

平成21年4月1日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007 ～ 2008
 課題番号：19710073
 研究課題名 (和文) 硝酸性窒素汚染を対象とした微生物機能による分解促進・拡散制御に関する研究開発
 研究課題名 (英文) Development of the in-situ permeability control and biodegradation technology for Nitrate nitrogen by using microbial function.
 研究代表者：畠 俊郎 (Hata Toshiro)
 長野工業高等専門学校 環境都市工学科 准教授
 研究者番号：30435424

研究成果の概要：

農地における過剰な施肥などによる地下水汚染問題を対象とし、微生物機能を活用することで汚染物質の分解および地下での拡散防止を両立させる新しい処理技術について検討を行った。微生物の働きにより発生する二酸化炭素とカルシウムイオンを結合させることで地盤の空隙内にカルシウム系鉱物を析出させ、透水性（水の通りやすさ）を工学的に制御する効果を確認することができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	270,000	2,470,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境技術・環境材料

キーワード：環境修復技術, Microbial Carbonate Precipitation(MCP), 透水性制御

1. 研究開始当初の背景

農用地における過剰な施肥等を原因とした硝酸・亜硝酸による地下水汚染問題が顕在化している。農用地に由来する地下水汚染の場合、汚染原因者の特定が困難である場合や、高額な浄化費用を汚染原因者が負担できないなどの理由により対策の実施が滞っている現場も少なくない。このような問題に対し、汚染現場から敷地外への拡散防止を目的とした透過性浄化壁等も開発されているが、設置費用などの面ですべての現場に適用することは困難と考えられる。

このような問題に対しては、①汚染物質の供給を削減する、②汚染された地下水の飲用による人の健康被害を防止する観点から敷地内に汚染物質をとどめる。③発生した汚染物質を速やかに人の健康に悪影響を与えない濃度まで低下させる、等の対策が考えられる。①に関しては農家において施肥量の削減などにより対策が進められている。②に関しては既存の建設技術が適用可能であるものの、コスト面で課題が残っている。③に関しては先に述べた透過性浄化壁などの技術について検討が進められ、一部実現場に適用されている。このような状況をふまえ、本研究では

②の拡散防止に微生物機能を活用するとともに微生物の代謝活動により汚染物質の濃度低下効果も併せて得る新規技術の開発に取り組むこととした。

2. 研究の目的

本研究では、主に農用地を対象として微生物機能により硝酸性窒素の分解と地下水中の拡散防止効果を得る新たな原位置処理技術の開発に取り組むこととした。

本研究開発の実施においては、①微生物機能による透水性の低下、および②硝酸性窒素の微生物分解促進による濃度低下、の2項目が重要となる。以下、それぞれの目的について述べる。

微生物機能による透水性の低下について

窒素系の肥料の多くはアンモニア態として農用地に散布される。アンモニア態窒素は土壌内において消化され、硝酸・亜硝酸として地盤の深部に浸透・拡散する危険性が指摘されている。このような問題に対し、微生物によるカルシウム系向物析出(MCP)と、微生物菌体そのものの増殖による透水性低下(バイオクロッキング)に着目した。それぞれがどのように地盤の透水性低下に影響を与えているかを明らかにすることにより、効率的な原位置透水性制御技術の確立を目的とした検討を進めることとした。

硝酸性窒素の微生物分解について

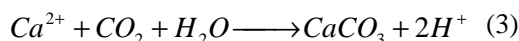
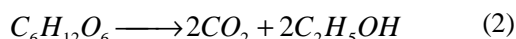
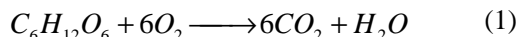
近年、脱窒菌の働きを促進することにより地下水に含まれる硝酸・亜硝酸を分解する技術について注目が集まっている。本研究では、カルシウム系向物析出促進に適した条件の下で脱窒菌による硝酸性窒素の分解が進むかどうかについて検討を行うこととした。

3. 研究の方法

本研究では、微生物機能による透水性の低下方法と、脱窒細菌として着目した *Thiobacillus denitrificans* のカルシウム系向物析出への影響について検討することとした。以下、項目ごとに研究方法を述べる。

微生物機能による透水性の低下について

微生物機能による透水性の低下において、Microbial Carbonate Precipitation(MCP)に着目した。本研究において着目した微生物機能を式(1)~(3)に示す。



