

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01428

研究課題名（和文）岩石の選択・集中的な自己修復を可能とするバイオセメンテーション技術の開発

研究課題名（英文）Development of biocementation technology for self-healing with selective and concentrative function

研究代表者

松原 仁（Matsubara, Hitoshi）

琉球大学・工学部・教授

研究者番号：50414537

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,900,000 円

研究成果の概要（和文）：劣化した岩石を選択・集中的かつ自己組織的に修復する技術に関する研究に取り組んだ。現地調査では、地盤固化を可能とする微生物が近縁なDNA配列を有していることが明らかになった。室内実験では、砂質土に微生物と繊維材を導入することで、炭酸塩の析出箇所を空間的に制御し、集中的な修復が可能であることを確認した。さらに、本研究で開発したシミュレータでもこの現象を再現することができた。加えて、X線CT解析では、修復後の供試体の3次元構造を可視化し、せん断帯を伴う破壊過程まで捉えるにも成功している。これらの一連の成果は、岩石の選択・集中的かつ自己組織的な修復技術の実現可能性を強く示唆するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微生物を利用した地盤修復技術は国際的に多くの研究者が取り組んでいるが、微生物の代謝反応を特定の箇所に集中させてコントロール的に修復する技術を実現した例は本研究以外に見当たらない。さらに、修復された試料を最新のナノX線CTで可視化し、そのメカニズムをシミュレーションで再現した例も他にない。これらの成果は微生物を用いた地盤改良技術に関する知見を大きく広げるものであることから、学術的な意義は極めて大きい。加えて、本研究で開発したシミュレーションモデルは、地盤修復ダイナミクスをコンピュータ上で予測することも可能にすることから、地盤の将来予測や防災の観点からも社会的に重要な意義を持つ。

研究成果の概要（英文）：This study aims to develop a technique for the self-organizational repair of deteriorated rocks. Field surveys revealed that microorganisms useful for soil stabilization possess relatively similar DNA sequences. Laboratory tests demonstrated that the introduction of microorganisms and fibrous materials to the targets allows for spatial control of carbonate precipitation, enabling selective and intensive repair. This effect was also successfully reproduced using the simulator developed for this study. Additionally, X-ray CT analysis enabled the acquisition of three-dimensional CT images of the solidified samples, capturing the destruction processes along with shear bands. The series of findings indicate the feasibility of self-organizing repair techniques of deteriorated rocks.

研究分野：地盤工学，地圏工学

キーワード：岩内微生物 バイオセメンテーション 自己修復 ナノX線CT 反応拡散系 シミュレーション

### 1. 研究開始当初の背景

岩石には無数の亀裂や孔隙が存在し、地下水の流れに伴う物理的侵食や化学的溶解などの風化作用は、斜面崩壊や落石などの地盤災害を誘発する。近年多発している無降雨・無地震下での斜面崩壊は岩石風化が地盤災害に直接関与した典型的な事例であり、前触れもなく突発的に発生するために人命を損なう可能性も高い。例えば、大分県耶馬溪町(2018年4月)や神奈川県逗子市(2020年2月)で発生した斜面崩壊では複数の人命が失われている。このように、岩石の風化は岩盤の安定基盤としての本来の役目を人間生活に対する脅威に変える要因となり得る。したがって、時々刻々変化する岩石内部の状態を自己組織的に判断し、脆弱部を選択・集中的に修復できる新しい岩盤修復技術の開発が望まれる。

一方、空間的な活動スケールがナノレベルであるために無視されてきた岩内微生物が、実は岩石の鉱化作用に大いに関与していることが知られている。琉球列島においては、地質学的な時間スケールが必要と考えられていた微生物鉱化現象が、数カ月から十数年という比較的短い期間で起こることが明らかになっている。そこでは、網目状に発達した細胞外高分子物質(EPS: Extracellular Polymeric Substances)が方解石の結晶群の表面や間隙に存在し、EPSの内部では炭酸カルシウムの微結晶が多く生成されていた。つまり、岩内微生物が岩石を構成する粒子の力学的安定性にも寄与していたのである。また、沖縄島の海岸から採取した尿素分解菌(*Pararhodobacter* sp.)を利用し、離散状態にある砂粒子の固結にも成功した事例もある。これらの研究成果は、脆弱化した岩石を日本国内に潜在している岩内微生物の力を用いて修復できる可能性を示唆する。

