

北海道大学

## 自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究

日時: 2016年5月25日(水)  
場所: 国土技術研究センター

北海道大学 大学院工学研究院 環境循環システム部門  
地圏循環工学分野 資源生物学研究室  
教授 川崎 了

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 1

### 報告内容

1. 背景・目的
2. 尿素分解菌による固化原理
3. 尿素分解菌の探索
4. 尿素分解菌の培養試験
5. シリンジ加速固化試験
6. まとめ
7. 今後の展開

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 2

### 1. 背景・目的(1)

- 高度経済成長期に整備した社会資本が、今後一斉に老朽化
- 建設後50年以上経過する港湾岸壁の割合は、H25年3月の約8%からH45年3月の約58%に急増

国土交通白書 2015

	H25年3月	H35年3月	H45年3月
建設後50年以上経過する社会資本の割合			
建設後50年以上経過する社会資本の割合			
トンネル	約18%	約43%	約67%
河川橋梁(本門橋)	約20%	約34%	約50%
河川橋梁(本門橋)	約25%	約43%	約64%
下水道管	約2%	約9%	約24%
下水道管	約2%	約9%	約24%
港湾岸壁	約8%	約32%	約58%

注1) 建設年度不明の約30万橋については、割合の算出にあたり除いている。  
注2) 建設年度不明トンネルの約250本については、割合の算出にあたり除いている。  
注3) 高層建物の割合のみ、建設年度が不明な約1,000棟を含む。(50年以内に整備された施設については概ね記録が存在していることから、建設年度が不明な施設は約50年以上経過した施設として数値している。)  
注4) 建設年度が不明な約1万5千kmを含む。(30年以内に整備された管釜については概ね記録が存在していることから、建設年度が不明な施設は約30年以上経過した施設として数値し、記録が確認できる経過年数毎の整備割合により不明な施設の整備割合を算出し、算上している。)  
注5) 建設年度不明の約100施設については、割合の算出にあたり除いている。

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 3

### 1. 背景・目的(2)



離岸堤

長大な砂浜では、構造物を連続的に配置する必要がある。

整備に多大な費用と長時間を要する。また、製造時に大量のCO<sub>2</sub>を排出するセメントの使用に対する社会的関心が増加している。



養浜


継続的な長期間の実施が必要である。

長期にわたる安定した財源と良質な養浜材料の確保が求められている。

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 4

### 1. 背景・目的(3)



沖縄県国頭郡本部町 備瀬海岸に見られるビーチロック

人工岩(自己修復材料)のモデルとして、ビーチロックの形成機構に注目

特徴・利点

- ・砂浜で堆積物が自然の力で固化するため、自然に優しい。
- ・一般の堆積岩より短期間で形成される。
- ・自己修復能力を有する。

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 5

### 1. 背景・目的(4)

本研究の目的は、①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②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ため、海岸域の未利用資源である自然材料(尿素分解菌、海水、海砂、貝殻、サンゴ片など)を用いてCaCO<sub>3</sub>析出により加速固化する人工岩を製作することである。

具体的な数値目標として...

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)20~30 MPa程度を1~2カ月程度で達成できる修復・補強の基礎技術を新たに開発することをめざす。

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 6

### 2. 尿素分解菌による固化原理

尿素分解菌が持つウレアーゼを利用


土粒子(下部の表面に尿素分解菌が付着)

尿素分解菌による尿素的加水分解  
 $NH_2-CO-NH_2 + H_2O \rightarrow 2NH_3 + CO_2$

$2NH_3 + 2H_2O \rightarrow 2NH_4^+ + 2OH^-$   
 $CO_2 + OH^- \rightarrow HCO_3^-$   
 $Ca^{2+} + HCO_3^- + OH^- \rightarrow CaCO_3 + H_2O$

● Ca原子  
○ 電子  
○ C原子  
○ O原子

尿素分解菌によるCaCO<sub>3</sub>析出機構の模式図 (DeJong et al. 2010)

 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 7

### 3. 尿素分解菌の探索: 方法(1)

探索対象(計20地点)

- ・沖縄県(地点A, B, C, D, E, F, G, H: 宮古島市, 地点I: 名護市)
- ・愛媛県(地点J, K: 西宇和郡, 地点L: 大洲市, 地点M: 伊予市)
- ・千葉県(地点N, O: 南房総市, 地点P: 館山市, 地点Q: 富津市)
- ・北海道(地点R, S: 松前郡, 地点T: 常呂郡)



