報 告

微生物攻法に関する研究の現状とフィールドテストへの展望*

米林 英治**・田口 充**・藤原 和弘***

吉田 信一郎****・榎本 兵治*****

(Received October 9, 1996 ; accepted November 27, 1996)

Present research on microbial EOR technology and
technical feasibility study for a field pilot test

Hideharu Yonebayashi, Mitsuru Taguchi, Kazuhiro Fujiwara,
Shinichiro Yoshida and Heiji Enomoto

Abstract: TRC has been studying the Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) process since 1987. Now, TRC is planning a field trial to promote our MEOR study to the next stage. As a target of MEOR application, a shallow oil field which has been under waterflooded for over 20 years has been selected. In the technical feasibility study, adaptabilities of microbes to the field were investigated to select candidate microbes for injection. Effects of reservoir conditions, namely, reservoir water, temperature, nutrient, additives and original microbes in the reservoir, on the microbial growth and their metabolism were tested. A field trial will start in late 1996 to prove these laboratory results.

Key words: microbial enhanced oil recovery, Fuyu oilfield, waterflooded reservoir, Huff and Puff field test, screening, reservoir-originated microbes, 16S-ribosomal ribonucleic acid

1. はじめに

近年続いている油価低迷環境は、大規模な投資を必要とする IOR/EOR (Improved Oil Recovery/Enhanced Oil Recovery) 技術の適用を困難にしている。今後も

油価の上昇は難しいことが予想されることから、より安価な採油増進技術の開発はますます重要になると考えられる。このような経済状況下において、微生物攻法 (MEOR: Microbial EOR) は初期投資が少なく経済性の高い IOR/EOR 技術の 1 つとして認識されており、公団技術センター (TRC: Technology Research Center) では同攻法に関する研究を昭和 62 年度より行っている。MEOR は地下油層内に微生物とその栄養源を圧入し、油層中において微生物を増殖させるとともにそれらの代謝機能を利用して、ガス・酸・サーファクタント・ポリマーなどを生産させることにより、油の増回収を図るという手法である。同攻法は既存施設利用の観点から、水攻法を実施している油田への適用が容易であり、新たに必要となる施設も比較的小規模な地上培養施設程度と投入すべき投資も少ない。最近では、国内産原油の生産維持・増産を急務としているが、経済面の体力が不足している中国、インドネシアなどにおいて、水攻法末期油田を対象とした MEOR フィールドテストが実

* 平成 8 年 6 月 6 日、平成 8 年度石油技術協会春季講演会 開発・生産部門シンポジウム「石油、天然ガスの採取技術における最近の動向」で講演 This paper was presented at the 1996 JAPT Development and Production Technology Symposium entitled "Latest trend of oil and gas production technology" held in Akita, Japan, June 6, 1996.

** 石油公団石油開発技術センター Technology Research Center, Japan National Oil Corp.

*** (株)関西新技術研究所ライフサイエンス研究部 Life Science Lab., Kansai Research Institute.

**** (財)日本食品分析センター Japan Food Research Lab.

***** 東北大学工学部地球工学科 Dept. of Geoscience and Technology, Faculty of Eng., Tohoku Univ.

図1 扶余油田位置

施されたとの報告^{1,2)}があり、IOR/EOR 技術の適用にあたって MEOR が重要な選択肢の 1 つとなりつつある。しかしながら、いまだ MEOR の適用に慎重にならざるをえない問題点があるのも事実である。この原因の 1 つは、Beckman が 1926 年に MEOR を提唱³⁾して以来、数多くのフィールドテストが報告⁴⁾されているにもかかわらず、増油の要因・失敗の原因にまで追及した報告がほとんどないことに集約される。すなわち、油層中に圧入した後の微生物の増殖・代謝活動の把握が困難であることが、増油メカニズムの解明を難しくしている。

そこで、TRC では新たに遺伝子解析の技術を導入するなどして、油層内での圧入微生物の状況を正確に把握することにより増油機構を解明して最終的に同攻法の実用性向上を目指すこととしている。さらに、これまでの TRC における研究で、ガス・酸・サーファクタント・ポリマーを生産し、油回収実験において増油効果を発揮する多数の有用菌を探索・収集しており、これらの微生物の実油田での増油効果の実証を図るものとする。

今回の講演では、フィールドテスト実施のためのフィジビリティスタディについて報告する。

2. フィールドテスト対象油田の選定

テスト対象油田は次に示す基準により、中華人民共和国吉林省の扶余油田が選定された(図1参照)。すなわち、比較的低い油層温度、良好な浸透率、高孔隙率、中質原油、砂岩質、そして水攻法実施フィールドであることが選定条件となった。扶余油田の特徴を列記すると、油層深度は300~500 m、油層は縦方向に13枚の砂岩層からなり、シェールとの薄互層を形成している。なお、

