

平成21年 5月18日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18300304

研究課題名（和文） 微生物の代謝活動により固化する新しい保存材料の作製と評価

研究課題名（英文） Development and evaluation of a novel preservation material cementing due to microbial metabolism

研究代表者

川崎 了（KAWASAKI SATORU）

北海道大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：00304022

研究成果の概要：土や岩の代表的なセメント物質の1つである炭酸カルシウムを主成分とし、自然の土の中に生息する微生物の代謝活動を利用した環境に優しく新しい遺構、遺物、石造文化財などの保存材料（強化材料、接着剤、補填材料など）を作製した。また、作製した保存材料を使用した土の力学・水理学特性およびその使用前後における微生物の菌数と帰属分類群について調査し、新たに作製した保存材料の有効性について評価を実施した。その結果、保存材料として有効であるとの見通しが大略得られた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2007年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：地盤工学

科研費の分科・細目：文化財科学・文化財科学

キーワード：微生物，固化，保存材料，炭酸カルシウム，透水係数

1. 研究開始当初の背景

(1) わが国では、国立文化財機構の東京文化財研究所や奈良文化財研究所を中心に、遺構、遺物、石造文化財などの保存材料（強化材料、接着剤、補填材料など）に関する研究開発および保存修復が数多く実施されている。例えば、岩石の基質そのものの強化材料としては、エポキシ系、アクリル系、イソシアネート系などの合成樹脂が使用され、実績をあげてきた。最近ではオルガノシリケート系の低分子オリゴマーがよく使用されている。また、補填材料としては、エポキシ系樹脂のエマルジ

ョンタイプが新たに開発され、透水性のある擬岩や疑土が造られるようになった。しかしながら、これらの保存材料は人間が造った人工的な合成樹脂が主流であり、施工後において周辺環境に対する有害成分を少なからず含んでいるだけでなく、保存材料を施工する際において人体や自然環境への安全性に関して十分に配慮する必要がある。地球環境問題に対する社会的な関心が高まっている今日において、文化財の保存科学の領域だけが聖域であるとは考えられない。

(2) ヨーロッパの石造建築物や石造モニユメントの多くは、石灰岩やそれが変成した大理石で造られている。劣化の著しいエジプトのスフィンクスも石灰岩が母岩である。そこで、例えば石灰岩で造られた石造文化財や石造建築物に生息する微生物を活性化させ、生成した炭酸カルシウムを新しい保存材料として利用することができれば、人類が人工的に造り出した人工保存材料とは異なる最も適切な保存材料となる可能性がある。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、自然の地盤（土）や岩盤（岩、岩石）の中に生息する微生物の代謝活動を積極的に活用することによって、安価で環境に優しく新しい遺構、遺物、石造文化財などの保存材料（強化材料、接着剤、補填材料など）を作製し、作製した保存材料を使用した土や岩石の力学・水理学特性について微視的な観点から検討を実施し、新たに開発した保存材料の有効性について評価を行うことである。

(2) 具体的には、以下の4項目について研究を実施する。

- ①炭酸カルシウムの析出試験
- ②保存材料を使用した供試体の作製
- ③保存材料を使用した供試体の力学・水理学特性の評価
- ④新しい保存材料の有効性に関する評価

3. 研究の方法

(1) 本研究で新たに提案する炭酸カルシウム (CaCO_3) を保存材料とする強化、接着、補填のメカニズムは、次に示すとおりである。すなわち、土や岩石からなる遺構、遺物、石造文化財などに用いる保存材料として、グルコースなどの有機栄養源と堆積岩の代表的なセメンテーション物質である炭酸カルシウムの飽和溶液（または懸濁液）を使用し、日本各地の遺構、遺物、石造文化財などの中に生息する微生物の代謝活動あるいは固化する前の保存材料の中に混入させる微生物の代謝活動によって、炭酸カルシウムを土の間隙や岩石の間隙または岩石の亀裂の中に析出・沈殿させる方法である。なお、本研究では地盤（土）のみを保存処理の対象とした。

