

原位置微生物による深海土壌の固化技術適応性評価と基本物性について

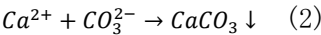
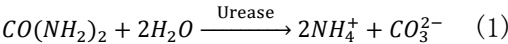
富山県立大学 学生会員 ○梅本 雪華
富山県立大学 正 会 員 畠 俊郎
高知大学 安田 尚登

1. 背景と目的

日本周辺海域に深層および表層型のメタンハイドレートが豊富に賦存すると予想され、新しい国産天然ガスとして注目を浴びている。しかしながら、メタンハイドレートの掘削に伴う地盤沈下や海底地すべりなどの環境影響が想定されており、対策技術に関する検討が進められている。本研究では、各種対策技術のうち地盤改良技術に着目した。新しい地盤改良技術として、深海へのセメントなど外洋からの物資の搬入不要な微生物固化に着目した。原位置由来の海洋微生物を用いた海底土壌の固化試験にさきがけ、太平洋側と日本海側の深海土壌を対象とした室内試験を行い、原位置微生物を用いた微生物固化の適応性と、対象とした深海土壌の基本物性を明らかにした結果を報告する。

2. 微生物の代謝機能を用いた固化のメカニズム

微生物固化に用いる手法として、MCP (Microbial Carbonate Precipitation) に着目し微生物の代謝機能により土の間隙中に炭酸カルシウムを析出させて土を固化させる手法を用いた。以下、炭酸カルシウム法の結晶析出メカニズムを式(1)、(2)に示す。



本メカニズムを用いた固化では、微生物が生成する尿素分解酵素であるウレアーゼと尿素、カルシウムイオンが必要となる。海水中には0.4g/L程度のカルシウムが含まれるとともに、水棲動物の排泄および死骸の分解に伴い尿素が供給されていることが明らかとなっている。ウレアーゼ活性陽性菌の存在が確認できれば、炭酸カルシウムの析出促進による強度増進効果が期待できる。

3. 室内試験の方法

本研究では、メタンハイドレートの賦存が確認されている海域を対象とし、太平洋側は東海沖海域と渥美海丘海域、日本海側は上越沖海域の海底土壌を試験サンプルに選定した。使用した試料の採取海域および地点名、GPS 座標、海底下深度を表-1 に示す。酵母エキスを添加による酵素活性を比較することを目的とし、図-1 の培養フローに従い培養及び測定を行った。試料 A~D は尿素培養に、試料 E は物性試験に用いた。

3.1 pH, NH₄⁺濃度の比較

尿素培養開始から 14, 28 日目の培養液の pH と NH₄⁺濃度の測定を行い、酵母エキスを添加の有無による NH₄⁺生成量の比較を行った。なお、pH は pH メータを、NH₄⁺濃度の測定はイオンクロマトグラフをそれぞれ用いた。

3.2 活性値比較

図-2 にウレアーゼ酵素活性値の測定フローを示す。培養期間および酵母エキスを添加による活性値比較のため、尿素培養開始から 14, 28 日目の尿素培養液のウレアーゼ酵素活性値を測定した。

3.3 結晶化試験

固化試験では最終的に砂の間隙中など目的とする場所に炭酸カルシウムを生成させることが重要となることから、炭酸カルシウムの析出量の検討を行なった。試料 C を対象とし、試験には尿素培養開始から約 1 ヶ月の培養液を用いた。固化溶液 25mL 内に尿素培養液 10mL を添加・

表-1 試料の詳細

試料の使用用途	海域	地点	座標	海底深度 [m]
培養 酵素 活性値	太平洋側	東海沖	A 34°16.5'N, 137°57.9'E	165.8
		渥美海丘	B 33°56'N, 137°19'E	100.2
	日本海側	上越沖	C 37°21.6'N, 137°57.6'E	表層
			D 37°01.1'N, 137°37.3'E	表層
物性試験	日本海側	上越沖	E 37°32.4'N, 137°56.3'E	0~1

※太平洋側試料提供: 高知大学海洋コア総合研究センター

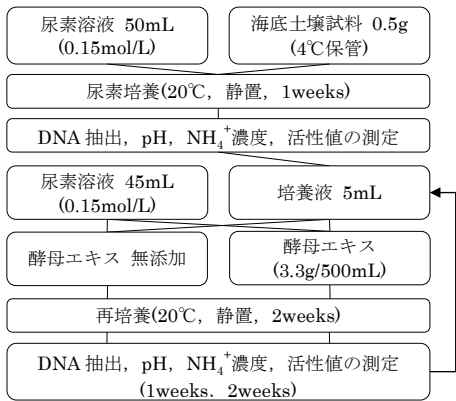


図-1 培養フロー



図-2 活性値の測定フロー

表-2 固化溶液の組成

Nutrient Broth	3.00 g
NH ₄ Cl	10.00 g
NaHCO ₃	2.12 g
Urea	18.02 g (0.3 mol/L)
CaCl ₂	33.29 g (0.3 mol/L)
純水	1 L

培養を行い、1日目、3日目、7日目のカルシウムイオン消費量から、カルサイト析出量として算出を行った。なお、カルシウムイオン濃度の測定には、フレイム原子吸光光度法を用いた。固化溶液の組成を表-2に示す。

