

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6396068号
(P6396068)

(45) 発行日 平成30年9月26日(2018.9.26)

(24) 登録日 平成30年9月7日(2018.9.7)

(51) Int.Cl. F I
C 1 2 P 5/02 (2006.01) C 1 2 P 5/02 Z N A

請求項の数 4 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2014-85937 (P2014-85937)	(73) 特許権者	398068510
(22) 出願日	平成26年4月17日 (2014.4.17)		公益財団法人 北海道科学技術総合振興センター
(65) 公開番号	特開2015-204760 (P2015-204760A)		北海道札幌市北区北21条西12丁目北海道大学構内コラボほっかいどう
(43) 公開日	平成27年11月19日 (2015.11.19)	(74) 代理人	110002480
審査請求日	平成29年3月7日 (2017.3.7)		特許業務法人 I P アシスト特許事務所
		(74) 代理人	100113332
			弁理士 一入 章夫
		(74) 代理人	100160037
			弁理士 金子 真紀

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 地層中に含まれる石炭および／または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

地層中に含まれる石炭および／または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法であって、

地上から石炭および／または珪藻岩を含む地層へ向けてさく井する工程と、

前記さく井して得られた1または2以上の井戸の周囲に亀裂を生じさせる工程と、

前記さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注入して地層中に含まれる石炭および／または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて炭素化合物を生成させるとともに空間を生成させる工程と、

前記炭素化合物を生成させるとともに空間を生成させる工程の後に、前記さく井して得られた1または2以上の井戸から還元剤を注入する工程と、

前記さく井して得られた1または2以上の井戸から前記生成させた炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物を投入する工程、および前記反応後に残存する石炭および／または珪藻岩から前記生成させた炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物を誘導する工程の、少なくともいずれかの工程とを有する前記方法。

【請求項 2】

前記さく井して得られた1または2以上の井戸から塩基性溶液を注入する工程を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

10

20

地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けてさく井する工程が、水圧破砕法を用いて地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けてさく井する工程である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

還元剤が、システイン又は硫化ナトリウムである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法に関し、特に、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて地層中に炭素化合物を生成させ、当該炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物によりメタンガスを地層中において製造する方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

化石燃料は何億年を経て生成した有限の資源であるが、現状の先進国の経済や生活は化石燃料に依存しているため、今後数十年で枯渇するといわれている。現在使用されている主な化石燃料として、石炭、石油、天然ガスなどがあり、近年、メタンハイドレートやシェールガスなどの利用も検討されているが、石油への依存度が高いという現状に変化はなく、発展途上国の経済拡大も手伝って、石油の消費は年々増加していることから、特に石油資源の枯渇の早まりが懸念されている。

20

【0003】

また、石炭については、世界の一次エネルギーの約 3 割、電源別発電量の約 4 割を占めており、可採年数は他の化石燃料よりも長く、133 年といわれていることから、今世紀における重要なエネルギー資源とされている。しかしながら、石油や天然ガスと比較して、石炭は燃焼した際の二酸化炭素や酸性雨の原因となる NO_x や SO_x の排出量が多く、環境制約上の課題があるといわれているうえ、我が国においては、そのほとんどを輸入に頼っている。さらに、我が国における地下 1200 m 以浅の浅部炭層における石炭の埋蔵量が約 270 億トンといわれているのに対し、地下 1000 ~ 3000 m の深部非可採炭層における石炭埋蔵量は 3000 億トン以上、3000 m 以深の深部非可採炭層における石炭埋蔵量は 3 兆トン以上との報告がある（非特許文献 1）。

30

【0004】

一方、メタンは、油田やガス田から採掘されエネルギー源として有用な天然ガスの主成分である。メタンは広く自然界に存在し、地下環境においては微生物によるメタン生成が行われている。例えば、石炭層や珪藻岩（珪藻土）層においては世界各地で微生物起源のメタンが検出されている（非特許文献 2）。

【0005】

そこで従来、微生物を用いてメタンを生産する方法が開発されている。例えば、アンモニウム塩を含有せず、還元剤として L-システイン塩酸塩を含有する培地により共培養可能な紅色非硫黄細菌と水素資化性メタン生成菌とを、二酸化炭素含有ガス存在下で共培養してメタンガスを得る方法（特許文献 1）や、有機性廃棄物を可溶化槽で高温好気性菌を添加して可溶化し、その際同時にアンモニアストリッピングを行った原料をメタン発酵槽に供給し、嫌気性微生物によりメタン発酵させるという方法（特許文献 2）、バイオマスを酸発酵させた後に、メタン発酵させることにより、メタン発酵の残渣を含む残泥を気体で加圧した後、常圧に戻し、浮上した残渣を含む分画を酸発酵に利用するメタン生成方法（特許文献 3）、メタン発酵液から採取した試料の単位体積当たりの DNA 量から求めたバクテリア数 + アーキア数をモニタリングして制御する、メタン発酵関連微生物群によりバイオマスをメタン発酵させてメタンを製造する方法（特許文献 4）、海藻を熱処理することにより骨格多糖類および粘性多糖類を低分子化させた後、熱処理した海藻を基質としてメタン生成菌を培養してメタンを生成させる方法（特許文献 5）などを挙げることで

40

50

きる。また、メタン生成微生物群が利用可能な有機物の生成方法として、過酸化水素と石炭とを反応させ、短時間において石炭質量の数十%（最大で約80%）の有機物を生成する方法が開示されている（非特許文献3）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特開2013-192547号公報

【特許文献2】特開2011-083761号公報

【特許文献3】特開2009-119361号公報

【特許文献4】特開2009-082825号公報

【特許文献5】特開2005-245443号公報

10

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Shimada S. et al., J. MMIJ, 2010, Vol. 126, No. 1, pp602-607

【非特許文献2】Strapoc et al., Annu. Rev. Earth Planet Sci., 2011, Vol. 39, pp617-656

【非特許文献3】Miura et al., Energy & Fuels, 1996, Vol. 10, No. 6, pp1196-1201

【発明の概要】

20

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

可採年数の長い化石燃料である石炭または珪藻岩（珪藻土）と過酸化水素とを反応させて有機物を生成し、生成した有機物をメタン生成微生物群に供してメタンを製造する方法が考えられるが、炭鉱施設を建設して採掘した石炭または珪藻岩（珪藻土）を過酸化水素と反応させ、それにより得られた有機酸をメタン生成微生物群に供してメタンを製造する方法では、コストがかかり過ぎるうえに製造できるメタンの量も限られることが想定でき、メタンの製造方法として有効な方法とは言い難い。

【0009】

そこで、地下すなわち地層中でメタンを生成してエネルギー資源として回収する方法が考えられるが、メタン生成プロセスを加速させてエネルギー資源として回収するためには、根源物質からメタン生成微生物が利用可能な物質までの分解プロセスが速度論的にボトルネックとなってしまう。このメタン生成プロセスについてはいくつかの仮説が提唱されているようであるが、実験的に証明されていないのが実情である。また、地層中においては、断層帯などの特別な環境を除き、微生物が生育することができる空間が非常に限られている。通常、微生物は地層中のわずかな亀裂の中に棲息しているが、この亀裂をバイオリクターとして利用する場合、基質となる有機物と微生物との接触効率や微生物の増殖数に限界が生じてしまう。

30

【0010】

本発明は、このような問題点を解決するためになされたものであって、採炭工程を経ずに石炭や珪藻岩（珪藻土）をガス資源に転換して回収することができることから、採炭が困難な深度の石炭や珪藻岩（珪藻土）をガス資源として回収することができ、また、褐炭などの低品位な石炭をガス資源として回収することができ、また、メタンガスは石炭と比べて燃焼時にCO₂やNO_x、SO_xの発生量が少ないことから、環境への影響がより小さいエネルギー資源として回収することができる、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法を提供することを目的とする。

40

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは、鋭意研究の結果、上述した、メタン生成プロセスを加速させてエネルギー資源として回収するためには根源物質からメタン生成微生物が利用可能な物質までの分