土質試料は海岸域の各地点から滅菌済みの遠沈管に採取

 北海道大学

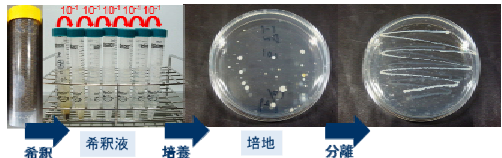
自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 8


### 3. 尿素分解菌の探索: 方法(2)

微生物の分離

- ・希釈液は人工海水を使用
- ・海洋細菌用のZoBell 2216E培地を採用

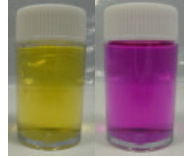
Polypeptone	5g
Yeast Extract	1g
FePO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.1g
Agar	15g
Artificial Seawater	1000mL
pH	7.6-7.8



 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 9

### 3. 尿素分解菌の探索: 方法(3)



簡易ウレアーゼ活性試験溶液の組成


Urea	2.5g
Cresol Red	0.04g
Distilled water	100mL

\* pH指示薬 Cresol Red 変色域 pH 7.2 - 8.8

有力菌株選定の基準

➡ 2 h後にpH 8.5以上

$(NH_2)_2CO + H_2O \rightarrow 2NH_3 + CO_2$   
 $NH_3 + H_2O \rightarrow NH_4^+ + OH^-$


 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 10

### 3. 尿素分解菌の探索: 方法(4)

特に高いウレアーゼ活性を示した菌株

- ・遺伝子配列解析
- ・既知のDNA配列データベースの配列と照合する相同性検索
- ・遺伝子領域は、16S rDNAの部分塩基配列(約1,500 bp)
- ・系統樹を作成して帰属分類群を推定
- ・バイオセーフティレベル(BSL)を判定

 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 11

### 3. 尿素分解菌の探索: 結果

分離試験


- ・計20地点の土質試料から計750菌株を分離
- ・コロニーの色は、クリーム色、オレンジ色、黄色などの暖色系が多い

簡易ウレアーゼ活性試験

- ・pH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、最大のpHは地点Bの9.1
- ・上記の4菌株は、高いウレアーゼ活性を有する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あり

遺伝子解析

- ・地点B: *Pararhodobacter* sp., BSL≠2, BSL≠3
- ・地点I: *Oceanisphaera* sp., BSL≠2, BSL≠3
- ・地点K: *Marinobacter litoralis*, BSL=1
- ・地点T: *Bacillus safensis*, BSL=1

 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 12

### 4. 尿素分解菌の培養試験：方法(1)

**培養条件**

- ・固体培養日数: 3日
- ・菌株添加量: 0.01, 0.1, 1.0 g
- ・液体培地量: 100, 150, 200 mL (ZoBell 2216E)
- ・振とう速度: 80, 160 rpm
- ・菌株: *Pararhodobacter* sp.
- ・温度: 30 °C

高活性液体培地(ZoBell2216E)に微生物を添加  
30°Cの恒温槽内で振とう培養  
OD(光学密度)を測定・グラフ化

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 13

### 4. 尿素分解菌の培養試験：方法(2)

**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	

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 14

### 4. 尿素分解菌の培養試験：方法(3)

**培養方法**

遠心分離を用いた菌株の培養方法

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 15

### 4. 尿素分解菌の培養試験：結果(1)

**菌株添加量と振とう速度に着目した培養試験におけるOD<sub>600</sub>の経時変化**

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 16

### 4. 尿素分解菌の培養試験：結果(2)

**液体培地量と振とう速度に着目した培養試験におけるOD<sub>600</sub>の経時変化**

北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 17

### 4. 尿素分解菌の培養試験：結果(3)

**遠心分離を用いた菌株の培養方法におけるOD<sub>600</sub>の経時変化**


北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 18

### 5. シリンジ加速固化試験: 方法(1)

次の2条件が、サンゴ砂供試体の一軸圧縮強さ(UCS)に与える影響を検討

- 液体培地(培養液)の培養条件
- 固化溶液の配合条件




以下の試験条件を統一して固化試験を実施

- 固体培養日数: 3日
- 液体培地量: 100 mL
- 振とう速度: 160 rpm
- 温度: 30 °C
- 試験期間: 2週間

培養液がBかつ尿素とCaCl<sub>2</sub>の固化溶液濃度が0.5および0.7 mol/L(=M)の場合には、1週間または2週間の間隔で培養液の再注入を実施

3日に1回の割合で、排出液のpHおよびCa<sup>2+</sup>濃度を測定


 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 19

### 5. シリンジ加速固化試験: 方法(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		0.3	
Case 5		0.5	
Case 6		0.7	
Case 7	B	0.5	1週間
Case 8			2週間
Case 9		0.7	1週間
Case 10			2週間