表1 テスト区域概要

テスト区域	東24-23	東24-26
油層面積 [km ²]	0.562	0.219
層 厚 net [m]	15.2	14.8
浸 透 率 [md]	240	230
孔 隙 率 [%]	26	26
生 産 井 [well]	24	15
圧 入 井 [well]	4	4
坑井間距離 [m]	100	100
水 量 率 [%]	68*	70*

*: 1995年現在

大別すると4つのゾーンに分けられる。油層温度は28~32℃、油層圧力は20~30気圧であり、油性状は粘度32 cp、比重0.868である。開発初期には2500本の生産井と710本の圧入井が掘削された。また、1973年から油田全域で水攻法が実施されている。ただし、初期の逆9点法のパターンは早期のブレイクスルーのため、現在ではラインドライブパターンに変更されている。当油田の油層面積は120 km²に及ぶ。油田の開発は西部地区から東部に向けて実施され、東側に比較的新しい井戸が多いことから、テスト対象ブロックには本油田の東側の東24-26区域および東24-23区域の2区域を選出した(表1および図2参照)。

3. 扶余油田の調査

東24-26区域の2本の生産井(Well No. 22-26₄, 22-26)および1本の圧入井(Well No. 22-27₂)と東24-23区域の2本の生産井(Well No. 24-24, 24-23₄)の坑井

図2 テスト区域地図

元にて油層水および圧入水を採取し、これらの試料中に介在する微生物の調査および成分分析を実施した。さらに、参考として水攻プラントにて処理された直後の圧入水も採取して同様の分析を行った。

まずは、油層中に存在する先住微生物の調査結果について以下に述べる。調査対象は広範に一般微生物（好気性菌および嫌気性菌）、硫黄および窒素の循環に係わる微生物（硫酸塩還元菌、脱窒菌など）とした。調査対象の各種微生物は、その種類によって設定された培養条件および培地を用いてそれぞれ個別に計測された。その結果、一般微生物が比較的高い濃度で検出され（図3参照）、先住菌と圧入微生物との間の競合性に関する検討の必要性が示唆された。さらに、これらの先住菌のうちモラセスを用いて増殖する微生物を16 S-rRNA（16 S-ribosomal rebonucleic acid）の分析により遺伝子学的に菌種の分別を行い、合計28種類のモラセス資化微生物を得た（表2参照）。フィールドテストの際、これらのモラセス資化微生物は圧入された微生物の競合相手となる。この競合性については次章の圧入微生物の選択の中で述べる。

次に、油層水の分析を行った結果（表3参照）、微生物に悪影響を与える要素は認められず、以下のラボ実験

には油層水成分のうち主要なものを再現した合成ブラインをベースとした培地を用いた。

4. 圧入微生物の選択

TRCではこれまでにドリリングカッチングス、油層水、天然ガスかん水、坑井付近の土壌および活性汚泥などから油層環境中でも生育する微生物の探索・収集を継続して実施している。そしてそれらの中から、採油増進に有用な代謝物を生産する機能を有した有用微生物をスクリーニングにより選別している。これまでに収集した主要な有用微生物を表4に示す。これらの中からフィールドテストに供する菌を、油層環境への適応、油層先住菌との競合および油回収能力の観点から検討した。また、圧入系の最適化を図ることを目的として、添加栄養源に関する検討も併せて実施した。

4.1 油層環境への適応性検討

主要な油層水成分を再現した合成ブラインをベースとし、現地生産されているモラセスを唯一の栄養源とした培地（表5参照）を用い、油層温度（30℃）にて嫌気培養を行うことにより、油層環境を模擬した形での培養実験とした。現地産モラセスを使用した理由は、これをフィールドテストに使用する予定だからである。本実験

1 : Well 22-264
2 : Well 22-26
3 : Well 22-27₂
4 : Well 24-24
5 : Well 24-23₄
6 : 水攻プラント

A : 好酸性硫黄酸化細菌
B : アンモニア酸化細菌
C : 硫酸塩還元菌
D : コリネフォルム細菌
E : 嫌気性芽胞菌
F : 好気性芽胞菌
G : 非発酵性グラム陰性桿菌

図3 微生物相分析結果

注) 優勢に分離されなかったものは0.1にプロットした

表2 サンプル中に介在するモラセス資化微生物

テスト 区域	Well No.	モラセス資化微生物
東24-26	22-26	103,106,107,108,109,110,111,112
	22-27 ₂	101,102,103,104,105,106,108,113, 114,115,116,117,118,119,122
	22-26 ₄	106,109,120,121,128
東24-23	24-24	101,102,103,105,113,114,115,118, 122,123,124,125,126
	24-23 ₄	127

