

枯渇油田および油層常在微生物を利用した天然ガス鉱床の再生技術の開発

Research for Microbial Restoration of Methane Deposit with Subsurface CO₂ Sequestration into Depleted Oil Fields

藤原 和弘^{1*}, 鹿野 早苗¹, 服部 嘉行¹, 向谷 司¹,
前田 治男², 宮川 喜洋², 高林 克百², 岡津 弘明³

KAZUHIRO FUJIWARA, SANAE KANO, YOSHIYUKI HATTORI, TSUKASA MUKAIDANI,
HARUO MAEDA, YOSHIHIRO MIYAGAWA. KATUSMO TAKABAYASHI and KOUMEI OKATSU

¹ 中外テクノス株式会社 〒733-0013 広島市西区横川本町9-12

² 帝国石油株式会社 技術研究所 〒157-0061 東京都世田谷区北鳥山9-23-30

³ 独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構 〒261-0025 千葉県美浜区浜田1-2-2

* TEL: 082-295-2234 FAX: 082-295-2240

* E-mail: ka.fujiwara@chugai-tec.co.jp

¹ Chugai Tecnos Corp., 9-12 Yokogawa-Shinmachi, Nishi-Ku, Hiroshima 733-0013, Japan

² Teikoku Oil Co. Ltd., Technical Research Center, 9-23-30 Kitakarasuyama, Setagaya-ku, Tokyo 157-0061, Japan

³ Japan oil, Gas and Metals National Corporation (JOGMEC), 1-2-2 Hamada, Mihama-ku, Chiba 261-0025, Japan

キーワード: 枯渇油田, CO₂ 地中貯留, 微生物的天然ガス鉱床再生, 中度好熱性水素生成菌,
中度好熱性 CO₂ 還元メタン生成アーキア

Key words: depleted oil fields, subsurface CO₂ sequestration, microbial restoration of methane deposit,
hydrogen-producing thermophilic bacteria, CO₂-reducing methan-producing thermophilic archaea

(原稿受付 2008年5月12日 / 原稿受理 2008年5月19日)

1. はじめに

近年, 地球温暖化を初めとする環境問題やエネルギーの枯渇問題がクローズアップされており, 安全・安心な国民生活の持続性が脅かされている。

環境問題に関しては, 1990年以降, 各種の環境問題が地球規模で深刻化しており, 経済・社会の発展を支える産業界の活動は, 環境問題への配慮なしに成り立たない時代となりつつある。中でも, CO₂ 排出による地球温暖化は深刻であり, 特に, 世界中で大量に地下から掘り出されている石油・石炭・天然ガスの燃焼によって, 膨大な CO₂ が地上にもたらされている。このような中, 2005年2月の京都議定書の批准を契機に, 我が国でも温室効果ガス削減対策が急務となっており, 今後これらに対応するための CO₂ 排出量削減の現実的なオプションを考えていく必要がある。

これに対して, 近年 CO₂ 地中貯留技術が注目されている。同技術は, CO₂ 貯留量が膨大で, 世界中で排出される CO₂ を大幅に削減する能力を有し, コストやエネルギーロスも比較的小さく, 技術的にも既に実用レベルにあり, 真に即効性のある巨大技術と考えられている。しかし, 同技術に対しては, 逆に化石燃料の使用を助長することにつながる可能性がある等の反対意見を主張する国々もあり, CO₂ 排出量削減の抜本的な解決策と位置

づけるのは困難との見方もある。

そのような中, 筆者らは, 世界に先駆けて, 化石燃料の燃焼によって排出される CO₂ を枯渇した油田の貯留層に圧入し, CO₂ を地中貯留すると同時に, 貯留層を高圧反応器と見立てて, 同層内で水素生成菌, CO₂ 還元メタン生成アーキア等を働かせ, CO₂ をメタンに変換した上で天然ガス鉱床の再生を図り, 化石燃料として再び利用する持続的なカーボンリサイクルシステム (MRMD: Microbial Restoration of Methane Deposit) (図1) の構築について, 2003年より本格的な検討を実施している。

本稿では, この MRMD 技術の位置づけを述べるとともに, これまでに実施した研究概要を紹介する。

2. 石油・天然ガス資源を取り巻く課題と対応策

将来にわたる石油・天然ガス資源の開発・利用を取り巻く課題とその対応策を図2に示した。各種の課題と対応策について以下に概説する。

2.1. 地球温暖化防止と CO₂ 地中貯留技術

現在の地球温暖化の主な原因として, 温室効果ガスとして知られる CO₂ の増加が挙げられる。中でも世界中で大量に地下から採掘されている石油・石炭・天然ガスの燃焼によって, 年間, 約 200 億トン, 1 気圧の容積に

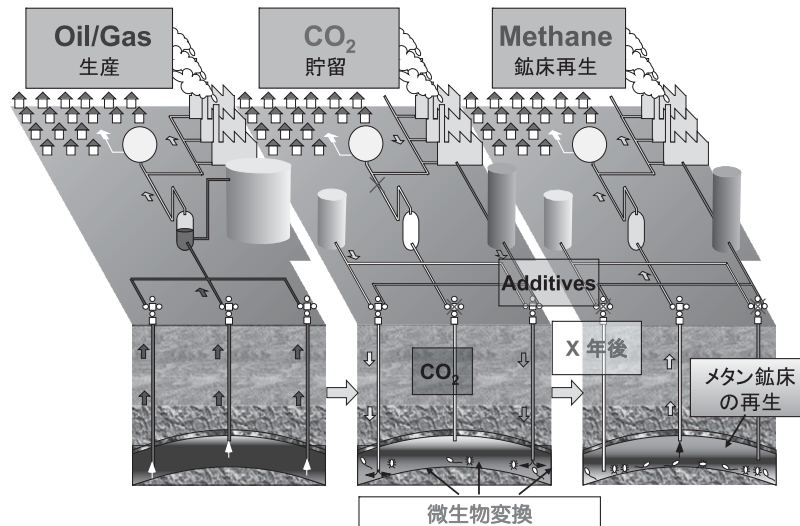


図1. 微生物による天然ガス鉱床再生技術（MRMD技術）の概要

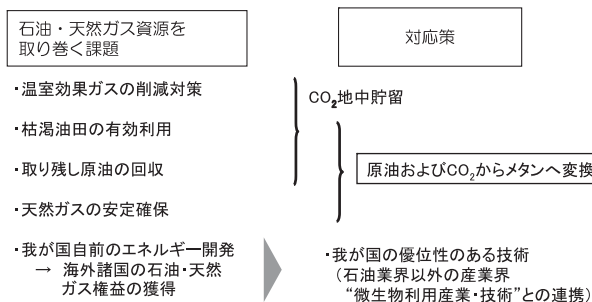


図2. 石油・天然ガス資源を取り巻く課題と対応策

換算して実に 10 兆 m^3 の CO_2 が地上にもたらされており³⁵⁾、今後、環境調和型の油ガス田開発技術の開発が火急の課題となっている。

一方、京都議定書における我国の温室効果ガス削減義務は、2008～2012年の CO_2 等のガス排出量を、1990年の排出実績（炭素換算で3億700万トン）に比べて6%削減（炭素換算で2億8800万トンまで削減）することになっており、即効性のある対策技術として、 CO_2 回収・隔離技術（Carbon dioxide Capture and Storage: CCS）が注目されている。CCSは世界的にも注目されている技術であり、大きく分けて深海底貯留隔離と地中貯留技術がある。特に後者は世界で排出される CO_2 の100年分を封じ込めできると推定されており、 CO_2 の貯留場所毎に、帯水槽貯留、炭層固定、枯渇油ガス層への貯留に大別される。今日までの国内外での CO_2 地中貯留研究としては、 CO_2 -EOR攻法（炭酸ガス攻法）による原油の増進回収技術の開発が最も古く、石油生産技術の中で石油増進回収技術と呼ばれる三次回収技術の有力な技術の一つとして既に実用化されている。今後は、発電所などから排出される CO_2 を利用した CO_2 -EOR攻法について、世界中で積極的に検討が進められるものと考えられ、効率の良い地球温暖化防止技術となることが期待される。また、石炭層への CO_2 圧入による炭層メタン回収技術（ECBM）等も古くから研究されており、既に実用レベルに達している³⁾。さらに、 CO_2 の処分のみを目的

とした CO_2 地中貯留については、1996年以降、米国において CO_2 地中貯留の安全性について検討が開始され、またスタットオイル社（ノルウェー）では北海のスレイプナーガス田から産する CO_2 （年間100万トン）を北海海底下1000mの砂岩帯水層に再圧入し、地中貯留を実施するなど、世界的に検討が進められている。

