

微生物機能を活用した次世代地盤改良技術に関する研究（１）

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：地質・地盤研究グループ（土質・振動）

研究担当者：佐々木 哲也，加藤 俊二，稲垣 由紀子

【要旨】

微生物代謝による二酸化炭素を利用し、土の間隙中のカルシウム源との反応により炭酸カルシウムを析出させて地盤を固化させる方法（炭酸カルシウム法）については、強度向上や液状化対策効果が確認されているが、実地盤への適用に当たっては、実施工を考慮した栄養塩等の与え方や、特定の種類の微生物に依存しない方法について検討が必要である。本研究では、炭酸カルシウム法への効果が広く知られる“*Sporosarcina pasteurii*”を利用した土槽実験により、栄養塩等の三次元的な注入・揚水により土を固化させる方法について検討し、注入の流量を小さくして CaCO_3 析出量の多い領域を拡げること、目的の地点で、微生物や栄養塩の成分が集まりやすく、揚水等による流出がしにくい状況を作ることが有効であることを確認した。また、“*Sporosarcina pasteurii*”はわが国にとって外来種に当たるため代替となる微生物の利用について検討し、利用する微生物の選定に当たっては、特に尿素分解作用の速さと持続する時間を考慮する必要があることを確認した。

キーワード：地盤改良，炭酸カルシウム法，注入・揚水，微生物

1. はじめに

1.1 微生物代謝を用いた地盤改良技術の必要性

液状化発生の可能性がある地盤上に構造物が存在する場合、既設構造物を解体・撤去せずに直下の地盤改良が可能な技術が今後一層求められる。こうした技術は開発されつつあるが、特殊な施工法が必要で技術的な難易度が高いこと、現状の地盤改良に用いられる改良材では、固化して強度や止水性を有するまでの時間が短いことから、注入地点から離れた場所の地盤改良は難しい。また、建設分野においても二酸化炭素の排出削減が求められる中、地盤改良技術においても、製造時に温室効果ガスを多く排出する建設資材に替わる、より環境負荷の少ない技術も適材適所で使用することが求められている。

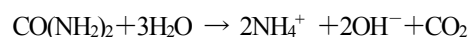
一方で、近年研究開発が進められている地盤改良技術として、シリカゲル法や炭酸カルシウム法といった微生物代謝を利用したものがある¹⁾。これらの方法は、改良材による地盤の固化が比較的緩やかに進行するため、既設構造物直下の地盤改良に適している可能性がある。また、温室効果ガスの発生が少ないなどの特徴があり、次世代における低環境負荷の地盤改良技術としても期待されている。

1.2 炭酸カルシウム法

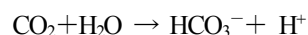
炭酸カルシウム法は、微生物代謝による二酸化炭素 (CO_2) と土の間隙中に存在するカルシウム源から炭酸

カルシウム (CaCO_3) を析出させて土粒子同士を接合させ、土を固化させる技術である。本研究においては、微生物の尿素分解による CO_2 を利用した、以下の反応による砂の固化について検討した。

（尿素分解）



（炭酸カルシウム析出）



微生物として培養液、尿素およびカルシウム源の供給や微生物の活性化を目的とする栄養塩を注入し、炭酸カルシウム法により固化させた砂の強度向上や液状化対策としての効果は既に確認している²⁾。しかし、一次元的な注入で直径 5cm×高さ 10cm の円柱、二次元的な注入で 1 辺の長さが 20cm 程度の直方体という、小規模な供試体や模型地盤を作製して効果を確認したものである。現地地盤への施工では広範囲にわたり、三次元的な注入を行うことになるが、その場合の課題の整理や対応策の検討は必要である。

また、上述の研究も含めて炭酸カルシウム法による土の固化に関する既往研究の多くは“*Sporosarcina pasteurii*”（以下、*pasteurii*）を用いたものである。わが国にとっては外来種の微生物に当たるため、代替となる微生物の利用が求められる。

そこで、本研究では炭酸カルシウム法を対象に、以下を目標に検討を実施した。

1) 実施工を考慮した微生物機能による地盤改良技術の提案

2) 現地微生物の活用も可能な微生物代謝活性化手法の提案

1) の目標に向けては、多量の土に三次元的に栄養塩等を注入するといった、現地施工を考慮した条件で土を固化させる場合の課題の整理や対応策の提案に向け、後述の「2. 炭酸カルシウム法の実地盤への施工に向けた検討」を実施した。

2) の目標に向けては、“*Sporosarcina pasteurii*” の代替となる微生物を用いる際に着目すべき項目の整理、効果的な利用法の提案に向け、後述の「3. 現地微生物の利用に向けた検討」を実施した。

2. 炭酸カルシウム法の実地盤への施工に向けた検討

2.1 土槽実験による三次元的な注入に関する検討

所要量のグラウトを地盤に連続的に注入し、改良範囲に三次元的に到達させるといった、現地施工に近い条件での砂の固化については、未解明な部分が多く、検討が必要である。

そこで、幅 100cm×奥行き 70cm×深さ 50cm の砂に対し、栄養塩等を注入、三次元的に到達させる実験を行った。

注入中の地盤内の各採水ポイントにおける pH やイオン濃度、注入終了後の地盤の各部分における炭酸カルシウム (CaCO_3) 析出量を調べ、栄養塩等の到達状況が CaCO_3 析出状況や砂の固化状況に与える影響について考察した。

土槽に珪砂 6 号および蒸留水を投入し、図-1 に示す模型地盤を作製した。地盤の乾燥密度は、後述のケース 1 およびケース 2 の地盤でそれぞれ、 1.570g/cm^3 、 1.542g/cm^3 であった。

地盤中には、栄養塩等の注入・揚水のための注入孔および揚水孔を設けた。これらは直径 3cm、長さ 55cm のメッシュパイプに不織布を巻いたものである。また、地盤中の pH 等の変化を調べるための採水孔を設けた。採水孔は、内径 4mm のビニールチューブの先端に不織布を付けたもので、先端が図-1 に示す採水ポイントの位置になるように設置した。

栄養塩等は、注入孔内で地盤表面からの深さ 20cm の位置から注入、注入孔と揚水孔で水頭差を付け、揚水孔に向けて流した。注入孔内の水位は地盤表面と同じ高さ

を保ち、栄養塩等が目的とした流量で注入されるよう、揚水孔内の水位を調節した。後述のケース 1 では 1.0cm、ケース 2 では 0.7cm の水頭差として、栄養塩等を注入した。揚水孔に押し出されてくる栄養塩等を、揚水孔内で地表面からの深さ 20cm の位置から揚水した。

こうした注入・揚水は、所定の量の栄養塩等を全て注入し終わるまで、間を空けずに連続的に行った。地盤への注入は、*pasteurii* (ATCC11859) 培養液 75L、表-1 に示す組成の栄養塩 300L、地盤内の栄養塩等の成分を洗い流す蒸留水 150L の順番に行った。全ての注入が終わるまでに、ケース 1 で 213.5 時間、ケース 2 で 482.5 時間を要した。

栄養塩等の流量は、注入された栄養塩等が揚水孔から排水されるまでに地盤内での CaCO_3 析出に有効利用されるように設定する必要がある。ケース 1 およびケース 2 と同じ実験方法で、栄養塩等を注入する際の流量を $6,250\text{mL/h}$ とした場合に、揚水孔からの排水の中に多量の CaCO_3 析出が見られた。栄養塩等が地盤内に存在した時間が CaCO_3 析出の反応に要する時間に対して短く、栄養塩の成分の多くが地盤内での CaCO_3 析出に使われずに排水として地盤の外に流出し、その後に排水中で CaCO_3 析出の反応が生じた状況が考えられた。そのため、目標の流量を $3,125\text{mL/h}$ としたケース 1、 $1,563\text{mL/h}$ とした栄養塩等が地盤内を流下する時間がケース 1 の 2 倍になることを期待したケース 2 を実施した。

両ケースでの栄養塩等注入時には、模型地盤内への栄養塩等の到達状況を把握する目的で各採水孔より採水し、pH、塩化物イオン (Cl^-) 濃度、カルシウムイオン (Ca^{2+}) 濃度、アンモニウムイオン (NH_4^+) 濃度を調べた。ケース 2 では、注入孔より上流側（採水位置 a）と揚水孔より下流側の採水孔（採水位置 f）からも採水した。採水は、注入孔からの培養液注入開始前、培養液 75L 注入完了時、栄養塩 75L、150L、225L、300L 注入完了時、蒸留水 75L、150L 注入完了時を目安に行い、適宜これらの中間的なタイミングでも行った。

蒸留水 150L の注入終了後、模型地盤内を図-1 の破線で示すように区切ったブロックの中心部から 100g 程度の土を抽出し、試料土中に析出した CaCO_3 を 0.5mol/L 塩酸で分解・溶出させた場合の乾燥質量の変化として CaCO_3 析出量を求めた。さらに、砂の質量に対する CaCO_3 析出量の比の百分率（以下、 CaCO_3 析出比）を調べた。

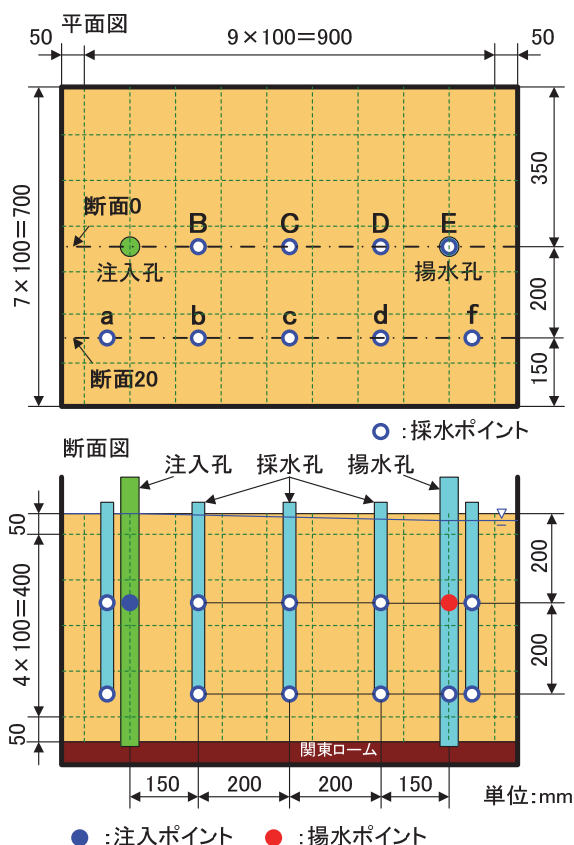


図-1 模型地盤

表-1 栄養塩の組成（蒸留水 1L 当たり）

成分	質量
塩化カルシウム (CaCl_2)	0.5mol=55.49g
尿素 ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$)	0.5mol=30.03g
塩化アンモニウム (NH_4Cl)	10g
Nutrient broth	3g

2.2 地盤内の CaCO_3 析出状況

2.2.1 地盤全体の CaCO_3 析出量

CaCO_3 析出比を調べたブロック毎に以下の計算により CaCO_3 析出量を推定し、全ブロック分を合計することにより地盤全体の CaCO_3 析出量を推定した。

各ブロックの推定 CaCO_3 析出量

= (投入した珪砂 6 号の総質量)

× (当該ブロックの CaCO_3 析出比)

× (当該ブロック体積 / 地盤の珪砂 6 号部分の体積)

また、1.2 で示した化学反応式のとおりに、今回の条件では栄養塩の成分として注入される CaCl_2 1mol から 1mol の Ca が供給され、1mol の CaCO_3 が析出することになる。このため、地盤内に供給されたカルシウム (Ca)

