



微生物が関わる金属腐食

小川亜希子

私たちの身の回りには、多種多様な微生物がいる。微生物は、動物の体内で生活するものから、温泉や火山口、深海や塩湖といった過酷な環境下で生活するものまで、好みもさまざまである。中には、金属を好む微生物も存在する。たとえば、化学独立栄養生物である *Acidithiobacillus ferrooxidans* (鉄酸化細菌) は、金属を食べる細菌として知られている。この細菌は2価鉄から3価鉄になるときに発生するエネルギーを利用して空気中の二酸化炭素を固定して生育することができる。この性質を利用し、低品位(低含有率)の鉱物から鉄などの金属を効率的に抽出する技術開発がすすめられている。これは、バクテリアリーチング(bacteria leaching)と呼ばれている¹⁾。その一方で、金属を好む微生物は厄介な問題も引き起こす。その一つが、微生物腐食(microbially influenced corrosionまたはmicrobiologically influenced corrosion: MIC)である。MICとは、金属(材料)が微生物の作用によって腐食(酸化)する現象である。ある調査によると、MICは金属腐食全体の20%におよび、石油ガス産業では年間約134億ドルにのぼるコストが腐食にかかっており、その内MICは20億ドルを占めているという²⁾。本稿では、生物工学にとって馴染みの薄い金属腐食の現象、MICにまつわる歴史やMIC関連微生物について紹介し、MICにまつわるトピックスを紹介する。

金属腐食³⁾

金属腐食とは酸化還元反応の一種であり、ある金属が電子を失った後、酸素などの非金属と結びつくことによって生じる金属の劣化現象である。たとえば、自動車の塗装に傷が付くと、そこに赤茶けた錆が現れたり、トタン屋根に水玉模様のような茶色い孔ができていたり、真鍮管に亀裂が入っていたりするが、これらはすべて金属腐食である。金属腐食は、化学的酸化だともいえる。金属腐食は、非電解質で生じる反応と電解質で生じる反応に大別される。非電解質で生じる金属腐食とは、乾燥した(水分のない)酸素ガスや塩素ガスが金属と接して酸化物や塩化物を生じる反応や、硫黄(個体)が金属と接して硫化物を生じる反応があげられる。たとえば、大

気中で鉄が酸化鉄になったり、鉄が硫黄と反応して硫化鉄が生じたりする反応である。いずれの反応も一段階で進むのが特徴である。一方、電解質で生じる金属腐食とは電気化学反応である。金属は極性溶媒(水やアルコール)中や電解液中で電位を生じる。そこに異なる電位を持つ物質があると、両物質との間で電子のやり取りをする(一方は還元され他方は酸化される)。こうして元々の金属表面の酸化状態が変わり、新たな化合物が形成されて凹凸ができる結果が腐食である。

微生物腐食(MIC)⁴⁻⁶⁾

MICが初めて確認されたのは100年以上前の話で、Garrettによって鉛上のMICが報告されている。当時は微生物が金属を腐食させることは知られておらず、疑心暗鬼に捉えられていた。しかし、1934年に von Wolzogen Kühr と van der Vlugt が硫酸還元菌(sulfate-reducing bacteria: SRB)による鉄でのMIC現象とそのメカニズムを報告して以降、産業上の腐食対策と相まって研究が進められてきたのである。

MICは、土壌、河川、海洋といった自然環境から、鉄橋や船舶、発電所などの冷却水系、石油採掘所、石油貯蔵施設といった人工構造物に至るまで、さまざまな場所で確認されている。いずれの場合であっても、MICはバイオフィーム形成から始まる。まず、材料表面にミネラルや有機物が堆積し、コンディショニングフィルムが形成される。次に、それが呼び水となって環境中の細菌が材料表面に接着する。その後、細菌は細胞外高分子基質(extracellular polymeric substrate: EPS)を出しながら増殖を続け、ドーム型の雲のような形状へと成長する。これをバイオフィームと呼んでいる(図1)。バイオフィームをデジタルマイクロスコープで観察すると、ちょうど海に浮かぶ島が点在しているように見える。なお、バイオフィームの詳細については、『続・生物工学基礎講座—バイオよもやま話—』の「バイオフィームを調べてみよう」⁷⁾を参照して欲しい。

