

# 鉍物や金属材料を溶解させる微生物の機能と応用の展望

若井 暁

「環境資源工学」第71巻 第1号（通巻第246号）別刷

2024年6月

## 総説 鉱物や金属材料を溶解させる微生物の機能と応用の展望

若井 暁\*

### Microbial Functions to Dissolve Minerals and Metallic Materials and Prospects of Its Application

Satoshi WAKAI\*

Institute for Extra-cutting-edge Science and Technology Avant-garde Research (X-star), Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC)

#### Abstract

In the field of environmental resource engineering (resources processing), bioleaching, where microorganisms contribute to the dissolution of minerals, has long been studied and is a well-known microbial reaction. A similar phenomenon to this is microbiologically influenced corrosion (MIC), where microorganisms are involved in the corrosion reaction of metal materials. MIC has been rapidly advancing in research in recent years, with new reaction models being proposed. While both bioleaching and MIC involve microbial metabolism acting on insoluble inorganic substances, their mechanisms appear to differ. In this paper, we introduce the latest MIC research, discuss the similarities and differences between bioleaching and MIC reactions, and provide insights into the prospects for applying these reactions.

**Key words:** Microbiologically influenced corrosion, Bioleaching, Sulfide ore, Stainless steel, Electrochemically active microorganisms

#### 1. はじめに

環境資源工学分野において微生物が鉱物の溶解反応に貢献するバイオリーチングは古くから研究されており、有名な微生物反応である。これとよく似た現象で、金属材料の腐食反応に微生物がかかわる現象があり、この反応は微生物誘起腐食 (Microbiologically influenced corrosion: MIC) と呼ばれている。MICについては、現象としては20世紀初頭には認識されていたが、原因微生物や反応メカニズムの研究は進んでいなかった。近年、遺伝子解析技術と培養技術の革新により急速に研究が進んでおり、新たな反応モデル等も提案されてきている。バイオリーチングもMICも不溶性の無機物に対して微生物の代謝が作用することは共通であるが、作用機序は異なる。本稿では、最新のMIC研究を紹介した上で、バイオリーチングとMICの共通点や相違点を解説すると共に、その反応を応用展開するための展望について述べる。

#### 2. 微生物誘起腐食 (MIC)

##### 2.1 MICとは?

MIC研究の歴史は意外と古く、窒素化合物の存在によって水中で腐食反応が加速されるという生物影響が疑われる報告が1891年にあり<sup>1</sup>、1910年にはGainesによって土壤中での腐食における微生物の関与が報告されている<sup>2</sup>。その後、1934年に水素 (H<sub>2</sub>) をエネルギー源として使用できる硫酸塩還元細菌 (SRB) が金属腐食反応に関与し得るというモデルが提唱され<sup>3</sup>、MICにおけるSRBの重要性が広く認識された。一方で、SRBが存在していても金属腐食が顕著に加速されないケースやSRBが存在しないにもかかわらず激しい腐食が生じることから、古い反応モデルだけが独り歩きして、現場で起こっている現象とは乖離しているのが現状である。したがって、微生物腐食を現在の理解度で定義すると、「金属材料が微生物の活動あるいは存在によって直接的あるいは間接的に腐食する現象」となり、生じた腐食現象に対して確固たる定義に基づいて微生物腐食と断定することが難しい。

著者は、微生物腐食の置かれている現状と問題点を『微生物腐食は金属材料が罹害する微生物感染症』と考えることで説明できると考えている (Fig. 1)<sup>4</sup>。人が罹害する感染症の場合、病原体 (微生物やウイルス) が明らか

キーワード：微生物誘起腐食、バイオリーチング、黄鉄鉱、ステンレス鋼、電気化学活性微生物  
海洋研究開発機構超先鋭研究開発部門  
2024年3月14日受理  
\*e-mail: wakais@jamstec.go.jp

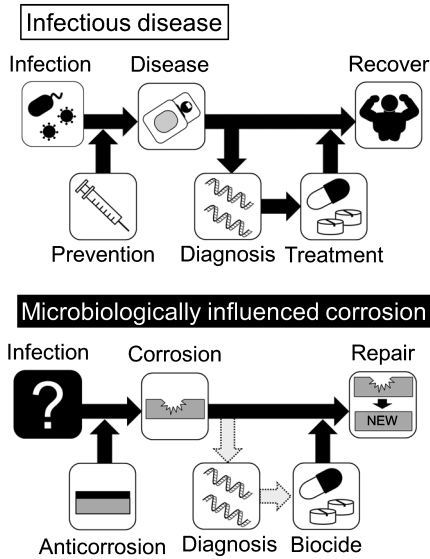


Fig. 1 Analogy between infectious disease and microbiologically influenced corrosion.

になっていけば、遺伝子増幅技術である PCR を用いて検出することができ、これが迅速な診断技術となり得る。迅速かつ正確な診断がなされれば、適切な治療を提供することができる。また、病原体が明らかになっていることで、ワクチン接種等の予防医療により感染拡大を抑えることができる。全体が良くコントロールされた感染症はパンデミックに至らないが、治療法が確立できていない感染症は致死率も高くなり非常に危険である。

微生物腐食をこの構図に当てはめて考えると、原因となる微生物の情報が乏しいため、迅速かつ正確な診断を実施することができない。そのため、適切な処置や防食を提供することも難しい。微生物腐食の発生を予防するためには、塗装（コーティング）や薬剤処理が費用対効果の面でも比較的良好に採用される方法であるが、塗装の欠損や劣化を完全に回避することは難しく、薬剤処理は継続的に実施する必要がある上に、有効濃度を下回ると薬剤処理を実施していても腐食が発生してしまう。また、微生物腐食が一度発生してしまうと、軽微な腐食の発生であれば薬剤の一時的なオーバードーズにより微生物影響を下げるができるが、腐食した部分が再生することはない。金属材料を現場で再生することは基本的に不可能なので、腐食箇所を切り出して健全材料に置換するなど大掛かりな処置が必要になる。したがって、微生物腐食対策としては、発生しないことが最善であり、防食技術に大きなウェイトがかかっている。にもかかわらず、防食処置の有効性と適切性を微生物腐食の視点から評価することができないため、腐食が発生していない多くの

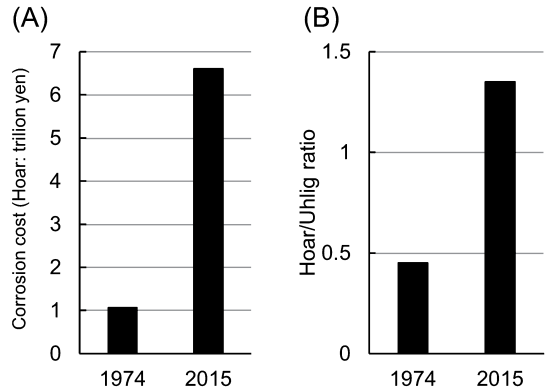


Fig. 2 Corrosion cost: total cost in all industrial field (A) and Hoar/Uhlig ratio.

