

生体触媒反応を介した セメンテーションによる改良砂の力学特性

鹿渡 洸一¹・林和幸²・木下尚樹¹・安原英明^{1*}

¹愛媛大学 工学部環境建設工学科 (〒790-8577 愛媛県松山市文京町3番)

²和歌山工業高等専門学校 環境都市工学科 (〒644-0023 和歌山県御坊市名田町野島77)

*E-mails:hide@dpc.ehime-u.ac.jp

近年、土壤に含まれる微生物の代謝活動を利用し、セメント物質である炭酸カルシウムを地盤中に析出させ土の透水特性や力学特性の改善を行う地盤改良技術が検討されている。この方法はイオン系グラウト材を使用するため、従来のシリカ系などのグラウトに比べ粘性が低く、低い注入圧でより広範囲に改良地盤を作製することが可能であると考えられる。本研究では特に、微生物の尿素分解作用と同等の働きを示す生体触媒（ウレアーゼ⁵⁾）を用いたグラウト材を開発し、その効果を検討した。具体的には、まず試験管内にグラウト材を入れ、炭酸カルシウムの析出を確認し、その析出速度や析出量を求めた。砂供試体に本研究で開発した注入材注入により力学特性が増大することが確認された。

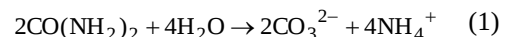
Key Words :urease, calcite,grouting

1. はじめに

近年、土中に生息する微生物の代謝活動を利用して、炭酸カルシウム結晶を土粒子間の固結物質として析出させ、土の強度増加を図る新たな地盤注入技術^{1, 2, 3)}の研究開発が進められている。これは、土中微生物に対し有機栄養源を人為的に与え、地盤中の微生物がこれを代謝活動により分解することで生じる二酸化炭素を炭酸イオン源として利用するものである。そこに同時にカルシウム源を与えておけば、炭酸カルシウムの結晶が析出し、土を固結し、あるいは岩の亀裂を閉塞させるものである。固結物質が無害な炭酸カルシウムであること、施工には、汚泥排出量が少ない地盤注入技術を応用可能であること、また、中性溶液の注入により固結物質である結晶を析出させることが可能であることより、従来から用いられてきたセメント混合やシリカ系地盤注入工法と比べ、環境負荷低減を図ることができる。有機栄養源に現在用いられているものは、スクロースやグルコースおよび尿素である。さらに、地盤に注入する薬液は微生物の栄養とカルシウム塩を混合した水溶液であり、従来のシリカ系薬液と比べると粘性が小さい。そのため、広範囲で一様な改良が可能となり、注入箇所数低減によるコストダウンが図られる。土中に生息する微生物は、施工対象とする地盤によって、その種や数が異なり、微生物の数や代謝速度が、温度や溶液中の化学特性など環境の変化に強く影響を受ける。また、死滅・生成などの不確定要因が多く、現場のみならず、たとえ室内における試験

であっても、結晶析出量や力学特性などの再現性を確保することは容易ではない。これらを人為的に制御できる新たな仕組みの構築が必要である。

そこで、本研究では、これらの再現性確保を困難にさせる土中微生物を直接用いるのではなく、微生物体内において、反応に関わる化学物質である生体触媒、すなわちウレアーゼに着目した。尿素は、ウレアーゼにより、アンモニアとともに二酸化炭素に加水分解される。そして二酸化炭素は、炭酸カルシウム生成に必要な炭酸イオン源として利用できる。炭酸カルシウム析出に関する反応式を以下に示す。



(1)式は尿素の加水分解を表す。ウレアーゼはこの反応の触媒として働く。ウレアーゼに関しては次章に示す。既往の研究でウレアーゼを利用した炭酸カルシウム析出砂の透水性の低下は確認されている⁴⁾。透水性が低くなるとともに固化が進行し、力学的強度が増加することが予想できる。そこで本研究では改良砂の力学特性に及ぼす影響を一軸圧縮試験により詳細に評価した。