さて、バイオフィームが形成されると、材料表面ではどのような現象が起こるのだろうか。実はMICのメカニズムについては諸説あり、今も議論が続いている。こ

れには, von Wolzogen Kührと van der Vlugtが提唱したSRBが関わるMIC現象が大きく関わっている. 彼らは, MIC現象を次のように考えた. まず, 鉄や鉄鋼表面上に欠けた部分があると, そこが電気化学的電池のアノードとなり, 材料表面から鉄イオン (Fe^{2+}) が溶出される. この時, 酸素が存在すれば(好気条件では), カソード側で酸素が電子を受け取り水分子と反応して水酸化物イオンが生成し, それが鉄イオンと結びついて腐食生成物である鉄酸化物や鉄水酸化物ができる(図2の①). しかし, 酸素がない場合には(嫌気条件では), カソード側でプロトンや硫化水素 (H_2S) が電子を受け取って水素分子を生成する. この生成された水素分子は, SRBによって酸化されて硫化物イオン S^{2-} を生成し, それが鉄イオンと結合して腐食生成物である硫化鉄(黒

色)ができる(図2の②). SRBは, カソード側で生成される水素分子を代謝エネルギー源として利用するのである.

金属の腐食過程で生じる化合物を体内に取り込んで代謝して, その代謝産物を分泌して腐食生成物を作らせたり, 酵素を分泌して腐食生成物を作らせたりする微生物

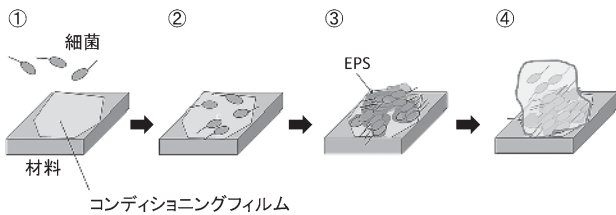


図1. バイオフィーム形成過程. ①材料上にコンディショニングフィルムが形成される. ②環境中の細菌がコンディショニングフィルムの上に接着し, 増殖し始める. ③細菌は, EPSを産生しながら増殖を続ける. ④細菌とEPSで構成されたドーム状のバイオフィームが形成される.

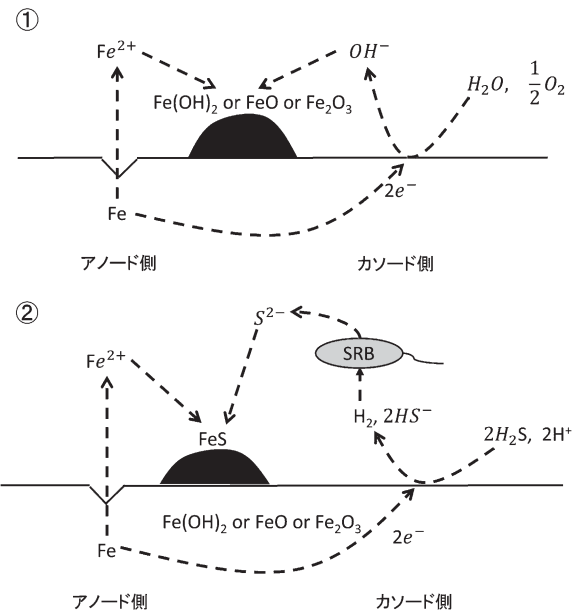


図2. 鉄鋼上で生じる腐食の機構. ①酸素存在下で生じる腐食. ②嫌気条件下におけるSRBが関連したMIC.

