

研究成果報告書

所属機関	職名	氏名
北海道大学 大学院 工学研究院	教授	川崎 了

研究テーマ

現地の微生物を利用した国土の新しい自己修復保全技術の開発

研究報告

1. 研究の背景と目的

海浜の砂や礫、あるいはサンゴや有孔虫などの遺骸が石灰質の物質により自然に固化したビーチロック(図-1)が国内外で報告されている。本研究の目的は、自然のビーチロック形成メカニズムを学ぶことで海岸域の微生物を利用した新しい国土の自己修復保全に関する技術、すなわち、港湾岸壁などのコンクリート構造物の自己修復保全および海浜堆積物の固化・安定化に関する基本技術を新たに開発することである。具体的には、海岸域の未利用資源である現地の微生物を用いて炭酸カルシウムの析出により固化した人工砂岩を作製し、港湾岸壁などで用いられるコンクリートの一軸圧縮強さ(UCS)である20~30 MPa程度を約1カ月で達成する自己修復保全に関する基本技術を新たに開発することをめざす。



図-1 沖縄県内に見られるビーチロック

2. 研究成果および考察

2.1 尿素分解菌の探索

炭酸カルシウムの析出に用いる微生物には、ウレアーゼを有する尿素分解菌を使用した。尿素分解菌の探索は、沖縄県(地点A, B, C)と北海道(地点D~J)の計10地点を対象とし、各地点で採取した土質試料を微生物の分離源とした。微生物の分離は、海岸域の試料にはZoBell 2216E培地と希釈液に人工海水を用いた。一方、陸域の試料にはNH₄-YE培地と希釈液に蒸留水を用いた。各地点の簡易ウレアーゼ活性試験で高いウレアーゼ活性を示した尿素分解菌の菌株は、16S rRNA遺伝子の部分塩基配列(約1,500 bp)による遺伝子配列を解析し、系統樹を作成して帰属分類群を推定した。

分離した菌株を用いた簡易ウレアーゼ活性試験で得られた主な結果は、次のとおりである。①分離した計430菌株のうち、pH値が8.5以上を示したのは、沖縄県の地点B, 北海道の地点D, E, H, Iの計5菌株であり、その中で最大のpH値は地点Bの9.1であった。②海岸域の地点B, E以外に、陸域の地点D, H, Iの3試料からもpH値が8.5以上を示す菌株が見つかった。③pH値が8.5以上を示した5菌株は、高いウレアーゼ活性を有する尿素分解菌として地盤材料の加速固化試験に利用できる可能性がある。

尿素分解菌の遺伝子解析および帰属分類群の推定を実施した結果、次のような成果が得られた。①地点Bの菌株は、*Pararhodobacter* sp.と推定される。また、バイオセーフティレベル(BSL)は、レベル2, 3に非該当である。②地点Dの菌株は、*Virgibacillus* sp.と推定される。また、BSLはレベル2, 3に非該当である。③地点Eの菌株は、*Bacillus safensis*と推定される。また、BSLはレベル1であり、人間に疾病を起こしたり、あるいは動物に対して獣医学的に重大な疾患を起こしたりする可能性がないもの(日和見感染を含む)である。④地点Hの菌株は、*Sporosarcina psychrophila*と推定される。また、BSLはレベル1である。⑤地点Iの菌株は、*Sporosarcina* sp.と推定される。また、BSLはレベル2, 3に非該当である。

2.2 シリンジを用いた砂の室内加速固化試験

シリンジの室内加速固化試験(図-2)は、沖縄県産のサンゴ砂(平均粒径D₅₀=0.7 mm)を内径22 mmのシリンジ内に入れ、最も高いウレアーゼ活性を有すると推定される地点Bの菌株の培養液を初日の1回のみ注入し、0.5 mol/Lの尿素と塩化カルシウムを含む固化溶液20 mLを1日1回の間隔でシリンジの

内外に注入および排出させた。試験ケースは、菌体培養液の光学密度 OD_{600} に着目し、 OD_{600} が2.304, 1.891, 1.012, 0.555の試験ケースCase 1, Case 2, Case 3, Case 4を設定した。なお、培養液が無添加のコントロールをCase 5とした。また、培養液を初日の1回のみ注入するCase 1については、1週間後に再注入を1回実施する別の試験ケースとしてCase 6を追加した。試験期間中の温度は $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ とし、試験を開始から2週間後に固化した供試体をシリンジ内から取り出し、供試体の側面部に対して1 cm間隔で計6回の針貫入試験を実施した。針貫入試験によって得られた針貫入勾配は、実験式を用いて供試体の推定UCSの算出に使用した。

Case 1~Case 4の供試体を用いて実施した針貫入試験による推定UCSの供試体分布より、次のことがわかった。
 ①Case 1およびCase 2の上端から1 cmの試験箇所において、推定UCSの値として約7 MPaが得られた。
 ②すべての試験ケースにおいて、供試体の上部から下部に向かって推定UCSの値が減少していく傾向が見られ、供試体内に析出した炭酸カルシウムの不均質性が認められた。
 ③培養液に含まれる菌体数の違いがUCSに与える影響に関しては、菌体数すなわち OD_{600} の値に比例して推定UCSが大きくなる傾向が見られた。

一方、再注入を実施したCase 6の供試体を用いて得られた針貫入試験による推定UCSの結果より、次のことがわかった。
 ①供試体(図-3)の上端から1 cmの試験箇所において、推定UCSの値として約10 MPaが得られた。
 ②再注入を実施したことによって、推定UCSの値の供試体分布が7 MPa付近の一定値となったことから、均質な推定UCSを持つ供試体を加速固化させるためには培養液の再注入が有効であることが示唆された。