上式に示すとおり、有機物の代謝(好気・嫌気)により発生するCO₂を利用してカルシウム系向物を析出させ、透水性の低下効果を得ることができる。本研究では、培養試験に

よる結晶化の確認と、溶液を絶えず循環させた状態での透水試験(連続透水試験)によりその有効性を検証した。

硝酸性窒素の微生物分解について

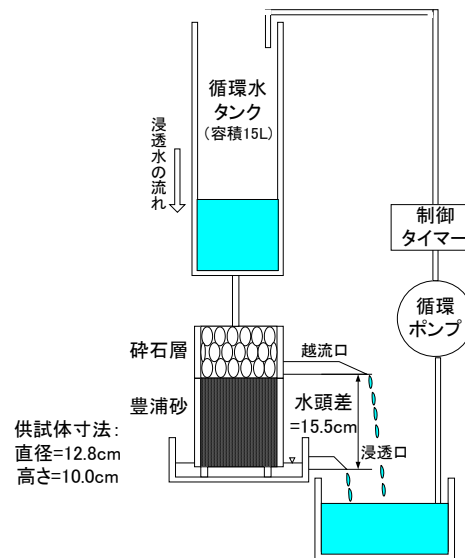
有機物の代謝によるカルシウム系向物析出促進においては、同じく有機物の代謝に伴い発生する有機酸の影響が懸念される。過度のpH低下は析出したカルシウム傾向物の再溶解および硝酸性窒素の微生物分解において悪影響を及ぼす可能性があると考え、培養試験によりMCPと硝酸性窒素の微生物分解を同時に行うことができるかどうかを検証することとした。

4. 研究成果

以下、項目毎に本研究の実施において得られた知見を示す。

微生物機能による透水性の低下について

培養試験の結果から、炭素源およびカルシウム源を添加することによりカルシウム系向物の析出を促進する効果が認められた。そのため、連続透水試験を実施して透水性への影響を検証することとした。本実験で用いた試験装置の概要を図—1に示す。

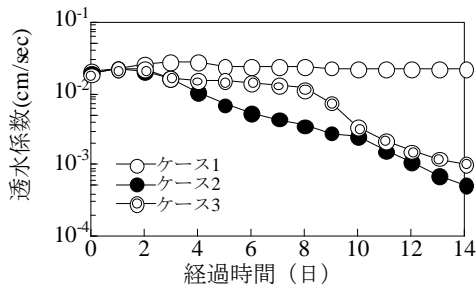


図—1 連続透水試験装置の概要

試験には実現場への適用を想定して農業用水が流入するため池から採水した水を用いることとし、人為的な微生物の添加は行わなかった。また、汚染物質の拡散抑制効果の検証を目的としていることから、土壌サンプルには豊浦砂を用いることとした。

試験期間は2週間とし、毎日サンプリングを行った。また、分析項目として透水係数、カルシウムイオン濃度、微生物群集構造

(PCR-DGGE)および SEM-EDS による表面観察および元素マッピングとした。試験期間中における透水係数の推移を図—2 に示す。

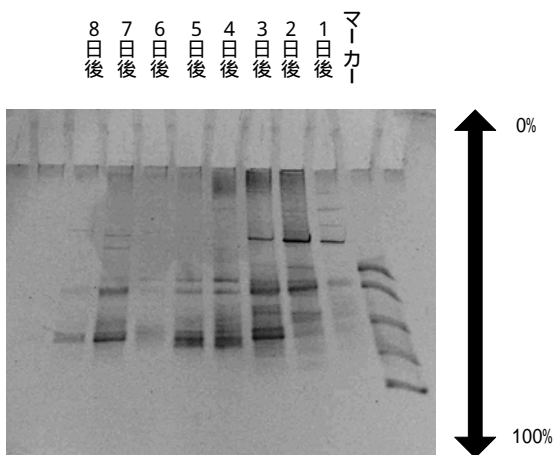


図—2 微生物機能による透水性の低下

ここで、ケース1はため池水、ケース2はため池水に塩化カルシウム2水和物およびスクロースを 0.1mol/L 濃度で添加、ケース3は塩化カルシウム2水和物濃度を 0.1mol/L、スクロース濃度を 0.01mol/L としている。あわせて、ケース2および3については有機酸の蓄積による pH 低下を避ける観点から、pH バッファー (トリスバッファー) を 0.1mol/L の濃度で添加している。カルシウム源および有機物源を添加することで透水性の低下を工学的に得る効果を確認することができた。

次に、透水性の低下が微生物群集構造に与える影響の検証を目的として実施した PCR-DGGE の結果を図—3 に示す。

なお、プライマーは GC-451f と 534r の組み合わせを用い、130V × 5Hrs の条件で泳動を行った。



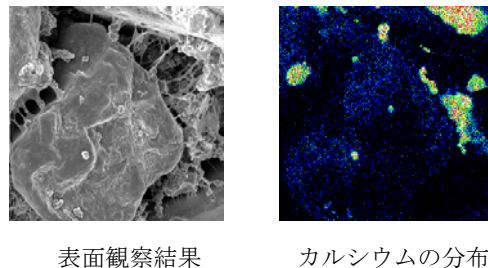
図—3 微生物機能による透水性の低下

微生物群集構造解析の結果から、透水係数が低下している期間において微生物群集構造が複雑に変化していることが明らかとなった。本研究期間中では関与する微生物の特定までは行えなかったが、将来的にはカルシ

