

自然に学ぶ海岸構造物の 自己修復技術に関する研究

北海道大学大学院工学研究院 教授 川崎 了

概要：

本研究の目的は、自然のビーチロック形成メカニズムに学ぶことで海岸域の微生物を利用した海岸構造物および国土の自己修復保全に関する基礎技術を新たに開発することである。すなわち、海岸コンクリート構造物の一軸圧縮強さ (UCS) である 20~30 MPa 程度を 1~2 カ月程度で達成する修復・補強の基礎技術を新たに開発することをめざした。その結果、北海道、愛媛県、沖縄県の海岸域で高いウレアーゼ活性を持つ尿素分解菌が分離されたことから、炭酸カルシウムの析出による地盤材料の固化に適した尿素分解菌が日本各地の海岸域に広く生息している可能性が高いことがわかった。また、シリンジ加速固化試験を開始してから 2 週間後のサンゴ砂供試体において、針貫入試験による推定 UCS の最大値として 19.1 MPa が得られたことから、20~30 MPa 程度の UCS を 1~2 カ月程度で達成することをめざした本研究の目的が、概ね達成されたことがわかった。

キーワード: ビーチロック, 微生物, 炭酸カルシウム, 一軸圧縮強さ

1. はじめに

国土交通白書 2015¹⁾によれば、建設してから 50 年以上が経過する港湾岸壁の割合が 2013 年の約 8 %から 2033 年の約 58 %になると予測されており、今後 20 年間で急激に増大する。また、海岸侵食²⁾による海岸線の後退が国内外を問わず深刻化しており、海水浴場に適した砂浜が年々減少している。一方、海浜の砂や礫、あるいはサンゴや有孔虫などの遺骸が石灰質の物質で自然に固化したビーチロック³⁾が国内外で報告されており、数十年という比較的短期間で固化しているものがある。よって、ビーチロックの形成に関与している現地を自然材料を有効に活用し、港湾岸壁などの海岸コンクリート構造物の修復保全や海浜の堆積物を加速固化させることができれば、低環境負荷で低コストとなることが期待できる。

本研究の目的は、自然のビーチロック形成メカニズムに学ぶことで海岸域の微生物を利用した新しい海岸構造物および国土の自己修復保全に関する技術、すなわち、港湾岸壁などの海岸コンクリート構造物の自己修復保全および海浜堆積物の固化・安定化に関する基礎技術を新たに開発することである。具体的には、海岸域の未利用資源である自然材料 (微生物、海水、海砂、貝殻片、サンゴ片など) を用いて炭酸カルシウム (CaCO₃) の析出により固化した人工岩を作製し、港湾岸壁などで用いられ

るコンクリートの一軸圧縮強さ (UCS) である 20~30 MPa 程度を 1~2 カ月程度で達成できる修復・補強に関する基礎技術を新たに開発することをめざす。

2. 方法

(1) 尿素分解菌の探索

探索の対象地は、沖縄県 (宮古島市: 地点 A, B, C, D, E, F, G, H, 名護市: 地点 I), 愛媛県 (西宇和郡: 地点 J, K, 大洲市: 地点 L, 伊予市: 地点 M), 千葉県 (南房総市: 地点 N, O, 館山市: 地点 P, 富津市: 地点 Q), 北海道 (松前郡: R, S, 常呂郡: 地点 T) の計 20 地点であり、海岸域の各地点で採取した土質試料を微生物の分離源として使用した。なお、海岸域の試料であることから、培地には海洋細菌用の ZoBe112216E 培地を採用し、希釈液には人工海水を使用した。

分離した微生物は、簡易なウレアーゼ活性試験を行うことで、ウレアーゼ活性の有無とその大きさをクレゾールレッドの色調変化と pH で確認した。ウレアーゼ活性があると判定された微生物 (尿素分解菌) の中でも、特に高い活性を示した菌株は遺伝子配列を解析し、既知の DNA 配列に関するデータベース上の配列と照合して相同性検索を行った。同検索の結果から系統解析を行い、系統樹を作成して帰属分類群の推定を実施した。なお、尿素分解菌の遺伝子領域は、16S rDNA (16S rRNA 遺伝子) の部

