

論文 微生物を利用した補修工法における多析出可能な配合の検討

久保郁貴*1・矢野元智也*2・氏家勲*3・河合慶有*4

要旨: 本論文は、微生物代謝による炭酸カルシウムの析出に及ぼすグラウト材の配合条件および pH 環境について過去の知見を整理し検討を行った。炭酸カルシウムが結晶として析出するためのバイオグラウトに使用する各材料の適切な濃度およびグラウトの pH 変化を把握し、多析出可能な配合を得るための条件を示した。得られた試験結果に基づき、各使用材料の濃度を倍増し、適切な pH 環境を整えた高濃度のバイオグラウトを作製し、遠沈管析出試験により析出量の著しい増大を確認した。さらに、漏水箇所を模擬したコンクリート供試体を用いて、炭酸カルシウムの析出による間隙の閉塞効果を確認した。

キーワード: バイオグラウト, イースト菌, pH 変化

1. はじめに

我が国の社会基盤施設は主として鉄筋コンクリート構造が用いられている。その中には、施工不良や初期欠陥等により、かぶりコンクリートに粗大な空隙を持つものも少なくない。また、入念な施工計画に基づき高品質な施工が行われた場合でも、橋梁の高欄と床版との打継目やジョイント部には微細な間隙が形成される。降雨時には、その間隙から漏水し排水溝から排水されない雨水が橋梁の上部工から直接流出するため、早急に補修等の対策を行う必要がある。しかしながら、効果的な補修方法が確立されていないのが現状である。

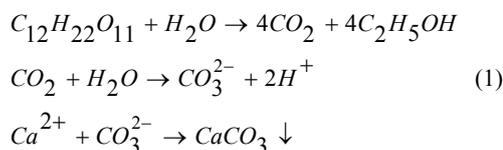
従来、ひび割れ補修に用いられている自動低圧入工法による補修工法は、樹脂系あるいはセメント系材料を注入してひび割れを閉塞する必要があるため、設置作業の手間を要すること、また粘度の高い充填剤を用いるため深部まで充填しない場合がある。また補修材としてセメント系材料を用いる場合、pH が 12 から 13 の強アルカリ性のため、自然環境への流出を防ぐ必要がある。

そこで本研究では、川崎ら¹⁾の微生物代謝を利用したグラウト(以下、バイオグラウト)を参考として、バイオグラウトを利用したコンクリートの漏水個所の補修を提案する。バイオグラウトによる補修方法とは、微生物代謝によって生成される二酸化炭素とグラウトに混入したカルシウム源により形成される炭酸カルシウムを利用して漏水個所の補修を行うものである。式(1)にスクロースを栄養源として用いたグラウトの反応式を示す。微生物代謝により二酸化炭素が生成され、溶液中の炭酸イオンとカルシウムイオンが結合することにより炭酸カルシウムが析出される。

(1)にスクロースを栄養源として用いたグラウトの反応式を示す。微生物代謝により二酸化炭素が生成され、溶液中の炭酸イオンとカルシウムイオンが結合することにより炭酸カルシウムが析出される。



写真-1 炭酸カルシウムの結晶(倍率 150 倍)



バイオグラウトをコンクリートの打継目に散布し漏水箇所の補修に適用する際、析出される炭酸カルシウムはセメント硬化体を主として形成する化合物と相違無いため、化学的影響は少ないと思われる。さらに、バイオグラウトは低粘度であるため、継目の深部までグラウトが行き届くことで、既存の材料では不可能であった深部までの補修が可能であると考えられる。以上のことから、コンクリートの漏水箇所の補修には、バイオグラウトが非常に適していると考えられる。

松下ら²⁾が行った研究結果より、イースト菌の微生物代謝を利用したバイオグラウトにより写真-1に示すような炭酸カルシウムの結晶が析出されることが確認されている。また、そのバイオグラウトによる漏水箇所の補修効果も確認されている。しかしながら、バイオグラウトから析出される炭酸カルシウムの結晶の量は、イースト菌、栄養源およびカルシウム源の濃度

*1 愛媛大学 大学院理工学研究科 (学生会員)
 *2 愛媛大学 工学部環境建設工学科
 *3 愛媛大学 大学院理工学研究科 教授 博(工) (正会員)
 *4 愛媛大学 大学院理工学研究科 助教 Ph.D. (正会員)