国内では CO_2 の処分を目的として、 CO_2 地中貯留技術に関して2つのフィールドテストが実施された。一つは、夕張地区（北海道）にて実施されている CO_2 の炭層固定プロジェクトであり¹⁹⁾、さらにもう一つが、（財）地球環境産業技術研究機構（RITE）が、長岡地区（新潟県）において実施した帯水層への CO_2 地中貯留に関する研究である³⁴⁾。また、RITEでは、2004年度までに、国内の堆積盆中の帯水層（深度約200m）への CO_2 圧入およびメタン生産の可能性について調査を行った実績がある。

また CO_2 地中貯留技術を巡る国際的な動きのなかで、注目に値する動きとしては、2007年12月に開催された「気候変動枠組み条約第13回締約国会議（COP13）」にて、 CO_2 地中貯留技術が地球温暖化ガス排出権に関わる技術として認められる可能性が高まってきていることが挙げられる。またこれを受けて、2009年度中には、RITEを主体とする我国の官民連合チームと中国との国際共同事業化プロジェクトとして、大慶油田近傍の石炭火力発電所から排出される CO_2 を分離・利用して、大慶油田にて CO_2 -EOR攻法を操業レベルで行い、 CO_2 地中貯留技術のノウハウの蓄積を図るという計画がある。以上のような取り組みにより、 CO_2 地中貯留技術は、今後、「温室効果ガス削減対策技術」として世界的に認知されるものになると考えられる。

2.2. 枯渇油田の有効利用と CO_2 地中貯留技術

枯渇油田とは、その時代に開発されている石油開発技術（一次～三次回収技術）を駆使しても採算性を確保した原油回収が不可能になった油田のことであり、一般に、油層内には埋蔵量の40～80%程度の原油が依然として取り残されている。しかし一方で、油田開発には一般に

巨額の資金を投入していることから、石油鉱業界では、枯渇油田の有効活用が望まれている。

そこで、近年、枯渇油田に CO₂ を貯留しようとする試みが世界中でなされており、筆者らも枯渇油田への CO₂ 貯留に着目している。油田は岩石中の多孔質部に原油や天然ガスを数百万年もの長い期間にわたり貯蔵していたという実績があり、また不浸透性のキャップロックという地質構造を有しているため、CO₂ の貯留場所として適していると考えられる。さらに油田には、既存の生産・圧入施設が具備されているため、CO₂ の圧入に対してこれらを最大限に有効利用することで、イニシャルコストを最小限に留めることができる等のメリットもある。

2.3. 枯渇油田の有効利用と MRMD 技術

筆者らが研究を進めている MRMD 技術では、まず地下深部で水素生成菌、CO₂ 還元メタン生成アーキア等を働かせて、地上から圧入した CO₂ をメタンに変換し、次いでそのメタンを緻密な地質構造内にトラップしておくことが不可欠である。前者に対しては、後述するように、油層内には多様な常在微生物が存在していることが知られており、水素やメタン生成に関与する微生物も発見されていることから、油層は地中バイオメタン再生の場として高いポテンシャルを有していると考えられる。また後者に対しては、前項で述べたように、油田は岩石中の多孔質部に原油や天然ガスを数百万年もの長い期間にわたり貯蔵していたという実績があり、また不浸透性のキャップロックという地質構造を有しているため、メタンの貯留場所として適していると考えられる。さらに、前項と同様に、油田には既存の原油回収施設が具備されているため、油層内で生成したメタンの回収に対してこれらを有効利用することが可能となる。

2.4. 取り残し原油の回収と MRMD 技術

近年の油価急騰により、世界中で、石油開発技術（一次～三次回収技術）を駆使した原油回収に力が注がれている。しかし、油層内に取り残された粘度の高い液状の原油の回収率を飛躍的に向上させるのは容易ではない。これに対して、筆者らが研究を進めている MRMD 技術では、油層内に残存する回収困難な原油を微生物で分解して水素に変換し、そこに地上から CO₂ を圧入することによって、これらを微生物反応によりメタンに再変換するものであるため、いわば原油をメタンガスに変換（ガス化）して取り出すことになり、高い回収性が期待される。さらにエネルギー使用量に占める天然ガスの比率は、近年、CO₂ 排出量の低減等を背景に増加の一途をたどっており、世界規模での永続的な安定供給が望まれていることから、原油をメタンガスエネルギーに変換することのメリットは大きいと考えられる。

2.5. 将来にわたるエネルギー需要・政策と MRMD 技術

これまで我国で使用している天然ガスのほとんどは、東南アジア諸国を始め、海外に依存しているのが実情である。また最近の石油鉱業連盟の発表によると、天然ガスの可採年数は約 60 年との見通しが立てられている³⁷⁾ こと等から、今後は、我国自前の天然ガス開発の必要性が指摘されている。我国において自前の天然ガス開発を

進めるには、我国において新規な鉱区を発見するか、あるいは諸外国が保有する鉱区の開発権益を獲得することが不可欠となる。前者に対してはメタンハイドレートが例示されるが、天然ガス資源として活用するには採算性のある回収技術が不可欠であることから、実用時期はまだ数十年先と考えられている。そこで筆者らが研究を進めている MRMD 技術を用いて新たな鉱区を創造できれば、我国自前の天然ガス開発に弾みがつくものと考えられる。一方後者については、今後、開発権益の見返りとして対価を支払うだけでなく、相手国にとって重要な技術供与が必要とされる時代になると考えられる。そこで、筆者らが研究を進めている MRMD 技術は、海外諸国の天然ガス開発権益のみならず、石油資源の開発権益の獲得においても強力な基盤技術となることが期待される。

3. MRMD 技術の概要

3.1. 陸上地下深部の微生物生態系と油層常在微生物

3.1.1. 陸上地下深部の微生物生態系

陸上の地下深部では、水素依存型の形態系、すなわち、水素を無機栄養の起源とした化学合成無機栄養性生物から成る生態系が構築されているという概念が提唱されている^{11,12,24)}。具体的には、地球内部では水素や CO₂ を主体とする Geogas が無機的に生成されており、それらのガスを利用して無機あるいは酢酸を経由してメタンが生成されているという概念である。無機的なメタン生成は、CO₂ の酸素を利用して分子状水素 (H₂) を酸化する嫌気呼吸（炭酸呼吸）、いわゆる CO₂ の還元反応であり、酢酸を経由したメタン生成は、メタン発酵と呼ばれる。また Geogas のうち CO₂ は、高等植物等に由来する陸原有機物の初期成成過程において放出され、Geogas に含まれる水素は、地下水（熱水）と高温岩体中（玄武岩等）の還元剤（鉄鉱物等）との無機反応や、岩石形成時の化学反応等により供給されていると考えられている⁴¹⁾。

3.1.2. メタンの生成起源

メタンの生成起源については、地熱作用による有機物分解起源と、微生物起源が提唱されている。ガス組成とメタンの炭素同位体比に基づいた評価により、微生物起源の天然ガスは全世界の天然ガス埋蔵量の 1/5 以上と見積もられ²⁷⁾、日本をはじめ、イタリア、北米、メキシコ湾などに広く分布していることが明らかになっている²⁸⁾。近年、日本近海のメタンハイドレートを含んだ堆積物試料からメタン生成アーキアが検出され¹⁶⁾、また、パリの油田から超好熱性のメタン生成アーキアや超好熱性のバクテリアが発見されている²⁵⁾ こと等から、天然ガス生成に関わる微生物が次第に明らかになりつつある。

これまで微生物起源の天然ガスのほとんどが、陸域の火成岩（特に炭酸塩鉱物が共存する海成層）中に認められており、海成層中の弱アルカリ性環境下では、CO₂ 還元メタン生成アーキアによるメタン生成が主要な反応となっている。したがって天然ガス生成には、CO₂ 還元メタン生成アーキアの活動が深く関与していると考えられている³⁶⁾。

