

令和元年5月15日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04404

研究課題名（和文）ビーチロック形成機構に学ぶ新しい国土修復保全技術の開発

研究課題名（英文）Development of a new land restoration and conservation technology learned from beachrock formation mechanism

研究代表者

川崎 了（KAWASAKI, SATORU）

北海道大学・工学研究院・教授

研究者番号：00304022

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、海岸域の自然材料（微生物、海水、海砂、貝殻片など）を用いてCaCO₃の析出により固化した人工ビーチロックを作製し、港湾岸壁のコンクリートの一軸圧縮強さ20～30 MPa程度を1カ月程度で達成する基本技術を新たに開発し、その有効性を確認することである。国内の海岸域においてウレアーゼ活性が高い尿素分解菌を探索した結果、沖縄県や北海道などの土質試料よりCaCO₃析出に適した菌株が発見された。また、砂供試体の室内加速固化試験を実施した結果、試験開始から3週間後に針貫入試験による推定一軸圧縮強さ約20 MPaが得られた。結論として、新たに開発された技術の有効性が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海岸コンクリート構造物の修復保全時に、コンクリートの材料となるセメントを使用せずにCaCO₃を使うことでCO₂排出量の削減に貢献できる。また、海岸侵食に対する国土保全に加え、地盤の液状化対策、河川堤防の修復保全などに関する対策技術の選択肢が増えることにつながる。将来的には、従来のコンクリート製による保全技術ではなく、現地の周辺材料で自然に加速固化する人工岩盤の自己形成・自己修復・自己保全技術としての適用が期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to develop man-made beachrocks cemented by precipitated CaCO₃, which were produced by using natural coastal materials. This technique endowed the man-made beachrocks with an unconfined compressive strength (UCS) of approximately 20-30 MPa after approximately one month of curing. The technique was newly developed in this study and validated for its effectiveness.

A search for ureolytic bacteria that yield high urease activity was conducted in coastal areas in Japan. Several types of discovered bacteria that exhibited suitable properties for precipitating CaCO₃ were isolated from soil samples in areas such as Okinawa prefecture and Hokkaido. Accelerated laboratory solidification tests on sand samples were performed using the bacteria. The results demonstrated that after three weeks, the samples yielded approximately 20 MPa of UCS as measured in needle penetration tests. In conclusion, the effectiveness of the newly developed technique was validated.

研究分野：地盤環境工学

キーワード：ビーチロック 炭酸カルシウム 微生物 国土保全

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

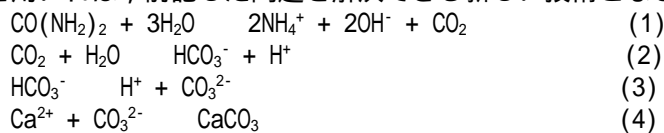
(1) 我が国の社会資本は高度経済成長期に大量に造られたが、その老朽化は著しく、今後 20 年間で急激に増大することが知られている。このような社会資本を戦略的に維持管理・更新していくことが求められているが、昨今および将来の厳しい財政事情を考慮すれば、例えば港湾岸壁などのコンクリート構造物については低コストで修復保全するだけでなく、その技術は低環境負荷であることに加えて自己修復能力を有していることが望ましい。

(2) また、近年の地球温暖化による海面上昇によって、ツバルやモルジブなどの環礁国家が存続の危機に直面している。さらに、海岸侵食による海岸線の後退が国内外を問わず深刻化しており、海水浴場に適した砂浜が年々減少している。よって、非常に重要な国土を保全していくために、海岸の砂や礫などの堆積物を低環境負荷かつ安価に海浜で安定化させるための新しい技術が国内外で必要とされている。

(3) 一方、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が国内外で報告されており、数十年以上の形成時間が必要な堆積岩と比較すれば、数十年という短期間で固化しているものがある。よって、ビーチロック形成に關与する現地の微生物などを活用し、港湾岸壁などのコンクリート構造物の修復保全や海浜堆積物の加速固化を実現することができれば、低環境負荷で低コストとなることが期待できるため、前記した問題の解決が可能となる。

(4) 研究代表者は、このビーチロック形成に海岸域の微生物が關与している可能性について検討するため、沖縄県名護市の海岸にあるビーチロック周辺の海砂より分離した尿素分解菌 *Pararhodobacter* sp. を用いて、 CaCO_3 の結晶化および砂供試体の固化に関する予備試験を実施した。その結果、カルサイトの結晶析出と砂供試体の固化 (1 カ月間で 2~3 MPa 程度の一軸圧縮強さ (UCS)) を確認した。

