

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 9 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25850166

研究課題名(和文)微生物の代謝機能を利用した地盤環境修復技術の研究開発

研究課題名(英文)Microbial degradation effect for sand ground reinforcement

研究代表者

中野 晶子 (NAKANO, AKIKO)

九州大学・(連合)農学研究科(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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、微生物活性を利用した新たな地盤改良技術の開発を目指し、脱窒反応を利用した砂質土地盤中における炭酸カルシウムグラウト生成と、反応に伴う土質特性の変化について検討を行った。実験を通して、底泥より容易に脱窒菌の抽出を行う手法を確立した。抽出した脱窒菌を用いて、砂地盤モデル中での脱窒によるグラウト生成を確認した。模型実験では、反応の過程で生成する窒素ガスによって、砂地盤が不飽和化できる可能性が示唆された。地中での窒素ガス移動には、脱窒反応速度や反応基質濃度、土の間隙径や地盤骨格が大きく寄与すると考えられる。この効果が得られれば、液状化対策等に有効となることが期待でき、さらなる検討が求められる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to develop the new geotechnical technology for soil improvement applying microbial activity. This study evaluated the effect of calcium carbonate precipitation induced by denitrification for the geotechnical properties of sand ground. We established the effective method to extract the inoculum of denitrifying bacteria from natural sediment through some incubations. We confirmed the denitrification by the inoculum and the precipitation in the sand column. The result of the sand model experiments indicated the potential use of the nitrogen gas production through denitrification for desaturation effect of sand ground. The transformation of the gas through sand ground can be controlled by several parameters, such as the bacterial reaction speed, the concentration of the substrates, and the pore size and the structure of sand ground. The farther evaluation is required for the ground application like liquefaction countermeasure and slope stabilization.

研究分野：地盤環境工学

キーワード：地盤環境修復 脱窒 バイオグラウト 炭酸カルシウム バイオガス 不飽和化 微生物活性

1. 研究開始当初の背景

私たちの身の回りにおける農業水利施設（ため池・クリーク・用排水路・護岸・農道など）は、単に農業そのものへの機能だけでなく、例えば、水質浄化機能、環境生態系保全、防災機能、景観保全、レクリエーション機能など、様々な役割を担って私たちの生活を支えている。一方で、こうした施設は、常に自然環境と隣合わせに位置しているため、地震や洪水、豪雨などの自然災害や地盤の劣化によっておこる土質地盤の変質（斜面崩壊・土壌侵食・沈下・液状化など）は施設の機能を低下させる。施設の多面的機能を維持するためには、定期的な管理・補修は必要不可欠であり、さらに、施工・管理の際には、通常の土木建造物以上に周辺環境への影響に気を配る必要がある。このような背景を受けて、近年の地盤環境工学の研究分野においては、環境負荷の少ない、低コスト・低規模での地盤改良・修復技術の開発が求められている。

従来の地盤改良工法はさまざまなものがあるが、その一つとして、液状のグラウト固化材を地中に注入し土壌間隙を充填するグラウト注入工法がある（図1）。小規模施工が可能で、既設構造物下部の地盤の施工も可能という大きなメリットがあり、地下水流の制御、地盤補強・修復などに用いられる。一方、用いられる固化材としては、セメントミルクや化学薬材など様々であるが、いずれも施工には大量のグラウト材を要し、その他の工法と比較するとコストがかかる。また、化学物質を含むグラウト材は、地中のpHを変化させるなど地盤および周辺環境に悪影響をおよぼす可能性もある。