のうち地盤中での CaCO_3 析出に使われた割合を CaCO_3 析出効率とし、以下の計算で求めた。

CaCO_3 析出効率 (%)

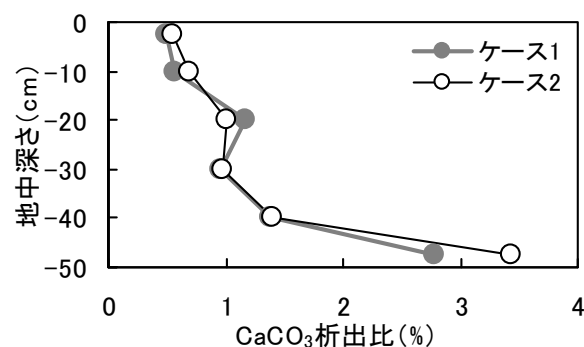
= 100 (%) × (地盤全体の推定 CaCO_3 析出モル数 / 注入された塩化カルシウム (CaCl_2) のモル数)

CaCO_3 析出効率が 100% に近づくほど、供給された Ca が CaCO_3 析出に有効利用されているといえる。

CaCO_3 析出効率は、ケース 1 では 41.7%，ケース 2 では 43.5% であった。ケース 2 では目標とする栄養塩等の流量がケース 1 の半分であり、栄養塩等が地盤内により長時間存在し、地盤内での CaCO_3 析出に有効利用されることにより CaCO_3 析出効率が高まると考えられたが、 CaCO_3 析出効率のみで比較すると、ケース 1 と大差のない結果であった。

2.2.2 深さ方向の CaCO_3 析出比の分布

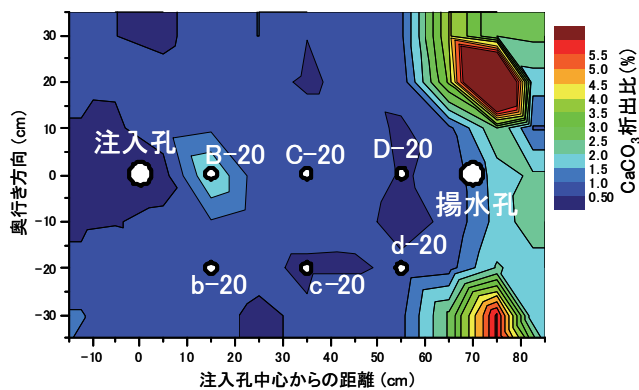
図-1 に破線で示した各ブロックでの CaCO_3 析出比を求め、各ブロックの体積で重みを付けて求めた各ケース・各深さ (2.5, 10, 20, 30, 40, 47.5cm) における CaCO_3 析出比の平均値を図-2 に示す。

図-2 各深さにおける CaCO_3 析出比の平均値

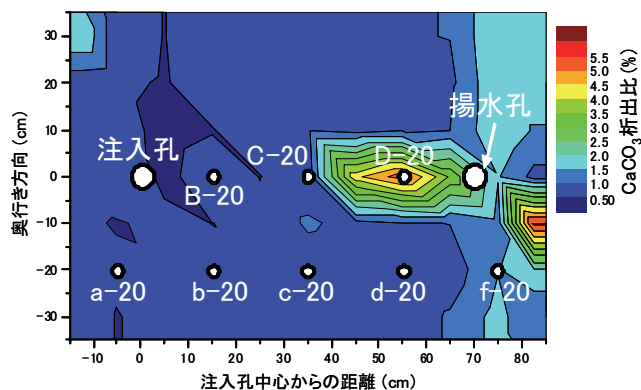
ケース 1，ケース 2 とともに、地盤表面から深くなるほど CaCO_3 析出比の平均が高くなる傾向が見られた。注入された培養液や栄養塩の比重がそれぞれ 1.045，1.099 と水より大きいので、多くが下へ向かい CaCO_3 析出に寄与したと考えられる。

2.2.3 面的な CaCO_3 析出比の分布

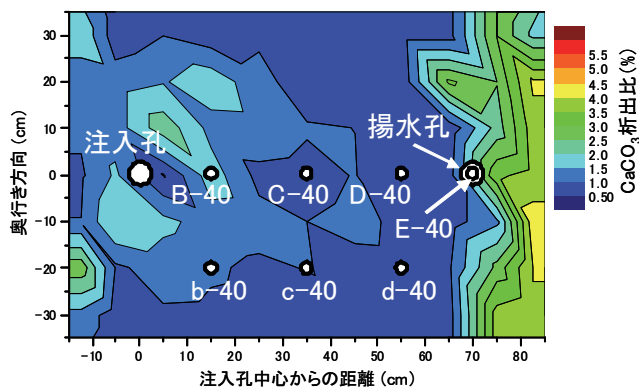
次に、各ブロックでの CaCO_3 析出比を当該ブロック中心位置での CaCO_3 析出比とみなし、各ケースについて、採水ポイントを含む断面 0 と断面 20、深さ 20cm と 40cm を例に、 CaCO_3 析出比の等高線図を描いた (図-3 および図-4)。等高線図中の記号は、採水ポイントを表すもので、“採水位置—深さ (20 または 40)” と示した (例：採水位置 B の深さ 20cm → B-20)。また、各断面における CaCO_3



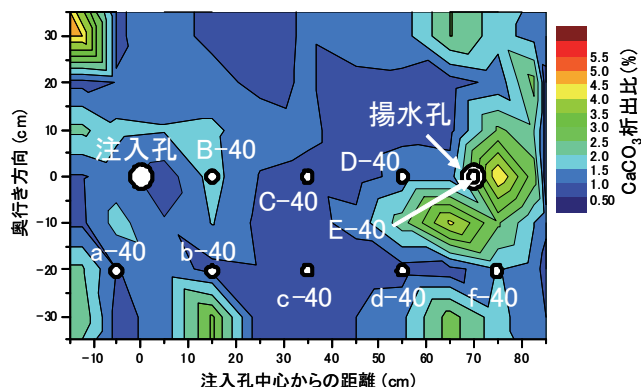
(a) ケース 1・深さ 20cm (CaCO₃析出比平均：1.17%)



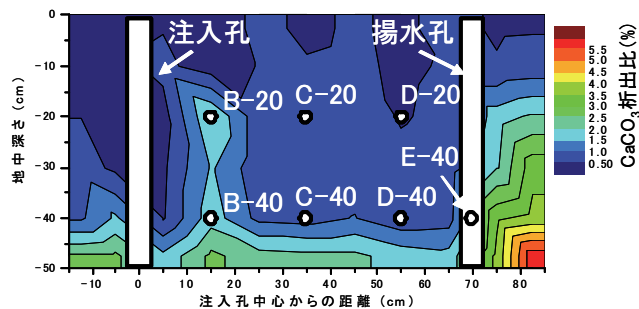
(a) ケース 2・深さ 20cm (CaCO₃析出比平均：1.01%)



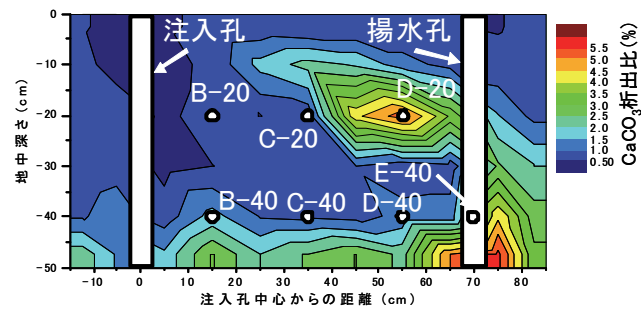
(b) ケース 1・深さ 40cm (CaCO₃析出比平均：1.37%)



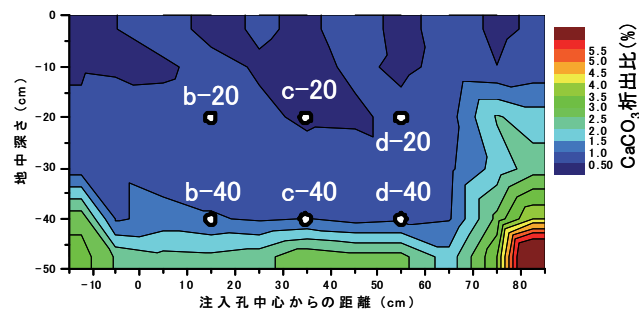
(b) ケース 2・深さ 40cm (CaCO₃析出比平均：1.39%)



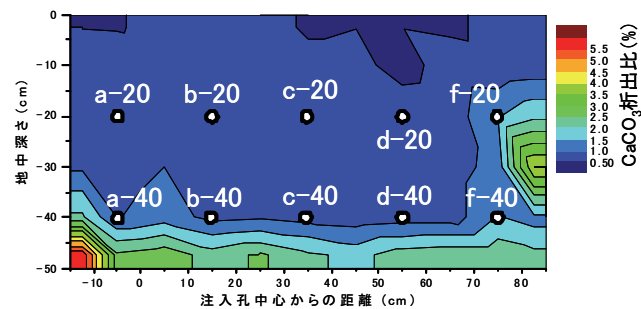
(c) ケース 1・断面 0 (CaCO₃析出比平均：1.03%)



(c) ケース 2・断面 0 (CaCO₃析出比平均：1.41%)



(d) ケース 1・断面 20 (CaCO₃析出比平均：1.06%)



(d) ケース 2・断面 20 (CaCO₃析出比平均：0.99%)

図-3 地盤内の CaCO₃ 析出比分布 (ケース 1)

図-4 地盤内の CaCO₃ 析出比分布 (ケース 2)

析出比の平均値も併記した。

ケース1, ケース2ともに, 一部の領域では5%を超える CaCO_3 析出比も確認され, 写真-1 に示すように固化している様子も確認された。一方, 類似の粒度特性を有する珪砂である豊浦砂による実験結果では, CaCO_3 析出比が2%程度あれば液状化対策効果が期待できるという結果が得られている²⁾が, CaCO_3 析出比が2%以上となる領域は地盤の全域ではなかった。

深さ20cmにおける CaCO_3 析出比の平均は, ケース1で1.17%, ケース2で1.01%と, 0.16%の違いであったが, CaCO_3 析出比の分布状況には顕著な違いが見られた。 CaCO_3 析出比の高い領域は, ケース1では揚水孔より下流側で土槽の壁際の位置, ケース2では揚水孔周りに見られた(図-3(a)および図-4(a))。

深さ40cmにおける CaCO_3 析出比の平均は, ケース1で1.37%, ケース2で1.39%と, 0.1%にも満たない違いであったが, CaCO_3 析出比の高い領域は, ケース1では揚水孔より下流側に集中したのに対し, ケース2では, 揚水孔周りや土槽の壁際に分散していた(図-3(b)および図-4(b))。

断面0における CaCO_3 析出比の平均は, ケース1で1.03%であったのに対し, ケース2ではその約1.4倍に当たる1.41%となった。 CaCO_3 析出比が高い領域は, ケース1では採水位置B付近や揚水孔より下流の位置に見られたのに対し, ケース2では揚水孔を囲むように見られたほか, 深さ20cm付近で揚水孔の手前の方にも見られた。ケース2の方が CaCO_3 析出比の高い領域がより広範囲に見られた(図-3(c)および図-4(c))。

断面20における CaCO_3 析出比の平均は, ケース1で1.06%, ケース2では0.99%と, 0.1%にも満たない違いであった。ケース1, ケース2ともに CaCO_3 析出比の高い領域は揚水孔より下流側と注入孔より上流側で見られた。ただし, CaCO_3 析出比が5%を超えた位置は, ケー

