

連続培養を行った好気性細菌によるセメントペーストの劣化

広島大学工学部 正 会 員 ○河合研至
 広島大学工学部 森永 力
 広島大学大学院 学生会員 河野克哉
 広島大学工学部 富家有紀

1. はじめに

下水道関連施設を中心として、コンクリートの微生物腐食が顕在化してきている。この微生物腐食には、嫌気性細菌と好気性細菌の両者が関与し、劣化はその結果として生成される硫酸に起因している。これに対して、好気性微生物のみにおいても、微生物から代謝される有機酸及び炭酸によってコンクリート劣化が生ずることを、これまで筆者らは室内実験を通じて明らかとしてきた¹⁾²⁾。これまでの実験では、回分培養（バッチ培養）と呼ばれる方法により一定量の培地内に微生物を接種し培養を行っていたため、微生物の対数増殖期（微生物の活動が最も盛んな時期）の期間に限られ、その後は死滅期（微生物の増殖よりも死滅する菌体が上回る時期）に入るため代謝される有機酸量や炭酸量が頭打ちとなり、その結果としてコンクリート劣化が頭打ちとなる傾向が見られた。そこで本研究では、栄養分が連続的に供給されるような実環境を鑑み、連続培養と呼ばれる方法により、培養期間を通して一定量の培地を供給し続けることにより微生物の対数増殖期を継続させ、その際の代謝産物によるコンクリート劣化について検討を行った。

2. 実験方法

2. 1 使用微生物及び使用供試体

微生物には *Bacillus subtilis* HUT 8049（以下、*B. subtilis*）を使用した。*B. subtilis*（枯草菌）は土壤中ならびに大気中に普遍的に存在する好気性の一般細菌であり、既往の研究³⁾において代謝産物によりコンクリート劣化が生ずることを確認している。また、*B. subtilis* の培養には普通液体培地（蒸留水 1 ℓ 中にグルコース 10g、ペプトン 10g、肉エキス 10g）を使用した。

供試体は W/C=40% のセメントペーストとし、セメントには普通ポルトランドセメントを使用した。供試体は 4×4×16cm の型枠に打設後、材齢 1 日で脱型し、材齢 28 日まで水中養生を行った後、4×4×4cm に成形して実験に供した。

2. 2 菌体採取時期の決定

実験に先立ち、*B. subtilis* の対数増殖期を明らかにするため増殖曲線の作成を行った。培養開始後の *B. subtilis* の菌体量の変化を培養液の吸光度（波長 660nm）により測定し、経過時間と吸光度の関係から対数増殖期を求めた。その結果、対数増殖期となる菌体採取時期を培養開始後 6 時間とした。

2. 3 連続培養による劣化シミュレーション実験

培養器に培養液 300ml を入れ、セメントペースト供試体を浸漬した後、120℃、1.5atm のオートクレーブ滅菌を 20 分間行った。その後、クリーンベンチ内にてサイホンをつけた培養器に供試体を移し、新たに培養液 300ml を入れた後、対数増殖期の菌体 3ml を接種した。そして、培養液と滅菌培地貯留槽を送液ポンプで連結し、90ml/day の流速で絶えず新鮮な液体培地を培養器に供給した。また、これと同時に培養器のサイホンから過剰な培養液と菌体を絶えず除去することにより、培養液内の液量が一定となるようにした。この培養器はインキュベーター内にて 37℃ に保ち静置培養を行った。実験方法の概略を図-1 に示す。

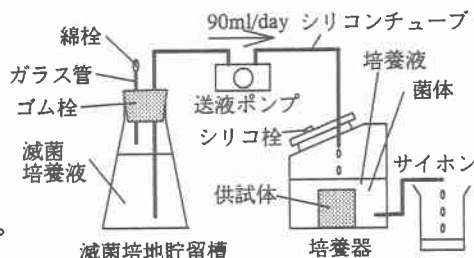


図-1 連続培養を用いた実験方法の概略図

2. 4 培養液及び供試体の分析方法

培養液ならびに供試体は、所定の培養期間を経た後回収し分析に供した。培養液は遠心分離器により菌体を分離し、0.45 μ m メンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行い除菌した後、pH、 Ca^{2+} 、 Na^{+} 及び K^{+} 濃度、無機陰イオン濃度、有機酸及び CO_2 濃度に関して分析を行った。なお、 CO_2 に関しては、還元してメタン化し、そのメタン濃度の測定を行っている。供試体は表層部約1mmを採取した後めのう乳鉢で微粉砕し、示差熱・熱重量分析による $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 量及び CaCO_3 量の定量ならびに粉末X線回折による組成分析を行った。