以上のことから、岩石修復を可能とする土着の岩内微生物の代謝反応を活発化させ、脆弱部を選択的かつ集中的に修復できる機能を付加することで、岩石全体を自己組織的に一体化する技術の開発が期待される。

### 2. 研究の目的

本研究では、劣化した岩石を選択的かつ集中的に自己組織的に修復できる技術の開発を指向し、岩石を修復できる土着の微生物と岩石種および各種環境因子との関連性を明らかにすると共に、微生物相の動態を制御・予測できる手法の開発を目的とした。具体的には、岩内微生物の嗜好性を考慮し、岩石にセルロース繊維材や微弱電流を添加・供給することで、岩内微生物の代謝反応を岩石内部の亀裂や孔隙部で選択的かつ集中的に活発化させることを想定した。そして、微生物による構造修復ダイナミクスを最先端のナノ X 線 CT 技術によって解明し、微生物の増殖・拡散と代謝、鉱化反応等を考慮できる数理モデルを開発することとした。

本研究は、選択・集中的な岩盤修復技術の創生に関わる根源的な意義を持ち、以下の学術的な問いに答えるものである。

- 問い 1 固化に有効な微生物相はどのような環境に生息するか、また、遺伝子的にどのような関係にあるか。
- 問い 2 岩内微生物による岩石脆弱部の選択的かつ集中的な修復をどのように実現するか。
- 問い 3 岩石の修復ダイナミクスに伴うナノ空間構造の変化とマクロ強度発現との関連性はどのようなものか、また、それをどう評価するか。
- 問い 4 ナノ空間における微生物鉱化とマクロ領域における岩石の力学特性の変化をどのように結びつけ、評価するか。

### 3. 研究の方法

本研究では、前述の学術的な問いを解決するために、以下の4つのアプローチに沿って研究を進めることとした。

#### (1) アプローチ 1: 実環境における微生物相と鉱化機構の解明

琉球列島と北海道における凝灰岩及び砂岩の露頭を対象にして、微生物相に関しては岩石サンプル内の細胞をビーズ粉砕法によって破砕し、PCR法によってリボソームRNA(rRNA)遺伝子を増幅させた後、超並列シーケンサによって塩基配列を解読することで得た。そして、原位置で得られた岩石強度等の力学指標と、各種元素濃度やpH等の化学的指標を合わせて考察することで、実環境における微生物鉱化機構を環境因子の観点から解明することとした。一方で、岩内微生物は岩石風化に対しても影響を及ぼしている可能性が指摘されている。本研究では、実環境における微生物学的鉱化作用に加えて、岩石の微生物学的風化作用の実態についても併せて調査することとした。

#### (2) アプローチ 2: 岩内微生物代謝反応の制御手法の開発

岩内微生物は、現地より採取した株の利用を前提とし、ウレアーゼ活性を有する尿素分解菌とシアノバクテリアを主とする光合成微生物を議論の中心に据えて検討することとした。現

地より採取した微生物株に関しては、それぞれの代謝機構や機能、修復速度を室内実験及び16S rRNA 遺伝子解析を通して明らかにし、その適用可能性を明確化した。また、脆弱部の選択・集中的な修復機能を付加するために、セルロース繊維材の添加及び微弱電流の供給による岩内微生物の活性制御を試みた。ただし、微弱電流の供給に関しては、微生物を添加せずとも岩石を選択的かつ集中的に自己組織的に修復できる可能性があることから、微弱電流のみの場合も検討することとした。

- (3) アプローチ3：ナノ空間構造の変化とマクロ強度発現との関連性評価  
岩石のナノ空間構造ダイナミクスをナノ X 線 CT 技術によって捉え、修復後の供試体の強度発現メカニズムを明らかにすることを目的とした。具体的には、粒子、繊維材、各種炭酸塩、空隙からなる微細空間を3次的に可視化し、材料相互の連結ネットワークを明らかにすることで修復効果を評価することとした。
- (4) アプローチ4：マルチスケール・マルチフィジックスモデルの開発  
繊維材の影響を加味した微生物鉱化現象を予測しうる数理モデルとシミュレータの開発を試みた。微小領域に関しては、微生物学的な鉱化作用の数理モデリングに注力することとし、微生物の代謝反応と生物拡散を考慮した反応拡散モデルに、移流項と生物学的な自己触媒反応項等を追加することでモデル化した。空間スケールの連携に関しては、微小領域モデルに均質化法を組み込むことで、微小領域における反応・拡散・増殖を加味したマクロ力学解析を実現した。具体的には、均質化法のユニットセル内部の材料係数を微小領域解析にて得られた炭酸塩密度とせん断波速度から外挿し、マクロ領域における均質化材料係数を均質化理論にて求めることとした。