において被検菌の増殖能力および代謝能力の計測結果を表5に示す。TRC-4126菌を除くすべての有用菌がこれまでの培養実験と同等の増殖を見せた。代謝能力についてはガス生産量が従来の値より大幅に増加した値であったが、そのほかの代謝能力は従来の値には及ばなかった。

4.2 油層先住微生物との競合特性検討

次に、油層中では先住微生物と圧入微生物との競合が生じるため、その影響を調査した。競合対象としたのは、油層先住モラセス資化性菌のうち高増殖能の上位2

表3 油層水成分分析結果

成 分	サ ン プ ル	
	Well 22-27 ₂	Well 24-24
Al	<0.05	<0.05
Cu	<0.02	<0.02
HCO ₃ ⁻	2100	2000
Total Fe	1.1	0.55
Fe ²⁺	<0.2	<0.2
Fe ³⁺	<0.2	0.26
Zn	<0.02	<0.02
Mn	0.11	0.19
Sn	<0.1	<0.1
Co	<0.02	<0.02
Total Hg	<0.0005	<0.0005
Cd	<0.005	<0.005
Pb	<0.05	<0.05
As	0.11	0.2
Sr	4.3	4.3
Total Cr	<0.02	<0.02
HCN	<0.025	<0.025
Cl ⁻	790	990
Na ⁺	1200	1300
K ⁺	16	14
Mg ²⁺	13	14
Ca ²⁺	47	55
PO ₄ ³⁻	6.1	7.3
NO ₂ ⁻	0.49	0.96
Br ⁻	2.1	2.8
I ⁻	1.6	1.6
SO ₄ ²⁻	4.1	0.55

単位: [mg/L]

種の菌(113, 118)である。この検討には、ハロー形成実験と併せて、液体培地を用いた培養実験も実施した。ハロー形成実験は寒天培地上全面に、まずは競合対象となる微生物を塗布し、引き続いて被検微生物を中央部に植え付けて培養を行い、被検菌周囲に形成される微生物の増殖を阻害するクリアーゾーン(ハロー)によって抗菌作用を評価する手法である。液体培地を用いた競合テストでは、前述の遺伝子解析の手法を導入することにより、被検菌および対象菌の計測を個別に行った。

前者のハローテストからは次の3種類の結果が得られた。すなわち、*B. subtilis* TRC-4126と113菌の場合のように、競争相手の113菌のコロニーしか出現せず、被検菌の増殖が抑制された例(図4参照)、*E. cloacae* TU-7 Aと113の場合のように、両方のコロニーが出現したがハローの形成はなく、双方とも互いに影響を与えなかつ

表4 主要有用微生物

菌株名	属 種	主 要 代 謝 機 能	起 源	
			採取試料	サンプリング場所
TRC-322	<i>Enterobacter cloacae</i>	Gas	油層水	豊川油田
TRC-4118	<i>Bacillus subtilis</i>	Surfactant	活性汚泥	千葉県下水処理場
TRC-4126	<i>Bacillus subtilis</i>	Surfactant	活性汚泥	千葉県下水処理場
TRC-18-2-a	<i>Bacillus licheniformis</i>	Gas, Acid, Surfactant and Polymer	カッティングス	御前崎相良試験場
TU-4D ^{*1)}	<i>Enterobacter amnigenus</i>	Gas, Acid and Surfactant	油層水	由利原油ガス田
TU-7A ^{*1)}	<i>Enterobacter cloacae</i>	Gas, Surfactant	坑井付近の土壌	南阿賀油田
JF-2 ^{*2)}	<i>Bacillus licheniformis</i>	Surfactant	油層水	Oil Well in Carter County, Okla.
SP-018 ^{*2)}	<i>Bacillus licheniformis</i>	Polymer		

*1) 東北大学分離菌

*2) オクラホマ大学より分与

表5 培 地 組 成

Molasses	40.0g
NaCl	1210mg
KCl	23mg
NaHCO ₃	2820mg
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	187mg
MgCl ₂ · 6 H ₂ O	114mg
FeCl ₃ · 6 H ₂ O	4mg
KH ₂ PO ₄	10mg
NaHSO ₄ · H ₂ O	3mg
Distilled Water	1,000ml

図5 ハロー形成実験 (*E. cloacae* TU-7A vs. 113) 図4 ハロー形成実験 (*B. subtilis* TRC-4126 vs. 113)