以上のように、メタン生成アーキアによる鉱床成因を理解することは、21 世紀の天然ガス資源の探鉱・開発

においても重要と考えられる。

3.1.3. 油層常在微生物に関する従来の研究

油田は大深度で温度が 30 ~ 100°C 以上にもなることから、極限微生物の棲息場所として古くから注目されている。旧ソ連では 1930 年代から 1950 年代にかけて油層水中の微生物相について調査が行われている^{4,7)}。しかし初期段階における研究のためデータの不明瞭な点が多い。また 1990 年頃になって炭酸塩岩油層や砂岩油層の油層水に棲息する微生物が調べられ、多様な細菌群が分離されているが¹⁾、いずれも選択培地等を用いた簡易的な手法により類別・解析されているため、MEOR の技術開発に対して重要な情報を与え得る細菌の群集構造を把握するには至っていない。その後、2000 年頃にかけて、培養を介さない分子生物学的手法を利用して油層水中に棲息する各種微生物の解析が行われるようになり²⁾、これまでに、硫酸還元菌 (*Desulfovibrio* sp., *Desulfotomaculum* sp. 等)、硝酸還元菌群、鉄還元菌 (*Shewanella* sp., *Deferribacter* sp. 等)、メタン生成アーキア (*Methanobacterium* sp., *Methanocalculus* sp., *Methanococcus* sp. 等) および嫌気発酵菌 (*Anaerobaculum* sp., *Thermoanaerobacter* sp., *Geotoga* sp., *Thermotoga* sp., *Petrotoga* sp. 等) が報告されている²⁾。

以上より、油層内には多様な常在微生物が存在しており、多様な微生物反応の場として高いポテンシャルを有していると考えられる。

3.2. MRMD 技術の概要

3.2.1. 従来の研究

2.1 で述べたように、CO₂ 地中貯留については国内外において各種の取り組みがあるが、MRMD 技術に特化した実験研究は、筆者らが研究を開始するまで他に例を見なかった。その理由としては、下記に示す事項について、これまで具体的な実験検討がなされておらず、技術的あるいは経済的な検証ができていないことが挙げられる。

- ①実油田試料を用いた検討による天然ガス鉱床の再生に対する技術的な可能性、経済性の評価
- ②天然ガス鉱床の再生が期待できる油田を見極めるための評価技術 (地質学的、微生物学的)
- ③利用可能な枯渇油田・ガス田のスクリーニング評価基準

そこで筆者らは、上述の点を考慮し、まず①に焦点をあてて研究を進めてきた。

3.2.2. 技術概要

CO₂ 還元メタン生成アーキアによる天然のメタン生成活動の主要な支配的因子として、CO₂ の供給が挙げられる。すなわち、3.1.1 で述べたように、油層を含む地下深部では陸源有機物の初期続成過程において放出される CO₂ がメタン生成反応に利用されているため、天然の状態では、陸源有機物の存在と CO₂ の放出量・速度が律速因子となっている。そこで、筆者らが研究を進めている MRMD 技術では、温室効果ガスとしての CO₂ を地上から油層内に圧入し、CO₂ 還元メタン生成アーキアの活動を活性化させることを想定している。さらにこれに加えて、岩石反応を主体とする Geogas としての水素生成以外に、油層に棲息する水素生成菌を利用して水素を

積極的に供給し、CO₂ 還元メタン生成アーキアによるメタン生成活性を飛躍的に高めることを想定している。したがって、本 MRMD 技術では、水素生成菌と CO₂ 還元メタン生成アーキアのスムーズな種間水素伝達が重要となり、複合微生物系かつ大深度地下油層環境下で、これらの微生物活動を人為的に制御し、効果を発揮させるオペレーションが不可欠となる。

MRMD 技術における水素生成の基質としては、グルコースやモラセス (廃糖蜜) などの炭水化物が挙げられるが、究極的な技術として、枯渇油田に残存する原油の利用を想定している。また、想定しているフィールドオペレーション技術としては、水素生成の基質や活性化因子などを油層に圧入して、油層内に常在する土着の水素生成菌や CO₂ 還元メタン生成アーキアの働きを利用する方法、あるいは、能力の高い水素生成菌や CO₂ 還元メタン生成アーキアを、基質や活性化因子とともに油層内に圧入する方法等を想定している。

3.2.3. 技術の特徴

筆者らが研究を進めている MRMD 技術の波及効果を以下にまとめる。

- ①極めて経済性の高い天然ガス生産プロセスを構築できる可能性がある。
- ②天然ガスの永続的な安定供給にも、世界規模で貢献できる。
- ③我国の地球温暖化防止対策に大いに役立つ。
- ④CO₂-EOR を軸にした新エネルギーシステムや新産業の創出に大きく貢献できる可能性がある。
- ⑤他国企業に対して我が国の優位性を獲得・維持することによって、海外諸国の石油・天然ガスの開発権益の獲得においても強力な技術となる。

またこれら以外に、MRMD 技術の場合は、枯渇油田内で再生したメタンを地上に回収することにより、枯渇油田に再び CO₂ を圧入でき、限られた CO₂ 地中貯留場所を再利用できるというメリットもある。

そして MRMD 技術の検討を通じて、天然ガスの成因の一つとして知られる生物起源説に新たな知見を提供することにより、天然ガス資源の探査・回収技術に新たな道を開くことも期待される。

3.2.4. 実用の可能性

筆者らが研究を進めている MRMD 技術は、最終的に、大規模な油田を対象としたフィールドオペレーション技術に移行することになり、特に、大深度地下油層環境下の複合微生物系で、水素生成菌と CO₂ 還元メタン生成アーキアの活動を人為的に制御し、メタン生成を加速させるオペレーション技術を確認することが不可欠となる。これに対して藤原らは、MRMD 技術と同様に、油層内での微生物の制御を伴う原油増進回収技術 (微生物攻法: MEOR) のフィールドテストを通じて、油層内の微生物活動を人為的に制御することにより、目的とする原油の増進回収効果を導くことが可能であることを実証した^{5,39)}。MEOR は、目的微生物を直接地下の油層内に圧入・増殖させ、各種の生成物を代謝させることにより、原油増進回収率の向上を図る技術であり、既存油田における原油増進回収技術の中で、最も低コストかつ環境に対する無害性を合わせもつ技術として注目されている。

以上より、MRMD 技術の根幹を成す油層内での微生物

物制御技術（フィールドオペレーション技術）の実用化に際しては、既にフィールドレベルの検討段階に入っている MEOR のノウハウを有効に活用することが望ましく、これにより実用化を加速的に進展させることが可能になると考えられる。

4. 炭水化物の嫌氣的分解に伴う水素・メタン生成の技術的可能性・経済性評価（加速試験）

筆者らはまず、油層内における MRMD に関与すると考えられる微生物群（水素生成菌および CO₂ 還元メタン生成アーキア）の棲息状況を調査し、天然ガス鉱床の再生が期待できる油ガス田を絞り込んだ。次いで、MRMD に関与する微生物（分離菌）および未分離の油層常在菌群をそれぞれ用いて、MRMD 技術の技術的可能性を評価した。なお、本技術において最終的にターゲットとすべき水素生成菌は、油層内の残油を利用することにより水素を生成可能な原油成分分解性水素生成菌であるが、微生物による水素生成速度は極めて遅いと予測されていることから⁹⁾、本章では炭水化物資化水素生成菌を対象とした加速実験系を構築し、MRMD 技術の技術的可能性を評価した。

4.1. 油層試料の採取

筆者らはまず、帝国石油株式会社が保有する国内の油ガス田の中から、油田 2ヶ所、ガス田 3ヶ所を選定し、油層水試料を採取した。油ガス田の特徴を表 1 に示す。選定した油ガス田の深度は 1200 ~ 2500m、貯留層温度は 40 ~ 120°C、貯留層圧力は 5 ~ 18MPa であった。

4.2. 微生物相解析結果に基づく油ガス田の選定

採取した油層水試料に含まれる微生物細胞を適宜濃縮した後、微生物 DNA の抽出を行った。次いで、PCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 法¹⁸⁾ により、油ガス層に棲息する水素生成菌、メタン生成菌の検出を試みた。

DGGE 解析の結果、八橋油田由来の油層水・原油より *Clostridium* sp. が検出され、さらに原油試料から *Petrotoga* sp. と *Anaerobaculum* sp. が検出された(表 2)。 *Thermotoga* sp. に属する *Petrotoga* sp. は、至適温度が 50~60°C で、メキシコ、テキサス、北海、シベリアの油田から検出されている^{8,13,17,31)}。一方、*Anaerobaculum* sp. も油井から発見されており^{15,21,26)}、至適温度は 55°C である。また、八橋油田の油層水・原油から、CO₂ 還元メタン生成アーキアとして、*Methanoculleus* sp. や

表 1. 油ガス田の特徴

分離源	ガス田			油田		
	水溶性ガス田		構造性ガス田		南阿賀（新潟）	八橋（秋田）
	成東（千葉）	東柏崎（新潟）	磐木沖（福島）	間隙水		
試料	間隙水	コア	コア	間隙水	油層水 / 原油	油層水 / 原油
深度 (m)	1600	1671	2500	2200	2200	1200
油層温度 (°C)	40		120	69	103	50-75
油層圧力 (MPa)	15		16	5	18	3-5
塩分濃度 (ppm)	19600		10000	13000	7000	2600-12000