#### 4. 研究成果

- (1) 実環境から採取した微生物群を用いた砂質土固化（問い1に関連）  
琉球列島の複数の沿岸域に生息し、かつ、砂質土の固化に有用な微生物を砂質土の固化実験と16S rRNA 遺伝子解析により明らかにした。結果として、試料を採取したすべての地点で有用微生物の存在が確認されたものの、固化の程度は採取地に依存することが明らかとなった。また、16S rRNA 遺伝子解析によって得られたDNA配列による分子系統樹からは、地盤固化に有用な微生物は比較的近縁なDNA配列を有していることが明らかになった（図1）。

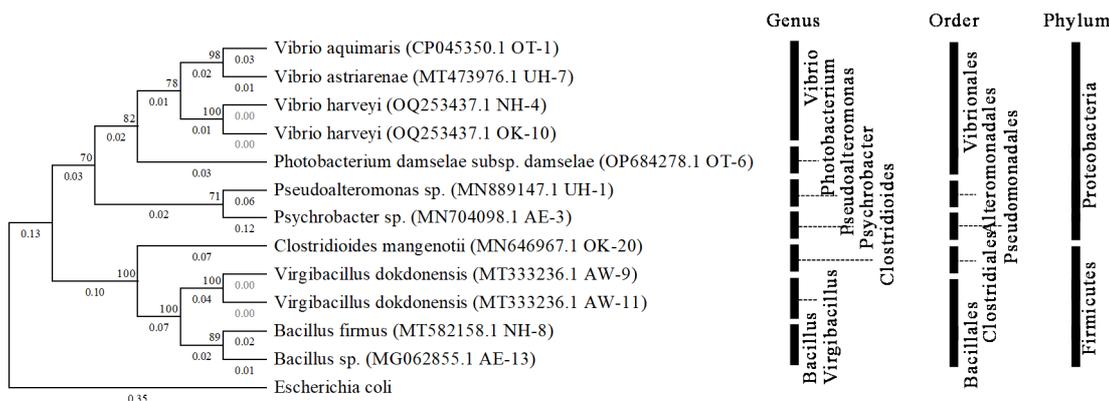


図1 砂質土の固化に有用な微生物の分子系統樹

屋比久雄斗，松原仁：沖縄沿岸域から採取した微生物群を用いた砂質土固化とその特徴，土木学会論文集，79(8)，23-00020，2023.

- (2) 実環境における岩石風化と微生物作用の関係（問い1に関連）  
北海道南西部に存する複数の凝灰岩露頭を対象とし、それらに潜む微生物種を16S rRNA 遺伝子解析により同定し、露頭表面で発生する岩石風化現象と岩内微生物種との関連性を明らかにした。結果として、岩石や土壌中から金属イオンが *Actinobacteria* や *Cyanobacteria* が排出する有機リガンドによって分離される可能性が明らかになった。これは、有機リガンドが岩石風化を助長していることを意味する。また、強度が低い凝灰岩や砂岩に多くの微生物が存在している可能性があり、菌叢の多様性も岩石種に依存している可能性が認められた。上記の内容は本研究の主眼とは異なるが、その重要性に鑑みて、今後も継続的に検討することとした（一部の内容は講演論文として公表済みである）。
- (3) 砂質土における炭酸塩析出の空間制御：セルロース繊維材の活用（問い2に関連）  
天然由来および人工の繊維（バガス繊維，古紙繊維，PET 繊維）を混合した砂試料に微生物を添加し、各繊維材の劣化抑制効果について検討した。室内実験の結果、天然由来の繊維材であるバガス繊維と古紙繊維を混合した砂試料において、繊維材表面・内部に多くの炭酸塩