た例 (図5参照), そして *B. licheniformis* TRC-18-2-a と118菌のように, 被検菌と競合対象菌との間に典型的なハローが形成され, 被検菌が競争相手を抑制しつつ増殖した例 (図6参照) が観察された。図6の場合でクリアーゾーンが形成された要因としては, *B. licheniformis* TRC-18-2-a 菌が生成したサーファクタントによる118菌の溶菌と考えられる。

図6 ハロー形成実験 (*B. licheniformis* TRC-18-2-a vs. 118)

液体培養実験による検討においてもハローテスト同様に3種類の典型的な結果が得られた。このうち, 被検菌の増殖が計測された例を図7~9に示す。増殖に競合の影響が無かったこれらの菌については, 当然のごとく代謝機能への影響も認められなかった。その一例として *E. cloacae* TRC-322菌のガス生産能, *B. subtilis* TRC-

図7 *E. cloacae* TRC-322菌と113菌との競合性試験結果

図9 *E. cloacae* TU-7A 菌と113菌との競合性試験結果

図8 *B. subtilis* TRC-4118菌と113菌との競合性試験結果

図10 113菌との競合下における *E. cloacae* TRC-322菌のガス代謝

4118菌のサーファクタント代謝能をそれぞれ図10および図11に示す。

4.3 油回収能力検討

扶余油田産の原油、油層水を再現したブラインおよびベレア砂岩 (L 12"×φ1.5", Kw=520 md, φ=23%) を用いた油回収実験による増油能力評価を実施した。実験装置および実験手順の概要をそれぞれ図12および図13に、実験条件および結果を表6に示す。*E. cloacae* TRC-322を用いた場合、水攻後の残油に対して15.5%の増油が得られた (図14参照)。この菌の培養期間中の圧力経時変化をみると (図15参照)、最大178 psi まで圧力が上昇しており、ガスの代謝が良好に進んだことを示している。なお、*E. cloacae* TRC-322菌の代謝ガスは、その70%以上が炭酸ガスであった。したがって、圧力経時変

化が培養開始1.5日以降、下降しているのは炭酸ガスが原油中に溶解したためと考えられる。*B. subtilis* TRC-4118の場合には14.0% Sor (図16参照)、*B. licheniformis* TRC-18-2-a のケースでは13.7% Sor (図17参照) の増油が得られた。原油回収時のオイルレートを比較すると、*E. cloacae* TRC-322の場合は比較的連続した生産が行われていることがわかる。一方で *B. subtilis* TRC-4118の場合はかなり断続的な油回収となっている。これは両微生物の代謝機能の差異によるものと考えられる。すなわち、前者はガス生産菌であり、代謝されたガスが原油に溶解して膨潤し、全体として見掛け上移動しうる油が増大したため、連続的な油回収が得られたと考えられ、後者のサーファクタント生産菌の場合は、代謝された界面活性物質により、孔隙内に捕われている油の一部

が少しずつ掃攻されてオイルバンクを形成し、圧入水によって移動する量にバンクが成長してはじめて回収が進むというサイクルが繰り返されたため、断続的な回収挙動を示したと考えられる。*B. licheniformis* TRC-18-2-a のオイルレートの挙動はこれらの菌の中間的なものであったが、これは、本菌がガスおよびサーファクタント代謝の両機能を複合して発揮したためと考えられる。

以上

のテストの結果より、*E. cloacae* TRC-322, *E. cloacae* TU-7 A, *B. licheniformis* TRC-18-2-a, *B. subtilis* TRC-4118 の4種類の微生物が圧入候補となった。

4.4 添加栄養源の検討

適応性検討の際に測定された、各微生物の増殖量、ガス生産量、界面張力および粘度などの測定値のうち、ガス生産量を除く値が、これらの微生物のスクリーニング段階で得られた値には及ばなかった。この理由は、今回、培地に中国産のビートモラセスを用いており、スクリーニング時には日本産ケーンモラセスを使用していたことが要因と考えられる。双方の成分比較の結果（表7参照）、リンの含有量に顕著な違いが確認されたため、中国産モラセスをベースにした培地にさらに、リン成分を添加した場合の比較培養実験を行った。その結果の一例として *E. cloacae* TU-7 A 菌の場合を挙げると、ガス生産量が約7倍に増加する結果となり、リン添加の有効性が確認された。したがって、フィールドスケールで考えた場合、リン成分に富む安価な有機肥料などをモラセスと併用することにより、効果を増大させる可能性が示

