

令和 3 年 5 月 16 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H05038

研究課題名(和文)脱窒反応を利用した地盤の不飽和化技術の研究開発

研究課題名(英文)Microbial induced desaturation technique for ground applying denitrification

研究代表者

中野 晶子(nakano, akiko)

九州大学・農学研究院・助教

研究者番号：10631286

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、微生物の代謝反応の一つである脱窒を利用して、「バイオガス」ならびに「バイオミネラル」を土中で生成させることにより、飽和砂質土を不飽和化させるプロセスを確立し、反応後の土質特性の変化を評価するとともに、反応への影響因子を明らかにすることを目指した。自然土壌の微生物を用いて、複雑な操作を要さない再現可能な反応プロセスを確立した。本手法では、微量な飽和度変化をコントロール可能であり、最終飽和度の予測も可能となった。微生物反応は砂の表面環境によって差が見られ、どのような条件が微生物反応に影響を与えるか、今後も検討を続ける必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題は、地盤環境工学分において、生物化学的要素を取り入れた新たな地盤改良技術の開発を目指した挑戦的な研究である。

本研究では、微生物の脱窒による砂の不飽和化プロセスを確立し、あらゆる地盤環境条件での適用が可能であることを確認した。従来の不飽和化を目的とした改良工法では、飽和度の微量なコントロールが困難であったが、本手法では飽和状態から90-85%程度へ飽和度を低下させることが可能であり、反応適用時の砂の最終飽和度も予測可能とした。本研究で確立した不飽和化手法は、特に地盤の液状化に対する抵抗性を向上させる有効な手段として期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to establish the desaturation process by microbial denitrification in sand sediment. The process is expected to control the water saturation of sand sediment and also improve the friction force between soil particles with a simple procedure by producing biogas and biomineral through denitrification. A trace amount of soil water can be reduced from 100% to 85-95% in the water saturation ratio by this method. The soil engineering properties of sand samples like pore diameter distribution and water retention ability were altered after the microbial reaction. The sand surface characteristics possibly give an effect on the microbial reaction and the following biomineral production.

研究分野：地盤環境工学

キーワード：地盤改良 微生物 脱窒 バイオガス 不飽和化 炭酸カルシウム バイオミネラリゼーション 固化

## 1. 研究開始当初の背景

近年多発する自然災害に備え、インフラ整備の強化は急務であり、地盤環境工学の分野も、災害対策の強化を担う専門分野の一つである。

2016年熊本地震では、農地および近隣のため池や農業用水路などの農業用施設において液状化被害が多数報告されたように、農地整備における液状化対策の強化も災害対策の一端であり、当研究分野においては、より有効な対策技術の開発が求められている。

液状化対策を施すうえでの課題の一つとして、既設構造物の直下地盤や構造物の密集地域、小規模な地盤環境における改良工事が困難な点が挙げられる。農地やその周辺環境などにおける小規模地盤環境においても、大規模な施工は手間とコストがかかるのが現状である。液状化は、①緩く締まった砂地盤、②水で飽和した地盤(地下水位が高い地盤、埋め立て地、河川付近など)、③震度5強以上に相当する大きな振動の3つの条件がそろった時に、発生リスクが高まる。一方で、砂地盤の飽和の程度を、飽和度100%の状態から85-90%程度の不飽和状態へ低下させれば、液状化に対する地盤の抵抗性は大きく向上することが明らかになっている(例えば藤井ら, 2010)。ただし、土の飽和度を低下させるには、地下水位低下や空気圧入、排水などの工法が考えられるが、10%程度の微量な飽和度のコントロールは、既存の技術では難しい。

