論文・報告

石油の増回収を目的とした炭化水素利用菌の
集積培養に関する研究 (第 4 報)
— 2F-NW 8901 菌株の利用に関する研究 —

木下 睦*・榎本 兵治**・千田 侑**

(Received July 26, 1993; accepted November 24, 1993)

Studies on the enrichment culture of hydrocarbon
oxidizing bacteria for MEOR (Part 4):
Utilization of 2F-NW 8901 bacterium

Atsushi Kishita, Heiji Enomoto and Tadashi Chida

Abstract: Our previous studies¹⁻³⁾ showed a bacterium 2F-NW 8901 among several ten bacteria could be useful for MEOR. In the present study, conditions for enrichment culture of 2F-NW 8901 in an oil bed were investigated.

Results may be summarized as follows.

1. Supplying oxygen by any manner of means is required for active growth, but supply of sugar is not required.
2. Since 2F-NW 8901 grows relatively fast and lives at the anaerobic condition, a short-time supply or cyclic supply of air may be sufficient for growth.
3. Surface active agents produced may be only the metabolites in hydrocarbon oxidation pathways.
4. Adding the yeast extract or equivalents to the liquid medium is effective for MEOR.
5. Because the concentration of Fe^{2+} ions in a formation water is generally less than that required for the growth of bacteria, adding Fe^{2+} may be effective for the growth of 2F-NW 8901.
6. 2F-NW 8901 is Al^{3+} tolerant to some extent, so that the enrichment culture may be effectively done with the presence of low concentration Al^{3+} ions.

1. 結 言

MEOR において、油層中の原油を炭素源・エネルギー源として利用する菌を用いることができれば、注入栄養量を減少させることができ、かつ炭化水素利用菌によってのみ原油の軽質化が期待できることなどの、いくつかの利点が考えられる。

本研究では、このような観点から、炭化水素利用菌の探索と機能性によるスクリーニングを行い、有望な菌と

して 2F-NW 8901 菌株 (以下、2-F 菌と略記する) を得た¹⁻³⁾。

本報では、この 2-F 菌を油層内で増殖させて石油の増回収に利用するための集積の条件として、酸素の影響および糖類を基質として増殖させた場合について検討し、さらに、前報までで報告した金属イオンの影響および酵母エキスの添加の効果についての検討結果から、油層内培養条件について考察した。

2. 酵母条件に関する検討

2.1 概 要

嫌気性環境である油層内で、酸素供給が制限された場

* 新日本製鉄㈱ (元、東北大学大学院学生)

** 東北大学工学部

合に 2-F 菌が炭化水素を唯一の炭素源・エネルギー源として増殖可能であるかを調べた。また、グルコース単独およびグルコース+酵母エキスを基質としたときのそれぞれの培養における対数増殖期の酸素消費速度から、地下油層への酸素供給法について検討した。

2.2 実験

2.2.1 酸素供給を制限した培養（実験 A）

培養実験は以下のような手順で行った。なお、本研究では、増殖に必要な無機塩類を所定量添加した培地を基準培地と称している。本報の研究でもこの基準培地を用いた。基準培地の組成については別報¹⁻³⁾を参照いただきたい。

- 1) 容量 100ml バイアル瓶に基準培地 60ml を入れ、滅菌した後培地に滅菌済み灯油 2ml を加える。
- 2) 2-F 菌の保存用培地から火炎滅菌した白金耳で菌を採取し、そのままバイアル瓶中の培地に接種する。接種後、別途滅菌したゴムキャップをかぶせる。
- 3) 中央部が開いているアルミキャップでゴムキャップを上から押さえ、ガスの発生によってキャップがはずれないようにする。
- 4) ゴムキャップをとおして注射針を差し込み、注射器で瓶内部の空気を吸引・除去する。
- 5) 温度を 30℃ に保って静置培養する。
- 6) 培養液を観察し、培養液の濁りや油の乳化の状態などの外見上の変化が見られた場合はその時点で培養を止め、キャップをはずして培養液の pH、菌体濃度、界面張力を測定する。測定は既報¹⁾の方法による。
- 7) 培養液に変化が見られない場合は、培養開始から 30日後にキャップをはずし、培養液の pH、菌体濃度および界面張力を測定する。