ス1では揚水孔より下流の土槽壁際, ケース2では注入孔より上流の土槽壁際, と反対の位置であった(図-3(d)および図-4(d))。

このように, ケース1とケース2では, 地盤全体での CaCO_3 析出量や地盤内の深さ毎の CaCO_3 析出量の分布には大きな違いが見られなかったが, CaCO_3 析出比の高い領域の分布に違いが見られ, ケース2では, ケース1に比べて揚水孔より下流側の領域以外にも CaCO_3 析出比の高い領域が散在している傾向であった。ケース2では栄養塩等の流量がケース1の半分となり, 地盤内に注入された栄養塩等が揚水孔から排水されるまでの時間が長くなった分, より広範囲での CaCO_3 析出に寄与したことが考えられる。

地盤内各部分の CaCO_3 析出比を高め, 土をさらに固化させて強度向上や液状化対策効果を期待する場合には, 培養液や栄養塩の注入量を増やすことや, 栄養塩の地盤内での滞留時間を増やすなど, 注入方法の検討が必要と考えられる。

2.2.4 各採水位置における Cl^- 濃度, Ca^{2+} 濃度の推移

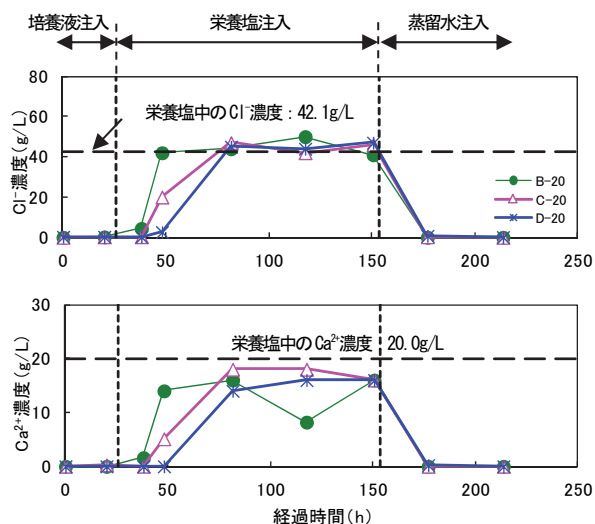
Cl^- 濃度, Ca^{2+} 濃度の推移について, 断面0と断面20でそれぞれ深さ別, ケース別に図-5および図-6に示した。図中の凡例は採水ポイントを示すもので, “採水位置—深さ(20または40)”と示す(例: 採水位置bの深さ20cm→b-20)。 Cl^- は栄養塩の成分由来で, 他のイオンと析出物を作ることはなく, 栄養塩の到達状況を示すと考えられる。 Ca^{2+} 濃度は栄養塩中の CaCl_2 の濃度に依存するが, CaCO_3 析出が進むと析出に使われた分だけ濃度が低下する。

ケース1では, 栄養塩注入中の濃度が安定した段階において, 各採水ポイントで Cl^- 濃度が栄養塩中の Cl^- 濃度と同程度であった。これに対し, Ca^{2+} 濃度は栄養塩中の Ca^{2+} 濃度に比べて5g/L程度低い濃度で推移していることから, CaCO_3 析出が進み Ca^{2+} 濃度が減少したと考えられる(図-5)。同じ深さでは, 注入孔からの距離が近い位置から順に Cl^- 濃度, Ca^{2+} 濃度の変化が生じた。同じ採水位置では深さ40cmの方で先に栄養塩注入に伴う Cl^- 濃度, Ca^{2+} 濃度の上昇が見られた。

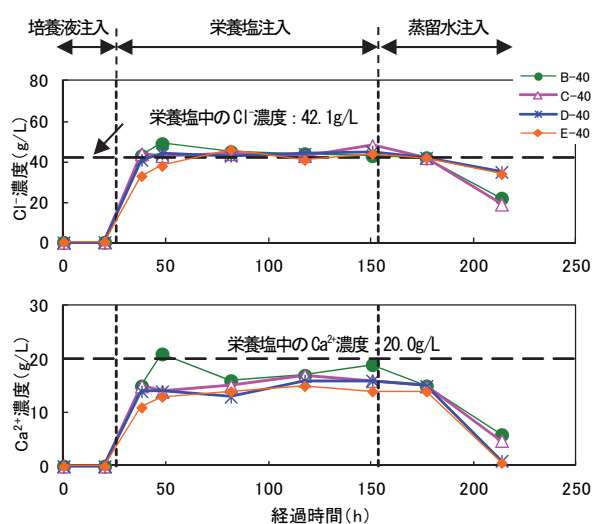
蒸留水注入開始後は, 各採水位置の深さ20cmにおいて Cl^- 濃度, Ca^{2+} 濃度がともに0に近づく変化が見られたのに対し, 深さ40cmでは Cl^- 濃度が検出され続けた。これは, 栄養塩の比重が蒸留水より大きいいため, 地盤内に残留していた栄養塩が下に回り込んだことによると考えられる。蒸留水注入開始後 Cl^- 濃度が次第に低下したことは, 揚水孔内の深さ20cmの点から揚水を続け, 地



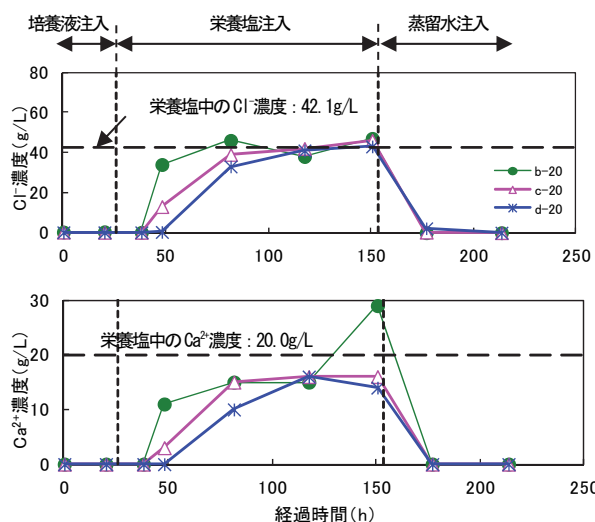
写真-1 部分的に固化した状況の例



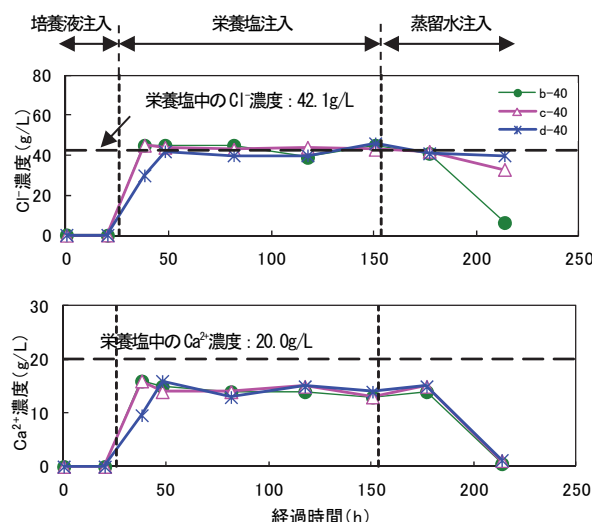
(a) 断面 0・深さ 20cm



(b) 断面 0・深さ 40cm



(c) 断面 20・深さ 20cm



(d) 断面 20・深さ 40cm

図-5 地盤内の Cl^- 濃度・ Ca^{2+} 濃度の変化 (ケース 1)

盤内に残留した栄養塩の成分が回収された一方で、蒸留水が注入されて比重の関係で地盤の上部から栄養塩と置き換え、間隙水中での栄養塩の成分の濃度が低下したことによって考えられる。 Ca^{2+} 濃度は、蒸留水 75L が注入された時点では、深さ 40cm の全ての採水ポイントで検出されていたが、蒸留水 150L の注入が終わった時点では、採水ポイント D-40 および E-40 では 0 に近づいた。これらの採水ポイントの付近では、蒸留水を注入した間に CaCO_3 析出が進んだことが考えられ、E-40 の付近では、 CaCO_3 析出比 3.40% と比較的高い値が確認された (図-3(b))。

ケース 2 では、注入孔より上流側の採水位置 a や揚水孔より下流側の採水位置 f においても Cl^- 濃度、 Ca^{2+} 濃

度を調べた結果、深さ 20cm, 40cm とともに採水位置 a では採水位置 b、採水位置 f では採水位置 d に近い推移となった。栄養塩注入が進んでも、 Cl^- 濃度には採水位置毎にばらつきがあり、多くの採水位置で栄養塩中の Cl^- 濃度よりも低い濃度で不規則に変化しながら推移した (図-6)。採水ポイント C-20, B-40, c-20, a-40 では一時的に栄養塩中の Cl^- 濃度より高い Cl^- 濃度も観測された。各採水ポイントにおける Ca^{2+} 濃度は、 Cl^- 濃度の 0.3~0.4 倍の濃度で Cl^- 濃度に比例するように推移した。栄養塩中の Ca^{2+} 濃度の Cl^- 濃度に対する比は 0.48 となることから、 Ca^{2+} が CaCO_3 析出に使われて濃度が減少したと考えられる。

同じ採水位置ならば栄養塩注入に伴う Cl^- 濃度、 Ca^{2+}

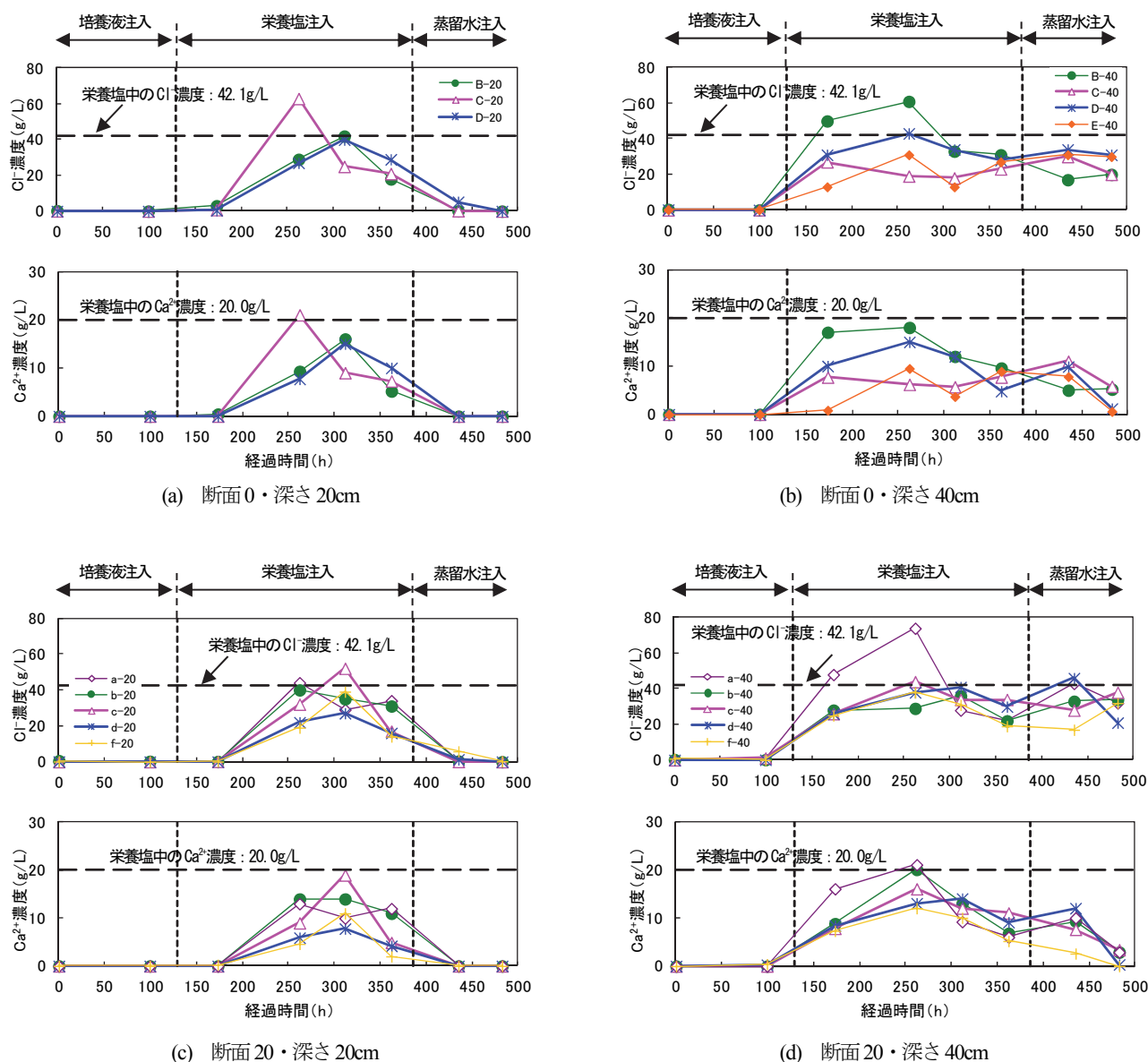


図-6 地盤内の Cl^- 濃度・ Ca^{2+} 濃度の変化 (ケース2)