(2) 最初に、「①炭酸カルシウムの析出試験」に関する方法の概要について述べる。保存材料となる硝酸カルシウム-グルコース混合溶液を pH7.5 または pH8.0 のトリス-塩酸緩衝溶液に溶解し、保存材料（溶液）とした。なお、本材料中のカルシウムイオン濃度は 0.1kmol/m^3 、グルコース濃度は 0.167kmol/m^3 である。これらの保存材料を試験管の中に入れ、さらに試験管に市販のドライイーストま

たは土壤微生物を含む土を入れて攪拌し、試験管を温度 25°C または 40°C のインキュベータの中に入れて24時間保持した。24時間が経過した後に試験管の内容物をろ過し、ろ液の pH およびカルシウムイオン濃度を測定した。また、試験管内の沈殿物について X 線回折分析を実施した。

(3) 次に、「②保存材料を使用した供試体の作製」に関する方法の概要について述べる。対象とする地盤材料としては砂質地盤および粘土質地盤を想定し、土粒子間の間隙に炭酸カルシウムを析出させる保存材料を使用した種々の供試体を作製した。また、微視的な観点から炭酸カルシウムの析出状況について検討を行うために、デジタルマイクロスコプおよび走査型電子顕微鏡を用いた観察を行うと同時に、エネルギー分散型 X 線分析による元素分析を実施した。

(4) さらに、「③保存材料を使用した供試体の力学・水理学特性の評価」に関する方法の概要について述べる。力学特性としては一軸圧縮強度に着目し、直径 50mm × 高さ 100mm の円柱形供試体を用いて軸ひずみ速度 $1\%/\text{min}$ で実施した。また、供試体は砂質地盤（密度 1.8g/cm^3 ）を対象とし、温度 25°C および 40°C におけるイースト菌による保存処理後の経過時間を考慮した試験を行った。一方、水理学特性に関しては透水係数を考え、直径 50mm × 高さ 51mm の円柱形供試体を用いて変水位法により行った。供試体はイースト菌および土壤微生物により保存処理された砂質地盤および粘土質地盤を対象とし、同じ供試体に対して複数回の透水試験を実施した。

(5) 最後に、「④新しい保存材料の有効性に関する評価」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保存材料の有効性について実験的に検討するために、北海道から沖縄県までの5地点から土壤（微生物を含む）を採取し、自然の土壤中に生息する5地点の微生物を用いて試験管による炭酸カルシウムの析出試験を実施した。また、実際の保存処理時における日本各地の気象条件を考慮して、試験時における温度の違いが炭酸カルシウムの析出に与える影響について調査した。さらに、試験に用いた土壤微生物の菌数測定および遺伝子解析を実施し、試験前後の土壤中に含まれる微生物相の変化に関して、生菌数、最も出現頻度の高い菌の菌数およびその帰属分類群を用いることにより比較を行った。なお、菌数測定前の分離方法には希釈平板法を採用した。また、土壤微生物の遺伝子解析では、細菌と菌類（カビ・酵母）の2区分のみを対象とした。

4. 研究成果

(1) イースト菌を用いて炭酸カルシウムの析出試験を行い、試験時の諸条件である温度、有機栄養源、pH 緩衝溶液が炭酸カルシウムの析出に与える影響について検討した。その結果、炭酸カルシウムの析出に関しては、温度が 25℃と 40℃の違いによる影響は小さいこと、「硝酸カルシウム+イースト菌+グルコース+pH8.0 緩衝溶液」の組合せ時に最も多く析出すること、pH8.0 緩衝溶液の使用が不可欠であること、などがわかった。また、試験管内の沈殿物の X 線回折分析を実施した結果、炭酸カルシウム（カルサイト）の析出が確認された。

