

[R4-1]

新原子力研究分野における腐食漏洩のリスク低減手法の提案

Risk reduction methods for preventing corrosion leakage in the novel nuclear field

橋口亜由未 ^{#A, B)}, 秋葉朋希 ^{A)}, 西村昭彦 ^{C)}, 金井昭夫 ^{D)}, 藁科友朗 ^{D)}, 佐藤朝子 ^{D)},
峰原英介 ^{E)}, 須田翔哉 ^{C)}

^{A)} Department of Environmental and Sustainability Sciences, Shimane University

^{B)} Faculty of Environmental, Life, Natural Science and Technology, Okayama University

^{C)} Japan Atomic Energy Agency (JAEA)

^{D)} Graduate School of Media and Governance, Keio University

^{E)} LDD Corporation

Abstract

At the Nuclear Science Research Institute of Japan Atomic Energy Agency (JAEA), approximately 130,000 drums (200 L volume) of radioactive waste are stored, some of which are more than 40 years old, and the surface of the containers (mainly carbon steel drums) are rusting. For safety management, the containers are periodically repaired. To further improve the efficiency and quality of the repair work, JAEA has developed a reuse technique for carbon steel containers using a CW fiber laser irradiation method and is studying the effectiveness of this technique. The proposed reuse technology consists of two types of techniques, namely, rust removal and corrosion prevention, where the former technique removes rust and coatings by laser irradiation, and the latter aims to improve long-term corrosion resistance by forming micro-crystallization and oxide film on the vessel surface through rapid heating and cooling by laser irradiation. Laser rust removal exhibits an excellent corrosion protection capacity that promotes the formation of a non-conductive film. However, the environment in which drums are stored does not allow for complete isolation from the outside world, and microbial corrosion must be taken into consideration. In this study, drums were partially exposed to the open air with laser rust removal, microorganisms were collected from the rust on the drums, and genomic analysis was conducted. Also, lab-scale corrosion experiments were conducted to evaluate the degree to which microorganisms collected from rust contribute to corrosion in different nutrient and oxygen supply conditions. As a result, *Noviherbaspirillum* and *Massilia* of Gamma Proteobacteria were identified as micro-organisms involved in corrosion. Microorganisms obtained from rust surfaces were cultured under different oxygen supply conditions (aerobic and aerobic-anaerobic conditions and absolute anaerobic conditions) in two conditions, an oligotrophic environment, and a eutrophic environment, by adding iron plates and iron powder. The results suggest that aerobic micro-organisms > aerobic anaerobic micro-organisms > obligatory anaerobic bacteria, in that order, have different magnitudes of contribution to iron corrosion.

Keyword: microbial corrosion, CW fiber laser, DNA sequencing, lab-scale corrosion experiment

1. はじめに

JAEAの原子力科学研究所では、200Lドラム缶換算で約13万本の放射性廃棄物を保管している。その一部は40年以上が経過し、表面の錆が進行している。安全管理のために容器の補修作業等を定期的に行っているが、その改善のために、CWファイバーレーザー照射法による炭素鋼容器のリユース技術の開発を開始した^[1]。このリユース技術は、除錆技術及び防錆技術の二種類から成り、前者ではレーザーを用いた錆と塗膜等の剥離及び除去を行い、後者ではレーザー照射による急加熱及び急冷却による容器表面の微細結晶化及び酸化被膜の形成によって長期的な防食性を高める事を目指した技術開発を進めており、このレーザー除錆びは不動体膜の形成を促す防食効果のある優れた手法である。

しかしながら、ドラム缶を保管する環境では外界との完全遮断は出来ず、微生物による腐食を考慮す

る必要がでてくる。ここでは、表面の一部にレーザー錆取りを施したドラム缶を野外に暴露させ、発生した錆より微生物を回収し、ゲノム解析を行うとともに関連する鉄腐食試験および微生物培養観察を行った。

なお、本研究は小テーマ1: UV-LEDによる鉄表面の殺菌、小テーマ2: 廃棄物収納容器表面の腐食層除去と保護膜形成、小テーマ3: 廃棄物収納容器内部の収納物の3Dイメージングの3つの小テーマで構成されており、本報告は主として小テーマ1に関するものである。