濃度の上昇が深さ40cmの方で先に見られた点や、蒸留水注入が始まってからの深さ20cmにおける Cl^- 濃度、 Ca^{2+} 濃度の変化の状況はケース1と同様の傾向であった。深さ40cmにおいては、蒸留水注入開始後に Cl^- 濃度が検出され続ける一方で Ca^{2+} 濃度が0に近づいた採水ポイントD-40、E-40、d-40、f-40の付近においては、 CaCO_3 析出比が比較的高くなり、E-40付近においては、4.41%が確認された(図-4(b))。また、深さ20cmにおいて、採水ポイントD-20では蒸留水75Lが注入された時点でも Cl^- 濃度が検出されていた。一方で、 Ca^{2+} 濃度はこの時点で既に0に近づいており、蒸留水注入が開始されてからも CaCO_3 析出が進んだことが考えられ、付近では5.27%という、高い CaCO_3 析出比が確認された。

一方、同じ断面、同じ深さにおいて注入孔に近い位置から順次ではなく同時期に栄養塩注入に伴う Cl^- 濃度、 Ca^{2+} 濃度の上昇が見られており、 Cl^- 濃度や Ca^{2+} 濃度が不規則に推移した点ではケース1と異なっていた。ケース2では栄養塩等の流量をケース1の半分としたことで、図-4に示したように CaCO_3 析出比の高い領域が散在したと考えられる。

ケース1およびケース2の結果から、地盤中での CaCO_3 析出は、注入の流量によらず、栄養塩注入中から蒸留水注入終了まで続いた状況が考えられる。特に、深さ40cmの下流側など、蒸留水注入開始後に栄養塩の成分が集まりやすく、流出しにくかったと考えられる領域では、比較的栄養塩注入終了後も CaCO_3 析出が進み、 CaCO_3 析出

量が多くなった。

栄養塩等の総注入量が同じ条件で注入の流量を変えたことにより、栄養塩の濃度の到達状況の水平分布が変わったことが、同じ深さの面での CaCO_3 析出比の分布に影響を与えたと考えられる。

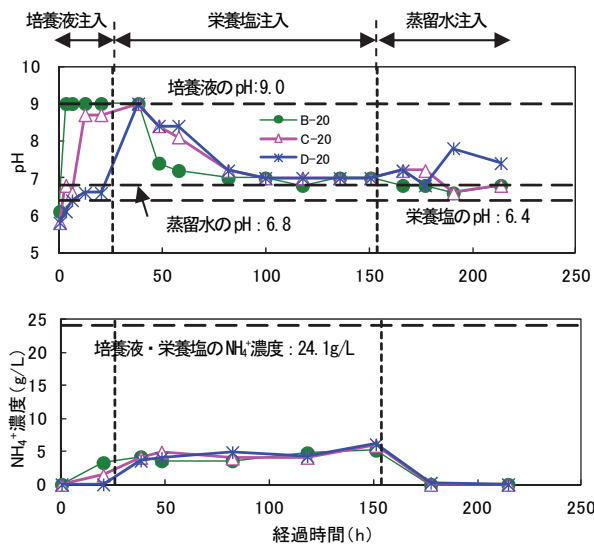
2.2.5 各採水位置における pH、 NH_4^+ 濃度の推移

各採水ポイントにおける pH の推移について見ると、珪砂 6 号と蒸留水のみで $\text{pH}=5.2\sim 6.1$ であった初期の状態から培養液、栄養塩、蒸留水の注入により、培養液の $\text{pH}=9.0$ 、栄養塩の $\text{pH}=6.4$ に近づいていく変化は、ケース 1、ケース 2 とともに深さ 40cm の方から先に進んだ (図-7 および図-8)。培養液、栄養塩、蒸留水の比重がそれぞれ 1.045、1.099、1 であり、注入された培養液や栄

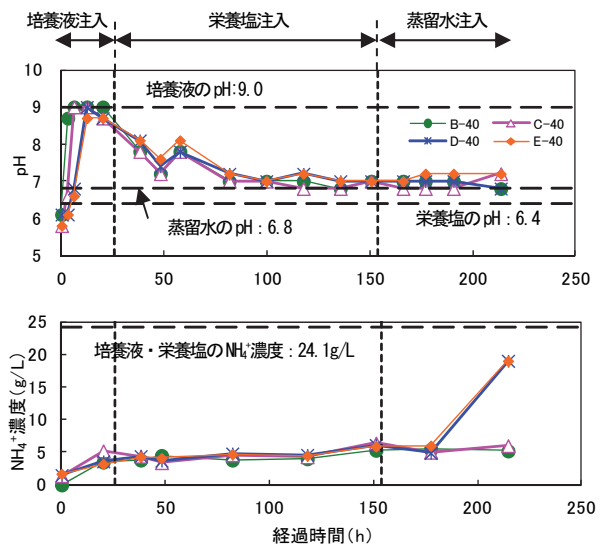
養塩が下の方から回り込んだことによると考えられる。

同じ断面・同じ深さでは、注入孔からの距離が近い採水ポイントから順次こうした pH の変化が現れた。培養液注入から栄養塩注入までの間の pH は、ケース 2 の深さ 20cm を除き、培養液注入期間の後半から栄養塩注入の初期にかけて最も高い値となった。ケース 2 の深さ 20cm では、最も pH が高くなったのが栄養塩を注入し始めてからであった。培養液の注入量は 75L と間隙体積の半分程度に当たること、ケース 2 では注入の流量が小さく、栄養塩注入が始まるまでの間は注入された培養液が下流へ向かう流れよりも水との比重の関係で下へ向かう流れがより顕著になったことによると考えられる。

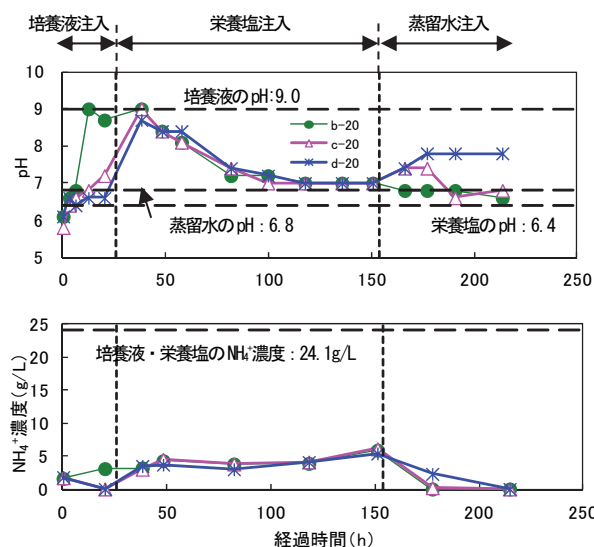
また、栄養塩の注入が終了し、蒸留水が注入されてか



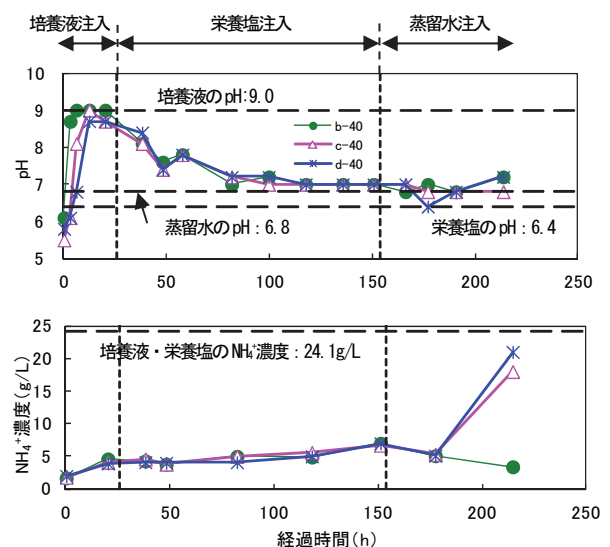
(a) 断面 0・深さ 20cm



(b) 断面 0・深さ 40cm



(c) 断面 20・深さ 20cm



(d) 断面 20・深さ 40cm

図-7 地盤内の pH・ NH_4^+ 濃度の変化 (ケース 1)

らは、ケース 1、ケース 2 とともに深さ 20cm では pH の上昇が確認され、下流側の採水位置では栄養塩や蒸留水よりも pH が高い状態が蒸留水注入終了時まで続いた。特にケース 2 の深さ 20cm では pH の値も高く、pH=8 を超える値も観測された。蒸留水注入開始後は、比重の違いによって、地盤の下から順に栄養塩、地盤中に残留した培養液、注入された蒸留水と層状に分離した状態で存在したと考えられる。さらに、揚水を行った深さが 20cm であり、主として下に回り込んだ栄養塩を回収していたと考えられる。その結果、深さ 20cm 付近には栄養塩の次に比重の高い培養液が多く存在したことにより高い pH が観測されたと考えられる。特に注入の流量が小さいケース 2 では深さ 20cm 付近に培養液が回り込む状

況がより顕著に現れたものと考えられる。

NH_4^+ 濃度については、培養液の成分に由来する NH_4^+ 濃度は 2.7g/L、栄養塩の成分に由来する NH_4^+ 濃度は 21.4g/L (うち、 NH_4Cl による NH_4^+ 濃度: 3.4g/L、尿素分解により発生が見込まれる最大の NH_4^+ 濃度: 18g/L) であり、これらを単純に合計したものが、図-7 および図-8 に示す培養液・栄養塩の NH_4^+ 濃度の 24.1g/L となる。これに対し、 NH_4^+ 濃度の変化は、ケース 1、ケース 2 とともに同じ採水位置であれば深さ 40cm の方で先に培養液注入に伴う NH_4^+ 濃度の上昇が見られ、栄養塩注入中の各採水ポイントにおける NH_4^+ 濃度は数 g/L 程度で推移した (図-7 および図-8)。栄養塩注入中は、2.2.4 に示した Cl^- 濃度の結果からも、深さ 20cm、40cm とともに間隙水の

