

論文 細孔構造および表層撥水特性が異なる中性化コンクリートにおける微生物検出に関する研究

蔵富 千奈*1・寺本 篤史*2

要旨:疎水性・親水性塗料を塗布および無塗布のコンクリート試験体に対して促進中性化試験を実施し、流水、噴霧の二種類の方法によって定期的に給水した。表層の撥水性および給水方法が中性化進行に及ぼす影響は小さく、脱型材齢の違いによる影響が支配的であった。促進試験後に試験体表層および内部から微生物サンプルを取得した。表層サンプルの DNA 濃度は無塗布試験体において給水方法に影響を受ける傾向が顕著である一方、内部サンプルから抽出される DNA 濃度は表層の撥水性の有無により異なる傾向がみられた。外的要因およびコンクリートの材料特性がコンクリートにおける微生物の生息状況に影響していることが示唆された。

キーワード: 中性化, 微生物, DNA 抽出, 撥水性

1. はじめに

中性化の診断は、実構造物からコアドリル等を用いて試験サンプルを取り出し、フェノールフタレイン溶液によって中性化領域を検出する手法が一般的である。現行の中性化診断技術は中性化深さを明確に示すことができるという利点がある一方で、完全非破壊による診断が困難であることや専門家が現地に赴き作業をする必要があることなどに改善の余地がある。たとえば人体の健康管理において、唾液などの検体を採取することで健康状態を診断することができるように、専門知識を持たない使用者でも簡易的に診断ができるシステムを構築できれば、診断コストの削減や活発な維持管理活動の実現につながると考える。本研究では、新たな診断手法に組み込む要素として微生物の存在に着目した。

微生物は地球上のあらゆる場所に生息しており、コンクリートにも何らかの微生物が生息していると考えられる。微生物生態学分野の既往の研究より、周辺環境の二酸化炭素濃度¹⁾や温湿度²⁾、pH 環境³⁾などが微生物の消長を特徴づけることが明らかになっている。このことからコンクリートに生息する微生物は、コンクリートを取り巻く環境およびコンクリートそのものの性質によって特徴づけられると考えられる。

中性化の進行に影響を及ぼす外的要因として二酸化炭素濃度、外気の湿度および温度⁴⁾、構造物への雨がかりの有無⁵⁾が挙げられる。また中性化が生じたコンクリートでは細孔内溶液の pH や細孔構造⁶⁾などの物性が変化する。以上のことから中性化したコンクリートの性質と微生物の生息状況を関連付けることができれば、中性化の新たな診断手法として導入できる可能性がある。

本研究ではコンクリートにおける微生物の生息状況が、中性化を起こしうる外的要因および中性化が生じた後のコンクリート物性によって受けうる影響を明らかにし、

表－1 試験体概要

試験体名	脱型材齢	表面塗装	給水方法
1d	1日	なし	流水 噴霧 給水なし
3w	28日	なし	
親水	28日	親水性	
疎水	28日	疎水性	

中性化の新たな診断手法としての適用可能性について検討を行った。本稿では、特に、コンクリートへの水分供給、細孔構造および表層の撥水性の影響について記す。

2.1 試験体概要

促進中性化試験の試験体概要を表－1に示す。水セメント比 53%のコンクリートを内寸 200×130×75mm の角型スチロールケースに打込んだ。コンクリートの中性化進行、速度の異なる試験体を作製するため、細孔構造の粗密、試験体表層の撥水性能および水分の供給方法をパラメータとした。粗な細孔構造を有する試験体は、打込み後 1 日で脱型し、恒量となるまで 40℃恒温槽内で乾燥を行った。一方、密な細孔構造の作製を意図した試験体は打込み後、型枠を存置し、打込み面に湿布養生を施したうえで材齢 28 日まで養生を行いその後脱型した。

既往の研究⁷⁾では中性化の進行には水分供給の有無が密接に関連しているとされている。コンクリート表層の撥水性能が変化することによってコンクリート内部への水分の含浸量に変化し、中性化の進行に影響を及ぼす可能性がある。そこで、材齢 28 日まで養生を行った試験体については、親水性塗料、疎水性塗料を塗布した試験体と無塗布の試験体を用意し、表層の撥水性能に差異を設けた。親水性塗料は、親水性の無機系ナノ粒子で構成されており、散布機を用いて試験体表層に薄く散布した。

*1 広島大学 先進理工系科学研究科 (学生会員)

