

令和元年6月25日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K06792

研究課題名(和文) その場観察を利用した微生物腐食の可視化と金属学的因子の影響解明に関する研究

研究課題名(英文) Research on in-situ visualization of bio-corrosion process and the elucidation of the influence of metallographic factors on bio-corrosion initiation

研究代表者

宮野 泰征 (Miyano, Yasuyuki)

秋田大学・理工学研究科・准教授

研究者番号：60466589

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：共焦点レーザー顕微鏡を利用したその場観察条件下での微生物腐食研究の可能性を開拓した。微生物腐食の進行過程の可視化情報、微生物の生態的特性、材料が受ける耐食性劣化の電気化学的解析データの相関を総合的に検討し、腐食現象の理論的解析に向けた研究を推進した。また、材料学的な観点から微生物腐食の誘導因子として着眼されているいくつかの金属学的因子と微生物の付着相関を、実証学的に明らかにする新規知見を獲得した。微生物の着床、局在、脱離といったバイオフィーム形成過程、微生物腐食の進展速度・発生挙動を時間・空間分解的な観点から明らかにする観察技術を充実させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微生物腐食の進行過程における金属学的因子と微性物付着挙動の相関については、様々な理論が提案されてきたが、観察対象としての性質が大きくことなる両者の相互作用を、同一観実験系において、実時間・非破壊で検討することは極めて困難とされてきた。このような、微生物腐食発生を誘導する金属学的因子の影響の実証的解明を目指す上での大きな課題に対し、共焦点レーザー顕微鏡を使用した金属/微生物のその場同時観察技術を開発・充実し、微生物腐食機構解明研究の新展開に向けた新しい可能性を開拓した。材料学的諸因子への微生物の応答、微生物腐食発現プロセスの双方を実証的・速度論的に明らかにするための新規研究手法を醸成した。

研究成果の概要(英文)：The possibility of bio-corrosion study under in-situ observation using confocal laser microscopy was evaluated. The correlation of visualization information on the progress of bio-corrosion, ecological characteristics of microorganisms, and electrochemical analysis data on bio-corrosion susceptibility of materials were comprehensively examined. Then some phenomena of bio-corrosion were theoretically analyzed. In addition, from the viewpoint of material science, some new findings about the adhesion correlation of metallographic factors and microorganisms, which are regarded as inducers of biocorrosion, were examined. As a result of these works, the observation techniques to clarify the process of biofilm formation such as implantation, localization, and detachment of microorganisms, and the growth rate and developmental behavior of bio-corrosion have been enhanced.

研究分野：材料加工・組織制御工学

キーワード：微生物腐食 ステンレス鋼 不動態 ミクロ組織 孔食電位 CSLM 孔食 バイオフィーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

微生物腐食とは微生物の直接/間接的な作用により材料の腐食劣化が促進される現象である。耐食性材料の代表であるステンレス鋼でも発生は免れず、この場合、溶接部あるいは熱影響部での被害が顕著となる傾向がある。解析研究などから、熱履歴による組織形態、元素分布などの金属学的因子が、微生物腐食を誘導する因子として注目されるようになってきている。

微生物付着/バイオフィルムの形成を微生物腐食の契機として捉える立場からは、ミクロ観察的手法を応用し、金属学的因子と微生物の相関を関連付ける研究が展開されている。しかし、従来の観察手法は、これらの実証的解明に対し様々な技術的制約を抱えている。

微生物腐食を誘導する金属学的因子と微生物の相互作用の実証的検討には、微生物腐食の進行過程(金属表面への微生物の着床、バイオフィルム形成、腐食発生)の可視化が有効と考えられる。それには、(a)染色操作、電子線等により微生物の活動レベルを劣化させることなく、in-situ で金属/微生物の同時観察が可能であること。(b)金属溶解/微生物活動を要因に経時変化する金属表面の微視的形態を、高解像度/高被写界深度で観察可能であること。が求められる。

近年、反射顕微鏡法を基礎とした微生物/バイオフィルムの非破壊観察手法が、共焦点反射顕微鏡法(COCRM)として生物学分野で開発された。申請者は、COCRMを金属/微生物その場同時観察手法として応用することで、微生物腐食を誘導する金属学的因子の影響を実証的に解明できるとの展望を得た。