3.4 試料 E の基本物性の測定

表層土壌の基本物性値の測定として土粒子の密度試験方法、土の含水比試験方法、土の液性限界・塑性限界試験方法に従い、試料 E の密度、含水比、液性・塑性限界を測定した。加えて、蛍光 X 線元素分析装置により、試料 E の元素組成を求めた。力学特性把握を目的とし、試料 E を対象に土を乱さない状態でのベーンせん断強さ s_{fv} およびコーン貫入抵抗 q_c の測定を行った。深度による強度の違いを確認するため、表層から 10cm、25cm、40cm の地点で試験を行った。コーン貫入抵抗については、コーンが 5mm 貫入した時の値とした。

4. 研究結果と考察

4.1 pH, NH_4^+ 濃度の比較

図-3 に尿素培養 14 日目と 28 日目の pH, 図-4 に同日における NH_4^+ 濃度の測定結果をそれぞれ示す。pH の結果より、酵母エキスの有無に関わらず塩基性を示しており、 NH_4^+ の生成が期待できることがわかった。また、 NH_4^+ 濃度の比較より、全ての試料において酵母エキスありの NH_4^+ 濃度が酵母エキスなしの 10 倍以上となり、酵母エキス添加によって尿素的加水分解活性が高まる効果が期待される結果となった。微生物の生成するウレアーゼ酵素の尿素分解能力を判定するために、ウレアーゼ酵素の加水分解速度の指標となる活性値の測定を行った。

4.2 活性値比較

図-5 に、尿素培養 14、28 日目のウレアーゼ酵素活性値の測定結果を示す。なお、横軸は試料の種類と酵母エキスの有無とする。尿素培養 28 日目の酵母エキスありはすべての試料について 70U/L 以上となった。また、酵母エキスなしは全ての試料で活性値が 10U/L 以下となった。酵母エキス添加により、本試験で対象とした土壌すべてについて酵素活性を上昇させ固化効果が期待できることが明らかとなった。

4.3 結晶化試験

土壌由来の集積培養系を対象に行った結晶化試験について、代表として試料 C の結果を表-3 に示す。なお、表中のカルサイト析出量は溶液中に含まれるカルシウムイオン濃度より計算で求めた。試験の結果から、固化溶液に含まれるカルシウムイオン(0.3mol/L)を 1 日で結晶化させる能力を持つことが明らかとなった。

4.4 試料 E の基本物性の測定

試料 E の土粒子密度 ρ_s 、含水比 w 、液性限界 w_L 、塑性限界 w_p 、塑性指数 I_p を表-4 に、蛍光 X 線分析より試料 E の元素組成を図-6 に、試験の結果得られたベーンせん断強さおよびコーン貫入抵抗を図-7 に示す。試験の結果から、対象は「粘土(沖積層)」であることが明らかとなった。元素組成については、二酸化ケイ素の含有割合が最も高く、次いで酸化アルミニウム、酸化マグネシウムが主成分とされ粘土鉱物を多く含むと推察される。ベーンせん断試験およびコーン貫入試験の結果より、表層 40cm でのベーンせん断強さおよびコーン貫入抵抗の値が最も高い結果となった。

5. まとめと今後の予定

ウレアーゼ酵素活性値の測定結果より、酵母エキスの添加により本研究において対象とした太平洋側および日本海側の土壌中に既に生息している微生物のウレアーゼ活性を高める効果があることが明らかとなった。現在、試料 E の土壌を用いた固化実験を進めている。固化後のベーンせん断試験およびコーン貫入試験と、試験後の土壌を対象としたカルサイトの析出量の算出を行ない強度発現と炭酸カルシウム析出との関係を明らかにしていく計画である。

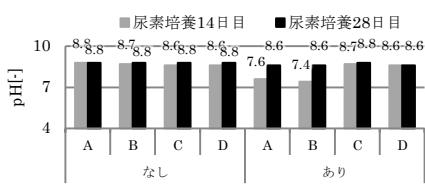


図-3 pH の比較

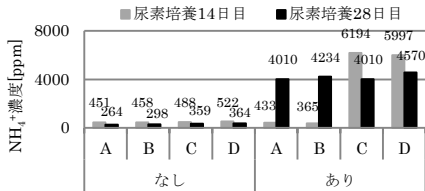


図-4 NH_4^+ 濃度の比較

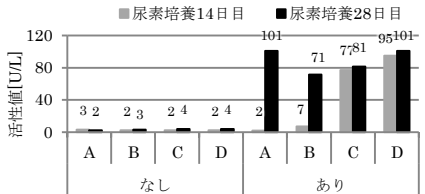


図-5 活性値の比較

表-3 試料 C の結晶化試験結果

	1 日目	3 日目	7 日目
カルサイト析出率	99.46%	99.45%	100.00%

表-4 試料 E の基本物性

土粒子密度 ρ_s [g/cm ³]	2.614
含水比 w [%]	99.2
液性限界 w_L [%]	106.7
塑性限界 w_p [%]	43.8
塑性指数 I_p	62.9

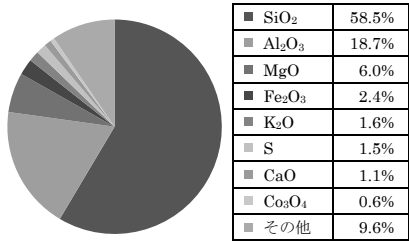


図-6 試料 E の元素組成

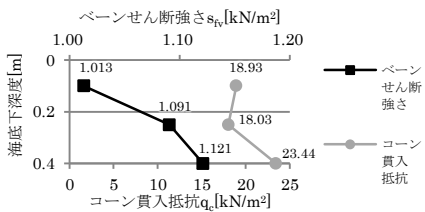


図-7 試料 E の初期強度