₃₁に頂点を持つn-アルカンのグループの他に、C₁₃からC₂₀またはC₂₂までの分布でC₁₇に頂点を持つ奇数優位性を示さないアルカンが加わる。ここでC₁₃からC₂₀までのCPI値、CPI(L)は1.17と低い値を示す(Table 1)。また、C₁₆からC₃₄までの偶数炭素n-アルカンの直後に3,7-ジメチルアルカンが見られるのが特徴である。3,7-ジメチルアルカンの分布の頂点は、n-C₁₈の直後に検出されるC₁₉である。さらに、n-C₂₀とn-C₂₁の間に?で示した一連の6個のピークは特徴的な化合物であり、マススペクトルから

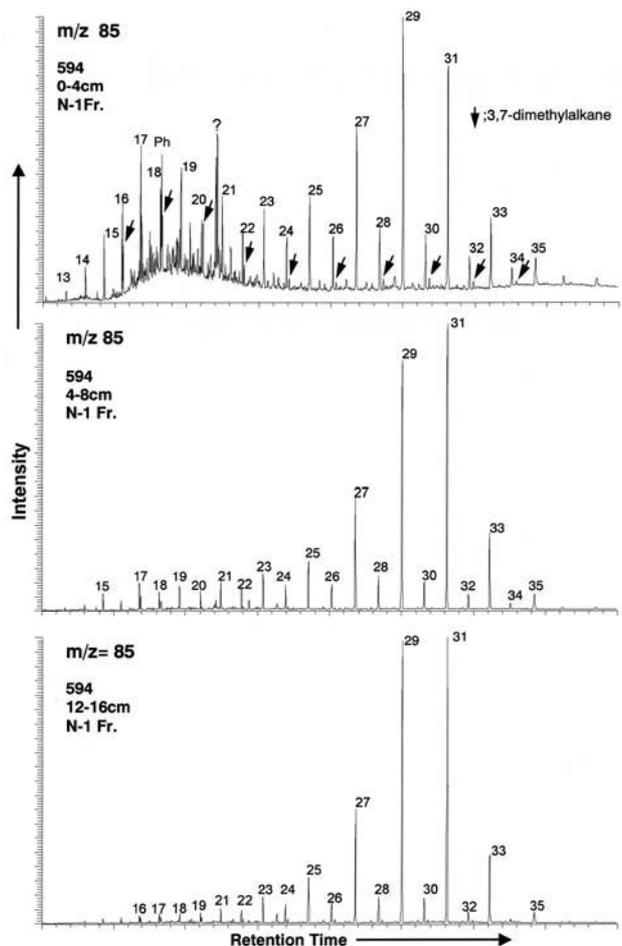


図1 N-1画分中のアルカンのm/z85マスプロトグラム。数字は各n-アルカンの炭素数を示す。

Fig. 1 m/z 85 Mass fragmentgrams of alkanes in N-1 fraction. Number indicates each carbon number of n-alkane.

炭素数25の枝状炭化水素で2不飽和の異性体が2種, 3不飽和が3種及び1種の4不飽和の化合物が認められた。残念ながら本研究では, 正確な構造は決定できなかった。この化合物は表層に特徴的に検出される化合物であり, 深度に伴って消滅する。また, 表層試料についてのみ低炭素数領域にUCM humpが見られる。深度4-8cmにおけるm/z85マスクロマトグラム (Fig.1中段) に示す化合物の分布は深度12-16cmに近く, 表層堆積物を特徴付ける低炭素数領域の寄与はほとんど見られない。

Figure 2に深度0-4cm, 4-8cm及び12-16cmのm/z191のマスクロマトグラムを示す。表層においてホパノイド炭化水素は $\Delta^{2\alpha, 2\beta}$ ホペン (通称ディプロブテン) が卓越し, ホパンは C_{29} から C_{35} までの $17\alpha(H)$, $21\beta(H)$ -型 ($\alpha\beta$ 型) ホパンが検出される。 $\alpha\beta$ 型ホパンは C_{30} から C_{35} までの分布で, 炭素数の増加に伴って含有量は減少する。 $17\beta(H)$, $21\beta(H)$ -型 ($\beta\beta$ 型) は C_{30} と C_{31} について見られるが, $\alpha\beta$ 型より少ない。これに対して, 12-16cmでは, 表層と共通する $\Delta^{2\alpha, 2\beta}$ ホペンに加えて $\Delta^{1\alpha, 1\beta}$ ネオホペンが検出され, ホペンが優勢である。ホパンは C_{31} $\beta\beta$ が卓越する。ここでは, $\alpha\beta$ 型は C_{30} から C_{32} までの限定的範囲で相対的に少量見られるのみである。