2. 研究の目的

微生物腐食を誘導する金属学的因子の影響については様々な学説が提唱されているが、金属/微生物の双方を対象としたその場観察が技術的に困難であることなど、微生物腐食と金属学的因子の相互作用の実証解明に向けた課題は多い。申請者は、新規バイオフィルム観察手法として注目される共晶点反射顕微鏡法(COCRM: Continuous Optimizing Confocal Reflection Microscopy)を金属表面観察に応用することで、金属/微生物その場同時観察の実現が可能との着想を得た。本研究では、COCRMを金属表面のバイオフィルム観察手法として世界に先駆けて応用し、微生物腐食研究への適用を検討する。金属学的因子と微生物付着/腐食発生との相関を実証的に検討し、微生物腐食の機序解明を目指す。

3. 研究の方法

微生物腐食を誘導する金属学的因子(粒界、析出、偏析、応力などの分布)の影響については様々な理論が提唱されているが、十分な実証解明には至っていない。

本研究の目的である、その場観察による微生物腐食の可視化と金属学的因子の影響の解明の実現にむけ、以下の4つの行程により研究を遂行する。微生物腐食誘導への影響が指摘される金属学的因子を制御/導入した金属試料を作製する。COCRMを金属/微生物その場同時観察に応用し、微生物腐食の進行過程の可視化を実現する。金属学的因子に対する微生物応答をその場観察により実証的に解明する。微生物腐食発生挙動、腐食形態、電気化学的特性/電位分布、金属学特性等を総合的に評価し、微生物腐食の機序解明に向けた定量的/速度論的検討を展開する。

4. 研究成果

微生物腐食誘導の可能性が指摘される金属学的因子を材料工学的手法により制御/導入した試料を作製し、それらに誘導される微生物腐食発生挙動を、COCRMで可視化ための研究を行った。作製試料を対象とした微生物腐食再現の加速条件を導出した。金属学的因子と微生物応答の相関を評価し、腐食再現加速条件下で、微生物腐食進行過程の可視化データを取得した。(1)金属学的因子を制御/導入した金属試料の作製:ステンレス鋼、炭素鋼、銅合金などの微生物腐食に関連性の高い材料を対象に、一般的な材料工学的手法(熱処理、塑性加工など)のほか、先端材料加工プロセス(摩擦攪拌プロセス、ファイバーレーザなど)の適用も検討し、微生物腐食との相関が指摘される金属学的諸因子(粒界、析出、偏析、応力などの分布)を制御/導入した試料を作製した。作製試料については、金属学的解析手法により、金属学的因子の定量値、分布情報等を明らかにした。(2)微生物腐食再現の加速条件の導出、金属学的因子と微生物応答の系統的評価:作製試料を対象に微生物腐食再現の加速条件を、COCRM、金属学的特性評価、および電気化学的検討から導出した。供試微生物については、保有する原因微生物以外に、最新の腐食事例環境からも微生物腐食再現の加速に有効な菌株/金属学的因子への応答性に優れる菌株を探索し、必要に応じ種族特定/生体特性を解明する。以上より、金属学的因子に対する微生物付着応答/微生物腐食誘導について系統的な評価を行った。(3)金属/微生物その場同時観察による微生物腐食進行過程の可視化:COCRMを利用した定点連続観察を実行し、微生物腐食進行過程の可視化を目指した検討を行った。1金属表面への微生物の着床、2バイオフィルム形成、3腐食発生という微生物腐食進行過程の可視化を実現し、微生物腐食を誘導する金属学的諸因子の影響を解明するための知見を得た。

微生物腐食の進行過程の可視化情報と、電気化学的解析データの相関を評価し、腐食現象の理論的解析を行った。また、材料学的ミクロ観察手法により、腐食形態/速度(孔食深度)の実態・傾向を調査した。上記検討から、微生物腐食を誘導する金属学的因子の影響を詳細に検討した。