50

解プロセスが速度論的にボトルネックとなるということを解消し、さく井、さく井した井戸の周囲における亀裂の存在、前記井戸からの過酸化水素溶液の注入、炭素化合物の生成、空間の生成およびメタン生成微生物の存在、さらには還元剤や塩基性溶液の注入により、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造することができることを見出し、下記の各発明を完成した。

【0012】

地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法であって、地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けてさく井する工程と、必要に応じて前記さく井して得られた1または2以上の井戸の周囲に亀裂を生じさせる工程と、前記さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注入して地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて炭素化合物を生成させるとともに空間を生成させる工程と、前記さく井して得られた1または2以上の井戸から前記生成させた炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物を投入する工程、および前記反応後に残存する石炭および/または珪藻岩から前記生成させた炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物を誘導する工程の、少なくともいずれかの工程とを有する前記方法。

10

【0013】

前記さく井して得られた1または2以上の井戸から還元剤を注入する工程を有する、(1)に記載の方法。

【0014】

前記さく井して得られた1または2以上の井戸から塩基性溶液を注入する工程を有する、(1)または(2)に記載の方法。

20

【0015】

地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けてさく井する工程が、水圧破砕法を用いて地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けてさく井する工程である、(1)から(3)のいずれか一項に記載の方法。

【発明の効果】

【0016】

本発明に係る地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法によれば、採炭工程を経ずに石炭や珪藻岩(珪藻土)をガス資源に転換して回収することができるうえ、採炭が困難な深度の石炭や珪藻岩(珪藻土)をガス資源として回収することができる。また、褐炭などの低品位な石炭をガス資源として回収ことができ、さらに、メタンガスは石炭と比べて燃焼時にCO₂やNO_x、SO_xの発生量が少ないことから、環境への影響がより小さいエネルギー資源として回収することができる。さらに、諸外国においては、炭層メタンが非在来型のエネルギー資源とされて、商業生産が盛んに行われているが、本発明によって、それにより枯渇した炭層ガス鉱床を再生することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】幌延褐炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成した溶存有機炭素(Dissolved Organic Carbon; DOC)の濃度を示すグラフ図である。

40

【図2】小石褐炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成したDOCの濃度を示すグラフ図である。

【図3】亜瀝青炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成したDOCの濃度を示すグラフ図である。

【図4】歴青炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成したDOCの濃度を示すグラフ図である。

【図5】珪藻質泥岩と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成したDOCの濃度を示すグラフ図である

50

。【図6】幌延褐炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成した酢酸およびギ酸の濃度を示すグラフ図である。

【図7】小石褐炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成した酢酸およびギ酸の濃度を示すグラフ図である。

【図8】亜瀝青炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成した酢酸およびギ酸の濃度を示すグラフ図である。

10

【図9】歴青炭と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成した酢酸およびギ酸の濃度を示すグラフ図である。

【図10】珪藻質泥岩と超純水(a)または濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液(b)との反応溶液における、100日後までに生成した酢酸およびギ酸の濃度を示すグラフ図である。

【図11】幌延褐炭、小石褐炭、亜瀝青炭または歴青炭と濃度0.3%(w/v)の過酸化水素溶液との、22における反応溶液から得られた酢酸濃度およびギ酸濃度から算出された、想定メタン埋蔵量を示すグラフ図である。

【図12】濃度1%(v/v)過酸化水素の反応溶液または1mMの酢酸を基質とし、これらにH-RISE微生物を加えた場合のメタンの生成量を培養日数とともに示したグラフ図である。

20

【図13】濃度3%(v/v)過酸化水素の反応溶液または4mMの酢酸を基質とし、これらにH-RISE微生物を加えた場合のメタンの生成量を培養日数とともに示したグラフ図である。

【図14】(A)還元剤なし+H-RISE微生物、(B)還元剤(システイン)+H-RISE微生物、および(C)還元剤(硫化ナトリウム)+H-RISE微生物としたそれぞれの場合の、メタンの生成量を培養日数とともに示したグラフ図である。

【図15】(D)還元剤なし+H-RISE微生物+珪藻岩(珪藻土)、(E)還元剤(システイン)+H-RISE微生物+珪藻岩(珪藻土)、および(F)還元剤(硫化ナトリウム)+H-RISE微生物+珪藻岩(珪藻土)としたそれぞれの場合の、メタンの生成量を培養日数とともに示したグラフ図である。

30

【図16】(G)還元剤なし+H-RISE微生物+褐炭、(H)還元剤(システイン)+H-RISE微生物+褐炭、および(I)還元剤(硫化ナトリウム)+H-RISE微生物+褐炭としたそれぞれの場合の、メタンの生成量を培養日数とともに示したグラフ図である。

【発明を実施するための形態】

【0018】

以下、本発明に係る地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法について詳細に説明する。

40

【0019】

本発明に係る地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法の第1実施形態は、

(I)地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けてさく井する工程(さく井工程)、

(II)必要に応じて前記さく井して得られた1または2以上の井戸の周囲に亀裂を生じさせる工程(亀裂発生工程)、

(III)さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注入して地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて炭素化合物を生成させるとともに空間を生成させる工程(炭素化合物・空間生成工程)、

50

(I V) さく井して得られた 1 または 2 以上の井戸から炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物を投入する工程、および反応後に残存する石炭および / または珪藻岩から炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物を誘導する工程の、少なくともいずれかの工程 (微生物投入・誘導工程)

以上 (I) ~ (I V) の工程を有している。

【 0 0 2 0 】

本発明は、「地層中に含まれる石炭および / または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法」すなわち地下の閉鎖空間において地層中に含まれる石炭および / または珪藻岩からメタンガスを製造する方法」である。上述した通り、地下すなわち地層中でメタンを生成してエネルギー資源として回収する方法の場合、メタン生成プロセスを加速させてエネルギー資源として回収することが好ましいが、根源物質からメタン生成微生物が利用可能な物質までの分解プロセスが速度論的にボトルネックとなってしまううえ、地層中においては、断層帯などの特別な環境を除き、微生物が生育することができる空間が非常に限られており、微生物は通常、地層中のわずかな亀裂の中に棲息しているが、この亀裂をバイオリアクターとして利用する場合、基質となる有機物と微生物との接触効率や微生物の増殖数に限界が生じてしまうという非常に困難な課題を有するが、本第 1 実施形態の工程 (I) ~ (I V) により、これらが解消される。すなわち、本第 1 実施形態は、地下の閉鎖空間を有効活用しつつ、地層中に含まれる石炭および / または珪藻岩を炭素化合物に転換し、そのまま地下の閉鎖空間において空間を確保しつつ微生物によりメタンを発生させ、回収するというメタンの製造方法である。

【 0 0 2 1 】

「石炭」とは、一般には、数千年前から数億年前の樹木が微生物による腐食作用を受けた後、地中において穏やかな温度と数十 ~ 数百気圧の圧力を受け、長年月の間、石炭化作用といわれる脱水素、脱メタン、脱炭酸反応を受け、C、H、O の 3 元素を主成分とする天然の有機高分子物質に変化したものをいうが、炭素含有量が 7 0 重量 % 以下の石炭を亜炭、同 7 0 重量 % ~ 7 7 重量 % 付近の石炭を褐炭、同 7 7 重量 % ~ 8 3 重量 % 付近の石炭を亜瀝青炭、同 8 3 重量 % ~ 9 0 重量 % 付近の石炭を歴青炭、同 9 0 重量 % 以上の無煙炭と分類することが可能である。また、一般的にいわれる石炭である亜炭、褐炭、亜瀝青炭、歴青炭 (瀝青炭)、原料炭、無煙炭の他、オイルコークスおよびカーボン・グラファイトなどの炭素を多く含有する廃棄物が含まれる。

【 0 0 2 2 】

「珪藻岩 (珪藻土) 」とは、一般には、主に珪藻の殻からなる軟質の岩石または土壌をいい、シリカを主成分とするが、シリカ以外にもアルミナ、酸化鉄、アルカリ金属の酸化物等が含まれていることが多い。また、ポーラスを有することから高い空隙率を有し、ケーク嵩密度が 0 . 2 ~ 0 . 4 5 程度のものが多い。