や配合, またグラウトの pH 環境により異なり, 一度の析出量が少ない場合, 繰り返しグラウトを漏水箇所に散布する必要がある。そこで本研究では, より効率的に漏水箇所の補修を行うため, より多くの炭酸カルシウムの結晶が析出する配合条件を把握することを目的とした。菌種や栄養源およびカルシウム源については, 既往の研究を参考に選定し, 炭酸カルシウムが結晶としてより多く析出する配合条件およびグラウトの pH について検討を行った。なお, 炭酸カルシウムの析出が促進されるには, グラウトの pH 環境を適切に制御する必要があり, 本研究では Tris 緩衝溶液を用いた。

2. 既往の研究結果の整理

筆者らが過去に行った研究³⁾により, イースト菌の微生物代謝を利用したバイオグラウトで遠沈管析出試験を実施し, 炭酸カルシウムの結晶が析出する配合の検討が行われている。配合条件は, ドライイースト 3.0g/L およびスクロース 0.10mol/L を一定の濃度とし, 酢酸カルシウムを 0.05~0.3mol/L としている。本検討により, 溶液に加える酢酸カルシウムの量を増加させることによって炭酸カルシウムの析出量は増加していることが確認された。しかし, 析出物を目視で確認したところ酢酸カルシウムが 0.05mol/L のケースでは炭酸カルシウムの結晶が確認できたものの濃度が増加すると析出される結晶の量が減少し, 酢酸カルシウムの濃度が 0.3mol/L のケースでは結晶ではなくゲルでの析出が増加することが確認されている。

酢酸カルシウムが 0.05mol/L および 0.3mol/L のグラウトにおける析出物について粉末 X 線回折試験を実施した結果, 前者では 23°, 29°, 36°, 39° 付近でピークが確認できたため炭酸カルシウムの結晶である Calcite の存在が確認された。また, 後者においても同様に Calcite の析出が確認できたものの, 他にもピークが確認できることより純粋な Calcite ではなく他の物質が含まれていると推察された。このことより, イースト菌を利用したバイオグラウトによって炭酸カルシウムの結晶を析出させることは可能であるものの, 溶液中のカルシウムイオン量が多くなると炭酸カルシウムはゲル化する傾向があることがわかっている。したがって, 溶液中のカルシウムイオンの量は析出する炭酸カルシウムの結晶構造に及ぼす影響が大きいため, 結晶での析出を促進するためには, 溶液に加える酢酸カルシウムの濃度調整が重要であると考えられる。

3. 実験概要

3.1 グラウトの選定

バイオグラウトにより炭酸カルシウムが析出するた

めには, 図-1 に示すように, 1) カルシウムイオン, および 2) 炭酸イオンが必要である。また, 炭酸カルシウムの析出を促進するため, 3) アルカリ緩衝溶液を用いた。各使用材料の詳細を以下に記す。

(1) カルシウム源

実験で用いるカルシウム源として必要な条件には, 溶解度が高いこと, 取り扱いや入手が容易であること, コンクリートに影響を及ぼさないこと, 安価であることなどが挙げられる。そこで本研究では, それらの条件を満たす酢酸カルシウム (CH₃COO)₂Ca をカルシウム源として用いた。

(2) 炭酸イオン源

炭酸イオン源には, 微生物または酵素の代謝活性で生じる二酸化炭素を利用する。微生物または酵素の代謝には, 無機または有機栄養源が必要である。微生物には市販のドライイーストを用い, 栄養源にはスクロース (C₁₂H₂₂O₁₁) を用いた。

(3) アルカリ緩衝溶液

グラウト中の pH が高くなると, イースト菌および土壌微生物が生息するには厳しい条件となり, 低すぎる場合においては活性しないことが知られている。また, 既往の研究²⁾よりグラウト中の pH が低下すると炭酸カルシウムの析出は困難となる。そのため, 本研究においては溶液中の pH を 7.5 以上に制御するために, アルカリ緩衝機能を有する溶液を使用した。溶液には, 生化学分野で一般的に用いられている Tris 緩衝溶液 (pH9.0) を用いた。表-1 に本研究で用いたグラウトの配合を示す。配合条件は, 既往の研究で検討された A1 の配合を含む計 10 ケースとした。各使用材料が炭酸カルシウムの析出に及ぼす影響を検討するため, イースト菌の濃度を変化させた B1~B3 の 3 ケース, スクロースの濃度を変化させた C1~C3 の 3 ケース, そしてドライイースト, スクロースおよび酢酸カルシウムの濃度を倍増させた D1~D3 の 3 ケースを作製した。

