

大阪大学大学院
大阪大学 接合科学研究所

○宮野泰征 坪沼剛史
菊地靖志

Biomachining of stainless steel using the metabolic reaction (Report 1)

— Examination of biomachining conditions —

by MIYANO Yasuyuki, TSUBONUMA Takeshi and KIKUCHI Yasushi

キーワード：ステンレス，微生物，腐食，微細除去加工，バイオマシニング

Keywords: stainless steel, microorganism, corrosion, micro removal machining, biomachining

1. 緒言

前報までの講演では、バイオマシニングの概念¹⁾、及び銅を対象としたバイオマシニングの可能性²⁾について報告した。微生物の代謝反応を理解し、微生物と金属組織を制御することで、金属表面に微細なホールを形成したり、金属の微細な組織に対応した3次元立体構造を形成することが、本研究の特徴である。著者らは、ラボテストでの腐食事例解析調査において、ステンレス鋼に腐食を発生させる原因となる微生物を幾つか特定した³⁾。これらの中で、*Bacillus* sp. や *Pseudomonas* sp. 等は、有機酸代謝機能を持ち⁴⁾、ステンレス鋼（特に溶接部）への腐食作用が報告されている³⁾ ことから、バイオマシニングに有効な微生物であるとの知見が得られた。本研究では、*Bacillus* sp. を加工用の微生物とし、ステンレス鋼を対象とした場合のバイオマシニングの効率化、すなわち加工に最適な条件について検討をおこなった。

2. 実験方法

供試微生物：*Bacillus* sp. を用いた。この微生物は、SUS304L 鋼の MIC 事例より採取し、ラボテストの結果、腐食への関与が確認されたものである³⁾。この微生物は、中性・常温環境に生息する。

供試液：中性環境に生育する微生物の培養に一般的とされる Nutrient Broth（以下 NB と略す。）と、微生物の有機酸代謝機構（TCA 回路）の活性化に有効な Glucose を基質とする、Polypepton-Yeast extract-Glucose 培地（以下 PYG と略す。）の二種類の溶液を使用した。各溶液はそれぞれ4段階の濃度勾配を設定し、各培養液中における微生物の生育状態の違いを評価した。Table.1 に化学成分組成を示す。

Table.1 Chemical composition of medium used (g / l)

(a) Nutrient Broth Medium

	Type1-NB	Type2-NB	Type3-NB	Type4-NB
Beef extract	0.003	0.03	0.3	3
Peptone	0.005	0.05	0.5	5

(b) Polypepton-Yeast extract-Glucose Medium

	TypeA-PYG	TypeB-PYG	TypeC-PYG	TypeD-PYG
Polypepton	0.005	0.05	0.5	5
Yeast extract	0.001	0.01	0.1	1
Glucose	0.005	0.05	0.5	5

供試材：SUS304L 鋼を用いた。試料サイズは 20 × 10 × 3¹ mm とし、表面は、エメリー紙（# 1000 まで）による湿式研磨を実施した。アセトン脱脂、エタノール滅菌処理、さらに UV 照射条件下での乾燥の後、実験に供した。

浸漬実験：各溶液を容量 200 ml の三角フラスコに 150 ml ずつ用意した。それらに、あらかじめ微生物濃度、培地濃度を調整した溶液 1 ml を注入した。供試材は水平上向きに設置し、温度 298K で 105rpm の条件で振盪し、所定の期間浸漬した。実験中の pH 値、微生物の付着挙動、及び、浸漬終了後の試料表面 SEM 観察を実施した。なお、付着挙動は、浸漬後の試料を Acridine Orange 溶液で染色し、蛍光顕微鏡により観察した際の、単位面積あたりの付着面積をもとに評価した。

3. 結果と考察

Fig.1 に各培地溶液での、*Bacillus* sp. の培養時間ともなう pH の変化を示す。(a)NB と比較し、(b)PYG では、著しい pH の下降が確認された。これに対し、微生物を接種しなかった各培養液の対照系では、pH の変化は確認されなかった。この現象は、PYG 培地中の Glucose により、*Bacillus* sp. の代謝機能である有機酸の生成が促進された影響によるものと考えられた。

Fig.2 に各培地溶液中での、*Bacillus* sp. の培養時間ともなう付着面積率の変化を示す。(a)NB とくらべ、(b)PYG の方の付着が良好である。特に、TypeB-PYG 培地では、付着面積率が約 20% という極めて高い数値が確認された。MIC の機構は、微生物の代謝反応、材料の電位貴化等から様々な検討がなされているが、その直接的なきっかけは原因微生物の付着によると考えられている³⁾。本実験で確認された、TypeB-PYG 培地における活発な有機酸代謝、付着面積率の増加という結果より、培地濃度、組成の最適化を計ることで、腐食速度、すなわち加工速度向上が可能と考えられる。