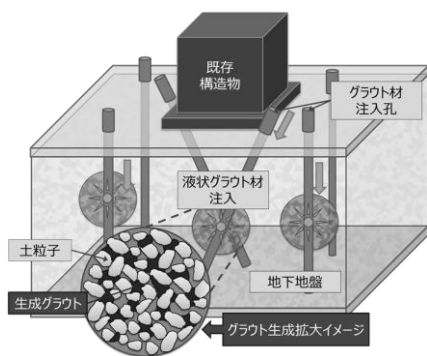


図1 グラウト注入工法のイメージ図

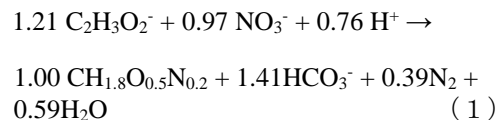
これに対して、近年、微生物の代謝機能を利用して土中に無機鉱物沈殿を生成させ、土壌間隙を充填するという新たな地盤改良法に関する研究が行われている（例えば、①）。この方法は、従来のグラウト注入工法を応用したもので、反応物質と特定の微生物を土中に注入し、微生物の触媒作用を利用して、シリカや炭酸カルシウムなどの無機鉱物沈殿、すなわちバイオグラウトを生成させる。生成した鉱物は、土粒子間隙を充填するとともに粒子間の骨組み作用として働き、地盤強度増

加や安定化といった改良効果を得る。この工法の応用範囲の可能性は幅広く、例えば、液状化防止対策、地盤や建造物の侵食・腐食の補修、傾斜面に対する安定化などの効果が期待できる（②）。さらに、炭酸塩グラウトは、重金属や放射性元素などの汚染物質を封じ込め、汚染物質の流動・拡散防止効果としての働きも期待できる（③）。

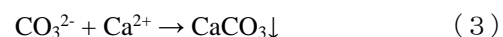
2. 研究の目的

上記の研究背景を受けて本研究では、微生物の代謝機能の一つである脱窒反応を利用したバイオグラウト生成技術の確立を目指し、脱窒菌による炭酸カルシウムグラウトの生成過程およびグラウト生成後の土質特性の変化について検討し、様々な現場への応用を目指して、斜面崩壊や液状化などを想定した応用実験への発展を目指す。

グラウト生成に用いる反応過程は、下記のとおりである。まず、(1)式の脱窒反応により、炭酸水素イオン (HCO_3^-) を得る。



さらに、カルシウム (Ca^{2+}) の濃度の高い環境下を作ることで、炭酸カルシウム CaCO_3 が容易に沈殿・結晶化し、これが土中でバイオグラウトとしての効果を発揮する（式(2)、(3)）。



現在のところ、脱窒菌を用いたバイオグラウトプロセスの先行研究は、世界的にみても非常に数少ないが（④）、自然環境に無数と存在する脱窒菌は入手が容易であること、反応の最終段階で有害物質が生成しないという大きなメリットがある。一方で、(1)グラウト生成の不均一性、(2)グラウト生成時間、(3)窒素ガス生成による地盤の土質特性の変化ならびにグラウト生成への影響については、詳細に検討する必要がある。

3. 研究の方法

(1) 自然堆積土壌からの脱窒菌抽出と微生物の活性化

本研究では、国内の閉鎖性水域において底泥を採取し、この底泥から微生物を抽出・培養して、後のグラウト生成実験に用いた。所定の濃度に調整した硝酸カルシウム・酢酸カルシウムの混合溶液を液体培地として、採取した底泥と培地を混合し、一定温度の恒温環境下において緩やかに攪拌しながら培養を行った。所定の時間経過ごとに培養液を採取し、硝酸イオン濃度やカルシウムイオン濃度

などの溶質パラメータを測定することで、脱窒反応速度を調べた。

(2) 小型模型実験による砂試料中での脱窒反応と炭酸カルシウム生成

試料は豊浦砂を用い、砂を水中落下法によりアクリル模型容器に均一に詰め、円筒供試体（飽和度 100–98%，乾燥密度 1.60 g/cm³）を作成した。微生物培養液と反応基質溶液の混合液をカラム下部より供試体に通水し、室温環境下で 2~8 日間養生させ、その後、新たな反応基質溶液を通水し、取り出した間隙水の各イオン濃度を測定した。上記の通水・養生・測定を 6 回繰り返し、土試料中での脱窒反応を確認した。また養生中は、模型容器上部に接続したチューブを水中に静置させ、反応により生成する窒素ガスを水中置換によって採集して、生成したガスの体積を測定した。

