

金属中の電子を抜き出して食べる微生物達

Microorganisms as electron eater in biocorrosion of metal material

若 井 暁*
SATOSHI WAKAI

神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科 〒657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1

* TEL & FAX: 078-803-6462

* E-mail: wakaists@pegasus.kobe-u.ac.jp

Graduate School of Science, Technology and Innovation, Kobe University, 1-1 Rokkodai, Nada, Kobe 657-8501, Japan

キーワード: 微生物腐食, メタン生成菌, ヒドロゲナーゼ, 水素, 電子流失

Key words: biocorrosion, methanogen, hydrogenase, hydrogen, electron flow

(原稿受付 2018年5月17日/原稿受理 2018年5月17日)

1. はじめに

金属材料は人類の生活を文字通り支えている。橋梁などの大型構造物、鉄筋コンクリートの中の鉄筋、エネルギー関連施設や化学工場のタンクやパイプラインなど、あまり意識したことはないかも知れないが身の回りには金属材料が溢れている。このような金属材料が腐食劣化することは、構造物の強度劣化、能力低下、重篤な事故へと繋がる。人間はこのように金属材料を機能性の材料として使うことは出来るが、金属材料をなめたり噛んだりしてご飯の代わりにすることは出来ない。一方で、微生物の中にはこういった金属材料から電子を抜き出して食べているような微生物が存在する。どのようにして固体である金属材料から電子を抜き出しているのか分子レベルでの理解はまだほとんど進んでいないが、電子供与体が他にない環境で培地中に金属材料を入れることで微生物が生育することから、唯一の電子供与体である金属材料から電子を受け取っていることは間違いない。本稿では、そのようなかなり風変わりなエネルギー獲得機構を持った微生物達について紹介するとともに、そのような微生物の研究に発展する現象となった金属材料の微生物腐食についても紹介する。

2. 微生物が金属を腐らせる

金属材料、特に鉄は、自然環境中で酸化されて腐食する。これは、酸素がある環境では、酸素が酸化剤となるため当然のように思われるかも知れないが、酸素がほとんどない嫌気的な環境でも急速に腐食することがある。そういった時に多くの場合で、微生物による金属腐食が起こったとされることが多いのだが、本当にそうであるかは慎重に考える必要がある。なぜならば、金属の腐食反応は電気化学的に考える必要があり、無生物的な電気

化学反応で説明がつかないことを調べる必要がある。例えば、異種金属が接触していることでガルバニック電流が流れて腐食してしまう異種金属接触腐食や、溶液中に溶存するミネラル分がスケールを形成して、それが酸化剤として働く場合など、微生物が関係しない反応も沢山あるので、腐食防食の世界では微生物の仕事を考えるのは最後になる。違う言い方をするのであれば、原因が特定できない場合、最後の砦として微生物の仕事を考えるということになる。

2.1 古い微生物腐食モデルとその問題点

上述したように、腐食反応は電気化学で考える必要がある。金属鉄が酸化するという現象は、 $\text{Fe}^0 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^-$ というアノード反応と何かしらのカソード反応がカップリングする必要がある (図1)。酸素がある環境では、 $\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ というカソード反応が存在する。今後断らない限り、全て液中での反応とする。嫌気的な環境では、この酸素分子がないので、 $\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$ というカソード反応に置き換わる。このカソード反応は非常に遅い反応であり、電子等量の一致からアノード反応、すなわち鉄が溶解する反応が遅いということが分かる。したがって、カソード反応が速くなれば腐食は速くなると考えられ、1934年にカソード復極説という微生物腐食のモデルが提唱されている¹⁾。そこでは、1931年に発表された水素資化性硫酸塩還元細菌²⁾の反応を取り入れており、金属表面のカソード反応として発生した水素 (H_2 ではなく $[\text{H}]$ とされている) を水素資化性硫酸塩還元細菌が速やかに消費するので、カソードの律速反応が取り除かれて加速すると言われている。しかし、生物系の研究者であれば、硫酸塩還元細菌の持っているヒドロゲナーゼが、金属表面で発生し、そこに局在する中間状態の $[\text{H}]$ を使うという現象に違和感を覚えるであろう。タンパク質分子の奥深くに存在する活性中心³⁾