【 0 0 2 3 】

本第 1 実施形態において、(I) のさく井工程における「さく井」とは、地中に略円筒状の穴を掘削する作業のことをいい、「ボーリング」または「試錐」と置換可能に用いられる。本第 1 実施形態において、さく井の手法は特に限定されないが、例えば、ロータリー・ボーリングマシン、パーカッション・ボーリングマシンまたはロータリー・パーカッション・ボーリングマシンなどのボーリングマシンを用いてさく井する方法の他、水圧破碎法を利用してさく井する方法などを挙げることができる。なお、(I I) の亀裂発生工程の可否を考慮すれば、水圧破碎法を用いてさく井する方法が好ましい。また、(I) のさく井工程における「地層」とは、地表に現れていない地層をいう。

【 0 0 2 4 】

(I I) の亀裂発生工程において、「亀裂を生じさせる」手法は特に限定されないが、上述した通り、水圧破碎法を用いてさく井する場合に、必要に応じて水圧破碎法を用いて亀裂を生じさせるのが好ましい。

【 0 0 2 5 】

(I I I) の炭素化合物・空間生成工程において、「過酸化水素溶液」は特に限定され

10

20

30

40

50

ないが、例えば過酸化水素水の他、メタノール、エタノール、エチレングリコール、アセトン、酢酸などからなる群より選ばれる少なくとも1種の有機溶媒に過酸化水素を溶解させた溶液を挙げることができ、さらに、これら有機溶媒と水とを混和させた溶媒に過酸化水素を溶解させた溶液を挙げることができる。過酸化水素水としては市販の過酸化水素水溶液の他、これを水などで適当に希釈して用いることもでき、さらには所望により、硫酸鉄、塩化鉄、酢酸鉄、または硝酸鉄などの通常の鉄(ⅠⅠ)塩を過酸化水素溶液に添加したものをを用いることができる。

【0026】

また、(ⅠⅠⅠ)の炭素化合物・空間生成工程において、「過酸化水素溶液を注入」とは、過酸化水素溶液が地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と反応できるように地上から地層中へ届けることができる態様であれば特に限定されないが、例えば、さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注ぎ込むような態様の他、任意の媒体によって過酸化水素溶液を地上から地層中へ届けることができる態様、過酸化水素溶液を噴霧するような態様で地上から地層中へ届けることができる態様などを挙げることができる。

10

【0027】

また、(ⅠⅠⅠ)の炭素化合物・空間生成工程において、「炭素化合物」とは、一般には有機化合物の他、一酸化炭素や二酸化炭素などの酸化物、硫化炭素や二硫化炭素などの硫化物、窒化炭素などの窒化物および四塩化炭素などのハロゲン化物を包含する無機炭素化合物；炭化カルシウムなどのイオン性炭化物、炭化ケイ素などの共有結合性炭化物および遷移金属などの結晶格子の隙間に炭素が侵入した侵入型炭化物を包含する炭化物；炭酸カルシウムなどの炭酸塩；シアン化カリウムやジシアンなどの炭素を含むシアン化合物；ニッケルカルボニルやジコバルトオクタカルボニルなどのカルボニル化合物；カルベン錯体をいうが、本発明における炭素化合物としては、これらのうちの、メタンを除く地層中の有機物と過酸化水素との完全または不完全な反応により現れるものや現れると考えられるものをいい、そのような炭素化合物としては、例えば、一酸化炭素や二酸化炭素などの無機炭素化合物；ギ酸や酢酸、酪酸などのカルボン酸、メタノールやエタノール、プロパノール、ブタノール、シクロペンタノールなどのアルコール類、モノメチルアミンやジメチルアミンなどのメチルアミン、ジメチルスルフィドやトリスルフィドなどのスルフィド、単糖やオリゴ糖、多糖などの糖質、各種アミノ酸、各種タンパク質、各種脂肪酸や脂肪族直鎖炭化水素などの脂質、アルカンやアルケン、アルキン、水溶性または脂溶性の芳香族炭化水素(例えば、安息香酸やベンゼン、アルキルベンゼン、キシレン、トルエンなど)などの炭化水素およびフミン酸・フルボ酸を包含する低分子ないし高分子の有機化合物；を挙げることができる。

20

30

【0028】

また、(ⅠⅠⅠ)の炭素化合物・空間生成工程において、「空間を生成させる」とは、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩を過酸化水素と反応させ、当該反応により石炭および/または珪藻岩を減少させることで空間を生成させる場合の他、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩以外の成分が過酸化水素と反応することで空間が生成される場合や、さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注入することで新たな亀裂などが生じ、空間が生成される場合などが含まれる。

40

【0029】

(ⅠⅣ)の微生物投入・誘導工程において、「炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物」とは、炭素化合物を資化してメタンを生成する微生物の他、炭素化合物を初期物質として結果的にメタンを生成することができる複数の微生物の組み合わせ(微生物群)が含まれる。そのような微生物としては、例えば、公益財団法人北海道科学技術総合振興センター(通称；ノーステック財団)幌延地圏環境研究所(通称；H-RISE)地下微生物環境研究グループが、地下環境から採取した各種メタン生成微生物について集積培養および継代培養を繰り返して維持したメタン生成微生物である「H-RISE微生物」、または既報(Shimizu et al., J. Environ. Biotechno

50

1., Vol. 12, No. 1, 2012) に従い採取された「未殺菌の石炭および/または珪藻岩に存在する微生物」などを挙げる事ができる。

【0030】

また、「H-RISE微生物」としては、下記の属レベルの微生物を挙げる事ができる。

古細菌；

Methanosarcina, Methanosalsum, Methermicoccus, Methanoculleus, Methanocorpusculum, Methanofollis, Methanobacterium, Thermoplasma,

10

真正細菌；

[Firmicutes門] Acetobacterium, Alkalibacter, Alkaliphilus, Anaerosporeobacter, Anaerotruncus, Anaerofilum, Anaerovorax, Bacillus, Blautia, Caldanaerobius, Caloramator, Clostridium, Christensenella, Dehalobacter, Dehalobacterium, Desulfotomaculum, Eubacterium, Erysipelothrix, Faecalibacterium, Flavonifractor, Geosporobacter, Desulfonisporea, Gracilibacter, Hydrogenoanaerobacterium, Luti-
spora, Megasphaera, Mogibacterium, Moorella, Natronincola, Oscillibacter, Parasporobacterium, Papillibacter, Pelotomaculum, Pelospora, Peptoniphilus, Pseudoflavonifractor, Robinsoniella, Ruminococcus, Sedimentibacter, Soehngenia, Staphylococcus, Syntrophomonas, Tepidanaerobacter, Tissierella, Thermoanaerobacterium, Trichococcus,

20

[Bacteroidetes門] Alkaliflexus, Anaerorhabdus, Bacteroides, Chryseobacterium, Meniscus, Paludibacter, Solitalea,

30

[Spirochaetes門] Spirochaeta, Sphaerochaeta,

[Actinobacteria門] Actinotalea, Atopobium, Cellulomonas, Conexibacter, Dietzia, Oryzihumus, Rubrobacter, Streptomyces,

[Tenericutes門] Acholeplasma, Spiroplasma, Spiroplasma,

[Nitrospirae門] Leptospirillum,

[Dictyoglomi門] Dictyoglomus,

40

[Ruminobacillus門] Ruminobacillus,

[Proteobacteria門] Acidithiobacillus, Acinetobacter, Alishewanella, Desulfomicrobium, Desulfuromonas, Desulfonatronum, Desulfovibrio, Geobacter, Halomonas, Hydrogenophaga, Pelobacter, Perlucidibaca, Pseudomonas, Serratia, Shewanella, Thiomicrospira

【0031】

さらに、「未殺菌の石炭および/または珪藻岩に存在する微生物」としては、下記の属レベルの微生物を挙げる事ができる。

50

古細菌；

Archaeoglobus, Methanoculleus, Methanobacterium, Methanobacteria, Methanobolbus, Methanocorpusculum, Methanosarcina, Methanococcus, Methanocalculus, Methanocaldococcus, Methanothermococcus, Methanobrevibacter, Methanomethylovorans, Methanomicrobium, Methanotorris, Methermicoccus, Sulfophobococcus, Thermococcus,