(3) 大型砂模型による脱窒反応実験

内径 20.0 cm、高さ 50.0 cm のアクリル製円筒模型容器に、豊浦砂を均一に詰め、飽和円柱供試体（乾燥密度 約 1.60 g/cm³）を作成した。また、供試体の底辺から高さ 10.0 cm (Bottom), 25.0 cm (Middle), 37.5 cm (Top) の中心部三か所に土壌水分センサーを埋設した (図 2)。微生物培養液と反応基質溶液の混合溶液を、送液ポンプを用いて供試体の下部から通水させ、通水終了後、供試体の体積含水率を一定間隔で計測し、飽和度の経時変化を調べた。また、24 時間おきに供試体から間隙水を採取し、各イオン濃度と pH を測定した。実験は、通水する溶液の反応基質濃度と実験時の室温の異なる 2 条件で (Column A, B) 実施した。実験条件を表 1 に示す。

表 1 各模型実験における実験条件

模型 No.	Column A	Column B
平均室温	25°C	13°C
硝酸濃度 (mmol/L)	20.2	18.2
カルシウム濃度 (mmol/L)	14.8	10.1

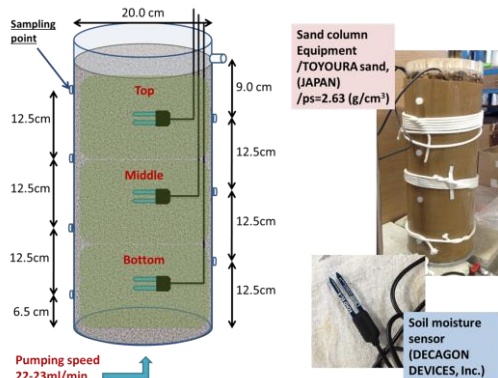


図 2 大型砂模型装置の模式図

4. 研究成果

(1) 自然土壌から抽出した脱窒菌の硝酸分解能

図 3 に微生物培養液の各反応パラメータの経時変化を示す。培養液中の硝酸イオン (NO₃⁻) 濃度は、培養開始後からほぼ直線的に減少し、カルシウムイオン (Ca²⁺) 濃度も NO₃⁻ の減少とともに低下した。亜硝酸イオン (NO₂⁻) 濃度は、培養 1 日目から 7 日目にかけてやや上昇したが、その後減少し、9 日目では検出されなかった。脱窒反応過程では、微生物代謝による窒素化合物の分解が段階的に進むことが知られている (NO₃⁻ → NO₂⁻ → NO → N₂O → N₂) ことから、脱窒の進行に伴って NO₂⁻ の一時的上昇がみられたといえる。9 日目において、添加した硝酸・亜硝酸・カルシウム濃度とも検出下限以下に達したことから、自然土壌中の脱窒菌によって式 (1) ~ (3) の一連の反応の進行を確認することができた。