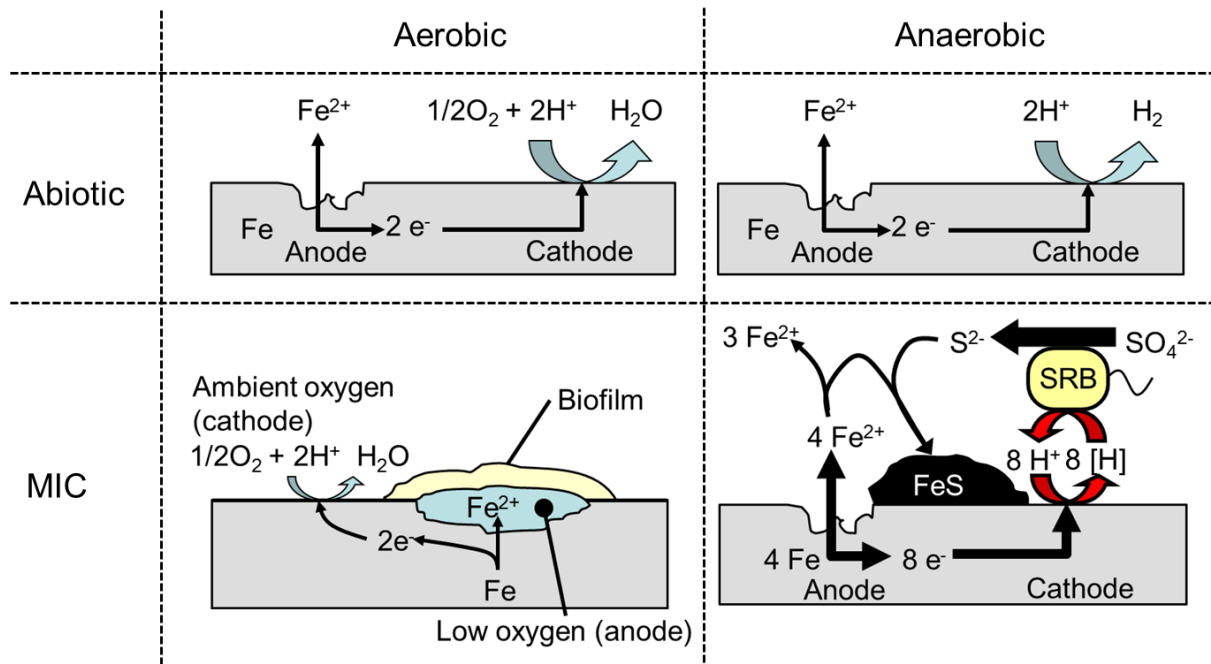


図1. 金属腐食現象の電気化学モデル

金属が腐食する現象では、アノード反応とカソード反応が必要であり、アノードでの金属イオン溶解に伴い、好気的な環境と嫌気的な環境、無生物的要因と生物的要因でそれぞれカップリングするカソード反応が変わる。微生物腐食の例として、好気的環境での代表例としてバイオフィームによる酸素濃淡電池形成、嫌気的環境での最古のモデルとしてカソード復極説を示している。カソード復極説については真偽が常に問われている。

にどうやってこの $[H]$ が配位するのであろうか？1934年の時点では、ヒドロゲナーゼの結晶構造は解かれていないので、こういった誤った推察があったとしても仕方がないのかもしれないが、様々な情報が蓄積された21世紀ではこのセオリーを簡単に受け入れてはいけなくて著者は思っている。

2.2 間接的な作用での微生物腐食

それでは、微生物が金属腐食に関与する場合、何が起きているのであろうか？最新の知見は少し後回しにして、微生物が電気を食べなくても腐食が進行する現象があるので、そちらを先に紹介する。これは我々の日常生活で身近に存在する微生物集団のとある形が大きく関与する。お風呂や排水溝、河川の石ころの表面などのヌルヌル、そうバイオフィームである。バイオフィームが金属表面に形成されると、好気的な環境であっても発達したバイオフィームの直下の金属表面は嫌気的な環境になってしまう。この発達したバイオフィームが均一であれば保護被膜として働く場合もあるが⁴⁾、不均一であると金属材料表面に酸素濃度の高い部分と低い部分が形成されてしまう。これは、酸素濃淡電池という一種の電気化学セルを形成してしまい、発達したバイオフィームの直下がアノード、疎なバイオフィームしかない酸素濃度の高い部分がカソードとなる⁵⁾。この場合、微生物が作り出した反応場が駆動力となって腐食が進行しているので、微生物腐食とみなすことができるが、カソードで起きている反応は一般的な酸素の還元反応である。これ以外にも、マンガン酸化細菌が形成したマンガン酸化物のデポジットが影響する場合もあるし⁶⁾、酸生成菌（有機酸生産菌や硫酸化細菌）によって形成された酸が酸