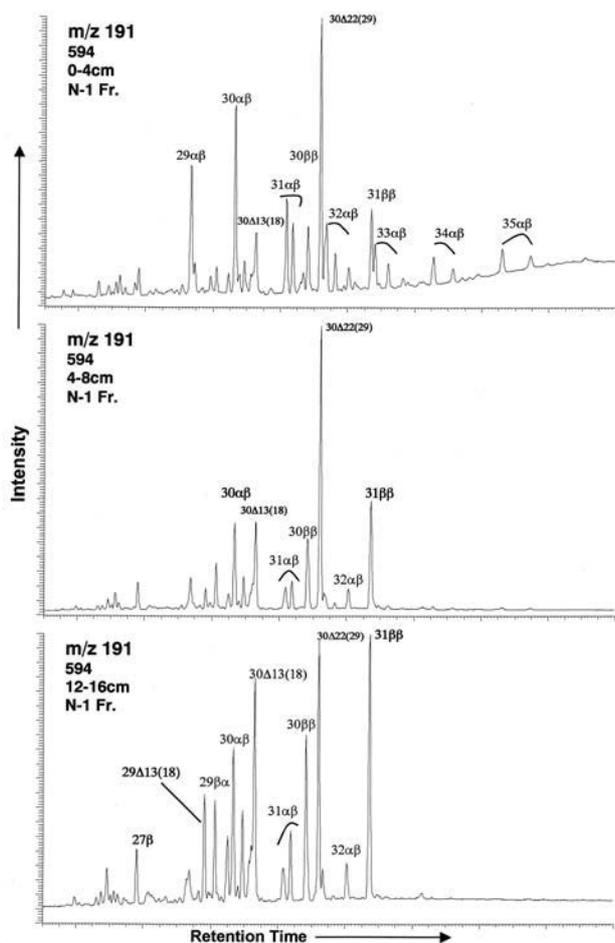


図2 N-1画分中のホパノイド炭化水素のm/z191マスクロマトグラム。
Fig. 2 m/z 191 Mass fragmentgrams of hopanoid hydrocarbons in N-1 fraction.

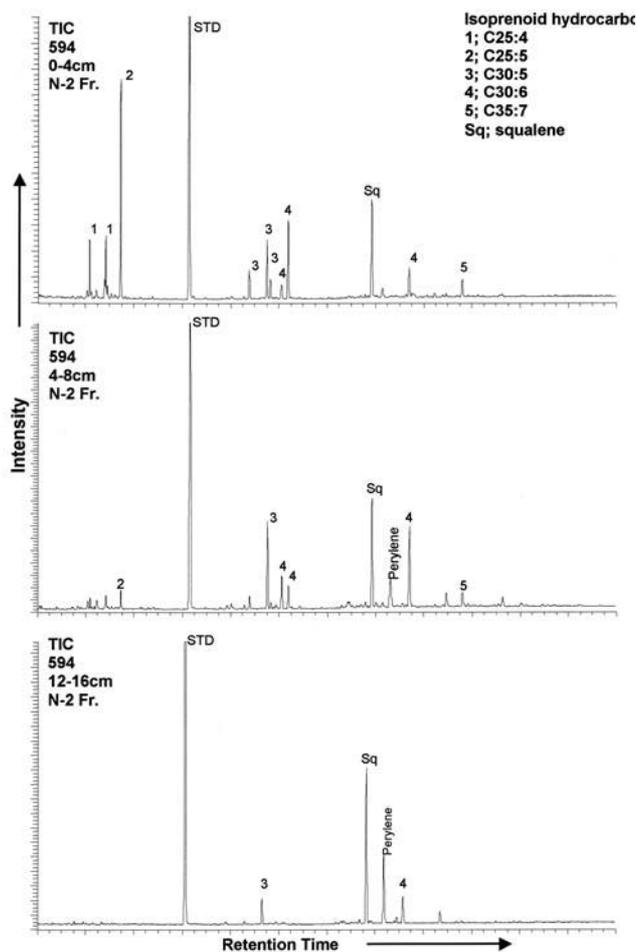


図3 N-2画分中のイソプレノイド炭化水素のトータルイオンクロマトグラム。
Figure 3 TIC (Total Ion Chromatogram) of isoprenoid hydrocarbons in N-2 fraction.