*2 広島大学 先進理工系科学研究科 准教授 博士 (工学) (正会員)

一方、疎水性塗料⁸⁾はポリフルオロアルキルメタアクリレート樹脂を含む酸化物複合粒子を主成分としており、刷毛により推奨量を塗布した。各種塗料の塗布は打込み後材齢 11 週に実施した。

2.1.1 促進中性化試験概要

前項に記した試験体に対して、促進中性化試験を実施した。二酸化炭素の浸入経路を制限するため、200×130mm の 1 面を残して試験体側面および打ち込み面にアルミテープで封をした。試験期間および環境は JIS A 1153 コンクリートの促進中性化試験方法を参考に、温度 20℃、相対湿度 60%、二酸化炭素濃度 5% 環境で、打込み後材齢 12 週に促進中性化試験を開始した。促進材齢 1, 4, 8, 13, 26 週に中性化深さ測定および後述する給水試験を行った。

2.1.2 給水試験

本実験では中性化進行速度および外部からの給水時にコンクリートに付着する汚れの量・微生物量が異なる試験体を用意するため、中性化深さ測定後に広島大学内の池から採取した水にカーボンブラックを懸濁した溶液を試験体に与えた。実験計画時にはカーボンブラック付着状況と微生物検出量の相関を見出すことを想定していたが、本実験の給水方法ではカーボンブラックの付着量が想定より少なく、実験結果にほとんど影響を与えなかった。

各パラメータの試験体に対し、試験面に一定量の流水をかける方法（以下、流水）、スプレーを用いて霧状に吹き付ける方法（以下、噴霧）の 2 種により給水した。流水については、試験体上部に水を溜める機構（図-1 左）を設置し、流出口の高さが均一となるように調整しておおよそ同一の流出時間で一定量の水を流した。噴霧ではスプレーから発射される水量および吹付回数により水分供給量を制御した。水分供給の有無による中性化促進の程度を調査するため、給水を行わない試験水準も設けている。

2.2 サンプル採取

微生物の生息状況を把握するにあたってコンクリートからサンプルを採取し、微生物の DNA を抽出する必要がある。本実験ではコンクリート表層の付着物をスワブスティックで擦り取るスワブ法と、微量のコンクリート片から直接抽出する方法を用いて検討を行った。図-1 右に使用したスワブスティックおよび促進中性化試験体表層から微生物サンプルを採取する様子を示す。

2.2.1 スワブ法によるサンプル採取量

これまでに行った実験においてコンクリート表層を削り取って採取したサンプルでは、コンクリート内部から採取したサンプルの 100 倍程度高い濃度の DNA が検出された⁹⁾。このことからコンクリート表層のサンプルは、

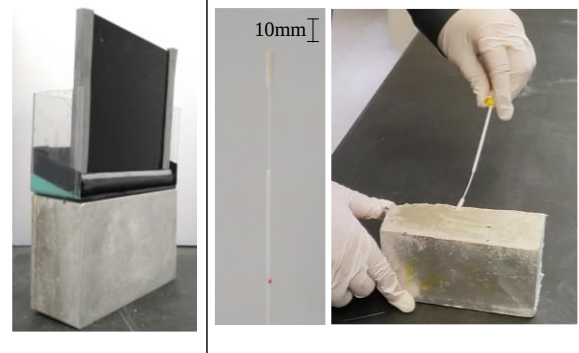


図-1 流水機構（左）、本実験で使用したスワブスティックおよび促進中性化試験体における表層サンプル採取の様子（右）



図-2 150×150 mmのコンクリート壁面を擦り取ったスワブスティック

左：生理食塩水使用，右：生理食塩水不使用

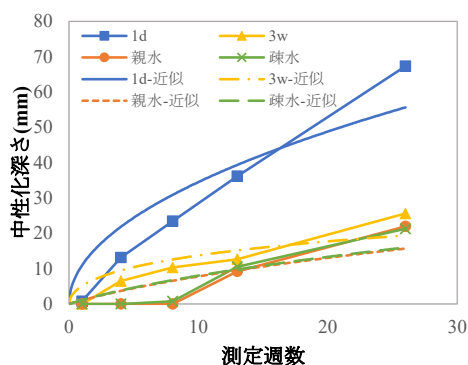
内部のサンプルと比較してごく微量での分析が可能であることがわかる。しかしスワブ法をコンクリートに適用する際の規格は存在せず、既往研究もほとんどないため、採取方法および採取可能な付着物の量はほとんどわかっていない。そこでスワブスティックへの付着物の質量について検証を行った。