2. 実験方法

2.1 実験材料

2.1.1 試験鋼板について

低レベル放射性廃棄物が封入されているドラム缶と同じ鋼材である熱感圧延軟鋼板（鉄板 SPHC-P 500×500 (mm), 株式会社イノヴァール製）を3枚用意した。これらの表面をエタノール、アセトンで

hashiguchi-a@okayama-u.ac.jp

[R4-1]

洗浄後、島根大学屋内に静置した。

2.1.2 好気性腐食実験における液体培地の作成

液体培地として Difco™ LB Broth, Miller (Luria-Bertani, ベクトン・ディッキンソン製) を用いた。微生物の培養を目的とした富栄養環境下と放置した鋼板と同じ貧栄養環境下 (1/10 濃度の LB 液体培地) の 2 つの条件で微生物を培養するため、濃度を 2 段階設定し、宮野らの方法を参考として三角フラスコで調整した^[2]。シリコ栓をしてオートクレーブ (Auto Clave SQ500, ヤマト科学株式会社) を用いて 121°C で 20 分間滅菌し、実験に用いた。Table 2 に好気条件下で用いた液体培地の組成を示す。

Table 2 Composition of liquid medium in aerobic corrosion experiment

Medium	Composite	Elix
LB	Tryptone 10g/L	60 mL
	Yeast Extract 5g/L	
	Sodium Chloride 10g/L	
1/10 of normal LB	Tryptone 1g/L	
	Yeast Extract 0.5g/L	
	Sodium Chloride 1g/L	

2.1.3 好気性腐食実験における鉄板の前処理

鉄板 (SPCC 40×10 (mm), 株式会社 イノヴァール製) の表面をエタノール、アセトンで洗浄後、オートクレーブを用いて 121°C で 20 分間滅菌した。

2.1.4 嫌気性腐食実験における液体培地の作成

液体培地として Difco™ LB Broth, Miller (Luria-Bertani, ベクトン・ディッキンソン製) を用いた。微生物の培養を目的とした富栄養環境下と放置した鋼板と同じ貧栄養環境下 (1/10 濃度の LB 液体培地) の 2 つの条件で微生物を培養するため、濃度を 2 段階設定し、宮野らの方法を参考にして 50 mL 容量バイアル瓶で調整した^[2]。LB が入ったバイアル瓶を 2 つ、1/10 濃度の LB が入ったバイアル瓶を 2 つ用意し、窒素ガスをそれぞれ 30 秒間ずつガラス器具の先端を液体培地に浸しながら窒素で曝気した。その後、オートクレーブを用いて 121°C で 20 分間滅菌した。Table 3 に嫌気条件下で用いた液体培地の組成を示す。

2.1.5 嫌気性腐食実験における鉄粉の前処理

鉄粉 (Iron powder, ナカライテスク株式会社) をビーカーに入れ、オートクレーブを用いて 121°C で 20 分間滅菌後、安全キャビネット (株式会社日立産機システム製) の中で十分に乾燥させた。

Table 3 Composition of liquid medium in anaerobic corrosion experiment.

Medium	Composition	Elix
LB	Tryptone 10g/L	20mL
	Yeast Extract 5g/L	
	Sodium Chloride 10g/L	
1/10 of normal LB	Tryptone 1g/L	20mL
	Yeast Extract 0.5g/L	
	Sodium Chloride 1g/L	

2.1.6 嫌気性腐食実験における還元剤の調整

還元剤としてチオグリコール酸ナトリウムを 0.01 g, システイン塩酸塩を 0.01 g, 硫化ナトリウム 0.004 g を用いた^[3]。Table 4 に示すように還元剤を調整してから空のバイアル瓶に入れ、窒素で曝気後、オートクレーブを用いて 121°C で 20 分間滅菌した。使用する際は 1 つの液体培地につき 100 μL 添加した。

Table 4 Composition of reducing reagent.

