海底表層堆積物を対象とした酵素触媒法による底泥の巻き上がり抑制技術の適用性評価

村田 湧水¹・畠 俊郎²・鍵本 慎太郎³・松村 聡⁴・水谷 崇亮⁵

¹ 学生会員 富山県立大学大学院工学研究科環境工学科専攻 (〒939-0398 富山県射水市 黒河 5180)
E-mail: t757011@st.pu-toyama.ac.jp

² 正会員 富山県立大学教授 工学部環境・社会基盤工学科 (〒939-0398 富山県射水市 黒河 5180)
E-mail: t-hata@pu-toyama.ac.jp

³ 港湾空港技術研究所 (〒239-0826 神奈川県横須賀市 長瀬 3-1-1)

⁴ 正会員 港湾空港技術研究所 (〒239-0826 神奈川県横須賀市 長瀬 3-1-1)

⁵ 港湾空港技術研究所 (〒239-0826 神奈川県横須賀市 長瀬 3-1-1)

これまでに、チュニジア国のイシュケウル湖を対象とした試験結果から、原位置微生物由来の酵素と天然由来の固化試薬を用いた表層固化から表層堆積物の再懸濁抑制効果が明らかとなっている。本研究では、この技術の適用範囲拡大を目的に、酵素そのものを用いることで施工期間の短縮効果を期待することとした。対象として国内表層堆積物を選定し、提案技術の有効性検証を目的として短期・長期で固化効果を得ることを目的とした2種類の室内試験を実施した。試験の結果より、国内表層堆積物と酵素製剤を用いた場合においても濁度抑制効果が期待できることが明らかとなった。また、底泥表層に析出したカルサイトの膜厚と強度に正の相関があることと、X線CT撮影の結果から析出したカルサイト膜と底泥の間に隙間が生成されることなどが明らかとなった。

Key Words : Urease activity, X-ray CT, carbonate precipitation, vane shear test, surface strength

1. はじめに

底泥の巻き上がりは台風や高波浪、潮流、水深が浅い地域によっては風などによって発生することが知られている¹⁾。この底泥の巻き上がりによる土砂流出や海底に堆積した栄養塩の再浮遊による汚染源拡大等の問題が東南アジア沿岸、有明海等で生じているとともに、その対策技術が求められている²⁾。チュニジア国の世界自然遺産であるイシュケウル湖の底泥を対象とした検討結果から、原位置にすでに生息している微生物由来の酵素と、固化効果を期待した尿素・塩化カルシウムを主体とする固化試薬を湖沼底泥に添加することによって、炭酸カルシウムの結晶を底泥表面に析出させる効果が明らかとなっている。この底泥表層に析出したカルサイトの膜により表層堆積物の再懸濁を抑制する効果が報告されている³⁾。本研究では、この表層固化技術の適用範囲拡大を目的とし、対象となる底泥内にすでに生息している微生物種に影響されことなく固化効果が期待できる酵素製剤そのものを用いた場合の有効性について国内表層堆積物を対象とした室内試験の結果に基づき考察することとする。

2. 実験概要

(1) 酵素触媒を用いた固化メカニズム

本研究では、反応触媒として酵素製剤(ナタ豆由来のウレアーゼ)を用いることとした。尿素有加水分解によって発生する炭酸イオン(CO_3^{2-})と、別途添加した塩化カルシウム由来のカルシウムイオン(Ca^{2+})が底泥表面で結晶化し、炭酸カルシウム(以下、カルサイト)の膜を底泥表層に生成する効果を期待している。この底泥表層に析出したカルサイトの膜により風波などによる表層堆積物の巻き上がりを抑制することで濁度を低下させる効果を期待している。本研究で着目した反応のうち、ウレアーゼによる尿素有加水分解を式(1)、カルサイトが結晶化するメカニズムを式(2)にそれぞれ示す。

(2) 実験に用いた各試料

本研究では、固化溶液と酵素製剤を添加し、底泥表層にカルサイト膜を析出させる溶液試験を行い、濁度低下に与える提案技術の有効性を室内試験により検証した。試験は0.15 mol/L濃度の尿素および塩化カルシウム溶液