2.2.2 酸素消費速度を調べるための培養（実験 B）

実験は次のような手順で行った。

- 1) 基準培地の 2 倍の濃度の水溶液 1,000ml（灯油は加えない）を作り、容量 100ml の三角フラスコに 40ml ずつ入れシリコン栓をして滅菌する。
- 2) a: グルコース 25g, b: グルコース 20g+酵母エキス 5g をそれぞれ蒸留水 1,000ml に溶かす。
- 3) a, b の水溶液をそれぞれ滅菌する。
- 4) 1) の各フラスコに a または b を 20ml ずつ加える。
- 5) 4) のフラスコを、a と b のそれぞれについて 10 本ずつ用意する。
- 6) 2-F 菌の保存用培地から培養液 1ml を採取し、滅菌済み基準培地 100ml に懸濁して接種源とし、この菌体懸濁液 1ml をフラスコに接種する。

表 1 酸素の供給を制限した 2F-NW 8901 の培養と好気培養²⁾の結果との比較

測定項目	測定値	好気培養
菌体濃度 (cells/ml)	4×10^7	1.0×10^8
pH	6.9	4.9
界面張力 (mN/m)	22.5	0.4

7) 温度を 30℃ に保って振とう培養する。振とう速度は 1 分間に 80 回とする。

8) 所定の時間ごとに酸素消費速度を測定する。

酸素消費速度は、溶存酸素濃度の経時変化として求めた。溶存酸素濃度の測定は、酸素電極型溶存酸素計（東亜電波科学株式会社 DO-18）を用いて行った。この測定には容量 300ml 程度のフラスコに被検液を満たす必要があるため、培養液を空気を飽和させた基準培地で薄めて使用した。また、溶存酸素濃度測定終了時の菌体濃度を計測した。

2.3 酸素の必要性に関する検討

実験 A の結果を、同培地での好気培養の結果と比較して、表 1 に示す。菌体濃度は、好気培養に比べ約 100 分の 1 であり、酸素供給が増殖を制限する要素となったことを示している。また、pH は基準培地の微生物を接種する以前の値 6.8 に比べ変化していない。界面張力もほとんど低下していない。しかし、30 日後に菌体懸濁液を顕微鏡下で観察したところ、この菌は運動性を失っておらず、再び増殖可能な環境におかれるならば、増殖を開始すると思われる。

密封したバイアル瓶で酸素供給を制限した培養の結果、2-F 菌の増殖は抑制され、pH と界面張力の変化から推定すると、代謝生産物もあまり生成していないようである。従って、2-F 菌は酸素が十分に供給されないと増殖できない菌であると考えられる。

以上の結果より、2-F 菌を原油中の炭化水素を利用して油層内で増殖させるには、十分に酸素を供給する方法を考える必要がある。逆に、この菌の増殖を抑制したい場合は、油層への酸素供給を停止すればよく、供給酸素量の調節によって増殖を制御することが期待できる。

2.4 圧入水中の溶存酸素の利用に関する検討

上述のように、2-F 菌を油層内で増殖させるためには、酸素の供給が必要であることがわかった。そこで、酸素供給方法の 1 つとして、圧入水中の溶存酸素を利用する場合の増殖について検討することにした。酸素消費速度を求める実験には炭素源として灯油のかわりにグルコースを用いた。これは、実験系を均一分散系にするなどの実験技術上の問題による。また、酵母エキス添加の影響についても検討した。

実験 B における菌体濃度の経時変化を図 1 と 2 に示す。対数増殖期は、グルコース単独の場合が培養開始後 5 時間から 28 時間の間、グルコース+酵母エキスの場合は 5 時間から 20 時間の間である。このときの比増殖速度 μ は、それぞれ $0.24(\text{hr}^{-1})$ と $0.70(\text{hr}^{-1})$ である。また、対数増殖期の培養液を用いて測定した酸素消費速度を表 2 に示す。これらの値を用い、以下、2-F 菌の油層内の酸素消費について検討する。