Composition	Amount	MilliQ
sodium thioglycolate	1 g	Filled up to 10 mL
L-cysteine hydrochloride	1 g	
sodium sulfide	0.4 g	

2.1.7 細菌の単離培養のための培地の作成

細菌単離用に食品中や環境中の細菌を培養するとき用いられる標準寒天培地 (日水製薬株式会社製), パールコアトリプトソイ寒天培地 (栄研化学株式会社製) を用いた^[4,5]。Table 5 に培地の組成と Elix の量を示す。調整した培地は、オートクレーブを用いて 121°C で 20 分間滅菌を行い、シャーレに約 10 mL ずつ分注し、平板培地を作成した。

Table 5 Composition of the medium for bacterial isolation.

Medium	Composition	Elix
standard method agar	yeast extract 2.5 g/L	1 L
	peptone 5 g/L	
	glucose 1 g/L	
	agar 15 g/L	
pearl core tryptic soy agar	peptone, Casein 15 g/L	1 L
	Peptone, Soy 5 g/L	
	sodium chloride 5 g/L	
	agar 15 g/L	

2.1.8 真菌の単離培養のための培地の作成

真菌単離用に食品や環境中から真菌を単離するとき

[R4-1]

に用いられるポテトデキストロース寒天培地（日本製薬株式会社製）を用いた。Table 6 に培地の組成と Elix の量を示す。調整した培地はオートクレーブを用いて 121°C で 20 分間滅菌を行い、シャーレに約 10 mL ずつ分注し、平板培地を作成した。

Table 6 Composition of the medium for fungus isolation.

Medium	Composition	Elix
	potato extract	
potato dextrose	3.9 g/L	1 L
agar medium	glucose 21 g/L	
	agar 14.1 g/L	

2.2 ドラム缶表面に生息する微生物菌叢の解析

2.2.1 ドラム缶の放置とサンプルの採取

JAEA 原子力科学研究所内において、塗装をレーザー蒸発させたドラム缶を 4 か月屋外で静置し、海岸近くの環境で加速的に発錆させた。外観の様子を Fig.1 に示す。ドラム缶表面をテープで覆った箇所（4 か所）は黒色の不動体膜が維持されていたが、その他の部分は完全に発錆で覆われた。Fig.2 にドラム缶表面のサンプリング箇所（3 箇所）、Table 7 にサンプルの詳細を示す。なお、浮遊物を採取する際はピペットで吸い取るようにして採取し、上面の蓋の錆を採取する際は火炎滅菌したやすりでこすり取るようにして採取した。



Fig.1 A drum left for 4 months for accelerated corrosion test @ JAEA.

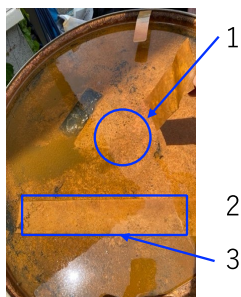


Fig.2 A lid of a rusted drum.

Table 7 Sample list.

Sample No.	Information	Sample condition
1	Iron bacteria floc in rainwater collected on the top lid	liquid
2	Rust on top lid	solid
3	Curing tape on the top surface (include organic compound)	solid

2.2.2 DNA 抽出

ISOIL（ニッポン・ジーン製）を使用して DNA 抽出を行った。それぞれのサンプルから固体を回収し 2 mL 容マイクロチューブに移し入れ、950 μ L の Lysis Solution HE および 50 μ L の Lysis Solution 20S を加え、転倒混和で十分に混合した。10 分ごとに転倒混和しながら 65°C で水浴させて 1 時間インキュベートした。12,000 \times g 室温で 3 分間遠心分離した後、上清 600 μ L を新しい 2 mL 容マイクロチューブに回収し、Purification Solution を 400 μ L 加えて十分に混合した。次に 600 μ L のクロホルムを加えて 15 秒間ボルテックスした後、12,000 \times g 室温で 15 分間遠心分離した。その後、中間層を入れないようにしながら水層 800 μ L を新しい 2 mL 容マイクロチューブに回収した後、Precipitation Solution を 800 μ L 加えて十分に混合し、20,000 \times g、4°C で 15 分間遠心分離した。次に上清を捨て、1 mL の Wash Solution を加えて数回転倒混和した後、20,000 \times g、4°C で 10 分間遠心分離した。その後、上清を捨て、1 mL の 70%エタノール及び 2 μ L の Ethachinmate を加えてボルテックスした後、20,000 \times g、4°C で 5 分間遠心分離した。最後に、上清を捨て、カラム風乾した後、沈殿を 100 μ L の TE buffer に溶解し、溶解に得られた溶液を各試料の DNA 抽出物とした。