分塩基配列 (約 1,500 bp) とした。

(2) 尿素分解菌の培養試験

菌株の培養条件に関しては先行研究⁴⁾を参考にして、①菌株添加量、②液体培地量、③振とう速度、の3項目に着目した計10ケース(表-1)とした。なお、使用した培地は ZoBe112216E であり、培養時の温度は 30 °C、そして前培養となる寒天培地による培養日数は3日とした。また、液体培地内の菌体数に関しては、光学密度 (OD₆₀₀) を用いて評価を行った。さらに、液体培地の菌体濃度を大きくして短時間で多くの CaCO₃ を析出させることで UCS が大きい供試体を作製するために、先行研究⁴⁾の培養方法に対して遠心分離により液体培地を濃縮する工程を追加した培養方法(図-1)を適用した。

表-1 培養試験ケース

試験ケース	菌株添加量 (g)	液体培地量 (mL)	振とう速度 (rpm)
No. 1	0.01	100	80
No. 2	0.1		
No. 3	1.0		
No. 4	0.01		160
No. 5	0.1		
No. 6	1.0		
No. 7	0.1	150	80
No. 8		200	
No. 9		150	160
No. 10		200	

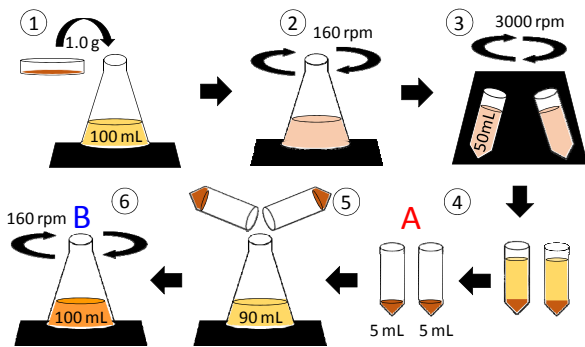


図-1 遠心分離を用いた菌株の培養方法

(3) シリンジ加速固化試験

この試験では、高いウレアーゼ活性を有する菌株を用いた CaCO₃ によるサンゴ砂のシリンジ加速固化試験⁴⁾を実施し、①液体培地(培養液)の培養条件、②固化溶液の配合条件、の2つが、固化したサンゴ砂供試体の UCS に与える影響について検討することを目的とした。加速固化試験は、沖縄県産のサンゴ砂を内径 22 mm×長さ 72 mm のシリンジ内に入れ、図-1 に示した2種類の培養液 A および B を初日の1回のみ注入し、0.3、0.4、0.5 mol/L (=M) の尿素および塩化カルシウム (CaCl₂) を含む固化溶液を1日1回の間隔でシリンジの内外に注入および

排出させた。なお、固体培地の培養日数は3日、液体培地量は100 mL、振とう速度は160 rpmとした。また、加速固化試験における固化溶液の注入は、30 °Cのインキュベータ内において2週間継続して行ったが、培養液が B かつ尿素と CaCl₂ の固化溶液濃度が 0.5 および 0.7 mol/L (=M) の場合には、培養液を初日の1回のみ注入する試験ケースに加えて、1週間または2週間の間隔で培養液の再注入を行う試験ケースを設定した。さらに、3日に1回の割合で、排出液の pH と Ca²⁺濃度を測定した。実施した一連のシリンジ加速固化試験ケースを、まとめて表-2 に示す。

固化したサンゴ砂供試体をシリンジ内から取り出した後は、できるだけ速やかに供試体の側面部を上端から下端に向かって約1 cm 間隔で計6回の針貫入試験を実施した。得られた針貫入勾配は、次の実験式(1)に代入して供試体の推定 UCS を算出した。なお、同式中における x は針貫入勾配 (N/mm)、y は推定 UCS (kN/m²) である。

$$\log(y) = 0.978 \log(x) + 2.621 \quad (1)$$

表-2 シリンジ加速固化試験ケース

試験ケース	培養液	固化溶液濃度 (mol/L)	培養液の再注入間隔	
Case 1	A	0.3	再注入なし	
Case 2		0.5		
Case 3		0.7		
Case 4	B	0.3		
Case 5		0.5		
Case 6		0.7		
Case 7		0.5		1週間
Case 8				2週間
Case 9				1週間
Case 10		0.7		2週間