表 2. 油ガス田試料から検出された真正細菌

	油層水起源		原油起源
	八橋	<i>Clostridium</i> sp.	<i>Anaerobaculum thermoterrenum</i>
油田		<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Petrotoga mobilis</i>
		<i>Geobacter metallireducens</i>	
		<i>Nitrobacter winogradskyi</i>	
		<i>Desulfotomaculum thermobenzoicum</i>	
		<i>Desulfitobacter alkalitolerans</i>	
	南阿賀	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Methylobacterium</i> sp.
		<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Pseudomonas iners</i>
		<i>Streptomyces avermitilis</i>	
		<i>Corynebacterium diptheriae</i>	
		<i>Clostridium</i> sp.	
水溶性ガス田	成東	<i>Clostridium</i> sp.	—
	東柏崎	<i>Desulfotomaculum</i> sp.	
構造性ガス田		<i>Desulfovibrio alaskensis</i>	—
		<i>Acetobacterium wieringae</i>	
	磐木沖	<i>Delftia acidovorans</i>	—

表 3. 油ガス田試料から検出された古細菌

	油層水起源	原油起源	
油田	八橋	<i>Methanoculleus</i> sp. <i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i> <i>Methanocalculus halotolerance</i> <i>Methanosarcina mazei</i>	<i>Methanoculleus</i> sp. <i>Methanocalculus halotolerance</i>
	南阿賀	<i>Methanoculleus</i> sp. <i>Methanosaeta</i> sp.	<i>Methanoculleus</i> sp. <i>Methanosaeta</i> sp.
	成東	<i>Methanocalculus halotolerance</i> <i>Methanocalculus pumilus</i>	—
	東柏崎	<i>Methanocalculus halotolerans</i>	—
水溶性ガス田	磐木沖	<i>Methanobacterium formicicum</i>	—

Methanothermobacter thermoautotrophicus が検出された (表 3)。*Methanoculleus* sp. の至適温度は 40–50°C であり、これまで油田から検出された事例は見当たらないが、*Methanothermobacter thermoautotrophicus* は至適温度が 65°C であり³³⁾、これまでロシアの複数の油田から検出されている。

以上より、1,000m 以深の油ガス層内から汲み上げられる流体中に水素生成菌ならびに CO₂ 還元メタン生成アーキアの存在が DNA レベルで明らかになり、MRMD が期待できる油田として、八橋油田 (秋田県) が有力と考えられた。

4.3. 炭水化物の嫌氣的分解に伴う水素・メタン生成の技術的可能性評価 (加速試験)

4.3.1. MRMD に関与する嫌気性菌 (分離菌) を用いた MRMD の技術的可能性評価

(1) 水素生成菌の集積培養

まず、4.2 において水素生成菌の存在が DNA レベルで確認された八橋油田から油層水、原油を採取し、OXOID 社製栄養培地 RCM (Reinforced clostridial medium) を用いて、大気圧条件下、50°C で集積培養を行った。RCM 培地は、4.2 の DGGE 解析の結果、八橋油田の油層水から確認された水素生成菌 *Clostridium* sp. の培養に適した組成となっている。培養に際しては、上記培地に油層水あるいは原油を添加し、気相部を N₂ にて置換した。一定期間培養後、気相部のガス分析を行った結果、水素の発生が確認され、水素生成菌の存在が示唆された。

(2) CO₂ 還元メタン生成アーキアの集積培養

CO₂ 還元メタン生成アーキアの集積培養には、*Methanococcus maripaldis* 用培地²⁰⁾ および *Methanocalculus halotolerans* 用培地²³⁾ の 2 種類の培地を使用した。培養に際しては、上記培地に、4.2 において CO₂ 還元メタン生成アーキアの存在が DNA レベルで確認された八橋油田の油層水あるいは原油を添加し、気相部を H₂/CO₂ (80/20, vol./vol.) の混合ガスにて置換して 0.2MPa に加圧した後、50°C の温度条件で培養を行った。一定期間培養後、気相部のガス分析を行った結果、メタン発生が確認され、CO₂ 還元メタン生成アーキアの存在が示唆された。

(3) 集積培養液中の微生物相の把握

集積培養において水素、メタン生成が確認された培養液から DNA を抽出し、PCR-DGGE 法により微生物相

を把握した。その結果、水素生成菌として *Thermoanaerobacter tengcongensis*, *Anaerobaculum thermoterrnum*, *Thermotoga* sp. が、またメタン生成アーキアとして *Methanosaeta soehngeni*, *Methanoculleus palmolei* と高い相同性を示す微生物がそれぞれ確認された。またこれらのうち、*T. tengcongensis*, *A. thermoterrnum* および *Methanoculleus palmolei* が、集積培養における優占種の一種であることが明らかになった。

以上の結果より、八橋油田油層水には水素生成菌、CO₂ 還元メタン生成アーキアが棲息していることが示唆された。

(4) 各種微生物の分離

集積培養の結果、メタンの発生が多く見られた培養液から、ロールチューブ法により水素生成菌、CO₂ 還元メタン生成アーキアの分離を試みた。本実験では、培養を 50°C または 75°C で行うため、ロールチューブ内に注入する培地のゲル固定化剤としてゲランガムを使用し、分離精度を上げるため分離培養を 3 度繰り返した。

その結果、50°C で集積培養した培養液から、集積培養における優占種であった水素生成菌 *Thermoanaerobacter tengcongensis* HYH-1 株、*Anaerobaculum thermoterrnum* HYH-2 株が分離された。さらに水素生成菌、CO₂ 還元メタン生成アーキアの共生菌群として Consortium MYH-3 株 (水素生成菌 : *Soehngenia saccharoytica*, CO₂ 還元メタン生成アーキア : *Methanoculleus palmolei* の混合菌) が分離された。これらの微生物はアメリカ、中国およびフランスの油田から検出されたとの報告^{26,30)} もあることから、分離された微生物は、八橋油田を始め、世界の油田に棲息しうる普遍性の高い代表的な油層常在微生物と考えられた。

(5) 分離微生物のガス生成能力評価 (大気圧条件下)

次に、分離した水素生成菌、CO₂ 還元メタン生成アーキアの水素・メタン生成状況をそれぞれ確認するため、バイアル瓶内に滅菌油層水と Yeast extract を注入し、気相部ガスの設定を集積培養と同様に設定して培養し、水素生成速度、メタン生成速度をそれぞれ求めた。

その結果、*T. tengcongensis* HYH-1 株、*A. thermoterrnum* HYH-2 株の最大水素生成速度は、それぞれ 0.05 ml/L-med/h、0.27 ml/L-med/h であった。また、Consortium MYH-3 株では 7.63 ml/L-med/h の最大メタン生成速度が確認された。これらの結果は、既知の水素生成菌 (常温大気圧下)¹⁴⁾、CO₂ 還元メタン生成アーキア (常温

大気圧下)の生成能力³⁸⁾と比較すると、水素生成速度は1000分の1程度、メタン生成速度は約6倍程度であった。

さらにフィールドテストを想定して、モラセス(廃糖蜜)を炭素源とした *T. tengcongensis* HYH-1 株, *A. thermoterrnum* HYH-2 株の培養試験(高温大気圧下)を実施した。バイアル瓶内に滅菌油層水とモラセスを注入し、気相部ガスの設定を集積培養と同様にして培養を行った結果、最大水素生成速度は、それぞれ 0.02 Nml/L-med/h, 0.11 Nml/L-med/h となり、両株において Yeast extract を添加した場合と同等の水素生成が確認された。

(6) 分離微生物のガス生成能力評価(油層条件下:高温・高圧)

分離された水素生成菌, CO₂還元メタン生成アーキアの油層条件(高温・高圧)下での水素, メタン生成速度(Nml/L-med/h)を評価した。具体的には、内容積1LのSUS製ダブルエンドポンプ(図3)に滅菌油層水を張り込み、そこに分離された水素生成菌, CO₂還元メタン生成アーキアならびに Yeast extract をそれぞれ加えて、気相部ガスの設定を集積培養と同様にし、50°C, 油層圧力下(5MPa)で培養した⁶⁾。培養一定期間毎に、ガスクロマトグラフによるガス組成分析を行い、本結果に基づいて水素とメタンの生成速度を求めた。さらに、培養液中の微生物濃度, pH や有機酸濃度の測定を行った。