2.2.3 微生物の同定

2.2.2 で得られた DNA 抽出物について PCR にて 16S rRNA 領域を増幅しシーケンス後に MinION（Oxford Nanopore 製）でメタバーコーディングして、BLAST 解析にかけて発錆に寄与する微生物を同定した。

2.3 腐食実験

2.3.1 微生物の採取と濃縮

2.1.1 に記載した 3 枚の鋼板のうち、85 日間放置して初期程度の発錆が確認された 1 枚の鋼板表面について滅菌済のリン酸緩衝生理食塩水（PBS）1000 mL で洗浄し、洗浄液を滅菌済みのビーカーに回収した。回収した洗浄液を 15 mL 容量の遠沈管に 15 mL 移し、6000 rpm、4 °C、11 分間遠心分離し、集菌した。遠心分離後、上澄みを捨て、残りの洗浄液 15 mL を遠沈管に移し入れ、ボルテックスを行い、遠沈管壁面の微生物を水相に移した。この作業を回収した洗浄液全てに対して繰り返し行い、全量が 400 mL 程度

[R4-1]

になるまで約 2 倍濃縮した。

2.3.2 好気性腐食実験

腐食実験の試験液は、Table 2 に記載の液体培地 (LB または 1/10LB) 60 mL と濃縮した洗浄液 30 mL を混合し、全量 90 mL の菌試料液とした。菌試料液に対し、2.1.3 に記載の鉄板を添加し、25°C, 85rpm¹⁷⁾ で 2 週間振盪培養した¹⁶⁾。培養後、懸濁物を含んだ試料液を 5 mL 容マイクロチューブに 300 μ L 移し、1 mol/L 硝酸で 10 倍希釈し転倒混和することで懸濁物中の 3 価鉄を液相に溶解させた。懸濁物を溶解させた溶液をテルモシリンジ (テルモ株式会社) で吸い取り 0.2 μ m のフィルターでろ過後、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP/MS, アジレント・テクノロジー株式会社) で鉄イオン濃度を測定し、鉄の腐食の程度を定量的に評価した。

2.3.3 嫌気性腐食実験

腐食実験の試験液は、Table 3 に記載の液体培地 20 mL と濃縮した洗浄液 10 mL を混合し、全量 30 mL の菌試料液とした。菌試料液に対し、2.1.5 に記載の鉄粉 1 g を添加した。絶対嫌気性細菌の培養を目的とし、還元剤を必要とする試験液については、坂崎らの方法を参考にして、Table 4 に記載の還元剤 100 μ L を試料液中濃度がチオグリコール酸ナトリウムが 100 g/L、システイン塩酸塩が 100 g/L、硫化ナトリウムが 40 g/L となるように添加した¹³⁾。試験液の組成と実験期間を Table 8 に示す。試験液を添加したバイアル瓶にブチルゴム栓とアルミキャップを装着し、バイアル瓶の空隙中の二酸化炭素:窒素が 2:8 となるように¹⁷⁾、予めガズバックに封入しておいた窒素ガスを 90 mL 注入して気相部分を完全に窒素に置換してから別のガズバックに封入しておいた二酸化炭素標準ガス 10 mL を同様に注入した。なお、これらの操作は安全キャビネット内で実施し、まずブチルゴム栓に注射針を 2 本刺し、片方の注射針からバイアル瓶の中の気体を放出しながら、もう片方の注射針に滅菌済み 0.2 μ m のフィルター (濾過滅菌) と滅菌済みシリンジを取り付けて気体を注入して行った¹⁸⁾。ガス置換後の試験液を室温、85rpm で 2 週間振盪培養した^{7,8)}。培養後、試料液 15 mL を 6000rpm, 4 °C, 11 分間で遠心分離を行い、上澄みを滅菌済みテルモシリンジ (テルモ株式会社) で吸い取り滅菌済みの 0.2 μ m のフィルターでろ過後、ICP-MS で鉄イオン濃度を測定し、鉄の腐食の程度を定量的に評価した。

Table 8 Composition of the sample solution and experimental period in the anaerobic corrosion experiment.