3. 結果

(1) 尿素分解菌の探索

寒天培地を用いた分離試験では、次の結果が得られた。①計20地点の土質試料から計750菌株を分離した。②培地に生育したコロニーの特徴としては、色はクリーム色、オレンジ色、黄色などの暖色系が多く、質感は固体状や液体状のものが多く観察された。

簡易なウレアーゼ活性試験で得られた主な成果は、次のとおりである。①分離した計750菌株のうち、pH値が8.5以上を示したのは、沖縄県(地点B、I)、愛媛県(地点K)、北海道(地点T)の計4菌株であり、その中で最大のpH値は地点Iの9.1であった。②pH値が8.5以上を示した4菌株は、高いウレアーゼ活性を有する海岸域の尿素分解菌として地盤材料の加速固化試験に利用できる可能性がある。

微生物の遺伝子解析に関しては、次の結果が得られた。①地点Bの菌株は、*Pararhodobacter* sp. と推定される。また、バイオセーフティレベル (BSL) は、レベル 2、3

に非該当である。②地点 I の菌株は、*Oceani-sphaera* sp. と推定される。また、BSL はレベル 2, 3 に非該当である。③地点 K の菌株は、*Marinobacter litoralis* と推定される。BSL はレベル 1 であり、人間に疾病を起こしたり、あるいは動物に対して獣医学的に重大な疾患を起こしたりする可能性がないもの（日和見感染を含む）である。④地点 T の菌株は、*Bacillus safensis* と推定される。また、BSL はレベル 1 である。

以上を要すると、CaCO₃ の析出に必要なウレアーゼ活性が高い尿素分解菌が、北海道、愛媛県、沖縄県の海岸域において採取した土質試料より見つかったことから、本研究の目的に適した尿素分解菌が日本各地の海岸域に広く生息している可能性が高いと考えられる。換言すれば、本研究で開発される新しい技術は、日本全国の海岸域において適用可能となることが期待される。

(2) 尿素分解菌の培養試験

今回の培養試験では、4 種類の尿素分解菌の中で最も高いウレアーゼ活性を持つと考えられる地点 B の菌株である *Pararhodobacter* sp. を用いた。菌株添加量および振とう速度に着目し、液体培地量を 100 mL に固定して実施した培養試験のケース No. 1~No. 6 の結果を図-2 に示す。同図より、次のことがわかる。①菌株添加量が同じ場合は、振とう速度が大きい方が OD₆₀₀ の増加速度が大きくなり、OD₆₀₀ の最大値に到達してからほぼ一定となるまでの時間が短い。②OD₆₀₀ の最大値は、菌株添加量が同じであれば振とう速度に関係なく、ほぼ同じ一定の値を示す。③振とう速度が同じ場合は、OD₆₀₀ の最大値は菌株添加量に比例して大きくなる。④振とう速度が 160rpm の場合は、OD₆₀₀ は培養開始後の 24~48 時間で最大値となり、その傾向に対する菌株添加量の影響は小さい。

液体培地量と振とう速度に着目した培養試験の結果として、試験開始から 2 時間後までの OD₆₀₀ の経時変化を図-3 に示す。同図より、液体培地量が大きくなるに伴って OD₆₀₀ の増加速度が小さくなる傾向が見られ、その傾向は振とう速度が 80 rpm の場合に顕著であり、160 rpm の場合には液体培地量の違いが OD₆₀₀ の経時変化に与える影響は小さいことがわかった。また、振とう速度が 160 rpm の場合は、液体培地量に関係なく 3 つのケースにおいて顕著な OD₆₀₀ のピークが認められ、その時間は培養を開始してから 24~48 時間後である。