と 0.07 g/L の低濃度の酵素製剤を添加した条件で、環境負荷を軽減させることを目的とした長期施工（以下、長期試験）について 3 ケースの供試体を作製した。合わせて、尿素および塩化カルシウム溶液の濃度を 0.30 mol/L と酵素製剤の濃度を 4.00 g/L に変更し、短期施工（以下、短期試験）を目的とした 2 ケースの供試体を作製した。長期試験では、底泥表層に添加した溶液中の NH_4^+ および Ca^{2+} 濃度を測定し、尿素的加水分解及びカルサイトの析出が行われているかの確認を行った。加えて、底泥の巻き上がり抑制の有効性を検討するための濁度試験、表層に析出したカルサイトの強度を測るためのテンションメーターによる強度測定、固化処理後における底生生物への影響評価を行うためのベーンせん断試験を行った。短期試験では、添加した溶液の NH_4^+ および Ca^{2+} 濃度の測定、テンションメーターによる強度の測定、CT 撮影による底泥表層に生成されたカルサイト膜の観察を行った。

表-1 に各試験で用いた溶液の組成、酵素製剤（ウレアーゼ）の添加量を示す。サンプル A~C は長期試験、D、E は短期試験を対象としている。サンプル A は尿素、塩化カルシウムのみを用い、底泥内にすでに生息している原位置微生物の働きにより底泥表層にカルサイトを析出させる効果を期待している。サンプル B はサンプル A に反応触媒である酵素（ウレアーゼ）を添加しており、短期間での固化効果を期待している。サンプル C はサンプル B に Nutrient Broth や塩化アンモニウム、炭酸水素ナトリウムを加えており、添加した酵素とあわせて原位置由来のウレアーゼ活性陽性微生物の活性化による固化効果の促進を期待している。なお、サンプル A~D における尿素、塩化カルシウムの濃度はそれぞれ 0.15 mol/L であり、サンプル E のみ尿素と塩化カルシウムの濃度は 0.30 mol/L とした。サンプル E は尿素および塩化カルシウムの濃度を高めることで、より短期での固化効果が期待できるかどうかの検証を目的としている。

(3) 供試体の作製

長期試験に用いた供試体の概要を図-1 に示す。供試体サイズは高さが 250 mm、直径が 90 mm の円筒を用いた。供試体下部に高さを調整するために、直径 1 mm のガラスビーズを 100 g 添加し、その上に不織布（前田工繊 ジオフリース 400-s）を 2 枚被せた。その後、含水比を液性限界の 1.75 倍に調整した底泥を 700 g 静かに添加し、ラップをかぶせて 3 日間の自然圧密を行った。自然圧密後、純水 250 mL をシリンジを用いて再懸濁が起こらないよう静かに添加し、その後、表-1 に示した各サンプル A~C の溶液およびウレアーゼをそれぞれ 350 mL ずつ添加した。溶液およびウレアーゼを添加した後、図-1 に示した攪拌機と濁度計を用いて濁度を測定した。また、短期試験に用いた供試体の概要を図-2 に示す。

表-1 試験ケース別の配合

サンプル	長期試験			短期試験	
	A	B	C	D	E
Nutrient Broth(g)	0.00		3.00	0.00	
NH ₄ Cl (g)	0.00		10.00		
NaHCO ₃ (g)	0.00		2.12		
CO(NH ₂) ₂ (g)	9.01 (0.15mol/L)			18.02 (0.30mol/L)	
CaCl ₂ (g)	16.65 (0.15mol/L)			33.29 (0.30mol/L)	
ウレアーゼ (g)	0	0.07		4.00	
純水(mL)	1000

図-1 長期試験における供試体作製の略図

図-2 短期試験における供試体作製の略図

供試体サイズは高さが 300 mm , 直径が 98.4 mm の円筒である。長期試験時と同様に含水比を液性限界の 1.75 倍に調整した底泥を 1.5 kg 添加し、ラップをして 3 日間の自然圧密を行った。自然圧密を行った後、表-1 に示したサンプル D, E の溶液およびウレアーゼをそれぞれ底泥が乱れないように静かに添加した。