 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 20

### 5. シリンジ加速固化試験: 方法(3)

針貫入試験による推定UCSの算出

推定UCSは、以下の実験式より算出

$$\log(y) = 0.978 \cdot \log(x) + 2.621$$

ここに、

- x: 針貫入勾配 (N/mm)
- y: 推定UCS (MPa)

針貫入試験は、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回実施



 北海道大学

自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 21

### 5. シリンジ加速固化試験: 結果(1)

固化したサンゴ砂供試体

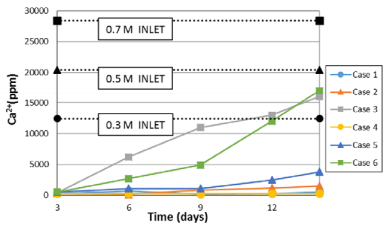


 北海道大学


自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 22

### 5. シリンジ加速固化試験: 結果(2)

シリンジ排出液のCa<sup>2+</sup>濃度の経時変化(再注入なし)



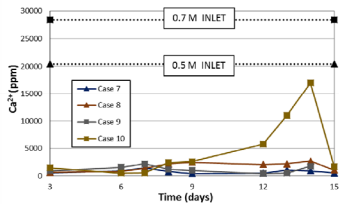
0.7 M INLET, 0.5 M INLET, 0.3 M INLET

 北海道大学


自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 23

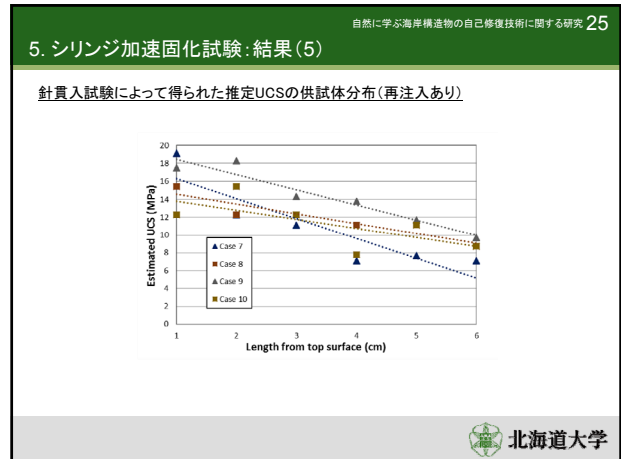
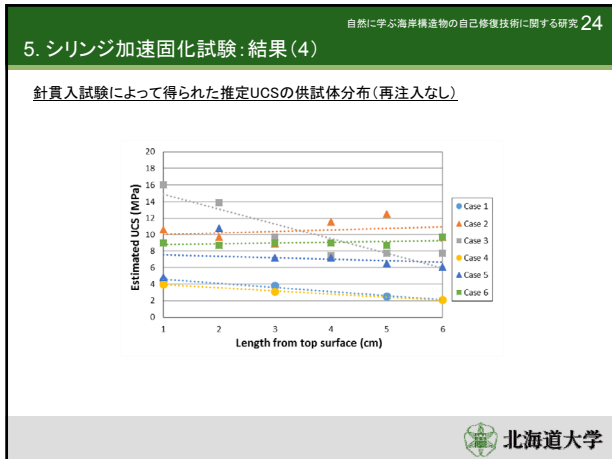
### 5. シリンジ加速固化試験: 結果(3)

シリンジ排出液のCa<sup>2+</sup>濃度の経時変化(再注入あり)



0.7 M INLET, 0.5 M INLET

 北海道大学



自然に学ぶ海岸構造物の自己修復技術に関する研究 26

### 6. まとめ

まとめ

- ① 尿素分解菌の探索
  - 高いウレアーゼ活性を持つ尿素分解菌として、北海道、愛媛県、沖縄県の海岸域で計4菌株が見つかった。
  - CaCO<sub>3</sub>析出による人工岩の作製に適した尿素分解菌は、日本各地の海岸域に広く生息している可能性が高い。
- ② 尿素分解菌の培養試験
  - 種々の培養条件下における最もウレアーゼ活性が高い1菌株の生育特性を把握した。
  - 培養方法は、遠心分離を用いた方法が有効である。
- ③ シリンジ加速固化試験
  - 培養液の注入は初回のみでなく、必要に応じて試験途中での再注入が効果的である。
  - 再注入時期の判断には、排出液のCa<sup>2+</sup>濃度(およびpH)が有効である。
  - 試験開始から2週間後の供試体において、推定UCSの最大値19.1 MPaが得られた。

北海道大学