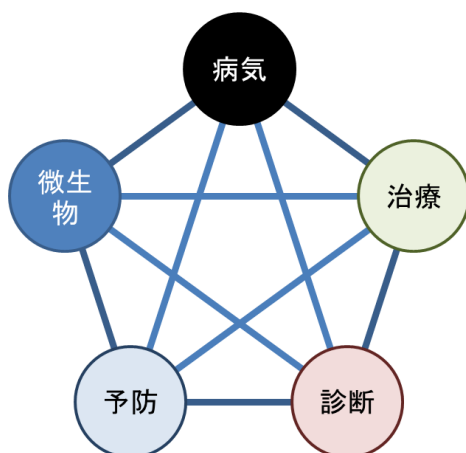
化剤となって腐食が進行する場合もある⁷⁾。いずれの場合も、間接的に影響しており、金属から電気を抜き出して食べているとは言えない反応である。では、直接電子の引き抜きが起こるとしたらどのような微生物が関与するだろうか？微生物腐食研究の現状と問題点と併せて、以下に記述する。

3. 微生物腐食の現状と問題点

3.1 21世紀に入って見つかった腐食性微生物

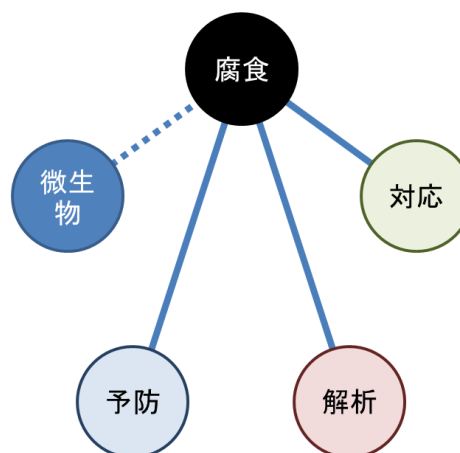
実は、近年、多くの新規腐食性微生物が報告されている。そのきっかけとなったのは、2004年Nature誌に掲載された新規の鉄腐食性硫酸塩還元細菌と新規鉄腐食性メタン生成菌に関する論文である⁸⁾。この論文で、金属鉄を唯一の電子供与体とした培地（すなわち糖などの有機物や還元型硫黄化合物などの無機物のような酸化剤を含まない培地）を用いて自然環境中から微生物を探してきたことが大きく関係している。これまで、多くの研究者や技術者が腐食試料等の環境試料を実験室に持って帰り、微生物を培養するために栄養がたっぷり入った培地で培養していた。こういった培養方法では、有機物等を食べて活発に活動する微生物が優先的に培養されてしまい、腐食におよそ関係ないものばかりが増殖してしまう。金属鉄を唯一の電子供与体とすることで、別の新規鉄腐食性メタン生成菌 *Methanococcus maripaludis* KA1⁹⁾ および Mic1c10¹⁰⁾、新規鉄腐食性酢酸生成菌 *Sporomusa* sp. GT1¹¹⁾、新規鉄腐食性鉄酸化細菌 *Mariprofundus* sp. strain GSB2¹²⁾ などの培養に国内外の研究者が成功している。また、有機物を含んでいても補助的な役割のみに抑えた希薄な培地等を用いることで、鉄腐食性硝酸

微生物感染症



原因菌が特定できているので、効果的な予防処置で未然に防げる。万が一感染しても、迅速に診断し、適切で効果的な処置がとることが可能。

微生物腐食



原因菌が不明なので、予防が難しく、発生しても原因の特定に時間が掛かる、もしくは、特定できず、とりあえずの対応しかできない。最悪、繰り返す。

図2. 微生物感染症と微生物腐食の比較

微生物腐食を金属が罹患する感染症と位置付けることで、人の微生物感染症との比較ができる。微生物感染症では、微生物、病気、治療、診断、予防の五つの要素がお互いに有機的に連結している。一方で、微生物腐食では、微生物、腐食、対応、解析、予防が、腐食との関係性のみで繋がっている。また、原因菌の全容も明らかでなく、強く関連付けられておらず、予防、解析、対応ともほとんど関連付けられていない。

塩還元細菌 *Prolixibacter* sp. MIC1-1¹³⁾ やヨウ素酸化細菌¹⁴⁾ などによる腐食、酢酸生産菌 *Acetobacterium* sp. と硫酸塩還元細菌 *Desulfovibrio* sp. による腐食現象¹⁵⁾ などが見つかってきている。これらの中で、ヨウ素酸化細菌の場合はヨウ化物イオンの酸化により、強力な酸化剤である分子状ヨウ素が生産され、それが腐食に影響している間接的な作用になるが、これ以外の純粋培養で高い金属腐食能を示すものは、おそらく金属から電子を引き抜いていると予想される。