が析出し、繊維材自体を炭酸カルシウムで保護することが明らかとなった(図2)。これは、炭酸塩の析出箇所を繊維材にて空間的に制御できることを意味する。また、炭酸塩の析出過程に関して、反応拡散理論に基づく数値解析を実施したところ、実験値に近い範囲の炭酸カルシウム濃度を得るとともに(図2)、天然由来の繊維で見られた保護作用、または析出制御には溶媒中の各種イオンの分散抑制が深く関与していることが明らかとなった。

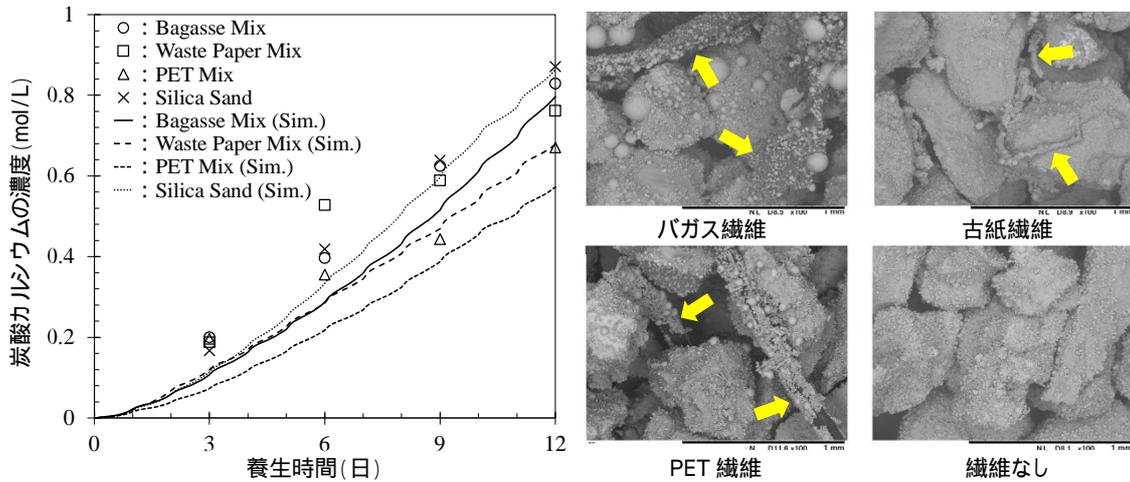


図2 解析結果と実験値の比較(左図), 繊維材周りに析出する炭酸カルシウムの様子(矢印は繊維材)

松原仁, 屋比久雄斗, 西村伊吹: 短繊維混合砂におけるMICP過程の機構解明, 土木学会論文集, 79(6), 22-00328, 2023.

- (4) 凝灰岩内表面および砂質土における炭酸塩析出: 微弱電流の活用(問い2に関連)  
電着法を多孔質性の凝灰岩に適用したところ, カソード側における還元反応が電着物の生成を促し, 岩石の孔や亀裂を選択的に埋めて表面硬度を増加させることが明らかになった。さらに, 微弱電流を長時間作用させることで, カルサイトやマグネシウムカルサイトなどの安定した結晶析出が促進されることが分かった(図3)。この結果は, 凝灰岩の自己組織的な亀裂修復と孔充填が可能であることを示唆する。また, 本手法を網目構造の電極を用いて砂質土に適用したところ, カソード側に近い領域にある砂質土の間隙を電着物で埋め, 固化を誘発することが明らかになった。以上の内容について, 現在論文にまとめ査読を受けているところである。

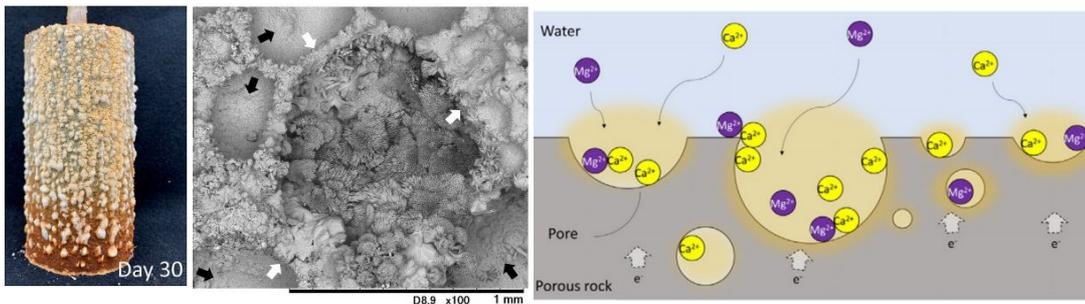


図3 多孔質岩モデルにおける電着物の析出(左: 外観, 中: 微細構造(白矢印が電着物), 右: イオン吸着機構)

Hitoshi Matsubara and Kosumo Kamimura: Use of electrodeposition to realise the crack-healing and pore-filling of weathered rock: a small specimen case, Soils and Foundations, 62(1), 101100, 2022.