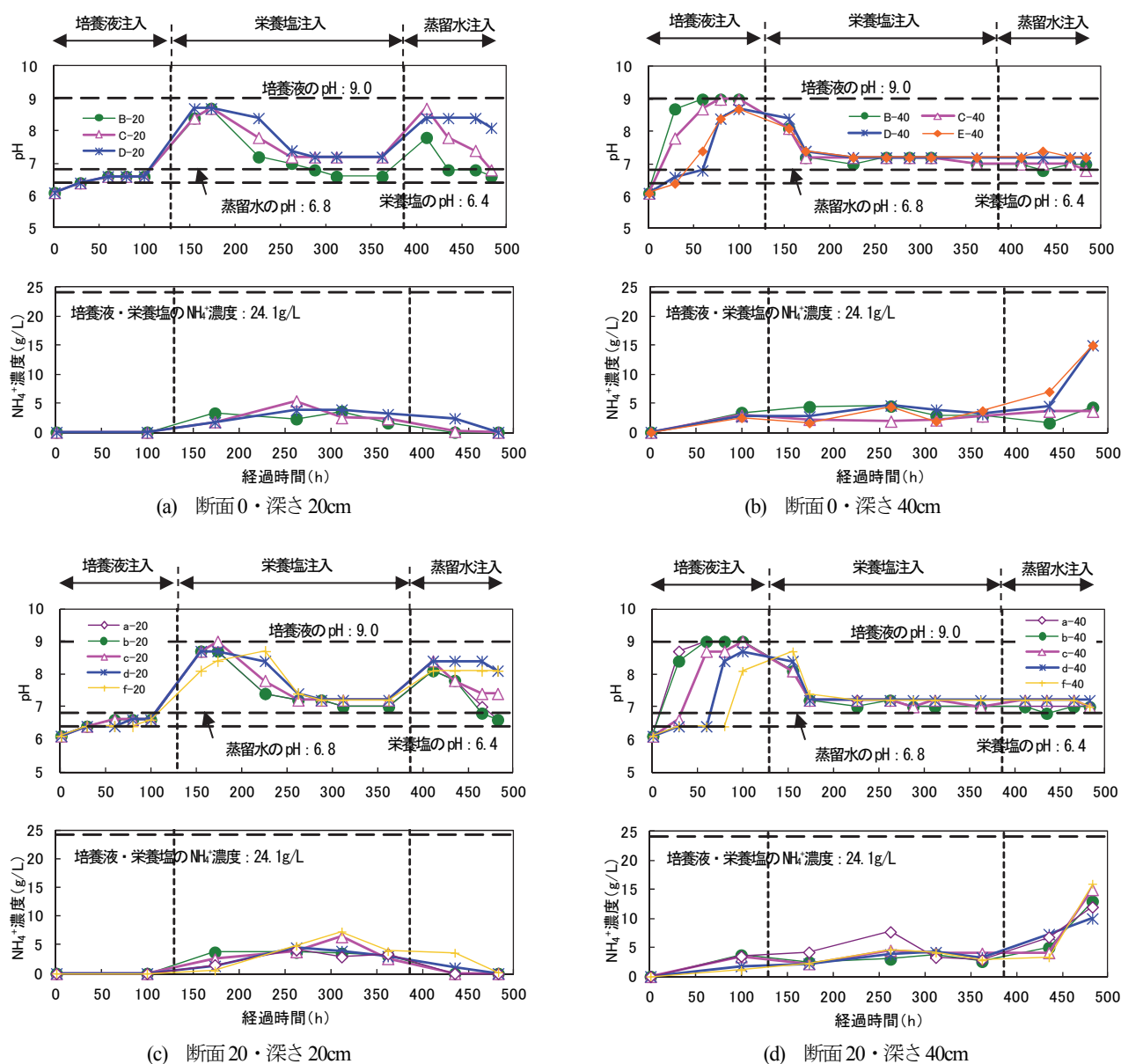


図-8 地盤内の pH・ NH_4^+ 濃度の変化 (ケース 2)

多くが栄養塩に置き換わっていたと考えられる。そのため、 NH_4^+ 濃度も主に栄養塩に由来するもので、栄養塩注入開始後、蒸留水の注入を終了するまでの間、 NH_4^+ 濃度が検出された採水ポイントの周辺では、1.2で示した微生物による尿素分解が進んでいたと考えられる。

ケース1、ケース2ともに、深さ20cmの多くの採水ポイントでは蒸留水注入開始後に NH_4^+ 濃度が0に近い一方、ケース1の採水ポイントd-20、ケース2の採水ポイントD-20、f-20では、蒸留水注入開始後も数g/L程度の NH_4^+ 濃度が検出された。蒸留水注入開始後は、比重の違いによって、地盤の下から順に栄養塩、地盤中に残留した培養液、注入された蒸留水と層状に分離した状態で存在し、揚水を行った深さが20cmで、主として下に回り込んだ栄養塩を回収していたため、深さ20cm付近には栄養塩の次に比重の高い培養液が多く存在したことが考えられる。深さ20cmの採水ポイントで検出された NH_4^+ 濃度は、培養液の成分または存在した微生物の尿素分解によるものと考えられる。その結果、ケース2の採水ポイントD-20やf-20の周辺ではそれぞれ CaCO_3 析出比5.27%、2.06%が確認されるなど、 CaCO_3 析出が進んだと考えられる。

深さ40cmの採水ポイントでは、蒸留水注入開始後には栄養塩注入中と同程度または高い NH_4^+ 濃度が観測され、ケース1のD-40、E-40、c-40、d-40、ケース2のD-40、E-40と断面20上にある全ての採水ポイントでは蒸留水注入開始後に NH_4^+ 濃度の上昇が確認された。比重の関係で地盤内に残留した栄養塩の成分が地盤の下の方に集まり、かつ深さ20cmの揚水位置から離れていて揚水の影響を受けにくく滞留したことや、砂粒子に付着するなどして残留していた微生物による尿素分解が進んだことによるものと考えられる。

pHと NH_4^+ 濃度の関係を見ると、深さ20cmで蒸留水注入開始後にpH=8前後と周辺より高いpHとなった採水ポイントでは、蒸留水注入開始後も NH_4^+ 濃度が検出されており、培養液が残留していて NH_4^+ が存在した、または微生物による $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ の分解が進んで NH_4^+ が発生し、この影響でpHが周辺より高くなったと推察される。こうした採水ポイントの付近では CaCO_3 析出比も比較的高く、アルカリ性の状態やアンモニアが存在する状態が保たれ、微生物の活動や CaCO_3 析出に有利に働いたことが考えられる。蒸留水注入開始後に NH_4^+ 濃度が上昇した採水ポイントは深さ40cmの下流側に集中していた。こうした採水ポイントで確認されたpHは注入された蒸留水のpHに近いものであった。周辺では CaCO_3 析出比の

高い領域が見られ、栄養塩や培養液の成分が水より高い比重により周辺より多く溜まったことで、 CaCO_3 析出が進んだと考えられる。

2.3 三次元的な注入による固化における留意点

炭酸カルシウム法を用い、栄養塩等の三次元的な注入による土の固化に関して、微生物は*pasteurii*を用い、栄養塩等を注入・揚水で供給する方法を模擬した土槽実験を行い検討した。栄養塩等の流量の設定により栄養塩等が地盤内を流下する時間を変えた場合の CaCO_3 析出状況を調べたところ、以下のような結果を得た。

- ・今回の条件では、流量を半分にして栄養塩等が地盤内を長時間にわたり流下することを期待しても、同じ深さの面全体の CaCO_3 析出量の平均値に大きな違いはなかったが、 CaCO_3 析出量が多い領域の分布は変わった。流量を小さくすると、揚水孔より下流側以外にも、揚水孔周り等、周辺より CaCO_3 析出量が多くなる領域が拡大したほか、地盤の下の方で CaCO_3 析出量が増えた。

- ・各採水ポイントにおける Cl^- 濃度や Ca^{2+} 濃度、 NH_4^+ 濃度の推移から、栄養塩注入中から蒸留水注入終了後まで CaCO_3 析出は続いていたと考えられる。

- ・最後に蒸留水を注入した際、地盤内の下の方から栄養塩、培養液、蒸留水の順に比重の関係で分離して存在したことが考えられる。栄養塩が集まりやすく、揚水の影響も受けにくい深さ40cmにおいては、栄養塩の成分に由来する Cl^- 濃度や NH_4^+ 濃度が高くなった。一方、 Ca^{2+} 濃度は0に近づき、 CaCO_3 析出が進んだことが考えられる。深さ20cmの採水ポイントでは、揚水孔内の深さ20cmの位置から揚水していた影響も考えられるが、pHの上昇が見られ、培養液が集まりやすくなっていたと考えられる領域が付近で見られた。こうした領域では、微生物の尿素分解も進んだと考えられ、 CaCO_3 析出比も周辺に比べて高くなる傾向であった。

こうした実験結果から、栄養塩等の注入の流量が、栄養塩の成分が地盤内での CaCO_3 析出に十分に使われる前に揚水されることがない程度のものであれば、それ以上に流量を小さくすることが必ずしも地盤内全体の CaCO_3 析出量を増やすことにはならないと考えられる。

培養液や栄養塩が集まりやすく、流出しにくい位置や時期において尿素分解や CaCO_3 析出が進み、高い固化効果を得られると考えられる。このような状況が、特に固化効果を得る必要のある位置で得られるよう、揚水箇所との位置関係も考慮のうえ、注入の流量等条件を設定する必要がある。

3. 現地微生物の利用に向けた検討

3.1 微生物の種類の選定

「2. 炭酸カルシウム法の実地盤への施工に向けた検討」においても、既往の研究³⁾で、尿素分解作用が活発で CaCO_3 析出に対する寄与が大きいことが知られている *pasteurii* を用いた。しかし、*pasteurii* はわが国にとって外来種の微生物であり、日本国内での地盤改良に当たっては外来種の微生物を地盤に注入するのではなく、現地地盤に既に生息する微生物、または輸入せずに日本国内でも入手可能な微生物の利用が望ましい。現地地盤の微生物生息状況には、土の不均一性、地中温度、地中深さや酸素濃度等、多くの要因が複雑に絡んでおり、その中で CaCO_3 析出に寄与する微生物を抽出し、 CaCO_3 析出に有利な条件を特定するためには、多くの段階的な検討、対象とする現場毎に個別の検討が必要となる。そこで、日本国内でも入手可能で CaCO_3 析出に寄与する可能性が高いと考えられる微生物を、*pasteurii* の代替に用いる方法を検討した。以下、対象とする微生物の選定について示す。

日本国内で入手可能で *pasteurii* と類似の機能が期待できる微生物を、日本微生物資源学会が有する遺伝子データベース⁴⁾の検索や文献により探した。このデータベースには、*pasteurii* と同一の微生物が別名で登録されていることがないと判明したため、他の微生物を探した。

まず、*pasteurii* と類似の遺伝子を持つ微生物という観点から、*Sporosarcina* 属の微生物を検索、リストアップした。この中から、文献^{5), 6), 7)}により尿素分解遺伝子を有することが確認されたものに絞り込んだ。さらに、一般的に想定される地中温度下でも生息可能であることや、病原性、環境への有害性がないことをデータベースの情報や文献により確認した。

その結果、表-2 に示す微生物が候補としてリストアップされた。この中で、最適温度に関しては、微生物の種類による大きな違いがなかった。*pasteurii* が CaCO_3 析出に有利とされていた性質として、1 つにはアンモニアを含むアルカリ性条件下で増殖や生育がしやすく（最適 pH = 9）、尿素を分解した際に発生するアンモニアによって