3.2 微生物腐食が抱えている問題点

近年、多数の微生物による新しい腐食現象が観察されているが、微生物腐食に関与する微生物の全容は未だ明らかになっていない。こういった現状も踏まえて、微生物腐食研究はヒトが罹患する微生物感染症とのアナロジーで研究を進める必要があると著者は考えており¹⁶⁾、比較することで微生物腐食が抱えている問題点が明確になる(図2)。人が罹患する微生物感染症においては、感染性の微生物が同定されており、発症時に容易に診断する技術が確立されている。そのため、何に感染しているかを特定することで適切な治療を提供することが可能となり、さらに言えば予防医療にも繋がっている。一方で、微生物腐食では、原因となる微生物の全容が明らかになっておらず、腐食が発生しても診断する技術があまりない。その解決策として大量のバイオサイドが使用されたり、腐食がひどい場合には母材が交換されたりするが、適切な処置をしないまま母材のみを交換しても短期間で再発する可能性が高い。そのため、予防医療に該当する防食としてコーティングやバイオサイド(イン

ヒビターを含む) 処理にかかるウェイトが大きくなっているが、診断技術の欠如によってそれらが妥当であるかを評価する方法がないのが現状である。

とは言っても、現在次々に新しい腐食性微生物が発見されてきているので状況は少し改善しつつある。特定の微生物種が強く影響するということであれば、それらを検出すれば良い。例えば、鉄腐食性硝酸塩還元細菌は分類学的にも新奇な微生物種であり¹⁷⁾、この16S rRNA遺伝子をターゲットとしたPCR検出が可能である。また、鉄腐食性メタン生成菌では、後述する腐食性菌固有遺伝子クラスターが存在し、その遺伝子を検出することで特異的に検出する技術が既に開発されている(図3)¹⁸⁾。

4. 金属からの電子の抜き取りシステム

4.1 チトクロムが関与するシステム

上述したように、近年、多くの新規腐食性微生物が見つかってきているが、これらは従来から言われているバイオフィーム形成や酸生成、マンガン酸化物由来する間接的な腐食メカニズムと違って、直接的に作用している可能性に筆者は注目している。2004年にDinhらが*Nature*誌に報告した鉄腐食性硫酸塩還元細菌 *Desulfovibrio ferrophilus* IS5は⁹⁾、金属表面で発生した水素を消費しているのではなく、金属鉄からの電子を直接細胞内に取り込んでいるモデルが提唱されていたが、最近、岡本らのグループによって細胞外電子伝達のメカニズムが報告されている¹⁹⁾。このメカニズムにおいては、外膜のチトクロムcがキープレーヤーとなって、細胞外から細胞内への電子伝達における最初のステップ

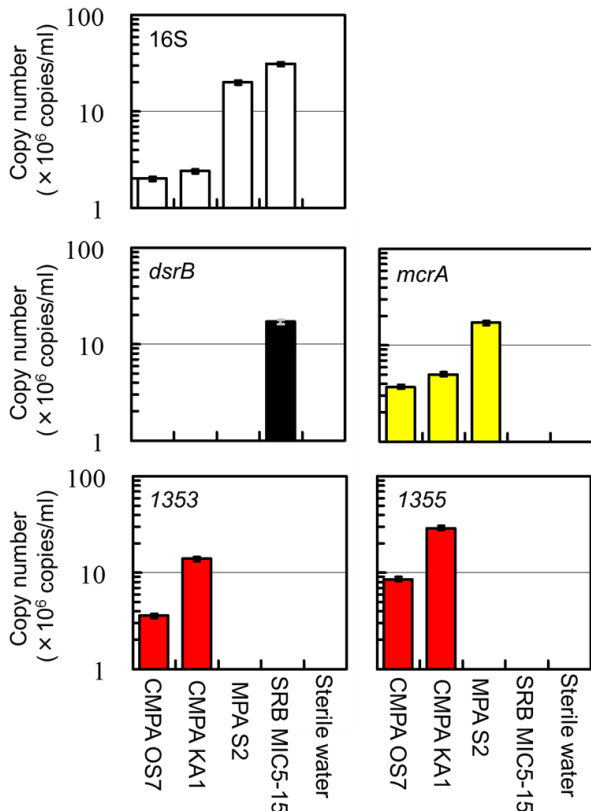


図3. PCRによる腐食性メタン生成菌の特異的検出

鉄腐食性メタン生成菌：CMPA OS7, CMPA KA1, 非腐食性メタン生成菌：MPA S2, 硫酸塩還元細菌：SRB MIC5-15の培養液からDNAを抽出し、全細菌・Archaeaを対象とした16S rRNA遺伝子、硫酸塩還元細菌を対象とした*dsrB*遺伝子、全メタン生成菌を対象とした*mcrA*遺伝子、鉄腐食性メタン生成菌を対象とした*orf1353*遺伝子および*orf1355*遺伝子について、定量PCRを実施した。それぞれ対象とした微生物群でのみPCR増幅が確認され、鉄腐食性メタン生成菌は非腐食性メタン生成菌と完全に区別して検出することが可能。