コンクリート壁面上の 150×150mm の範囲をスワブスティック（FLOQSwabs® 518C, Copan）で擦り取り、作業前後における質量変化を測定した。図-2 にスワブスティックへの物質の付着状況を示す。コンクリートのように表層に凹凸がある試験面に対して物体表層からサンプルを採取する場合、乾燥したスワブスティックを使用すると採取効率が低くなるため、スワブスティックを滅菌した生理食塩水に浸し、湿らせた状態で物体表層を擦り取ることが行われる。図のように、生理食塩水を使用することで表層部の付着物の収集効率が格段に向上することが確認できる。スワブスティックを生理食塩水に浸して擦り取ると、コンクリート壁面に生理食塩水が染み込むことによる質量減少とスワブスティックに物質が付着することによる質量増加が同時に発生する。150×150mm の範囲を擦り取る作業の中盤以降、生理食塩水がコンクリート壁面に染み込むことによる濡れ色の変化はほとんどみられなくなる。乾式でスワブした場合、スワブに付着する汚れや微生物などの物質量は 0.0023g であるのに対し、湿式で行った場合の質量増加量は 0.023g と

10 倍程度大きかった。また、図-2 の写真の比較からも、湿式のほうが表層部の汚れや微生物の採取に効果的であると考えられる。

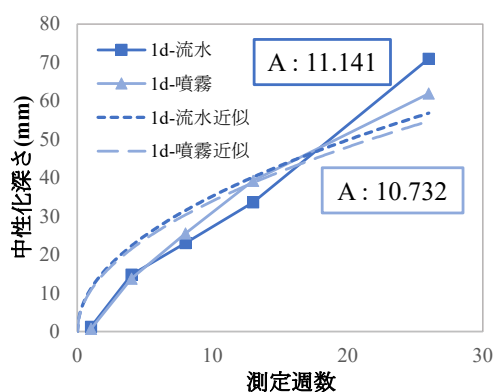
2.2.2 微生物サンプル採取法

すべてのサンプルは促進中性化試験の 26 週測定日に

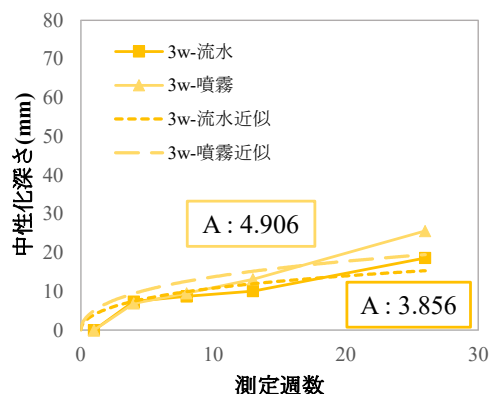


中性化速度係数A	1d	10.916
	3w	4.850
中性化抵抗係数R	親水	2.091
	疎水	1.986

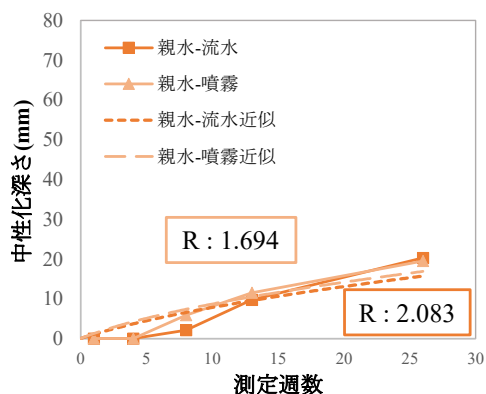
図-3 給水なし試験体における中性化進行



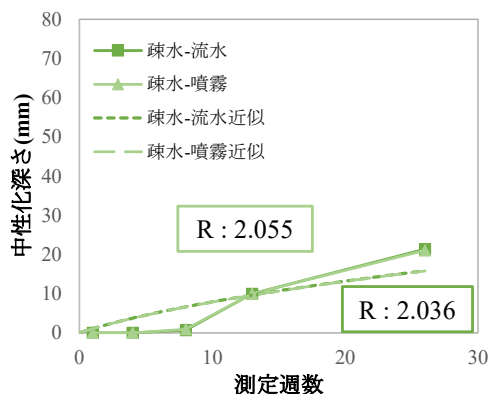
(a) 1d 試験体



(b) 3w 試験体



(c) 親水性塗装試験体



(d) 疎水性塗装試験体

図-4 各試験体における中性化深さおよび中性化速度係数 A・中性化抵抗性 R

採取した。微生物生態分野および衛生分野では、スワブサンプル採取時に 100×100mm 程度の面積を縦方向および横方向にまんべんなく擦る方法¹⁰⁾または任意の拭き取り面積を 100cm² に換算して評価する方法が採用されている¹¹⁾。本実験では試験体が中性化深さ測定ごとに小さくなる性質上、おおよそ 100×50mm の試験面を縦横に擦り取る作業を同一面内において 2 セット繰り返した。サンプル採取後のスワブスティックは、後述する DNA 抽出作業を行うまでの間、微生物を不活性化させて採取時の微生物叢を維持するため-80℃で保管した。