ケースで過剰な処置が取られている可能性がある。過剰な防食措置や発生後の処置は、大きな腐食コストにも影響しているだろう。

あまり知られていないが、腐食に関する大規模なコストの試算が何度か行われている。日本では、直近では2015年の経済活動に基づいた腐食コストが試算されており、使用分野毎に直接的損失と腐食対策費とを積み上げていく含む計算方法である Hoar method<sup>5</sup> に従うと年間約 6.6 兆円のコストが金属腐食全体で掛かっている (Fig. 2A)<sup>6</sup>。Hoar method とは別に、Uhlig method という計算方法があり、この方法では生産・製造面からの直接的な腐食対策費から算出される<sup>7</sup>。両方法にしたがって算出した後で、Hoar method/Uhlig method の比 (Hoar/Uhlig ratio) を求めると間接的な維持コストの負荷を知ることができる。1974年の試算では、Hoar/Uhlig ratio が 0.45 であるのに対して、2015年の試算では 1.3 となっており、現代社会において維持コストが大きな社会的負担になっていることが分かる (Fig. 2B)。これらの試算はあくまでも腐食全体のコストであるため、微生物腐食によるコストは如何ほどか? となると、上述したように微生物腐食の定義があいまいであり、腐食性微生物の全容も分かっていない状況であるため算出することが難しい。腐食全体における微生物腐食の割合が如何ほどかについては、研究者によって意見の分かれるところで 10% 程度と見積もられる場合もあれば、70% 以上と見積もられる場合もある。いずれにせよ、微生物腐食については防食技術に依存しているため、ここに掛かる維持コストは計り知れない。

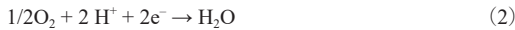
## 2.2 MIC に関わる間接的な反応と直接的な反応

適切な防食と処置のためには、迅速で正確な診断技術が必要であり、そのためにはまずは腐食性微生物の情報を把握する必要がある。以前は、1934年の反応モデル

に従い SRB が特に注目されていたが、近年多くの新規の腐食性微生物が報告され、新しい腐食メカニズムが明らかになってきている。

腐食反応は材料によって様々な要因を考えなければならないので、ここでは鉄系の材料（金属鉄や鋳鉄など）をベースに話を進める。金属の腐食反応は、金属が酸化溶解するアノード反応とその時に生じた電子を消費するカソード反応を考える必要がある。

金属鉄の反応を考えた場合、金属鉄がイオン化する反応（式（1））が唯一のアノード反応であるが、カソード反応は複数起こり得る。例えば、酸素の還元反応（式（2））やプロトンの還元反応（式（3））である（Fig. 3）。



古い微生物腐食のモデルでは、式（3）のカソード反応で生じた水素を水素資化性の硫酸塩還元細菌（SRB）が消費することでカソードの脱分極を生じ、更には SRB の代謝から生じた腐食性の硫化水素が腐食を加速するとされていた（カソード復極説）（Fig. 3）<sup>3</sup>。近年、このような腐食反応は、CMIC（Chemical Microbiologically Influenced Corrosion）と呼ぶことが提唱されており<sup>8</sup>、間

接的な腐食と言い換えることもできる。この反応モデルでは、水素の拡散（金属表面からの脱離）が律速になるため、実はあまり腐食反応としては速くない。実際に、森らは、様々な水素資化性細菌を環境中から分離して鉄腐食試験を実施したが、ほとんどの水素資化性微生物（この時の試験では、SRB に加えて酢酸生成菌やメタン生成菌）の腐食速度は無菌区とほとんど変わらず、メタン生成菌の一種のみが非常に高い腐食活性を持つことを示した<sup>9</sup>。筆者の実験においても水素資化性を持つ微生物だけでは腐食能がほとんどないことを確認しており、カソード復極説は反応モデルとしては成立しているように見えるが、現場で問題となるような急速な腐食反応とは対応していないように感じる。

一方で、カソード復極説が提唱されてから 70 年後の 2004 年に、SRB の中でも腐食活性の高い種とそうでない種がいて、腐食活性の高い SRB は固体金属鉄から電子を直接受け取っている可能性を示すデータと仮説が提唱された<sup>10</sup>。この高い腐食活性を持つ微生物は細胞外電子伝達能（Extracellular Electron Transfer: EET）を使用することで金属鉄から直接電子を受け取って微生物反応に使うと考えられており、微生物代謝がカソード反応と直結しており、拡散律速に依存しない非常に速い反応になっている（Fig. 3）。このような電気化学活性を持つ微生物による微生物腐食は EMIC（Electric MIC）と呼ばれ<sup>8</sup>、作用機序の違いだけでなく、腐食速度の観点からも CMIC と区別して取り扱う必要がある。

### 2.3 EET について

EET 反応については微生物学の分野においても認知度は低いので、ここで詳細に解説する。“細胞外”電子伝達という言葉のため、細胞の外側だけで起こる電子の移動現象の様に聞こえるが、実際には細胞の外側にある基質（電極や金属鉄など）の酸化反応をその物質自身を細胞内に輸送せず、細胞内の反応にカップリングさせたり、細胞の内側の酸化反応を細胞の外側の還元反応にカップリングさせたりする電子伝達反応のことである（Fig. 4）。細胞の内外の環境は、絶縁性の細胞膜によって隔てられており、距離も数十 Å 以上離れているため、通常は電子が生体膜を飛び越えてくることはない。したがって、この反応を成立させるためには、電子リレーが可能な細胞膜を貫通した生体成分が必要である<sup>11,12</sup>。

内向き細胞外電子伝達反応では、バイオリッチングにおけるモデル微生物の一つである好酸性の鉄・硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* において、外膜の鉄酸化酵素が細胞外の鉄イオンを酸化し、銅タンパク質（ラステシアニン）、チトクロム、チトクロム酸化酵素により最終電子受容体である酸素に電子が渡る鉄呼吸と、二酸化炭素の固定反応に必要な還元力を得るために、鉄酸