(1)金属学的因子と微生物応答の相関の高精度/実時間解析:金属表面の微生物観察は、染色操作や固定化処理に依存することが一般的で、このことは微生物応答の実態解明の大きな制約の一つであった。本申請研究では、緑色蛍光タンパク質(GFP)をコードする遺伝子で形質転換した微生物をトレーサーとして活用する実験手法を考案し、金属学的因子と微生物応答を定量的/速度論的に解析した、国際的にも新規な知見の獲得を目指した。また、CSLMの他にデジタルマイクロスコープなどのデバイスを適用した新しい観察実験系の構築しその場観察実験の可能性を開拓した。(2)腐食発生挙動の可視化情報と電気化学的特性の相関解明:微生物腐食再現試験中の可視化情報と試料電気化学特性をin-situで評価可能な実験系を設計/考案した。金属腐食/微生物の位置情報と表面電位分布(SVET:走査振動電極法などを想定)などの電位可視化情報との関連付けにも取り組み、腐食発生挙動の理論的な解析にむけた調査研究を開始した。孔食電位測定と観察を併用した微生物腐食実験に着手し実験データを獲得した。(3)微生物腐食を誘導する金属学的因子の影響解明 腐食再現後の試料表面の微視的形態/金属組織をSEM、超深度形状測定装置で評価し、腐食形態の実態を調査した。前述した、腐食発生挙動の可視化情報、電気化学的特性と本検討結果を総合的に評価し、微生物腐食を誘導する金属学的因子の影響を検討した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. 宮野泰征「新規その場観察技術を適用したステンレス鋼溶接部微生物腐食発生プロセスの可視化と微生物腐食を誘導する金属学的因子の影響解明に関する研究」溶接技術, 査読無, 66, 104-105

〔学会発表〕(計 23 件)

1. Yasuyuki Miyano “Dynamic observation of corrosion behavior of austenitic stainless steel under bio corrosion inducing environments”, Nace East Asia Pacific, 2019.
2. Chengwai Yao, Yasuyuki Miyano, Kodama Yuta, Yamada Ryoma “Evaluation of corrosion effect by microorganisms on stainless steels using electric measurement and metal/microbial simultaneous techniques”, Nace East Asia Pacific, 2019.
3. Nanako Ito, Nozomu Obana, Hiroki Watanabe, Tomohiro Inaba, Yasuyuki Miyano, Nobuhiko Nomura “Metal corrosion by a marine isolated bacterium in response to environmental changes”, Nace East Asia Pacific, 2019
4. 宮野泰征, 鞠子侑, 「擬似海水環境中におけるステンレス鋼の孔食発生に及ぼす微生物および鉄イオン濃度の影響」, 一般社団法人日本鉄鋼協会 第172回秋季講演大会, 2018年
5. 宮野泰征, 渡辺宏紀, 稲葉知大, 尾花望, 清川達則, 野村暢彦「ステンレス鋼溶接部における微生物腐食発生過程の共焦点レーザー顕微鏡観察」, 平成29年度溶接学会秋季全国大会, 2017年
6. 宮野泰征, 小山真司, 須永文男, 長谷川剛「ステンレス鋼溶接部の溶接後表面処理が微生物腐食発生に及ぼす影響」, 一般社団法人日本鉄鋼協会第174回秋季講演大会, 2017年
7. 宮野泰征, 渡辺宏紀, 尾花望, 清川達則, 稲葉知大, 野村暢彦「ステンレス鋼表面におけるバイオフィルム形成挙動と微生物腐食発生過程の可視化」, 第64回材料と環境討論会, 2017年
8. 宮野泰征, 渡辺宏紀, 清川達則, 継田唯俊, 佐藤雄二, 塚本雅裕「微細な元素濃度パターンを有するステンレス鋼表面を対象とした微生物付着挙動の可視化」材料と環境 2016, 2016年
9. 宮野泰征, 渡辺宏紀, 清川達則, 佐藤雄二, 塚本雅裕, 野村暢彦「微細溶接線を配置したステンレス鋼表面におこる微生物付着挙動の可視化」一般社団法人日本鉄鋼協会第172回秋季講演大会
10. Miyano, Y., Inaba, T., Watanabe, H., Kiyokawa, T., and Nomura N. “Elucidation of metallurgical factor for MIC (Microbiologically Influenced Corrosion) of stainless steel welds using a newly developed in-situ simultaneous Metal/Microbial observation technique”, 10th International Conference on Trends in Welding Research & 9th International Welding Symposium of Japan Welding Society (9WS), 2016

〔図書〕(計 2 件)

1. 宮野泰征, 公益社団法人 日本材料学会, 腐食防食部門委員会資料集, 2017年, 11-21
2. 宮野泰征, 公益社団法人 腐食防食学会, 第185回腐食防食シンポジウム資料集, 2016年, 26-35

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：野村暢彦、藤井英俊、塚本雅裕、稲葉知大、尾花望
ローマ字氏名：Nobuhiko Nomura, Hidetoshi Fujii, Masahiro Tsukamoto,
Tomohiro Inaba, Nozomi Obana

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。