

博士論文

地中熱利用による地下生態系への影響
に関する研究

秋田大学大学院国際資源学研究科 資源学専攻

谷口 聡子

目次

第1章 序論.....	1
1.1 はじめに.....	1
1.2 地中熱利用ヒートポンプシステムの熱交換方式.....	2
1.3 地中熱利用ヒートポンプシステムの研究開発動向.....	4
1.4 本研究の目的および概要.....	5
1.5 本研究に関連する研究事例.....	6
1.5.1 土壌微生物に関する研究事例.....	6
1.5.2 水平型地中熱交換器および数値シミュレーションに関する研究事例.....	6
第2章 浅部土壌微生物の概要と評価方法.....	9
2.1 分析対象とする浅部土壌微生物.....	9
2.1.1 生育場所.....	9
2.1.2 温度.....	9
2.1.3 pH.....	10
2.1.4 水分.....	11
2.1.5 栄養素.....	11
2.1.6 物質循環.....	12
2.1.7 病原性.....	13
2.1.8 移動性.....	14
2.1.9 分類.....	14
2.2 環境中の微生物群集.....	15
2.3 環境影響評価に必要な調査項目.....	16
2.4 影響評価法および分析方法.....	17
2.4.1 病原性細菌の調査方法.....	17
2.4.2 微生物群集構造の調査方法.....	21
2.4.3 物質循環に関わる微生物の調査.....	24
2.4.4 統計解析.....	26
第3章 水平型地中熱交換器のフィールド試験.....	29
3.1 実証フィールド概要.....	29
3.1.1 実証フィールドの選定.....	29
3.1.2 実証フィールドの地域特性.....	29
3.1.3 対象土壌の一般的性質.....	31
3.1.4 フィールド周辺の地下水位.....	31
3.1.5 農作物の生育と地中温度の関係.....	32
3.2 フィールド試験設備.....	35
3.3 フィールド試験計画.....	40
3.4 浅部地盤の温度モニタリング.....	41
3.5 冷暖房運転結果.....	44
3.6 浅部地盤を利用した GSHP システムの蓄熱効果.....	47

3.7	まとめ	48
第4章	地下微生物生態系への影響調査	51
4.1	地盤温度変化が土壌内の微生物に与える影響の考え方	51
4.2	試験フィールドにおけるサンプリング	54
4.3	調査結果	55
4.4	まとめ	69
第5章	水平型地中熱交換器の数値シミュレーション	71
5.1	数値シミュレーションモデルの概要	71
5.1.1	シミュレーションモデル条件	71
5.1.2	ヒストリーマッチングにおける入力物性値および条件	73
5.2	ヒストリーマッチング	75
5.3	数値シミュレーションモデルによる地盤内温度影響範囲予測	78
5.4	まとめ	82
第6章	総括	83
参考文献	87
謝辞	91

第1章 序論

1.1 はじめに

2020年10月、日本は「2050年カーボンニュートラル」を宣言した。これまでEUなどが率先して取り組んでいた目標に追随した形ではあるが、国の新たな成長戦略としてエネルギー問題に本格的に取り組むこととなった。この実現のためにはエネルギーの革新的なイノベーションが必要となる。また、カーボンニュートラルと整合する新たな目標として、翌年には2030年までの二酸化炭素排出量削減目標を2013年度比で46%減とすることが発表された。いずれも野心的な目標としてあらゆるエネルギーの改革が必要となり、再生可能エネルギーの大量導入のみならず、エネルギーの省力化技術についても焦点となることが考えられる。

「再生可能エネルギー熱」とは、太陽熱、地中熱、雪氷熱、温泉熱、海水熱、河川熱、下水熱等の自然由来の熱を指し、その利用によりエネルギー削減や脱炭素化など持続可能なエネルギー社会の実現に貢献する重要な役割を担っている。国が示すエネルギー基本計画では、再生可能エネルギーの導入拡大のために取り組む技術の一つとして2010年に初めて「地中熱」が明記された。その後の第4次エネルギー基本計画（2014）では、「再生可能エネルギー熱」を定義し、省エネルギーを最大限に進めるためには、電気や熱への転換を如何に効率的に無駄なく利用するかということについて踏み込んだ検討を行い、具体化に向けた取組を進める必要があることに言及している。また、国内において熱利用を中心とした非電力での用途が過半数を占めており、再生可能エネルギー熱を効果的に活用していくことがエネルギー需給構造を効率化する上で効果的な取り組みであるとしている。このことは世界全体に目を向けても同様で、最終エネルギー消費量の50%は熱利用が占めている（IEA, 2019）。熱エネルギーから直接熱を利用することは極めて効率が良いのは明らかであるが、化石燃料以外で自然由来の身近な低質の熱が有効に利用可能であることはまだ広く知られていない。