- (5) 微生物を用いた構造修復: ナノ空間構造の解明(問い3, 問い4に関連)

微生物の代謝反応を利用して固化した供試体(繊維材あり, 繊維材なし)の3次元CT画像の取得に成功し, CT装置内における載荷試験では, 大きなせん断帯を伴いながら破壊する様子を捉えることができた(図4)。実験観察の結果, 修復された供試体では, 強度の面で砂粒子に劣る炭酸カルシウムの部分が破壊することでせん断帯が形成されることが分かった。また, 繊維材が分布している箇所では破壊が少なかったことから, 繊維材が試料を選択・集中的に強化していることが考えられた。加えて, CT解析で得られた空間座標データ(ボクセルデータ)を利

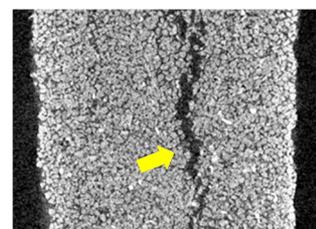


図4 CT画像断面(せん断帯)

用できるシミュレーション技術を開発し、炭酸カルシウムの析出解析に供したところ、計算された固化パターンは実験で観察されたパターンに極めて似ていることが分かった。特に、一部の炭酸カルシウムは砂粒子を架橋しているように生成しており、試料全体の強度発現が架橋構造にあることが数値シミュレーションからも確認することができた。以上の内容について、現在論文にまとめ査読を受けているところである。

(6) マルチスケール・マルチフィジックスモデルの開発 (問い4に関連)

砂質土における微生物の成長過程を導入した新しい地盤修復シミュレーション技術を開発し提案した。本技術では、微生物の成長には反応拡散系モデルが、微視スケールと巨視スケールの連成には均質化法が適用された。シミュレーションの結果、実験値との多少の差はみられたものの同一のオーダーで計算可能であることが分かった。また、本シミュレータを用いることで、析出物質である炭酸カルシウムが粒子を架橋し、新たな骨格構造を形成することで強度増加を図っている等の強度発現メカニズムの解明も可能となる(上記の(5)は本シミュレータを応用したもの)。さらに、粒子表面の電荷を導入した新たなモデルの構築にも成功し、より高い精度の解が得られるようになった(図5)。したがって、微生物の代謝反応を利用した砂質土固化現象について、シミュレーションを通じたモニタリングの基盤は整ったと考えられる。

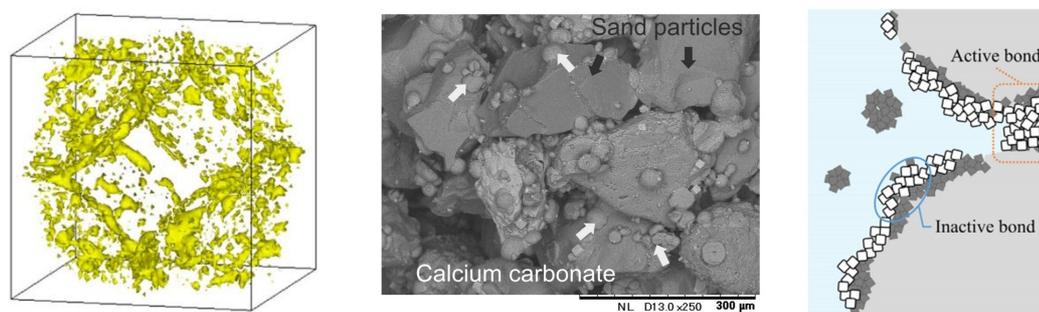


図5 シミュレーション結果の定性比較とメカニズム(左:炭酸カルシウムの析出解,中:炭酸カルシウムの析出実験の様子,右:粒子表面におけるアクティブボンド)

Ibuki Nishimura and Hitoshi Matsubara: Multi-scale integration simulation of microbially induced carbonate precipitation using reaction-diffusion and homogenization models, *Bulletin of Engineering Geology and the Environment*, 81, 460, 2022.