コンクリート片から直接微生物を採取する方法では、割断面のうち二酸化炭素浸入面から 1cm の範囲を中性化領域とみなし、ノミで打ち欠いて採取した。内部サンプルの採取後は滅菌済みシリンダー (VIO-25B, アズワン) に入れ-80℃で保管した。

2.2.3 DNA 抽出・濃度測定

本実験では既報⁹⁾のプロトコルに従って DNeasy® PowerBiofilm® Kit (QIAGEN) を使用し、DNA 抽出を行った。また微量分光光度計 (DS-11FX, Denovix 社) を用いて蛍光度を測定し、DNA 濃度を測定した。

3. 実験結果および考察

3.1 促進中性化深さ

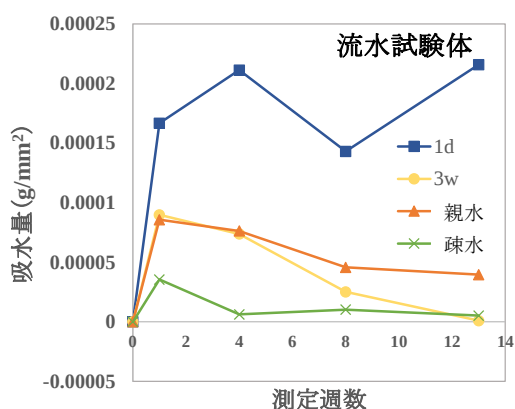
促進中性化試験で取得された各試験体の中性化深さ、最小二乗近似および馬場ら¹²⁾が提案する方程式を用いて算出した中性化速度係数・中性化抵抗性を図-3、図-4に示す。図-3、図-4(a)、(b)に示す通り、脱型材齢 1 日の試験体の 26 週における中性化深さは、脱型材齢 28 日の試験体の 3 倍程度であり、加えて 1d 試験体は 3w 試験

体と比較して中性化速度係数がおおよそ 2~3 倍大きい結果となった。このことから若材齢での脱型および加熱乾燥状態における初期養生によって、細孔構造が粗かつ含水率が低い状態となり、二酸化炭素が浸入しやすい状態になったと考えられる。一方、図-4(c)、(d)に示す通り、給水方法の違いおよび試験体表層の撥水特性による中性化進行状況の違いは見られなかった。本実験では水分に懸濁した汚染物質がコンクリート表層に付着し、かつ洗い流されないことを優先して給水量を決定したため、既往研究^{13),14)}の 30~90L/h の水分供給量と比較して極めて少なく、そのため水分供給の差異がみられなかったと考えられる。

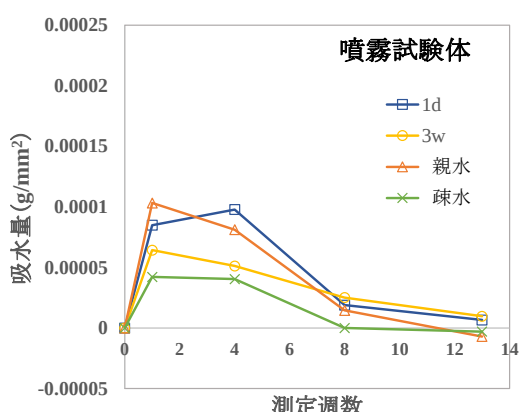
3.2 吸水量

本実験では給水作業前後で試験体の質量を測定し、その差を試験体面積で除したものを試験体の吸水量と定義した。図-5に給水方法ごとの試験体吸水量を示す。脱型材齢 28 日の試験体の吸水量は 1 週前後をピークとして減少傾向にあり、流水および噴霧で同様の傾向を示した。週数が進むほど吸水量が低下する要因のひとつとして、中性化の進行に伴う炭酸カルシウムの生成によってコンクリート中の細孔量が減少する¹⁵⁾ことが考えられる。なお噴霧給水した親水試験体群において吸水量が負の値をとっている原因として、試験体への吸水がほとんどない状態で測定中の乾燥が生じたことが考えられる。