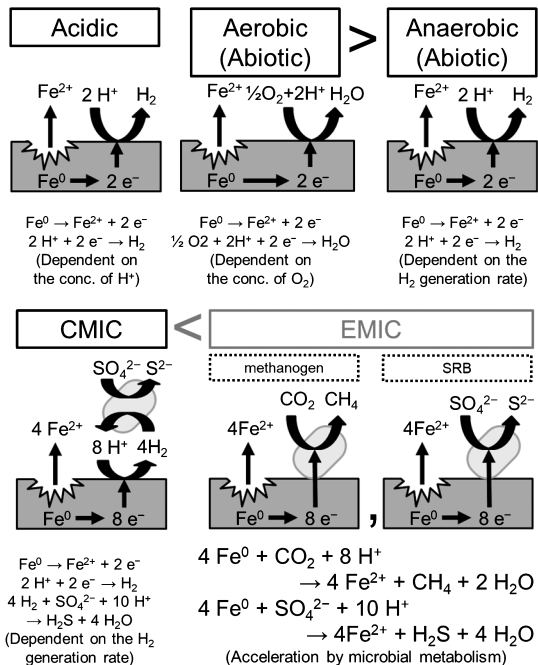
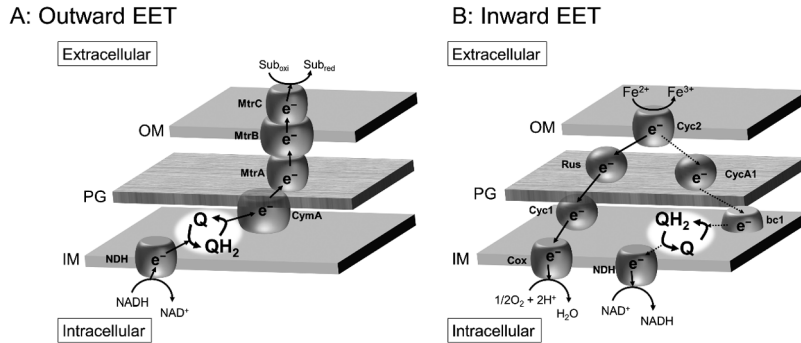


Fig. 3 Reaction models of abiotic corrosion, CMIC, and EMIC.



**Fig. 4** Proposal models of extracellular electron transfer pathways: outward electron flow (A) and inward electron flow (B): OM, outer membrane; PG, peptidoglycan layer; IM, inner membrane; NDH, NADH dehydrogenase; Q, quinone; QH<sub>2</sub>, quinol; CymA, periplasmic cytochrome *c*; MtrABC, multiheme proteins; Sub<sub>oxi</sub>, oxidized substance; Sub<sub>red</sub>, reduced substance; Cyc2, outer membrane embedded cytochrome; Rus, rustecyanine; Cyc1, periplasmic cytochrome *c*; Cox, cytochrome *c* oxidase; CycA1, periplasmic cytochrome *c*; and bc1, cytochrome *bc*<sub>1</sub> complex.

化酵素, チトクロム, チトクロム *bc*<sub>1</sub> 複合体, キノン, NADH デヒドロゲナーゼを介して電子を渡してニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH) を作る反応が知られている (Fig. 4A)<sup>11,13</sup>。

他方, 外向きの細胞外電子伝達反応では, 微生物燃料電池の分野で有名な *Shewanella* 属細菌などで知られているように, 細胞内の酸化反応で生じた電子を用いて還元型化合物である NADH を生じ, この NADH から NADH デヒドロゲナーゼの反応を開始点として, キノン, チトクロム, 外膜マルチヘムタンパク質と電子をリレーして, 細胞外の最終電子受容体に電子が渡る (Fig. 4B)<sup>11,12</sup>。金属腐食反応では, 前者のように細胞外にある金属基質の酸化反応が細胞内の生化学反応にカップリングされている。

EMIC タイプの腐食を引き起こす SRB の EET 反応では, 細胞外膜に局在するマルチヘムタンパク質が EET 反応の入り口になるが, 類似のマルチヘムタンパク質は外向きの EET 反応を起こす *Geobacter* 属や *Shewanella* 属でも見られる<sup>11,12</sup>。したがって, 細胞内外のどのような反応とカップリングされるかで, 電子の流れの向きが変わる。

EET という概念は, 20 世紀後半には微生物燃料電池の分野で既に提唱されていたが, 電子の移動が反対向き (細胞の内側から外側) であったこともあり, 腐食反応を結びつけて考えられていなかった<sup>11</sup>。微生物学の分野で比較的新しい概念が広まり, 微生物の培養技術や遺伝子の解析技術がブラッシュアップされたことで, 微生物腐食における微生物代謝反応の理解が進みつつある。

## 2.4 様々な腐食性微生物

MIC には, 既に挙げた SRB<sup>3,10</sup> に加えて, メタン生成菌<sup>9,10,14</sup>, 硝酸塩還元細菌<sup>15-20</sup>, 酢酸生成菌<sup>21,22</sup>, 鉄酸化細

菌<sup>23</sup>, ヨウ素酸化細菌<sup>24</sup>, 硫黄酸化細菌<sup>25</sup> など多様な微生物の関与が報告されている (Table 1)。これらは, 純粋分離された培養物を用いて実験室レベルで腐食能が確認されているものであり, Table 1 にリストアップした分離株以外で類似の微生物機能を持つ微生物が腐食性微生物かどうかは分からない。

### 2.4.1 SRB

SRB の場合, 全ての種において代謝の結果として金属腐食性の硫化水素が生成されるので, いずれも腐食性であると考えられる。一方で, 前述したように SRB の中でも腐食性が大きく異なるものが存在する。MIC の研究分野で古くから腐食性微生物として使われている *Desulfovibrio vulgaris* は CMIC タイプの SRB であり, 既に明らかになっているゲノム情報から EET に必要なタンパク質をコードする遺伝子は見つからない。多くの SRB がこの CMIC タイプであると考えられる。一方で, EMIC タイプの SRB としては, *Desulfopila corrodens* IS4 や *Desulfovibrio ferrophilus* IS5 が報告されており<sup>10</sup>, EET 反応に必要な細胞外膜局在性のマルチヘムタンパク質の存在が同定されている<sup>26</sup>。EET 反応に必要な生体分子を持つ SRB はそのゲノム情報などから EMIC タイプであると特定することが可能であるが, CMIC タイプの SRB の場合でも EMIC 型の腐食が生じることが報告<sup>27</sup>されており, SRB はそのゲノム情報からだけでは EMIC を引き起こすのか, CMIC を引き起こすのか, 判断は難しい。EET の分子装置を持たない CMIC タイプの SRB が鉄イオン存在下で硫酸還元反応を行った場合, 細胞内から出てくる硫化水素が細胞膜近傍に存在する鉄イオンと反応することで, 膜局在性の硫化鉄ナノ粒子が形成され, この導電性硫化鉄ナノ粒子が EET を後天的に付与するようである。いずれにしても, やはり SRB という微生物は,

**Table 1** List of metal-corroding microorganisms

Microorganisms	Corrosion type	Comments
Sulfate reducing bacteria		
<i>Desulfopila corrodens</i> IS4	EMIC	
<i>Desulfovibrio ferrophilus</i> IS5	EMIC	
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	CMIC and EMIC	Typical species causing CMIC. It can acquire EET ability by forming FeS nano-particle.
Methane producing archaea		
<i>Methanobacterium</i> sp. IM1	EMIC	
<i>Methanobacterium</i> sp. TO1	EMIC?	
<i>Methanococcus maripaludis</i>	EMIC	Iron-corroding ability was observed only strain KA1, Mic1c10, and OS7. A type strain and other isolates do not possess corrosion ability.
Acetogen		
<i>Sporomusa sphaeroides</i>	Unknown	
Nitrate-reducing bacteria		
<i>Prolixibacter denitrificans</i>	CMIC	
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	CMIC?	Corrosion ability is unknown, but EET is available.
<i>Shewanella oneidensis</i>	CMIC?	Corrosion ability is unknown, but EET is available.
Sulfur-oxidizing bacteria		
<i>Sulfurimonas</i> sp. CVO	CMIC	It has nitrate-reducing activity.
Fe(II)-oxidizing bacterium		
<i>Mariprofundus ferrooxydans</i>	unknown	
Iodide-oxidizing bacteria		
<i>Iodidimonas</i> sp.	CMIC	
<i>Roseomonas</i> sp.	CMIC	
Electrochemically active bacteria		
<i>Candidatus Electrophaga</i> sp.	EMIC?	Corrosion ability of an isolate has not been verified, but accumulation on corroded stainless steel has been observed.