2. ウレアーゼ活性

(1) ウレアーゼ

本研究では尿素分解酵素であるウレアーゼを用い

た．ウレアーゼとはタチナタマメより結晶化され、タンパク質であることが証明された生物学史上著名な酵素である．性質としては、至適pHは中性から弱アルカリ性で、ウレアーゼの活性は2950u/gである．1uとは、1分間に基質の1 μ molを変換する酵素量である．また、この酵素は尿素以外の物質に対しほとんど反応することがない．

(2) 試験管要素試験概要

実験で用いるウレアーゼによる結晶析出特性を明らかにすることを目的として、ウレアーゼによる反応速度の把握および、溶液濃度によるウレアーゼ活性の違いを把握することを目的として、2種類の試験管試験を行った．

本研究でバイオグラウトに用いた化学物質は塩化カルシウム及び、炭酸イオン源としては尿素である．カルシウム源として必要な条件には、溶解度や電離度が高いこと、すなわち、よく溶けイオン化傾向が大きいということと、取り扱いや入手が容易であることなどが挙げられる．そこで本研究ではこれらを満足する塩化カルシウムを用いた．炭酸イオン源として用いた尿素は、加水分解されるとアンモニアを発生させる．炭酸カルシウムは酸性での溶解度が高く、アルカリ性では非常に小さい．アンモニアはアルカリ性であるため炭酸カルシウムを析出させるための溶液pH条件を満足させることができる．

ウレアーゼによる反応速度の把握では、ウレアーゼの量を種々に変えたそれぞれの試験管に、一定濃度、一定量の塩化カルシウム・尿素溶液を加え、反応進行に伴うpH変化を経時的に計測した．また、溶液濃度によるウレアーゼ活性の違いの把握では、一定量のウレアーゼを入れた試験管に、濃度が異なる塩化カルシウム・尿素水溶液を一定量加え、十分長い時間静置した後、試験管に残存するカルシウムイオン濃度について、ICP発光分析により評価した．

(3) 尿素加水分解に要する時間の検討

実験条件を表1に、実験結果を図1に示す．ウレアーゼ濃度の変化による加水分解速度の違いを検討するためにウレアーゼ濃度のみ変化させた．ウレアーゼの混入量に対し0.5mol/Lの尿素溶液10mLとし、溶液の濃度を変化させpHの経時変化を観察する．これは、T-1については、初期値pH9.1から最初の1時間で0.3上昇し、そのあとは緩やかに上昇し12時間程度で定常となった．次にT-2では最初の2時間で上昇し、そこから緩やかになり5時間で定常になっている．T-3では最初の1時間で上昇きっている．ウレアーゼ濃度が高い程反応速度は速い．

(4) グラウト濃度と炭酸カルシウムの析出特性

実験条件を表2に、実験結果を図2に示す．ウレアーゼ0.5gに対し尿素、塩化カルシウム溶液を40mlとし尿素、塩化カルシウム溶液の濃度を変化させた．そこで、初期のカルシウムイオン濃度と24時間経過後のカルシウムイオン濃度を比較し、