表1. MICに関連する微生物の例⁸⁾

種類	特徴	MICとの関連
硫黄還元 <i>Desulfovibrio</i> sp. <i>Desulfuromonas</i> sp.	嫌気条件下 H_2 を利用して SO_4^{2-} を S^{2-} に還元 H_2S や FeS の沈殿を生成	水素取り込みによるカソードの脱分極と硫化鉄によるアノードの脱分極
硫黄酸化 <i>Thiobacillus</i> sp.	好気条件下 S^{2-} を SO_4^{2-} に酸化して硫酸を生成	酸による金属腐食
鉄酸化, マンガン酸化 <i>Gallionella</i> sp. <i>Leptothrix</i> sp. <i>Mariprofundus</i> sp.	好気条件下 Fe^{2+} を Fe^{3+} に, Mn^{2+} を Mn^{3+} に酸化して, 酸化物を生成	カソードでの鉄酸化物やマンガン酸化物の堆積
鉄還元 <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Shewanella</i> sp. <i>Geothermobacter</i> sp.	好気条件下 Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元し, 酸化物を還元	鉄酸化物やマンガン酸化物を還元
酸生産細菌および真菌 <i>Clostridium</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Hormoconis</i> sp.	好気条件下/嫌気条件下 硝酸, 硫酸, 有機酸といった酸を生成	鉄の溶解 亜鉛, 銅および鉄とのキレート生成
スライム形成細菌 <i>Clostridium</i> sp. <i>Bacillus</i> sp. <i>Desulfovibrio</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp.	好気条件下/嫌気条件下 細胞外高分子基質 (EPS) を生成	金属イオンを保持できる細胞外高分子を生成

は、SRB以外にも報告されている(表1)。この中には、好気性細菌も嫌気性細菌も両方存在しており、多くが鉄の酸化還元に関連していることが分かる。そして、Kipとvan Veenによると、こうした微生物は一種類で存在する時よりも多種類で共存する時の方がMICの進行が速いのである⁸⁾。

MICのメカニズムとして、酸素濃淡電池も知られている⁹⁾。これは、細菌が金属表面上で生育してバイオフィームを形成すると、バイオフィームの外と中との間で酸素濃度の差ができることで生じる。バイオフィーム内では、細菌の代謝によって酸素が消費されて酸素濃度が低下する一方で、バイオフィーム外近傍では液交換が容易で酸素が多い状態となっている。そのため、バイオフィームの境目で電位差が生じ、それが引き金となって金属が溶け出して腐食するというものである。実際に、MICの多く(90%という報告もある)が孔食腐食(金属表面に局部的に穴が空くような腐食)であることも、酸素濃淡電池説を支持する。

MICと石油産業

20世紀は石油の時代といわれていたが、21世紀の今もなお、石油はさまざまな産業を支える重要なエネルギー資源である。以前であれば、中近東あたりが石油産出国として世界経済に大きな影響を与えていた。近年では、北海やメキシコ湾をはじめとする海底油田が開発されたり、アメリカではシェール革命¹⁰⁾によるシェールオイル・シェールガス生産が盛んに行われるようになったりと、エネルギー情勢が随分と変化している。石油は、数億年前の生物の死骸が化学変化を起こしてできた化石燃料だといわれているが、その生成過程は未解明である。さて、石油(原油)採掘は、何千メートルもの地下深くまでピットと呼ばれる巨大なキリがついた鉄管を回しながら掘り進められる¹¹⁾。こうした石油産業では、採掘、精製、保存、輸送といったすべての製造プロセスの設備で鉄鋼が使用されており、MICによる設備の劣化や原油もしくは石油製品の劣化が問題となっている。世界的な石油大手企業は、MICの解明や防御に関わる研究・開発に大きな投資を行っている。

石油は、その由来の性質もあって硫黄化合物を含んでおり、なおかつ嫌気的条件下で取り扱われることが多い。こうした状況から、MICの原因としてSRBの関与が数多く研究されてきた。また、酸生産細菌や鉄酸化細菌の関与についても報告されている¹²⁾。さらに、海底油田施設では海水と接したり混じりあったりする機会が多いのだが、そうなるとパイプライン内のMICが加速するこ