MICにおいて厄介な微生物であることに変わりはないだろう。

#### 2.4.2 鉄腐食性メタン生成菌

メタン生成菌の場合、代謝産物として生じるのはメタンであり、メタン自身は腐食性のガスではないためCMICは考え難い。鉄腐食性が確認されているメタン生成菌は幾つかあり、*Methanobacterium* sp. IM1<sup>10</sup>, *Methanobacterium* sp. TO1<sup>28</sup>, *Methanococcus maripaludis* KA1<sup>14</sup>, *M. maripaludis* Mic1c-10<sup>9</sup>, *M. maripaludis* OS7<sup>29</sup>が挙げられる。最初に報告されたものは、*Methanobacterium* sp. IM1であるが最初の報告以降解析が進んでおらず、カルチャーコレクションへの寄託もないため第三者的に腐食能を調べることができない状態にある。最も研究が進んでいるものは*M. maripaludis*であり、株レベルでの腐食能の違いがゲノムレベルで解析されている<sup>29</sup>。この種のメタン生成菌の腐食性の評価については慎重に行う必要があり、*M. maripaludis*のタイプカルチャーであるJJ<sup>T</sup>株は腐食活性を持っておらず、系統分類で使用される16S rRNA 遺伝子の配列を比較した場合、腐食性の三株とJJ<sup>T</sup>株は100%一致するため種レベルで腐食能を議

論することができない。鉄腐食性メタン生成菌のゲノム解析の結果、腐食性の菌株のゲノム上には、約8 kbの挿入配列が確認され、細胞外への輸送シグナルを持ったヒドロゲナーゼなどがコードされている<sup>29</sup>。これらの遺伝子配列は、*Methanobacterium* 属の遺伝子配列と高い相同性を示す上に、挿入配列の前後には分断された遺伝子が存在するため、水平伝播として腐食機能を有する生体分子をコードする遺伝子を獲得したと考えられている。

可動性の遺伝子断片上に腐食機能に関連した遺伝子が含まれていることで、系統分類的な観点のみでメタン生成菌の腐食性を判断できないことに加えて、メタン生成菌のSPM (Spent Culture Medium : 培養物のフィルター過物) を用いた実験で無生物的な反応よりも速く腐食反応が進むという報告<sup>30</sup>があり、メタン生成菌の腐食性を評価することが難しくなっている。ただし、この反応速度は上述の鉄腐食性メタン生成菌が活発に腐食しているときの腐食反応よりも遅い。しかしながら、微生物の溶菌した細胞内容物によって腐食が少なからず加速するという事は、自然界で必ずしも生きた微生物が居なくても腐食が進行するという事であり、微生物腐食リス

クの観点から頭の片隅に置いておく必要があるだろう。鉄腐食性メタン生成菌である *M. maripaldis* が分離された環境は、いずれも石油タンクの底に溜まっている水の環境であり<sup>9,14,29</sup>、別の石油タンク底水の微生物群集構造解析の結果でメタン生成菌の濃縮が観察されており<sup>31</sup>、このようなメタン生成菌濃縮環境では、細胞内容物による腐食が起りやすい環境になっているかもしれない。

これらとは別に、*Methanosarcina acetivorans* が金属鉄からの電子を利用できるという報告もある<sup>32</sup>。*M. acetivorans* は、酢酸などの有機物をエネルギー源として使えるメタン生成菌であるが、メタン生成菌としては珍しく細胞表面型マルチヘムタンパク質を持つことからEETが可能である。ただし、金属鉄だけの場合はメタン生成が起らず、金属鉄に加えて酢酸が存在する時にだけ酢酸単独よりも多くのメタン生成が可能という報告であり、反応機序に不明な点が残っている。しかしながら、EMICタイプのSRBと同様に細胞表面に電子キャリアタンパク質が配置されていることは、EETを可能にする重要な要因であり、この微生物がEET反応が可能であることに疑いの余地はないだろう。

また、鉄腐食性メタン生成菌の腐食において注目すべき点として、SRBと共存した場合に腐食活性が上昇する現象が挙げられる<sup>33</sup>。これも作用機序は明らかになっていないが、鉄腐食性メタン生成菌によるメタン生成は、腐食の進行に伴って炭酸鉄が形成されることで遊離の炭酸イオンが枯渇し停止するが、SRBが共存すると硫酸

還元反応により生じた硫化水素が炭酸鉄と反応し硫化鉄に置換され、炭酸イオンが遊離しメタン生成が継続されるため腐食強度が高くなると推測されている (Fig. 5)。しかしながら、単位時間当たりの電子消費量を調べた実験では、鉄腐食性メタン生成菌単独の場合よりも、鉄腐食性メタン生成菌とSRBの共存下において2倍以上に加速されているため、単純な炭酸塩枯渇の解消だけではないだろう。

### 2.4.3 鉄腐食性硝酸塩還元細菌

鉄腐食性硝酸塩還元細菌として、*Prolixibacter denitrificans* が報告されている<sup>15</sup>。*P. denitrificans* は、乳酸やピルビン酸の存在下で鉄腐食を加速する。本菌の引き起こす腐食はEMICではなくCMICであるようだ<sup>34</sup>。本菌による腐食反応としては、金属鉄から電子を受け取るのではなく、硝酸還元反応により生じた亜硝酸が金属鉄と反応して鉄イオンの溶出が起ると考えられている (Fig. 6A)。実際に、金属鉄が存在しない培地で本菌を培養すると亜硝酸の蓄積が見られるが、金属鉄と共に培養することで亜硝酸からアンモニアの生産が確認される。また、無菌区と比べて溶出した鉄イオンの  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  比が  $Fe^{3+}$  側にシフトしていることから、 $Fe^{2+}$  イオンの酸化反応も促進しているようである。 $Fe^{2+}$  イオンの酸化と硝酸イオンの還元は熱力学的にカップリングし得る反応であり、いわゆる鉄酸化硝酸還元菌の反応であると考えられる。