一方、遠心分離を用いた菌株の培養方法における OD₆₀₀ の経時変化を図-4 示す。なお、同図中の番号①, ②, ④, ⑤, ⑥および培養液の記号 A, B は、それぞれ図-1 の番号①, ②, ④, ⑤, ⑥および培養液の記号 A, B に対応している。同図および本培養方法の実施によって、次のことがわかった。①培養液 A の OD₆₀₀ の値は約 0.9 (番号①) から約 1.8 (番号④) まで増加し、遠心分離によって約 2 倍になった。②遠心分離によって濃縮された菌

株の培養液を用いることで、OD₆₀₀ の値は約 0.7 (番号⑤) から約 1.1 (番号⑥) へと約 1.6 倍に増加した。③1 回の菌株培養液の調製工程において、培養液 B では 100 mL の調製が可能であるが、培養液 A では 10 mL しか調製することができない。④現時点では、菌株培養液 B の方が量産に適していることから、地盤材料の加速固化試験には培養液 B の方が好都合であると思われる。

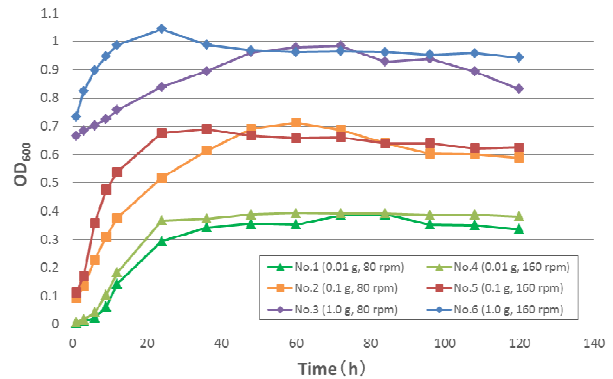


図-2 菌株添加量と振とう速度に着目した培養試験における OD₆₀₀ の経時変化

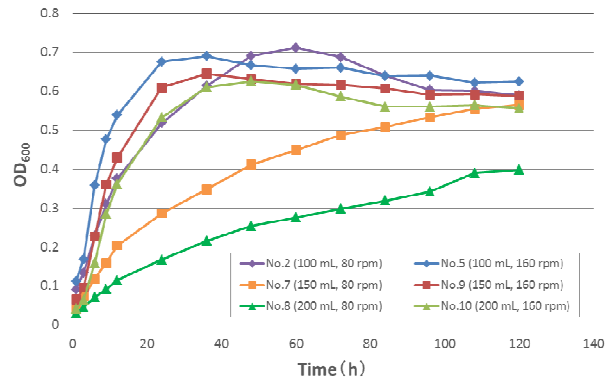


図-3 液体培地量と振とう速度に着目した培養試験における OD₆₀₀ の経時変化

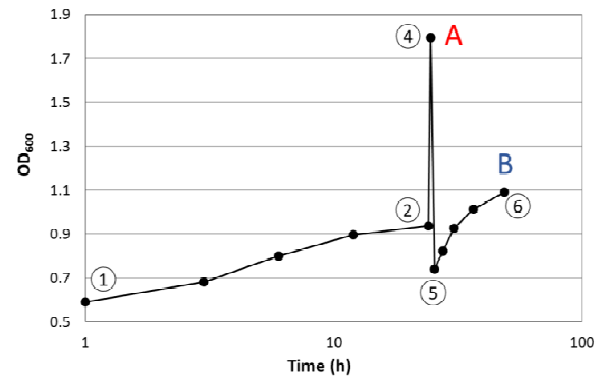


図-4 遠心分離を用いた菌株の培養方法における OD₆₀₀ の経時変化

(3) シリンジ加速固化試験

最初に、計 10 種類の試験ケースにおいて、シリンジ排出液の Ca^{2+} 濃度の経時変化を図-5 および図-6 に示す。なお、両図にはシリンジ注入時における各固化溶液の初期 Ca^{2+} 濃度が点線で記されており、Case 1~Case 10 の各試験ケースにおける Ca^{2+} 濃度の経時変化との Ca^{2+} 濃度差を用いることで、シリンジ内に析出した CaCO_3 の推定値を計算することができる。図-5 より、次のことがわかる。① Ca^{2+} 濃度が一番小さい 0.3 M の Case 1 および Case 4 は、試験開始から 2 週間後までほぼ一定値となっている。② Case 2 および Case 5 の Ca^{2+} 濃度は、試験開始から 6~9 日後までほぼ一定値を呈しているが、その後は Ca^{2+} 濃度が緩やかに上昇する傾向が認められる。