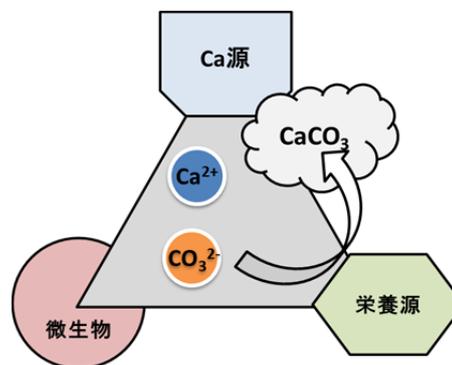


図-1 バイオグラウトのイメージ

表-1 バイオグラウトの配合ケース

配合ケース	ドライイースト (g/L)	スクロース (mol/L)	酢酸カルシウム (mol/L)
A1	3.0	0.10	0.05
B1	4.5	0.10	0.05
B2	9.0		
B3	12.0		
C1	3.0	0.20	0.05
C2		0.30	
C3		0.40	
D1	6.0	0.20	0.10
D2	9.0	0.30	0.15
D3	12.0	0.40	0.20

3.2 グラウトの作製および試験方法

本研究では、遠沈管を用いて炭酸カルシウム析出試験を実施し、より多くの析出量および析出率が得られる配合を検討した。析出率については、以下の式(2)により算出した。

$$P_{cal} = \frac{x(g)}{Q(mol/L) \times m(L) \times M(g/mol)} \times 100(\%) \quad (2)$$

ここで、 P_{cal} :析出率(%), x :炭酸カルシウムの析出量(g), Q :酢酸カルシウムの濃度(mol/L), m :溶液量(L), M :炭酸カルシウムの分子量(100.09)である。

グラウトの作製手順を以下に示す。蒸発皿にグラウトの配合に必要なイースト菌、酢酸カルシウムおよびスクロースの試料を取り分けた後、ビーカーにそれぞれの試料を入れ、Tris 緩衝溶液を少しずつ加えながら攪拌機で溶解させる。その後、40mlの溶液になるように Tris 緩衝溶液を加え、さらに攪拌する。析出量の測定は、カルシウム源を混合しない溶液を別途作製し、試験用グラウトの反応終了後に析出物を濾過した際に、カルシウム源を混合しない溶液も同様に濾過する。両者より得られた濾過物を乾燥炉(60℃)で乾燥させた後、乾燥後の試料の差より析出量を測定した。なお、析出試験は20℃の恒温室で実施した。

4. 試験結果および考察

4.1 A1 の配合を用いた遠沈管析出試験

本研究で A1 の配合を検討した遠沈管析出試験および pH の経時変化を図-2 および図-3 に示す。なお、pH 測定にはハンディ型 pH 計(株)佐藤計量器製作所製を用いた。これらの図より、グラウトを作製後 4 日目まで炭酸カルシウムの析出量が増加し、その後は一定となっていることが認められる。また、溶液の pH は 4 日目から 5 日目にかけて著しく低下し pH7.5 以下となっていることから、炭酸カルシウムの析出速度が減少し残存している炭

酸イオンが増加していると考えられる。

4.2 微生物代謝による炭酸イオン生成の検討

バイオグラウトを用いて炭酸カルシウムを析出させるためには、3.1 節に記載したカルシウム源と反応する炭酸イオンが微生物代謝により適切な速度で生成される必要がある。本節では、生成される二酸化炭素の量を変化させるため、スクロースの濃度を一定としたグラウトの配合にドライイーストの濃度を増加させることで炭酸カルシウムの析出量および pH 変化に与える影響を遠沈管析出試験により検討した。