### 2.4.4 鉄腐食性酢酸生成菌

鉄腐食性酢酸生成菌として、*Acetobacterium* sp. strain

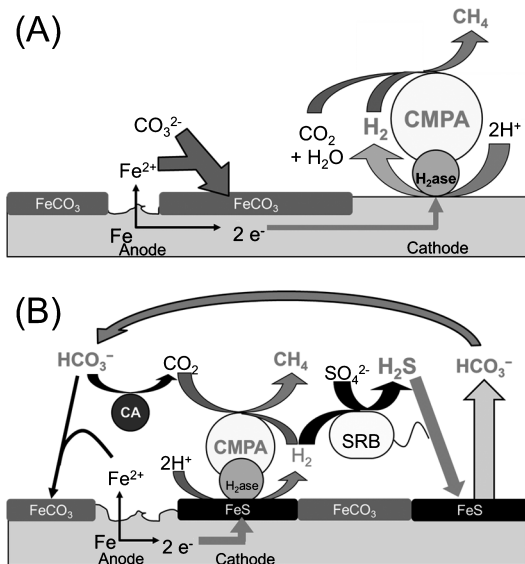


Fig. 5 Reaction models: iron-corrosive methanogen (CMPA) (A) and co-operation of CMPA and SRB (B). H<sub>2</sub>ase: extracellular hydrogenase, CA: carbonyl anhydrase.

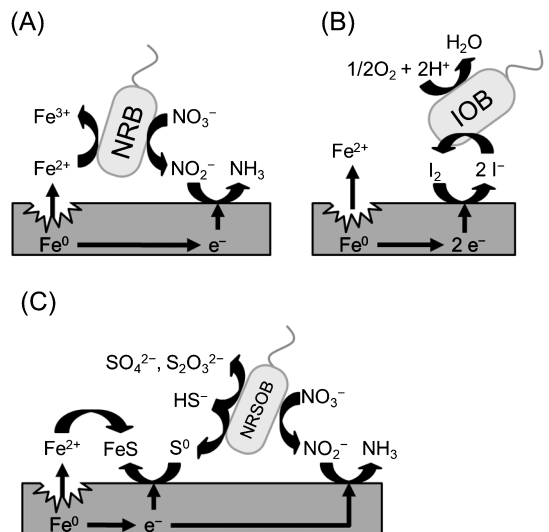


Fig. 6 Versatile CMIC models: A, nitrate-reducing bacterium (NRB); B, iodide-oxidizing bacterium (IOB); and C, nitrate-reducing sulfur-oxidizing bacterium (NRSOB).

73-4-6p-4 や *Sporomusa* sp. strain 4t3-6-1p-1 が報告されている<sup>21,22</sup>。これらの鉄腐食性酢酸生成菌の腐食メカニズムとして、微生物細胞が金属鉄から直接電子を引き抜くのではなく、金属表面に付着した微生物細胞がカソード反応として生じた水素を加速的に消費することで腐食が加速するというモデルが提唱されており<sup>22</sup>、これはカソード復極説<sup>3</sup>と同じ概念である。実際、これらの腐食活性は無菌区の1.4～2.8倍程度であり<sup>22</sup>、鉄腐食性メタン生成菌の腐食活性は無菌区の37倍にも達する<sup>33</sup>ことを考えると、EMICに比べると弱いCMICである可能性が高い。

#### 2.4.5 鉄腐食性鉄酸化細菌

鉄腐食性鉄酸化細菌として、*Mariprofundus ferrooxydans* が挙げられる<sup>23</sup>。鉄酸化細菌という言葉は、主に $\text{Fe}^{2+}$ イオンを酸化する細菌に使われる言葉であり、 $\text{Fe}^{2+}$ イオンを酸化する能力を持つ微生物は比較的多い。一方で、金属鉄を積極的に利用する微生物種は、あまり知られていない。金属鉄は好気的な環境下では、容易に酸素と反応して鉄酸化物を生じるため、微生物反応で酸化反応が進んだのか、酸素による酸化反応が進んだのかを評価することが難しい。本菌は、微好気性の鉄酸化細菌であり、酸素濃度の勾配ができていた特殊な培養方法を用いることで、金属鉄を積極的に酸化する微生物として分離された。本菌による腐食反応がCMICかEMICかは明らかになっていないが、鉄酸化細菌の多くがチトクロムを用いた電子伝達系を有しており、EET反応を起こし得る可能性はあるだろう。好酸性鉄・硫黄酸化細菌である*A. ferrooxidans*もチトクロム型の電子伝達鎖を有しており、EET反応が可能であることが知られている<sup>35</sup>。本反応については後に詳しく記述するが、本菌がMICに貢献するかは疑わしい。腐食性の微生物として専門書<sup>36</sup>に書かれていることが多いが、本菌は好酸性であるため本菌の培養は強酸性下で行われ、その様な環境下では酸による溶解反応が強くなるため微生物影響を評価することができない。

#### 2.4.6 ヨウ素酸化細菌

ヨウ素酸化細菌は、ヨウ化物イオン(I<sup>-</sup>)を酸化して分子状ヨウ素(I<sub>2</sub>)を生産することのできる微生物である。この代謝反応から生じる分子状ヨウ素が金属腐食性を持っているため腐食反応に寄与する<sup>24</sup>。また、分子状ヨウ素が金属鉄と反応するとヨウ化物イオンが生じるため、一過性の反応ではなくヨウ素酸化反応と鉄酸化がカップリングして継続的に進む反応である(Fig. 6B)。しかしながら、ヨウ素酸化細菌は好気性の微生物であり、酸素のある条件下では上述の通りそれ自身が酸化剤となり腐食が進行するため、ヨウ化物イオン濃度が顕著に高い環境でなければ、このヨウ素酸化細菌による腐食反応

はほとんど無視できる。とは言え、日本は世界有数のヨウ素産出国であり、ヨウ化物イオンが海水の約2000倍に濃縮した地下水をくみ上げており、このような環境では微生物腐食の一つの要因になり得る。

#### 2.4.7 硫黄酸化細菌

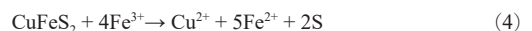
硫黄酸化細菌は還元型硫黄化合物を酸化して硫酸を生じ、pHの酸性化を起こすため、古くから腐食性の微生物として扱われることが多い。しかしながら、多くの硫黄酸化細菌が好気性の微生物であるため、酸素による酸化反応も相まって真の腐食性については評価が難しい。一方、嫌気性の硝酸塩還元性硫黄酸化細菌*Sulfurimonas* sp. CVOは、微生物代謝と腐食反応について詳細に調べられている<sup>25</sup>。その代謝の特性から前述の硝酸還元反応によって生じる亜硝酸での腐食反応に加えて、硫黄の不均化反応によって生じる元素状硫黄(S<sup>0</sup>)によるケミカルな反応が重層してかなり複雑であるが、いずれにしてもCMICである(Fig. 6C)。

