

明 細 書

チオバチルス・チオオキシダンス生育阻害剤

技術分野

本発明は、チオバチルス・チオオキシダンス生育阻害剤に関し、特に、下水処理施設におけるチオバチルス・チオオキシダンスの生育を阻害して、コンクリート構造物又は下水と接触するコンクリート製下水管等の劣化防止に利用できる生育阻害剤に関する。

背景技術

従来から下水処理施設等におけるコンクリート構造物が石膏化して劣化することが問題となっている。この劣化は、一般に広く土壌・水中に存在し、イオウ化合物の酸化と二酸化炭素を同化して成長するチオバチルス属イオウ酸化細菌が、硫化水素を酸化し硫酸を生成するのが原因であることが知られている。このチオバチルス属イオウ酸化細菌は、その種類によって、構造物が下水と接触する部分だけでなく、下水処理場の下水と接触しない気中の構造物にも存在することが知られている。

このような構造物の劣化を防止する方法としては、従来から種々提案がなされているが、実際に実施されているのは、構造物を耐蝕材料でコーティングする方法が主流である。しかし、耐蝕材料によるコーティングでは、ピンホールや傷に弱く、耐久性に問題があり、しかも小口径管の継手部等へのコーティングが困難となる。また、コスト的にも必ずしも有利とは言えない。

そこで、耐蝕材料を構造物の表面にコーティングするのではなく、ニッケル等の水に不溶性で硫酸に可溶性の特定の金属又は特定の金属酸化物をコンクリート等に直接添加混合することによって、チオバチ

ルス属イオウ酸化細菌による構造材の劣化を防止しうる方法（特開平4-149053号公報）が提案されている。この方法は、ニッケル等がイオウ酸化細菌のイオウ酸化活性、呼吸、炭酸ガス固定活性を中性付近において完全に防止し、イオウ酸化細菌による劣化を十分に防止できる優れた方法である。

しかし、ニッケル等をコンクリートに配合して実際にイオウ酸化細菌の生育を阻害しコンクリートの劣化を防止するには、セメント100重量部に対してニッケル0.1重量部程度が配合されているのが現状であり、より少ない量の混合で優れたイオウ酸化細菌の生育阻害効果を示す阻害剤の開発が望まれている。

また、モリブデン、モリブデンアンモニウム、又はモルブデンアンモニウムとタングステンとの混合物が、チオバチルス・ノベルス(*Thiobacillus novellus*)の生育を活性化するが、タングステン単独では、生育を阻害することが知られている(*Journal of Bacteriology*, 第153巻, 第2号, (1983) William M. et al. "Sulfite Oxidase Activity in *Thiobacillus novellus*" p.941-944)。一方、前記チオバチルス・ノベルスの生育を活性化することが知られるモリブデン(Mo^{4+})が、チオバチルス・チオオキシダンス(*Thiobacillus thiooxidans*)に対しては逆に生育を阻害することも知られている(*Chemical Abstracts*, 第95巻, 第1号(July 6, 1981)p127(1081a))。このように、同じチオバチルス属イオウ酸化細菌であっても生育阻害作用は異なっている。従って、通常、チオバチルス・ノベルス等の生育pH領域が6~8の中性付近であるイオウ酸化細菌に対して効果が認められた生育阻害剤を、チオバチルス・ノベルス等が殆ど生育していないpH2~6の酸性領域に使用することではなく、更に、チオバチルス・チオオキシダンス等の生育

pH領域が2～6のチオバチルス属イオウ酸化細菌に対して、前記チオバチルス・ノベルスの生育阻害作用を示す物質が同じく生育阻害作用を示すとは考えられていない。

即ち、従来提案されている生育阻害剤が全てのチオバチルス属イオウ酸化細菌に対して有効に作用するとは限らないのが実情である。

発明の開示

本発明の目的は、pH4以下の酸性条件下においてもチオバチルス・チオオキシダンスの生育を十分阻害できるチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害剤を提供することにある。

本発明の別の目的は、下水処理施設等におけるコンクリート等の構造物に微量配合することによりチオバチルス・チオオキシダンスを十分阻害でき、構造物自体の強度等を実質的に低下させることのないチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害剤を提供することにある。

