

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：18001

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18754

研究課題名（和文）珪酸塩固定を実現する新しいジオバイオテクノロジーの創生

研究課題名（英文）Development of a novel geo-biotechnology for silicate fixation

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） 4,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、高強度かつ経年劣化に強い次世代の岩石修復技術として、珪酸塩鉱物の析出と固定化を誘発する微生物を用いた新しいジオバイオテクノロジーの創生に挑んだものである。現地調査の結果、粟国島で観察される珪酸塩鉱物の生成には微生物が深く関与している可能性が極めて高く、年輪状の内部構造は炭酸カルシウムにて補強されていることが明らかとなった。また、現地露頭から分離培養した微生物を利用することで、珪酸塩鉱物の析出を人工的に誘導できることを見出した。本成果は次世代の地盤改良技術の幅を大きく広げるものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微生物を用いた地盤修復技術は炭酸塩の析出技術に拠るところが大きく、最近になって脱窒細菌によって飽和砂地盤を不飽和化する技術が提案されたに過ぎない。このような状況下において、実環境に存する珪酸塩鉱物の微細構造や生成と微生物の関連性を明らかにし、現地露頭から分離培養した微生物を用いて珪酸塩鉱物の析出を人工的に誘導した例は本研究以外に見当たらない。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り、学術的な意義は極めて大きい。また、本技術は最終的には地盤災害の軽減化を目指すものであるため、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 aimed to pioneer a geobiotechnology called MISP (Microbially Induced Silicate Precipitation) technology. Envisioned as an advanced method for rock restoration, it is expected to boast exceptional durability and resilience against the effects of aging. Field investigations revealed that microorganisms are deeply involved in the formation of silicate minerals observed on Aguni Island, and it was found that their internal annular structures are reinforced with microbially induced calcium carbonate. Furthermore, it was found that silicate minerals could be artificially precipitated by employing microorganisms isolated and cultured from the island outcrops. These findings greatly expand the potential for advancing next-generation ground improvement technologies.

研究分野：地盤工学，地圏工学

キーワード：珪酸塩 ジオバイオテクノロジー MISP 自己修復 地盤修復

1. 研究開始当初の背景

近年多発する無降雨・無地震下での地盤災害に相まって、環境性に優れた次世代型の地盤修復技術の開発が求められており、特に、微生物の代謝反応を利用した修復技術(MICP: Microbially Induced Carbonate Precipitation)は世界的に注目されている。この技術は、微生物の代謝反応によって誘発され析出した炭酸塩鉱物によって離散化した土粒子を結合させ、地盤の強度を高めようとするものであり、次世代のジオバイオテクノロジーとして期待されている。しかしながら、修復の要となる炭酸塩鉱物の地下水や雨水による溶解、経年劣化による強度低下等が懸念されており、持続性の面で疑問が残る。

このような状況下において、報告者らは沖縄県粟国島において、角礫凝灰岩の表面及び亀裂境界部に指状の珪酸塩鉱物が析出しているのを発見した(図1(A))。走査型電子顕微鏡(SEM)による観察の結果、図1(B)に示すように、その内部には大量の珪藻類が存在していたことから、この珪酸塩鉱物が珪藻類由来の珪藻鍾乳石であると結論づけた。一般に、珪酸塩鉱物は水に不溶で、かつ高い強度を有していることから、脆弱な岩石の内部で珪藻鍾乳石の自己組織的な析出を人工的に誘発させることができれば、地盤災害を軽減できる可能性がある。しかしながら、珪藻鍾乳石の成長には光エネルギーが必要であり、光の届かない岩石内部でこれを実現するのは難しい。一方、珪藻鍾乳石は、珪藻類が沈積することのみで硬化し、成長しているとは考え難く、そのセメンテーション作用には、珪藻類と共生している別の微生物が主要な働きをしていると考えられた。すなわち、死した珪藻類を分解し、珪酸塩の固定化している微生物の存在が想起された。