3. 長期試験の結果と考察

(1) 濁度試験による固化処理後の濁度測定

自然圧密を行い、サンプル A~C の溶液を 350 mL 添加した後、図-1 に示した攪拌機 (600G ヘイドン) と濁度計 (笠原理化工業株式会社 TR-52 測定可能範囲 0-220 ppm) を用いて、攪拌機の回転数が 360 rpm で 5 分攪拌した後に初期濁度の測定を行った。初期濁度測定後は 7 日ごとに再度濁度を測定し、濁度が 50 ppm まで低下していなかった場合、サンプル A~C の溶液を再度添加した。これを最大 28 日間で、濁度が 50 ppm 以下となるまで繰り返し行った。なお、濁度測定時には外部からの影響を防ぐことを目的として円筒全体をアルミホイルで覆うことにより遮光処理を施している。図-3 に濁度の測定結果を示す。初期の濁度はサンプル A~C において、濁度計の測定可能範囲である 220 ppm を上回っていた。図より、サンプル A では 4 回溶液を添加したが、目標濁度までの低下は見られなかった。一方でサンプル B では 1 回の溶液添加によって濁度が 50 ppm 以下の 15.5 ppm まで低下する効果が確認された。また、サンプル C は 1 回目の添加では、カルサイト膜が剥がれてしまい、濁度低下は確認されなかったが、2 回の添加で濁度が 50 ppm まで低下し目標濁度に達したことが確認された。サンプル A より、酵素製剤を添加しない場合は濁度が低下しないことが明らかとなった。また、サンプル B , C より、酵素製剤を添加した場合は濁度低下への即効性があることが明らかとなった。しかし、微生物効果を期待したサンプル C においては、目標濁度までの低下は確認されたが、酵素製剤の効果が大きく、微生物活性の効果は確認されなかった。

(2) 溶液中の NH_4^+ 、 Ca^{2+} 濃度測定

試験期間中は、期待している尿素的加水分解およびカルサイトの析出が行われているかの確認を目的として溶液中の NH_4^+ および Ca^{2+} 濃度の測定を行った。溶液中の NH_4^+ および Ca^{2+} 濃度の測定は濁度試験を行う直前にシリンジにより採取したサンプルを対象に行うこととした。サンプル A~C における NH_4^+ および Ca^{2+} 濃度の測定結果を図-4 に示す。図より、濁度試験において目標濁度までの低下が確認されなかったサンプル A では、 NH_4^+ お

よび Ca^{2+} 濃度の増減が他のサンプルに比べ遅いことが確認された。これは、微生物による尿素的加水分解反応は働いているが、酵素製剤と比較すると反応が遅く、 Ca^{2+} 濃度についても減少していないことから、カルサイト膜の生成が行われず、結果として濁度が低下しなかったためと考えられる。一方で、サンプル B, C に着目すると、サンプル A に比べ、 NH_4^+ 濃度が上昇し、 Ca^{2+} 濃度が大幅に減少していることから、尿素的加水分解反応が生じ、カルサイトが析出していると考えられる。また、サンプル C における初期の NH_4^+ 濃度が他のサンプルに比べ高い理由としては、微生物活性化を目的として塩化アンモニウムを添加したことが影響していると考えられる。

(3) テンションメーターによる強度の測定

濁度試験において、目標濁度の 50 ppm まで低下した後に強度測定を行った。テンションメーター (IMADA ZTS-100N) を用いて、テンションメーターの先端に直径が 24 mm , 先端角が 84° のコーンを取り付け、表層から 20 mm までコーンを底泥と垂直となるように差し込んだ際の最大押し込み強さを計測した。計測は 3 箇所行い、強度はその平均値としている。

図-3 各ケースにおける濁度変化

図-4 各ケースにおける NH_4^+ および Ca^{2+} の増減

また、最大押し込み強さを測定する直前に外面から定規を用いて目視で生成されたカルサイトの膜厚を測定した。サンプル A では目視によるカルサイト膜が確認されなかったため、強度測定は行っていない。一方で、サンプル B ではカルサイトの膜厚が 1.0 mm、強度が 0.47 N、サンプル C ではカルサイトの膜厚が 1.7 mm、強度が 1.15 N であり、膜厚が厚いほど強度が増加することが確認された。これらの結果より、カルサイト膜が 1.0 mm、強度が 0.47 N 以上あれば濁度を低下させ、巻き上がりを抑制可能であると考えられる。

(4) ベーンせん断試験による底泥内強度の測定

底泥固化処理を行ったサンプル A-C と未処理の計 4 サンプルについてベーンせん断試験 (JGS1411-2012) を行った結果を図-5 に示す。試験は表層に生成されたカルサイトの膜を取り除いた後にベーンブレードの上端が隠れるまで底泥に垂直に押し込み測定した。測定箇所としては、表層から 0-2 cm、2-4 cm、4-6 cm 付近で 1 ヶ所ずつ計 3 点においてベーンブレードを抜かずに測定を行った。測定は、回転速度が 6 °/mm、回転角度が 0 ° から 30 ° の条件で行った。図より、すべての固化処理後の供試体においてベーンせん断強度がゴカイ等の底生生物の活動範囲である 1.2 kN/m² 以下であることが確認された⁴⁾。この結果より、固化処理後の底泥内強度は底生生物の生活範囲内であり、影響は少ないものであると考えられる。