炭酸カルシウム析出量を求めた．24時間経過後のカルシウムイオンの残留濃度は、B-1、B-2、B-3そ

表1 実験条件

	ウレアーゼ	尿素溶液濃度
T-1	0.5g	0.5mol/L
T-2	1.0g	0.5mol/L
T-3	1.5g	0.5mol/L

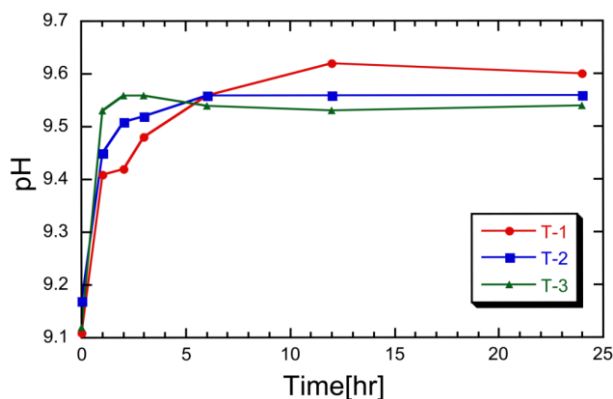


図1 pHの経時変化

表2 実験条件

	ウレアーゼ	塩化カルシウム －尿素溶液濃度
S-1	0.5g	0.5mol/L
S-2	0.5g	1.0mol/L
S-3	0.5g	1.5mol/L

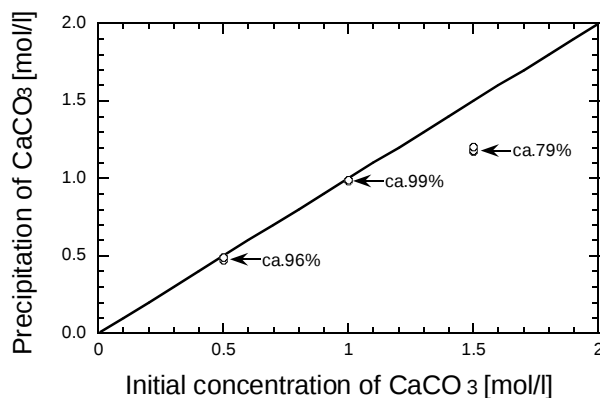


図2 溶液濃度と析出量の関係

れぞれ 1.78×10^{-2} (mol/L) , 1.29×10^{-2} (mol/L) , 3.14×10^{-2} (mol/L) となった．これは、初期のカルシウムイオン濃度から比べるとB-1では96.4%、B-2では98.7%、B-3では79.1%が炭酸カルシウム析出に使用されたことになる．よって、B-1、B-2では溶液中のカルシウムイオンがほぼ全て炭酸イオンと結合して炭酸カルシウムとなっている．しかし、B-3では約20%のカルシウムイオンが残留していることと

なる．これはウレアーゼの活性が高濃度の溶液により弱まったことが考えられる．

3. 砂固化供試体作製概要

(1) 実験概要

供試体作製概要を表3に示す．試験管要素試験からバイオグラウトの配合条件を3種類決定した．配合条件を表4に示す．供試体は豊浦砂にウレアーゼの粉末を混入し，よく混ぜ三軸セルに作製，有効拘束圧を50kPaにした．これは，実用化する際に用いられると想定する地表から5m程度の深さの有効応力に相当する．作製後，塩化カルシウム-尿素溶液を注入．注入は1回につき100ml，これは供試体間隙が約90cm³であるため間隙内を満たすのに十分な量である．注入方法は供試体を飽和状態に近づけるため，供試体の下部から上部に流れるようにした．溶液の流量は一定に保つため，初期時は溶液の位置水頭を一定にしたが，注入回数を増やすにつれ溶液の流量が低下し，流れなくなった．バイオグラウトによる改良効果として供試体の透水係数が低下することは既存の研究で確認されている⁴⁾．本研究は流量が一定となるように位置水頭を変動させた．一定と定めた流量は3.33ml/minである．炭酸カルシウムをより多く析出・付着させるために設定した．最後の溶液注入後24時間養生し，蒸留水で副産物の塩化アンモニウムなどを除去する．その後セル内から供試体を取り出し48時間炉乾燥し，一軸圧縮試験を行った．一軸圧縮試験後の供試体から一軸試験後の供試体の一部を採取し，X線回折を行い析出物は炭酸カルシウムであることを確認した．また走査型電子顕微鏡（SEM）で結晶の砂粒子への付着の仕方，結晶の構造などの微視的観察も行った．図4は結晶析出後の砂粒子である．きれいな炭酸カルシウム結晶が多く析出していることが確認できた．