近年、地盤環境工学の研究分野では、微生物機能を利用した地盤改良・修復技術に関する研究開発が、新たな研究領域として確立しつつある。例えば、微生物の触媒機能を利用して炭酸カルシウム  $\text{CaCO}_3$  などの無機鉱物沈殿=「バイオミネラル」を土中に生成させ、地盤の強度を増加させるバイオミネラリゼーションが挙げられる。このような生物化学分野と融合した挑戦的な研究が進む背景として、世界共通の達成目標として掲げられる脱炭素化の動きが影響しているといえる。セメント製造過程から排出される二酸化炭素を筆頭に、土木建築および関連分野由来の温室効果ガスの排出量は、世界全体の20-30%を占めるとも言われており、今後30年内で脱炭素化に対応したセメントに代わる土木材料の開発は急務といえる。

そうした中、本研究ではこれまで、土壌微生物の脱窒反応に着目し、脱窒によるバイオミネラル生成と砂の固化に関する研究を行ってきた。この研究では、脱窒によって土中で固化物質を析出させるが、それに併せて窒素  $\text{N}_2$  ガスも生成することから、土中の水が排出され、飽和度が徐々に低下する現象を観察した。この現象から着想を得て、本研究課題では、これまでの脱窒によるバイオミネラル生成に加え、脱窒から生成する  $\text{N}_2$  ガス=「バイオガス」による不飽和化に着目した。土中で脱窒反応を制御することができれば、バイオガスの発生量や分布範囲が予測可能であり、地盤の水分量を目的の飽和度にコントロールすることが可能なはずである。この「バイオガス」による不飽和化により、様々な地盤環境における液状化対策への応用が期待できる。

## 2. 研究の目的

以上の研究背景から本研究では、微生物の代謝反応の一つである脱窒を利用して、「バイオガス」ならびに「バイオミネラル」を土中で生成させることにより、飽和砂質土を不飽和化・安定化させる地盤改良工法の確立を目指す。本研究期間中は、自然土壌から抽出した微生物による脱窒反応を用いて、砂質土地盤を不飽和化させるプロセスを確立し、反応後の地盤の安定性や改良効果について評価することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 自然土壌からの脱窒菌の抽出・培養

本研究では、野外で採取した底質土に、濃度調整した培養液(硝酸塩+炭素化合物+必須微量元素)を添加して仮培養したのちに、土と微生物を分離して、繰り返し微生物の増殖培養を行い、最適な微生物濃度になるように調整を行った。また、できる限り、安価で単純な手法の確立を目指し、液体培地の組成を変化させながら、本研究の基本となる最適な液体培地濃度を検討した。

### (2) 脱窒により生成するバイオガスを利用した砂質土の不飽和化プロセスの確立

脱窒による「バイオガス」生成に伴う砂の不飽和化プロセスを確立するために、砂地盤のモデルを作成し、砂模型内で反応実験を行った(図1)。砂模型内に、微生物と液体培地を通水し、一定室温下で静置させ、反応過程で変化する土の間隙水圧とそれに伴

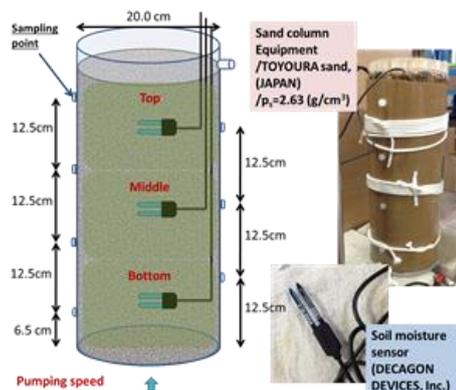


図1 反応実験に用いた砂円筒模型

う土壌間隙水の移動、土の水分量の変化を測定した。

微生物代謝によって土中に生成するバイオガスの量やその分布は、温度や地盤の応力状態などが影響すると考えられる。そこで本研究では、微生物反応に大きく影響すると考えられる温度の違いによる不飽和化効果についても比較実験を行った。また、土質試験で通常用いられる三軸試験装置を用いて、地盤の応力状態を制御した状態での反応実験も実施した(図2)。さらに、Heijnen(2002)の熱力学に基づく微生物反応の理論式と気泡成長速度の予測式から、バイオガス生成量と飽和度変化の予測を行い、模型実験から得られた実測値との比較を行った。