を担っており、乳酸のような可溶性で遊離状態の電子供与体が枯渇するとこれらのチトクロム*c*の遺伝子発現が誘導されることが分かっている。まだしっかりとしたエビデンスはないが、鉄腐食性硝酸塩還元細菌もこのタイプではないかと予想している。というのも、本菌は水素資化能を持たないのでカソード復極説のようなヒドロゲナーゼの関与するシステムは考え難く、硝酸還元能に必要な多くのチトクロム系酵素群を持っていると予想されるからである。これまでにも、チトクロムが腐食のメカニズムに関与する可能性は古くから言われていたが、何でもかんでもチトクロムであれば関与すると一部では思われている節があり、この論文がきっかけとなり腐食性に関与するチトクロムとそうでないチトクロムの理解が進むと嬉しく思う。

4.2 チトクロムが関与しないシステム

チトクロムが関与しない腐食メカニズムとして、鉄腐食性メタン生成菌による腐食メカニズムが考えられる。このメタン生成菌はチトクロムを生産しないので、現段階でチトクロム非依存性の腐食メカニズムであることは

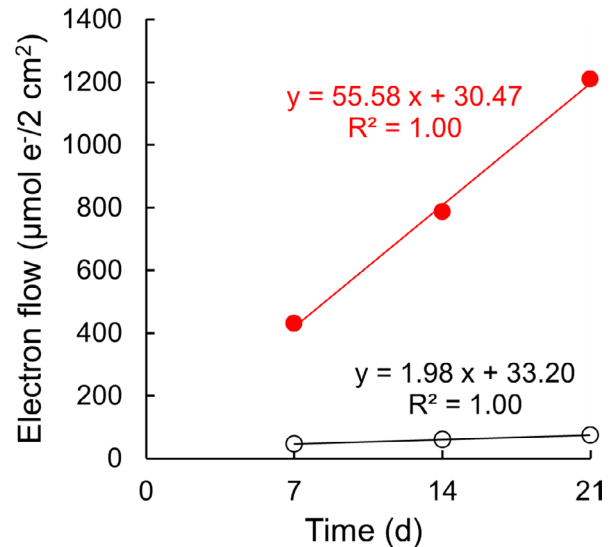


図4. ガス発生量から算出されたカソードでの電子流失量

鉄腐食性メタン生成菌 (filled circle) の時、メタンを二酸化炭素からの8電子還元として、水素をプロトンからの2電子還元として計算、無菌区 (open circle) の時、水素をプロトンからの2電子還元として計算。培養液中の金属試験片の露出面積当たりの電子流失量の累積としてプロット。一次回帰線の傾きが単位時間当たりの電子流失速度。

間違いないが、その実態は未だに明らかにされていない。金属鉄の溶解は2電子酸化 ($\text{Fe}^0 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^-$) で、二酸化炭素からのメタン生成は8電子還元 ($\text{CO}_2 + 8\text{e}^- + 8\text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) であり、メタン生成量を測定することで金属鉄からの電子流失量を見積もることができる。嫌気的な環境で同培地の無菌区では、非常に緩やかに腐食が進行し、金属鉄が溶解していきながら水素が発生するが、この時の電子流失量と比較すると、鉄腐食性メタン生成菌の腐食速度は全面腐食でありながら、無菌区の約30倍にもなる(図4)。この加速された電子流失速度から、鉄腐食性メタン生成菌が強い腐食能を持っていることが証明される。

4.3 鉄腐食性メタン生成菌の腐食メカニズム

これまで、*M. maripaludis* というメタン生成菌について腐食能の記載はなく、国際的な微生物カルチャーコレクションに登録されている基準株 *M. maripaludis* JJ^T 株を同培地で培養してみても腐食性の KA1 株のような腐食反応は観察されない。この腐食性株 KA1 株と基準株 JJ^T 株の腐食能の違いは、微生物種の同定だけでは腐食性を判断できないことを意味している。一般的に、微生物種を調べるために 16S rRNA 遺伝子配列に基づいた系統解析が行われるが、この遺伝子を対象として腐食性菌を特定することはできないし、メタン生成菌の特異的な検出に利用されている *mcrA* 遺伝子の検出²⁰⁾ でも腐食性の有無について情報を得ることはできない。一方で、鉄腐食性 *M. maripaludis* と非腐食性 *M. maripaludis* のゲノム比較試験から、鉄腐食性メタン生成菌が約 8 kb の長さの固有遺伝子クラスターを持っていることが示されており、その遺伝子クラスターと腐食能の関係性が注目されている。