Medium	Reducing agent	Experimental period
LB	○	2 weeks
1/10 of normal	×	
LB	○	
LB	×	

2.3.4 DNA 抽出

ISOIL (ニッポン・ジーン製) を使用して DNA 抽出を行った。2.3.2 と 2.3.3 で遠心集菌を行った試料液中の沈殿物の上澄みを捨て、そこに 0.5 mL の試料液を注入しボルテックスミキサーでして混濁させ、菌混濁液を作成した。菌混濁液 0.5 mL を滅菌済みの 2 mL 容マイクロチューブに移し、2.2.2 の方法と同様に ISOIL で DNA を抽出した。

2.4 単離培養

2.4.1 供試液

2.3.2 の ICP-MS の結果を参考にして、通常濃度の LB 培地と 1/10 濃度の LB 培地での腐食実験において最も鉄イオン溶出量が多かった実験後試料液を 1 つずつ選び、単離培養試料とした。

2.4.2 細菌の単離培養

Table 5 の平板培地を用いて単離培養を行った。各試料液から一白金耳分の試料を採取し、各種平板培地 (標準寒天培地およびパールコアトリプトソイ寒天培地) に画線培養した。37°C で 2 日間培養後、培地上に生育した単独コロニーについて色や形が異なるものを選び、白金耳を用いて同じ種類の新しい培地に画線培養を行った後、再び 37°C で 2 日間培養した。この作業を目視で完全に単離されたと判断できるまで繰り返し、得られたものを単離株とした。

2.4.3 真菌の単離培養

Table 6 の平板培地を用いて単離培養を行った。試料液を 0.4 mL 採取し滅菌済みの PBS 3.6 mL が入った 5 mL チューブに入れて 10 倍希釈後、同様の操作を行い、100 倍希釈をした。原液、10 倍希釈液、100 倍希釈液を 0.1 mL ずつ 5 枚の培地にコンラージ棒で塗布した。25°C で 2 日間培養後¹⁹⁾、培地上に生育した真菌のコロニーについて色や形が異なるものを選び、火炎滅菌したピンセットを用いて菌糸の一部を培地ごと切り取って新しい平板培地上に移植後、再び 25°C で 2 日間培養した。この作業を目視で完全に単離されたと判断できるまで繰り返し、得られたものを単離株とした。

2.4.4 単離された微生物からの DNA 抽出

単離された細菌、真菌を培地ごと火炎滅菌したピンセットで切り取り、0.5 g とって 2 mL 容マイクロチューブに移した。2.2.2 に示す方法と同様に ISOIL で DNA を抽出した。

3. 結果と考察

3.1 ドラム缶表面に生息する微生物菌叢の解析

Fig.3 に微生物群集構造を示す。同定された微生物では Gamma Proteobacteria 綱に分類される微生物が多かった。3 つのサンプルは類似した微生物プロファイルを示し、*Noviherbaspirillum*, *Maassilia* を中心とする微生物群集構造が明らかとなった。また、同定された微生物では Proteobacteria 門に分類される微生物

[R4-1]

物が多く、Proteobacteria 綱に属する微生物は鉄酸化との関連があることが示唆されている。また、Fig.3の微生物群集構造において優占種である *Maassilia* 属と *Noviherbaspirillum* 属についても同様に鉄酸化に寄与するという報告がなされている^[22,23]。以上のことから、今回同定された微生物はいずれもドラム缶表面上で鉄酸化に関連している可能性がある。