(2) 自然の粘土質地盤中に生息する土壤微生物を用いて炭酸カルシウムの析出試験を実施した結果、炭酸カルシウムの析出が確認された。（図 1 参照）

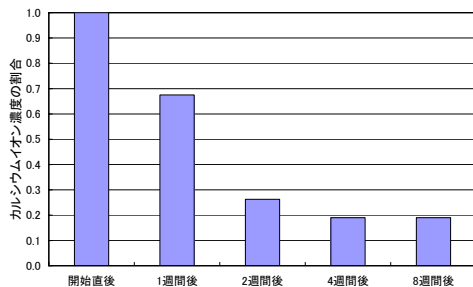


図 1 土壤微生物を用いた析出試験におけるカルシウムイオン濃度の割合の経時変化

(3) イースト菌を用いた保存材料の砂質地盤の力学特性に関する保存処理の効果を確認するために一軸圧縮試験を行い、保存処理後における一軸圧縮強度を求めた。その結果、一軸圧縮強度は保存処理後の経過時間にはほぼ比例して増加することがわかった。具体的には、例えば温度 25℃における保存処理 1 日後の場合は一軸圧縮強度が 20~30kPa 程度と小さいが、7 日後には 500~600kPa 程度まで増加した。一方、改良前後の砂質地盤の走査型電子顕微鏡観察およびエネルギー分散型 X 線分析を実施した結果、砂の粒子表面および粒子境界部において炭酸カルシウムが析出していることが確認された。（図 2 参照）

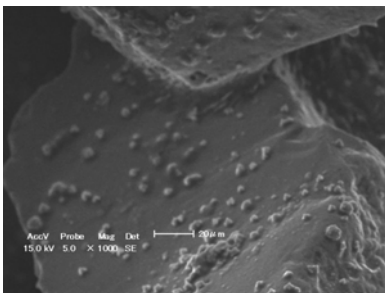


図 2 砂の粒子表面および粒子境界部に析出した炭酸カルシウム

(4) イースト菌を用いた砂質地盤および粘土質地盤の保存処理および保存処理後における透水試験を実施し、保存処理の前後における透水係数について比較した。その結果、保存処理により砂質地盤で約 1 桁、粘土質地盤で約 2 桁の透水係数の低下が見られた。（図 3 参照）

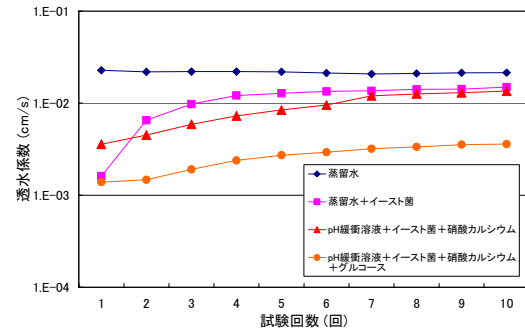


図 3 イースト菌を用いて保存処理された砂質地盤の透水係数と試験回数との関係

(5) 土壤微生物を用いた粘土質地盤の保存処理および処理前後における透水試験を実施し、保存処理の前後における透水係数について比較した。その結果、保存処理により粘土質地盤で約 1 桁の透水係数の低下が確認された。（図 4 参照）

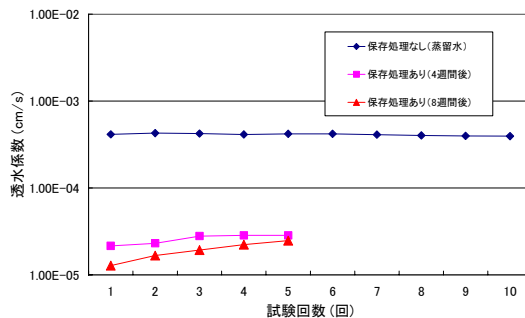


図 4 土壤微生物を用いて保存処理された粘土質地盤の透水係数と試験回数との関係

(6) 北海道から沖縄県までの国内 5 地点より採取した土壌（微生物を含む）を用いて炭酸カルシウムの析出試験を実施し、試験時における温度の違いを考慮しながら新しい保存材料の有効性について実験的に検討した。その結果、カルシウムイオン濃度の経時変化において温度依存性、すなわち、温度が高くなるにつれてカルシウムイオン濃度の低下が大きくなる傾向が見られること、また、その程度は地点によって差（地域性）があること、さらに、温度が 5℃~35℃の低温~中温域において 5 地点の試験管内におけるカルシウムイオン濃度が実際に低下、すなわち、炭酸カルシウムが析出すること、などが確認された。（図 5~図 8 参照）