生育が促進されることがある。アンモニアの発生によりアルカリ性の環境になると、 CaCO_3 析出の反応が促進され⁸⁾、結果として土の固化に有利となる。その他の有利な性質として、*pasteurii* は耐塩性が高く、栄養塩等の注入に耐えやすいことがある。

これらも考慮し、“*Sporosarcina ureae*” (NBRC12699, 以下 *ureae*) と “*Sporosarcina saromensis*” (NBRC103571, 以下 *saromensis*) を選定、独立行政法人製品評価技術機構バイオテクノロジーセンター (NBRC) より入手して利用を試みた。*ureae* については、耐塩性は低いものの、陸域由来で尿素分解酵素を有することから、 CaCO_3 析出効果が確認された場合に広く陸域の地盤改良に適用しやすいと考えられるため選定した。*saromensis* については、最適 pH が 6.5 とされているが、弱アルカリ領域でも増殖が可能⁹⁾であることが確認されていること、耐塩性が高く、栄養塩等の注入に耐えやすいことが期待されることから選定した。

3.2 代替の微生物を用いた場合の CaCO_3 析出状況の確認

3.2.1 実験方法

選定した代替の微生物を用いた場合の CaCO_3 析出の可能性を、容量 60mL のシリンジを用いた試験で確認した。試験手順は、例えば文献⁹⁾に示すような既往の研究と同様、図-9 に示す手順で行った。

容量 60mL のシリンジ円筒部の底面には不織布を敷き、下部の孔にはビニールチューブを接続して、シリンジか

表-2 微生物のリストアップの結果

微生物	最適 pH	耐塩性 (%)	最適温度 (°C)
<i>Sporosarcina ureae</i>	7	3	30
<i>Sporosarcina globispora</i>	7	5	20
<i>Sporosarcina phychrophila</i>	7	5	25
<i>Sporosarcina saromensis</i>	6.5	9	25
<i>Sporosarcina aquimarina</i>	6.5-7	13	30
(参考) <i>Sporosarcina pasteurii</i>	9	10	30

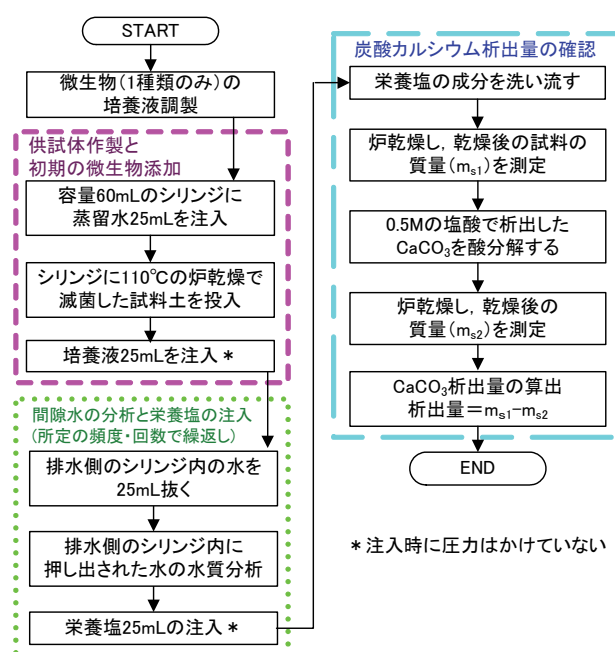


図-9 試験手順

らの排水が抜けるようにした。シリンジ内には、蒸留水と試料土を飽和状態で体積が 40mL となるよう投入した。試料土表面と排水側のシリンジ内水面の水頭を等しくすることで、試料土が飽和状態を保つようにした（図-10）。

試料土は、豊浦砂 60g とし、注入した微生物以外の菌による影響を排除するため 110℃の炉乾燥により滅菌したものを投入した。

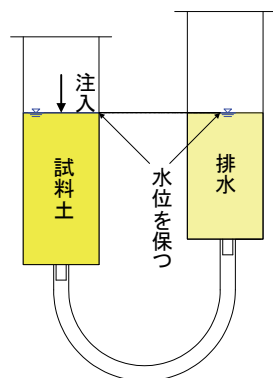


図-10 試料土が飽和状態を保つしくみ

微生物は、3.1 で選定した *ureae* と *saromensis*、比較のために *pasteurii* を用いたが、1 種類単独の培養液として試料土の上から、圧力をかけずに注入した。培養液は、微生物の種類毎に、表-3 に示した当該微生物に最適な組成の培養基（微生物を植え付ける液体）中に微生物を植え付け、30℃のインキュベーター内で培養したものである。培養日数は、*pasteurii* と *saromensis* で2 日間、*ureae* では9 日間とした。

栄養塩は、微生物の種類による活動の違いを比較する目的から、炭酸カルシウム法で最低限必要な成分である塩化カルシウム（CaCl₂）と尿素を同じモル数ずつ蒸留水に溶かしたのみの組成とした。CaCl₂ はカルシウム源の供給、尿素は微生物に分解されて CO₂ を発生する役割を有する。1.2 で示した化学反応式より、CaCl₂ と尿素各各微生物の最適 pH が異なることや、尿素分解の進み具合が異なる可能性があることが、CaCO₃ 析出状況に影響を与えると予想されたため、栄養塩等注入の際には間隙水の pH およびカルシウムイオン（Ca²⁺）濃度を調べた。

図-10 に示すようにビニールチューブでつながれた試料土のシリンジと排水の受け皿となるシリンジのうち、受け皿側のシリンジから、新しく栄養塩を注入する直前に 25mL（1 回当たりの注入量に相当）の排水を抜き取った。次に、受け皿側のシリンジに押し出される間隙水に対して、pH と Ca²⁺濃度を調べた。その後、試料土の上部から新しい栄養塩を注入した。

表-3 各微生物の培養基の組成（蒸留水 1L 当たり）

(a) *pasteurii*

トリスバッファー	0.13mol=15.75g
硫酸アンモニウム ((NH ₄) ₂ SO ₄)	10g
Yeast extract (酵母エキス)	20g

(b) *ureae*

ポリペプトン	10g
Yeast extract (酵母エキス)	2g
硫酸マグネシウム7水和物 (MgSO ₄ ・7H ₂ O)	1g

(c) *saromensis*

マリンブロス	37.4g
--------	-------

所定回数の栄養塩注入が終了し、各回の栄養塩注入の間隔と同じ時間を置いた後、試料土の上から蒸留水を 30mL 程度注入して栄養塩等の成分を洗い流した。洗い流した後、試料土内の水を吸引脱水し、試料土中の CaCO₃ 析出量を調べた。試料土中に析出した CaCO₃ を 0.5mol/L 塩酸で分解・溶出させた場合の乾燥質量の変化を CaCO₃ 析出量とした。

実験結果は、CaCO₃ 析出量またはこれをもとに、2.1 および 2.2.1 と同様に定義・算出した CaCO₃ 析出比や CaCO₃ 析出効率でも評価した。

これらの一連の実験を、栄養塩濃度、栄養塩の pH、栄養塩注入の時間間隔、栄養塩注入回数の条件を変えて行い、結果を比較した。

3.2.2 微生物の耐塩性による違い

微生物代謝を利用し、炭酸カルシウム法で土を固化させるに当たり、カルシウム源の供給等を目的として栄養塩が注入される。CaCO₃ が析出し、土が固化するためには、利用する微生物が耐塩性を有し、栄養塩の成分が存在する環境下でも代謝を続けて CaCO₃ 析出に寄与することが必要と考えられる。

耐えることができる塩分濃度を示す耐塩性は、表-2 にも示したとおり、NaCl 濃度で *saromensis* が 9%、*ureae* が 3%、*pasteurii* が 10%である。この違いが CaCO₃ 析出状況に与える影響について調べた試験結果として、栄養塩濃度と CaCO₃ 析出比および CaCO₃ 析出効率の関係を、微生物の種類別にそれぞれ図-11 および図-12 に示す。いずれの栄養塩濃度においても、CaCl₂ と尿素を同じモル濃度ずつ蒸留水に溶かしたままの栄養塩を注入しており、その pH は 6.4 であった。

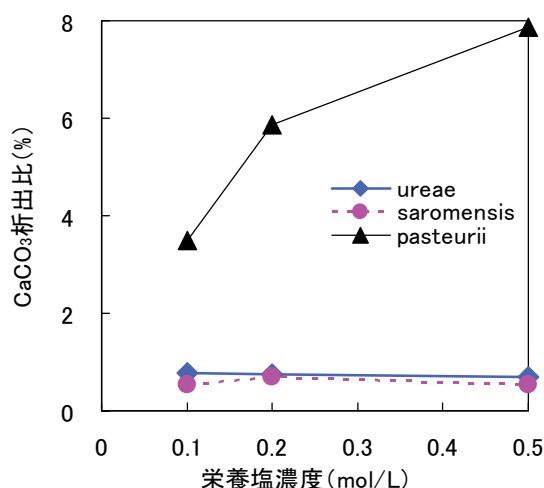


図-11 栄養塩濃度と CaCO_3 析出比の関係
(1回/1日・8回注入の例)

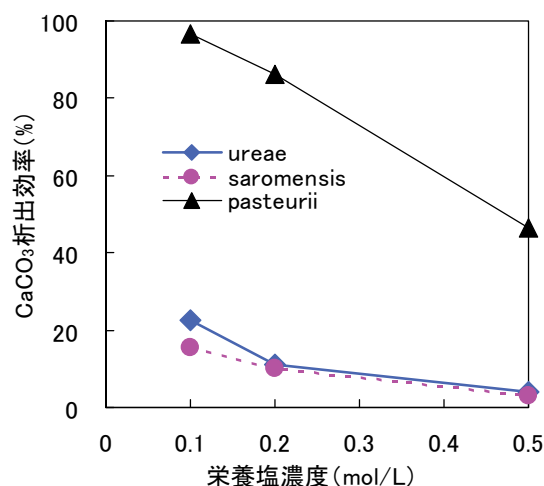


図-12 栄養塩濃度と CaCO_3 析出効率の関係
(1回/1日・8回注入の例)

各栄養塩濃度において、*ureae* と *saromensis* での CaCO_3 析出比や CaCO_3 析出効率は、*pasteurii* での 10 分の 1 から数分の 1 程度であった。

CaCO_3 析出比は、栄養塩濃度に伴って *pasteurii* では増えており、注入される CaCl_2 と尿素の総量が増えるのに伴い、 CaCO_3 析出量も増えたことがわかる。一方、*ureae* と *saromensis* では横ばいとなり、注入される CaCl_2 と尿素の総量が増えても CaCO_3 析出量の増加が見られない結果となった（図-11）。

次に、 CaCO_3 析出効率で見ると、いずれの微生物でも栄養塩濃度 0.1mol/L の時が最も高い結果となった。栄養塩濃度に伴って CaCO_3 析出効率が低下する状況を見ると、*pasteurii* および *saromensis* ではほぼ直線状に低下し

たのに対し、*ureae* では 0.1mol/L から 0.2mol/L の時に比べ、0.2mol/L から 0.5mol/L の時の方が緩やかな低下をした。（図-12）。

ここで、栄養塩濃度が 0.1mol/L、0.2mol/L、0.5mol/L の場合、蒸留水に溶かした成分の濃度はそれぞれ、1.71%、3.42%、8.55%になる。「塩」を広く捉え、栄養塩の塩分濃度を水溶成分全体の濃度と考えた場合、栄養塩濃度 0.2mol/L では *ureae* の耐塩性に、0.5mol/L では *saromensis* の耐塩性に相当する塩分濃度に達することになる。

ureae の場合には、栄養塩濃度 0.2mol/L 以上になると耐塩性に相当する以上の塩分濃度に曝されることになり、栄養塩濃度に関係なく CaCO_3 析出効率が低い状態となったことが推察される。*ureae* に比べて耐塩性の高い *saromensis* および *pasteurii* では、耐塩性の範囲内の塩分濃度での試験となり、 CaCO_3 析出効率が CaCO_3 析出量と注入された CaCl_2 および尿素の総量の関係で決まった状況が推察される。