以上のことから、これらの微生物を用いた新しいジオバイオテクノロジーの開発が期待される。

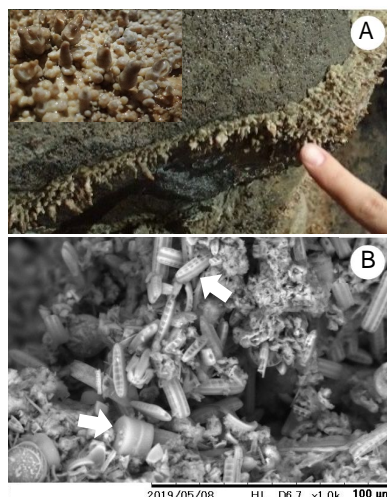


図1 指状珪酸塩鉱物。A: 外観, B: SEM画像(矢印:珪藻類)

2. 研究の目的

本研究では、高強度かつ経年劣化に強い次世代の岩石修復技術の確立を目指し、珪酸塩鉱物の析出と固定化を誘発する微生物を探索し、これを用いた新しいジオバイオテクノロジー(以後、MISP技術: Microbially Induced Silicate Precipitation Technology と呼ぶ)の創生に挑むこととした。具体的には以下の2点を研究の目的とした。

- (1) 指状珪酸塩鉱物の形態・菌相分析と強度発現メカニズムの解明
指状珪酸塩鉱物の微細領域における構造的および化学的特徴を明らかにし、鉱物内部に生息する微生物群集の構造(菌叢構造)を特定することで、当該鉱物の強度発現メカニズムを解明する。
- (2) 珪酸塩鉱物の析出を誘発する MISP 技術の確立
現地から採取、培養した微生物または微生物群集を用いて、短時間で珪酸塩鉱物の析出を誘発する技術を開発する。ただし、珪酸塩鉱物の析出実験は実験室スケールで行い、実環境スケールは対象としない。

3. 研究の方法

本研究では、前述の2つの目的を達成するために、以下の2つのアプローチに沿って研究を進めることとした。

- (1) 指状珪酸塩鉱物の形態・菌相分析と強度発現メカニズムの解明
原位置にて、各種イオン量、各種元素濃度、酸化還元電位、pH、強度を測定し、指状珪酸塩鉱物が存在している環境特徴を抽出した。原位置から得たサンプルは、粉末X線回折法によって鉱物を同定し、SEM画像解析(EDS解析も含む)によって微細構造および元素分布を明らかにした。湧水に関しては、ICP質量分析によって成分構成を特定し、実験に用いる疑似湧水に供した。また、珪酸塩鉱物の内部周辺に生息している微生物群集の構造を明らかにするために、サンプルの細胞はビーズ粉砕法によって破碎し、PCR法によってリボソームRNA(rRNA)遺伝子を増幅させた後に、超並列シーケンサーによって塩基配列を解読した。
- (2) 珪酸塩鉱物の析出を誘発する MISP 技術の確立
本研究では、珪藻類や藻類等の光合成微生物に加えて、光合成を行わない微生物の影響も同時に調査する。そこで、光合成微生物群集とその他の微生物群集に分けたバッチ試験を行う

こととした。光合成微生物群集に対しては、実験室内で BG-11 液体培地を使って培養した微生物群集を用い、微生物濃度と珪酸塩鉱物濃度の関係を見出した（実験 1）。

光合成微生物以外のその他の微生物群集については、はじめに、現地の珪酸塩鉱物、湧水、母岩に生息する微生物群集を直接抽出し、Nutrient Broth 液体培地で培養した後、-60 の環境でグリセロールにて保存した。その後、保存した微生物群集を Nutrient Broth 液体培地を用いて復元し、現地湧水の主要成分を模擬した人工湧水中における珪酸塩鉱物の析出過程を観察した（実験 2）。

4. 研究成果

(1) 指状珪酸塩鉱物の形態と強度発現メカニズムの解明

本研究で注目している指状珪酸塩鉱物が形成されている母岩と、珪酸塩鉱物で覆われた部分の一軸圧縮強度は、それぞれ 21.36 ± 6.21 MPa および 13.67 ± 7.12 MPa と推定された（シュミットハンマーによる打撃試験に基づく推定値）。これにより、本鉱物は軟岩程度のマク口強度を持つことが明らかになった。