真正細菌；

[Proteobacteria門] Achromobacter, Acidiphilium, Acidocella, Acidovorax, Acinetobacter, Aeromonas, Afipia, Arcobacter, Aquaspirillum, Azoarcus, Campylobacter, Citrobacter, Comamonas, Burkholderia, Burkholderiaceae, Dechloromonas, Delftia, Desulfomicrobium, Desulfovibrio, Desulfuromonas, Desulfuromusa, Geobacter, Halomonas, Herminiimonas, Hydrogenophaga, Janthinobacterium, Marinobacter, Massilia, Methylobacter, Methylocapsa, Methylothermobacter, Nitrospira, Novosphingobium, Pelobacter, Phyllobacterium, Pseudomonas, Ralstonia, Rhizobiales, Rhodobacter, Roseobacter, Sphingomonas, Shewanella, Stenotrophomonas, Sulfurospirillum, Syntrophus, Thiobacillus, Thiomonas, Variovorax,

[Bacteroidetes門] Bacteroides,

[Firmicutes門] Acetobacterium, Acidoaminobacter, Acloleplasma, Actinobacteria, Anoxytrichum, Bacillus, Clostridium, Desulfotomaculum, Dethiosulfatibacter, Exiguobacterium, Fusibacter, Geobacillus, Geobacillus, Geosporobacter, Nostocoida, Sedimentibacter, Soehngenia, Syntrophomonas, Thermotalea,

[Actinobacteria門] Anthrobacter

【0032】

また、(IV)の微生物投入・誘導工程において、「微生物を誘導する」とは、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩に付着している微生物を用いるという趣旨である。

【0033】

本発明に係る地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法の第2実施形態は、上述した(I)~(IV)の工程の他、(V)さく井して得られた1または2以上の井戸から還元剤を注入する工程(還元剤注入工程)

を有し、以上(I)~(V)の工程を有している。

【0034】

「還元剤」とは、一般には、酸化還元反応において他の物質を還元するとともに自らは酸化される物質であり、(V)の還元剤注入工程においては、炭素化合物を基質とした場合のメタンを生成する微生物によるメタンの生成速度を向上させるものであれば、有機系還元剤であっても無機系還元剤であってもよく、特に限定されないが、有機系還元剤としては、例えば、ヒドラジン、ホルムアルデヒド、メタノール、クエン酸およびその塩(例

10

20

30

40

50

えば、クエン酸ナトリウム、クエン酸マグネシウム)、シュウ酸およびその塩、グルコース、エチレングリコール、L-アスコルビン酸、アルキルアミン類、アリールアミン類、アルカノールアミン類、ヒドロキシアミン、ピロール、アニリンなどを挙げることができ、無機系還元剤としては、例えば、亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カリウム、亜硫酸アンモニウムなどの亜硫酸塩；亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸水素カリウム、亜硫酸水素アンモニウムなどの亜硫酸水素塩；システイン、硫化ナトリウムなどの硫酸塩；ピロ亜硫酸塩、亜二チオン酸塩、三チオン酸塩、四チオン酸塩、チオ硫酸塩、亜硝酸塩、ジメチルスルホキサイド、二酸化チオ尿素、亜リン酸塩、アミノ酸やエタノールアミンなどの窒素含有有機化合物などを挙げることができる。なお、これら還元剤は1種のみ用いてもよく2種以上用いてもよい。

10

【0035】

また、(V)の還元剤注入工程において、「還元剤を注入」とは、石炭および/または珪藻岩と過酸化水素との反応箇所および/またはその周縁へ届けることができる態様であれば特に限定されないが、例えば、さく井して得られた1または2以上の井戸から還元剤を注ぎ込むような態様の他、任意の媒体によって還元剤を地上から地層中へ届けることができる態様、還元剤を噴霧するような態様で地上から地層中へ届けることができる態様などを挙げることができる。

【0036】

また、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素との反応により酸素が生成し、地下圏は酸化的な環境になるが、地下圏には酸化的となった環境を還元的環境に復元するメカニズムが存在し、例えば、地層中の有機物が酸素との酸化反応で酸素を消費するとともに有機酸を生成する反応の他、酸素濃度の上昇に伴う地層中の黄鉄鉱(FeS_2)の溶解による、下記反応式(i)に示すような酸素濃度の上昇を抑制する反応を挙げることができるが、これらのような反応を誘導する工程もまた、(V)の還元剤注入工程に包含される。

20



【0037】

本発明に係る地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法の第2実施形態は、上述した(I)~(IV)または(I)~(V)の工程の他、

30

(VI)さく井して得られた1または2以上の井戸から塩基性溶液を注入する工程(塩基性溶液注入工程)

を有し、以上(I)~(IV)および(VI)、または以上(I)~(VI)の工程を有している。

【0038】

(VI)の塩基性溶液注入工程において、「塩基性溶液」としては、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて炭素化合物を生成させた結果生じた酸性環境を中和して、炭素化合物を基質とした場合のメタンを生成する微生物によるメタンの生成速度を向上させるものであれば特に限定されないが、そのような物質としては、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、アンモニアなどの水溶液；炭酸アンモニウム、炭酸水素アンモニウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素カリウムなどのアルカリ炭酸塩やアルカリ炭酸水素塩の水溶液；あるいはエタノールアミン、ジエタノールアミン、ホルムアミドなどの塩基性有機化合物を含む溶液などを挙げることができる。なお、「塩基性溶液を注入」については、上述した「還元剤を注入」と同義である。

40

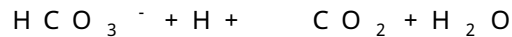
【0039】

また、地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素との反応により水素イオン(H^{+})濃度が上昇して地下圏のpHは低下するが、地下圏にはpHの低下を抑制するメカニズムが存在し、例えば、下記反応式(ii)または(iii)に示すような炭酸水素イオンのpH緩衝能と鉱物との溶解反応を挙げることができるが、これらのような反

50

応を誘導する工程もまた、(V)の還元剤注入工程に包含される。

(i)地下水中の炭酸水素イオン(HCO_3^-)は、以下の反応によりpHの低下を抑制する。



(ii)地層中のカルサイト(CaCO_3)は、以下の溶解反応によりpHの低下を抑制する。



【0040】

以下、本発明に係る地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩からメタンガスを地層中において製造する方法について、実施例に基づいて説明する。なお、本発明の技術的範囲は、これらの実施例によって示される特徴に限定されない。

10

【実施例】

【0041】

<実施例1>炭素化合物の生成と想定メタン埋蔵量の算出

(1)炭素化合物の生成

石炭や珪藻岩(珪藻土)に含まれている有機物(Sedimentary Organic Matter; SOM)が酸化されることにより、炭素化合物である溶存有機炭素(Dissolved Organic Carbon; DOC)や有機酸(酢酸やギ酸など)が生成されるといわれている。そこで石炭や珪藻岩(珪藻土)と過酸化水素溶液とを反応させて炭素化合物であるDOCや有機酸(酢酸やギ酸)が生成できるかどうかの検討を行った。

20

【0042】

[1-1]使用した石炭や珪藻岩(珪藻土)

使用した石炭または珪藻岩(珪藻土)は、褐炭、亜瀝青炭、歴青炭および珪藻質泥岩であり、褐炭は幌延および小石の露頭から採取された天北炭田の試料(宗谷夾炭層、新第三紀)、亜瀝青炭は釧路コールマイン株式会社の坑内で採取された試料(春採夾炭層、古第三紀)、歴青炭は空知炭礦株式会社の露天掘りの採掘現場から採取された試料(美唄層、古第三紀)、珪藻質泥岩は独立行政法人日本原子力研究開発機構の幌延深地層研究所センターから採取された試料(声問層、新第三紀)をそれぞれ用いた。以下、幌延および小石の露頭から採取された褐炭をそれぞれ「幌延褐炭」、「小石褐炭」と称する。

