

講演番号：3C11a14

講演日時、会場：3月26日 11:36～ C校舎 11会場

原油試料からの鉄腐食性硝酸塩還元菌の分離

Isolation of an iron-corroding nitrate-reducing bacterium from crude oil.

○飯野 隆夫¹、若井 暁²、鶴丸 博人³、伊藤 公夫⁴、大熊 盛也¹、原山 重明⁵ (1理研 BRC-JCM、²広島大院・生物圏、³NITE・NBRC、⁴新日鐵住金・先端技研、⁵中大・理工)

○Takao Iino¹, Satoshi Wakai², Hirohito Tsurumaru³, Kimio Ito⁴, Moriya Ohkuma¹, Shigeaki Harayama⁵ (¹RIKEN-BRC JCM, ²Hiroshima Univ., ³NITE・NBRC, ⁴Nippon Steel & Sumitomo Metal Corp., ⁵Chuo Univ.)

【目的】石油備蓄基地施設や天然ガス・パイプラインなどで問題視される金属腐食は化学的要因によるものと考えられがちである。しかし、急速な腐食の進行や局所的な腐食現象が確認され、微生物腐食による金属腐食（微生物腐食（Microbiologically influenced corrosion: MIC））が疑われている。この問題に対して、硫酸塩還元菌が主な原因菌として頻繁に研究されているが、関与する微生物種や腐食メカニズムについて十分に知見が得られていない。そこで、本研究では原油試料から鉄腐食能を有する微生物株を分離することを目的とした。

【方法】2004年に石油備蓄基地から原油試料を収集した。原油試料 0.5 ml を嫌気置換した人工海水培地に接種し、3週間 25°Cにて集積培養を行なった。集積培養を繰り返した後、同組成の寒天培地を用いて MIC1-1 株の純粋分離を行なった。MIC1-1 株に対し、細胞形態観察、生理・生化学試験（電子受容体など）、16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行なった。鉄顆粒を加えた人工海水培地に MIC1-1 株を接種し、25°Cで1ヶ月静置培養を行なった。培養後の溶出鉄量、水素発生量、窒素化合物量、有機酸量を定量分析した。

【結果および考察】MIC1-1 株は通性嫌気性、非運動性、無芽胞、カタラーゼ陰性のグラム陰性桿菌であった。炭素源（D-グルコースや有機酸など）を必須に要求し、電子受容体に硝酸塩を利用する硝酸塩還元菌であった。16S rRNA 遺伝子解析を行なった結果、MIC1-1 株は海洋堆積物から電気培養で純粋分離された *Prolixibacter bellariivorans* F2^T と系統的に近縁であったが、その相同性は 97.2%と低く、新規の *Prolixibacter* 属細菌であると考えられた。鉄腐食試験の結果、10 mM 硝酸塩と有機酸（酢酸塩、乳酸塩など）存在下で、MIC1-1 株の培養液が黄変し、鉄顆粒は黒く変色した。硝酸塩無添加条件では培養液および鉄顆粒に変化は見られなかった。溶出鉄量を測定した結果、MIC1-1 株は無菌区の 6 倍の Fe²⁺ を溶出していた。培養液の各種成分を分析した結果、植菌区では硝酸が減少し、産物として亜硝酸とアンモニアが検出された。以上の結果から、原油から分離された *Prolixibacter* sp. MIC1-1 は炭素源存在下、硝酸塩を電子受容体として鉄腐食を引き起こすことが明らかとなった。近年、原油採掘現場などの実環境で硫酸塩還元菌の繁殖を抑制するために硝酸塩の添加が効果的であるとの報告がされた。しかし、本研究で明らかとなった腐食性硝酸塩還元菌の存在は、硝酸塩添加が時には微生物腐食を拡大させる恐れがあることを意味する。故に、微生物腐食を抑制するためには、硫酸塩還元菌のみならず硝酸塩還元菌も含めた防食技術の開発が必要である。

Microbiologically influenced corrosion, Nitrate-reducing bacterium, *Prolixibacter*