一方、脱型材齢 1 日の試験体では他の試験体を比較して吸水量が大きく、流水によって水を与えた試験体の吸水量は他の試験体群より 2 倍以上高い水準で推移する傾向が確認された。脱型材齢 1 日の試験体は脱型材齢 28 日の試験体群と比較して炭酸化による細孔構造の変化が有意に作用しないほど粗な細孔構造を有していたと推察さ



(a) 流水試験体



(b) 噴霧試験体

図-5 試験面積当たりの吸水量

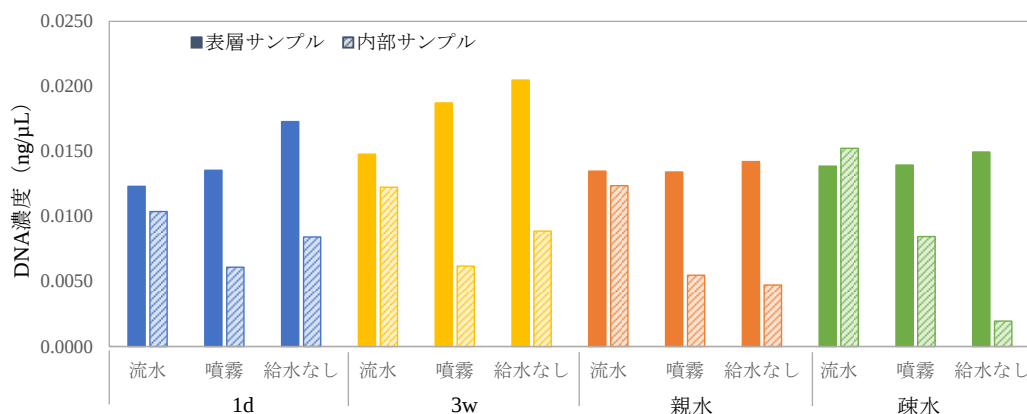
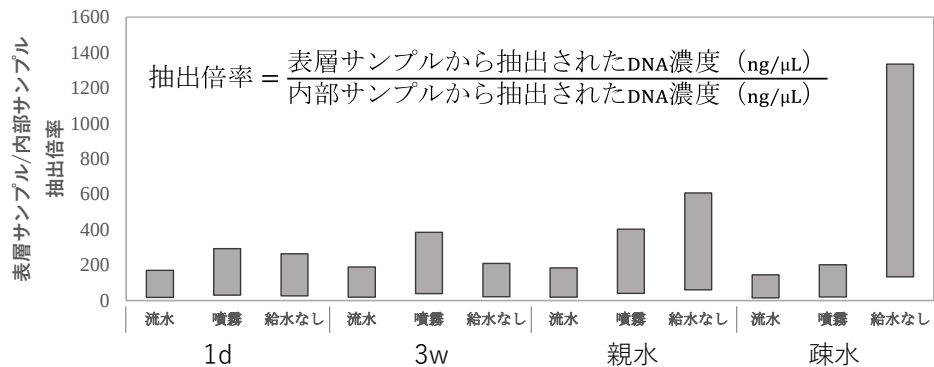