本発明者は、特開平4-149053号公報において、ニッケル等の水に不溶性で硫酸に可溶性の特定の金属又は特定の金属酸化物をコンクリート等に直接添加混合することによって、チオバチルス属イオウ酸化細菌による構造物の劣化を防止しうる方法を提案した。しかしながら、生育pH領域が2～6の中性付近から酸性領域であるチオバチルス・チオオキシダンスにおいては、直接下水等と接触するような構造物が中性に近いpHに保たれた箇所で十分な生育阻害活性が得られるが、下水処理施設に近接し、気中の硫化水素等の影響によって、構造物表面が下水と直接接触していないpH4以下の酸性となった環境下では、同じチオバチルス・チオオキシダンスに対してであっても生育阻害活性が低下することを確認した。このような同一細菌に対してもそのpH環境の相違により生育阻害効果が異なる理由は明らかで

はないが、前に提案したニッケル等は、直接細菌自体に作用しているものではなく、細菌の酵素と結合して生育阻害活性を発揮しているために、酸性側では前記酵素との結合が十分でなく生育阻害活性が低下するものと考えられる。そこで、酸性下におけるコンクリート等の劣化原因であるチオバチルス・チオオキシダンスに対して、pH 4 以下の酸性下においても十分な生育阻害効果を示す物質を鋭意研究した結果、タングステン及びタングステン化合物が、酸性領域に生育しているチオバチルス・チオオキシダンスに対して有効に生育阻害作用を示すことを見出し本発明を完成するに至った。

本発明によれば、タングステン粉末及びタングステン化合物からなる群より選択される少なくとも1種を含むチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害剤が提供される。

また、本発明によれば、タングステン粉末及びタングステン化合物からなる群より選択される少なくとも1種と、ニッケル粉末及びニッケル酸化物粉末からなる群より選択される少なくとも1種とを含むチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害剤が提供される。

図面の簡単な説明

図1は、実施例1～3及び比較例1で行ったNB I-3株の生育に対する Na_2WO_4 の影響を測定した結果を示すグラフである。

図2は、実施例4～7及び比較例2で行ったNB I-3株洗浄細胞の元素イオウ酸化活性に対する Na_2WO_4 の影響を測定した結果を示すグラフである。

図3は、比較例3～7で行ったNB I-3株洗浄細胞の元素イオウ酸化活性に対する Na_2WO_4 の影響を測定した結果を示すグラフである。

図4は、実施例8～9及び比較例8で行ったNB I-3株の膜蛋白の HSO_3^- 酸素活性に対する Na_2WO_4 の影響を測定した結果を示すグラフである。

図5は、実施例10～14及び比較例9～13で行った各細胞に対する Na_2WO_4 の影響を測定した結果を示すグラフである。

図6は、実施例15～20及び比較例14及び15で行なったNB I-3株洗浄細胞の元素イオウ酸化活性に対する影響を測定した結果を示すグラフである。

図7は、実施例21～24で行なったNB I-3株洗浄細胞の元素イオウ酸化活性に対する影響を測定した結果を示すグラフである。

発明の好ましい実施の態様

以下本発明を更に詳細に説明する。

本発明の阻害剤は、下水処理施設等におけるコンクリート、モルタル又は高分子材料等の構造材の劣化の原因となることが知られている、チオバチルス・チオオキシダンスの生育を阻害する阻害剤であって、下水に直接接触する構造材はもちろんのこと、下水処理施設に近接し、気中の硫化水素等の影響によって、構造材の表面がpH4以下の酸性下という条件においても有効にチオバチルス・チオオキシダンスの生育を阻害し、構造材の劣化を防止することができる。

本発明の阻害剤は、タングステン粉末(W)； $\text{W}_{28}\text{O}_{58}$ 、 Na_2WO_4 、 CaWO_4 、 $\text{CaWO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、又は $5(\text{NH}_4)_2\text{O} \cdot 12\text{WO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n=0\sim5$)等のタングステン化合物の少なくとも1種を有効成分として含有する。この有効成分は、酸性下、特にpH4以下の酸性下において、チオバチルス・チオオキシダンスの酵素と結合し、細菌のイオウの酸化、呼吸、炭酸ガスの固

定を阻害することによって、チオバチルス・チオオキシダンスの生育を阻害すると考えられるが、細菌の酵素とこれらの有効成分とがどのように結合するかは不明である。

本発明の阻害剤の有効成分が粉末の場合の粒径は特に限定されないが、例えばコンクリート等の構造材に配合した際に、生育阻害作用を有効に発揮させることができ、且つ構造材成形時に構造材内の所望位置に配合される粒径が好ましい。具体的には0.005～0.2mmが望ましい。前記粒径が0.2mmを超える場合には所望の生育阻害作用が低下する恐れがあるので好ましくない。また、 Na_2WO_4 等の水や有機溶媒に可溶な金属化合物を用いる場合には、溶液として用いることもできる。