30

【0043】

[1-2]有機酸濃度とpHの測定

試料である幌延褐炭、小石褐炭、亜瀝青炭、歴青炭および珪藻質泥岩はそれぞれ風乾後、自動乳鉢を用いて粒径 $106\mu\text{m}$ 以下に粉砕した。得られた粉末試料 0.5g をそれぞれ 100mL 容三角フラスコに入れ、超純水または濃度 0.3% (w/v)の過酸化水素溶液をそれぞれ 75mL 添加して軽く攪拌することにより反応溶液を調製し、アルミホイルでフラスコの口を軽く覆い、室温(22°C)で静置した。これらの反応溶液を定期的に 2.22mL ずつ採取し、pH、DOC濃度、酢酸濃度およびギ酸濃度を測定した。反応溶液のDOC濃度はTOC-V_{CSH}(島津製作所社)により、酢酸およびギ酸の濃度は761 Compact IC(Metrohm社)により、それぞれ測定した。各試料と超純水(MQ)との反応溶液のpHの値および各試料と濃度 0.3% (w/v)の過酸化水素溶液との反応溶液のpHの値を下記の表1に示し、各試料におけるDOC濃度、酢酸濃度およびギ酸濃度をそれぞれ図1~8に示す。

40

【0044】

[1-3]試験結果

表1に示すように、小石褐炭および珪藻質泥岩においては、超純水(MQ)を添加した場合のpHの値と濃度 0.3% (w/v)の過酸化水素溶液を添加した場合のpHの値とでは、ほとんど差がないことが示された。また、図1~10に示すように、各試料におけるDOC濃度、酢酸濃度およびギ酸濃度は、超純水(MQ)との反応溶液よりも濃度 0.3% (w/v)の過酸化水素溶液との反応溶液で高いことが示された。また、濃度 0.3

50

% (w/v) の過酸化水素溶液との反応溶液におけるDOC濃度の最大値は、それぞれ、図1に示すように幌延褐炭において約350 mg/L (図1)、図2に示すように小石褐炭において約80 mg/L、図3に示すように垂瀝青炭において約70 mg/L、図4に示すように歴青炭において約30 mg/L、図5に示すように珪藻質泥岩において約30 mg/Lであった。また、濃度0.3% (w/v) の過酸化水素溶液との反応溶液における酢酸濃度およびギ酸濃度の最大値は、図6に示すように幌延褐炭においてそれぞれ約10 mg/gおよび約13 mg/g、図7に示すように小石褐炭においてそれぞれ約3 mg/gおよび約2 mg/g、図8に示すように垂瀝青炭においてそれぞれ約7 mg/gおよび約2 mg/g、図9に示すように歴青炭においてそれぞれ約2.5 mg/gおよび約1 mg/g、図10に示すように珪藻質泥岩においてそれぞれ約1.4 mg/gおよび約0.7 mg/gであることが示された。

【0045】

【表1】

反応溶媒	試料名	pH
MQ	幌延褐炭	6.04
	小石褐炭	2.81
	垂瀝青炭	6.43
	歴青炭	4.58
	珪藻質泥岩	3.97
0.3% H_2O_2	幌延褐炭	2.76
	小石褐炭	2.50
	垂瀝青炭	4.23
	歴青炭	3.29
	珪藻質泥岩	3.61

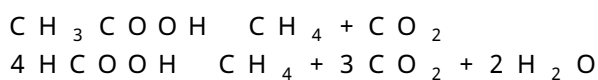
【0046】

以上の結果から、石炭や珪藻岩（珪藻土）と過酸化水素溶液とを反応させて炭素化合物であるDOCや有機酸が生成できること、同じ褐炭でも採取場所の違いにより過酸化水素溶液との反応性が異なること、および石炭や珪藻岩（珪藻土）と過酸化水素溶液との反応において反応時間を長期間とすることでDOCや有機酸の生成量の増加が見込まれることが明らかとなった。

【0047】

(2) 想定メタン埋蔵量の算出

実施例1(1)[1-2]における各試料と濃度0.3% (w/v) の過酸化水素溶液との反応溶液にて得られた酢酸およびギ酸の濃度と次式とを用いて、想定メタン埋蔵量を算出した。その結果を図11に示す。



【0048】

図11に示すように、反応100日目における想定メタン埋蔵量は、幌延褐炭で3.7 m³/t、小石褐炭で0.92 m³/t、垂瀝青炭で1.7 m³/t、歴青炭で0.60 m³/tであった。また、珪藻質泥岩では0.32 m³/tであった(図示しない)。

【0049】

一般的なシェールガス鉱床におけるガス埋蔵量は $0.5 \sim 3 \text{ m}^3 / \text{t}$ 、炭層ガス鉱床におけるガス埋蔵量は $0.8 \sim 15 \text{ m}^3 / \text{t}$ との報告がある(Jenkins et al., J. Pet. Technol., February (2008), pp92-99)。当該報告と以上の結果から、石炭および/または珪藻岩(珪藻土)を含む地層における想定メタン埋蔵量は、炭層ガス鉱床における埋蔵量およびシェールガス鉱床における埋蔵量と匹敵するないし近似することが明らかとなった。

【0050】

<実施例2>閉鎖空間における有機酸の作成と微生物を用いたメタンの生成

酸素を遮断した閉鎖空間において、石炭および/または珪藻岩と過酸化水素溶液とを反応させて炭素化合物を生成させた後、微生物を用いてメタンを生成させることができるかどうかの検討を行った。

10

【0051】

(1) 試料の調製

使用した石炭または珪藻岩として、2011年6月10日および2013年6月23日に天塩演習林の林番223の河床露頭から採取された褐炭を使用した。これら褐炭を採取後速やかに真空パックして、実験に使用するまで4にて保存した。実験直前に嫌気チャンバー内において、これら褐炭をオートクレーブ滅菌済みのステンレス製乳鉢やタガネなどを用いて 0.5 mm 以下に粉碎し、それぞれ 5 g ずつ秤量して試料とした。

【0052】

嫌気チャンバー内において180にて2時間乾熱滅菌をした100 mLバイアル瓶に試料を収容した後、上述した基礎培地50 mLを添加してオートクレーブ滅菌済みのアルミシールで封印した。続いて、嫌気ガス置換装置を用いて、体積比が4:1の $\text{N}_2 - \text{CO}_2$ 混合ガスにて5回の減圧と加圧を繰り返すことによりヘッドスペースをほぼ完全に置換した。

20

【0053】

(2) 培養に用いた微生物

[2-1] H-RISE 微生物

公益財団法人北海道科学技術総合振興センター(通称; ノーステック財団)幌延地圏環境研究所(通称; H-RISE)地下微生物環境研究グループが、地下環境から採取した各種メタン生成微生物について集積培養および継代培養を繰り返して維持したメタン生成微生物を「H-RISE 微生物」とした。具体的には、珪藻岩の深部地下水(Shimizu et al., Geobiology, Vol. 4, pp203-213, 2006)、石炭層の深部地下水(Shimizu et al., Geobiology, Vol. 5, pp423-433, 2007)、油ガス井の生産水(Shimizu et al., Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, Vol. 75, pp1835-1837, 2011)を微生物接種源として、各 0.1 mL を20 mLのJCM262培地(<http://www.jcm.riken.jp/>)に接種して培養した。培養容器はブチルゴム栓とアルミシールで密栓した50 mL容のバイアル瓶を使用した。嫌気ガス置換装置を用いて、体積比が4:1の $\text{H}_2 - \text{CO}_2$ 混合ガスにて5回の減圧と加圧(200 kPa)を繰り返すことによりヘッドスペースをほぼ完全に置換した。これらを30および37の恒温槽で35日間培養後、各培養液を当量混合した後、 $2,000 \times \text{g}$ 、4、20分間の条件で遠心分離し、培養液上清を除いた沈殿物である微生物細胞部分をH-RISE 微生物とした。なおH-RISE 微生物は、上記各培養液を同様の条件で継代培養することにより維持している。

30

40

【0054】

[2-2] H-RISE 微生物の分析

まずはH-RISE 微生物のうちの石炭由来の微生物および未殺菌の石炭由来の微生物の分析を行った。具体的には、Power Soil DNA Isolation Kit(MO BIO社)を用いてDNAをバルクで抽出した後、下記の内容のPCR法(Touch Down法)により当該バルクDNA中の微生物群集構造の組成を下記の次世代

