

研究成果報告書

研 究 題 目		石油タンクの鉄腐食リスクを予知する方法の確立	実 施 年 度
			平成24年度
代 表 研 究 者	所 属	広島大学大学院生物圏科学研究科	
	氏 名	三本木 至宏	印
<p>1. 研究の目的・背景</p> <p>特定の微生物群が、石油タンクの内側で発生する鉄腐食(鉄サビ)の原因となっている。本研究では、このような鉄腐食性微生物群を検出する新しい手法を開発する。石油タンクの腐食を防ぐため、関連事業者は莫大な費用をかけてタンクを点検している。しかし、鉄腐食性微生物群を簡便にしかも腐食が顕在化する前に検出できれば、石油タンクの点検費用を大幅に削減できるはずである。そこで本研究では、石油タンクの鉄腐食リスクを予知する方法の確立を目的とする。</p> <p>微生物が金属腐食に関与することを微生物腐食という。近年、鉄腐食性硫酸塩還元細菌、鉄腐食性メタン生成菌、鉄腐食性鉄酸化細菌等多くの腐食原因菌が報告されている。石油タンク等の産業施設では、腐食が目に見える状態になるまで進行してから初めてその原因である微生物を分析しているのが現状である。腐食が顕在化する前に原因菌を同定できれば、有効な腐食予防法となり得る。</p> <p>最近、我々は、石油タンク底部に溜まっている水(タンク底水)にどのような微生物群が存在しているのか解析している。その結果、タンクごとに特徴的な微生物群が存在していること、その群集の中で鉄腐食性メタン生成菌がマイナー種であることを明らかにしている。腐食発生のリスクを評価するためには、今後タンクが腐食する経時変化とそれに対応した微生物群集の変動を追跡する必要がある。このような情報を蓄積することは、微生物による腐食の発生リスクを診断する技術へとつながる。</p> <p>そこで、本研究では、腐食の進行と微生物群集の変動の関係を調べるために、石油タンク底水を用いて研究室レベルで腐食再現試験を行い、腐食鉄量および微生物群集をモニタリングした。</p>			

2. 研究成果及び考察（申請時の計画に対する達成度合を織込む）

2.1 タンク底水のサンプリングと微生物群集

九州地区に設置されている石油タンク 3 基（KTD1, KTD2, および KTD3）からタンク底水を回収した。これら 3 基には、微生物の生育の影響を及ぼすと考えられる油中の塩分と硫黄分が異なる原油が備蓄されている。回収したてのタンク底水中から微生物遺伝子を抽出し、本申請で装置を導入した変性剤濃度勾配ゲル電気泳動（DGGE）解析に供した結果、タンクごとに微生物群集が全く異なることが分かった。これら 3 つのサンプルをさらに以下の実験に供した。

2.2 腐食再現試験中の腐食鉄量

それぞれの底水について、鉄片を含むもの（Fe と表示）と含まないもの（無表示）、加えて無機塩を含むもの（M と表示）と含まないもの（無表示）、計 4 通りの条件で、鉄腐食が進行するかどうかが腐食再現試験を行った。気相は $N_2:CO_2$ (80:20) の嫌気状態とし、 $25^\circ C$ で 26 週間静置した。定期的に腐食の度合いを示す培地中の鉄量を測定した。その結果、KTD1 タンク底水で鉄片および無機塩を含む条件（KTD1-M-Fe）で鉄量が顕著に増加していることが明らかになった。この培養液を新しい鉄腐食試験培地に接種し継代培養を繰り返しても高い腐食能を示した。この結果は、KTD1-M-Fe 培養液中の水質が腐食速度に影響を与えたのではなく、そこに集積した微生物が腐食に関与していることを示している。