4. 短期試験の結果と考察

(1) 短期試験の方法および手順

長期試験において、ウレアーゼと尿素、塩化カルシウム溶液を添加したサンプル B が最も短期間での巻き上がり抑制が可能であることが明らかとなった。そのため、ウレアーゼの添加量、尿素、塩化カルシウムの濃度を高くすることで、より短期間での固化効果に期待した短期試験を行った。供試体の概要は図-2 に示すとおりである。供試体作製後、乳鉢ですりつぶしたウレアーゼと表-1 に示したサンプル D, E の溶液をそれぞれ 400 mL 添加し、一日養生させた。その後、NH₄⁺およびCa²⁺濃度を測定し、Ca²⁺が半分以上消費されていた場合は溶液を供試体上部より排水後、再びサンプル D, E の溶液をそれぞれ 400 mL 添加した。これをカルサイトの膜厚が 2 mm 程度に達するまで繰り返し行った。この膜厚が 2 mm 程度に達した際にはテンションメーターによる強度の測定および X 線 CT 撮影を行い、固化溶液濃度がカルサイト膜に及ぼす影響について検証を行った。なお、長期試験の結果よりカルサイト膜が 1.0 mm、強度が 0.47 N 以上あれば、巻き上がりを抑制可能であることが明らかとなっている。短期試験においては、この膜厚が 2 mm 程度に達するまで試験を行うことから、巻き上がりを抑制するには十分な膜厚であると判断し濁度試験を省略した。

(2) 溶液内の NH₄⁺、Ca²⁺濃度測定

サンプル D, E では、溶液を添加から 1 日養生後の供試体の上澄み液を採取し、溶液に含まれる NH₄⁺およびCa²⁺濃度の測定を行った。培養日数ごとにおける NH₄⁺およびCa²⁺濃度の測定結果を図-6 に示す。サンプル D では培養日数が 0, 1, 3 日目に、サンプル E は培養日数 0, 1 日目に溶液を再度添加した。図より、NH₄⁺が増加するにつれて、Ca²⁺濃度が減少傾向にあることから、尿素的加水分解反応が生じ、炭酸カルシウムが結晶となって沈殿していると考えられる。

(3) テンションメーターによる強度の測定

膜厚が 2 mm 程度に達した際に、長期試験と同様の手法で強度の測定を行った。サンプル D は培養 4 日目、サンプル E は培養日数が 3 日目で膜厚が約 2 mm に達

図-5 ベーンせん断試験結果

図-6 各ケースにおける NH₄⁺およびCa²⁺の増減

したことが確認された。また、強度測定を行った結果、サンプル D では膜厚が 1.8 mm、強度が 2.9 N、一方で、サンプル E では膜厚が 2.2 mm、強度が 3.1 N となった。ここで、長期試験および短期試験における膜厚と強度の関係についてまとめたものを図-7 に示す。これらの結果より、尿素、塩化カルシウム溶液の濃度を高くすると、カルサイトの膜厚が厚くなること、長期試験と同様に、カルサイト膜が厚くなるほど強度が増加する傾向があることが確認された。サンプル E はサンプル D と比較し、強度が 0.2 N 増加するが、10000 mg/L 多く NH_4^+ を排出していることを考慮すると、酵素製剤の濃度が 1.6 g/L のとき、サンプル D が適当であると考えられる。

(4) X線 CT 撮影によるカルサイト膜の観察

写真-1 および写真-2 に示すとおり、サンプル D、E において、表層に析出したカルサイト膜と底泥の間に隙間が生じていることが確認された。そのため、より詳細な情報を得ることを目的として X 線 CT 撮影を行うこととした。撮影結果を図-8、図-9 に示す。なお、装置は港湾空港技術研究所が所有する X 線 CT 装置⁵⁾を用いて、X 線 CT 撮影条件は 120 kV、120 μA としている。図より、高密度領域として白く表示されているカルサイトの層と、カルサイトよりも低密度領域として灰色で示されている底泥との間に、空気もしくは水と考えられる黒い隙間が生じていることが明らかとなった。また、サンプル D、E の隙間の大きさに着目すると、写真-1、写真-2 からわかるとおり、サンプル E の方がサンプル D に比べ、より隙間が大きいことが明らかとなった。隙間ができた原因としては、粘土の自重圧密による影響が考えられる。あわせて、表層に生成されたカルサイトの膜に着目すると、サンプル D、E とともに、供試体の外側付近(図-8 中の赤丸)でより白く見えることから、炭酸カルシウムは円筒の内周面付近に多く析出、沈殿していることが考えられる。