50

シーケンス法により求めた。

【0055】

Genome Sequencer FLXシステム(GS FLX+; ロシュ・ダイアグノスティクス社)を用いて、物理的に断片化したDNAからライブラリーを作製してemulsion PCR法により増幅した後、20万個相当の各断片から約500~700bpの配列をパイロシーケンス法により一度に解析することにより行った。なお、PCR産物の高速シーケンスはタカラバイオ株式会社ドラゴンジェノミクスセンターに外部委託した。

【0056】

(a) 使用した primer set;

primer A: 5' - CGT ATC GCC TCC CTC GCG CCA TCA G - 3' (配列番号1) にタグ配列および rRNA forward primer を付加したもの

primer B: 5' - CTA TGC GCC TTG CCA GCC CGC TCA G - 3' (配列番号2) に rRNA reverse primer を付加したもの

【0057】

(b) 対象が古細菌の場合の forward primer および reverse primer;

A519 - 539F: 5' - CAG CCG CCG CGG TAA HAC CRC - 3' (配列番号3)

A947R: 5' - TCC AAT TRA RCC GCA SGC - 3' (配列番号4)

【0058】

(c) 対象がバクテリアの場合の forward primer および reverse primer;

B515 - 532F: 5' - GTG CCA GCA GCC GCG GTA - 3' (配列番号5)

B969R: 5' - GTA AGG TTC YTC GCG T - 3' (配列番号6)

【0059】

(d) PCR法の条件

94 にて7分間の1サイクルを行った後、95 にて1分間、65 - 56 にて1分間(アニーリング温度を1サイクルごとに1 ずつ下がるように設定)および72 にて2分間を10サイクル行い、さらに94 にて1分間、55 にて1分間、および72 にて2分間を20サイクル行って、72 にて10分間の最後の伸長反応を行った。

【0060】

[2 - 3] 属レベルで同定した H - R I S E 微生物

以上、本実施例2 [2 - 2] の結果から、属レベルで同定した H - R I S E 微生物は下記の通りである。

古細菌;

Methanosarcina, Methanosalsum, Methermicoccus, Methanoculleus, Methanocorpusculum, Methanofollis, Methanobacterium, Thermoplasma,

真正細菌;

[Firmicutes 門] Acetobacterium, Alkalibacter, Alkaliphilus, Anaerosporeobacter, Anaerotruncus, Anaerofilum, Anaerovorax, Bacillus, Blautia, Caldanaerobius, Caloramator, Clostridium, Christensenella, Dehalobacter, Dehalobacterium, Desulfotomaculum, Eubacterium, Erysipelothrix, Faecalibacterium, Flavonif

10

20

30

40

50

ractor, Geosporobacter, Desulfonisporea, Gra
 cilibacter, Hydrogenoanaerobacterium, Luti
 spora, Megasphaera, Mogibacterium, Moorella
 , Natronincola, Oscillibacter, Parasporebac
 terium, Papillibacter, Pelotomaculum, Pelos
 pora, Peptoniphilus, Pseudoflavonifractor,
 Robinsoniella, Ruminococcus, Sedimentibact
 er, Soehngenia, Staphylococcus, Syntrophomo
 nas, Tepidanaerobacter, Tissierella, Thermo
 anaerobacterium, Trichococcus,

10

[Bacteroidetes門] Alkaliflexus, Anaerorhabd
 us, Bacteroides, Chryseobacterium, Meniscus
 , Paludibacter, Solitalea,

[Spirochaetes門] Spirochaeta, Sphaerochaet
 a,

[Actinobacteria門] Actinotalea, Atopobium, C
 ellulomonas, Conexibacter, Dietzia, Oryzihu
 mus, Rubrobacter, Streptomyces,

[Tenericutes門] Acholeplasma, Spiroplasma, S
 piroplasma,

20

[Nitrospirae門] Leptospirillum,

[Dictyoglomi門] Dictyoglomus,

[Ruminobacillus門] Ruminobacillus,

[Proteobacteria門] Acidithiobacillus, Acine
 tobacter, Alishewanella, Desulfomicrobium,
 Desulfuromonas, Desulfonatronum, Desulfovib
 rio, Geobacter, Halomonas, Hydrogenophaga,
 Pelobacter, Perluclidibaca, Pseudomonas, Ser
 ratia, Shewanella, Thiomicrospira

【0061】

30

(3) H-RISE 微生物の培養

属レベルで同定した上記 H-RISE 微生物を JCM262 培地で培養し、接種源とし
 た。接種源を 20,000 × g、4、20 分間の条件で遠心分離し、上清を完全に除去
 した後に後述する基礎培地を 1 mL 加え、フィルター付きピペットチップによりフラッ
 シングを行うことにより微生物を再懸濁してから 100 mL 容バイアル瓶内に調製した後、
 後述する反応溶液に接種した。嫌気ガス置換装置を用いて、体積比が 4 : 1 の H₂ - CO
₂ 混合ガスにて 5 回の減圧と加圧 (200 kPa) を繰り返すことによりヘッドスペース
 をほぼ完全に置換した。これらを 30 および 37 の恒温槽でこれらを 30 および 3
 7 の恒温槽で 35 日間培養した。

【0062】

40

基礎培地は無機塩培地 (Synthetic Low Salts; SL 培地) とした。
 その内容は下記の通りであり、Trace element solution である SL
 - 10 を用いて 1 L に調製した。なお、Trace vitamins は添加しなかつた

。

NH ₄ Cl	0.5 g
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.5 g
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.14 g
K ₂ HPO ₄	0.14 g
KCl	0.1 g
NaCl	0.6 g

50

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g
 NaHCO_3 2.5 g

【0063】

(4) 褐炭と過酸化水素溶液との反応溶液の調製

本実施例2(1)で調製した褐炭粉末50gと、濃度1%(v/v)または3%(v/v)の過酸化水素溶液500mLとを、1L容耐圧ガラスボトルに収容して30℃の条件下、マグネチックスターラーで6日間攪拌しながら反応させた。その後、17,700×g、40分間、4℃にて遠心分離を行い、上清をデカンテーションでガラス製ビーカーに移してpH7に調製した。

【0064】

濃度1%(v/v)過酸化水素の反応溶液と濃度3%(v/v)過酸化水素の反応溶液のpHはそれぞれ4.05、2.80であり、5N NaOHをそれぞれ0.45mL、4mLを加えていずれの反応溶液もpHを7に調整した後、17,700×g、40分間、4℃にて再度遠心分離を行い、清澄化した上清を採取した。

【0065】

(5) 反応溶液への微生物接種によるメタンの生成

本実施例(4)で調製した濃度1%(v/v)過酸化水素の反応溶液と濃度3%(v/v)過酸化水素の反応溶液を基質として、それぞれ100mL容ブチル栓およびアルミキャップ付のガラス製バイアル瓶に50mLずつ取り分け、それぞれ、褐炭粉末5g、および培養した本実施例2(2)のH-RISE微生物を加えた後、オートクレーブ滅菌済みのアルミシールで封印し、嫌気ガス置換装置を用いて、体積比が4:1のN₂-CO₂混合ガスにて5回の減圧と加圧を繰り返すことによりヘッドスペースをほぼ完全に置換した。そのまま30℃にて培養を行い、ヘッドスペース中のメタン濃度を7日間隔で測定した。また、比較対照として、濃度1%(v/v)過酸化水素の反応溶液と濃度3%(v/v)過酸化水素の反応溶液の代わりに1mMの酢酸または4mMの酢酸を用いた。濃度1%(v/v)過酸化水素の反応溶液または1mMの酢酸を基質として、これらにH-RISE微生物を加えた場合のメタンの生成量を培養日数とともに示したグラフを図12に示し、濃度3%(v/v)過酸化水素の反応溶液または4mMの酢酸を基質として、これらにH-RISE微生物を加えた場合のメタンの生成量を培養日数とともに示したグラフを図13に示す。