この遺伝子クラスターは、[NiFe] ヒドロゲナーゼの大

小サブユニットと Carbonic anhydrase, TAT (Twin arginine translocation) 関連酵素をコードしている。現段階で最も注目されているのは, [NiFe] ヒドロゲナーゼである。このヒドロゲナーゼは, *Archaea* であるメタン生成菌由来ヒドロゲナーゼとはアミノ酸配列の相同性が極めて低く, *Bacteria* 由来ヒドロゲナーゼにむしろ似ている。また, このヒドロゲナーゼには, N 末端側に分泌シグナルが確認されており, 細胞外で機能することが示唆されている。これは非常に重要なことである。なぜならば, 固体金属は不溶性であり細胞内にそれ自身が入ってくることはありえないので, 細胞の外側で金属鉄から生体分子に電子が渡されなければならないからである。このヒドロゲナーゼが金属表面に接触して直接電子を受領しているかどうかは定かではないが, このヒドロゲナーゼを持つ腐食性メタン生成菌をメタン生成の電子受容体である二酸化炭素が枯渇した状態で培養すると無菌区に比べて水素生産が約 5 倍に加速される。これは, 本菌が水素発生型の腐食メカニズムを持っているのではと想像させる。これは, 炭酸イオンが潤沢に存在し, メタン生成を行っている時と比べると 1/6 程度のスピードになっており, この差が何によってもたらされているのかはまだわかっていない。

4.4 固体基質を利用する酵素の起源の推察

鉄腐食性メタン生成菌で見られるこの遺伝子クラスターは, 既知遺伝子を分断する形でゲノム上に配置されていることから, 遺伝子水平伝播により *Bacteria* 型ヒドロゲナーゼ遺伝子が獲得されたことが示唆されている。*Archaea* と *Bacteria* 間の遺伝子水平伝播について

は既報があり, ドメインを越えての機能のやり取りは不可能ではない^{21,22)}。興味深いことに, 鉄腐食性メタン生成菌のゲノム上で見つかったこの遺伝子のアミノ酸配列は, *Zetaproteobacteria* に属する鉄腐食性鉄酸化細菌と最近縁の *Mariprofundus ferrooxydans* 由来ヒドロゲナーゼのアミノ酸配列と相同性を示す。*M. ferrooxydans* は海の底泥から分離されたものであり, 鉄腐食性メタン生成菌が属する *M. maripaludis* の基準株も海の底泥から分離された微生物群である。すなわち, 海水環境中で *Bacteria*–*Archaea* 間で遺伝子の水平伝播が生じたのではないかと想像できる。となると, 未だに腐食メカニズムが明らかにされていない鉄酸化細菌 *Mariprofundus* sp. GSB2 の腐食メカニズムは, 鉄腐食性メタン生成菌と同じかも知れない。海水環境で *Bacteria* 型酵素を起源とする固体基質から電子を抜き取る酵素が進化し, それが同じ環境に生息する *Archaea* に伝わったとするならば, 金属から電子を抜き取るシステムの進化を考察する上でも興味深い (図 5)。最近, 微生物電気化学の分野では, 深海底での電流生成²³⁾ と細胞外電子伝達²⁴⁻²⁶⁾ の研究が注目されている。本稿で取り上げた金属腐食の電子移動の話は, 海水環境, 固体基質, 電子授受という観点でまさにこのホットなトピックスと関係があるだろう。今後研究が進み, 知見が融合すると飛躍的に理解が進むのではないかと期待される。