西村伊吹, 松原仁: 反応拡散理論に基づく MICP シミュレーション技術の開発, *材料*, 71(1):59-66, 2022.

Ibuki Nishimura and Hitoshi Matsubara: Electricity-reaction-diffusion system for microbially induced carbonate precipitation, *Soils and Foundations*, 62(5), 101217, 2022.

以上のように、本研究では前述の学術的問いに対して、一定の解を提示できたと考えている。しかしながら、提案した数理モデルは結晶変態を省略した巨視的な枠組みに基づいており、分子レベルでは正確性を欠いている。そのため、微視的領域での正確性が求められる場合は、結晶変態を考慮できるようなモデルを新たに導入する必要がある。また、現地調査により、岩盤露頭の風化を促進している微生物群集が少なからず存在していることが明らかになった。このことは、微生物鉱化・風化現象の可逆性/不可逆性について、より詳細な議論が必要であることを示唆している。これらの課題に関しては、現在査読中の論文の完遂に努めながら、積極的に取り組んでいく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nishimura Ibuki, Matsubara Hitoshi	4. 巻 81
2. 論文標題 Multi-scale integration simulation of microbially induced carbonate precipitation using reaction-diffusion and homogenization models	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bulletin of Engineering Geology and the Environment	6. 最初と最後の頁 460
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10064-022-02957-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishimura Ibuki, Matsubara Hitoshi	4. 巻 62
2. 論文標題 Electricity-reaction-diffusion system for microbially induced carbonate precipitation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Soils and Foundations	6. 最初と最後の頁 101217
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.sandf.2022.101217	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 西村伊吹, 松原仁	4. 巻 71
2. 論文標題 反応拡散理論に基づくMICPシミュレーション技術の開発	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 材料	6. 最初と最後の頁 59～66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2472/jsms.71.59	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 屋比久雄斗, 松原仁	4. 巻 2022
2. 論文標題 沖縄沿岸域における地盤固화를可能とする土着微生物の同定	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 第15回地盤改良シンポジウム論文集	6. 最初と最後の頁 525～530
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 西村伊吹, 松原仁	4. 巻 2022
2. 論文標題 露頭表層における藻類の炭酸塩析出現象に関するシミュレーション研究	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 第15回地盤改良シンポジウム論文集	6. 最初と最後の頁 207 ~ 212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 上西遼, 松原仁	4. 巻 2022
2. 論文標題 光合成微生物を用いた砂質土の安定化	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 第15回地盤改良シンポジウム論文集	6. 最初と最後の頁 51 ~ 56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松原仁	4. 巻 71
2. 論文標題 土と岩と微生物をつなぐ	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 材料	6. 最初と最後の頁 126 ~ 126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2472/jsms.71.126	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hitoshi Matsubara and Kosumo Kamimura	4. 巻 62(1)
2. 論文標題 Use of electrodeposition to realise the crack-healing and pore-filling of weathered rock: a small specimen case	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Soils and Foundations	6. 最初と最後の頁 101100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sandf.2021.101100	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 I. Nishimura and H. Matsubara
2. 発表標題 Mathematical and numerical modelling of biomediated soil improvement
3. 学会等名 15th World Congress on Computation Mecchanics ( 国際学会 )
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Matsubara and I. Nishimura
2. 発表標題 Mathematical and numerical modelling of photoautotrophic calcification on rock surface
3. 学会等名 15th World Congress on Computation Mecchanics ( 国際学会 )
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村伊吹, 松原仁
2. 発表標題 MICP現象に伴う土粒子の固着現象に関する解析的検討
3. 学会等名 第57回地盤工学研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新山裕介, 椋木俊文, 坂本凌雅, 羊嘉儀, 松原仁, 屋比久雄斗, 駒都慎
2. 発表標題 ナノX線CTを用いた微生物代謝による改良地盤材料の内部構造の可視化
3. 学会等名 令和3年度土木学会西部支部研究発表会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	川崎 了  (Kawasaki Satoru)  (00304022)	北海道大学・工学研究院・教授   (10101)	
研究 分担者	椋木 俊文  (Mukunoki Toshifumi)  (30423651)	熊本大学・大学院先端科学研究部(工)・教授   (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------