その結果、油層環境(高温, 高圧)下における水素およびメタン生成速度に関して、以下の知見が得られた。

- 50°C, 5MPa の条件下での *T. tengcongensis* HYH-1 株, *A. thermoterrnum* HYH-2 株の水素生成速度は、共に 1.0 Nml/L-med/h 前後であった(図4)。また気相部に基質ガス 80% H₂ + 20% CO₂ を注入して Consortium MYH-3 株を培養した場合、メタン生成速度は 16 Nml/L-med/h 前後であった。
- 以上より、水素生成菌 *T. tengcongensis* HYH-1 株, *A. thermoterrnum* HYH-2 株および水素生成菌と CO₂還元メタン生成アーキアの共生菌群 Consortium MYH-3 株は、水素とメタン生成に対して、培養圧力による悪影響を受けず、逆に高圧条件下で促進される傾向がみられた。これは、陸棲微生物の多くは大気圧から 30MPa 付近まで増殖にそれほど影響を受けないことが報告されており⁴⁰⁾、また本実験では、八橋油田と同様の油層圧力(3~5MPa)に設定したことから、5MPa までの加圧条件下では、微生物活動に影響がみられなかったものと考えられる。

(7) 分離微生物のガス生成能力評価(油層条件下:高温・高圧・微小孔隙)

より油層環境に近い条件下で、MRMD 技術の技術的な可能性を評価することを目的として、分離された水素生成菌, CO₂還元メタン生成アーキアを、微小孔隙環境を加味した油層条件下で培養し、水素, メタン生成速度を把握した。具体的には、油層地質構造の微小孔隙空間をイメージしたベリア砂岩コア(直径:1.5インチ,長さ:約30cm,空気浸透率:300-500md,孔隙率:22%前後)をセットしたコアホルダー(図5)に、Yeast extract を添加した滅菌油層水を圧入し、そこに分離された水素生

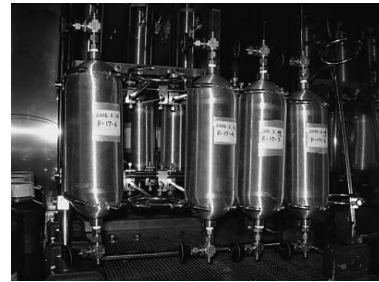


図3. 油層環境下(高温・高圧)実験装置

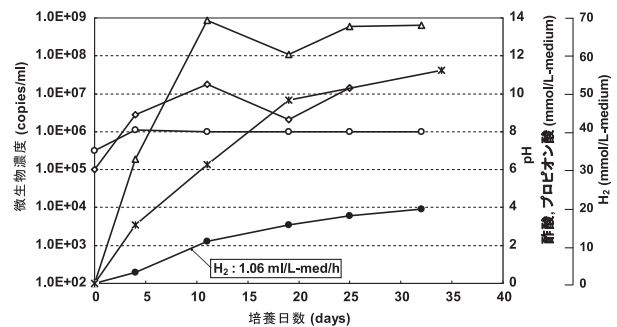


図4. 油層環境下での *A. thermoterrnum* HYH-2 の水素生成(50°C, 5MPa)

◇: 微生物濃度 ●: H₂ 生成 ○: pH
△: 酢酸濃度 ※: プロピオン酸濃度

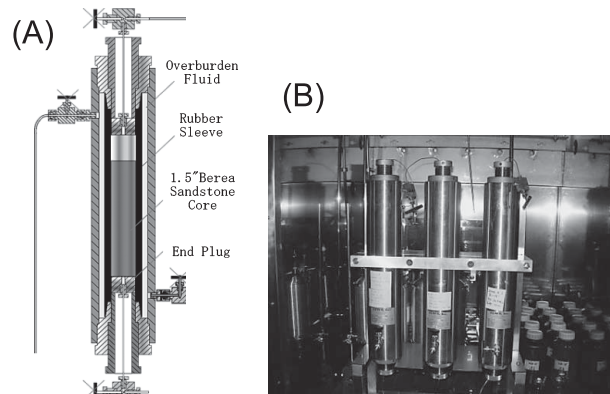


図5. 油層環境下(高温・高圧・微小孔隙)実験装置
(A) 装置内部図 (B) 装置写真

成菌, CO₂還元メタン生成アーキアをそれぞれ圧入した。次いで、コアの下端から培養液を10ml抜き取り、同時にコアの上端から N₂/CO₂=90/10 (vol./vol.) ガスを圧入し、初期圧力を油層圧力(5MPa)に設定して、50°Cで培養した⁶⁾。

培養一定期間毎に、ガスクロマトグラフによるガス組成分析を行い、水素とメタンの生成速度を求めた結果、*T. tengcongensis* HYH-1 株, *A. thermoterrnum* HYH-2 株は、高温・高圧・微小孔隙条件下においても水素を生成し、また Consortium MYH-3 株は、微小孔隙環境を付加したことにより、メタン生成活性が2倍以上向上することが確認された。しかし *A. thermoterrnum* HYH-2 株と

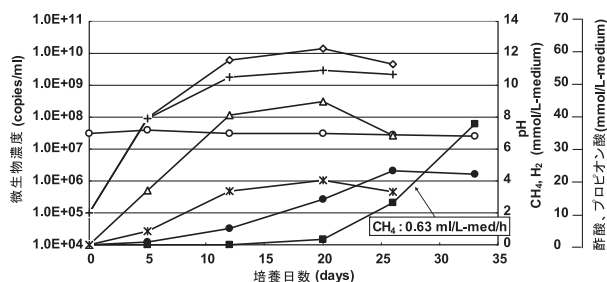


図6. 油層環境下での *A. thermoterrnum* HYH-2 と Consortium MYH-3 との共培養による水素・メタン生成 (50°C, 5 MPa)
 ◇: 微生物 (真正細菌) 濃度 +: 微生物 (古細菌) 濃度 ●: H₂ 生成量 ○: pH ■: CH₄ 生成量

Consortium MYH-3 株とを組み合わせた培養試験では、最大メタン生成速度が 0.63 Nml/L-med/h 前後となり (図6)、Consortium MYH-3 株単独の場合の 1/50 ~ 1/60 であったことから、メタン生成に対して水素生成速度が律速因子となっていることが示唆された。

4.3.2. MRMD に関する油層常在菌群 (未分離) を用いた MRMD の技術的可能性評価

水素生成菌や CO₂ 還元メタン生成アーキアを分離する前の油層水に棲息する油層常在微生物群による水素、メタン生成速度を、微小孔隙環境を加味した油層条件下で評価した。具体的には、4.3.1 の (7) と同様な手法でベレア砂岩コアをセットしたコアホルダーに、Yeast extract を添加した生菌を含む油層水を圧入し、コアの上端から N₂/CO₂=90/10 (vol./vol.) ガスを圧入して油層圧力 (5 MPa) に設定し、50°C で培養した⁹⁾。

その結果、8.2 Nml/L-med/h の最大メタン生成速度が観測され、分離菌よりも活発にメタン生成が行われることが示唆された。また全てのメタンが CO₂ 還元メタン生成アーキア起源であると仮定すると、本メタン生成速度から推定される最大水素生成速度は 32.8 Nml/L-med/h であり、分離菌 (*T. tengcongensis* HYH-1 株, *A. thermoterrnum* HYH-2 株) の約 30 倍であったことから、油層水中には、分離菌以外にも複数の水素生成菌が存在しており、これらが生産する水素がメタン生成に寄与していることが示唆された。

また、培養試験後、ベレア砂岩コア内の微生物分布を、Real Time PCR 法により評価し、ベレア砂岩コア内の微生物活動を推定した。具体的には、コアの油層水圧入口、圧入口から 10 cm、圧入口から 20 cm、出口のそれぞれの部分から試料を削り取り、超音波処理により微生物を遊離させた後に DNA 抽出を行った。次いで、*T. tengcongensis* HYH-1 株, *A. thermoterrnum* HYH-2 株, Consortium MYH-3 株を用いてスタンダード試料を調整し、真正細菌に特異的なプライマー (Bac349F [5' -AG-GCAGCAGTDRGGAAT-3'], Bac806R [5' -GGACTA-CYYGGGTATCTAAT-3']) およびアーキアに特異的なプライマー (Ar109f [5' -ACKGCTCAGTAACACGT-3'], Ar912r [5' -CTCCCCGCCAATTCCTTTA-3']) を用いた Real Time PCR 法により、水素生成菌とメタン生成アーキアを定量した³²⁾。その結果、水素生成菌を含む真正細菌は、油層水圧入面から 10 cm 付近まで 2.0 ×