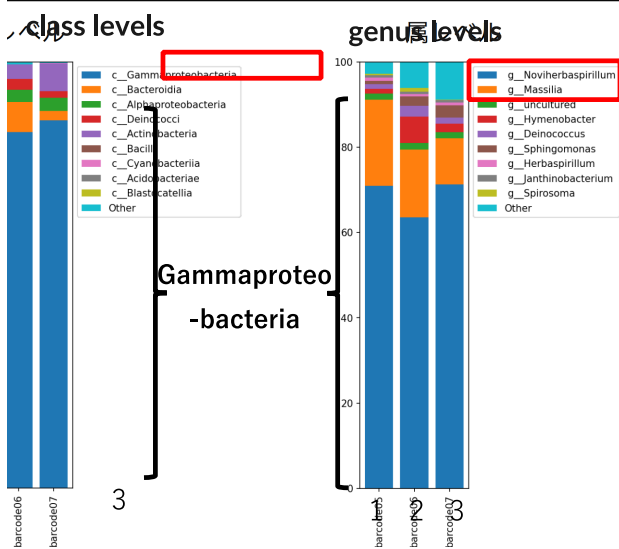


Fig.3 Structure of microbial community

3.2 鉄イオン濃度結果

溶出した鉄イオン濃度の測定結果を Fig.4 に示す。LB 培地にはもともと生理食塩水程度の約半分濃度の塩分が含まれており、培地に菌を移植しなくても鉄は錆びる。そのため、Fig.4 に示す鉄濃度は菌試料液中の鉄イオン濃度から対照区中（液体培地のみ）の鉄イオン濃度を差し引いて、その値を平均したものである。富栄養環境（LB）では、好気条件で 99 mg/L、嫌気条件で 27 mg/L、嫌気条件（還元剤）では 0.66 mg/L であった。貧栄養環境（1/10 LB）では、嫌気条件（還元剤）で 7.5 mg/L の鉄イオン溶出が確認されたが、好気性条件と嫌気条件（還元剤）では鉄イオン溶出が確認されなかった。富栄養環境を想定して調整した通常濃度の LB 培地で培養した菌試料液については全ての条件下で対照区よりも高い鉄イオン濃度の溶出が確認され、さらに通常濃度の嫌気性から溶出した鉄イオン濃度が通常濃度の還元剤入りの嫌気性よりも高かったことから、富栄養環境下では好気性微生物、通性嫌気性微生物、絶対嫌気性微生物の順で腐食に寄与した度合いが大きいことがわかった。

腐食に関与する好気性微生物の例として、鉄細菌や硫黄酸化細菌があげられる。鉄細菌とは第一鉄化合物を水酸化第二鉄として体の表面または体内に沈殿させる能力を持つ分裂菌類の名称であり、*Pseudomonadales* 目や *Chlamydo bacteriales* 目など 14 種ほどが報告されていて^[24]、鉄イオンをエネルギー源として酸素呼吸を行い、沈殿物を生成することで細菌の繁殖した菌叢の下の酸素が無くなってアノー

ドとなり鉄が溶解し、植菌していない系でも鉄表面がカソードとなり、酸素の還元のカソード反応が起こる^[7,10]。この作用により酸素濃淡電池が形成され、腐食が進行した。そのため、富栄養環境下では多量の鉄イオンが溶出しており、この鉄を基質とした鉄細菌が活発化され、鉄の酸化に関与したと考えられる。鉄酸化細菌は *Thiobacillus* 属に分類され、2 価の鉄イオンや硫黄を酸化してエネルギーを得る化学合成独立栄養細菌である^[3,10]。硫黄は生物圏と大気圏を通して循環しており、この硫黄から硫黄ジオキソゲナーゼの作用で亜硫酸を生成し、さらに酵素により亜硫酸から硫酸にまで酸化され腐食が進行する^[11]。また、鉄イオンを電子受容体とする酵素を持っていることから富栄養環境下で多量に溶出された鉄イオンを利用して鉄酸化細菌が活発に関与したと考えられる。