微生物の種類別、栄養塩濃度別の間隙水の pH の推移は、図-13 に示すとおりとなった。微生物による尿素分解が進みアンモニアが発生すると pH が上がり、 CaCO_3 析出にも有利になると考えられるが、pH の推移に関して、*pasteurii* では、栄養塩濃度による違いはほとんど見られなかった（図-13 (a)）。*saromensis* では、栄養塩濃度が 0.5mol/L になると pH が 6.5 以上となる期間が短くなるのが目立った（図-13(b)）。*ureae* では、栄養塩濃度が高くなるのに伴い、初期の pH の上昇が緩やかになった（図-13(c)）。

こうした結果からも、*ureae* では栄養塩濃度が 0.2mol/L 以上、*saromensis* では 0.5mol/L の、耐塩性に相当する濃度以上の栄養塩を注入した際に、尿素分解の反応が鈍った状況が考えられる。

3.2.3 微生物の最適 pH による違い

CaCO_3 析出の反応はアルカリ側で促進されるが、*pasteurii*、*saromensis*、*ureae* はそれぞれ最適 pH が 9、6.5、7 と異なる（表-2）。培養液の pH は最適 pH に近いものとなり、*pasteurii* で 9、*saromensis* で 7.4、*ureae* で 6.8 であった。3.2.2 においても、微生物の種類以外の条件が同じ場合には、*pasteurii* を用いた場合に CaCO_3 析出比や CaCO_3 析出効率が高くなる結果であったが、最適 pH や培養液の pH が高いことから CaCO_3 析出が進みやすいアルカリ側の環境が保たれて、微生物代謝や CaCO_3 析出の反応が促進されたことも要因になったと考えられる。そこで、*saromensis* と *ureae* がアルカリ側の環境においても増殖や活動が可能であることを確認したうえで、アル

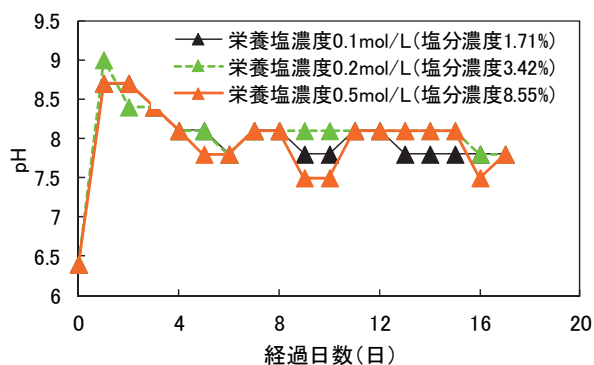
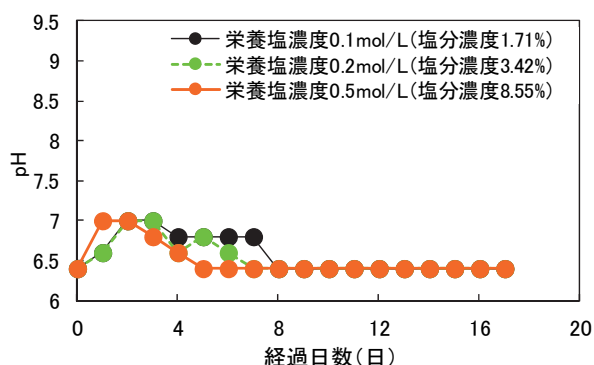
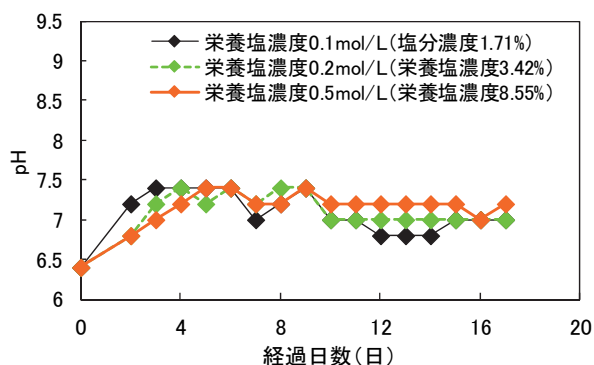
(a) *pasteurii*(b) *saromensis*(c) *ureae*

図-13 間隙水の pH の推移
(微生物および栄養塩濃度別, 1 回/1 日注入)

カリ性に調製した栄養塩を注入し、間隙中の環境を弱アルカリ性にして CaCO_3 析出を促進することを目指した。栄養塩濃度を 0.2mol/L とし、pH を 6.4 のまま調整しない栄養塩、 CaCO_3 析出促進を目指し、 $10\%\text{w/v}$ 水酸化ナトリウム溶液の滴下により pH を 7.0 および 8.0 に調整した栄養塩を注入した場合の CaCO_3 析出効率を図-14 に示す。*pasteurii* を含む全ての微生物において、 CaCO_3 析出効率に栄養塩の pH による大きな差は見られなかった。

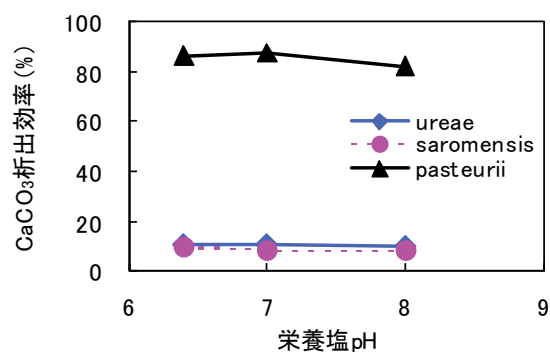


図-14 栄養塩の pH と CaCO_3 析出効率
(栄養塩濃度 0.2mol/L ・1 回/1 日・8 回注入)

栄養塩の pH を 7.0 および 8.0 に調整した場合の間隙水の pH の推移についても、図-13 に示した栄養塩濃度 0.2mol/L の場合とほぼ同様であった。栄養塩によりアルカリ性の環境を与えても、微生物の活動やそれに伴う CaCO_3 析出状況には大きな影響はなかったと考えられる。

3.2.4 注入回数および注入頻度による違い

栄養塩の注入回数による CaCO_3 析出状況の違い、および同じ注入回数の場合の注入頻度による CaCO_3 析出状況の違いを比較した。いずれの微生物でも、栄養塩濃度が 0.2mol/L および 0.5mol/L の場合には、栄養塩の注入回数が同じ場合には、注入頻度による CaCO_3 析出比や CaCO_3 析出効率の違いはほとんど見られなかった。ただし、図-15 に示すように、例外的に *ureae* と *saromensis* で栄養塩濃度 0.1mol/L の栄養塩を 1 回/2 日注入した場合には、 CaCO_3 析出効率が 1 回/1 日の場合の 1.5 倍程度となり、次の栄養塩が注入されるまでの時間が長い場合に栄養塩の成分のより多くの割合が CaCO_3 析出に有効利

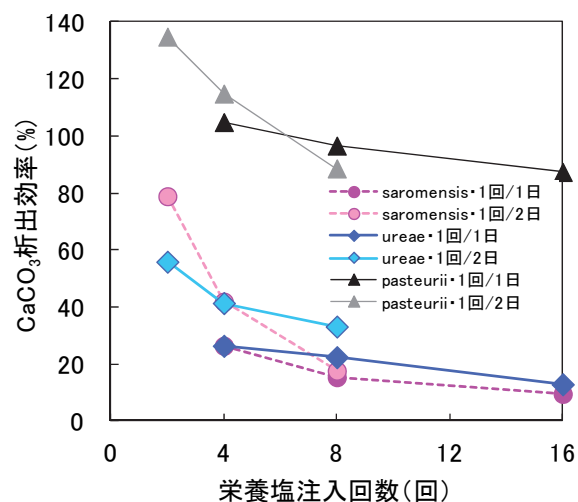


図-15 栄養塩の注入頻度・注入回数と CaCO_3 析出効率の関係 (栄養塩濃度 0.1mol/L)

用される結果となった。*pasteurii* を利用した場合については、注入頻度による CaCO_3 析出効率の大きな違いは見られなかった。なお、図-15 で *pasteurii* を利用し、栄養塩を 1 回/2 日の注入頻度で 2 回注入したケースでは、100%を超える CaCO_3 析出効率となった。栄養塩の成分として注入した CaCl_2 が全て CaCO_3 析出に使われ、 CaCO_3 析出効率が 100% となる場合、0.5g の CaCO_3 が析出することになるが、3.2.1 で前述した CaCO_3 析出量を調べる操作のわずかな誤差が CaCO_3 析出効率を高くする方向に働いたことが考えられる。また、栄養塩注入が終了し、蒸留水を注入して栄養塩の成分等が洗い流された際に豊浦砂にわずかに含まれる細粒分も流出し、炉乾燥後の豊浦砂のみの質量が減った可能性がある。一方で、水への溶解度が低い CaCO_3 が豊浦砂の粒子表面に付着して残留したことで、 CaCO_3 を分解・溶出させる前の試料土の乾燥質量と豊浦砂のみの乾燥質量の差として求まる CaCO_3 析出量が過大に計算された状況も考えられる。こうした状況は、*ureae* や *saromensis* を用いても生じうるので、*pasteurii* との相対的な CaCO_3 析出状況の違いについては把握できたものと考えられる。

以上より、*ureae* と *saromensis* では、*pasteurii* に比べて尿素分解や CaCO_3 析出に要する時間が長いことが推察される。

3.2.5 注入日数および注入頻度による違い

栄養塩の注入日数による CaCO_3 析出状況の違い、および同じ注入日数の場合の注入頻度による CaCO_3 析出状況の違いを比較した。注入日数は、注入頻度の逆数と注入回数の積としており、例えば栄養塩を 1 回/2 日の頻度で 4 回注入する場合には、2 日/1 回 \times 4 回 = 8 日となる。微生物の種類と栄養塩の注入頻度の組合せ別に、注入日数と CaCO_3 析出比、 CaCO_3 析出効率の関係を、それぞれ図-16 および図-17 に示す。

注入日数が長くなるのに伴い、 CaCO_3 析出比は *pasteurii* で注入日数に比例的に増え、*saromensis* と *ureae* では微増した (図-16)。一方、 CaCO_3 析出効率としては、いずれの微生物を用いた場合も、注入日数が長くなるにつれて低くなった。栄養塩の注入日数が同じ場合、いずれの微生物でも 1 回/2 日の方が、1 回/1 日より CaCO_3 析出効率が高くなったが、注入日数が 8 日を超えると、注入日数に伴う CaCO_3 析出効率の低下も緩やかなものとなり、注入頻度による CaCO_3 析出効率の差も少なくなった。