### 3. バイオリーチング反応とMIC反応の共通点や相違点

#### 3.1 バイオリーチング反応

バイオリーチングについては、多くの解説や総説等が出ているので詳細は記述しないが、MIC反応との比較のために短く解説しておく。バイオリーチングは、ケミカルな反応で進む硫化鉱物からの有用金属の浸出工程において、生物機能(特に微生物機能)を利用するプロセスである。バイオリーチングでは、様々な微生物機能の複合的な寄与によって反応が効率的に進んでいるが、モデル微生物である好酸性の鉄・硫黄酸化細菌*A. ferrooxidans*による反応が良く研究されている。

鉄硫黄酸化細菌を利用した黄銅鉱のヒープリーチングでは、高密度ポリマー等で形成した不透水層の上に銅鉱石を積み重ね、そこにスプリンクラー等で鉄・硫黄酸化細菌を含む三価鉄溶液を散布し、三価鉄による銅イオンの浸出反応(式(4))に加えて、微生物機能による補助効果で効率的な金属浸出反応を起こしている(Fig. 7)。三価鉄による銅イオンの浸出反応については、チオ硫酸経路や硫化物経路などが提唱されている<sup>37</sup>。浸出液は、さらに有機溶媒を使った銅イオンの抽出、および、電解採取を行うSX-EW(solvent extraction and electrowinning)法によって電気銅として回収される<sup>38</sup>。



式(4)中にみられる元素状硫黄(S)が、ケミカルなリーチングにおける阻害因子の一つであり、ケミカルリーチングだけではこの元素状硫黄が鉱物表層に残留す



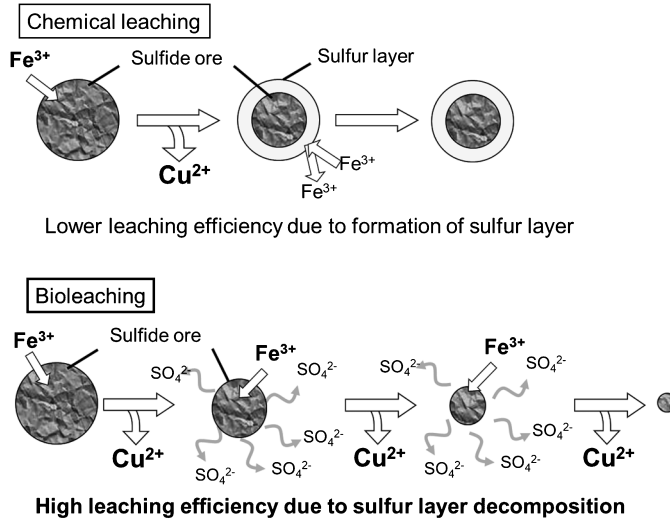


Fig. 7 Abiotic and microbial reactions in chemical leaching and bioleaching.

ることで、三価鉄との反応を阻害すると考えられている。そのため、微生物がこの残留硫黄層を酸化することで、式4の反応が継続することができる (Fig. 7)。したがって、バイオリーチングにおいて一つの重要な機能が微生物の硫黄酸化能と言える。微生物機能の貢献はこれだけではなく、浸出液に含まれる二価鉄を再酸化することで三価鉄とし、再度散布することで循環的なプロセスを可能にしている。また、このような非接触型のリーチング反応に加えて、鉱物に微生物が吸着し、金属の溶出反応を引き起こすような電気化学プロセスが鉱物と微生物細胞間で生じているのではないかとというモデルも提案されている<sup>37</sup>。実際に、*A. ferrooxidans* は鉱物表面に細胞外多糖を分泌してバイオフィルムを形成しているし、前述のようにEETの能力も持っているので何かしらの寄与があっても不思議ではない。

バイオリーチングでは、鉄を酸化する反応と硫黄化合物を酸化する反応が重要であるため、どちらの能力も有している好酸性鉄・硫黄酸化細菌 *A. ferrooxidans* がモデル微生物として説明に使われることが多いが、実際のリーチング環境では、他の鉄酸化細菌 (*Leptospirillum ferrooxidans* など) や硫黄酸化細菌 (*Acidithiobacillus thiooxidans* など) も活躍している。また、これらは中温性の微生物種であり、実際のヒープリーチングでは反応熱により内部が高温環境になることもあり、好熱性の *Sulfolobus* 属や *Acidianus* 属などが活躍している。

### 3.2 共通点と相違点

MICとバイオリーチングの共通点を考えた場合、1) バイオフィルムの形成、2) 無機化合物の代謝能力、3) 電気化学反応の可能性が挙げられる。

#### 3.2.1 バイオフィルム形成

一般的な微生物の代謝は可溶性の基質を利用するのに対して、MICやバイオリーチングでは不溶性の基質 (金属鉄や鉱物) を利用する必要があり、このような不溶性の基質がある場合、微生物の多くは表面にバイオフィルムを形成して反応する。バイオフィルムを形成することで基質である金属や鉱物と物理的に近い環境で存在できるというだけでなく、反応場を形成するという意味でも重要である。特に、不溶性の基質であることを考えると細胞内に取り込んで代謝することができないため、基質と微生物細胞の位置関係は重要である。

#### 3.2.2 無機化合物代謝

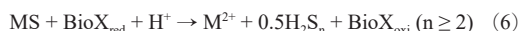
次に、無機化合物の代謝能力に注目する。微生物には、有機物の代謝できるものと無機物を代謝できるものが存在し、MICでもバイオリーチングでも後者の無機物を代謝できる微生物の機能がかなり重要である。例えば、MICが懸念される実環境での長期モニタリング試験において腐食生成物中の微生物群集構造の解析をした実験では、腐食初期に硝酸還元性の鉄酸化細菌が集積し、腐食が進むと鉄還元細菌が集積し、さらに腐食が進んで肉厚な腐食生成物が形成されるとSRBが集積するといった現象が確認されており<sup>39</sup>、無機物代謝能力を持つ微生物が腐食のステージに対応して活躍するという現象が見られている。MICにおいてもバイオリーチングにおいても、この無機物を代謝する能力により微生物自身がエネルギーを獲得して、その場で支配的に活躍できるということが非常に重要である。例えば、鉄や硫黄は酸化できるがエネルギーは獲得できずエネルギー代謝は有機物に依存する微生物がその場にいた場合、MICにおいて