図-6 各種試験体サンプルから抽出された DNA 濃度



図ー7 内部サンプルに対する表層サンプルからの DNA 抽出倍率範囲

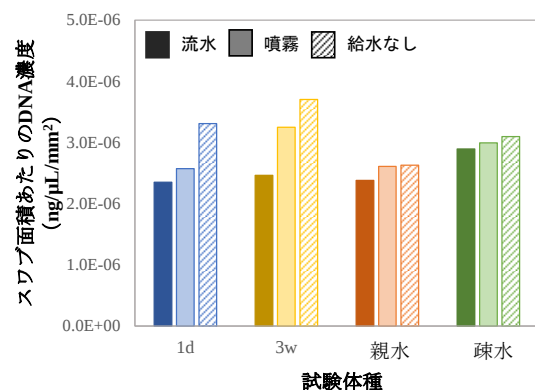
れる。

3.3 DNA 濃度

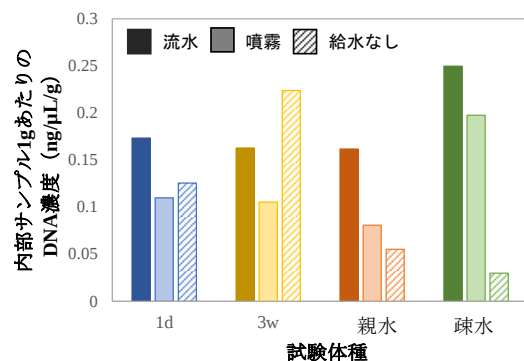
試験体表層をスワブして採取したサンプルおよびコンクリート内部から採取したサンプルから抽出した DNA 濃度を図ー6 に示す。各試験体条件について 3 サンプルずつ採取し DNA を抽出した。データの分析にあたって、四分位範囲の 1.5 倍の値を第一四分位点に加えた値よりも大きなデータおよび第三四分位点から引いた値よりも小さなデータを外れ値とみなして除外した¹⁶⁾。

図ー7 に内部サンプルに対するスワブサンプルからの DNA 抽出倍率を示す。すべての試験体における平均スワブ面積は 5256mm²、内部サンプルの平均質量は 0.0649g であった。2.1.1 で得られたスワブ法によるサンプル採取量を本実験でのスワブ面積に換算すると、0.0004～0.0040g 程度の付着物を取得していると考えられ、この取得量をもとにサンプル 1g から抽出される DNA 濃度をサンプル採取法で比較すると、スワブ法によって採取されたサンプルの DNA 濃度は内部サンプルよりも 15～1300 倍程度大きい。このオーダーは、既往研究⁹⁾と比較して妥当な値であり、コンクリート試験体では内部と比較して表層に微生物が集中して存在していることが再確認された。なお、海中のコンクリート構造物では表層部に付着・堆積する微生物群集（バイオフィーム）がコンクリート内部への物質浸透の抵抗性を高めることが確認されている¹⁷⁾が、一般環境におけるコンクリート表層部の微生物群集がコンクリート構造物の性能に影響を与えるか否かについては知見がなく、今後の検討課題である。また各試験体における抽出倍率と給水条件について、試験体種によらず流水条件における抽出倍率は最大 200 倍程度であり、噴霧条件と比較して抽出倍率が抑えられる傾向があることから、コンクリート表層の微生物が流水の外力によって取り除かれた可能性がある。

本実験で抽出した DNA 濃度をスワブサンプルでは採取面積、内部サンプルでは抽出に使用したサンプル質量でそれぞれ除し、スワブ面積あたりの DNA 濃度および



(a) スワブ面積あたりの DNA 濃度



(b) 内部サンプル 1g あたりの DNA 濃度

図ー8 サンプルごとに換算した DNA 濃度

内部サンプル 1g 当たりの DNA 濃度を算出した(図ー8)。スワブ法によって検出された DNA 濃度は給水方法に影響を受ける傾向がみられ、給水なし、噴霧、流水の順に高濃度の DNA が抽出された。この傾向は撥水性を付与しない試験体において特に明確に示された。内部サンプルにおいては表層の撥水性の有無により傾向が二分しており、撥水性塗料を塗布しない試験体系では噴霧試験体から抽出される DNA 濃度が最も低い一方で、撥水性を塗布する試験体系では給水なし試験体の DNA 濃度が低い傾向が見られた。以上の結果からコンクリート中の微生物は表層の撥水性能および給水条件に影響を受けうる

可能性が示された。

一般に微生物の繁殖には適切な環境条件、炭素や窒素、酸素など栄養分の供給などが必要であるとされている¹⁸⁾。本実験では未検証であるが、促進中性化試験において供給された二酸化炭素や試験体に塗布した撥水性塗料の成分を栄養源として繁殖する微生物が試験体中に存在する可能性がある。また脱型材齢による中性化進行速度の差異や撥水性塗料塗布による初期の中性化進行抑制が微生物叢の構成に影響を及ぼしていることが予想される。今後、検出された DNA に対してシーケンスを実施し、微生物叢を構成する微生物種および構成割合を明らかにした後、各種要因と関連性の高い微生物種を統計解析によって明らかにしていく予定である。