図2 三軸試験装置

### (3) 脱室により生成するバイオミネラルの土質特性への影響

脱室反応により地中で生成するバイオミネラルとバイオガスは、地盤内部の間隙構造や土質特性を変化させることが予想されるため、反応後の砂模型の間隙径分布や水分保持特性の変化について評価した。3種類の砂試料を用い、小型の砂円筒模型を作成し、脱室反応を誘発した後に、空気圧入法(神谷ら, 1996)により間隙径分布を求め、反応前後における間隙径分布と水分保持特性の変化を評価した。

### (4) 異なる砂試料による反応効果の比較と反応因子の検討

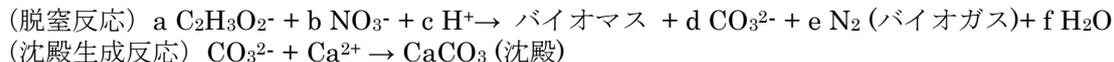
本研究では、上記(2)～(3)を検討する中で、砂試料の種類によって、脱室反応とそれに続く不飽和化やバイオミネラル生成に差異が見られた。このことから、砂試料の特性に着目し、それらの違いによる微生物反応へ及ぼす影響を調べた。砂の化学組成や表面状態を調べ、微生物反応ならびにそれに続くバイオミネラル形成を、試験管反応実験とデジタルマイクロスコープによる表面状態観察により評価した。また、砂の表面状態を各種操作により改質し、表面性状による、微生物反応やバイオミネラル形成の変化を比較した。

## 4. 研究成果

### (1) 自然土壌からの脱室菌の抽出・培養と最適培地濃度の決定

本研究では、自然土壌からの脱室菌の抽出として、液体培地と土を密閉して、インキュベーター内で静置する単純な方法で、微生物培養液を作成する方法を確立した。

微生物による脱室反応を得るには、炭素Cと窒素Nの源となる化合物(反応基質)を与える必要がある。また微生物の活性を高め、反応効率を上げるには、最適な環境(温度, pH, 反応基質濃度など)を設定する必要がある。本研究の提案する反応プロセス(下式反応例)では、硝酸イオンNO<sub>3</sub><sup>-</sup>をN<sub>2</sub>に分解する脱室過程に加え、これに連動して、CaCO<sub>3</sub>の沈殿生成が伴う。



脱室と沈殿が効率よく進行する最適条件を決めるために、数種類の炭素化合物と硝酸塩を用いて複数の培養実験を試みた。これにより、最適な化学物質を選択するとともに、反応基質(C・N・Ca)の濃度割合を決定した。

### (2) 砂質土円筒模型による不飽和化プロセスの確立

砂質土の円筒模型実験を通して、脱室による「バイオガス」生成に伴う、土の不飽和化プロセスを経時的に示した(図3)。

実験では、脱室反応の指標となるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の低下に伴って、間隙水圧が急激に上昇する様子が確認できた。このことは、土中でN<sub>2</sub>ガスが発生し、土の間隙水が移動していることを意味する。この水圧上昇に伴って、土の飽和度も徐々に低下し、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度が検出限界以下に到達すると、飽和度の低下は止まり、それ以降は一定を維持した。これら一連の反応と飽和度の変化は、明らかに土中での脱室によるN<sub>2</sub>ガス生成によるものであり、発生したガスの体積相当分の間隙水が模型上部に排水され、その結果、飽和度が低下する過程を実験により確認することができた。また、飽和度低下以降、円筒模型に水頭をかけても飽和度は一定を維持し、長期的に飽和度が安定であることが示された。