腐食に関与する嫌気性微生物の例として硫酸塩還元菌とメタン生成菌があげられる。硫酸塩還元菌は乳酸、酢酸、プロピオン酸等の低分子の有機酸や水素等を電子供与体にし、硫酸塩を電子受容体とする偏成嫌気性細菌であり、硫酸塩は還元され硫化水素として排出することで腐食を進行させる^[12]。さらに近年、鉄を唯一の電子源とする *Desulfovibrio ferrophilus* から新規外膜シトクロム酵素が発見され、ナノワイヤーを用いることで外膜シトクロム酵素を介して細胞外にある電極から電子を受け取る細胞外電子移動を行う能力を有していることが明らかになり^[13]、有機物を使わなくても鉄表面から直接電子を引き抜くことで腐食を進行させることが明らかになっており、これらの微生物は共生関係を築きながら自然環境中に存在し、発酵に寄与することが考えられる。また、硫酸還元菌など基質を競合するメタン生成古細菌は、嫌気的環境下でメタンを生成する微生物群集の総称であり、発酵性の細菌などが生成した水素、ギ酸、酢酸及びメチルアミン類等の基質からメタンを生成しその反応で得られるエネルギーを唯一のエネルギー源として生育する古細菌である^[6,27]。水素と二酸化炭素を用いてメタンが生成されるが鉄腐食にかかわるメタン生成古細菌では、ヒドロゲナーゼを用いて鉄から電子を獲得して水素分子生成を促進し、炭酸イオンと二酸化炭素を変換する炭酸脱水酵素を細胞外に放出することで、本研究で再現した富栄養環境でもメタン生成古細菌は活性化しており、腐食が促進されることが考えられる^[28]。以上のように栄養環境（LB）では、多量の鉄イオン溶出が確認された。一方で、鋼板が放置されている環境と同じく貧栄養状態となるように調整した 1/10 濃度の LB で培養した菌試料液からは、還元剤入りの嫌気性を除き、鉄イオン溶出は確認されなかった。貧栄養環境であっても鋼板は腐食したことから、自然界では常に大気が循環していることで硫黄や二酸化炭素、水素、有機酸などの基質が継続的に提供され微生物が腐食に関与するが、本実験では継続的な基質の提供がされず、腐食の進行は抑制されたと思われる。

[R4-1]

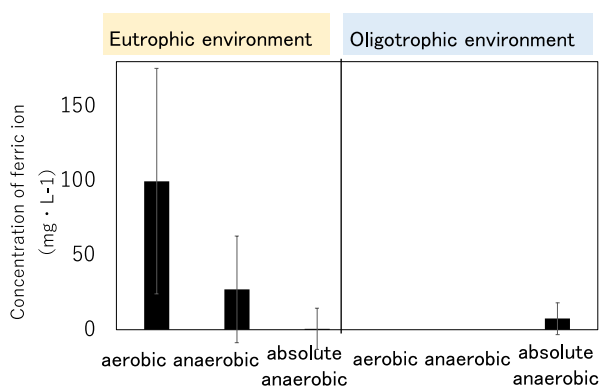


Fig.4 Concentration of eluted ferric ions.

3.3 単離された微生物

Fig.5 に単離された微生物, Table 8 にそれぞれの微生物の特徴を示す。最も鉄イオン溶出量が多かった通常濃度の LB 培地で培養した好気性の菌試料液と 1/10 濃度の LB 培地で培養した好気性の菌試料液から目視上で 5 つの細菌と 1 つの真菌を単離することができた。5 種類の細菌と 1 種類の真菌が目視上で単離された。鉄酸化に関連している真菌の例として *Cladosporium* が報告されており^[24], 今後は菌叢解析を実施して単離された菌を特定する必要がある。

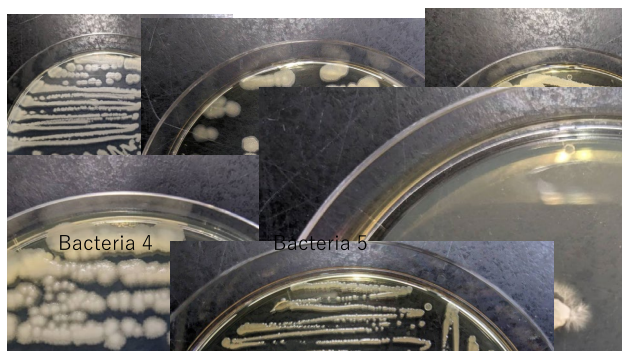


Fig.5 Isolated colony and fungal filament.

Table 8 Characteristics of isolated micro-organisms.