(5) 先行研究によるビーチロックの形成メカニズムとしては、海水からの析出、淡水からの析出、 CO_2 脱気による析出、海水と淡水の混合、などの解釈があり、国内外の会議や論文誌で議論されている。研究代表者の解釈は、ビーチロックが存在する現地に生息していた尿素分解菌の關与を考慮した以下の式 (1) ~ (4) による CaCO_3 析出反応であり、最も支持者が多い海水蒸発などによる前記海水からの析出と異なるが、実際に現地の海砂から分離した尿素分解菌を用いて砂を CaCO_3 により加速固化させることに成功している。すなわち、研究代表者の解釈を用いれば、前記した問題を解決できる新しい技術となる可能性が高い。



2. 研究の目的

(1) 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主に海岸域の微生物を利用した新しい国土の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自然材料 (微生物、海水、海砂、貝殻片、サンゴ片など) を用いて CaCO_3 の析出により固化した人工岩を作製し、港湾岸壁などで用いられているコンクリートの UCS である 20~30 MPa 程度を 1 カ月程度で達成する修復保全に関する基本技術を新たに開発し、その技術の有効性について評価することをめざす。

(2) 本研究課題では、具体的には次の 5 項目について研究を実施する。

- 尿素分解菌の探索
- 尿素分解菌の培養条件に関する検討
- 小型円筒容器を用いた地盤の室内加速固化試験
- 土槽を用いた地盤の室内加速固化試験
- 提案する技術の有効性評価

3. 研究の方法

(1) 最初に、「尿素分解菌の探索」に関する方法の概要について述べる。尿素の加水分解 (前記式 (1)) により生成されるアンモニアに着目し、地盤中の多種多様な微生物の中から尿素の分解酵素であるウレアーゼを生成する能力が高い尿素分解菌の探索を実施した。探索は、沖縄県、宮崎県、愛媛県、岡山県、宮城県、北海道を対象とし、これらの各地点で採取した土質試料を微生物の分離源とした。なお、海岸域のみならず、内陸域についても対象とした。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、内陸域の試料には NH_4 -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。

(2)次に、「尿素分解菌の培養条件に関する検討」の方法について概要を述べる。ここでは、土質試料より分離した高いウレアーゼ活性を持つ尿素分解菌の適切な培養条件について検討することを目的とし、液体培地内の菌体数に関しては、600 nmの波長を用いた吸光度を測定して得られる光学密度 (OD_{600}) を用いて評価を行った。できるだけ短い時間で多くの $CaCO_3$ を析出させることで UCS が大きい供試体を作製するためには、液体培地の菌体濃度が高いほど有利になると予想された。このことから、遠心分離により液体培地を濃縮する工程を追加した培養方法を適用することを考え、培養工程の各段階における OD_{600} の経時変化に着目した検討を実施した。

(3)続いて、「小型円筒容器を用いた地盤の室内加速固化試験」に関する方法の概要について述べる。小型円筒容器としてシリンジ (内径 22 mm) を用いた地盤の室内加速固化試験は、沖縄県産のサンゴ砂 (平均粒径 $D_{50} = 0.7$ mm) をシリンジ内に入れ、最も高いウレアーゼ活性を有すると推定される沖縄県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 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 °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。さらに、最も大きい推定 UCS が得られた試験ケースに関しては、シリンジよりもサイズが少し大きいカラム (内径 50 mm) を用いた室内加速固化試験を行った。なお、培養液の再注入は、シリンジを用いた試験の 2 週間から 3 週間に延長し、1 週間ごとに実施した。

(4)さらに、「土槽を用いた地盤の室内加速固化試験」に関する方法の概要について述べる。前記したシリンジおよびカラム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。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 ($D_{50} = 0.6$ mm) を高さ 9 cm の供試体となるまで入れ、沖縄県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 $CaCO_3$ 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 $CaCO_3$ 析出比として算出した。

(5)最後に、「提案する技術の有効性評価」に関する方法の概要について述べる。本研究によって新たに開発された基本技術の有効性について評価するために、固化した地盤材料供試体の UCS と低コスト化について検討した。なお、UCS は針貫入試験によって得られる推定 UCS を使用した。また、低コスト化については、試薬を使用した場合と試薬の代替品を使用した場合のコストを比較した。

4. 研究成果

(1) 一連の尿素分解菌の探索を実施した結果、次のことがわかった。沖縄県は海岸域を対象とし、高いウレアーゼ活性を有する菌株が見つかった。宮崎県は海岸域と内陸域の両方を対象とし、両方から高いウレアーゼ活性を有する菌株が見つかった。愛媛県は海岸域を対象とし、高いウレアーゼ活性を有する菌株が見つかった。岡山県は内陸部を対象とし、高いウレアーゼ活性を有する菌株が見つかった。宮城県は内陸部を対象とし、高いウレアーゼ活性を有する菌株が見つかった。北海道は海岸域と内陸域の両方を対象とし、両方から高いウレアーゼ活性を有する菌株が見つかった。