2.3 腐食再現試験中の微生物群集構造の変動

腐食再現試験で確認された腐食の進行と微生物群集の変化が相関しているのかどうか調べるために、腐食試験前後の微生物群集を DGGE 解析により比較した。腐食進行が観察された KTD1-M-Fe の微生物群集が、培養前に比べて大きく異なっていたことが分かった。同じタンクの底水を用いても、無機塩が添加されていない KTD1-Fe では、腐食が進行せず、初発の群集構造とほとんど変わらなかった。一方、鉄を添加せずに無機塩だけを添加した KTD1-M でも腐食は見られず、KTD1-M-Fe とは異なる微生物群集となった。KTD1-M で観察された微生物は、硫酸塩還元細菌であった。硫酸塩還元細菌は腐食とは無関係に増殖してしまうのだろう。

2.4 考察

本研究の結果は、対象サンプルの微生物群集の変化をモニタリングすることで、腐食の進行を予測できる可能性を示している。微生物群集は無機塩の有無で大きく変化し、その結果、腐食が進行したと捉えることができる。無機塩の有無は、実験室外では、環境中の水質の変化のモデルとなり得る。したがって、したがって、腐食が起こった後に群集構造を解析するのではなく、微生物群集と水質の変化を定期的にモニタリングすることが腐食進行の早期発見の有効な検査であると我々は提案する。

3. 経費の使用状況（申請時の計画に対する実績を記述）

3.1 設備備品

購入した微生物群解析基本システムとは、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動（DGGE）装置であり、本計画では必要不可欠のものである。

3.2 消耗品費

アイボーイ広口びんは、底水サンプルの回収のために必要なものであった。外 33 点は、遺伝子の抽出等に使用した。

3.3 旅費

旅費は、底水サンプリング旅行のために計上し、執行した。

3.4 謝礼金

謝礼金は、非常勤職員（研究室の学生）3名を雇用するために執行した。

4. 将来展望（今後の発展性、実用化の見込み等について記述）

我々の研究成果は、石油タンクの腐食リスクや進行を診断するための有効な手段の基盤となり得る。現在、容積 1 万 kL 以上の石油タンクについては、8 年ごとに全内容物をタンクの外に出してその内側の腐食程度を点検することが義務付けられている。これを開放点検という。しかし、先般の事業仕分けで、タンク 1 基当たり 1 回の開放点検で約 2 億円の費用がかかることが問題視され、関係者がその解決策を練っているのが現状である。一方で、大型の石油タンクでは定期的に底水が排水されており、除油作業後、廃棄されている。この排水に対して水質を検査し、微生物群集を解析すれば、腐食のリスクや進行をリアルタイムで知ることが可能となるだろう。

実用化のためには、事例解析数を増やしてこの技術の有効性を示すことが必要であると考えられる。新しい技術としては 90% 完成しており、残りの 10% を整備することで直ぐにも実用化が可能である。さらに、微生物群集解析手法を簡略化することが出来れば、汎用性が高まり、広域な普及も見込まれる。

5. 成果の発表（学会での発表、学術誌への投稿等を記載。予定を含む）

学会発表

- 1) 80年前の亡霊との戦い：微生物腐食研究の最前線，若井暁・三本木至宏，第65回日本生物工学会大会，2013年9月（シンポジウム・招待講演）
- 2) タンク底水を用いた腐食再現試験と微生物群集の変動，若井暁・藤井創太郎・政成美沙・安部晶大・三本木至宏，材料と環境 2013，2013年5月
- 3) 微生物による金属腐食～世界をリードする日本の微生物腐食研究～，若井暁，第3回広島県金属防食技術研究会，2012年9月（招待講演）
- 4) 腐食環境の微生物群集解析および悪玉菌の特異的検出，若井暁，腐食防食協会，第176回腐食防食シンポジウム，2012年7月（依頼講演）

学術論文

- 1) 石油タンク底水を用いた腐食再現試験と微生物群集構造の変動，若井暁・藤井創太郎・政成美沙・安部晶大・三本木至宏，材料と環境（投稿中）