海外においても地中熱は再生可能エネルギーの一つとして認識され、安定的な熱源としての有用性が注目されており、世界全体における地中熱利用ヒートポンプ（Ground Source Heat Pump, 以降 GSHP と称す）システムの導入量は2020年時点で年間約60,000TJ（12kWt ヒートポンプ換算で646万台）、2015年比で約1.9倍と増加し続けている（Lund et al., 2020）。一方、国内では海外に比べれば導入が飛躍的には進んでいないものの、2000年頃より右肩上がりに増加を続け、2017年度時点ではGSHPシステムの導入件数が累計2,662件に達している。

地中熱特有の利点として、地域を選ばない地産地消型であり、天候に左右されることのない

い安定した再生可能エネルギーであることが挙げられるが、地下の条件によって短期的には地下水流動効果による熱交換効率の向上、長期的には地中蓄熱による冷熱・温熱の相互利用など、さらなる省エネルギー効果を生み出す可能性を持つ技術である。一方で、地中熱利用は非自然的に地下へ排熱するものであり、例えば地中熱利用に伴う地中の熱変動による地下生態系への影響についてはほとんど明らかになっておらず、その影響についても解明が求められるが、その評価方法は未だ確立されていない。地中熱利用が地盤環境に及ぼす影響について事前に把握・評価し、持続可能な地中熱利用に繋げることは重要である。

1.2 地中熱利用ヒートポンプシステムの熱交換方式

国内に導入されている GSHP システムは、年間を通して安定している深度 10m 以深の地中から熱を抽出し、それをヒートポンプの熱源として利用する方式が主流である。その熱源となる地下からの熱交換の方法として、これまで様々な方式が開発されてきた。その熱源方式を以下に述べる。

まず、GSHP システムは水や不凍液を媒介して地中と間接的に熱交換を行うクローズドループと、地下水をくみ上げて直接熱交換を行うオープンループに大別される (Fig. 1)。オープンループは地下水が豊富な地域かつ、揚水規制のない場所であれば利用が可能であり、熱交換効率が高いメリットを持つ。一方のクローズドループは、地下水が豊富ではない場所でも利用が可能であり、対象地点の地下状況を把握した上での適切な設計により安定的な熱交換が可能である。

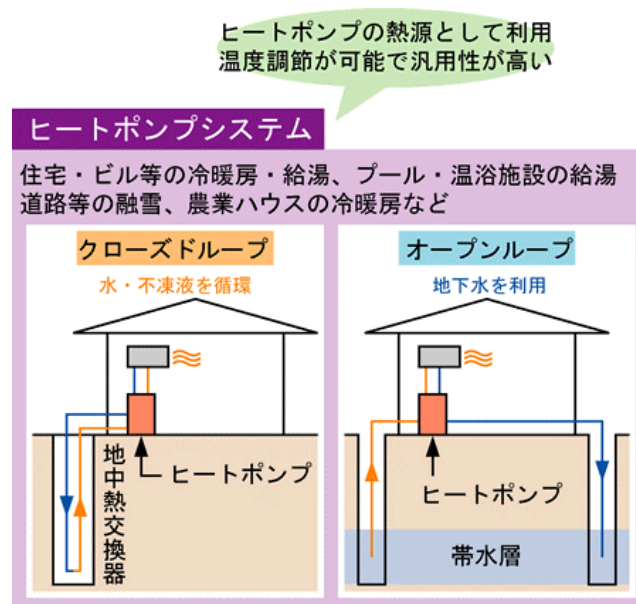


Fig. 1 GSHP システムの熱交換方式 (NPO 地中熱利用促進協会)

次に、国内でこれまでに開発されたクローズドループにおける垂直型熱交換方式の分類を Fig. 2 に示す。一般的な GSHP システムの熱交換方式は、深度約 100m の直径 0.2m 程度の掘削孔に U チューブと呼ばれる地中熱交換器を 1～2 組設置した方式であるが、近年は開発が進み、建物の基礎杭施工の際に地中熱交換器と一緒に設置する方式が杭の施工方法に合わせて導入されている。設置深度は建物に必要な杭長に依存し約 20～50m の範囲で様々であるが、新規に掘削工事が発生しないため導入コストの低減に寄与する方式である。

本計算方法における地中熱交換器の分類	シングルUチューブ	ダブルUチューブ	大口径固体充填				間接型水充填	直接循環型水充填
充填材			珪砂、豆砂利、コンクリート等(固体)				水等(液体)	
単一熱交換器中のバース数 [※]	1バース	2バース以上	1バース以上				熱交換器中の充填水と直接交換	
ボアホール孔径杭径	200mm以下		200mm超				—	