同様のシリンジ加速固化試験を北海道の地点Iの菌株を用いて実施したところ、温度 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ で2週間後における固化した三河珪砂($D_{50}=0.6\text{ mm}$)の推定UCSとして約3 MPaが得られた。地点Bは沖縄県の海岸域であり、地点Iは北海道の陸域であることから、①炭酸カルシウムを析出させることで砂を固化させる尿素分解菌は地域に関係なく現地に存在する可能性が高いこと、②加速固化試験の開始から2週間で3~10 MPa程度の推定UCSとなる砂供試体を得られること、などが明らかとなった。

2.3 小型土槽を用いた砂の室内加速固化試験

前記したシリンジサイズの供試体からのスケールアップを目的として、小型土槽を用いた砂の室内加速固化試験を実施した。図-4に示すように、高さ11 cm×横20 cm×奥行12.5 cmの透明プラスチック製ケースの中に三河珪砂($D_{50}=0.6\text{ mm}$)を高さ9 cmの供試体となるまで入れ、地点Bの菌株を用いた培養液1,250 mLを初日と1週間後に各1回供給した。0.5 mol/Lの尿素と塩化カルシウムを含む固化溶液1,500 mLは、試験開始初日から21日後まで1日1回の間隔で供給および排出させた。試験終了後は、直ちに直径3 cm×高さ6 cmの円柱形供試体として成形し、固化した供試体のUCSを求めた。各供試体内に析出した炭酸カルシウムの定量は、塩酸を用いた溶解処理の前後における質量差により求め、さらに三河珪砂との質量比である炭酸カルシウム析出比として算出した。

得られた試験結果を、UCSと炭酸カルシウム析出比の関係として整理したものを図-5に示す。同図には、①UCSの値は1~10 MPa程度となっていること、②炭酸カルシウム析出比は0.1~0.3程度となっていること、③UCSと炭



図-2 シリンジ室内加速固化試験



図-3 固化した砂供試体

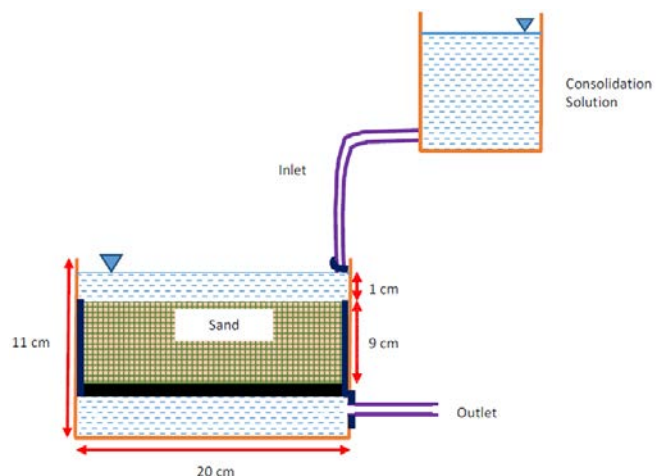


図-4 小型土槽の室内加速固化試験

酸カルシウム析出比の関係は下に凸の2次曲線で表現できること、などが示されている。

3. 将来展望

海岸域における適用に限らず、将来的には陸域の道路法面や河川堤防、農業用水路などの修復保全技術として、例えば食品廃棄物であるホタテやカキなどの貝殻、卵の殻などがカルシウム源として安価に利用することが可能となれば、廃棄物の資源化および有効活用の面で好都合となることから、本技術の新たな適用先の拡大につながる可能性がある。

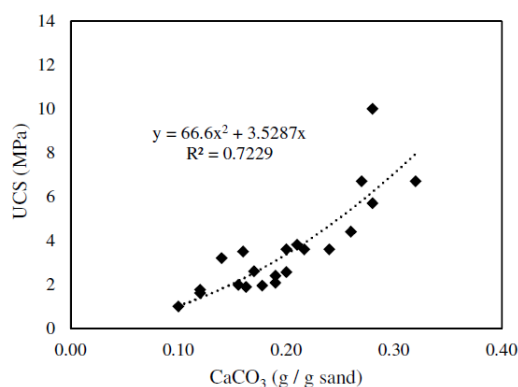


図-5 小型土槽の室内加速固化試験の結果

4. 研究発表

- 1) Masahiro Fujita, Kazunori Nakashima, Varenyam Achal and Satoru Kawasaki: Whole-cell evaluation of urease activity of *Pararhodobacter* sp. isolated from peripheral beachrock, *Biochemical Engineering Journal*, 124, 1-5, 2017.
- 2) Shumpei Mitsuyama, Kazunori Nakashima and Satoru Kawasaki: Evaluation of porosity in biogrooted sand using microfocuss X-ray CT, *International Journal of GEOMATE*, 12(31), 71-76, 2017.
- 3) M. N. H. Khan, S. Kawasaki and M. R. Hassan: Sand solidification through microbially induced carbonate precipitation for erosion control: Prospects in Bangladesh, *Journal of Environmental Science and Natural Resources*, 9(1), 59-61, 2016.
- 4) M. N. H. Khan, S. Shimazaki and S. Kawasaki: Coral sand solidification test through microbial calcium carbonate precipitation using *Pararhodobacter* sp., *International Journal of GEOMATE*, 11(26), 2665-2670, 2016.
- 5) Takashi Danjo and Satoru Kawasaki: Microbially induced sand cementation method using *Pararhodobacter* sp. strain S01, inspired by beachrock formation mechanism, *Materials Transactions*, 57(3), 428-437, 2016.