③ Ca^{2+} 濃度が一番大きい 0.7 M の Case 3 および Case 6 は、試験開始から 3 日後より Ca^{2+} 濃度が急激に上昇する傾向が見られる。一方、再注入を実施した図-6 からは、持続的な CaCO_3 析出のためには固化溶液の再注入が効果的であることが明らかであり、この効果は特に Ca^{2+} 濃度が大きい 0.7 M の Case 10 において顕著に確認することができる。

次に、針貫入試験で得られた結果について述べる。図-7 に、試験期間中において固化溶液の再注入を実施しない試験ケース Case 1~Case 6 の試験結果を示す。なお、同図中の縦軸は推定 UCS を、横軸は供試体の上端からの位置を、それぞれ示している。同図より、次のことがわかる。① 尿素と CaCl_2 の濃度が 0.3 M の推定 UCS は、4 (上端から 1 cm) ~2 (上端から 6 cm) MPa となった。② 尿素と CaCl_2 の濃度が 0.5 M と 0.7 M の試験ケースに関しては、0.3 M の試験ケースよりも推定 UCS が大きくなる傾向が見られた。③ 尿素と CaCl_2 の濃度が 0.7 M の試験ケース Case 3 では、上端から 1 cm の位置で 16.0 MPa の推定 UCS を示し、さらに供試体の上端から下端に向かって推定 UCS が減少していく傾向が見られた。一方、図-8 は、培養液 B の再注入を実施した供試体を用いて針貫入試験を実施した試験ケース Case 7~Case 10 の試験結果を示している。得られた推定 UCS は、最大値で Case 7 の 19.1 MPa、最小値で Case 7 の 7.1 MPa となり、培養液 B を初日の 1 回のみ注入する図-7 の試験ケースよりも全体的に大きい値の推定 UCS が得られた。また、供試体の上端から下端に向かって推定 UCS が低下していく傾向が見られた。

以上のように、2 週間後の推定 UCS は培養液 B を 1 週間後に 1 回、あるいは、1 および 2 週間後に 1 回ずつ再注入することによって、例えば Case 5 の 10.8~4.8 MPa から Case 7 の 19.1~7.1 MPa へと顕著に増加することがわかった。これは、推定 UCS を増加させる 1 つの方策として、培養液 B による再注入の有効性と必要性を示唆しているものと考えられる。

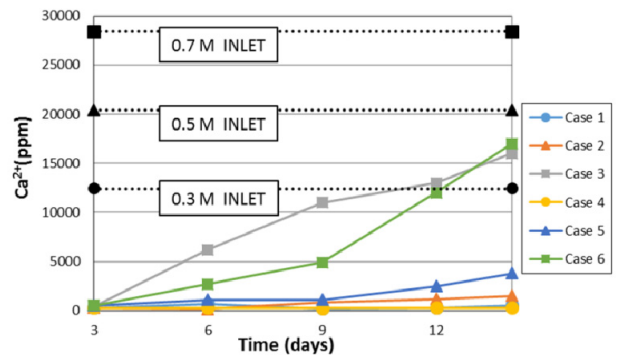


図-5 シリンジ排出液の Ca^{2+} 濃度の経時変化 (再注入なし)