10⁶ ~ 2.5 × 10⁶ cells/wtg の濃度で検出され、油層水圧入面から 20 cm ~ 30 cm 付近では検出限界以下であった。これは、本実験において Yeast extract を添加した生菌を含む油層水をコアの一端から圧入したため、注入面付近で水素生成菌を含む真正細菌が生育し易かったためと考えられる。また培養液内で生成した水素は水に対する溶解性が低いため、培養液や発生ガスのサンプリングに伴ってガス状態で出口付近に移行 (上昇) し、出口面付近の水素分圧が高くなったために、出口面付近に存在する水素生成菌を含む真正細菌が生育阻害を受けた可能性も考えられた。これに対して、CO₂ 還元メタン生成アーキアは、油層水圧入面から 20 cm 付近まで検出されず、逆に 20 ~ 30 cm (コア上端部: 出口面) 付近で 1.2 × 10⁷ ~ 8.6 × 10⁸ cells/g の濃度で検出された。これは上述のように、水素が出口面付近に移行 (上昇) したことや、コアホルダー内に圧入した N₂/CO₂=90/10 (vol./vol.) ガスが出口面付近に高濃度に存在したため、CO₂ 還元メタン生成アーキアが出口面付近に偏って増殖したものと考えられる。

4.4. シミュレーターの開発とフィールドスケールでのメタン再生挙動予測

筆者らが研究を進めている MRMD 技術の中で、炭水化物を圧入するフィールドオペレーション技術の開発を数値的・理論的な側面から支援するツールとして、天然ガス鉱床の再生過程を予測可能なシミュレータを開発した。

まずプロトタイプシミュレータ (静的条件下で水素およびメタンの生成過程を再現するプログラム) およびカナダの Computer Modelling Group Ltd. (CMG 社) が開発・販売している動的条件下でのシミュレーションが可能な STARS を改良して、メタン再生過程を模した室内実験を表現できるようにした。次に改良した両シミュレータを用いて、有用と思われる室内実験の挙動とのマッチングを行った。さらにこれらの知見を反映して、仮想貯留層におけるフィールドスケールでのメタン再生過程を予測した (図7)。

その結果、油層内におけるメタン生成速度を 3 ~ 5 倍程度左右する因子の一つに、栄養源、微生物の圧入井近傍の局所的な分布が挙げられると推察された。すなわちメタンの生成量は微生物の増殖能力ではなく、栄養源の消費速度に律速されることが判明した。したがって、この課題を克服し、メタンの生成量を増加させるには、できるだけ多くの坑井から栄養源を圧入することが望ましいと考えられた。さらに、炭水化物を栄養源とする微生物のみならず、原油成分を栄養源として利用可能な微生物を活用することが有効であることが示唆された。

4.5. 経済性評価 (加速試験)

枯渇油田として八橋油田を対象とし、同油田への CO₂ の圧入終了後に、高温高压条件下の実験において得られたメタン生成速度がメタン生成の全期間にわたって維持されると想定したうえで経済性を評価した。

具体的な前提条件としては、長期的なメタン再生を図るために炭素質としてモラセス (廃糖蜜) を圧入するものとした。また CO₂ 圧入期間は油層の圧入可能量や

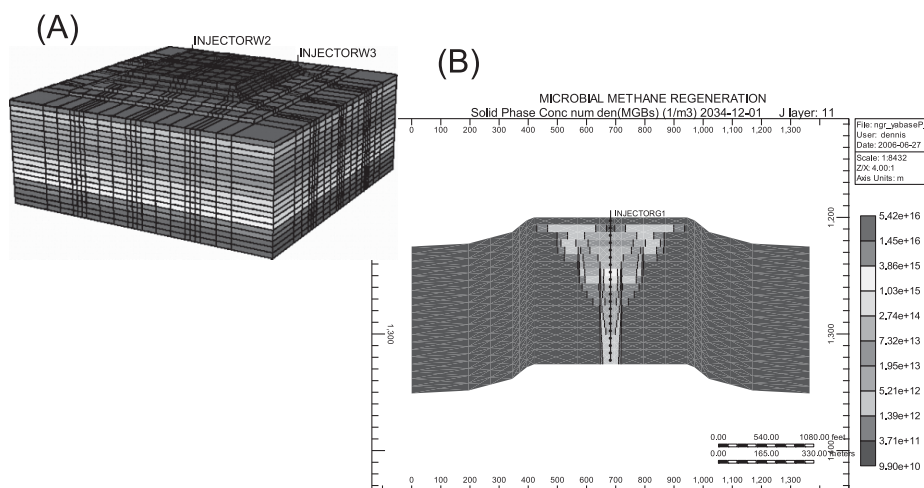


図7. STARSによるメタン再生過程の動的シミュレーション
(A) 仮想貯留層 (B) CO₂還元メタン生成アーキア濃度

圧入井の圧入能力等から20年と想定し、圧入終了後は、すべての坑井を密閉した上で貯留されたCO₂の50%がメタンに変換され、既存のガスセールスパイプラインにより輸送販売されるものとした。なお、この前提条件において、経済性に影響する収入源としては、CO₂貯留に伴う排出権収入および生成されたメタンの販売収入であり、収入として大きな要素となり得る原油の増進回収(CO₂圧入効果)に伴う増産原油の販売収入については考慮せず、かなり悲観的な前提での経済性検討とした。一方、支出はCO₂の分離、輸送を含む圧入コストならびにメタンの回収コストとなる。特にメタンの回収コストは、①枯渇ガス田のポテンシャル評価(微生物学的評価コスト)、②メタン再生オペレーション(操業費:設備費、材料費[モラセス、微生物活性化材]、運転員費)、③メタン再生モニタリング(微生物のメタン生成活性・油層内メタン濃度のモニタリング)、④メタン回収オペレーション(設備費、運転員費)にかかるコストを見積もった。

以上を前提として経済性評価を行った結果、炭水化物を基質とした場合には、以下の条件を満たせば十分に採算のとれるプロジェクトになり得ることが示唆された。

- ①メタン生成実験で得られた生成速度を維持できること。
- ②メタンの生成効率、すなわち圧入したCO₂がメタンに転換し、キャップロックにトラップされる割合が50%程度以上であること。
- ③圧入したCO₂、炭水化物、常在微生物が均質に混合され、水素生成およびメタン生成反応がスムーズに進行すること。

さらに、メタンの販売価格が42,000円/トンであれば、CO₂排出権取引価格を考慮せずとも採算限界(IRR 0%)以上になることが示唆され、これに加えて、CO₂排出権取引価格が5000円/トンに設定されれば、メタン再生オペレーションのIRR(内部収益率)は4.7%となり、収支が改善されることが示された。

5. 原油の嫌氣的分解に伴う水素・メタン生成

前章において、炭水化物を基質とした培養実験の結果、実油田に存在する水素生成菌ならびにCO₂還元メタン生成アーキア的作用によって、油層環境(高温・高圧・微小孔隙)下で、油層に圧入したCO₂のメタン変換反応が進行することが明らかとなり、経済性も見出された。そこで更なる展開として、有機物基質を油田の残油成分に置き換えることができれば、より有効な炭素循環が可能となるだけでなく、取り残し原油の有効利用にもつながることから、環境、エネルギー資源の両面において画期的なMRMD技術となる可能性がある。本章では本技術の技術的な可能性に関する研究事例を紹介する。

5.1. 油層常在微生物群を用いた水素・メタン生成(大気圧条件下)

本項では、油層水中に棲息する常在微生物群(原油成分分解性水素生成菌およびCO₂還元メタン生成アーキア等)を利用したメタン生成実験系について検討を行った。まず、八橋油田から油層水、原油を採取し、滅菌したバイアル瓶に油層水を充填した。さらに油層水の上部に、炭素源として原油を少量添加した。なお本実験では、コントロールとしてメタン生成阻害剤BES(Bromo-Ethane-Sulfonic Acid Sodium Salt)を添加した培養系を設けた。BESは、CO₂還元メタン生成アーキアのメタン生成の最終段階に出現するメチル-S-CoMの類似物質としてメチル-S-CoMリダクターゼ(Mcr)の反応を拮抗阻害するだけでなく、Ni(I)F430の酸化状態を変化させ、Mcrを不活化するなどの作用により、メタン生成を抑制することが知られている。その後、気相部をN₂/CO₂=90/10(vol./vol.)の混合ガスにて置換し、0.2MPaに加圧した後、55°Cで静置培養した。また水素、メタン生成が確認された培養液からDNAを抽出し、PCR-DGGE法により微生物相を解析すると同時に、培養液の有機酸分析を実施し、微生物によるメタン生成メカニズムを推定した。