Fig.3(a) は、*Bacillus* sp. を接種した TypeB-PYG 培地に 14 日浸漬後の試料表面 SEM 観察結果である。微生物付着部近傍に孔食が確認できる。Fig.3(b) は、微生物無接種の対照のもので、孔食の発生は確認されなかった。この結果より、孔食は、微生物の付着、およびその近傍での代謝反応により形成されたものと考えられる。

以上の結果から、著者らは、TypeB-PYG 培地を、加工に最適な培地環境と判断した。現在、加工用バイオリアクターの設計、組織制御による加工用材料の開発の二つの観点から、更なる検討を進めている。

4. まとめ

Bacillus sp. を加工用の微生物とし、培養液の濃度、組成を調整することで、バイオマシニングに最適な条件を検討した。TypeB-PYG 培地において、最も有機酸代謝、付着が良好で、微生物付着部近傍に孔食も確認された。よって、培養条件の最適化により、バイオマシニングの効率化が可能と判断された。

5. 参考文献

- 1) 菊地, 小澤 他: 微生物の反応を利用した金属の除去加工 (第 1 報) 溶接学会全国大会講演概要 69 (2001) 492-493
- 2) 菊地, 小澤 他: 微生物の反応を利用した金属の除去加工 (第 2 報) 溶接学会全国大会講演概要 69 (2001) 494-495
- 3) 菊地, 塔本 他: ステンレス鋼溶接部の微生物誘起腐食の基礎的検討 日本金属学会誌 61-47 (1997) 486-493
- 4) たとえば, 井上真由美: 微生物の知られざる世界 アグネ承風社 (1992)
- 5) K. R. Sreekumari 他: SUS304L 鋼および SUS316L 鋼溶接部への付着挙動 溶接学会全国大会講演概要 65 (1999) 488-489

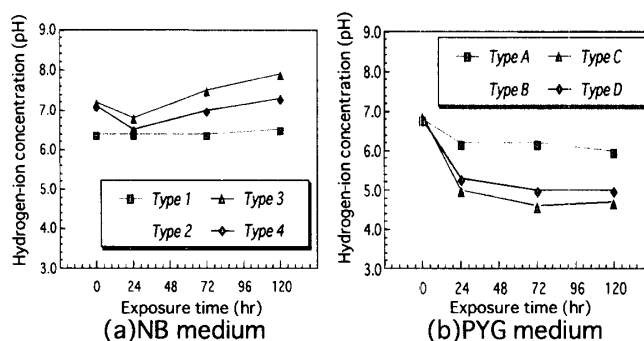


Fig.1 Variation of pH in various culture media inoculated with *Bacillus* sp. as a function of exposure time.

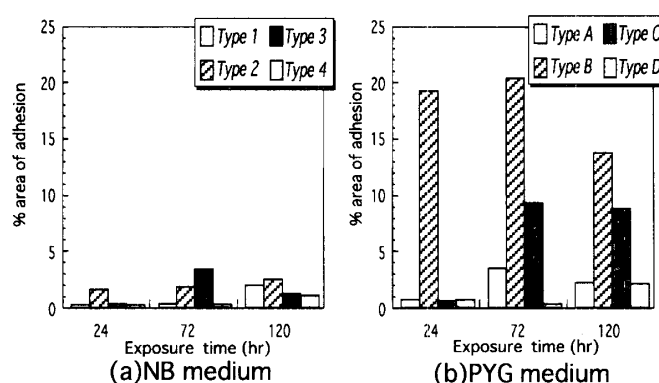
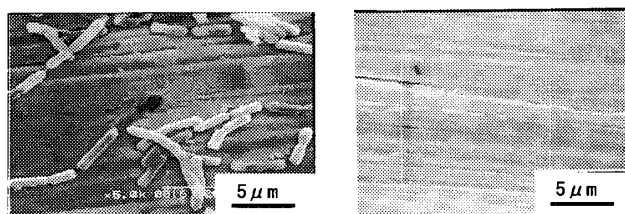


Fig.2 Variation in % area of adhesion of *Bacillus* sp. on SUS304L in various culture media as a function of exposure time.



(a) TypeB-PYG medium with *Bacillus* sp.

(b) Control

Fig.3 SEM photomicrographs of test specimen surface after exposure to *Bacillus* sp. for 14 days.