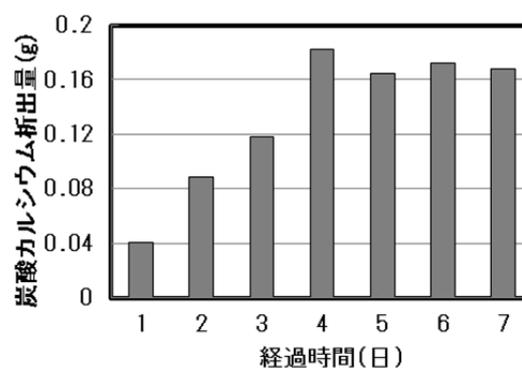


図-2 炭酸カルシウムの析出量の経時変化 (A1)

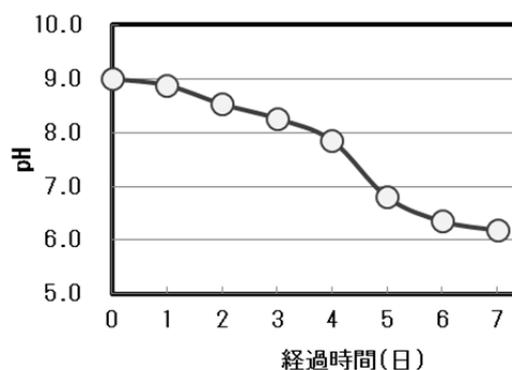


図-3 pH の経時変化 (7 日間)

配合条件は、表-1 に示すように過去の知見³⁾により炭酸カルシウムが結晶として析出し最も多い析出量が確認された A1 の配合を基準に B1~B3 (ドライイースト : 4.5, 9.0, 12.0g/L) の計 3 ケースとした。なお、A1 の配合について再度試験を実施している。溶液は各ケースについて 2 本ずつ計 8 本作製した。

グラウトを作製してから 7 日後に測定した析出試験結果を図-4 に示す。炭酸カルシウムの結晶はそれぞれの配合ケースにおいて目視で確認できたものの、析出量に関しては A1 が最も多く、B1, B2 および B3 は同程度の析出量であり A1 よりも少ない結果となった。図-5 にそれぞれの溶液中で測定された pH の変化を示す。この図より、B1~B3 のケースにおいては、試験開始後、早い段階で pH が低下したことが認められる。この原因としては、微生物代謝によってより多くの炭酸イオンが生成されグラウト中に残存することで pH が低下したと考えられる。したがって、イースト菌の濃度は二酸化炭素の生成速度に影響を及ぼし、より多くの炭酸イオンが生成され炭酸カルシウムとして析出されるためには、適切な溶液 pH の保持が必須であることが確認された。

以上のことから、早い段階で pH7.5 以下となった B1~B3 の配合では、炭酸カルシウムの析出が持続されず、析出量が A1 の配合と比較して増加しなかったと考えられる。また、イースト菌の濃度は生成される炭酸イオンに伴う pH 変化および炭酸カルシウムの生成速度を考慮して適切に調整する必要があることがわかった。

4.3 栄養源 (スクロース) の濃度の検討

本節では、ドライイーストの濃度を一定としてスクロースの濃度を増加させたグラウトの配合が炭酸カルシウムの析出量および pH 変化に及ぼす影響を検討した。配合ケースは、表-1 に示すように C1~C3 (スクロース : 0.2, 0.3, 0.4mol/L) の 3 ケースとした。また、pH の変化を経過 1 日目および 7 日目に測定した。各配合における炭酸カルシウムの析出量を図-6 に示す。この図より、溶液中に混入するイースト菌の濃度を一定としスクロースの濃度を増加させた配合ケースでは、7 日後の析出量が減少していることが認められる。

また、各溶液中で測定された pH は、経過 1 日目に pH8.8 程度、そして経過 7 日目には pH7.1 程度であった。A1 の配合ケースと比較して、C1~C3 の配合では経過 7 日目の pH が高く保持されており、炭酸イオンの生成量が減少したものと考えられる。したがって、栄養源であるスクロースの濃度が高いと微生物の代謝活性が抑制される傾向があると考えられる。