もバイオリッチングにおいても有機物は潤沢に存在する環境ではないため、微生物の持続的な活動が期待できない。

### 3.2.3 電気化学反応の可能性

この無機物代謝が微生物のエネルギー獲得と連結することを考えた場合、前述の基質と微生物細胞の位置関係の重要性も関係してくる。MIC の分野では、ケミカルな腐食で生じた水素を利用してエネルギー代謝をする SRB のような CMIC に比べて、金属から電子を受け取って直接エネルギー代謝を行う EMIC は格段に速い。バイオリッチングにおいては、三価鉄によるケミカルな反応で銅が浸出し、生じた二価鉄や残留硫酸化合物がエネルギー代謝に使われる様式は MIC における CMIC とよく似ている。また、前述の長期モニタリング試験と同じ環境でのステンレス鋼の腐食において、SRB の集積が見られない代わりに、電気化学活性細菌である *Candidatus Tenderia electrophaga* の顕著な集積が確認されており、耐食性材料であるステンレス鋼の腐食における EMIC の可能性が提唱されている<sup>40</sup>。

他方、詳細が明らかにされていないが、バイオリッチング反応においても電気化学的な作用が考えられており、鉱物間のガルバニックな作用に加えて、微生物の EET が関与している可能性もゼロではない。電極からの電子を受け取って独立栄養生育ができると提唱された生命の第三のエネルギー獲得機構である“電気合成”(電気を作るという意味ではなく、光合成や化学合成との対応)の証明実験<sup>35</sup> で使われた微生物は、バイオリッチング研究のモデル微生物である *A. ferrooxidans* である点にも筆者は注目している。*A. ferrooxidans* の鉄酸化に関わる生体分子の研究は進んでおり、細胞外膜上のタンパク質が二価鉄を三価鉄への酸化触媒を進めると共にペリプラズム空間に局在する電子キャリアータンパク質に電子を渡していく EET モデルが明らかになっている (Fig. 4B)<sup>41</sup>。細胞外膜上の当該タンパク質が、鉱物と直接反応し、かつ、熱力学的にカップリング可能な生体反応が共存すれば、鉱物表層での直接的な反応も起こる可能性が残されている。例えば、ポリサルファイド形成型の硫化鉱物の浸出反応である式 5 における三価鉄の役割が、生体成分 (BioX) で置き換わると式 6 の様になることができる。



実際のヒープリーチング環境では、内部が高温環境になるので中温性の *A. ferrooxidans* がこのような反応を行える可能性は低いが、ヒープの表層は温度が比較的低く、酸

素を最終電子受容体とする EET としては都合が良い。いずれにしても、この微生物の電気化学的な影響は可能性の段階であり、全体的な反応の総量を考えると現在受け入れられている三価鉄による浸出モデルが反応のほとんどを占めているだろう。

### 3.2.4 MIC とバイオリッチングの相違点

MIC とバイオリッチングには、前述の三つの共通点が見られるが、明らかな相違点としてバイオリッチングは微生物反応を制御して利用しているが、MIC では人の制御から外れて微生物機能が暴走して起こっている。バイオリッチングでは、操業の初期においては、活動する微生物が定着するまでに効率にラグが生じるが、安定操業中は微生物機能が制御下にあり、定着した微生物の機能が持続的に発揮されている。一方で、MIC 環境では、先述の通り、腐食の過程によって微生物機能が劇的に変わって様々な微生物がパトントッチしながら腐食反応を進めており<sup>39</sup>、著しい腐食に発展する前に防止する必要がある。この過渡期をいかに制御するかが重要であるため、基質と微生物の関係性に類似点が見られるが、人の経済活動的には真逆の視点で物事を考える必要がある。

## 4. 応用展開するための展望

バイオリッチングは既に産業利用されているプロセスであり、応用展開という話をここではしないので、MIC について展望を述べる。MIC の応用展開としては、二つ考えられる。一つは、金属材料への反応性を利用するものである。例えば、ステンレス鋼に微生物腐食が生じる際には、組織選択的な溶解が起こることが確認されている<sup>41</sup>。ステンレス鋼には、様々な種類が存在し、汎用ステンレスである SUS304 や SUS316 はオーステナイト系ステンレス鋼であり、耐食性を与えるためにクロムに加えて、ニッケルが添加されている。組織選択的な溶解反応を利用することで、近年需要が高まっているニッケルを廃棄ステンレスから回収するという新しい金属資源循環技術に応用展開できる可能性がある (Fig. 8)。国内のステンレス製品のリサイクル率は、かなり高いリサイクル率で循環しているため、このような技術の入る余地はないかもしれないが、日本は地下資源に乏しい国であり有用金属資源の輸入は国際情勢によって影響を受けやすい。一方で、ステンレス製品は身の回りにあふれており、廃棄ステンレスの一部を輸出している現状を考えると、国内の余剰なステンレス廃棄物から有用金属を獲得する技術は、都市鉱山の戦略の一部になり得るだろう。

もう一つの可能性は、electrobiosynthesis への応用展開である。近年、石油資源やバイオマス資源に依存したもののづくりから脱却して、二酸化炭素の資源化、すなわち、

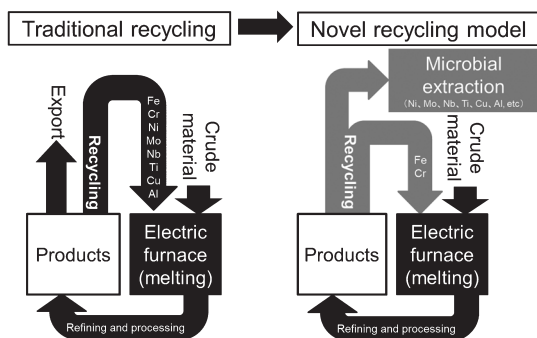


Fig. 8 Novel recycling model of stainless steel using microbial function.

二酸化炭素を還元して化成品原料や燃料などとして利用する研究が精力的に進められている。微生物の持つ EET 能力は電極から電子を受け取って還元力を生体内で生み出すことで、二酸化炭素を有機物に固定化することができる。EET 能を持つ SRB をこのプロセスに利用しても有用物質を得ることは難しいが、例えば EET 能を持つメタン生成菌や酢酸生成菌を利用すると電極からの電子供給により二酸化炭素から C1 化合物であり燃料としても使うことのできるメタンや C-C 結合をもつ酢酸を生産できる。メタンや酢酸はそのままでは利用が限られるが、メタンや酢酸を化学触媒によって変換したり、これらの資化性微生物に利用させて別の物質生産につなげたりすることが可能である。電気の供給をどうするかという点が残っており、当然化石燃料を消費する火力発電で得られた電気エネルギーを利用することは論外であるが、太陽電池を利用する必要がある。近年、太陽電池の性能はかなり向上しており、光エネルギーの利用効率としては光合成よりも高いことが分かっている。もちろん、太陽電池を作る過程で消費されるエネルギー消費等も考慮する必要がある。いずれにしても、化石資源に依存する社会からは脱却する必要があり、微生物を利用した二酸化炭素資源化研究において EET 能を持つ微生物は貢献可能である。

## 5. おわりに

本稿では、最新の MIC 研究を紹介した上で、バイオリーチング反応と MIC 反応の共通点を解説し、応用展開の展望について解説した。バイオリーチング反応も MIC 反応も利用しにくい固体基質に対する微生物機能が関与した現象であり、多くの共通点が見られる。いずれの分野においても、微生物の電気化学的な作用については、研究が途上であるように感じる。バイオリーチン