飽和溶存酸素量を $Y_{O_2}(=2.9 \times 10^{-4} \text{ mmol/ml})$, 20°C , 1 気圧) とし、菌体 1 個あたりの酸素消費速度を Q_{O_2} とすると、溶存酸素により増殖可能な単位培地あたりの菌体数 X_m は

$$X_m = (Y_{O_2} / Q_{O_2})$$

と表せる(付録を参照)ので、これから X_m を計算するとグルコースの場合:

$$\mu = 0.24(\text{hr}^{-1}), Q_{O_2} = 3.0 \times 10^{-10}(\text{mmol/hr cell})$$

$$X_m = 2.3 \times 10^5(\text{cells/ml})$$

グルコース+酵母エキスの場合:

$$\mu = 0.70(\text{hr}^{-1}), Q_{O_2} = 3.4 \times 10^{-11}(\text{mmol/hr cell})$$

$$X_m = 6.0 \times 10^6(\text{cells/ml})$$

となる。この結果から、溶存酸素のみによる増殖で増加する菌体数は極めて小さく、溶存酸素のみでは培養に不十分であることがわかる。

培地による差について検討すると、酵母エキスの添加によって増殖可能な菌体数は増加しており、酵母エキスの存在により酸素が増殖に、より効果的に利用されていることがわかる。また、初期菌体濃度 X_0 を $10^{-4}(\text{cells/ml})$ とすると、溶存酸素を消費するに要する時間 t_m は

$$t_m = (1/\mu) \ln(1 + X_m/X_0)$$

により計算され、それぞれの場合に 13.1hr, 9.1hr となる。

2.5 油層への空気の入力に関する検討

油層への酸素供給は、圧入水中の溶存酸素のみでは不十分であり、油層に直接空気または酸素を送入するなど

図1 グルコースを基質とした 2F-NW 8901 菌の増殖の経時変化

図2 グルコース+酵母エキスを基質とした 2F-NW 8901 菌の増殖の経時変化

の操作が必要であることがわかった。

例えば、水攻法における圧入水の脱酸素処理のように、油層内に生息する微生物への影響を考慮して酸素が油層に供給されるのを極力避ける処置が取られている。しか

表 2 2F-NW8901 菌の酸素消費速度

炭素源・エネルギー源	培養時間 (hr)	被検液の菌体濃度 (cells/ml)	酸素消費速度 (mmol/l・hr)	菌体 1 個あたりの 酸素消費速度 (mmol/hr・cell)
グルコース	16	1.0×10^6	0.32	3.2×10^{-10}
	18	1.0×10^6	0.32	3.2×10^{-10}
	20	1.3×10^6	0.33	2.5×10^{-10}
グルコース+酵母エキス	—	—	—	—
	16	1.5×10^7	0.47	3.1×10^{-11}
	18	1.3×10^7	0.48	3.7×10^{-11}

し、石油の増回収法の1つである火攻法では、逆に油層内に酸素を送入して油層内で油の一部を燃焼させ、その燃焼熱の利用により採取率の向上を図っており、この方法では油層内への酸素の供給が基本条件となる。そこで、2-F菌を石油の増回収に利用する方法の1つとして、火攻法における採取率向上への寄与について検討してみる。