ウム系鉱物析出に関与している微生物を明らかにしていく計画である。

次に、試験終了後の豊浦砂サンプルを対象とした SEM-EDS による表面観察およびカルシウムを対象とした元素マッピングの結果を図—4 に示す。

試験終了前においては土粒子表面がなめらかであった豊浦砂表面において、表面観察の結果から土粒子表面での結晶の析出および土粒子間を繋ぐ結晶の成長が確認された。マッピング結果からカルシウムが検出されていることより、透水性の低下に MCP が関与している可能性を明らかにすることができた。



図—4 表面観察および元素マッピング

以上の検討結果から、農用地に生息している微生物にカルシウム源および有機物源を添加することでカルシウム傾向物の析出を促進させ、透水性の低下効果を工学的に制御できる可能性が明らかとなった。

硝酸性窒素の微生物分解について

本研究では、カルシウム系鉱物の析出促進による透水性の低下と、脱窒菌の働きにより硝酸性窒素の分解を同時に得ることを目的としている。カルシウム系鉱物の析出促進には有機物源の添加が必要不可欠であることから、過剰に有機物が添加された状況において脱窒反応が得られるかどうかについて培養試験により明らかとした。

培養には、冬季において雪面硬化剤として過剰に硫酸アンモニウムが投与されるスキー場にて採取した微生物を先に述べたため池水に添加する方法で用いた。

培養液の組成としては、MCP の促進として塩化カルシウム2水和物、スクロースおよび pH バッファーを添加し、脱窒に関しては KNO₃ を添加した。培養期間は2週間とし、pH および硝酸性窒素濃度の推移をモニタリングした。

モニタリングの結果から、pH は中性域を維持するとともに硝酸性窒素の濃度低下効果を確認することができた。pH に関しては試験を行った3種類の土壌すべてについて同じ傾向を示したが、硝酸性窒素の濃度低下に

関しては低下傾向は同じものの、脱窒速度に関しても土壌に依存する傾向が明らかとなった。今後、遺伝子解析などにより検証する必要があると考えている。

本研究では、微生物機能を活用することで硝酸性窒素に汚染された地下水の分解促進・拡散制御を行う技術について検討を行った。培養試験および連続透水試験の結果から、本技術の基本的有効性を確認することができた。しかしながら、硝酸性窒素の分解やカルシウム系鉱物の析出に関与している微生物の特定や不均質な地盤内での様な結晶化など課題も明らかとなった。

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1件)

梶俊郎, 桑野玲子, 阿部廣史: 微生物機能を用いた原位置透水性制御手法に関する基礎的研究, 土木学会論文集 G, 査読有, Vol. 62, No. 1, 2008, pp. 168-176

[学会発表] (計11件)

平林竜一, 梶俊郎: 微生物機能によるカルシウム系鉱物析出に適した溶液およびカルシウム濃度に関する検討, 平成20年度土木学会中部支部研究発表会, 2009.3, 名城大学.

細尾誠, 梶俊郎: 微生物機能を用いた土の強度増加に関する検討 (その1 室内培養試験について), 平成20年度土木学会中部支部研究発表会, 2009.3, 名城大学.

土屋慧, 梶俊郎: 微生物機能を用いた地の強度増加に関する検討 (その2 1軸圧縮試験について) 平成20年度土木学会中部支部研究発表会, 2009.3, 名城大学.

木賀田賢太, 梶俊郎: カルシウム系鉱物析出に適した溶液の組成に関する基礎的研究, 土木学会第63回年次学術講演会, 2008.9, 東北大学.

細尾誠, 梶俊郎: 地盤における微生物機能を用いた任意の透水性制御法に関する研究, 土木学会第63回年次学術講演会, 2008.9, 東北大学.

北原亘, 梶俊郎: 連続透水試験による微生物機能を用いた地盤性状の制御に関する検討, 平成19年度土木学会中部支部研究発表会, 2008.3, 金沢大学

木賀田賢太, 梶俊郎: 微生物機能を用いた地盤性状制御技術に関する検討, 平成19年度土木学会中部支部研究発表会, 2008.3, 金沢大学

寺島和希, 梶俊郎: 微生物機能によるカ

ルシウム系鉱物析出促進条件に関する検討, 平成19年度土木学会中部支部研究発表会, 2008.3, 金沢大学

増井香織, 梶俊郎: 地盤の透水性制御と微生物種の関連性に関する基礎的検討, 平成19年度土木学会中部支部研究発表会, 2008.3, 金沢大学

木賀田賢太, 梶俊郎: 微生物機能を用いた地盤性状制御技術に関する検討 (その1) ~バッチ試験による基本的能力評価~, 土木学会第62回年次学術講演会, 2007.9, 広島大学.

梶俊郎, 木賀田賢太: 微生物機能を用いた地盤性状制御技術に関する検討 (その2) ~連続透水試験による有効性検証~, 土木学会第62回年次学術講演会, 2007.9, 広島大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶俊郎 (HATA TOSHIRO)

長野工業高等専門学校・環境都市工学科・准教授

研究者番号: 30435424

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者