

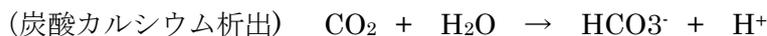
## 地中の温度条件下における、微生物の培養期間が炭酸カルシウム析出に与える影響

山口大学大学院 学生会員 ○國分 悟史  
 山口大学大学院 正会員 Md.Azizul Moqsud  
 山口大学大学院 正会員 兵動 正幸  
 山口大学大学院 正会員 中田 幸男

### 1. はじめに

新しい地盤改良法として微生物の活動を利用し、土粒子間に炭酸カルシウムを析出させ地盤を固化させる炭酸カルシウム法が注目されている。環境負荷の少ない方法として地盤改良において実用化が期待されている。この方法に関する論文はいくつもあるが、固化させる際の温度に着目したものは少なく、実際の温度下における微生物の活動と炭酸カルシウムの析出量の相互関係を調べることは必要であると考えられる。本実験では実地盤で想定される温度における微生物の働きに着目し、この条件下での炭酸カルシウムの析出量、微生物の培養期間が炭酸カルシウム析出量に与える影響を調べた。なお、既存の研究<sup>1)</sup>において土粒子間を析出させた炭酸カルシウムが固結させる作用がわかっているため、本実験での評価は炭酸カルシウムの析出質量により行った。

本実験では尿素を分解するウレアーゼ酵素を有する”Bacillus Pasteurii”(ATCC11859)を微生物として用いた。栄養塩中の尿素を分解し、カルシウム源を炭酸カルシウムとして析出させる過程を以下に示す。



### 2. 実験方法

実験①では表-1に示す培養液で30℃一定条件下で微生物を7日間培養した。培養液中の微生物の増え方を見るために、培養日数ごとに試験管に取り分け、吸光光度計により微生物の細胞数ODを測定した。この装置は溶液中に光を通し、その濁りにより細胞量を測定することができる。

蒸留水1Lあたり	
Yeast Extract	20g
硫酸アンモニウム	10g
1.03MTris	15.75g

表-1 培養液の成分表

実験②ではCaCO<sub>3</sub>析出量に与える温度と析出日数の与える影響を調べた。培養日数の異なる培養液(”Bacillus Pasteurii”(ATCC11859))を5mL、表-2に示す栄養塩を5mLとり、試験管で混ぜ、地中の温度を想定した温度20℃一定の条件で、CaCO<sub>3</sub>を析出させた。各試験管のCaCO<sub>3</sub>の析出量に変化がなくなったところで測定を終了した。試験管内の析出した炭酸カルシウムを取り出すために遠心分離器にかけ、栄養塩・培養液とCaCO<sub>3</sub>・

蒸留水1Lあたり	
ニュートリエントブロス	3.00g
尿素	30.03g
塩化カルシウム	68.3g
塩化アンモニウム	10g
炭酸水素ナトリウム	2.12g

表-2 栄養塩成分表

微生物群に分離させ、固体を取り出し温度60℃において1日間乾燥させた。その後、乾燥させた質量を析出したCaCO<sub>3</sub>の質量として測定した。乾燥させた物質中の微生物の質量は微量であると考え、今回の測定では考慮していない。この手順を実験①で用いた培養日数1日~6日の微生物培養液においても同様に行い、微生物数が与えるCaCO<sub>3</sub>の析出量を調べた。

キーワード 炭酸カルシウム法, 微生物, 地盤固化,

連絡先 〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1 山口大学大学院理工学研究科地盤工学研究室

TEL (0836) 85-9011

### 3. 実験結果・考察

実験①”Bacillus Pasteurii”(ATCC11859)を表-1 に示した培養液中において1日～6日間培養を行った。ODの変化が見られなくなったところで測定を終了した。その結果を図-2に示す。図-2より、最も多くの細胞量の微生物を培養することができた培養期間は2日間であった。その値は0.115であった。その後、細胞量は徐々に減っていき、OD0.023付近で落ち着いた為、培養を終了した。2日目を境に微生物の活動が減っていったと考えられる。