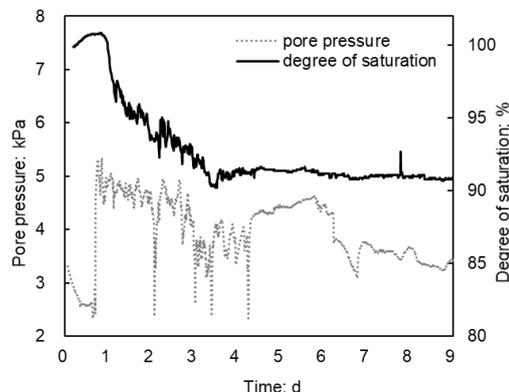


図3 砂模型中で発生した脱室反応に伴う間隙水圧と土の飽和度の経時変化 (Nakano(2018))

本実験で採用した実験条件の場合、最終的な飽和度は100%から85-91%まで低下した。この低下の程度は微量な飽和度の変化であり、既存の不飽和化の改良工法ではコントロールが難しい範囲での飽和度操作が本手法では可能であることが示された。なお、この10%程度の飽和度の低下であれば、間隙水中での気体は図4に示すように、気泡の周囲が水ですべて覆われた封入不飽和状態であるといえる。このことは、反応前の飽和状態と比べて、反応後の土の透水性や応力状態は大きく変化しないということであり、本手法による不飽和化では、既存の排水工法にあるような過剰な飽和度低下に伴う土の沈下のリスクは低いと判断できる。温度による不飽和化への影響の検討では、温度によって反応速度に違いがみられ、最終飽和度にも差が見られた。

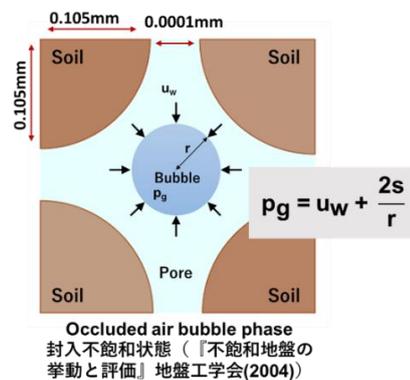


図4 脱窒により生成したバイオガス (Bubble) の砂間隙中のイメージ

三軸試験装置を用いた地盤の応力状態(間隙水圧・有効応力)を制御した環境下での不飽和化実験においても、脱窒に伴う飽和度の低下を確認した。窒素生成量に伴う飽和度変化の予測値と実測値を比較すると、実測値がやや大きい値を示したが、経時的な飽和度変化の傾向は一致した。

以上の結果から、地中深部の水圧が作用した状態下においても、本手法によって脱窒反応を得ることは可能であり、圧力条件を考慮した反応基質濃度を調整することで、さまざまな地盤環境下において、飽和度コントロールが可能であるといえる。

### (3) バイオミネラル生成による土間隙構造への影響

空気圧入法による間隙径測定から、3種類の土試料の脱窒反応前後の間隙径分布と保水性の比較を行った。その結果、反応に伴い、間隙径分布はわずかに変化し、いずれの試料も平均間隙径は、反応前間隙径(0.020-0.100mm)に比べて0.005-0.035mm小さくなった。また、強い空気圧を受けた場合に、それに対抗して水分を土中に保持する力は、反応前に比べて反応後が大きい傾向がみられた(図5)。微生物細胞が土間隙中に留まることや、微生物反応に伴って生成するバイオマスやバイオフィルムの土粒子表面での形成が、保水性の変化に寄与していると考えられる。デジタルマイクロスコープ(ハイロック社製)による反応後の土粒子間隙観察では、バイオミネラル形成の様子が、砂の種類によって異なる傾向が見られた。

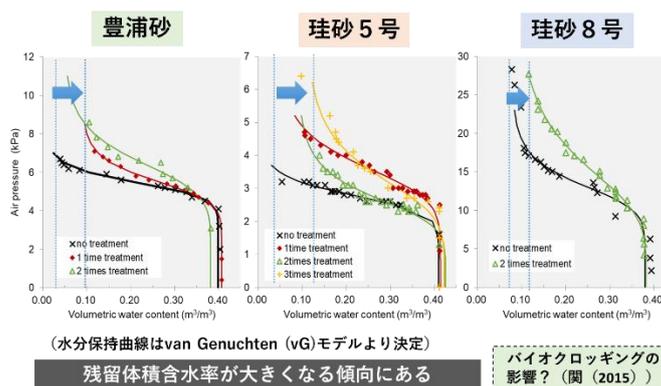


図5 空気圧入に対する砂試料の水分率(体積含水率)