図-7 カルサイト膜の強度と膜厚の関係

写真-1 サンプル D における表層状況

写真-2 サンプル E における表層状況

図-8 サンプル D における CT 撮影結果

図-9 サンプル E における CT 撮影結果

5. 結論

本研究では、表層固化に基づく再懸濁抑制技術の適用範囲拡大を目的とし、微生物ではなく酵素そのものを反応触媒として用いる酵素触媒法の有効性について検討した。具体的には、短期および長期での固化効果を想定した2ケースの室内試験を行った。濃度が0.07 g/Lの低濃度のウレアーゼを添加し、長期的な施工を目的とした長期試験では、組成が異なる3種類の溶液を用いて供試体を作製し、濁度低下による巻き上がり抑制を評価するための濁度試験、添加した溶液内の NH_4^+ および Ca^{2+} 濃度の測定、テンションメーターによる底泥表層に析出されたカルサイト膜の強度測定およびベーンせん断試験を行った。続いて、長期試験で得られた知見をもとに、より短期的な効果を期待した確認試験を行った。短期試験は溶液中の NH_4^+ および Ca^{2+} 濃度の測定、テンションメーターによる底泥表層に析出されたカルサイト膜の強度測定およびX線CT撮影による底泥表層状況についての観察を行った。これらの2種類の試験を行った結果、以下の知見が得られた。

- (1)長期試験から、0.15 mol/Lの尿素および塩化カルシウム溶液とウレアーゼを添加した場合、最も短期的に濁度を低下させ、巻き上がりを抑制することが可能である。
- (2)固化処理後の底泥内強度は底生生物であるゴカイ等の活動可能範囲である1.2 kN/m²を下回っていたため、底生生物への影響は低いものであると考えられる。
- (3)底泥表層に生成されたカルサイトの膜厚と、その強度の関係から、膜厚が厚くなるほど強度は増加することが明らかとなった。

- (4)膜厚が1.0 mm、強度が0.47 N以上あると、濁度を低下させ、巻き上がりを抑制させることが期待できる。
- (5)短期試験から、サンプルEはサンプルDに比べ、強度は0.2 N高いが、多くの NH_4^+ を生成していることから、サンプルDがより適切であると考えられる。
- (6)X線CT撮影により、カルサイト膜と底泥の間にわずかな隙間が生じていること、カルサイトの膜厚は供試体の外側部分に多く析出していることが明らかとなった。

謝辞：本研究の一部は科学研究費補助金(A) 課題番号15H02634の補助を受けて実施された。

参考文献

- 1) 高山知司, 吉岡洋, 田邊義隆, 大和剛：波浪・潮流による大阪湾底泥の巻き上がり特性, 海洋開発論文集, P.117-122, 2001.
- 2) 白石修章, 飯島眞治, 永野国松, 中辻啓二：関西国際空港沖における潮流と波による底泥の巻き上げ現象, 海岸工学論文集, p.1076-1080, 2000.
- 3) 川崎稀文, 島俊郎：湖沼底泥の固化技術による巻き上がり抑制の検討：土木学会中部支部講演概要集, p.305-306, 2017.
- 4) 島俊郎, 入江光輝：チュニジア国Joumine貯水池底泥を活用したイシュケウル湖の湖底環境復元技術の適用性評価, 土木学会論文集G(環境), p.125-133, 2015.
- 5) 松村聡, 水谷崇亮, 篠永龍毅：マイクロフォーカスX線CTスキャナを用いた地盤工学への新たなアプローチ, 港空研資料, No.1313, 2015.

(2018.2.8 受付)

EVALUATION OF APPLICABILITY OF BOTTOM MUD CURLING SUPPRESSION TECHNOLOGY BY ENZYME CATALYTIC METHOD FOR SEAFLOOR SEDIMENT

Yusui MURATA, Toshiro HATA, Shintaro KAGIMOTO, Satoshi MATSUMURA and Takaaki MIZUTANI

It is a problem that sediment flows out by rolling up the bottom mud. Based on the results of previous studies, the effectiveness of superficial solidification technology using enzymes derived from microbial functions has been clarified from the study of Lake Ichkeul in Tunisia. Therefore, in this research, for the purpose of evaluating the applicability of this technology to domestic and shortening the construction period, we examined the effectiveness of the proposed technology by the enzyme catalytic method for domestic surface sediments. In the test, two cases of specimens for long-term construction and short-term construction were prepared. According to the results of the test, it became clear that turbidity suppression by enzyme catalytic method for domestic sediments is possible. In addition, CT imaging revealed that as the thickness of the calcite membrane deposited on the surface layer of the sediment became thicker, the surface strength increased and gaps were formed between the calcite and the bottom mud.