【0066】

図12および図13に示すように、H-RISE微生物を微生物接種源とした場合は、酢酸を基質とした場合と比較して過酸化水素の反応溶液を基質とした方がメタンの生成量は多かったことが明らかとなった。

【0067】

以上の結果から、酸素を遮断した閉鎖空間において、石炭および/または珪藻岩と過酸化水素溶液とを反応させて炭素化合物を生成させた後、微生物を用いてメタンを生成させることができることが明らかになった。

【0068】

<実施例3> 還元剤によるメタン生成への効果

【0069】

酸素を遮断した閉鎖空間において、石炭および/または珪藻岩と過酸化水素溶液とを反応させて炭素化合物を生成させた後、微生物を用いてメタンを生成させるに際し、還元剤を添加することによる効果を検討した。

【0070】

実施例1(1)で生成した酢酸を基質として100mL容ブチル栓およびアルミキャップ付のガラス製バイアル瓶9本に50mLずつ取り分け、それぞれ、還元剤としてシステインまたは硫化ナトリウム、微生物接種源として実施例2(2)のH-RISE微生物、実施例2(2)のH-RISE微生物および珪藻岩(珪藻土)、または実施例2(2)のH-RISE微生物および褐炭を下記のように組み合わせた。

- (A) 還元剤なし + H - R I S E 微生物
 - (B) 還元剤 (システイン) + H - R I S E 微生物
 - (C) 還元剤 (硫化ナトリウム) + H - R I S E 微生物
 - (D) 還元剤なし + H - R I S E 微生物 + 珪藻岩 (珪藻土)
 - (E) 還元剤 (システイン) + H - R I S E 微生物 + 珪藻岩 (珪藻土)
 - (F) 還元剤 (硫化ナトリウム) + H - R I S E 微生物 + 珪藻岩 (珪藻土)
 - (G) 還元剤なし + H - R I S E 微生物 + 褐炭
 - (H) 還元剤 (システイン) + H - R I S E 微生物 + 褐炭
 - (I) 還元剤 (硫化ナトリウム) + H - R I S E 微生物 + 褐炭
- 【0071】

10

なお、酢酸の濃度は10mM、還元剤であるシステインおよび硫化ナトリウムの終濃度は20mg/L、珪藻岩(珪藻土)および褐炭の添加量は5g/50mLであった。珪藻岩は2011年4月にJAEAのURL地下250m水平坑道から採取された岩塊を、褐炭は2011年6月23日に天塩演習林の林番223の河床露頭から採取されたものをそれぞれ使用した。これらの岩石試料は採取後速やかに真空パックされ、実験に使用するまで-20で保存された。岩石試料は実験の直前に嫌気チャンパー内でオートクレーブ滅菌済みのステンレス製乳鉢やタガネなどで0.5mm以下に粉碎された。岩石を微生物接種源としない場合は、嫌気チャンパー内で100mL容のバイアル瓶に岩石試料5gを加えた後にブチルゴム栓とアルミシールで封入後、オートクレーブを用いて121、1時間の滅菌操作を6回行った。これまでこの滅菌方法により微生物の繁殖が生じたことがないため、完全に滅菌できていると考えられる。当該バイアル瓶9本をオートクレーブ滅菌済みのアルミシールで封印し、嫌気ガス置換装置を用いて、体積比が4:1のN₂-CO₂混合ガスにて5回の減圧と加圧を繰り返すことによりヘッドスペースをほぼ完全に置換した。そのまま30にて培養を行い、ヘッドスペース中のメタン濃度を7日間隔で測定した。(A)~(C)の場合の結果を図14に、(D)~(F)の場合の結果を図15に、(G)~(I)の場合の結果を図16にそれぞれ示す。

20

【0072】

図14~図16に示すように、還元剤として硫化ナトリウムを加えた場合は、微生物接種源をH-RISE微生物とする場合において実験開始から21日目、H-RISE微生物および珪藻岩(珪藻土)とする場合において実験開始から28日目、H-RISE微生物および褐炭とする場合において実験開始から21日目には、概ねメタン生成反応がプラトーに達した。また、還元剤としてシステインを加えた場合は、微生物接種源をH-RISE微生物とする場合において実験開始から42日目、H-RISE微生物および珪藻岩(珪藻土)とする場合において実験開始から35日目、H-RISE微生物および褐炭とする場合において実験開始から21日目には、概ねメタン生成反応がプラトーに達した。一方、還元剤を加えない場合は、微生物接種源をH-RISE微生物および褐炭とする場合においてのみ、実験開始から28日目に概ねメタン生成反応がプラトーに達した。

30

【0073】

以上の結果から、酸素を遮断した閉鎖空間において、石炭および/または珪藻岩と過酸化水素溶液とを反応させて炭素化合物を生成させた後、還元剤を添加して微生物を接種した方が、還元剤を添加しない場合と比較してメタンの生成速度が向上することが明らかとなった。

40

【0074】

<実施例4>地層中におけるメタンガスの生成

宗谷夾炭層(新第三紀)、春採夾炭層(古第三紀)、美唄層(古第三紀)、声問層(新第三紀)の各層の地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けて1または2以上の井戸をさく井し、必要に応じてさく井して得られた1または2以上の井戸の周囲に亀裂を生じさせる。

【0075】

さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注入して地層中に含ま

50

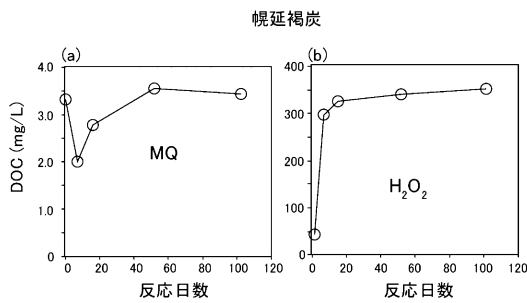
れる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて炭素化合物を生成させるとともに空間を生成させ、さく井して得られた1または2以上の井戸から生成させた炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物を投入し、または炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物とともにもしくは炭素化合物を基質としてメタンを生成する微生物とは別に未殺菌の石炭および珪藻岩の少なくともいずれかを投入もしくは誘導することにより、メタンを生成することができる。

【0076】

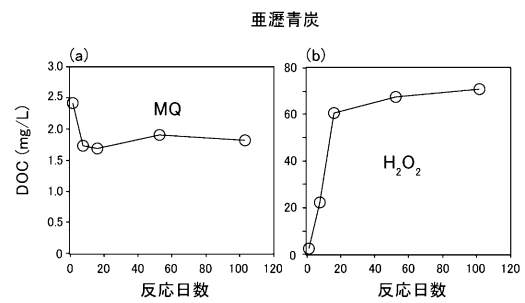
また、宗谷夾炭層（新第三紀）、春採夾炭層（古第三紀）、美唄層（古第三紀）、声問層（新第三紀）の各層の地上から石炭および/または珪藻岩を含む地層へ向けて1または2以上の井戸をさく井する際、水圧破碎法を用いることで、当該作成と同時に、さく井して得られた1または2以上の井戸の周囲に亀裂を生じさせることができる。また、メタンの生成速度を促進するために、さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注入して地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて炭素化合物を生成させるとともに空間を生成させた後、還元剤を注入することができる。さらに、さく井して得られた1または2以上の井戸から過酸化水素溶液を注入して地層中に含まれる石炭および/または珪藻岩と過酸化水素とを反応させて炭素化合物を生成させるとともに空間を生成させた後、塩基性溶液を注入して中性にすることで、メタン生成までの所要時間を短縮させることができる。