長期にわたる培養実験を継続し、約230日間のメタン

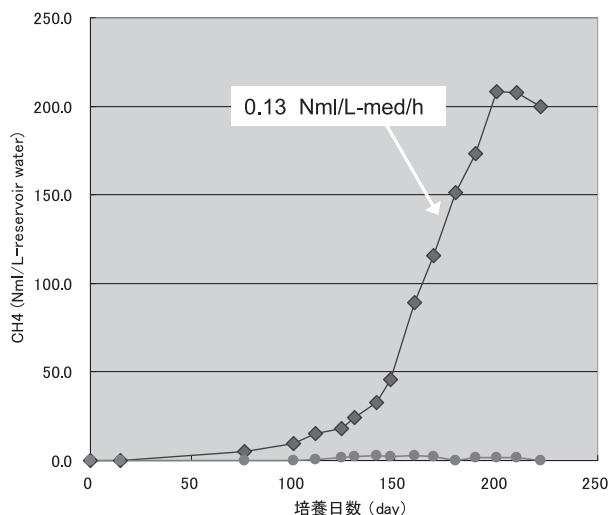


図8. 原油の嫌氣的分解に伴うメタン生成(50°C, 大気圧条件下)
◆ : BES (-) ● : BES (+)

生成量の推移を図8に示した。BES添加系ではメタン生成はほとんど見られなかったが、BES無添加系では、培養150日目からメタン生成が活発化し、メタン生成量は最大220Nml/Lとなった。またメタンの生成が終息するまで(培養200日目まで)の平均メタン生成速度は0.13Nml/L/hであった。

培養200日目の微生物相をPCR-DGGE法により解析した結果、培養後に新たに出現した真正細菌は、主に硫酸塩還元能を有する細菌であったことから、これらの微生物が原油分解ならびに水素生成に関わっていた可能性が考えられた。また古細菌については、培養前には酢酸資化性メタン生成菌(*Methanosarcina* sp.)やCO₂還元メタン生成アーキアの一類である(*Methanothermobacter thermautotrophicus*: 生育至適温度65°C)が存在していたが、培養後には、*Methanosarcina* sp.が消失し、*M. thermautotrophicus*や*Methanoculleus* sp.(生育至適温度: 40–50°C)が優占化していたことから、少なくともこれらのCO₂還元メタン生成アーキアが培養200日目付近のメタン生成に関与していたものと推測された。

さらに、有機酸分析を実施した結果、培養前の油層水中の酢酸濃度が232ppmであったのに対し、培養200日目の酢酸濃度は3ppmまで低下し、BES添加系では逆に酢酸濃度が364ppmまで増加した。これはすなわち、最大361ppm(364ppm–3ppm)の酢酸が培養に伴って消費されたことを示唆しており、この消費分が酢酸資化性メタン生成菌によって100%メタンに変換されたと仮定すると、最大メタン生成量(220Nml/L)の約60%が酢酸を基質としたメタン発酵で、残りの約40%がCO₂還元反応によるメタン生成であることが示された。また上記の微生物相解析結果を加味すると、本実験におけるメタン生成は次の2段階の反応によってもたらされていたものと推定された。

①培養初期段階で、油層水中に元々存在していた酢酸や原油分解に伴って生成された酢酸を基質としたメタン発酵が進行(メタン発酵の ΔG^0 は–31kJ/reaction)であり、メタン生成を伴うCO₂還元[ΔG^0 =–130.7kJ/reaction]

よりも進行し難いと考えられるが、培養初期にメタン発酵の基質[酢酸]のみが存在すれば、メタン発酵が優先的に進行するものと考えられる。

②続いて、酢酸基質が欠乏したところで、原油分解に伴って生成された水素を利用して、CO₂還元メタン生成アーキアがメタンを生成。

5.2. 油層常在微生物群を用いた水素・メタン生成 (油層条件下: 高温・高圧)

次に、油層条件を模擬した高压系での実験を試みた。具体的には、内容積1LのSUS製ダブルエンドポンペに生菌を含む油層水を張り込み、そこに少量の原油基質を添加して、N₂/CO₂=90/10(vol./vol.)ガスにより気相部の初期圧力を油層圧力(5MPa)に設定し、55°Cで培養した。なお本実験においてもコントロールとしてBESを添加した培養系を設けた。

その結果、BES添加系では、大気圧条件下での実験(図8)と同様に、メタン生成はほとんど見られなかったが、BES無添加系では、55°C、5MPaの条件下においても大気圧下での実験と同程度のメタンの生成量(210Nml/L)、メタン生成速度(0.14Nml/L/hr)が確認された。また培養液中の酢酸濃度は、培養前の油層水中の酢酸濃度が330ppmであったのに対し、BES添加系では400ppmに増加、BES無添加系では11ppmにまで減少しており、大気圧条件下での実験と同様な傾向が示された。以上の結果から、油層環境条件下において、原油の嫌氣的分解を利用したMRMDが技術的に可能であることが予感された。

5.3. 原油の嫌氣的分解を利用した MRMD 技術の今後の展望

本報では、これまでの筆者らの研究成果の一部を紹介したが、特に「原油の嫌氣的分解を利用したMRMD技術」の研究はまだ緒に就いたばかりであり、技術的な可能性を見極めるには、今後、CO₂還元メタン生成アーキアによる効率的なメタン生成を導出するための技術開発が不可欠と考えられる。特に、「原油の嫌氣的分解を利用したMRMD技術」では水素の生成が律速になると考えられることから、原油の中間分解産物の解析や水素分圧の影響検討等を通じて、水素・メタン生成の促進・制御因子を探索することが不可欠と考えられる。そして、一連のメタン生成反応において、如何にして原油からの水素生成量を化学量論に近づけ、また既知の化学量論を超えた新規の化学量論反応を見つけ出すかが重要になる。

一方、地下深部では、メタンを電子供与体、硫酸を電子受容体とする嫌氣的メタン酸化(CH₄+H₂SO₄→H₂CO₃+H₂S+H₂O)が行われていると考えられている²²⁾。この反応を担う微生物活動は、メタン生成菌に近縁なアーキア(ANME I, II, III)と δ -プロテオバクテリアに属する硫酸還元菌との共生によるものであることが知られており¹⁰⁾、メタン等の生産物が基質(水素・CO₂)の10⁵倍以上になると、メタン生成の逆反応により嫌氣的メタン酸化が進行する可能性が示唆されている²⁹⁾。またこの嫌氣的メタン酸化の反応速度は1~100nmol/cm³/day(0.0009~0.093ml/L/h)程度であるという報告もあることから、前述のメタン生成アーキア

によるメタン生成に影響を与えかねないものであると考えられる。そのため、今後は嫌氣的メタン酸化の回避についても研究を進める必要があると考えられる。そしてこれらの知見を踏まえて、枯渇油田に圧入した CO₂ が、有機物分解反応で生成した水素と共存し、CO₂還元メタン生成アーキアによってメタンに効率よく変換されるための反応の場の理解を深めることが重要と考えている。

6. 結 び

1990年代から現在にかけて、環境問題に関わる様々な技術開発が積極的に進められ、その要素技術として環境バイオテクノロジーも目覚ましい進展を遂げてきた。しかし10年、20年先のキーワードは、確実に“地球にやさしいエネルギー”へとシフトし、環境技術の行き着く先は、“地球にやさしいエネルギー技術”に集約されるであろうと筆者らは考えている。そこで、筆者らの研究によって始めてその可能性が示されつつあるMRMD技術も、今後、地球にやさしいエネルギー技術の一つと位置づけられ、環境バイオテクノロジーが夢の炭素循環システムに道を開くものと確信している。

謝 辞

本稿で紹介した研究の一部は、JOGMEC（独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構）の石油・天然ガス開発・利用促進型大型研究提案公募事業の受託研究としてなされたものである。また天然ガス鉱床の再生過程を予測可能なシミュレータを開発にご尽力頂いた日本オイルエンジニアリング（株）の栗原正典博士に謝意を表したい。