Sample	Size of colony	Morphology
Bacteria 1	10 mm	milky white
Bacteria 2	15 mm	yellowish milky white
Bacteria 3	30 mm	milky white
Bacteria 4	9mm	milky white
Bacteria 5	3 mm	reddish pink
Fungus 1	3mm	white, crystalline shape

4. まとめ

本研究では, 小テーマ 1 の放射性廃棄物を長期間安全に保管するための脅威となる「微生物腐食」を対象として, 鉄腐食における微生物の貢献度と関与する微生物の同定を行った。その結果, 以下の結論を得た。

- 1) ドラム缶表面から腐食に関与する微生物として Gamma proteobacteria 綱の *Noviherbaspirillum*, *Massilia* が同定された。
- 2) 鉄板や鉄粉を添加し, 貧栄養環境と富栄養環境のそれぞれにおいて異なる酸素供給条件下 (好気条件及び通性嫌気条件と絶対嫌気条件) で培養した結果, 好気性微生物 > 通性嫌気性微生物 > 絶対嫌気性細菌の順で鉄腐食への関与の大きさが異なることが示唆された。

本実験の今後として, 腐食実験においてどのような微生物が鉄イオン溶出にかかわったのかを明らかにするために, それぞれの条件で培養した菌試料液から DNA 抽出を行い, PCR にて 16S rRNA 領域を増幅しシーケンス後に MinION (Oxford Nanopore 製) でメタバーコーディングして, BLAST 解析にかけて発酵に寄与する微生物を同定していく必要がある。

次年度は, 小テーマ 1 において紫外線 LED 照射による殺菌, 小テーマ 2 におけるレーザー蒸発及び小テーマ 3 における中性子イメージングなど, JAEA の施設共用制度等の活用を検討する。

参考文献

- [1] 須田翔哉ら, “CW ファイバーレーザー照射法を用いた放射性廃棄物容器のリユース技術の開発”, 日本原子力学会 2022 年秋の大会予稿集, 2C02,” 日本原子力学会 2022 年秋の大会, 2C02, 2022
- [2] 宮野泰征ら, “微生物の生化学反応を応用した材料微細加工プロセスに関する研究 第 3 報 (ステンレス鋼溶接部の微生物誘起腐食と加工への応用), 鉄と鋼, 92 巻 4 号, p. 287-294, 2006
- [3] 坂崎利一ら, “新細菌培地学講座-下 II-”, 近代出版, p.440, 1992
- [4] 久保倉洋子, “生肉の生菌数測定法の検討”, 食品衛生学雑誌, 24 巻, 1 号, pp.7-13, 1983
- [5] 進真里華ら, “口腔乾燥症状(ドライマウス)の改善を目的とした新規スプレーの臨床評価”, 医療薬学, 34 巻, 3 号, p.246-251, 2008
- [6] 菊池靖志ら, “地下水中に生息する微生物による銅とその溶接部の腐食挙動”, 材料と環境, 47 号, 7 号, p.468-475, 1998
- [7] 伊藤公夫ら, “金属鉄を電子供与体として利用可能なメタン生成古細菌 (MPA) と硫酸塩還元菌 (SRB) の共存による鉄腐食促進作用”, 材料と環境, 60 巻, 9 号, p.402-410, 2011
- [8] https://www.nite.go.jp/nbrc/cultures/others/nbrcnews/news_vol02.html
- [9] 小笠原和夫, “カビの科学”, 地人書館, p.116, 1981
- [10] 佐々木英二, “微生物腐食”, 材料と環境, 46 巻, 8 号, p.475-480, 1997
- [11] 杉尾剛, “鉄・硫黄酸化細菌の生理と利用”, 化学と生物, 30 巻, 8 号, p.533-537, 1992
- [12] 松井三郎ら, “硫酸塩還元菌”, 環境技術, 18 巻, 4 号, pp.229-244, 1989

[R4-1]

- [13] 浅川晋, “メタン生成古細菌の特徴と水田土壌における生態”, 土と微生物, 52 巻, pp.33-39, 1998
- [14] https://www.nite.go.jp/nbrc/industry/other/mic2009/microbes/knowledge_4_2.html
- [15] https://www.nite.go.jp/nbrc/industry/other/mic2009/mechanism/investigation_2_2.html