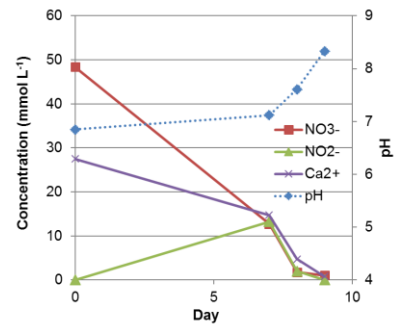


図 3 微生物培養液中の溶質濃度の経時変化

(2) 小型模型実験による土中での脱窒反応

小型砂模型装置内においても、添加した硝酸・カルシウムの消費がみられ、4. (1) と同様の硝酸分解速度によって脱窒の進行を確認した。6 回の通水・養生・測定の間中、脱窒反応は継続的に進行したことから、繰り返し反応溶液を添加することで継続的な脱窒反応が得られることが分かった。ただし、実験中は窒素ガスの生成により、土中内部の水が、土の上部に排水される現象がみられた。特に、高濃度の硝酸を添加した場合は、大量の窒素ガスが生成し、図 4 のように砂供試体に部分的な亀裂が観察された。これは、土の内部においてガスが生成することにより土内部の圧力が上昇し、上部の土の重力以上の力が働いたことにより生じたものといえる。よって、このような亀裂の生成を避けるためには、添加する硝酸濃度と脱窒反応をコントロールする必要がある。一方で、このガス生成を効率よく土中で得ることができれば、土内部の水を排水させ、砂質土を不飽和化させることが可能であることが示唆された。この結果を受けて本研究では、次項 4. (3) の大型模型実験によって、このガス生成による土質特性への影響を詳細に調べることとした。



図4 小型模型土中に生成した亀裂の様子

(3) 大型模型実験における土質特性変化

大型模型実験では、4. (2)で得られた結果を基に、脱窒反応の条件の違いによる土中の含水量の変化を調べることにした。そこで、異なる温度環境下において砂供試体中で脱窒反応を誘発させ、供試体の体積含水量と間隙水圧の経時変化を測定し、飽和度の変化について検討した。反応に用いる反応基質の濃度は、4. (1)の培養実験結果から得られた最適条件を採用した。恒温25℃の環境下で行った実験では、飽和状態の砂質土供試体に対し、脱窒反応後に予測した窒素ガス生成量と同等の飽和度の低下がみられた(図5, Column A)。一方、冬季の低温環境下(平均室温13℃)で行った実験では、脱窒の反応速度が遅く、恒温時と同程度の反応基質を添加したにも関わらず、飽和度の低下の程度が小さくなった(図5, Column B)。

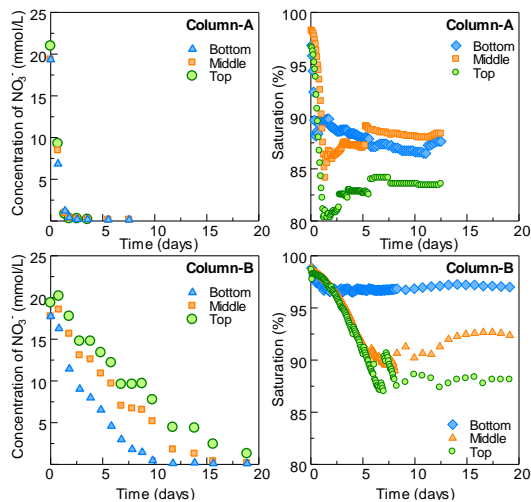


図5 脱窒反応速度と飽和度の関係

これは、脱窒の進行に伴って生成する窒素ガスの気泡の成長速度の違いが起因するといえる。脱窒反応が遅い場合は、生成するガスの単一の気泡径がより小さくなると考えられ、砂供試体の間隙径よりも小さな径を持つ気泡は、地盤を構成する砂の骨格構造を通り抜けて、大気へ開放されることが予想され

る。実際に、実験時の脱窒反応速度をもとに理論式から予測した気泡径の成長速度は、温度の違いによって大きな差があることが示された(図6)。本研究に用いた砂試料の土粒子直径(70μm)をもとに、神谷ら(5)の方法に従って算出した模型地盤の間隙径は50-108μmとなり、気泡半径の成長速度が非常に緩やかなColumn Bにおいては、地中で生成したバイオガスがより微小な気泡の状態の間隙中を移動することで、大気中への開放する割合が増加すると予想される。このように、適用する砂地盤の間隙径や骨格構造の違いが、気泡の移動に寄与すると考えられ、本反応プロセスを考える際の重要なパラメータとなるといえる。