文 献

- Adkins, J.P., L.A. Cornell, and R.S. Tanner. 1992. Microbial composition of carbonate petroleum reservoir fluids. *Geomicrobiol. J.* 10: 87-97.
- Birkeland, N.K. 2004. Petroleum Biotechnology: Developments and perspectives, Chapter 14, pp.385-404. In R. Vazquez (ed.), *The microbial diversity of deep subsurface oil reservoirs*, Elsevier B.V., Amsterdam, Netherland.
- Damen, K., A. Faaij, F. Bergen, J. Gale, and E. Lysen. 2005. Identification of early opportunities for CO₂ sequestration—worldwide screening for CO₂-EOR and CO₂-ECBM projects. *Energy* 30: 1931-1952.
- Ekzertsev, V.A., and S.I. Kuznetsov. 1954. Investigation of the microflora of the oil fields of second baku. *Mikrobiologiya* 23: 3-14.
- Fujiwara, K., Y. Sugai, N. Yazawa, K. Ohno, C.X. Hong, and H. Enomoto. 2004. Biotechnological approach for development of microbial enhanced oil recovery technique, Chapter 15, pp.405-445. In R. Vazquez-Duhalt, and R. Quintero-Ramirez (ed.), *Petroleum Biotechnology: Developments and perspectives*, Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherland.
- Fujiwara, K., T. Mukaidani, S. Kano, Y. Hattori, H. Maeda, Y. Miyagawa, K. Takabayashi, and K. Okatsu. 2006. Research study for microbial restoration of methane deposit with subsurface CO₂ sequestration into depleted gas/oil fields. *Proceedings of Society of Petroleum Engineers*, 101248, Asia Pacific Oil and Gas Conference and Exhibition, Adelaide, Australia.
- Ginsburg-Karagicheva, T.L. 1933. Microflora of the oil waters and oil-bearing formations and biochemical processes caused by it. *Bull. Ame. Assoc. Petrol. Geol.* 17: 52-65.
- Haridon, S.L., M.L. Miroshnichenko, H. Hippe, M.L. Fardeau, E. Bonch-Osmolovskaya, E. Stackebrandt, and C. Jeanthon. 2001. *Thermosiphon geolei* sp. nov., a thermophilic bacterium isolated from a continental petroleum reservoir in Western Siberia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 1327-1334.
- Head, I.M., D.M. Jones, and S.R. Larter. 2003. Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil. *Nature* 246: 344-352.
- Knittel, K., T. Løsekann, A. Boetius, R. Kort, and R. Amann. 2005. Diversity and distribution of methanotrophic archaea at cold seeps. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 467-479.
- Kotelnikova, S. and K. Pedersen. 1998. Distribution and activity of methanogens and homoacetogens in deep granitic aquifers at Aspö Hard Rock Laboratory, Sweden. *FEMS Microbiol. Ecol.* 26: 121-134.
- Kotelnikova, S., and K. Pedersen. 1997. Evidence for methanogenic *Archaea* and homoacetogenic *Bacteria* in deep granitic rock aquifers. *FEMS Microbiol. Rev.* 20: 339-349.
- L'Haridon, S., M.L. Miroshnichenko, H. Hippe, M.L. Fardeau, E.A. Bonch-Osmolovskaya, E. Stackebrandt, and C. Jeanthon. 2002. *Petrogalea olearia* sp. nov. and *Petrogalea sibirica* sp. nov., two thermophilic bacteria isolated from a continental petroleum reservoir in Western Siberia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52: 1715-1722.
- Rachman, M.A., Y. Furutani, Y. Nakashimada, T. Kakizono, and N. Nishio. 1997. Enhanced hydrogen production in altered mixed acid fermentation of glucose by *Enterobacter aerogenes*. *J. Ferment. Bioeng.* 83: 358-363.
- Menes, R.J. and L. Muxi. 2002. *Anaerobaculum mobile* sp. nov., a novel anaerobic, moderately thermophilic, peptide-fermenting bacterium that uses crotonate as an electron acceptor, and emended description of the genus *Anaerobaculum*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52: 157-164.
- Mikucki, J.A., Y. Liu, M. Delwiche, F.S. Colwell, and D.R. Boone. 2003. Isolation of a methanogen from deep marine sediments that contain methane hydrates, and description of *Methanoculleus submarinus* sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 3311-3316.
- Miranda, T.E., M.L. Fardeau, P. Thomas, F. Ramirez, L. Casalot, J.L. Cayol, J.L. Garcia, and B. Ollivier. 2004. *Petrogalea mexicana* sp. nov., a novel thermophilic, anaerobic and xylanolytic bacterium isolated from an oil-producing well in the Gulf of Mexico. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 169-174.
- Muyzer, G., E.C. Waal, and A.G. Uitterlinden. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 695-700.
- Nako, M., and M. Fujioka. 2005. Multi well pilot test for Japan CO₂ geosequestration in coal seams project. *J. MMIJ* 121: 461-464.
- Nilsen, R.K., and T. Torsvik. 1996. *Methanococcus thermolithotrophicus* isolated from north sea oil field reservoir water. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 728-731.
- Orphan, V.J., L.T. Taylor, D. Hafenbradl, and E.F. Delong. 2000. Culture-dependent and culture-independent characterization of microbial assemblages associated with high-temperature petroleum reservoirs. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 700-711.
- Orphan, V.J., C.H. House, K.-U. Hinrichs, K.D. McKeegan, and E.F. Delong. 2001. Methane-consuming Archaea revealed by directly coupled isotopic and phylogenetic analysis. *Science* 293: 484-487.
- Ollivier, B., M.L. Fardeau, J.L. Cayol, M. Magot, B.K. Patel, G. Prentiss, and J.L. Garcia. 1998. *Methanocalculus halotolerans* gen. nov., sp. nov., isolated from an oil-producing well. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 821-828.

- 24) Pedersen, K. 1999. Subterranean microorganisms and radioactive waste disposal in Sweden. *Eng. Geology*. 52: 163–176
- 25) Reed, D.W., Y. Fujita, M.E. Delwiche, D.B. Blackwelder, P.P. Sheridan, T. Uchida, and F.S. Colwell. 2002. Microbial communities from methane hydrate-bearing deep marine sediments in a Forearc Basin. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3759–3770.
- 26) Rees, G.N., B.K. Patel, G.S. Grassia, and A.J. Sheehy. 1997. *Anaerobaculum thermoterrenum* gen. nov., sp. nov., a novel, thermophilic bacterium which ferments citrate. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 150–154.
- 27) Rice, D.D., and G.E. Claypool. 1981. Generation, accumulation, and resource potential of biogenic gas. *AAPG. Bull.* 5: 5–25.
- 28) Rice, D.D. 1992. Controls, habitat, and resource potential of ancient bacterial gas, pp.91–118. In R. Vially (ed.), *Bacterial gas*, Editions Technip, Paris, France.
- 29) Shima, S., and R.K. Thauer. 2005. Methyl-coenzyme M reductase (MCR) and the anaerobic oxidation of methane (AOM) in methanotrophic archaea. *Curr. Opin. Microbiol.* 8: 1–6.
- 30) Slobodkin, A.I., C. Jeanthon, S. L' Haridon, T. Nazina, M. Miroschnichenko, and E. Bonch-Osmolovskaya. 1999. Dissimilatory reduction of Fe(III) by thermophilic bacteria and archaea in deep subsurface petroleum reservoirs of western Siberia. *Curr. Microbiol.* 39: 99–102.
- 31) Takahata, Y., M. Nishijima, T. Hoaki, and T. Maruyama. 2001. *Thermotoga petrophila* sp. nov. and *Thermotoga naphthophila* sp. nov., two hyperthermophilic bacteria from the Kubiki oil reservoir in Niigata, Japan. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 1901–1909.
- 32) Takai, K., and K. Horikoshi. 2000. Rapid detection and quantification of members of the archaeal community by quantitative PCR using fluorogenic probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 5066–5072.
- 33) Zeikus, J.G., and R.S. Wolfe. 1973. Fine structure of *Methanobacterium thermoautotrophicum*: effect of growth temperature on morphology and ultrastructure. *J. Bacteriol.* 113: 461–467.
- 34) 大関真一, 嘉納康二. 2006. 「二酸化炭素地中貯留技術研究開発」事業の現実に向けて～石油・天然ガス上流技術への期待～. *石油・天然ガスレビュー*. 40: 57–70.
- 35) 小出 仁. 1993. CO₂ 地中貯留, 概要と可能性. *地質ニュース*. 462: 6–12.
- 36) 金子信行, 前川竜男, 猪狩俊一郎. 2002. アークアによるメタン生成と間隙水への濃縮機構. *石油技術協会誌*. 67: 97–110.
- 37) 石油鉱業連盟. 2007. 石鉱連資源評価スタディ 2007 年(世界の石油・天然ガス等の資源に関する 2005 年末における評価)
- 38) 須藤孝一, 今井健太, 井上千弘, 千田 信. 2002. メタン生成細菌による二酸化炭素のエネルギー変換. *地球惑星科学関連学会 2002 年合同大会予稿集 No.J056-005*
- 39) 永瀬圭司, 張 淑涛, 浅海博基, 矢澤仁徳, 藤原和弘, 榎本兵治, 洪 承燮. 2003. 中国扶余油田での微生物攻法フィールドテストの成功例. *石油技術協会誌*. 68: 271–281.
- 40) 能木裕一. 2005. 深海環境に適応した微生物の分離と性質. *生物工学会誌*. 83: 472–474.
- 41) 村上由紀, 長沼 毅. 2000. 地下深部に広がる微生物ハビタット—深部地下生物圏—. *Microb. Environ.* 15: 125–131.