4. 一軸圧縮試験結果

一軸圧縮試験の結果を表4に，応力-ひずみ曲線を図5，炭酸カルシウム析出量と一軸圧縮強さの関係を図6に示す．図1より明らかなように，1.0mol/Lの溶液を4回注入するcase-2の①が最も大きな一軸圧縮強さ（ $\sigma_c=1620\text{kPa}$ ）となっている．この曲線のみ応力値は2段階で大きくなっている．ところが，もう一方の②曲線を見てみると同じ注入条件にもかかわらず，約半分の一軸圧縮強さとなっている．同様にcase-1でも一軸圧縮強さはばらつきがでている．case-3はともに小さな値になっていることからウレ

表3 供試体作製概要

砂	豊浦砂
供試体作成方法	空中落下法
相対密度 D_r	50%
有効拘束圧 σ_c	50kPa
供試体直径 ϕ	5cm
供試体高さ h	10cm
供試体質量 M_s	300g

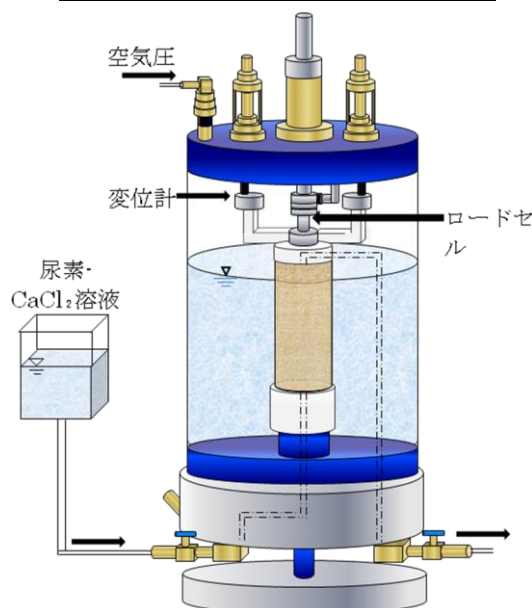


図3 実験装置図

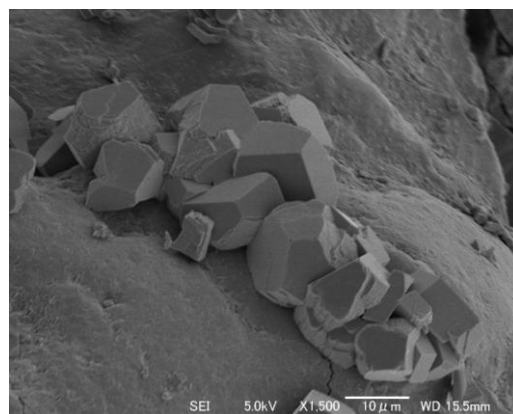


図4 SEM画像

アーゼの混入量が少ないためだと推測できる．次に図6を見てみると低濃度で注入回数を増やした方が

表4 実験条件

実験ケース	供試体名	溶液濃度	注入間隔	注入回数	ウレアーゼ混入量
case-1	bio-4,6	0.5mol/L	2h	8回	1g/砂 300g
case-2	bio-2,5	1.0mol/L	2h	4回	1g/砂 300g
case-3	bio-3,7	0.5mol/L	2h	8回	0.5g/砂 300g

炭酸カルシウムの析出量が多い。またウレアーゼの量により炭酸カルシウムの析出量が減少していることも分かる。①は②より炭酸カルシウムの析出量が少ないのにも関わらず、一軸圧縮強度が大きくなっている。また、case-2 は炭酸カルシウムが多く析出しているにもかかわらず強度は出ていない。このことから炭酸カルシウム析出量のみが一軸圧縮強さに関係しているわけではないことがわかる。以上のことから炭酸カルシウム析出量を制御するだけでは、改良される地盤の強度特性を精度よく推定することは困難であることが判明した。