図11 113菌との競合下における *B. subtilis* TRC-4118菌の界面活性物質代謝

図12 油回収実験装置概要

表 6 油回収実験条件および結果

No.		1	2	3
孔隙率	ϕ [%]	23	23	23
浸透率	Kw [md]	474	542	543
初期油飽和率	Soi [%]	85	82	72
水攻後残留油飽和率	Sor [%]	42	26	40
供試微生物		TRC-322	TRC-4118	TRC-18-2-a
初期菌体濃度 $\times 10^6$	[cells/ml]	0.04	3.5	1.4
培養期間	[日]	10	11	10
油回収率 (対水攻後残留油) [% Sor]		15.5	14.0	13.7

図13 油回収実験手順概要

図14 *E. cloacae* TRC-322を用いた油回収実験結果

唆された。

5. 今後の予定

現在、フィールドテスト実施のための準備作業を実施中であり、現地では微生物培養施設の建設が進行中である。さらに9月には、テストブロックの油層評価をより精度良く行うための最新データ（残留油飽和率分布、貯留層の物性、粘土鉱物の類型および特性など）を取得することと油層コア内に存在する微生物の分布状況調査を目的としたコア掘も計画されている。

図15 *E. cloacae* TRC-322の培養期間中の圧力経時変化 図16 *B. subtilis* TRC-4118を用いた油回収実験結果 図17 *B. licheniformis* TRC-18-2-aを用いた油回収実験結果

また、ラボにおいては微生物圧入系の最適化を図るために、微生物の初期菌体濃度、栄養源の濃度、添加物などに関する検討を行っている。併せて、フィールドテストの際の圧入微生物の確実な検出を図るために、当該微

表 7 モラセス分析結果

成 分	中 国 産 モラセス	日 本 産 モラセス	単 位
全窒素	0.99	0.51	%
灰 分	7.5	8.4	%
揮発性塩基窒素	6.0	1.0	mg/100g
P	6.2	43.1	mg/100g
Fe	33.1	21.3	mg/100g
Ca	662	766	mg/100g
Na	1390	84.7	mg/100g
K	1660	1500	mg/100g
Mg	52.1	256	mg/100g
Cl	844	1470	mg/100g
Furctose	2.13	7.69	%
Dextrose	2.61	6.94	%
Sucrose	37.1	28.3	%
直接還元糖	5.6	17.0	%
全 糖	44.3	46.9	%
アミノ態窒素	150	40.0	mg/100g
二酸化硫黄	0.003	ND*	g/kg
硝酸根	6.8	0.05	g/kg
Cu	15	28.0	ppm
Zn	8.03	9.86	ppm
Mn	6.23	27.8	ppm
SiO ₂	1070	2310	ppm
Al	48	37	ppm

*: ND="not detected"

生物の蛍光ラベル化遺伝子プローブを構築している。

現在のところ、第1回目のハフ & パフテストは本年11月頃に開始する予定である。

6. ま と め

- (1) フィールドテスト対象油田として中国吉林省の扶

余油田を選定した。

- (2) 対象油田には比較的高い菌体濃度で微生物が存在していることが確認され、圧入微生物との間で生存競争が生ずることが予想された。
- (3) 油層先住微生物との競合も含め、当該油層条件に適応可能な4種類の有用菌 (*E. cloacae* TRC-322, *B. subtilis* TRC-4118, *B. licheniformis* TRC-18-2-a, *E. cloacae* TU-7 A) を圧入候補として得た。
- (4) *E. cloacae* TRC-322, *B. subtilis* TRC-4118, *B. licheniformis* TRC-18-2-a を用いた油回収実験において、いずれも約15% Sor の増油が得られた。
- (5) 中国産モラセスを使用した場合、リンの添加による微生物代謝機能の高い増幅効果が得られた。
- (6) 第1回目のテストは1996年11月の実施を目指している。

引 用 文 献

- 1) Wang, X. Y., Xue, Y. F., Dai, G. and Zhao, L., 1995 : Application of bio-Huff-n'-Puff technology at Jilin oil field. *The 5th international conference on microbial enhanced oil recovery and related biotechnology for solving environmental problems*, 115-127.
- 2) Zhang, C. Y. and Zhang, J. C., 1993 : A pilot test of EOR by in-situ microorganism fermentation in the Daqing oilfield. *Microbial enhancement of oil recovery-recent advances*. (ed. by Premuzic, E. and Woodhead, A.), 231-244. Elsevier.
- 3) Beckman, J. W., 1926 : Action of bacteria on mineral oil. *Ind. Eng. Chem., News Ed.*, 4 (21), 3.
- 4) Lazar, I., 1991 : MEOR field trials carried out over the world during the last 35 years. *Microbial enhancement of oil recovery-recent advances*. (ed. by Donaldson, E. C.), 485-530. Elsevier.