火攻法で技術上重要なことは、油層内での燃焼反応を均等かつ安定に進行させることであり、そのためには油層内の燃焼帯へ酸素を均等かつ安定に供給することが必要である。しかし油層内に送入された酸素は気体であるため、原油や油層水に比して流動しやすく、油層の浸透率の不均一性や油層水等との比重の差による影響を受けやすいので、実際に油層内で均等に燃焼帯を進行させるのは困難である。前進式火攻法の理論上の採取率が燃焼に消費された分を除くと100%であるのに、実際の採取率が100%に及ばない理由の1つとしてこのことが考えられる。この問題を解決する方法として、前進式火攻法では湿式火攻法を採用し、圧入水に界面活性剤溶液を用いると、燃焼帯上流側に形成される水パンクで気泡が生成するので、これによって気体の供給をより均等化させることが考えられる。また、後退式火攻法では油層内にあらかじめ界面活性剤溶液を圧入し、その後空気あるいは酸素を送り込んで油層内で発泡させ、気体の流動性を下げて燃焼面への酸素の供給を均等に行う方法が考えられる。しかし、これらの方法を工業的に生産された界面活性剤を使用して行うことはコストがかかりすぎるため、現在のところ困難であろう。そこで、界面活性剤を油層中で2-F菌のような性質を持つ微生物に生産させることが考えられ、コスト低減および採取率の向上が期待される。

さらに、単独のMEORについても、微生物の増殖速度が大で数日程度の日数で十分に増殖し、その効果が期待できる場合には、短期間の空気の圧入あるいはその周期的実施で十分であり、このような場合にも好気性菌の利用が可能と考えられる。

3. 糖類、酵母エキス、金属イオンの影響に関する検討

3.1 糖類を基質とする培養法に関する検討

現在実施されているMEOR研究の主流は、糖蜜などの安価な糖類を油層に微生物とともに圧入して微生物を増殖させることを目的とした方法に関するものである。糖類は、多くの生物に共通する主なエネルギー源であり、微生物にとっても利用しやすいエネルギー源である。

前章で行った実験Bにおいて増殖量とともに糖濃度を測定し、これらの結果から2-F菌の油層内での集積

表3 2F-NW 8901 菌の比増殖速度と培養液の油-水界面張力

炭素源・エネルギー源	比増殖速度 (hr ⁻¹)	界面張力 (mN/m)
グルコース	0.24	45.0
グルコース+酵母エキス	0.70	45.0
灯油	0.28	0.42
灯油+酵母エキス	0.88	0.09

に糖類を用いる方法について検討した。糖濃度は、培養液を孔径0.2μmのメンブランフィルターで濾過して、菌体を除去した後フェノール・硫酸法により全糖量として求めた。

表3に、比増殖速度と界面張力について、灯油あるいはグルコースを用いた培地と、それらに酵母エキスを加えた培地での結果とを比較して示す。比増殖速度が最も小さいのはグルコースを単独で用いた場合で、最も大きいのは灯油を用いた培地に酵母エキスを加えた場合である。また、酵母エキスの有無にかかわらずグルコースを用いた場合よりも灯油を用いた方が増殖速度が大きい。

図3と4に、糖の濃度変化を示す。図1と2に示した菌体濃度の経時変化と比較してみると、増殖が停止した後もかなりの量の糖が残存しており、これらが制限基質になったとは考え難い。また、増殖量をみるかぎり、これらの濃度が高すぎて増殖が阻害されたとも考え難い。従って、2-F菌はグルコースよりも灯油を炭化して増殖する能力の高い菌であると考えられる。

また、界面張力は、グルコースを用いた場合には培養前の値と比べて低下しておらず、灯油が存在する場合にのみ低下している。従って、2-F菌は糖類をエネルギー源として増殖した場合、石油の増回収に対する有用性を失うと考えられる。

以上述べたように、2-F菌は、糖類よりも炭化水素を基質とした方が増殖が活発で石油の増回収に有用であるという性質を持っており、油層内で増殖させるにはエネルギー源として糖蜜などを添加するより原油中の炭化水素を利用する方が好結果が得られると予想される。

3.2 酵母エキスをを用いた場合の効果

表3に示すように、酵母エキスを加えると比増殖速度が大となり、灯油を用いた場合には界面張力がさらに低下した。

2.4節で検討したように、同一酸素量で増殖可能な菌体数は、酵母エキスを加えた場合、グルコース単独の場合の26倍であった。これは、換言すると、酵母エキスの添加により酸素の利用効率が26倍になったということである。これはグルコースを用いた培養の結果であるが、