Figure 3に0-4cm, 4-8cm及び12-16cmのN-2フラクション (PAHフラクション) のTIC (Total Ion Chromatogram) を示す。Table 2には, このフラクションで検出されたイソプレノイド炭化水素の各深度における濃度を示す。表層堆積物 (0-4cm) では, イソプレノイド炭化水素は, 炭素数25, 30, 35について, 不飽和度の異なる同族体が認められる。これらのスクアレン以外のイソプレノイド炭化水素は深度増加と共に急激に減少, 消滅する。0-4cmでは10種類認められたスクアレン以外イソプレノイド炭化水素が, 12-16cmでは2種類しか認められない。

本試料ではPAHは量, 種類ともに少なく, わずかにペリレンが認められるのみである。

5. 考察

高いCPI値を持つ高炭素数 n -アルカンは, 現世の (全く続成を被っていない) 陸上高等植物起源である (Eglinton and Hamilton, 1963)。これに対して, 植物プランクトンや藻類では C_{17} または C_{15} に頂点を持ち, CPI値は C_{17} を除いた値で1~5の範囲である (Han and Calvin, 1969)。バクテリア中の n -アルカンは C_{14} ~ C_{29} の範囲で C_{17} ~ C_{20} が卓越し, CPI値は1に近

表2 南海トラフ,潜水594,水深2353mより得られた深海堆積物のn-アルカン量とイソプレノイド炭化水素量

Table 2 Abundance of n-alkanes and isoprenoid hydrocarbons in deep sea sediment from Nankai Trough, Dive 594, in the depth of 2353m.

Hydrocarbon	0-4cm	4-8cm	8-12 cm	12-16 cm		
n-alkane	C13	0.0053	0.0020	0.0020	0.0008	
	C14	0.0142	0.0036	0.0036	0.0019	
	C15	0.0281	0.0120	0.0093	0.0034	
	C16	0.0399	0.0069	0.0064	0.0043	
	C17	0.0597	0.0190	0.0120	0.0057	
	C18	0.0400	0.0125	0.0101	0.0070	
	C19	0.0458	0.0167	0.0113	0.0072	
	C20	0.0246	0.0133	0.0106	0.0075	
	C21	0.0362	0.0214	0.0161	0.0108	
	C22	0.0236	0.0015	0.0119	0.0097	
	C23	0.0338	0.0250	0.0202	0.0193	
	C24	0.0225	0.0171	0.0151	0.0140	
	C25	0.0405	0.0341	0.0336	0.0341	
	C26	0.0232	0.0176	0.0159	0.0166	
	C27	0.0706	0.0795	0.0743	0.0848	
	C28	0.0271	0.0237	0.0197	0.0198	
	C29	0.1167	0.1726	0.1499	0.2097	
	C30	0.0237	0.0198	0.0155	0.0184	
	C31	0.0963	0.1975	0.1580	0.2123	
	C32	0.0142	0.0110	0.0071	0.0085	
	C33	0.0304	0.0535	0.0405	0.0503	
	C34	0.0079	0.0042	0.0018	0.0023	
	C35	0.0115	0.0105	0.0069	0.0080	
	pristane	0.0299	0.0096	0.0084	0.0039	
	phytane	0.0285	0.0057	0.0046	0.0031	
	isoprenoid	C25:4	0.0032	0.0007	0.0002	0.0000
		C25:4'	0.0360	0.0066	0.0024	0.0000
		C25:5	0.1255	0.0091	0.0012	0.0000
		C30:5	0.0167	0.0062	0.0045	0.0016
		C30:5'	0.0340	0.0419	0.0251	0.0075
		C30:5''	0.0110	0.0031	0.0011	0.0000
		C30:6	0.0080	0.0017	0.0106	0.0000
		C30:6'	0.0451	0.0109	0.0038	0.0012
		squalene	0.0564	0.0636	0.0257	0.0179
		C30:6	0.0173	0.0387	0.0358	0.0217
C35:7	0.0100	0.0071	0.0034	0.0012		
(ug/g-sediment)						
CPI	2.17	4.86	4.51	5.84		
CPI(L)	1.17	1.37	1.13	0.830		
CPI(H)	2.90	6.09	5.61	6.94		
L/H	0.445	0.125	0.111	0.053		
Pr/Ph	1.05	1.68	1.83	1.27		

い (Han *et al.*, 1968; Han and Calvin, 1969)。本研究で検出されたn-アルカンは,深度12-16cmでは,高いCPI値を持つ高炭素数n-アルカンが卓越することから,陸上の高等植物起源である。同様のn-アルカンの分布は,0-4cm,4-8cm,8-12cmについても検出されることから,本研究試料は短いコアではあるが,表層から下位層準まで陸源有機物の寄与が大きいことが示された。これに対して,表層堆積物(0-4cm)で