とも知られている。このことは、海水に生息している微生物は、MICに深く関与していることを示している。

MICと海洋性細菌

鉄橋などの海洋構造物や船舶、湾岸設備では、昔からMICや生物付着現象による設備の劣化が問題になっている。生物付着もまた、始まりはバイオフィーム形成であり、それを餌として海藻やフジツボといった大型の生物が付着していく。船舶においては、大型生物の付着によって推進力が低下するため、定期的に船底に付着したフジツボなどをそぎ落とす作業が不可欠である。また、船舶で使用する燃料は原油であるが、原油は使用された分だけバランスを保つために海水が注入される。すると、原油が加水分解されて劣化したり海水配管内やオイルタンク内でMICが生じたりする。どちらの場合であっても、海洋性細菌が大きく関わっている。

ところで、海水にはどのような種類の細菌が存在しているのだろうか。その中で、どのような細菌がMICに関わっているのだろうか。海に生息する生物(細菌を含む)は、季節や場所によって異なっている。海洋性細菌の多くは、単離して純粋培養するのが難しいため、なかなか研究が進んでこなかった。しかし、2005年になり次世代シーケンサー(next generation sequencer: NGS)が発売されハイスループットなDNAシーケンスが可能になると¹³⁾、多くの研究者たちがさまざまな目的で海水の細菌叢解析を行うようになった。それに伴って、海洋細菌のデータベースも年々増加しており、我々はNGSテクノロジーを介して多くの情報を得られるようになっている。

さて、図3に示したのは、2015年6月に伊勢湾沖(沖合302 m、水深2.2 m)で採取した海水の細菌叢解析結

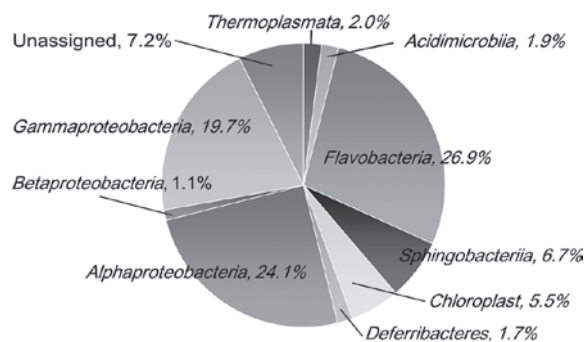


図3. 伊勢湾で採取した海水の細菌叢(網レベル)。グラフは2サンプルの平均値である。OTU値はサンプル1が127718、サンプル2が116233である。なお、グラフに示した細菌群の存在比の合計は96.8%となっており、1%以下の存在比であった細菌群を削除している。

果の概要である。 *Flavobacteria*, *Alphaproteobacteria* および *Gammaproteobacteria* が主要な綱として検出され、全体の約7割を占めていた。このとき、SRBが属している *Clostridia* や *Deltaproteobacteria* は主要な綱ではないことも分かった。また、属レベルでは約400種類の細菌が存在していることも分かった。そして、主要な細菌は海水で一般的に確認されるものであり、MICとの関連が報告されている細菌はわずかであった。例をあげると、 *Pseudomonas* 属は0.01%であり、 *Clostridium* 属は0.002%であった。

このように、元々の海水にはMICを引き起こすとされる細菌は、存在しているとしてもわずかなのだと考えられる。ところが、MIC中では表1にあげた細菌が見つかる。これは、細菌によって生育する材料の好みが変わっていることを示しているのではなからうか。また、海水で検出される細菌は浮遊状態であり、MICで検出される細菌は集合体を形成している状態である。この両者間では、細菌の持つ代謝や物質生産がまったく異なっていることが推測される。これまで、我々はバイオフィルムを形成する細菌に解析の中心を置いてきたわけだが、どうやらMICはバイオフィルム全体を解析する必要があることを示しているのではなからうか。