図3 グルコース単独で培養した場合の2F-NW 9801 菌の増殖によるグルコースの消費 (グルコース初期濃度 12.5g/l)

図4 グルコース+酵母エキ스로培養した場合の2F-NW 9801 菌の増殖によるグルコースの消費 (グルコース初期濃度 10.0g/l)

好氣的代謝におけるエネルギー源の代謝が呼吸による酸化反応であることを考えると、灯油あるいは他の炭化水素を用いてもほぼ同様の結果が得られると推測される。

これらのことから、安価で大量に利用できる酵母エキスの代用品を2-F菌とともに油層に圧入することは、石油の増回収に有用であると思われる。

3.3 金属イオンの影響

金属イオンの影響については第2報²⁾で報告したが、その結果をもとに2-F菌を油層内で培養する場合の金属イオンの影響について考察する。

既報²⁾のように、2-F菌は Fe^{2+} と Mg^{2+} によって増殖を促進され、 Ca^{2+} と Al^{3+} によって増殖を阻害された。特に Ca^{2+} は36mg/lで影響が現れている。わが

国の油田の油層水⁴⁾には14~2,400mg/lの Ca^{2+} が含まれており、2-F菌を利用したMEORの実施には何らかの処置が望まれる。ただし、 Ca^{2+} を加えた場合でも培養液の界面張力は低下しており、他の金属イオンの場合とで大差が認められないため、これらの油田においても同程度の効果が期待できると考えられる。

一例として、八橋油田IV層油層水⁴⁾を取り上げ、2-F菌を利用したMEORを実施する場合について考察してみる。

まず、塩分についてみると、2-F菌はNaCl 2%で影響が現れない¹⁾ので、問題はない。

次に、 Fe^{2+} と Mg^{2+} についてみると、実験で影響が顕著に現れているのは、いずれも100mg/l以上の濃度である。この油層水中には Fe^{2+} はほとんど含まれていないので無機栄養として油層に添加することが必要と考えられるが、他の微生物の増殖を促進する因子ともなり得るので添加量には注意が必要であろう。 Mg^{2+} も、実験で効果が現れた濃度に比してかなり低いので添加することによって増殖を促進することが期待できるが、増殖に必要な最少量は油層水中に存在する。

Ca^{2+} と Al^{3+} は2-F菌の増殖を制御するが、油層中の Ca^{2+} 濃度は14mg/lと低く、 Ca^{2+} の増加は他の菌の増殖を促進する場合があるので、 Ca^{2+} が低濃度であることは好都合である。 Al^{3+} については分析値がなく、微量成分として含まれているとしても、2-F菌は0.1mg/lの濃度ではほとんど影響を受けないので阻害因子にはならないと考えられる。しかし、同時に実験した他の菌にはこの濃度で増殖を抑制されたものもあるので²⁾、逆に2-F菌に影響が現れない程度に添加して、他のAl耐性を持たない菌の増殖を抑制することも考えられる。

3.4 2-F菌の基質代謝に関する考察

グルコースを用いて2-F菌を培養した場合の増殖曲線とpHおよび糖の消費量との対応を図5に、またグルコース+酵母エキスの場合を図6に示す。これらの結果から代謝産物の増殖への影響について検討する。

糖の消費と増殖曲線を比較すると、前述したように糖が十分残っているにもかかわらず増殖は停止している。特にグルコース単独で培養した場合は最大菌体濃度は 10^8 (cells/ml)で、増殖量が小さい。このとき、培養液のpHは4.1まで低下している。一方、基質として灯油を用いた場合にはpHは4.9までしか低下しておらず²⁾、グルコースの場合、増殖の途中で増殖に有害ななんらかの酸を蓄積し、それが増殖を阻害していることが考えられる。また、図6に示すように、グルコースに酵母エキスを加えた場合にもpHの低下は小さい。この理由として、増殖阻害物質が生産されない、あるいはアル