グ研究は MIC 研究からみるとかなり成熟した段階にあるように見えるが、近年研究が進んでいる微生物電気化学の理解を導入することでお互いの研究分野が次のステージに進めるのではないかと感じた。両研究分野の今後の発展を期待して、本稿を閉じる。

## References

1. J.H. Garrett: *The Action of Water on Lead*, H.K. Lewis (London) (1891)
2. R.H. Gaines: *Ind. Eng. Chem.*, **2**, pp. 128–130 (1910)
3. C.A.H. von Wolzogen Kuhr and L.S. van der Vlugt: *Water*, **18**, pp. 147–165 (1934)
4. 若井暁：化学と生物，**53**, pp. 515–520 (2015)
5. T.P. Hoar: *Report of the Committee on Corrosion and Protection* (1971)
6. 腐食コスト調査委員会：Zairyo-to-Kankyo, **69**, pp. 283–306 (2020)
7. H.H. Uhlig: *Corrosion*, **6**, pp. 29–33 (1950)
8. D. Enning and J. Garrelfs: *Appl. Environ. Microbiol.*, **80**, pp. 1226–1236 (2014)
9. K. Mori, H. Tsurumaru, S. Harayama: *J. Biosci. Bioeng.*, **110**, pp. 426–430 (2010)
10. H.T. Dinh, J. Kuever, M. Mußmann, A.W. Hassel, M. Stratman, F. Widdel: *Nature*, **427**, pp. 829–832 (2004)
11. S. Wakai: *Electron based bioscience and biotechnology-eBioX-*, Springer (Singapore), pp. 3–12 (2020)
12. T. Fujikawa and K. Inoue: *Electron based bioscience and biotechnology-eBioX-*, Springer (Singapore), pp. 33–41 (2020)
13. 若井暁，三本木至宏：バイオサイエンスとインダストリー，**68**, pp. 327–331 (2010)
14. T. Uchiyama, K. Ito, K. Mori, H. Tsurumaru, S. Harayama: *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, pp. 1783–1788 (2010)
15. T. Iino, K. Ito, S. Wakai, H. Tsurumaru, M. Ohkuma, S. Harayama: *Appl. Environ. Microbiol.*, **81**, pp. 1839–1846 (2015)
16. R. Jia, D. Yang, D. Xu, T. Gu: *Bioelectrochemistry*, **118**, pp. 38–46 (2017)
17. D. Xu, Y. Li, F. Song, T. Gu: *Corros. Sci.*, **77**, pp. 385–390 (2013)
18. W. De Windt, N. Boon, S.D. Siciliano, W. Verstraete: *Environ. Microbiol.*, **5**, pp. 1192–1202 (2003)
19. R.B. Miller II, K. Lawson, A. Sadek, C.N. Monty, J.M. Senko: *Appl. Environ. Microbiol.*, **84**, e00790-18 (2018)
20. H.Y. Tang, D.E. Holmes, T. Ueki, P.A. Palacios, D.R. Lovley: *mBio*, **10**, e00303-19 (2019)
21. S. Kato, I. Yumoto, Y. Kamagata: *Appl. Environ. Microbiol.*, **81**, pp. 67–73 (2015)
22. J. Philips, E. Monballyu, S. Georg, K. De Paepe, A. PrévotEAU, K. Rabaey, J.B.A. Arends: *FEMS Microbiol Ecol.*, **95**, fiy211 (2019)
23. J.M. McBeth, B.J. Little, R.I. Ray, K.M. Farrar, D. Emerson: *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, pp. 1405–1412 (2011)
24. S. Wakai, K. Ito, T. Iino, Y. Tomoe, K. Mori, S. Harayama:

- Microb. Ecol., **68**, pp. 519–527 (2014)
25. S. Lahme, D. Enning, C.M. Callbeck, D. Menendez Vega, T.P. Curtis, I.M. Head, C.R.J. Hubert: Appl. Environ. Microbiol., **85**, e01891-18 (2019)
  26. X. Deng, N. Dohmae, K.H. Neelson, K. Hashimoto, A. Okamoto: Sci. Adv., **4**, eaao5682 (2018)
  27. X. Deng, N. Dohmae, A.H. Kaksonen, A. Okamoto: Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **59**, pp. 5995–5999 (2020)
  28. S. Hirano, S. Ihara, S. Wakai, Y. Dotsuta, K. Otani, T. Kitagaki, F. Ueno, A. Okamoto: Microorganisms, **10**, 270 (2022)
  29. H. Tsurumaru, N. Ito, K. Mori, S. Wakai, T. Uchiyama, T. Iino, A. Hosoyama, H. Ataku, K. Nishijima, M. Mise, A. Shimizu, T. Harada, H. Horikawa, N. Ichikawa, T. Sekigawa, K. Jinno, S. Tanikawa, J. Yamazaki, K. Sasaki, S. Yamazaki, N. Fujita, S. Harayama: Sci. Rep., **8**, 15149 (2018)
  30. J.S. Deutzmann, M. Sahin, A.M. Spormann: mBio, **6**, e00496-15 (2015)
  31. 若井暁, 政成美沙, 渡邊朋子, 三本木至宏: 検査技術, **17**, 6, pp. 1–5 (2012)
  32. D.E. Holmes, H. Tang, T. Woodard, D. Liang, J. Zhou, X. Liu, D.R. Lovely: mLife, **1**, pp. 443–447 (2022)
  33. S. Wakai: *Electron based bioscience and biotechnology–eBioX–*, Springer (Singapore), pp. 193–205 (2020)
  34. T. Iino, N. Shono, K. Ito, R. Nakamura, K. Sueoka, S. Harayama, M. Ohkuma: Microbiologyopen, **10**, 4, e1225 (2021)
  35. T. Ishii, S. Kawaichi, H. Nakagawa, K. Hashimoto, R. Nakamura: Front. Microbiol., **6**, 994 (2015)
  36. 腐食防食協会: エンジニアのための微生物腐食入門, 丸善 (東京), pp. 1–14 (2004)
  37. M. Vera, A. Schippers, W. Sand: Appl. Microbiol. Biotechnol., **97**, pp. 7529–7541 (2013)
  38. 高橋堅之, 木村悦治, 岩崎巖: 資源処理技術, **41**, pp. 94–99 (1997)
  39. S. Wakai, N. Eno, K. Miyanaga, H. Mizukami, T. Sunaba, Y. Miyano: npj Mater. Degrad., **6**, 45 (2022)
  40. S. Wakai, N. Eno, H. Mizukami, T. Sunaba, K. Miyanaga, Y. Miyano: Front. Microbiol., **13**, 982047 (2022)
  41. 梶山文夫: Zairyo-to-Kankyo, **46**, pp. 491–497 (1997)