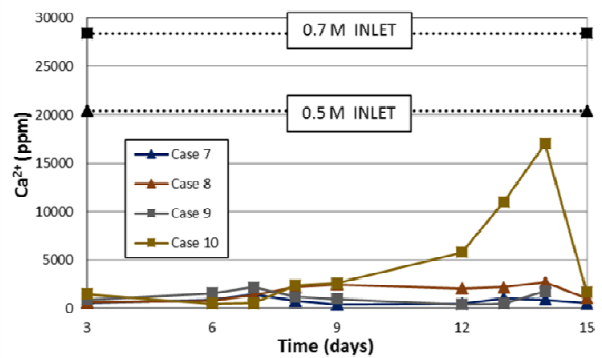


図-6 シリンジ排出液の Ca^{2+} 濃度の経時変化 (再注入あり)

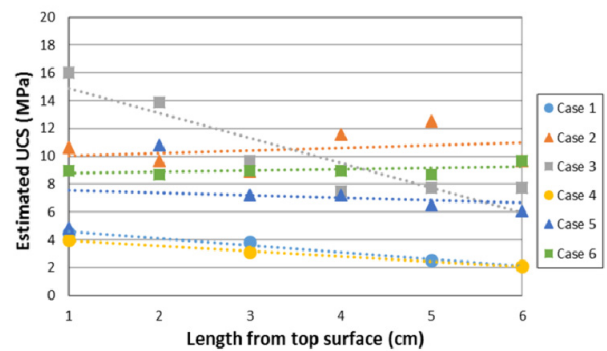


図-7 針貫入試験による推定 UCS の供試体分布 (再注入なし)

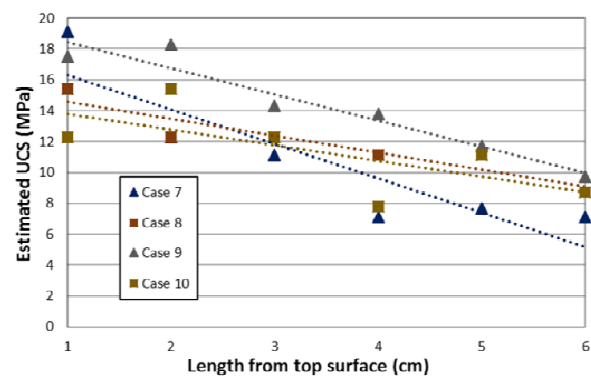


図-8 針貫入試験による推定 UCS の供試体分布 (再注入あり)

4. おわりに

本研究では、海岸コンクリート構造物の UCS である 20～30 MPa 程度を 1～2 カ月程度で達成する修復・補強の基礎技術を新たに開発することをめざした。その結果、高いウレアーゼ活性を持つ尿素分解菌が、北海道、愛媛県、沖縄県の海岸域で見つかったことから、 CaCO_3 の析出により加速固化する人工岩の作製に適した尿素分解菌が日本各地の海岸域に広く生息している可能性が高いことがわかった。また、シリンジ加速固化試験を開始してから 2 週間後の供試体において、針貫入試験による推定 UCS の最大値として 19.1 MPa が得られたことから、20～30 MPa 程度の UCS を 1～2 カ月程度で達成することをめざした当初の目的を概ね満足することがわかった。

残された検討課題は少なくないが、海岸域の未利用資源である尿素分解菌、海水、海砂、貝殻・サンゴ片など

を用いて CaCO_3 の析出により加速固化した人工岩を作製する基本技術の開発に関しては、大略見通しが得られたものと考えられる。

参考文献

- 1) 国土交通省：国土交通白書 2015，日経印刷，pp.122-138，2015.
- 2) 宇多高明：日本の海岸侵食，山海堂，442p.，1997.
- 3) Danjo, T., Kawasaki, S.: Characteristics of beachrocks: A review, Geotechnical and Geological Engineering, Vol. 32, No. 2, pp.215-246, 2014.
- 4) Danjo, T., Kawasaki, S., Shimazaki, S. and Koizuka, K.: Coral sand solidification test using ureolytic bacteria, Proceedings of the International Symposium on Geomechanics from Micro to Macro (IS-Cambridge 2014), pp.1521-1526, 2014.