カリ性の物質が生成して中和され阻害可能な濃度まで蓄積しないなどが考えられるが、酵母エキス添加の場合は培養の後期において pH が上昇していることから、後者

の可能性が大と推定される。前報³⁾の研究で用いた他の3種類の菌についても、グルコースに酵母エキスを加えた場合に pH の上昇がみられている。

次に、代謝における酵母エキスの役割について検討してみる。基質消費および酸素消費についての代謝係数 Q_g , Q_{O_2} および Q_{O_2}/Q_g を表4に示す。 Q_{O_2}/Q_g は、見かけ上1個の細菌細胞が1molのグルコースを消費するのに必要とする酸素のモル数である。

1molのグルコースがエネルギー源として異化経路で完全に酸化されたときの反応式は次のとおりである。

上式が成り立つとき、

$$Q_{O_2}/Q_g = 6$$

になる。従って、

$$Q_{O_2}/Q_g < 6$$

のとき、グルコースは完全に酸化されないでいるか、あるいはエネルギー代謝以外の別の経路で消費されていると考えられる。逆に、

$$Q_{O_2}/Q_g > 6$$

ならば、グルコース以外のものがエネルギー源として利用されていることを示している。表4に示すように、グルコース単独で用いた場合、 Q_{O_2}/Q_g の値はほぼ2.0であり、消費されたグルコースの3分の1程度がエネルギー源として使われたと推定される。また、グルコースに酵母エキスを加えた場合の Q_{O_2}/Q_g は、対数増殖期で15~22と大きく、酵母エキスがエネルギー源としても利用されていることがわかる。このとき Q_g はグルコース単独の場合の約100分の1であり、かなりの割合でグルコースの代わりに酵母エキスが消費されていることが考えられる。

次に、比増殖速度 μ についてみると(表3)、 μ が最小なのはグルコースを単独で用いた場合で、最大なのは灯

図5 グルコースを基質とした2F-NW 9801 菌の増殖による菌体濃度、グルコースの消費および pH の経時変化の対応

図6 グルコース+酵母エキスを基質とした2F-NW 9801 菌の増殖による菌体濃度、グルコースの消費および pH の経時変化の対応

表4 2F-NW 8901 菌のグルコース代謝における代謝係数

培養時間 (hr)	グルコース			グルコース+酵母エキス		
	Q_{O_2} (mmol/hr・cell)	Q_g (mmol/hr・cell)	Q_{O_2}/Q_g	Q_{O_2} (mmol/hr・cell)	Q_g (mmol/hr・cell)	Q_{O_2}/Q_g
5	7.5×10^{-9}	0	—	7.5×10^{-10}	0	—
9	7.1×10^{-10}	0	—	—	0	—
16	3.3×10^{-10}	1.9×10^{-10}	1.7	3.2×10^{-11}	1.7×10^{-12}	18.0
18	5.2×10^{-10}	2.5×10^{-10}	2.0	3.6×10^{-11}	2.3×10^{-12}	15.7
20	2.6×10^{-10}	1.3×10^{-10}	2.0	1.1×10^{-11}	4.8×10^{-12}	22.9
24	8.8×10^{-11}	4.2×10^{-11}	2.1	—	6.5×10^{-12}	—
28	2.5×10^{-11}	1.3×10^{-11}	1.9	4.9×10^{-12}	6.9×10^{-13}	7.0

油に酵母エキスを加えた場合である。また、灯油を単独で用いた場合とグルコースに酵母エキスを加えた場合とを比較すると、グルコースに酵母エキスを加えた場合に μ が大きくなる。グルコース、灯油および酵母エキスを加えた量は、普通微生物が増殖するのに十分な量であり、増殖制限基質にはならないと考えられる。また増殖量を見る限り濃度が高すぎて増殖が阻害されたということも考えられない。そこで、この結果から次のようなことが考えられる。

酵母エキスを加えた場合には、グルコースあるいは灯油は、エネルギー源として異化経路で消費される。酵母エキスが同化経路での反応のための物質を十分に供給するため、グルコースあるいは灯油を単独で用いたときのように同化経路での反応が律速ではなくなり、増殖速度は増加する。しかし、今度は同化に必要なエネルギーの生産が増殖全体の反応を律することになる。このため酵母エキスを加えた場合もエネルギー源として利用しやすい灯油を用いた方が増殖速度が大きくなっていると考えられる。