4.4 溶液中 pH の経時変化

4.1 節から 4.3 節の遠沈管析出試験に基づいて、炭酸カルシウムが結晶として析出し高い析出率となる配合を得

るためには、溶液中 pH の経時変化を適切に制御する必要があることがわかった。本検討では、図-7 に示すように、炭酸カルシウムの結晶が最も多く析出した A1 ケースにおいて測定された pH の経時変化が、炭酸イオンの生成速度および炭酸カルシウムの生成速度が最適な状態に保持されたケースとして取り扱う。A1 の配合を用いたグラウト溶液中の pH は、5 日目に 7.5 以下に減少しているものの、析出率 80% を超える炭酸カルシウムの析出量が確認されており、溶液中の pH が 7.5 より低下する以前にカルシウムイオンがイースト菌の代謝によって生成された炭酸イオンと結合し炭酸カルシウムの生成が促進されたものと考えられる。

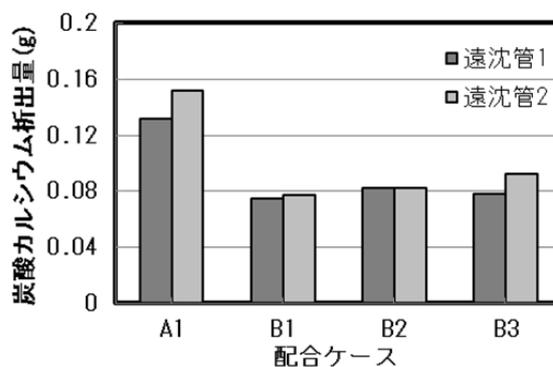


図-4 炭酸カルシウムの析出量 (A1, B1~B3)

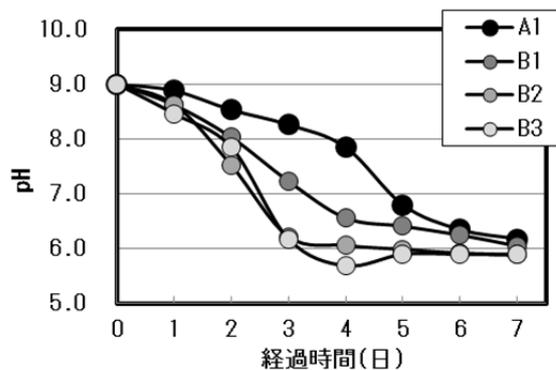


図-5 pH の経時変化 (A1, B1~B3)

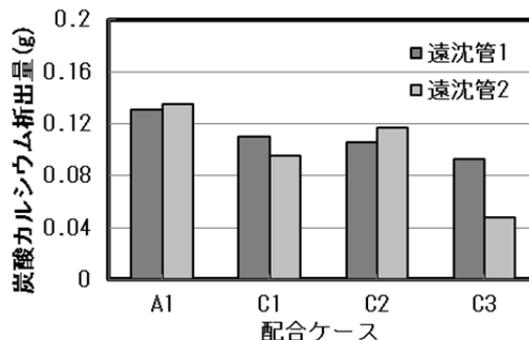


図-6 炭酸カルシウムの析出量 (A1, C1~C3)

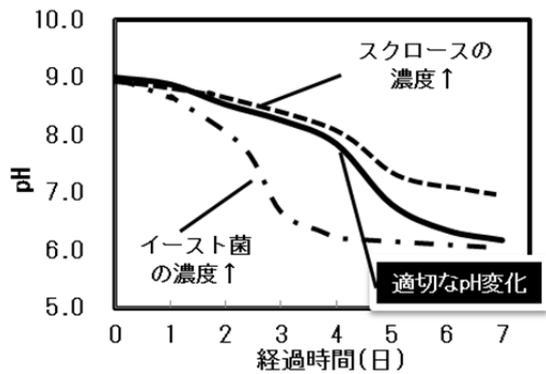


図-7 pHの変化（模式図）

5. 高濃度バイオグラウトの検討

5.1 概要

4章で示したように、遠沈管析出試験の結果より A1 の配合（ドライイースト：3.0g/L、スクロース：0.10mol/L、酢酸カルシウム：0.05mol/L）と比較して溶液中に混入する各使用材料のいずれかの濃度が高い場合には、析出する炭酸カルシウムが結晶ではなくゲル化する傾向が生じることや、析出量が減少することが確認された。そこで、本検討では、配合条件の中で最も多くの析出量が確認されている A1 の配合ケースを基準とし、3種類の使用材料について全ての濃度をそれぞれ増加させることを試みた。すなわち、ドライイースト、スクロースおよび酢酸カルシウムの濃度を倍増した溶液を作製し、遠沈管析出試験を実施した。試験方法は2.2節と同じ方法とした。なお、pHの減少を抑制するため、本試験においても Tris 緩衝溶液を使用している。配合条件は、表-1に示す通り D1～D3 の3ケースである。なお、D1～D3 は各使用材料の濃度を2～4倍した配合とした。