これからのMIC研究

MIC研究において、その立役者を知ることはもちろん大切である。しかし、役者が同じでも台本が違えば出来上がる作品が違ってくるのと同様に、材料（表面）が違えばバイオフィルムが変わり、MICが違ってくると考えられる。バイオフィルムは、細菌とそれ（ら）が分泌するEPSとの複合体である。バイオフィルム内では、細菌同士はquorum-sensingによって情報伝達を行ったり、物質交換を行ったりもしている。したがって、バイオフィルム全体を分析するのが望ましい。

Beechらは、バイオフィルム中の代謝産物をターゲットとして、質量分析装置を用いて網羅的に解析し、MICを生じたサンプルとそうでないサンプル間で代謝産物マップのパターンの違いを比較し、MIC現象の解明に取り組んでいる⁴⁾。代謝産物の優れている点は、比較的分子量であるため扱いやすく、DNAやRNAに比べて熱安定性が良いことがあげられる。彼らは、LASCA (laser ablation and solvent capture by aspiration) を開発し、鉄鋼上で腐食した箇所のバイオフィルムを狙い撃ちし、その場所の代謝産物のイメージマッピングに成功している¹⁴⁾。

バイオフィルムが形成されると、代謝産物以外にも細菌のタンパク質発現が変わり、quorum-sensingに利用されるような分泌タンパク質も存在するようになると考えられる。そこで、プロテオミクスの利用も有効であろう¹⁵⁾。そして、あるサンプル内の遺伝情報を網羅的に解析するメタゲノミクスも有効であろう。メタゲノミクスでは、たとえば鉄酸化に関連した遺伝情報について、サンプル全体でどのくらい存在しているのかを知ることができる。たとえ未知の細菌がいたとしても、あるサンプルがどの程度MICを引き起こす能力を持っているのかを比較できる可能性がある。

いままでのMIC研究では、複雑な現象を単純化して理解しようとする方向に進んできた。しかし今後は、複雑な現象を「ありのまま」に捉えて理解することが求められ、その実現にはマルチオミクスの発展が不可欠である。我々もバイオフィルムのように、お互いが知恵を出し合って協力し合って困難を乗り越えていこうではないか。

文 献

- 1) 山下光雄, 清 和成: 地球を救うメタルバイオテクノロジー, 成山堂書店 (2014).
- 2) Xu, D.: *Microbiologically Influenced Corrosion (MIC) Mechanisms and Mitigation*, the Russ College of Engineering and Technology of Ohio University (2013).
- 3) Groysman, A.: *Corrosion for everybody*, Springer (2010).
- 4) Beech, I. B. et al.: *Understanding biocorrosion*, p. 33, Woodhead Publishing (2014).
- 5) Hamilton, W. A.: *Microbial Biofilms*, p. 171, Cambridge University press (1995).
- 6) Axelsen, S. B. and Rogne, T.: Do micro-organisms "eat" metal?, Microbiologically influenced corrosion of industrial materials, Contract No. BRRT-CT98-5084
- 7) 森川正章: 生物工学, **90**, 246 (2012).
- 8) Kip, N. and van Veen, J. A.: *ISME J.*, **9**, 542 (2015).
- 9) Little, B. J. and Lee, J. S.: *Microbiologically influenced corrosion*, p. 22, Wiley (2007).
- 10) Robert Strauss Center, The University of Texas at Austin: <https://www.strausscenter.org/energy-and-security/> (2017/07/01)
- 11) 石油情報センター: <https://oil-info.iej.or.jp/index.html> (2017/07/01)
- 12) Bartling, C.: *Pipeline Gas J.*, 243(1) (2016).
- 13) 次世代シーケンステクノロジーのご紹介: jp.illumina.com/technology/next-generation-sequencing.html (2017/07/01)
- 14) Brauer, J. I. et al.: *Biointerphases*, **10**, 019003 (2015).
- 15) Beale, D. J. et al.: *Microbial Metabolomics*, p. 289 Springer (2016).