(2)前記(1)のうち、沖縄県の海岸域の菌株は *Pararhodobacter* sp. と推定され、バイオセーフティレベル (BSL) は、レベル 2, 3 に非該当であることがわかった。また、北海道の内陸部の菌株は *Sporosarcina* sp. と推定され、BSL はレベル 2, 3 に非該当であることがわかった。

(3) OD_{600} (Y) と希釈平板法による生菌数 (X) の間には、 $Y = 0.1306 \ln(X) - 2.0621$ なる関係がある。また、沖縄県の尿素分解菌である *Pararhodobacter* sp. の増殖曲線は、菌株添加量、液体培地量、振とう速度、などの影響を受ける。

(4)シリンジを用いた地盤の室内加速固化試験における 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。Case 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。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 CaCO_3 の不均質性が認められた。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。

(5)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。供試体の上端から 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。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。

(6)同様のシリンジによる地盤の室内加速固化試験を北海道の内陸域の尿素分解菌である *Sporosarcina* sp. を用いて実施したところ、温度 20 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。

(7)前記(4)~(6)の研究成果より、 CaCO_3 を析出させることで砂を固化させる尿素分解菌は、沖縄県から北海道まで、そして海岸域から内陸域まで、地域に関係なく地盤中に存在する可能性が高いこと、室内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。

(8)カラムを用いた室内加速固化試験で得られた主な結果は、次のとおりである。培養液の再注入回数の増加と試験期間の延長によって、推定 UCS が顕著に増加する傾向が見られた。培養液の再注入を 1 週間ごとに 3 週間後まで実施した試験ケースにおいて、砂供試体の推定 UCS の最大値として約 20MPa が得られた。

(9)有機酸が CaCO_3 の析出と砂供試体の固化に及ぼす影響について、シリンジを用いた室内加速固化試験により検討を行った。なお、使用したリンゴ酸ナトリウムの濃度は、0, 0.1, 1.0, 5.0 g/L の 4 種類とした。得られた主な結果は、次のとおりである。固化溶液にリンゴ酸ナトリウムが含まれていると、含まれていない場合に比べて推定 UCS が小さくなる傾向が見られた。

5 g/L 添加した場合は、添加量が 0.1 g/L や 1.0 g/L の場合と比べて推定 UCS の平均値が約 2 倍の 1 MPa 程度になった。電子顕微鏡 (SEM) で観察した結果、リンゴ酸ナトリウムを添加しない場合に針状であった結晶形が、添加量に応じて針状と異なる結晶形に変化した。エネルギー分散型 X 線分析 (EDX) によれば、リンゴ酸ナトリウムを添加すると、析出した CaCO_3 に人工海水由来のマグネシウムが含まれることが確認された。

(10)土槽を用いた地盤の室内加速固化試験を実施し、UCS と CaCO_3 析出比 (g/g sand) の関係を調べた結果、UCS の値は 1~10 MPa 程度となっていること、 CaCO_3 析出比は 0.1~0.3 程度となっていること、UCS と CaCO_3 析出比の関係は、下に凸の 2 次曲線 $Y = 66.6 X^2 + 3.5287 X$ で表現できること、などがわかった。

(11)また、土槽を用いた地盤の室内加速固化試験の実施中に、透明プラスチック製の土槽側面より分光測色計を用いた色計測を非破壊で行い、砂供試体の固化の程度 (品質) を定量的かつ簡易に評価できる有効なモニタリング手法について検討を実施した。その結果、分光測色計により得られた明度 L^* は析出した CaCO_3 の白色をよく反映しており、砂供試体の固化の程度 (品質) および CaCO_3 の析出量を非破壊、簡便、定量的に評価できることがわかった。

(12)本研究では、基本的にすべての室内試験において高品質・高純度の試薬を使用しているため、材料費の価格が非常に高くなっている。そこで、固化に必要な培養液と固化溶液を構成する材料に関して、使用量が多い、あるいは、価格が高いと考えられる材料として、尿素、塩化カルシウム、ニュートリエントプロスの 3 つに着目し、コストダウンに関する検討を実施した。得られた主な結果は、次のとおりである。培養液に関しては、固体培地から液体培地に変更することで約 80% のコストダウンとなった。固化溶液に関しては、試薬である尿素、塩化カルシウム、ニュートリエントプロスを、それぞれ市販の農業肥料用の尿素、道路の凍結防止剤の塩化カルシウム、産業廃棄物のビール酵母に変更することで、約 95% のコストダウンとなった。