地中熱交換器の例										
名称	シングルUチューブ	ダブルUチューブ	スパイラルチューブ	U字状チューブ	既成コンクリート杭(固体充填)	鋼管杭(固体充填)	場所打ち杭	既成コンクリート杭(水充填)	鋼管杭(水充填)	二重管(同軸)
方式	ボアホール	ボアホール	ボアホール	ボアホール	杭	杭	杭	杭	杭	ボアホール
水平断面図(例)										
垂直断面図(例)										
材質 孔径・杭径(例)	高密度ポリエチレン(Uチューブ) 孔径100～200mm	高密度ポリエチレン(Uチューブ) 孔径110～200mm	高密度ポリエチレン 孔径約500mm以上	架橋ポリエチレン管 孔径約300mm以上	杭:コンクリート 内管:高密度ポリエチレン(Uチューブ) 孔径約500mm以上	杭:スチール 内管:高密度ポリエチレン(Uチューブ) 孔径約200mm以上	杭:鉄筋コンクリート 内管:高密度ポリエチレン(Uチューブ) 孔径約500mm以上	杭:コンクリート 内管:高密度ポリエチレン(Uチューブ) 孔径約500mm以上	杭:スチール 内管:高密度ポリエチレン(Uチューブ) 孔径約200mm以上	外管:スチール 内管:ポリエチレン、塩ビなど 孔径約200mm以下
充填	珪砂、豆砂利、コンクリート	珪砂、豆砂利、コンクリート	珪砂、豆砂利	珪砂、豆砂利、コンクリート	珪砂	珪砂	コンクリート	水	水	水
熱媒	水・不凍液	水・不凍液	水・不凍液	水・不凍液	水・不凍液	水・不凍液	水・不凍液	水・不凍液	水・不凍液	水

※バース数: 一つの地中熱交換器の中の熱媒を通ず経路数をここでは「バース数」と呼ぶ。例えばシングルUチューブでは、地上から地中熱交換器に入り地表に戻る配管は1経路であることから「1バース」となる。このときに水平断面では2つの配管断面が現れることになる。

Fig. 2 クローズドループにおける垂直埋設型の種類

(省エネ基準熱源水温度計算方法(建築研究所))

Fig. 3 には、クローズドループのうち、水平型の熱交換方式の種類を示す。水平型地中熱交換器(Horizontal Ground Heat Exchanger, 以降 HGHE と称す)は設置スペースが十分にあれば設置が容易で、コスト低減に資する方式とされている。一方で設置深度が浅いため外気温の影響を受けやすいことが懸念されるが、深度 1～2m 程度であれば外気温の影響を受けることは少なく、GSHP システムの熱源として十分に利用可能と考えられている。また、地中熱交換器を設置する地中浅部は不飽和層である場合がほとんどであり、熱交換効率を向上させる地下水流れは期待できないが、地中蓄熱として年間を通した熱利用が可能であると考えられる。HGHE の設置場所は地中浅部といっても様々であり、農地などの土壌からビル建物基礎下のコンクリート内、鉄道トンネル内の下床板下まで、国内の導入事例は多岐にわたる。