また、遠沈管析出試験結果を踏まえて、炭酸カルシウムの析出量が最も多い配合のグラウトを用いて、漏水箇所を模擬したコンクリート供試体に適用した。図-8に供試体概要を示す。水セメント比50%、材齢28日の硬化したコンクリート供試体（100×100×100mm、100×100×400mm）を重ね合わせ、水平方向に形成された間隙を対象として、同図に示すようにグラウト材を散布した。コンクリート表面は乾燥状態とし、グラウト散布後は水槽上部をラップで覆うことで湿潤状態を保つようにした。なお、漏水箇所を模擬した間隙の一方をあらかじめテープで塞ぐことにより、グラウト材の流出を防ぐ処理を行っている。以上の前処理により、間隙中をグラウト材で充填させることができると考えられ、炭酸カルシウムの結晶が析出することにより漏水箇所が閉塞されることを想定している。

5.2 遠沈管析出試験結果

図-9に遠沈管析出試験の結果を示す。この図より、グラウトの各使用材料の濃度を倍増させた配合を用いて、炭酸カルシウムの析出量の著しい増加が認められる。また、写真-2にD3および4.1節で検討したA1の配合において確認された遠沈管析出試験後の底部に付着した析出物の様子を示す。A1と比較して3倍以上の析出量が確認された濃度を4倍にしたD3の配合では、析出物が一様に分布している様子が確認された。なお、本検討では配合の濃度によりpHの変化が異なるため、適切なレベルに保持されるように緩衝溶液を用いて調節している。Tris 緩衝溶液の濃度は、D1およびD2の配合では、0.25mol/L、D3の配合では0.5mol/Lである。各配合の溶液で測定されたpH変化は図-10に示す通り、4.4節で述べた最も適切なpHの変化に近い値となっていることを確認した。

また、同図に示す析出量の経時変化では、D3の配合においては6日経過時に著しい増加が確認された。4.1節で示した通り、4日目に析出量の増大が確認されたA1の配合と比較して、濃度を高くしたグラウトでは析出までにかかる時間が遅延することが認められる。文献³⁾によると外部の糖質の濃度が高すぎると微生物の増殖が抑制されることなどが記されており、グラウトの濃度が高くなるほど析出までに長い時間を要するものと考えられる。

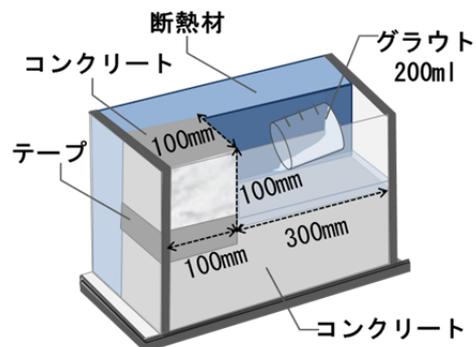


図-8 漏水箇所を模擬した供試体

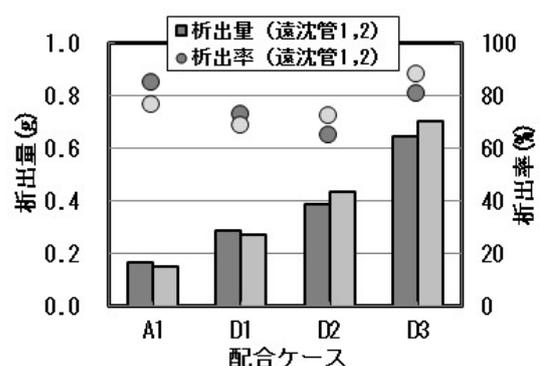


図-9 炭酸カルシウムの析出量と析出率（D1～D3）

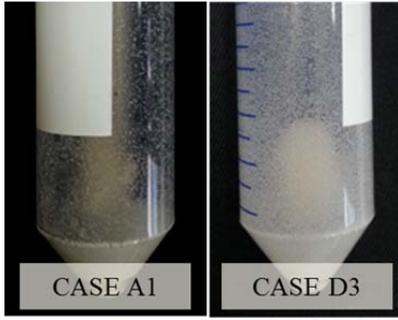


写真-2 析出物 (A1, D3)