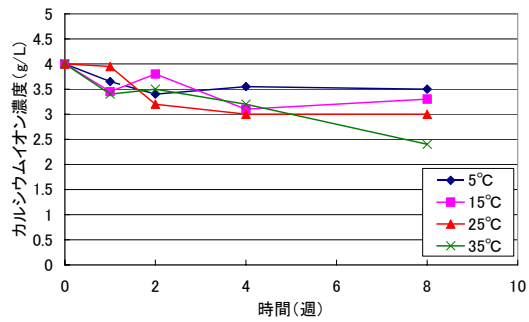


図 5 カルシウムイオン濃度の経時変化 (幌延)

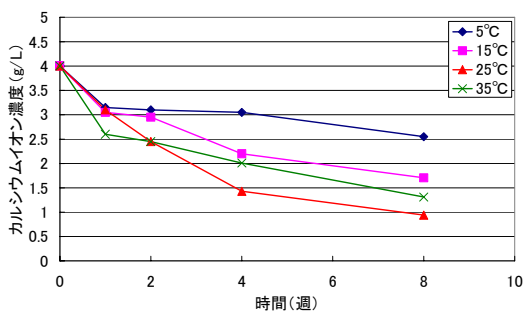


図 6 カルシウムイオン濃度の経時変化 (札幌)

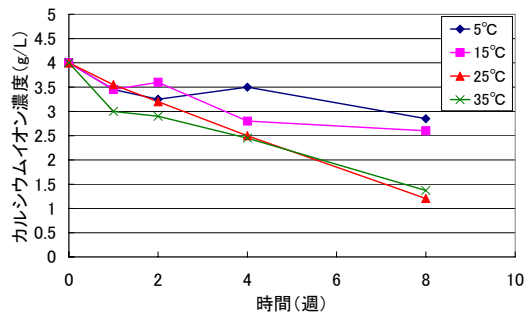


図 7 カルシウムイオン濃度の経時変化 (岡山)

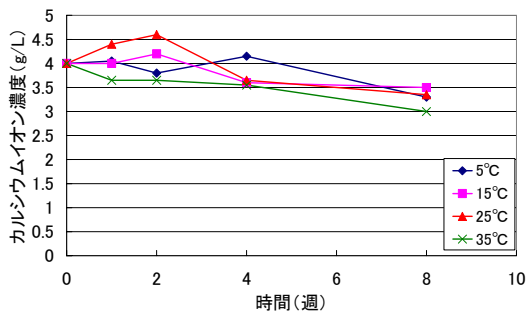


図 8 カルシウムイオン濃度の経時変化 (沖縄)

(7) 温度 25°Cにおける炭酸カルシウムの析出試験の前後において、微生物相および菌数の変化について調査した。その結果、菌類(カビ・酵母)の菌数が増加または一定値となっていることから、保存材料(溶液)中のカル

シウムイオン濃度の低下に菌類(カビ・酵母)最も寄与している可能性が高いと推定された。(図9参照)

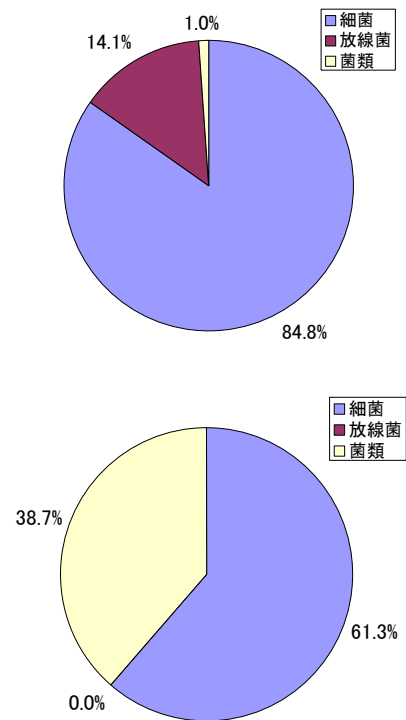


図 9 札幌における試験前後の微生物相の変化(上:試験前,下:試験後)