5. まとめ

本研究ではバイオグラウト注入後の供試体内炭酸カルシウム析出量と力学特性の関係について着目した。まず本研究で明らかとなったことはウレアーゼを用いたグラウトによる結晶析出量の制御は、通水する溶液の濃度と回数を制御することでほぼ可能である。ただし、結晶析出量と一軸圧縮強さは線形的な関係ではないということが分かった。強度特性は炭酸カルシウムの析出量の関係ではなく炭酸カルシウムの付着に関する構造が関わっていると考える。微生物では死滅・生成が起こり、制御することが難しいと考え、生体触媒を本研究では用いたが、力学特性を制御することはできなかった。しかし、改良効果が一番大きかったcase-2 の①の供試体では $\sigma_c = 1620\text{kPa}$ と軟岩程度の固化に成功した。このことからウレアーゼを用いた改良方法は有効である。

参考文献

- 1) 川崎了, 村尾彰了, 広吉直樹, 恒川直美, 金子勝比古: 微生物の代謝活動により固化する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, 2006
- 2) 島俊郎, 桑野玲子, 阿部廣史: 微生物機能を用いた原位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, Vol.64, No.2, pp.168-176, 2008.
- 3) 杉本大輔, 桑野玲子: 微生物を利用した砂供試体固化の試行実験と固化進度の評価, 生産研究, 61巻4号, pp.66-69, 2009
- 4) Nemati, M., Greene, E. A. and Voordouw, G.: Permeability profile modification using bacterially formed calcium carbonate: comparison with enzymic option, Process Biochemistry, No.33, pp.925-933, 2005.
- 5) 入江昌親, 鶴大典, 新田康則, 芳本忠: 廣川タンパク質化学 4 巻 4.3 酵素ーヒドロラーゼ (Ⅲ) - pp.109-113, 2002

MECHANICAL PROPERTIES OF SAND IMPROVED BY CEMENTATION MEDIATED BY BIOCATALYTIC REACTION

Koichi KADO, Kazuyuki HAYASHI, Naoki KINOSHITA, Hideaki YASHUHARA

In recent years, soil improvement technique that uses microbe metabolism has been examined. The technique utilizes precipitate of calcium carbonate as a cementation material, and may improve soil hydraulic and mechanical properties. In this study, the grout using biocatalyst (i.e., urease) was developed and the effects of the improved sand on mechanical properties were examined. Consequently, the uniaxial compression tests showed significant increase of UCS observed for the improved sand, indicating that this grout developed in this study may be efficient to soil improvement.

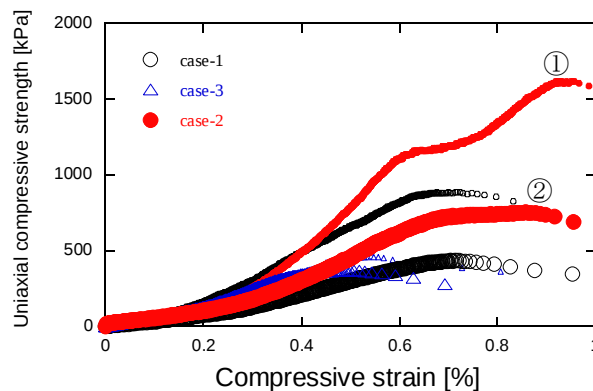


図5 応力-ひずみ曲線

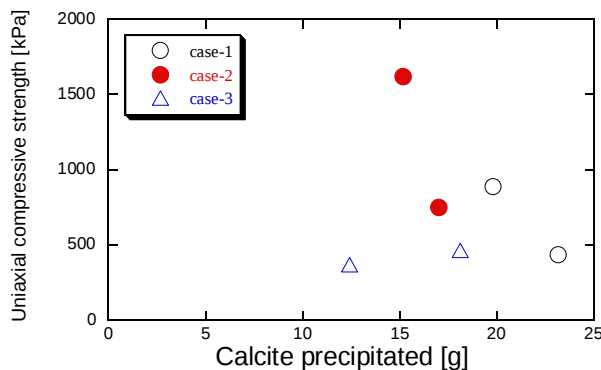


図6 CaCO_3 析出量と一軸圧縮強さの関係