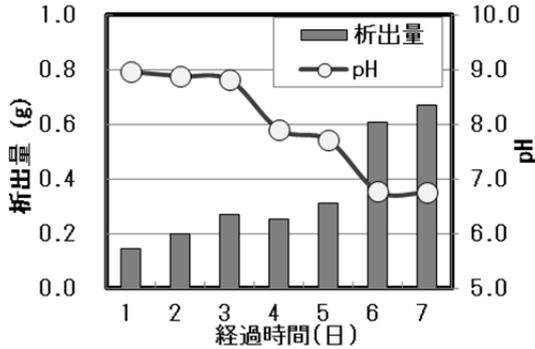


図-10 炭酸カルシウム析出量と pH の経時変化

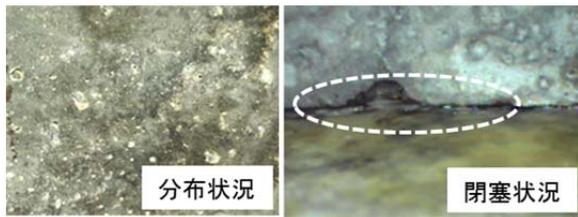


写真-3 析出物の分布状況と閉塞効果

5.3 コンクリートの漏水箇所への適用

本検討では、5.2 節で炭酸カルシウム結晶の析出が最も多く確認された D3 のケースを採用し、漏水箇所への適用を試みた。グラウト散布後 1 週間で供試体を取り出し、析出状況の確認を行った。下部コンクリート供試体の表面およびグラウトを散布した入口付近における析出物の様子を写真-3 に示す。これらの写真より、析出物がコンクリートの間隙中に析出している様子が確認できる。また、下部コンクリート供試体表面に析出した析出物の一部を採取し顕微鏡で観察した様子を写真-4 に示す。この写真より、結晶による炭酸カルシウムの析出を確認することができ、コンクリートの漏水箇所を模擬した供試体を用いてバイオグラウトによる閉塞効果が確認された。今後は、本グラウトを用いて補修したコンクリートにおいて透水試験を実施し、補修効果を確認するなど実用性を高める検討を行っていく予定である。また、析出物の結晶が Calcite であることを確認するなど化学分析についても行う予定である。



写真-4 析出物の結晶 (倍率 250 倍)

6. 結論

本研究では、バイオグラウトの各使用材料の濃度が炭酸カルシウムの析出に及ぼす影響を検討した。その結果、以下の結論が得られた。

1. 微生物であるイースト菌の濃度は、二酸化炭素の生成速度に影響を及ぼし、濃度が高くなるほど炭酸カルシウムの析出量は減少することが確認された。
2. 微生物代謝により生成される炭酸イオンとカルシウムイオンの濃度が適切な比率となるように配合を調整し、アルカリ緩衝溶液を用いて pH 低下を抑制することで炭酸カルシウムの結晶をより多く析出させることができた。
3. 高濃度バイオグラウトにより、炭酸カルシウムの析出量を著しく増加させることが可能であり、漏水箇所等の深部までの閉塞が重要となる欠陥部において、効果的な補修材として適用できる可能性が高いことが確認された。

謝辞

本研究の遂行にあたり、愛媛大学理工学研究科 安原英明准教授ならびに(独)港湾空港技術研究所 岡崎慎一郎研究官に貴重なご助言を頂きました。ここに、深い謝意を表します。

参考文献

- 1) 川崎了ほか：微生物の代謝活動により固化する新しいグラウトに関する基礎的研究，応用地質，Vol.47, No.1, pp.2-12, 2006.4
- 2) 松下ゆかり，岡崎慎一郎，安原英明，氏家勲：微生物代謝を利用したコンクリートのひび割れ補修工法の開発，日本コンクリート工学会コンクリート工学年次論文集，第 32 巻，1 号，pp.1589-1594, 2010
- 3) Kubo, F., Okazaki, S. and Ujike, I., Development of Microbial Metabolic Processes to Repair Concrete Joint Leakage, Advanced Materials Research, 845, 158, 2013
- 4) 塚越規弘編：応用微生物学，朝倉書店出版，pp.98-102, 2007