(8) 温度 25°Cにおける炭酸カルシウムの析出試験の前後において、最も出現頻度が高い菌の遺伝子解析を実施した。その結果、それらは *Bacillus* 属の細菌および *Penicillium* 属や *Aspergillus* 属の菌類であると推定されること、また、人間や動物に対して重大な疾病を起こす可能性がないものであることがわかった。

(9) 以上の結果から、本研究で新たに開発した保存材料は、国内の場所を問わずに保存処理の対象となる土壤中に生息する微生物を利用し、温度 5°C~35°Cの低温~中温域において保存材料(溶液)中に炭酸カルシウムを析出させ、保存処理後の力学・水理学特性を満足させることができると期待される。すなわち、微生物の代謝活動により固化する新しい保存材料として有効であるとの見通しが大略得られたものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

①清田佳奈, 村上 章, 川崎 了: 農業用た

め池底泥のバイオ固化処理に関する基礎的研究, 応用地質, 査読有, 第50巻, 第2号, 2009 (掲載決定)

②寺島 麗, 島田俊介, 小山忠雄, 川崎 了: 微生物代謝により固化する新しいシリカ系地盤注入材バイオグラウトの基礎研究, 土木学会論文集C, 査読有, 第65巻, 第1号, 2009, pp.120-130

③川崎 了, 村尾彰了, 広吉直樹, 恒川昌美, 金子勝比古: 微生物の代謝活動により固化する新しいグラウトに関する基礎的研究, 応用地質, 査読有, 第47巻, 第1号, 2006, pp.2-12

[学会発表] (計29件)

①小瀧 暁, 川崎 了, 広吉直樹, 恒川昌美, 金子勝比古, 寺島 麗: 微生物代謝を利用したグラウトにおける炭酸カルシウム析出の温度依存性, (社)土木学会第38回岩盤力学に関するシンポジウム講演論文集, 2009年1月8日, (社)土木学会(東京)

②S. Ogata, S. Kawasaki, N. Hiroyoshi, M. Tsunekawa and K. Kaneko: Effect of temperature on precipitation of calcium carbonate for biogrout, Korean Rock Mechanics Symposium on International Cooperation and Rock Engineering for Development of Mineral Resources and Infrastructures (KSRM2008), October 22, 2008, Cosmos Hall, Chonnam National University (Gwangju, Korea)

③椋木俊文, 馬場大志, 川崎 了: 微生物代謝を利用した地盤固化材料の廃棄物処分場への適用に関する研究, (社)地盤工学会第42回地盤工学研究発表会, 2007年7月5日, 名古屋国際会議場(名古屋)

[産業財産権]

○出願状況(計4件)

①名称: 地盤改良工法及びその装置
発明者: 川崎 了, 広吉直樹, 島田俊介, 小山忠雄, 寺島 麗
権利者: 北海道大学, 強化土エンジニアリング
種類: 特許
番号: 特願2007-072633
出願年月日: 2007年3月20日
国内外の別: 国内

②名称: 微生物を用いたカルシウムを含む地盤改良方法
発明者: 川崎 了, 広吉直樹, 島田俊介, 小山忠雄, 寺島 麗
権利者: 北海道大学, 強化土エンジニアリング
種類: 特許

番号: 特願2007-016739
出願年月日: 2007年1月26日
国内外の別: 国内

③名称: 微生物を用いたカルシウムを含む地盤の固結方法
発明者: 川崎 了, 広吉直樹, 島田俊介, 小山忠雄, 寺島 麗
権利者: 北海道大学, 強化土エンジニアリング
種類: 特許
番号: 特願2006-179162
出願年月日: 2006年6月29日
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.geo-er.eng.hokudai.ac.jp/kawasaki/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川崎 了 (KAWASAKI SATORU)
北海道大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号: 00304022

(2) 研究分担者

広吉 直樹 (HIROYOSHI NAOKI)
北海道大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号: 50250486

(3) 連携研究者

なし