本発明の阻害剤の有効濃度は、チオバチルス・チオオキシダンスの生育環境に対して、 $1\mu\text{mol}/1$ 以上、特に10～100 $\mu\text{mol}/1$ が好ましい。例えば、本発明の阻害剤を用いて、コンクリート及びモルタルのチオバチルス・チオオキシダンスによる劣化を防止するには、コンクリート又はモルタル中のセメント100重量部に対して、0.0001～0.1重量部添加混合して成形するのが好ましい。特に0.0001～0.01重量部という少量の添加混合でも、十分に生育阻害効果が得られると共に、従来の耐蝕材料によるコーティングに比して、顕著にその効果を持続させることができる。

本発明の阻害剤には、更にニッケル粉末及びニッケル酸化物粉末からなる群より選択される少なくとも1種を含有させることもできる。これらを含有させることにより、中性付近におけるチオバチルス・チオオキシダンスの生育阻害を向上させることができる。ニッケル粉末及びニッケル酸化物粉末の粒径は特に限定されるものではないが、0.

0.05～0.2 mmが望ましい。これらの含有割合は、タングステン粉末及びタングステン化合物からなる群より選択されるタングステン含有物：ニッケル粉末及び／又はニッケル酸化物粉末が重量比で0.1～1.0の範囲となる割合が望ましい。

本発明の阻害剤をコンクリート等に配合するには、例えばコンクリート組成物中に所望量配合し、公知の方法で成形、硬化させる方法により行うことができる。特に阻害剤原材料が粉末の場合には、遠心成形法によっても容易に、且つ均等にコンクリート中に配合させることができる。この遠心成形法は、公知のヒューム管等を作製する際の方法と同様に行うことができ、遠心成形の条件を適宜選択することにより所望の阻害剤を有するコンクリートを得ることができる。また遠心成形法においては、阻害剤の粒径が重要であって、粒子径が小さすぎると遠心成形時のブリージング水と共に移動し、場合によっては排水される恐れがあり、一方粒子径が大きすぎると遠心成形時に外面側に移動する恐れがあるので前記好ましい粒子径の範囲で適宜選択するのが望ましい。

本発明の阻害剤は、pH 4以下の酸性条件下においてもチオバチルス・チオオキシダンスの生育を十分阻害できる。また、下水処理施設等におけるコンクリート等の構造材に微量配合することによりチオバチルス・チオオキシダンスの生育を長期間にわたり十分阻害でき、構造材自体の強度等を実質的に低下させることがない。

実施例

以下実施例及び比較例により更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例 1～3 及び比較例 1

チオ硫酸ナトリウム0.2%、酵母エキス0.03%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 K_2HPO_4 0.05%、 KCl 0.01%、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001%を含むチオ硫酸無機塩培地 (pH 7.0) 20 ml 中に、腐食コンクリート 1.0 g を接種し、30℃の好気条件下で保存した。培地の pH が 2.0 に低下したところで、培地を交換しこの培養操作を 5 回行った。培養により得られたチオバチルス・チオオキシダンスの黄色いコロニーを単離し、この分離株を NB I-3 株とした。

元素イオウ1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 K_2HPO_4 0.05%、 KCl 0.01%、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001%を含む元素イオウ無機塩培地 (pH 2.5) 20 ml 中に Na_2WO_4 濃度 $30 \mu\text{mol/l}$ (実施例1)、 $300 \mu\text{mol/l}$ (実施例2) 又は $1000 \mu\text{mol/l}$ (実施例3) の水溶液を添加するか、若しくはコントロールとして添加せずに (比較例1) NB I-3 株の培養を行った。尚、 Na_2WO_4 は、pH 2.5 において不溶性となっている。経時的な NB I-3 株の増殖量を 660 nm の吸光度により測定した。結果を図1に示す。

図1の結果より、pH 2.5 の酸性下において Na_2WO_4 は、優れたチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害活性を示すことが判る。

実施例4～7及び比較例2

マノメータ、反応容器及び振盪装置を備えたワークブルグ検圧計の反応槽に、実施例1～3で培養した NB I-3 株の洗浄細胞 5 mg、 β -アラニン- SO_4^{2-} 緩衝液 200 μl (pH 3.0) 及び亜硫酸ナトリウム 200 μmol を総容積 3 ml として添加し、更に、 Na_2WO_4 濃度 $10 \mu\text{mol/l}$ (実施例4)、 $100 \mu\text{mol/l}$ /