5. 腐食研究の応用展開

ここまで, 金属腐食問題や金属腐食にかかわる微生物について記述してきたが, 少し視点を変えて応用展開へ

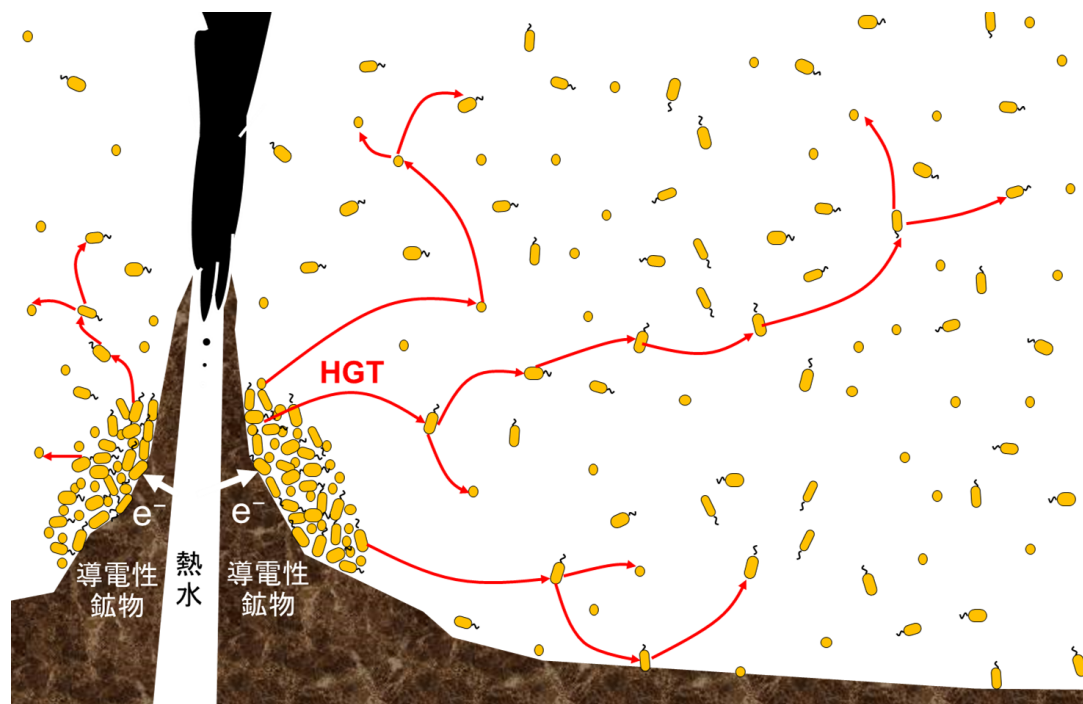


図 5. 海水環境における海底電流を起点とした固体基質利用酵素の遺伝子水平伝播推定モデル
 海底の熱水噴出孔では, 高温で還元生ガスを含んだ熱水, 導電性の鉱石, 冷めた海水の作用により熱水噴出孔から鉱物を介して外向きに電流が発生していることが実証されており, この環境で電気合成生物が生息すると考えられている。こういった, 固体基質から電子を受け取る微生物 (現時点では *Bacteria* を想定) の持つ鍵酵素の遺伝子が, 遺伝子水平伝播 (HGT: horizontal gene transfer) により海水中の *Bacteria* や *Archaea* に拡散していった可能性を考えている。

の模索について記述する。金属腐食への対策や予防コストは、米国で年間2760億ドル（GDPの4~5%相当）と試算されており²⁷⁾。日本においても年間約3.9兆円の損失があると言われている²⁸⁾。したがって、如何にして腐食を抑えるかという研究が多く進められている。それは、コーティング技術であったり、バイオサイドの開発であったり、何れも金属腐食現象=悪として扱われている。この考えを一旦逆転させてみる。金属腐食現象=善とするためには、何か人類の役に立つ反応に変換すればよい。そこで、注目したのが年間約4000万トン流通している鉄くず²⁹⁾とエネルギー戦略上有用な水素である。現在、水素は、化石燃料、副反応、水の電気分解、微生物発酵によって生産可能であり、年間150億Nm³生産（産業ガスとしての外販はたったの2億Nm³）されている³⁰⁾。一方で、政府が目指す燃料自動車の普及台数をカバーするためには、2030年目安で27億Nm³の水素供給量の追加が必要と言われている³¹⁾。したがって、水素社会の構築に向けて、水素の供給量の増加はクリアすべき課題である。このような形での金属廃棄物からの水素生産は、年間約4000万トン流通している鉄くずから水素を生産した場合、重量変換で約163億Nm³のポテンシャルを持っている。その数値だけを見るとかなり魅力的である。この反応で発生した酸化鉄は、純度の高い人工鉄鉱石と位置付け、鉄鋼業で再利用することができれば鉄鋼スラグ等の排出量の軽減にも繋がるかも知れない。

6. 終わりに

本稿では、微生物による金属腐食現象を入り口として、その反応に関わる新規微生物やメカニズムの紹介、そして、応用展開への可能性について紹介した。まだまだ、微生物腐食の全体像は見えてこないが、これまでの知見と飛躍を含む推定を加えると、電気化学的にアクティブなメカニズムで金属腐食を行う微生物の腐食メカニズムは、チトクロム型とヒドロゲナーゼ型に分けられるかもしれない。いずれも、以前から関係が示唆されていたものであるが、やっとそれらを証明し得る証拠が揃いつつあるのが現状ではないかと思う。鉄腐食性硝酸塩還元細菌や鉄腐食性鉄酸化細菌の腐食メカニズムの理解が進み、この分類が支持されるものになるのか、第三のメカニズムが現れるのか、期待が止まない。