このような状況は、間隙水の pH や Ca^{2+} 濃度の推移とも連動していた。栄養塩濃度が 0.2mol/L で、pH 調整を

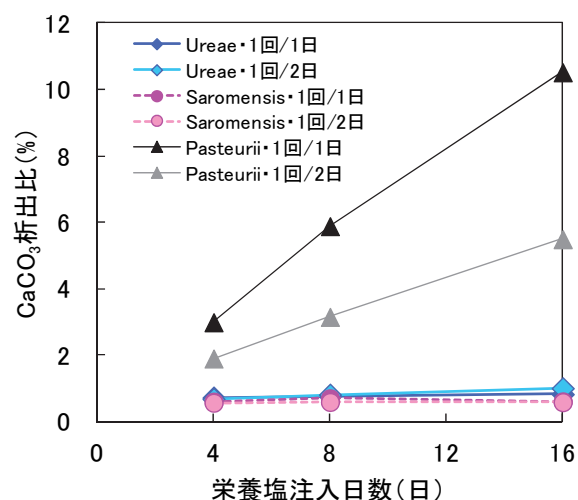


図-16 栄養塩の注入頻度・注入日数と CaCO_3 析出比の関係 (栄養塩濃度 0.2mol/L, pH 調整なし)

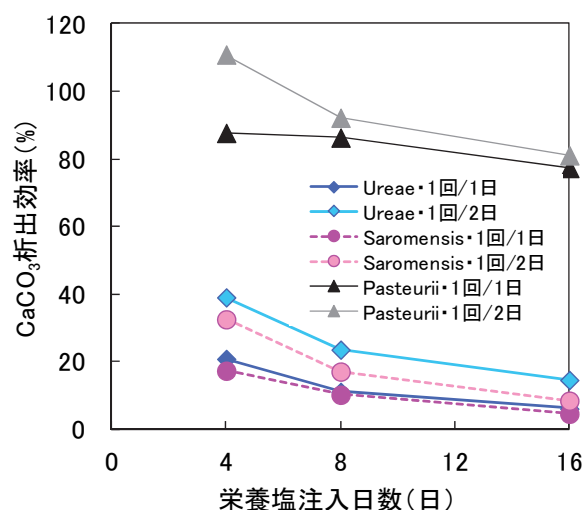


図-17 栄養塩の注入頻度・注入日数と CaCO_3 析出効率の関係 (栄養塩濃度 0.2mol/L, pH 調整なし)

していない栄養塩を注入したケースを例として、栄養塩の注入開始からの経過日数に伴う間隙水の pH および Ca^{2+} 濃度の推移を、それぞれ図-18 および図-19 に示す。

微生物による尿素分解が進みアンモニアが発生するのに伴って pH が上がると考えられるが、微生物や注入頻度によらず、間隙水の pH は栄養塩注入開始後 1 日から 6 日の間にピークに達し、8 日以降は横ばいとなった (図-18)。8 日以降は微生物の尿素分解が進みにくくなり、それに伴って CaCO_3 析出量も減った状況が考えられる。微生物の種類別に見ると、*ureae* と *saromensis* では *pasteurii* に比べて pH がピークに達するまでの時間が長

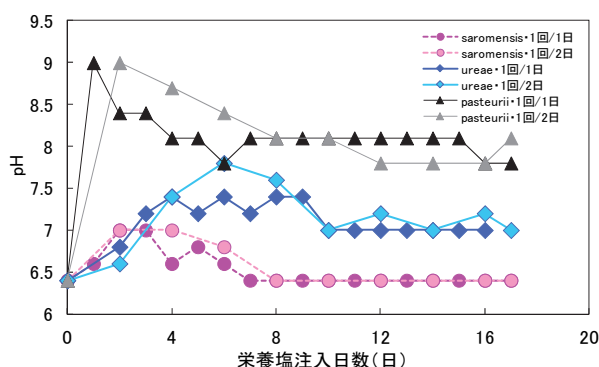


図-18 間隙水の pH の推移
(栄養塩濃度 0.2mol/L, pH 調整なし)

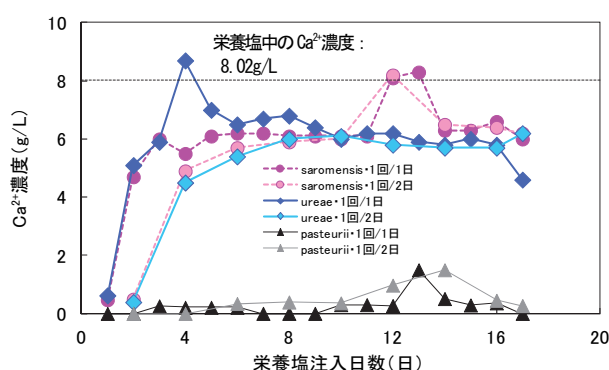


図-19 間隙水の Ca^{2+} 濃度の推移
(栄養塩濃度 0.2mol/L, pH 調整なし)

く、 CaCO_3 析出に有利なアルカリ性の pH (7.0 以上) を示す期間が短くなっていた。*pasteurii* に比べて尿素分解や CaCO_3 析出が効率的に進む期間が限られたことが考えられる。

Ca^{2+} 濃度は、栄養塩の成分として注入された CaCl_2 による Ca^{2+} のうち CaCO_3 析出に利用された分の濃度が低下し、全てが CaCO_3 析出に使われた場合は 0 になる。*pasteurii* では、栄養塩を注入した期間を通じて Ca^{2+} 濃度が 0 に近い推移を示していた。*ureae* と *saromensis* では、栄養塩注入開始から日が経つとともに Ca^{2+} 濃度が増え、栄養塩濃度が 0.2mol/L で CaCO_3 析出が進む前の Ca^{2+} 濃度が 8.02g/L であるのに対して、6g/L 前後で推移するようになり、実際に CaCO_3 析出が進んだ期間も短かったと考えられた (図-19)。

3.3 土の固化を目的とした微生物の利用について

3.2 では、炭酸カルシウム法による土の固化に際し、“*Sporosarcina pasteurii*” の代替となる微生物の適用性を調べた。日本国内で入手可能な “*Sporosarcina ureae*” お

よび “*Sporosarcina saromensis*” を用いた場合、微生物の種類以外の条件が同じであれば、*pasteurii* を用いた場合の 10 分の 1 ないし数分の 1 の量の CaCO_3 が析出した。

pasteurii とこれらの微生物の性質の違いを考慮し、栄養塩の濃度、pH、注入頻度、注入回数を変えて CaCO_3 析出状況を比較した結果、 CaCO_3 析出量が少なくなる大きな要因としては、*pasteurii* に比べると尿素分解作用が遅く、尿素分解作用が進む期間も限られていることが考えられた。

ureae や *saromensis* 以外の種類や、現地地盤から単離した尿素分解作用を有する微生物を用いる場合にも、特に、尿素分解作用の速さやそれが持続する時間を把握のうえで用いる必要があると示唆された。その方法の 1 つとして、本研究でも実施したシリンジを用いた試験は、複数の条件で CaCO_3 析出可能性を比較・検討するのに有意義である。

4. まとめと今後の課題

本研究では、微生物代謝による二酸化炭素を利用し、炭酸カルシウム法により土を固化する地盤改良技術を実地地盤に適用する場合を想定し、施工に向けた検討、“*Sporosarcina pasteurii*” の代替となる微生物の利用に向けた検討を行った。その結果、炭酸カルシウム法の現地地盤への適用に当たり、以下のようなことが示唆された。

(1) 施工上の留意点

栄養塩等の注入・揚水により固化させる場合、流量を小さくして CaCO_3 析出量の多い領域を拡げること、目的の地点で、微生物や栄養塩の成分が集まりやすく、揚水等による流出がしにくい状況を作ることとは有効であるが、揚水箇所との位置関係も考慮のうえ、流量も含めた注入条件を設定する必要がある。

(2) *pasteurii* の代替となる微生物の利用

ureae や *saromensis* 以外の種類や、現地地盤から単離した尿素分解作用を有する微生物を用いる場合にも、用途に応じた改良効果を得るためには、特に、尿素分解作用の速さやそれが持続する時間を把握のうえで用いる必要がある。

(3) 今後の課題

炭酸カルシウム法の実用に向け、より多様な施工条件の他、温度や降雨等の環境条件が固化させた土の強度特性、耐久性に及ぼす影響を把握したい。また、微生物や栄養塩の利用による周辺環境への影響を評価・軽減する方法についても検討したい。

参考文献

- 1) 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, 第 47 巻, 第 1 号, pp.2-12, 日本応用地質学会, 2006.
- 2) 稲垣 由紀子, 塚本 将康, 森 啓年, 中島 進, 佐々木 哲也, 川崎 了 : 微生物代謝による液状化対策に関する動的遠心模型実験, 地盤工学ジャーナル, Vol.6, No.2, pp.157-167, 地盤工学会, 2011.
- 3) Dupraz, S., Parmentier, M., Ménez, B. and Guyot, F. : Experimental and numerical modeling of bacterially induced pH increase and calcite precipitation in saline aquifers, Chemical Geology, Vol.265, pp.44-53, 2009.
- 4) 日本微生物資源学会 : JSCC Catalogue of Cultures, <http://www.jssc-home.jp/index.html/>
- 5) Kluyver and Van Niel : Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology : The low G + C Gram-positive Bacteria, the Firmicutes (Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology, 3) Second Edition, GENUS VIII. SPOROSARCINA, pp.377-380, 1936.
- 6) An Sun-Young, Haga, T., Kasai, H., Goto, K. and Yokota, A. : *Sporosarcina saromensis* sp. Nov., an aerobic endospore-forming bacterium, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57, pp.1868-1871, 2007.
- 7) Yoon, Jung-Hoon., Lee, Keun-Chul., Weiss, N., Kho, Y. H., Kang, K. H. and Park, Yong-Ha : *Sporosarcina aquimarina* sp. nov., a bacterium isolated from seawater in Korea, and transfer of *Bacillus globisporus* (Larkin and Stokes 1967), *Bacillus psychrophilus* (Nakamura 1984) and *Bacillus Pasteurii* (Chester 1898) to the genus *Sporosarcina* as *Sporosarcina globispora* comb. nov., *Sporosarcina psychrophila* comb. nov. and *Sporosarcina pasteurii* comb. nov., and emended description of the genus *Sporosarcina*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 51, pp.1079-1086, 2001.
- 8) Stocks-Fischer, S., Galinat, J. K. and Bang, S. S. : Microbiological precipitation of CaCO₃, Soil Biology and Biochemistry 31 , pp.1563-1571, 1999.
- 9) Y. Inagaki, M. Tsukamoto, H. Mori , T. Sasaki, K. Soga, A. Al. Qabany, and T. Hata, : The Influence of Injection Conditions and Soil Types on Soil Improvement by Microbial Functions, GEO-FRONTIERS 2011, pp.4021-4030, 2011.

STUDIES ON NEW SOIL IMPROVEMENT BY MICROBIAL FUNCTIONS

Budged : Grants for operating expenses

General account

Research Period : FY2011-2013

Research Team : Geology and Geotechnical Engineering

Research Group

(Soil Mechanics and Dynamics)

Author : SASAKI Tetsuya

KATO Shunji

INAGAKI Yukiko

Abstract : On the treated soil by Microbial Carbonate Precipitation (MCP), improvement in strength and effectiveness as a measure against liquefaction are observed. But how to inject nutrients considered the practical construction and the way independent of the specific kind of micro-organism should be investigated for the application of MCP. In this study, the way to stabilize soil through three-dimensional injection and pumping were studied by the reaching tests. As the result, it was verified that spread of the area precipitated much CaCO_3 by reducing the discharge of injection and detaining micro-organism and nutrients were effective in solidification of soil. Moreover, the utilization of micro-organism replace “*Sporosarcina pasteurii*” were investigated, because *Sporosarcina pasteurii* was foreign kind to Japan. So that it was verified the speed and continuity time of ureolysis by micro-organism were important for the choice of micro-organism to use.

Key words : Soil Improvement, Microbial Carbonate Precipitation, Injection and Pumping, Micro-organism