1 (実施例 5)、 $1000 \mu\text{mol/l}$ (実施例 6)、 $10000 \mu\text{mol/l}$ (実施例 7) の水溶液を添加するか、若しくはコントロールとして添加せずに (比較例 2)、経時的な酸素の吸収量を測定した。この測定は、センターウエルに 0.2 ml の水酸化ナトリウムを入れ、反応槽内の pH を 3.0 に調整しながら行った。また、ワークブルグ検圧計のガス相は空気で 30°C に保持した。結果を図 2 に示す。

比較例 3 及び 4

NBI-3 株の洗浄細胞として、煮沸した細胞 (比較例 3) 若しくは洗浄しない細胞 (比較例 4) を用いた以外は、比較例 2 と同様に測定を行った。結果を図 3 に示す。

比較例 5 ～ 7

Na_2WO_4 の代わりに、 200 メッシュ以下のニッケル $1000 \mu\text{mol/l}$ (比較例 5)、 $10000 \mu\text{mol/l}$ (比較例 6) 又は $20000 \mu\text{mol/l}$ (比較例 7) を用いた以外は、実施例 4 ～ 7 と同様に測定を行った。結果を図 3 に示す。

図 3 の結果及び図 2 の結果を比較すると、 Na_2WO_4 の代わりにニッケルを用いた場合には、同量の添加でチオバチルス・チオオキシダンスの生育阻害効果が Na_2WO_4 のが極めて高いことが判る。

実施例 8 ～ 9 及び比較例 8

マノメータ、反応容器及び振盪装置を備えたワークブルグ検圧計の反応槽に、実施例 1 ～ 3 で培養した NBI-3 株の膜蛋白 1 mg 、 MoPS/NaOH 緩衝液 ($\text{pH} 7.0$) $200 \mu\text{mol}$ 及び亜硫酸ナトリウム $20 \mu\text{mol}$ を添加し、更に、 Na_2WO_4 濃度 $1000 \mu\text{mol/l}$ (実施例 8) 又は $10000 \mu\text{mol/l}$ (実施例 9) の水溶液を添加するか、若しくはコントロールとして添加せずに (比

較例 8)、経時的な酸素の吸収量を測定した。測定は、センターウエルに 0.2 ml の水酸化ナトリウムを入れ、反応槽内の pH を 7.0 に調整しながら行った。また、ワークブルグ検圧計のガス相は空気で 30℃ に保持した。結果を図 4 に示す。

実施例 10～14 及び比較例 9～13

元素イオウ 1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 K_2HPO_4 0.05%、 KCl 0.01%、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001% を含む元素イオウ無機塩培地 (pH 2.5) 20 ml 中に、水溶液として Na_2WO_4 50 $\mu\text{mol/l}$ を添加し、チオバチルス・チオオキシダンス ON106 (実施例 10)、チオバチルス・チオオキシダンス ON107 (実施例 11)、チオバチルス・チオオキシダンス IF013701 (実施例 12)、チオバチルス・チオオキシダンス JCM3867 (実施例 13) 又は NBI-3 株 (実施例 14) を添加するか、若しくはコントロールとして添加せずに (比較例 9～13) 各細胞の培養を行った。1 時間後の各細胞の増殖量を 660 nm の吸光度により測定した。結果を図 5 に示す。

図 5 の結果より、pH 2.5 の酸性下において Na_2WO_4 は、優れたチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害活性を示すことが判る。

実施例 15～20 及び比較例 14 及び 15

元素イオウ 1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 K_2HPO_4 0.05%、 KCl 0.01%、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001% を含む元素イオウ無機塩培地 (pH 2.5) 20 ml 中に、粒径 10～50 μm のタングステン (W) 粉末濃度 100 $\mu\text{mol/l}$ (実施例 15)、粒径 10～25 μm の $\text{CaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 粉末濃度 100 $\mu\text{mol/l}$ (実施例 16)、粒径 10～25 μm の CaWO_4 粉末

濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ (実施例 17)、粒径 $10 \sim 25 \mu\text{m}$ の $\text{W}_{28}\text{O}_{58}$ 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ (実施例 18)、粒径 $10 \sim 25 \mu\text{m}$ の $5(\text{NH}_4)_2\text{O} \cdot 12\text{WO}_3$ 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ (実施例 19)、粒径 $10 \sim 50$ の Ni 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ と粒径 $10 \sim 25 \mu\text{m}$ の $\text{W}_{28}\text{O}_{58}$ 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ との混合物 (実施例 20) 又は粒径 $10 \sim 50 \mu\text{m}$ の Ni 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ (比較例 14) の水溶液を添加するか、若しくはコントロールとして添加せずに (比較例 15)、実施例 1 で調整した $\text{NB I}-3$ 株の培養を行った。経時的な $\text{NB I}-3$ 株の増殖量を 660nm の吸光度により測定した。結果を図 6 に示す。

図 6 の結果より、 $\text{pH} 2.5$ の酸性下においてタングステン及び各種タングステン化合物は、優れたチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害活性を示すことが判る。

実施例 21～24

元素イオウ 1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 K_2HPO_4 0.05%、 KCl 0.01%、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001% を含む元素イオウ無機塩培地 ($\text{pH} 7.0$) 20ml 中に、粒径 $10 \sim 25 \mu\text{m}$ の $\text{W}_{28}\text{O}_{58}$ 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ (実施例 21)、粒径 $10 \sim 50$ の Ni 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ と粒径 $10 \sim 50 \mu\text{m}$ の W 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ との混合物 (実施例 22)、粒径 $10 \sim 50$ の Ni 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ と粒径 $10 \sim 25 \mu\text{m}$ の $\text{W}_{28}\text{O}_{58}$ 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ との混合物 (実施例 23) 又は粒径 $10 \sim 50$ の Ni 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ と粒径 $10 \sim 25 \mu\text{m}$ の $5(\text{NH}_4)_2\text{O} \cdot 12\text{WO}_3$ 粉末濃度 $100 \mu\text{mol/l}$ との混合物 (実施例 24) の水溶液を添加し、実施例 1 で調整した NB

1 2

I-3株の培養を行った。経時的なNB I-3株の増殖量を660nmの吸光度により測定した。結果を図7に示す。

図7の結果より、pH7.0においては、ニッケルを含有させることにより、優れたチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害活性を示すことが判る。

実施例25～27

元素イオウ1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、 K_2HPO_4 0.05%、 KCl 0.01%、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001%を含む元素イオウ無機塩培地(pH2.5)20ml中に、粒径10～50のNi粉末濃度 $100\mu\text{mol/l}$ と粒径10～50 μm のW粉末濃度 $100\mu\text{mol/l}$ との混合物(実施例25)、粒径10～50のNi粉末濃度 $100\mu\text{mol/l}$ と粒径10～25 μm の $\text{W}_{28}\text{O}_{58}$ 粉末濃度 $100\mu\text{mol/l}$ との混合物(実施例26)又は粒径10～50のNi粉末濃度 $100\mu\text{mol/l}$ と粒径10～25 μm の $5(\text{NH}_4)_2\text{O} \cdot 12\text{WO}_3$ 粉末濃度 $100\mu\text{mol/l}$ との混合物(実施例27)の水溶液を添加し、実施例1で調整したNB I-3株の培養を行った。経時的なNB I-3株の増殖量を660nmの吸光度により測定した結果、30日経過後のいずれの実施例においてもNB I-3株は0であった。

13

請 求 の 範 囲

- 1) タングステン粉末及びタングステン化合物からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分として含むチオバチルス・チオオキシダンス生育阻害剤。
- 2) タングステン化合物を、 $W_{28}O_{58}$ 、 Na_2WO_4 、 $CaWO_4$ 、 $CaWO_4 \cdot H_2O$ 、 $CaWO_4 \cdot 2H_2O$ 、 $5(NH_4)_2O \cdot 12WO_3 \cdot nH_2O$ ($n=0 \sim 5$) 及びこれらの混合物からなる群より選択する請求の範囲1に記載の阻害剤。
- 3) 有効成分粉末の粒径が $0.005 \sim 0.2\text{ mm}$ である請求の範囲1に記載の生育阻害剤。
- 4) ニッケル粉末、ニッケル酸化物粉末及びこれらの混合物からなる群より選択されるニッケル類を更に含む請求の範囲1に記載の阻害剤。
- 5) ニッケル類の粉末粒径が $0.005 \sim 0.2\text{ mm}$ である請求の範囲4に記載の生育阻害剤。

(以下余白)

