

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24780089

研究課題名(和文) 低炭素型枯渇油田再生化技術の開発を目指した原油分解メタン生成メカニズムの解明

研究課題名(英文) Deciphering mechanisms of methanogenic crude oil biodegradation for development of energy recovering technology from depleted oil reservoirs.

研究代表者

眞弓 大介 (Mayumi, Daisuke)

独立行政法人産業技術総合研究所・地圏資源環境研究部門・研究員

研究者番号：30549861

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、枯渇油田に残留する未回収原油を油層微生物の働きを活用して、原油をメタンに変換し回収する技術の開発を目指し、深部地下油層環境における原油分解メタン生成反応のメカニズム解明を試みた。

本研究によって、枯渇油田における原油分解メタン生成ポテンシャルの分布やその評価手法に関する知見を得ることに成功し、油層微生物を活用した枯渇油田再生化に資する成果を得た。

研究成果の概要(英文)：This research project has aimed to decipher the mechanisms of methanogenic crude oil biodegradation in deep subsurface oil reservoirs in order to develop the technology of energy recovery by conversion to methane from depleted oil reservoirs remaining a large amount of crude oil by using microorganisms inhabiting oil reservoirs.

We could obtain the finding about the distribution of the potential of methanogenic crude oil biodegradation and the evaluation methods for the depleted oil reservoirs, which contributes to develop the technology of energy recovery by using microorganisms inhabiting oil reservoirs.

研究分野：地圏微生物学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：メタン生成 油田 原油

1. 研究開始当初の背景

「エネルギー資源の枯渇」や「地球温暖化」の問題は年々深刻化している。また、国内においても原発に替わるエネルギー資源の開発が急務である。原油は世界のエネルギー生産の 35%を担う最も重要なエネルギー資源である。現在、油田の原油埋蔵量は 15 兆バレルとされるが、現在の技術で採掘可能な資源量は一部で、半分以上を残存した状態で枯渇油田とされる。そのため、枯渇油田の再生化がエネルギー資源の確保の為に必要で、最近では油層に生育する微生物を利用して残存原油を天然ガス(メタン)に変換する枯渇油田再生化技術に注目が集まっている。

嫌気的環境下での微生物による原油からメタンへの変換反応は既に報告されている(Jones et al., 2008, *Nature*)。しかし、枯渇油田のような高温・高圧の深部地下における原油分解メタン生成メカニズムについては明らかではない。このメカニズムに関する知見は油層微生物を用いた枯渇油田再生化技術の実現に必要不可欠な情報である。

これまでに我々は、原油分解メタン生成反応の中間代謝産物として最も重要な酢酸に着目して、枯渇油田における酢酸代謝経路とその関与微生物の特定を行った。その研究においては、国内最大の枯渇油田である八橋油田を対象に、世界に先駆けて高温・高圧培養実験を実施し、地球化学的手法による微生物活性測定と分子生物学的手法による微生物群集構造解析を行った。その結果、油層環境で酢酸は酢酸酸化細菌によって水素と CO₂ に酸化された後、水素資化性メタン生成菌によってメタンへと変換されることを明らかにした(Mayumi et al., *Environ. Microbiol.* 2011)。

さらに、枯渇油田は排出 CO₂ の削減を目的とした CO₂ 地中貯留(CCS)の有力サイトであること、高圧 CO₂ 条件下では上記のメタン生成経路はよりシンプルな経路へと変化しうる

ことを熱力学的計算で予見できたため、高圧 CO₂ 条件下におけるメタン生成活性およびその生成経路の特定を同じ油層試料を用いて行った。その結果、高圧 CO₂ 条件下では予想通り、メタン生成経路は酢酸が酢酸資化性メタン生成菌によって直接メタンに変換されるシンプルな経路へと大きく変化し、それ故に酢酸からのメタン生成速度が 2 倍以上に高まることを観察した。以上の結果は、枯渇油田を対象とした CCS 技術の適用により、「排出 CO₂ の削減」と「エネルギー資源の増産」が同時に達成できる可能性を提示している。しかし、当研究では油層環境で酢酸の供給を担う原油分解反応の分解経路や関与微生物についての知見は未だ得られていない。

2. 研究の目的

上記の背景を受けて本研究では、油層環境における原油分解メタン生成メカニズムの解明を目的とした。さらに我々は既に、高圧 CO₂ 条件下では原油分解メタン生成反応も促進されうることを熱力学的計算で予見しており、これを実験的に証明することにも取り組むこととした。

3. 研究の方法

(1) 地質学的背景の異なる 2 カ所の油層試料の地球化学的および微生物学的データの収集

油層環境における原油分解メタン生成メカニズムのユニバーサルな理解を得るために、地質学的背景の異なる 2 種類の枯渇油田の油層試料の地球化学的および微生物学的な分析を行い、現場の基礎データを収集した。

(2) 高温・高圧条件下での原油分解メタン生成反応の観察と微生物コミュニティの獲得

現場で原油を分解し、メタンを生成する微生物コミュニティを獲得するために、現場

の油層環境条件を模擬する高温・高圧培養を行った。また同時に CCS を想定した高圧 CO₂ 条件下の高温・高圧培養も行い、原油分解メタン生成反応にどのように影響するかを観察した。

(3) 安定同位体を用いた原油分解メタン生成反応の代謝経路と関与微生物の特定

原油分解メタン生成メカニズムを明らかにするために、(2)で獲得した微生物コミュニティを対象に、安定同位体を用いたトレーサー実験および微生物同定法を適用し、原油分解メタン生成反応の代謝経路とその関与微生物を特定した。