また、界面張力を比較すると、グルコースを用いた培養実験では、酵母エキスの有無にかかわらず界面張力が変化していない。従って、界面活性物質は灯油の資化過程で生産される物質で、灯油に酵母エキスを加えた場合の界面張力の低下はこの物質の消費が減り蓄積が進行したことによるもので、酵母エキスのみを原料とした新たな界面活性物質が生産されたことによるものではないと推察される。

4. 結 言

石油の増回収に最も有望と思われる 2F-NW 8901 菌の油層内での集積培養条件を検討した。その結果、石油の増回収を目的として 2F-NW 8901 菌を油層内で活発に増殖させることは、糖類を加える必要はないが、空気の入送などによる酸素の供給が不可欠であることがわかった。また、酵母エキスの添加により比増殖速度 μ が増大する、界面張力がより低下するなどの効果があり、増殖におけるエネルギーの利用効率も向上した。このような効果は、酵母エキスを代用できる安価な原料があれば、実用的にも期待できるものと思われる。

また、一般に油層水は、 Fe^{2+} の含有量が少ないのでこれを油層水中に加えることは、2F-NW 8901 菌の増殖

を活性化するのに役立つと思われる。 Mg^{2+} は、平均的な油層水の濃度ならば十分である。さらに、低濃度の Al^{3+} を油層に加えることは、2F-NW 8901 菌の増殖には直接影響しないが、他の微生物の増殖を抑える効果が期待できる。

文 献

- 1) 木下 睦・榎本兵治・千田 信, 1992: 石油の増回収を目的とした炭化水素利用菌の集積培養に関する研究(第1報) - 炭化水素利用菌の探索と代謝機能によるスクリーニング -, 石技誌, 57(2), 11-22.
- 2) 木下 睦・榎本兵治・千田 信, 1992: 石油の増回収を目的とした炭化水素利用菌の集積培養に関する研究(第2報) - 単独菌に対する金属イオンの影響 -, 石技誌, 57(2), 125-132.
- 3) 木下 睦・榎本兵治・鴻巣 彬・千田 信, 1993: 石油の増回収を目的とした炭化水素利用菌の集積培養に関する研究(第3報) - 酵母エキス添加の影響 -, 石技誌, 59(2), 174-179.
- 4) 石油技術協会編, 1983: 石油鉱業便覧, p. 35.

付 録

単純化のため、次の仮定を行う。

- ・増殖は油層への圧入と同時に開始される。
- ・圧入水は油層水と混合せず、菌も圧入水の中でのみ増殖する。

このとき、対数増殖期のある時間 t における菌体濃度 x は、初期菌体濃度を x_0 とすると、

$$x = x_0 \cdot \exp(\mu t) \quad (1)$$

で表せる。この時間 t における酸素消費速度 R は

$$R = Q_{O_2} \cdot x_0 \cdot \exp(\mu t) \quad (2)$$

である。ここに、 Q_{O_2} は菌体 1 個あたりの酸素消費速度である。対数増殖期で Q_{O_2} が一定ならば、時間 t までに消費された酸素量 Y_{O_2} は式 (2) を積分して

$$Y_{O_2} = (Q_{O_2} \cdot x_0 / \mu) \cdot [\exp(\mu t) - 1] \quad (3)$$

となる。ここで Y_{O_2} を溶存酸素濃度とすると、 Y_{O_2} によって増殖可能な菌体数 $x_m (= x - x_0)$ は式 (1), (3) より

$$x_m = \mu (Y_{O_2} / Q_{O_2}) \quad (4)$$

となる。また、 Y_{O_2} の消費に要する時間 t_m は

$$t_m = (1/\mu) \ln(x/x_0) \quad (5)$$

$$= (1/\mu) \ln(1 + x_m/x_0) \quad (6)$$

より求められる。