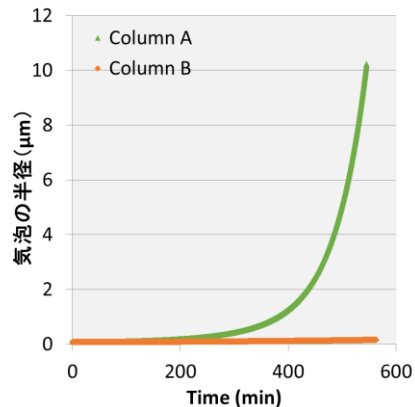


図6 気泡半径の成長速度予測結果

以上の結果から、脱窒反応により生成するバイオガスの砂質土の飽和度の低下への効果が示されたとともに、バイオガスの土中での生成・移動に関する新たな知見を得ることができた。今後は、バイオガスの生成による地中の間隙圧の変化について詳細に検討し、ガス移動との関連性、土質特性の変化についてさらに検討を行う。

上記研究結果から、脱窒反応による地盤特性への影響について、さらなる検討事項が増えたため、本研究期間において、本来計画していた、斜面崩壊や液状化などを想定した応用実験へ発展させることができなかつた。今後さらなる検討を加えることで、最終的には実地盤を想定した応用実験への発展を目指す。

<引用文献>

- ① DeJong, J.T., et al. (2006) Microbially Induced Cementation to Control Sand Response to Undrained Shear, J. Geotech. Geoenviron.132, 1381-1392
- ② DeJong, J.T., et al. (2010) Bio-mediated soil improvement, Ecolo.Engin.36, 197-210
- ③ Ivanov, V., Chu, J. (2008) Applications of microorganisms to geotechnical engineering for

bioclogging and biocementation of soil in situ, Environ. Biotech. 7, 2, 139-153

- ④ Van Paassen, et al. (2010) Potential soil reinforcement by biological denitrification, Ecolo. Eng. 36, 168-175
- ⑤ 神谷ら (1996) 「空気圧入法」による砂質土の間隙径分布の計測, 土木学会論文集 541, 189-198.

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)

[学会発表] (計5件)

- ① V. P. Pham, A. Nakano, L. A. van Paassen, W. R. L. van der Star, T. J. Heimovaara, Biological Denitrification - Calcium Carbonate Precipitation Combination in geotechnical engineering, BioGeoCivil Summit 2015, 2015. 11. 18. 「デルフト (オランダ)」
- ② A. Nakano, L. A. van Paassen, W. R. L. van der Star, Microbially induced carbonate precipitation by nitrate reducing bacteria using pulsed flow injections, BioGeoCivil Summit 2015, 2015. 11. 18. 「デルフト (オランダ)」
- ③ 中野 晶子, Van Paassen Leon, 紅林 良亮, 脱窒反応により生成するバイオガスを利用した飽和砂質土の不飽和化に関する基礎的研究, 地盤工学研究発表会, 2015. 09. 03. 「北海道科学大学 (北海道・札幌市)」
- ④ 中野 晶子, Van Paassen Leon, Van der Star Wouter, 金山 素平, 脱窒反応を用いた炭酸塩グラウト生成の地盤環境工学的利用への検討, 地盤工学研究発表会, 2014. 07. 17. 「北九州国際会議場 (福岡県・北九州市)」
- ⑤ Vinh Pham, Leon van Paassen, Akiko Nakano, Motohei Kanayama, Timo Heimovaara, Microbially induced carbonate precipitation (MICP) by denitrification as ground improvement method- Process control in sand column experiment, EGU General Assembly 2013, 2013. 04. 「ウィーン (オーストリア)」

[その他]

- ① 九州大学農学部 高校生体験授業 「土環境で起こる災害について考えようー地震で液状化はなぜ起こる? 液状化現象を体験してみようー」平成27年8月2日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中野 晶子 (NAKANO, Akiko)
九州大学・大学院農学研究院・助教
研究者番号: 10631286

(2) 研究協力者

van Paassen Leon (VAN PAASSEN, Leon)
Delft University of Technology (オランダ)・Assistant professor