4. まとめ

本研究では細孔構造および表層の撥水性を変えた試験体について促進中性化試験を実施し、コンクリート表層および内部からの微生物検出を行った。以下に、本研究で得られた知見を記す。

- (1) コンクリート表層から採取するサンプルからは内部コンクリートから採取するサンプルと比較して数百倍程度高い濃度の DNA が抽出された。コンクリート表層の微生物は流水等の外力によって取り除かれる可能性がある。
- (2) コンクリート中の微生物の生息状況は、外的環境要因やコンクリートの材料特性に影響を受けうる可能性が示された。詳細な微生物種や構成割合の調査を予定している。

謝辞

本研究は JST の創発的研究支援事業の支援を受けて実施しました。また清水建設株式会社 辻埜真人博士、東洋アルミニウム株式会社 東清久氏に塗料の提供のご協力を賜りました。また DNA 抽出および濃度測定にあたって広島大学大学院国際研究協力機構の丸山史人教授、藤吉奏助教、および研究室のみなさまにご協力を賜りました。心より御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 野間誠司：二酸化炭素を用いた食品の微生物制御に関する研究、日本食品化学工学会誌、第 67 巻、第 3 号、pp85-91、2020
- 2) 石松維世、松鶴悟実、龍有二：地中熱利用ピットを有する建物における浮遊微生物の濃度変動と温湿度環境、日本建築学会環境系論文集、第 77 巻、第 676 号、pp.491-498、2012
- 3) Koki Horikoshi: Alkaliphiles, Proc. Jpn. Acad., Ser.B 80, pp166-178, 2004
- 4) 魚本健人、高田良章：コンクリートの中性化速度に及ぼす要因、土木学会論文集、Vol.17, No.451, pp.119-128, 1992
- 5) 前原聡、伊代田岳史：雨掛かりの有無が中性化によるかぶりの剥離・剥落に及ぼす影響に関する研究、土木学会論文集 E2 (材料・コンクリート構造)、Vol.74, No.2, pp.80-87, 2018
- 6) 原沢蓉子、本多和博、伊代田岳史：異なる炭酸化環境が空隙特性および炭酸化生成物に与える影響、コンクリート工学年次論文集、Vol.36, No.1, pp.808-813, 2014
- 7) 伊代田岳史、本名英理香：コンクリート構造物の炭酸化進行における雨掛り等の環境条件の影響とその進行メカニズムの検討、コンクリート工学論文集、第 28 巻、pp.113-122, 2017
- 8) 東洋アルミニウム株式会社、液状組成物、特開 2022-26865 号、2022-02-10
- 9) 蔵富千奈、寺本篤史、藤吉奏、丸山史人：コンクリートにおける微生物検出手法に関する基礎的検討、コンクリート工学年次論文集、Vol.44, No.1, 2022
- 10) 間淵創、木川りか、佐野千絵：文化財公開施設等における ATP 拭き取り検査の活用について、保存科学、No.49, pp.1-12, 2010
- 11) 尾方壮行ほか：ATP 測定法による病室における清掃前後の環境表面汚染度実測調査、日本建築学会環境系論文集、第 81 巻、第 726 号、pp.723-729, 2016
- 12) 馬場明生、千歩修：各種の表面層をもつコンクリートの中性化深さ推定方法に関する一考察、コンクリート工学年次論文報告集、Vol.9, No.1, pp.333-338, 1987
- 13) 佐伯竜彦、長滝重義：散水促進中性化試験による中性化深さの予測、コンクリート工学年次論文報告集、Vol.15, No.1, 1993
- 14) 柳東佑、高正遠、兼松学、野口貴文：打放しコンクリート中の水分分布に及ぼす降雨の影響、日本建築学会構造系論文集、第 619 号、pp.21-26, 2007
- 15) 佐伯竜彦、大賀宏行、長滝重義：中性化によるコンクリートの微細組織の変化、土木学会論文集、第 420 号、V-13, pp.33-42, 1990
- 16) Robert Dawson : How Significant is a Boxplot Outlier? , Journal of Statistics Education, Vol.19, No.2, 2011
- 17) Hiroko makita, Keisuke Takahashi, Mari Kobayashi and Makoto Sugimura : Microorganisms inhabiting concrete in the marine environment, Proceedings of the RM4L2020 International Conference, pp.209-214, 2021
- 18) 服部勉、服部黎子：微生物の生育と栄養条件—低濃度栄養性細菌を中心として—、化学と生物、Vol.15, No.8, pp.535-541, 1977