3. 結果及び考察

培養液中の無機イオン濃度ならびに有機酸濃度の経時変化をそれぞれ図-2ならびに図-3に示す。図-2より多量の Ca^{2+} が供試体から溶出していることがわかる。一方、 Ca^{2+} の溶出に対応して、高濃度のn-酪酸または酢酸が*B.subtilis*から代謝され培養液中に存在している。なお、 Ca^{2+} 以外の無機イオンは培養開始時より経時変化が見られないことから、培養液中に含まれている成分と思われる。ここで示される

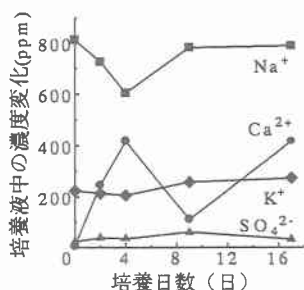


図-2 培養液中の無機イオン濃度の経時変化

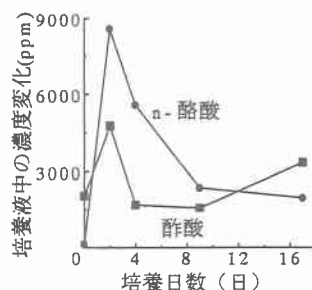


図-3 培養液中の有機酸濃度の経時変化

Ca^{2+} 濃度の結果は培養液中での濃度を表しており、連続培養では常時培養液の供給と排出が行われているため、セメントペーストから溶出したカルシウムの総量を表すものではない。そこで、上記の結果を基にして、セメントペーストから溶出したカルシウムの総量として計算した結果を表-1に示す。なお、併記した回分培養は、本実験と同一微生物、同一供試体を使用して行った既往の劣化シミュレーション実験³⁾での結果である。この結果から、栄養分の補給がなされ、微生物の活動の活発な状態が継続されることによって、コンクリートの劣化は継続的に進行することが明らかとなった。

表-1 供試体から溶出したカルシウム量

培養期間(日)	2	4	9	17
連続培養(mg)	97	210	219	542
培養期間(日)	2	4	8	16
回分培養(mg)	183	245	240	226

供試体表層部の $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 量及び CaCO_3 量の経時変化を図-4に示す。供試体表層部の炭酸化の進行は既往の研究³⁾における回分培養の場合と比較して非常に速く、微生物の呼吸作用によって排出される炭酸量が多くなっていることを示している。また、培養液のpHは、回分培養の際には7強で推移するのに対して、連続培養の場合には6前後で推移しており、培養液中の炭酸が HCO_3^- として存在する比率が高いこともまた、炭酸化の進行を早めている一因であると考えられる。

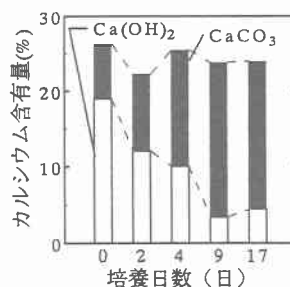


図-4 供試体表層部のカルシウム量の経時変化

4. まとめ

新鮮な栄養分を絶えず供給する連続培養法を用いて、好気性細菌によるセメントペーストの劣化シミュレーション実験を行った。その結果、連続培養では細菌の代謝産物である有機酸ならびに呼吸作用による炭酸が絶えず排出されて高濃度となり、さらにセメントペーストの浸漬溶液が弱酸性に保たれるため劣化の進行が非常に速いことが明らかとなった。

〔参考文献〕

- 1) 河合研至他：好気性細菌によって引き起こされるコンクリートの劣化，土木学会論文集，No.478，pp.125-131，1993
- 2) 田澤栄一他：好気性微生物の代謝する弱酸によるコンクリート劣化，セメント・コンクリート論文集，No.48，pp.642-647，1994
- 3) 河合研至他：好気性微生物の代謝量がコンクリート劣化に及ぼす影響，セメント・コンクリート論文集，No.49，pp.704-709，1995