(13)これまでの研究成果を踏まえ、本研究によって新たに開発された技術の有効性について評価した。その結果、目標としていた 20~30 MPa 程度の UCS を 1 カ月程度で達成することについては、試験を開始してから 2 週間後に約 10 MPa の推定 UCS が、そして 3 週間後に約 20 MPa の推定 UCS が、それぞれ得られていること、また、低コスト化に関しては、試薬の代替品を使用することで 80~95% の大幅なコストダウンに成功したことから、新たに開発された技術が地盤固化に関する基本技術として有効であることがわかった。

(14)以上のことから、本研究の実施によって得られた成果を総括すると、新たに開発された地盤固化技術は、港湾岸壁の修復・補強および海浜堆積物の固化などによる国土修復保全に関する基本技術として有効であると思われ、概ね見通しが得られたものと考えられる。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計29件)

Hamed A. Keykha, Hadi Mohamadzadeh, Afshin Asadi and Satoru Kawasaki: Ammonium-free carbonate-producing bacteria as an ecofriendly soil biostabilizer, *Geotechnical Testing Journal*, 42(1), 19-29, 2019, 査読有,
<https://doi.org/10.1520/GTJ20170353>

R. A. N. Dilrukshi, Kazunori Nakashima and Satoru Kawasaki: Soil improvement using plant-derived urease-induced calcium carbonate precipitation, *Soils and Foundations*, 58(4), 894-910, 2018, 査読有,
<https://doi.org/10.1016/j.sandf.2018.04.003>

Md. Al Imran, Mai Shinmura, Kazunori Nakashima and Satoru Kawasaki: Effects of various factors on carbonate particle growth using ureolytic bacteria, *Materials Transactions*, 59(9), 1520-1527, 2018, 査読有,
<https://doi.org/10.2320/matertrans.M-M2018830>

G. G. N. N. Amarakoon and Satoru Kawasaki: Factors affecting sand solidification using MICP with *Pararhodobacter* sp., *Materials Transactions*, 59(1), 72-81, 2018, 査読有,
<https://doi.org/10.2320/matertrans.M-M2017849>

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, 査読有,
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.04.004>

[学会発表](計72件)

Sivakumar Gowthaman, Shumpei Mitsuyama, Kazunori Nakashima, Masahiro Komatsu and Satoru Kawasaki: Bio-inspired stabilization of embankment soil mediating *Psychrobacillus* sp. and low-grade chemicals: Preliminary laboratory investigation, Eighth International Conference of Geotechnique, Construction Materials and Environment (GEOMATE 2018), 2018

Md. Al Imran, Kazunori Nakashima, Niki Evelpidou and Satoru Kawasaki: Applicability of coastal ureolytic bacteria to coastal protection in Greece, 2018 International Conference on Geomechanics and Engineering (ICGE18), 2018

T. H. K. Nawarathna, Kazunori Nakashima and Satoru Kawasaki: Effect of the organic biopolymer on the microbially induced carbonate precipitation and its morphology, Seventh International Conference on Geotechnique, Construction Materials and Environment (GEOMATE 2017), 2017

Satoru Kawasaki: Development of novel coastal conservation technology learned from beachrock formation mechanism, First International Workshop on Role of Microorganism and Thermo-Hydro-Chemico-Mechanical Process in Geoengineering and Geoscience, 2017 Shumpei Mitsuyama, Kazunori Nakashima and Satoru Kawasaki: Evaluation of porosity in biogROUTED sand using microfOCUS X-ray CT, Sixth International Conference of Geotechnique, Construction Materials and Environment (GEOMATE 2016), 2016

[図書](計3件)

G. G. N. N. Amarakoon and Satoru Kawasaki, Springer, Singapore, Utilization of Microbially Induced Calcite Precipitation for Sand Solidification Using *Pararhodobacter* sp., In: V. Achal and A. Mukherjee (eds), *Ecological Wisdom Inspired Restoration Engineering, EcoWISE (Innovative Approaches to Socio-Ecological Sustainability)*, 2018, 23

R. A. N. Dilrukshi and Satoru Kawasaki, Springer, Singapore, Effect of Plant-Derived Urease-Induced Carbonate Formation on the Strength Enhancement of Sandy Soil. In: V. Achal and A. Mukherjee (eds), *Ecological Wisdom Inspired Restoration Engineering, EcoWISE (Innovative Approaches to Socio-Ecological Sustainability)*. 2018, 16

Md. Nakibul Hasan Khan and Satoru Kawasaki, Springer, Cham, Making Artificial Beachrock Through Bio-cementation: A Novel Technology to Inhibition of Coastal Erosion, In: C. Hussain (eds), *Handbook of Environmental Materials Management*, 2018, 24

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称：海岸・河岸保全工法
発明者：川崎 了，宇次原雅之
権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2016-157306
出願年：2016 年 8 月 10 日
国内外の別：国内

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<https://labs.eng.hokudai.ac.jp/labo/bio-res/www/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8 桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。