実験②で得られた培養日数ごとのCaCO<sub>3</sub>の析出量の関係を図-2に示した。横軸に析出日数、縦軸に析出量を取り培養日数と析出量の関係を示した。図-1の結果より、ODの測定結果の低かったものはCaCO<sub>3</sub>の析出量が低く、ODの測定値が高かった培養液においてはCaCO<sub>3</sub>の析出量の高い結果となった。培養日数5、6日では析出したCaCO<sub>3</sub>は著しく低い結果となった。培養日数5日間と6日間を比べるとODの差はないが、CaCO<sub>3</sub>の析出量に差が出た。これは吸光光度計では透過する光の濁りにより、微生物の量を測定するため、活動を終えた微生物も測定されCaCO<sub>3</sub>の析出に影響を与えると考えられる活動中の微生物の量を正確に測定できなかつたと考えられる。これにより、活動している微生物の少なかつたと考えられる、培養日数6日間を用いたCaCO<sub>3</sub>の析出は少なかつたといえる。最も多くCaCO<sub>3</sub>が析出したものは2日間培養したものであった。これは多量の微生物により、栄養塩中の尿素を多く分解することができ、CaCO<sub>3</sub>の析出量の増加につながつたと考えられる。培養日数2日、3日、4日の試験管の内側にはCaCO<sub>3</sub>が多量に付着しており、その粒子の大きさを比べると、2日の培養液が最も小さくその粒子を目視では確認することができなかつたのに対して、培養日数3日、4日では目視でその粒子を確認できた。これは、多量の微生物が栄養塩中の尿素を急速に分解し、栄養塩中のカルシウム源が短時間で析出した為、析出した個々のCaCO<sub>3</sub>の結晶が大きくならなかつたと考えた。これに対し、3、4日培養させた微生物群においては、栄養塩中の尿素を分解するペースが微生物が少ない分遅くなり、徐々に生成されたHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>と栄養塩中のカルシウム源が反応し、析出したCaCO<sub>3</sub>の結晶が大きくなつたと考えられる。

### 4. まとめ・今後の課題

本実験では、微生物源として”Bacillus Pasteurii”(ATCC11859)を用いた。今回実地盤で想定される温度下においてCaCO<sub>3</sub>の析出が起こる事がわかつた。今回の温度は地下の温度の中でも比較的高い温度であつたので、より低い温度条件での実験も行う必要がある。30℃の温度下で培養を培養液中では、2日間の培養期間が最も多くの細胞量になつた。また細胞量の多さは、栄養塩と反応させた際の、CaCO<sub>3</sub>の析出量の増加につながつた。同時に析出したCaCO<sub>3</sub>の粒子の大きさが異なる事が目視で確認することができた。今回の実験では析出したCaCO<sub>3</sub>の質量により評価を行つたが、今後は砂中で今回のCaCO<sub>3</sub>の析出反応をおこなつた際の、その砂供試体の強度を評価する必要である。

#### 参考文献

- 1) T.M Evans & A. Khoubani :Simulating mechanical response in biocemented sands , Computer Methods and Recent Advances in Geomechanics ,2015
- 2) A.AL QABANY and K. SOGA Effect of chemical treatment used in MICP on engineering properties of cemented soils. GEOTECHNIQUE March 2013

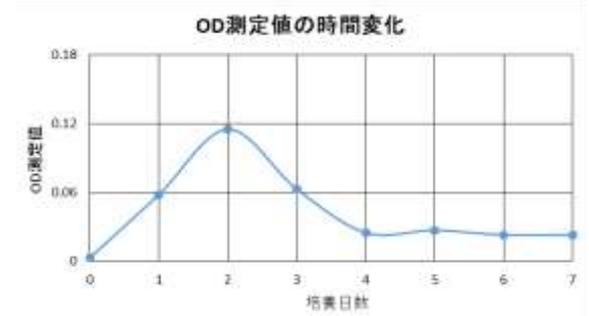


図-1 微生物の培養日数とODの関係

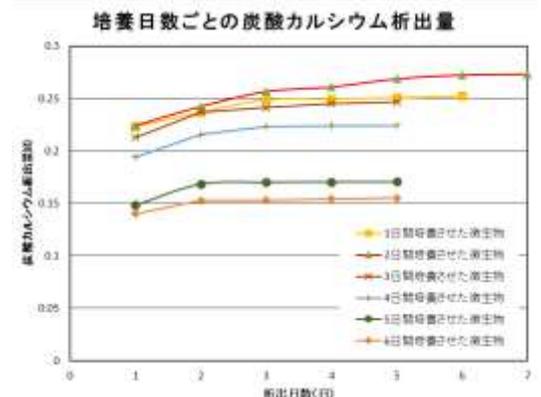


図-2 析出した炭酸カルシウムと析出日数の関係