— 3砂試料の脱窒反応前後における比較 —

以上の結果から、本手法による土中での脱窒反応によって、砂の間隙径が10-20%程度縮小し、それに伴って保水性が変化することが示された。ただし、砂の種類によって反応効果やそれに続くバイオミネラル形成に差異が生じることから、対象とする砂自体の特性が反応への影響因子となり得る。

### (4) 砂試料の表面性状が脱窒反応とバイオミネラル形成におよぼす影響

これまでのバイオガス、バイオミネラル生成実験の検討を通して、砂の種類によって得られる効果に差異がみられることから、砂の表面環境を詳細に調べた。その結果、砂の表面性状が微生物活性に寄与することが示唆された。

<引用文献>

藤井ら(2010)土木学会論文集 66, 564-576., Heijnen, J. (2002) Encyclopedia of Bioprocess Technology, 267-290 ISBN: 0-471-25058-9., Nakano (2018) Geotechnique Letters, 8(1), 1-4. <https://doi.org/10.1680/jgele.17.00039>. 神谷ら(1996) 土木学会論文集 541, 189-198.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Nakano A.	4. 巻 8
2. 論文標題 Microbe-induced desaturation of sand using pore pressure development by way of denitrification	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Geotechnique Letters	6. 最初と最後の頁 1~16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1680/jgele.17.00039	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 中野晶子, 稲垣由紀子	4. 巻 67
2. 論文標題 DS-6 「地盤改良技術への微生物機能の利用」	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 地盤工学会誌	6. 最初と最後の頁 HP11
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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 中野晶子, 佐藤宏樹
2. 発表標題 バイオガス生成による砂の飽和度変化とその予測
3. 学会等名 第54回地盤工学研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中澤博志, 鈴木亮彦, 中野晶子, 島俊郎
2. 発表標題 各種液状化対策工における改良地盤と微生物固化処理土の液状化抵抗の比較
3. 学会等名 第54回地盤工学研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akiko Nakano, Tomoya Kakita
2. 発表標題 Pore structure alteration of sands by microbially induced carbonate precipitation via denitrification
3. 学会等名 InterPore2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野晶子, 柿田智哉
2. 発表標題 脱窒反応を利用した砂粒子表面での炭酸カルシウム結晶析出と間隙径の変化
3. 学会等名 第53回地盤工学研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Vinh Pham, Akiko Nakano, L.A. van Paassen, W.R.L. van der Star
2. 発表標題 USING DENITRIFICATION TO MICROBIALLY REDUCE WATER SATURATION FOR SOIL IMPROVEMENT
3. 学会等名 INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON LOWLAND TECHNOLOGY ISLT 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野 晶子
2. 発表標題 脱窒反応による土中のバイオガス生成を用いた不飽和化技術の研究開発
3. 学会等名 第52回地盤工学研究発表会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松林 達也, 畠 俊郎, 中野 晶子
2. 発表標題 尿素分解菌と脱窒菌を組合せた微生物固化についての検討
3. 学会等名 第52回地盤工学研究発表会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 A. Nakano, Vinh P. Pham , L.A. van Paassen
2. 発表標題 USING DENITRIFICATION TO MICROBIALLY REDUCE WATER SATURATION FOR SOIL IMPROVEMENT
3. 学会等名 International Symposium on Lowland Technology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akiko Nakano
2. 発表標題 The effect of surface characteristic of sand for denitrification and calcium carbonate mineralization on the surface
3. 学会等名 Goldschmidt2021 (国際学会)
4. 発表年 2021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
研究協力者	畠 俊郎  (HATA TOSHIROU)		

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			
米国	Arizona State University			
ベトナム	Thuyloi University			