指状珪酸塩鉱物の直径と長さは、それぞれ 2.46 ± 0.88 mm および 9.05 ± 4.45 mm であり、断面には年輪状の構造が見られた（図 2A）。興味深いことに、間隙には炭酸カルシウムが析出しており（一部は炭酸カルシウムで充填されていた）、炭酸カルシウムが当該鉱物の強度を補強しているかのように観察された（図 2B）。粉末 X 線回折分析の結果、この炭酸カルシウムは方解石とバテライトであることが確認された。さらに、間隙や鉱物表面には珪藻や緑藻などの微生物が存在していたため、鉱物内部や表面で MICP 反応が起こっている可能性が示唆された。また、炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) および窒素安定同位体比 ($\delta^{14}\text{N}$)、ならびに脱珪物処理されたサンプルの質量分析結果も、珪藻と緑藻が鉱物の形成に関与していることを示していた。以上のことから、当該鉱物の生成に微生物が深く関与している可能性は極めて高く、その構造は炭酸カルシウムにて補強されていることが明らかとなった。なお、本研究では、本珪酸塩鉱物の年成長率は 1.21 ± 0.31 mm であることも見出している（2019 年 10 月 19 日から 2021 年 12 月 10 日の 783 日間の推定値）。これは、当該鉱物が岩石の劣化を自己修復する能力を持つことを示唆している。

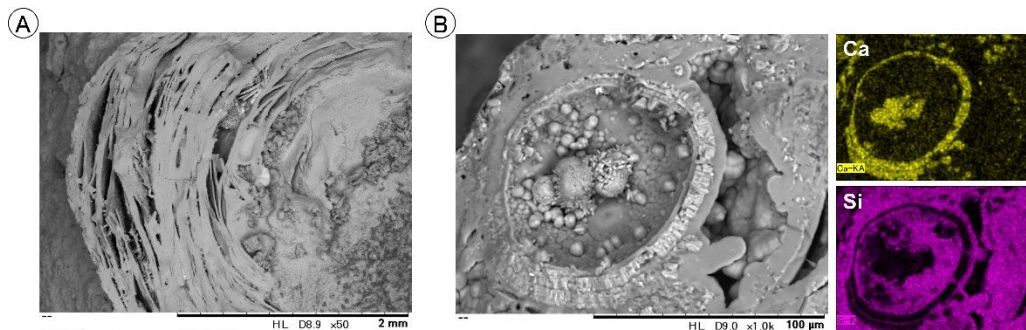


図 2 指状珪酸塩鉱物の微細構造。A: 断面構造（年輪状構造）、B: 炭酸カルシウムで充填された間隙。

Ryo Uenishi and Hitoshi Matsubara: Calcium carbonate growth with the ring structure of stalactite-type minerals in a tuff breccia, *Crystals*, 11(9):1117(1-12), 2021.

(2) 珪酸塩鉱物の析出を誘発する MISP 技術の確立（菌叢分析を含む）

16S rRNA 遺伝子解析の結果、当該珪酸塩鉱物には *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* 等の多様なバクテリアが生息していることが明らかになった（図 3）。シャノン指数（多様性指数）は 4.234 である。

光合成微生物を用いた実験（実験 1）では、珪酸塩鉱物の濃度が光合成微生物の総数（OD₇₃₀ にて評価）に比例して線形に増加することが明らかになった（図 4A）。また、SEM EDS 解析の結果（図 4B）、*Cyanobacteria* などの光合成生物がつくるバイオフィルムの周辺に珪酸塩が多量に析出することが分かった。本実験のように、低濃度低温の淡水環境において光合成生物が珪酸塩鉱物の析出に関与していることは極めて興味深い。

光合成微生物以外の微生物を用いた実験（実験 2）では、現地から採取・培養した微生物群集が含まれるすべてのケースにおいて、培養時間とともに珪酸塩鉱物の析出濃度が増加することが明らかになった（図 5）。微生物が珪酸塩鉱物の形成に関与するパターンはいくつか存在するが、母岩の岩石組成から水素結合を介していることが考えられた。この結果は、光合成生物以外の微生物もまた当該珪酸塩鉱物の生成に大きな役割を果たしていることを意