10

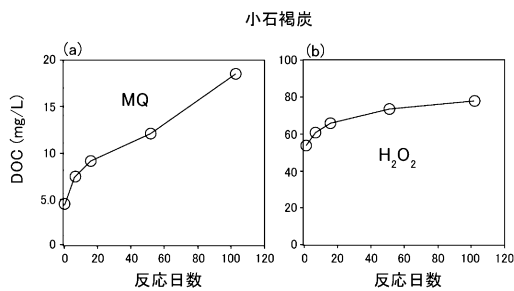
【図1】



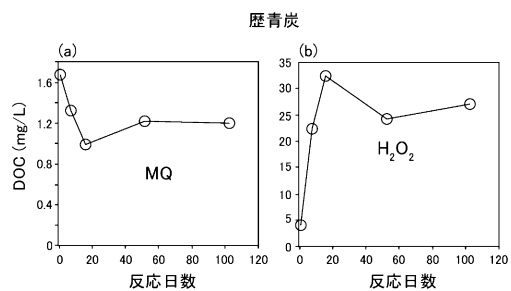
【図3】



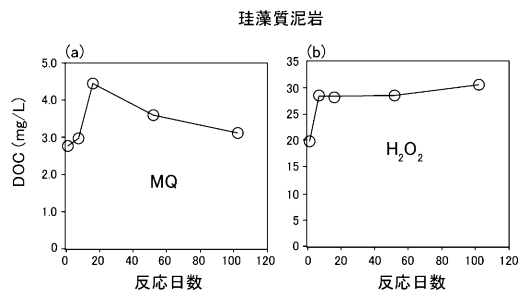
【図2】



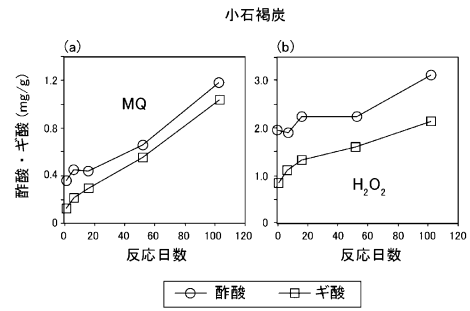
【図4】



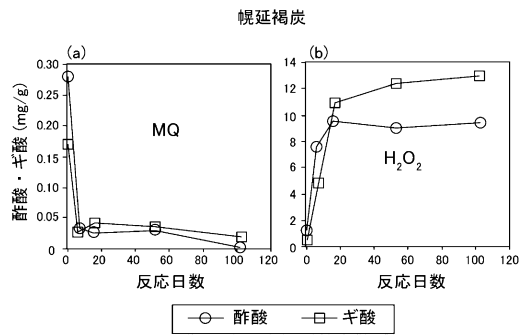
【 図 5 】



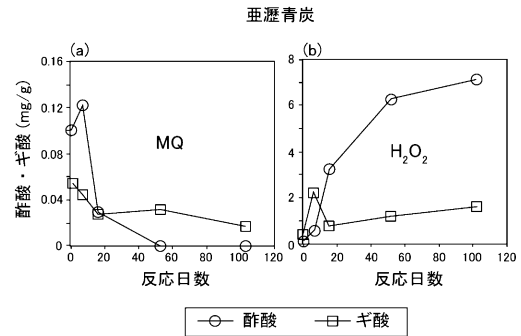
【 図 7 】



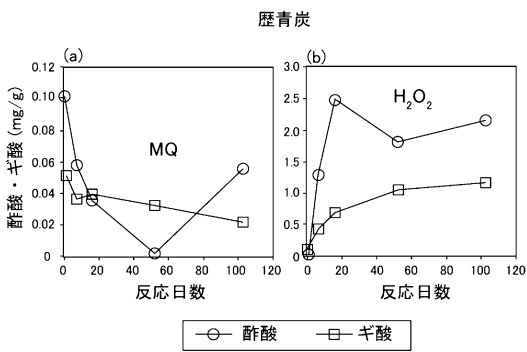
【 図 6 】



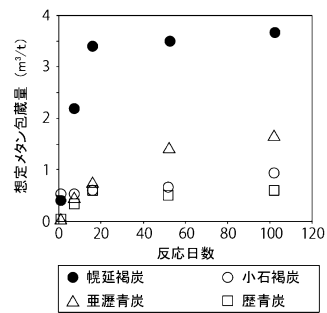
【 図 8 】



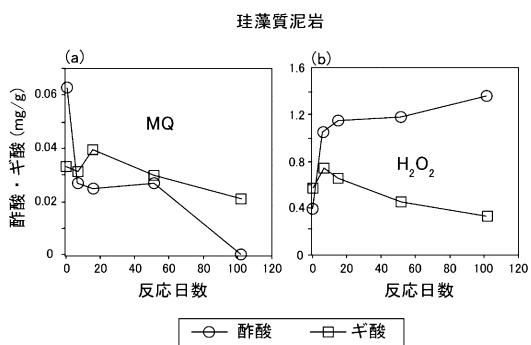
【 図 9 】



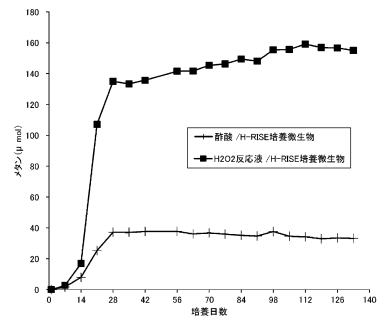
【 図 1 1 】



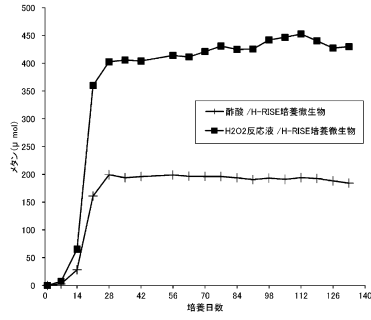
【 図 1 0 】



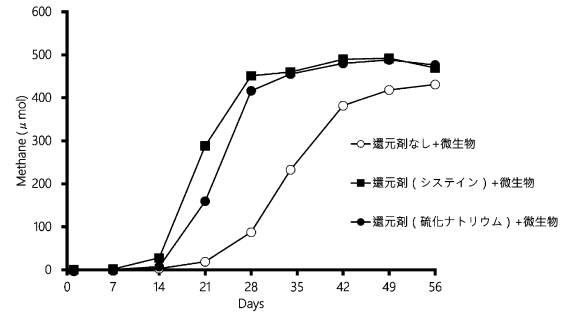
【 図 1 2 】



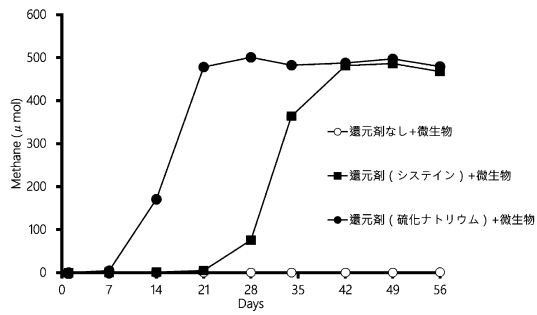
【図 13】



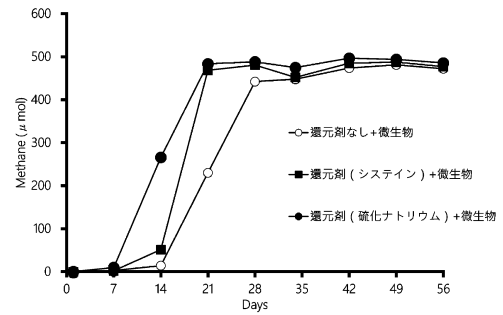
【図 15】



【図 14】



【図 16】



【配列表】

0006396068000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 金子 勝比古
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内
- (72)発明者 清水 了
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内
- (72)発明者 玉村 修司
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内
- (72)発明者 上野 晃生
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内
- (72)発明者 荒牧 憲隆
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内
- (72)発明者 石島 洋二
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内
- (72)発明者 大味 泰
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内
- (72)発明者 遠藤 忠也
北海道天塩郡幌延町栄町 5 番地 3 公益財団法人北海道科学技術総合
振興センター 幌延地圏環境研究所内

審査官 川合 理恵

- (56)参考文献 特表2013-525540(JP,A)
特開2014-051863(JP,A)
米国特許出願公開第2012/0255725(US,A1)
特表2013-526275(JP,A)
特表2011-529128(JP,A)
特表2013-514088(JP,A)
J. Environ. Biotechnol., 2012, Vol. 12, No. 1, pp. 15-24

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12P 5/02
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS(STN)