4. 研究成果

(1) 地質学的背景の異なる2カ所の油層試料の地球化学的および微生物学的データの収集

国内の2カ所の油田(A油田およびB油田)から、原油、ガス、油層水を採取し、1)原油中の炭化水素成分、2)ガス成分の炭素同位体比、3)油層水の化学組成、4)油層水中の微生物群集構造の解析を行った。

原油中の炭化水素成分分析により、脂肪族炭化水素(n-アルカン)を測定した結果、B油田はA油田に比べて、全体的にn-アルカン濃度が低く、原油の生分解が観察された。

ガスサンプル中のCO₂、プロパン、n-ブタンの炭素同位体比を測定した結果、B油田のそれらはA油田に比べて炭素同位体比が高く、B油田はメタン生成を伴う炭化水素分解が現場で進行していることが示唆された。

採取した油層水中の化学組成を分析した結果、A油田およびB油田ともに硫酸塩、硝酸塩などの微生物が利用し得る電子受容体は枯渇しており、メタン生成環境であることが判明した。また、A油田の特徴としては、油層水中のTOCをほぼ占めるほどの酢酸が検出された。一方で、B油田の酢酸は検出限界

以下であり、TOC濃度も極めて低かった。

油層水中の古細菌群集構造解析の結果、A油田においては水素資化性メタン生成古細菌の優占が観察された一方で、B油田では酢酸資化性メタン生成古細菌の優占が観察された。また、細菌群集構造解析の結果、A油田はFirmicutes門を筆頭とする多様な未培養細菌種が優占した一方で、B油田では門レベルで機能未知なある種の細菌が優占した。

(2) 高温・高圧条件での原油分解メタン生成反応の観察と微生物コミュニティの獲得

A油田およびB油田から採取した原油と油層水を用いて、高温高圧条件での原油分解メタン生成反応の観察と微生物コミュニティの獲得を試みた。培養条件は現場環境と同じ55℃、5MPaを設定し、経時的にメタン濃度や有機酸濃度を測定した。その結果、B油田において培養200日後に原油からのメタン生成を観察した。さらに継代培養を行った結果、繰り返し原油からのメタン生成を観察することに成功し、原油分解メタン生成微生物コミュニティを獲得した。

一方で、CCSを想定した高CO₂濃度条件下の高温高圧培養実験を行ったが、これまでのところ有意な原油からのメタン生成は観察されていない。これについては継続してメタン生成をモニタリングする予定である。

(3) 安定同位体を用いた原油分解メタン生成反応の代謝経路と関与微生物の特定

炭化水素成分を炭素安定同位体でラベル化した原油を(2)で獲得した原油分解メタン生成微生物コミュニティに添加し、メタン生成を行わせた結果、炭素安定同位体でラベル化されたメタンと二酸化炭素が検出された。そのときのラベル化率は二酸化炭素よりもメタンにおいて顕著であったため、生成したメタンは酢酸資化性メタン生成経路によ

って生成したことが示唆された。

原油からのメタン生成が観察された後の微生物群集構造解析の結果、その古細菌群集構造は酢酸資化性メタン生成古細菌の優占が観察された。また、細菌群集構造については、培養前の油層水に優占した門レベルで新規な未培養細菌が優占しており、本細菌が原油分解に大きく関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

Daisuke Mayumi, Jan Dolfing, Susumu Sakata, Haruo Maeda, Yoshihiro Miyagawa, Masayuki Ikarashi, Hideyuki Tamaki, Mio Takeuchi, Cindy H. Nakatsu, Yoichi Kamagata. Carbon dioxide concentration dictates alternative methanogenic pathways in oil reservoirs. *Nature Communications*. 査読有り vol.4, 2013. 1-6 DOI:10.1038/ncomms2998

[学会発表](計 5件)

眞弓大介、坂田将、前田治男、宮川喜弘、五十嵐雅之、玉木秀幸、竹内美緒、鎌形洋一 高温高压培養技術で切り拓く陸域地下微生物群集の未知機能 第28回日本微生物生態学会

眞弓大介 油層環境のメタン生成活動から陸域地下圏における微生物共生の実体を覗く 第1回日本細胞共生学会若手の会

眞弓大介、坂田将、前田治男、宮川喜弘、五十嵐雅之、玉木秀幸、竹内美緒、鎌形洋一 深部地下油層環境のメタン生成経路はCO₂濃度依存的に変化する 第29回日本微生物生態学会

Daisuke Mayumi, Jan Dolfing, Susumu Sakata, Haruo Maeda, Yoshihiro Miyagawa, Masayuki Ikarashi, Hideyuki Tamaki, Mio Takeuchi, Cindy H. Nakatsu, Yoichi Kamagata Possible impact of Carbon Capture and Storage on the Methanogenic activity and pathway in a high-temperature petroleum reservoir. 4th International Symposium on Applied Microbiology and Molecular Biology in Oil Systems.

眞弓大介、坂田将、前田治男、宮川喜弘、五十嵐雅之、玉木秀幸、竹内美緒、鎌形洋一 深部地下油層環境のメタン生成経路はCO₂濃度依存的に変化する 2013年度日本地球化学会第60回年会

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

[その他]

ホームページ等

<https://unit.aist.go.jp/georesenv/geomicrob/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

眞弓大介 (Daisuke Mayumi)

独立行政法人産業技術総合研究所・地圏資源環境研究部門・研究員

研究者番号：30549861