また、ベーシックサイエンスと同様に、金属腐食問題に対する技術開発の研究も必要である。現在、著者は、微生物腐食能の有無を網羅的に調べるためにカルチャーコレクション株に対して大規模にスクリーニングを行い、データベース化を進める研究を進めつつ、その中で見つかったものを高精度で迅速に検出する診断技術の開発を進めている。同時に、企業と共同で安全性の高いバイオサイドの開発等も進めている^{32,33)}。前述したように、微生物腐食という現象は、金属材料が罹患する微生物感染症であり、社会システムを支える健全なインフラストラクチャーを安全に管理するためにも基礎と応用の両視点で本研究分野の研究が発展することを期待して、本稿を終わりとす。

謝 辞

本稿で紹介した研究成果は、NEDO受託事業「微生物を利用した石油の環境安全対策に関する調査」、日本鉄鋼協会第23回鉄鋼進行研究助成、科研費若手研究(B)の研究助成により達成されたものである。ここに感謝の意を表す。

文 献

- 1) von Wolzogen Kuhr, C.A.H. and L.S. van der Vlugt. 1934. *Water*. 18: 147-165.
- 2) Stephenson, M. and L.H. Stickland. 1931. *Biochem. J.* 25: 215-220.
- 3) Marques, M.C., et al. 2017. *Nat. Chem. Biol.* 13: 544-550.
- 4) Jayaraman, A., et al. 1997. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 18: 396-401.
- 5) Characklis, W.G. and K.C. Marshall. *Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach*. pp. 4. In Characklis, W.G., and K.C. Marshall (ed.), *Biofilms*. Wiley, New York.
- 6) Dickinson, W.H., et al. 1997. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2502-2506.
- 7) Beech, I.B. and J. Sunner. 2004. *Curr. Opin. Biotechnol.* 15: 181-186.
- 8) Dinh, H.T., et al. 2004. *Nature*. 427: 829-832.
- 9) Uchiyama, T., et al. 2010. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 1783-1788.
- 10) Mori, K., et al. 2010. *J. Biosci. Bioeng.* 110: 426-430.
- 11) Kato, S., et al. 2015. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 67-73.
- 12) McBeth, J.M., et al. 2011. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 1405-1412.
- 13) Iino, T., et al. 2014. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 1839-1846.
- 14) Wakai, S., et al. 2014. *Microb. Ecol.* 68: 519-527.
- 15) 若井 暁, 他. 2015. *材料と環境*. 64: 540-544.
- 16) 若井 暁. 2015. *化学と生物*. 53: 515-520.
- 17) Iino, T., et al. 2015. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65: 2865-2869.
- 18) 若井 暁, 他. 2012. *検査技術*. 17: 1-5.
- 19) Deng, X., et al. 2018. *Sci. Adv.* 4: eaao5682.
- 20) Juottonen, H., et al. 2006. *Res. Microbiol.* 157: 914-921.
- 21) Frigaard, N.U., et al. 2006. *Nature*. 439: 847-850.
- 22) Fuchsman, C.A., et al. 2017. *PeerJ*. 5: e3865.
- 23) Yamamoto, M., et al. 2017. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 56: 5725-5728.
- 24) Huang, B., et al. 2018. *Curr. Microbiol.* 75: 99-106.
- 25) Igarashi, K. and S. Kato. 2017. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101: 6301-6307.
- 26) Glasser, N.R., et al. 2017. *Annu. Rev. Microbiol.* 71: 731-751.
- 27) Koch, G.H., et al. 2001. In Payer: *Corrosion cost and preventive strategies in the United States*. FHWA-RD-01-156. CC Technologies Laboratories, NACE International, Dublin, OH. (2001)
- 28) 腐食コスト調査委員会. 2001. *材料と環境*. 50: 490-512.
- 29) 経済産業省大臣官房調査統計グループ. 2013. 『鉄鋼・非鉄金属・金属製品統計年報』.
- 30) 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構. 2014. 『水素エネルギー白書』.
- 31) 若井 暁, 森 浩二. 2016. *化学*. 71(9): 29-33.
- 32) 若井 暁. 2018. *配管技術*. 60(2): 22-28.
- 33) 若井 暁. 2018. *BIO INDUSTRY*. 35(4): 26-35.