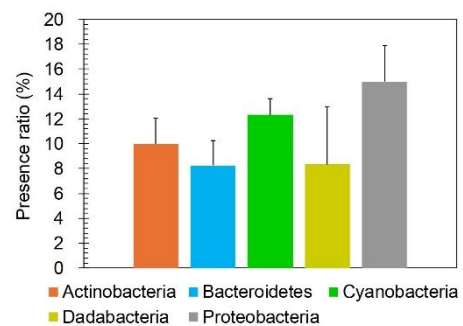


図 3 指状珪酸塩鉱物内の菌叢 (Phylum)

味する。また、本結果は、実地盤に対しても MICP 技術と同様に微生物を利用して珪酸塩鉱物の析出を人工的に誘導し、劣化部を自己組織的に修復できる可能性を示唆している。したがって、MISP 技術の実現可能性は大幅に向上したと考えられる。なお、以上の内容については、現在論文にまとめ査読を受けているところである。

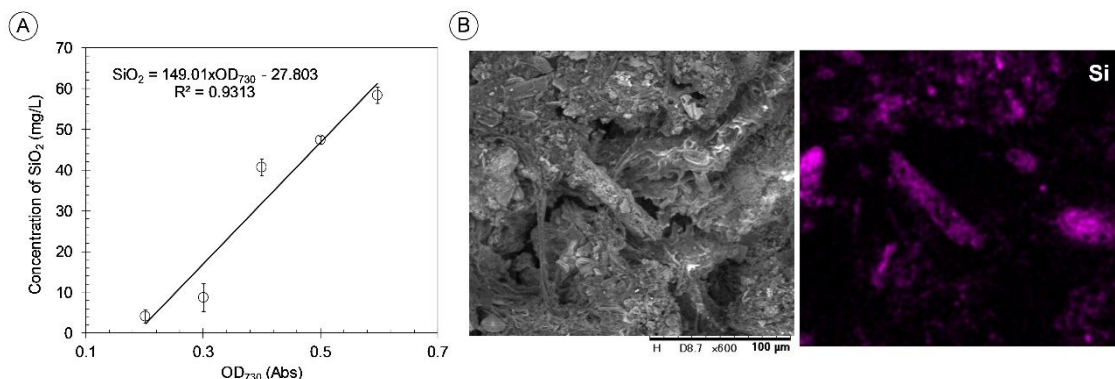


図 4 光合成微生物群集による酸塩鉱物の吸着。A: OD₇₃₀ と珪酸塩濃度の関係, B: SEM 画像と Si マップ

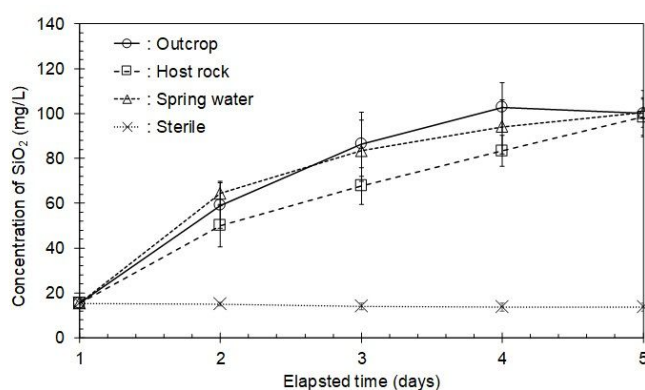


図 5 養生時間と珪酸塩濃度の関係 (光合成微生物以外の微生物群集による)

以上のように、本研究では設定した課題に一定の解を提示できたと考えている。しかしながら、立案し検証した MISP 技術を用いて、劣化した岩石や土を修復する段階には至っておらず、実問題への適用に関連する課題も生じる可能性もある。これらの点に関しては、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1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ryo Uenishi and Hitoshi Matsubara	4. 巻 11(9)
2. 論文標題 Calcium carbonate growth with the ring structure of stalactite-type minerals in a tuff breccia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Crystals	6. 最初と最後の頁 1117
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cryst11091117	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------