検出された奇数優位性を示さない低炭素数n-アルカンはバクテリア起源の可能性が高い。表層のみに認められた3,7-ジメチルアルカンはパナマ海盆の海底熱水の影響を受けた深海堆積物(山本ら,1990)や大分県玖珠分地の熱水変質を被った燐酸塩ノジュール(Ogihara and Ishiwatari,1998)から検出されており,特殊なバクテリア起源である。このことから,表層堆積物(0-4cm)のみが,バクテリア起源の鎖状炭化水素バイオマーカーで特徴付けられることが明らかになった。

これに対してホパノイド炭化水素では異なる結果が得られた。ホペンとβ型ホパンは,バクテリア細胞膜を直接の起源とし(Ouirsson *et al.*, 1984),多量のβ型C₃₀及びC₃₃ホパンの存在は,表層(0-4cm)から深度12-16cmまでバクテリア活動が盛んであったことを示している。また,Δ^{22,29}ホペンはΔ¹⁷⁽²¹⁾ホペンを経てΔ¹³⁽¹⁸⁾ネオホペンに変化することが知られており(Brassell, *et al.*, 1980),本研究試料におけるホペンの分布は,表層(0-4cm)で検出されたΔ^{22,29}ホペンが,下位ではΔ¹³⁽¹⁸⁾ネオホペンに変化していることで説明される。

表層堆積物に限って検出されたαβ型ホパンは,β型ホパンが成作用を被った後に変化した形であり,石油に多量に含まれる。αβ型ホパンは産業革命以降の堆積物に含まれることが知られており,UCM humpと伴に汚染指標としてしばしば用いられる(Uemura and Ishiwatari, 1992)。すなわち,表層堆積物(0-4cm)は石油起源の汚染を被っている。

表層堆積物(0-4cm)から検出されたイソプレノイド炭化水素は,スクアレン以外については一般の堆積物から検出されることは稀で,特殊なバクテリア起源の可能性が考えられる。Tornabene *et al.*(1979)は,スクアレン及びその同族体,特にC₂₅イソプレノイド炭化水素は,メタン細菌起源である可能性を指摘している。海底におけるメタン湧出及びこれに伴うメタン細菌の存在を検知するために用いるバイオマーカーとして,イソプレノイド炭化水素は重要なバイオマーカーとなる可能性を持つと考えられる。

文献

- 1) Brassell S.C., Comet P.A., Eglinton G., Isaacs P.N.J., McEvoy J., Maxwell J.R., Thomson I.D., Tibbetts P.J.C and Volkman J.K. "The origin and fate of lipids in Japan Trench," in *Advances in Organic Geochemistry 1979*, Douglas A. and Maxwell J.R., Eds. (Pergman, Oxford, 1979), 375-392.
- 2) Eglinton G. and Hamilton R.J. "The distribution of alkanes," in *Chemical plant taxonomy*, Swan T. Ed. (Academic Press, 1963), 187-217.
- 3) Han J. and Calvin M. "Hydrocarbon distribution of algae and bacteria and microbiological activity in sediments," *Proc. Nati. Acad. Sci. U.S.A.*, 64,436-443 (1969).
- 4) Han J. McCarthy E.D., Hoeven W.V., Calvin M. and Bradley W.H. "Organic geochemical studies, II. A preliminary report on the distribution of aliphatic hydrocarbons in algae, bacteria and in a lake sediment," *Proc. Nati. Acad.*

- Sci. U.S.A., 59, 29-33 (1968).
- 5) Ogiwara S. and Ishiwatari R. "Unusual distribution of hydrocarbons in a hydrothermally altered phosphorite nodule from Kusu Basin, northern Kyushu, Japan," *Org. Geochem.*, 29, 155-161 (1998).
- 6) Ourisson G., Albrecht P. and Rohmer M. "The microbial origin of fossil fuels," *Scientific American*, 251, 44-51 (1984).
- 7) Tornabene T.G., Langworthy T.A., Holzer G. and Oro J. "Squalenes, phytens and other isoprenoids as major neutral lipids of methanogenic and thermoacidophilic "archaeobacteria", " *J. Mol. Evol.*, 13, 73-83 (1979).
- 8) Uemura H. and Ishiwatari R. "Aliphatic hydrocarbon and hopanes in lake Haruna sediments with special reference to oil pollution," *Japanese J. of Limnology*, 53, 293-303 (1992).
- 9) 山本修一, 石渡良志, 町原勉, 森永茂生, "エクアドル沖柱状堆積物 (ODP Hole 677A, 678B) の炭化水素フラクションの特徴", *Res. Org. Geochem.*, 7, 41-44 (1990).

(原稿受理:平成13年8月9日)