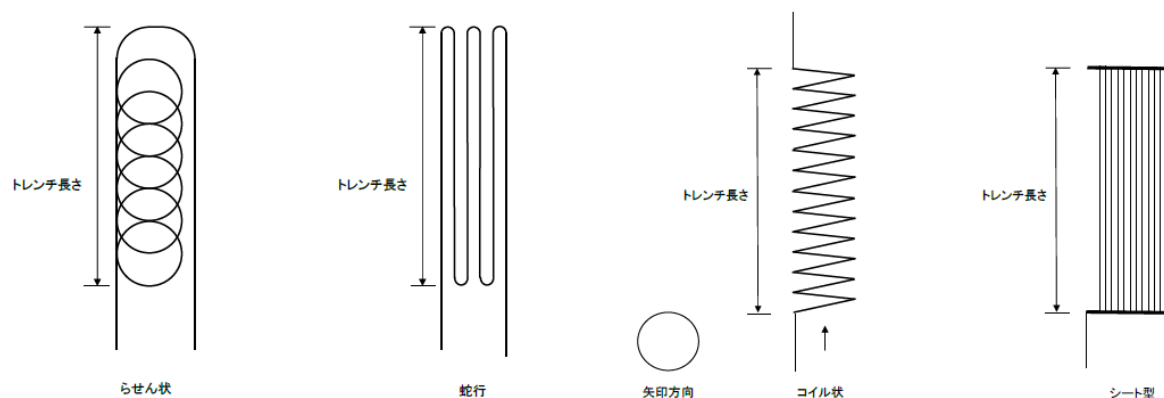


Fig. 3 水平型地中熱交換器の埋設方式（省エネ基準熱源水温度計算方法（建築研究所））

1.3 地中熱利用ヒートポンプシステムの研究開発動向

国内における GSHP システムの導入は先述のとおり 2000 年頃より増加しており、これに追従して研究開発が大学や企業にて実施されてきた。国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（略称 NEDO）では 2014 年から再生可能エネルギー熱として初めての単独事業となる「再生可能エネルギー熱利用技術開発」プロジェクトを開始した。新しい技術特有の課題として挙げられるコスト低減を定量的な目標として位置付け、国内でも導入が進む地中熱を中心として、掘削技術や高効率機器等の要素技術の開発、要素技術を組み合わせたトータルシステムの高効率化、さらにはシミュレーションツールやポテンシャル評価技術の開発を行い、実用化を目指した研究開発である。このことは、地中熱を含む再生可能エネルギー熱が再生可能エネルギーの一つとして、エネルギー削減や温室効果ガス削減に寄与する技術として認識されたことと捉えている。当プロジェクトは 5 年間行われ、20 テーマのうち 15 テーマは地中熱に関するものであり、導入コスト・運用コスト 20%低減に向けた一定の成果をあげた。その後、2019 年度からは後継事業となる「再生可能エネルギー熱利用にかかるコスト低減技術開発」が始まり、実用化技術の確立や、より一層のコスト低減を図るため、自立的な再エネ熱の普及拡大を目的とした技術開発を実施している。本プロジェクトではシステムの導入に関わる上流から下流までのプレイヤーがコンソーシアムを組み、一体となって技術開発に取り組むものであり、ZEB 等への適用も視野に入れた実証フェーズでの技術開発となっている。また事業終了後に早急な社会実装を実現するため、事業期間中にはテーマ毎に自治体や業界団体、ユーザーとも連携し、開発成果の普及方策に取り組むこととしている（NEDO, 2020）。

以上のように国内において、地中熱の普及拡大に向けた研究開発が進められているが、一方で地中熱の導入に関する規制や留意点は十分に整備されていない。環境省では、「地中熱利用にあたってのガイドライン改訂版」（環境省, 2015）を策定しており、環境共有資源である

地下水・地盤環境の持続可能な利用を行うとともに地中熱利用の普及促進を図ることを目的に、現在得られている知見・研究に基づいて、想定される地下水・地盤環境に影響を及ぼす可能性と技術の導入における留意点を提示し、熱利用効率の維持や地下水・地盤環境の保全に資するモニタリング方法等についての基本的な考え方を整理している。この中で、地下微生物生態系への影響については「現時点では知見が十分ではなく今後考慮すべき留意点として研究が始められています」との記載にとどまっている。

1.4 本研究の目的および概要

国内での地中熱利用による地下生態系への影響調査は、2007～2008年に環境省の委託事業であるクールシティ推進事業「地中放熱による土壌内生態系への影響調査」として、三菱マテリアルテクノ(株)らにより初めて実施された。その報告書（環境省、2008）によると、地中熱利用による地下微生物生態系への影響は認められなかったが、対象土壌は放熱（冷房試験）のみの短期的な地盤温度変動であり、室内試験による微生物の評価が中心であったため、限定的な結果にとどまっている。また、当時の微生物解析方法は検出可能な微生物が限定されており、定量性に乏しいことや、時間の経過によっても変動する微生物において放熱前後の比較による影響有無の評価が困難であることが課題として挙げられた。

一般的に GSHP システムの適切な設計は、地中を熱源とする優位性を確保するために熱源水温度が夏季は外気温より低く、冬季は外気温より高い状態でシステムを稼働することである。システムの運転により地盤へ採放熱されることで地盤温度が変動し、地下に生息する微生物には何らかの変化を与えていると考えられるが、それが地上で生活するヒトや動物、さらには植物にとって影響を及ぼすものであるかどうかを定量的に示した事例はない。そのため具体的な地下微生物生態系への影響についての知見が望まれている。

先述の影響調査実施時は可能な微生物の解析・評価方法や試料数が少なく、定性的な評価に過ぎなかった。また、評価にあたっては温度のみならず時間の経過によっても大きく変化する微生物に対して、様々な外的要因を排除し採放熱前後で生じる熱影響のみを評価することが最も重要であり、かつ実際の地中熱利用によって生じる温度変動範囲で行う必要があると考える。

そこで本研究では、これまで実施されてきた評価方法の課題解決を軸に、地中熱利用により生じる地盤の温度変動や地下生態系（特に地下微生物）を現場環境で再現したフィールド試験を実施し、深度 2m の浅部地盤を利用した HGHE の温度変動特性についての考察を行うとともに、不飽和層における地中熱利用が地下の微生物群集構造に与える影響について定量的な評価を行うことを目的とする。また、HGHE の特徴となる地中蓄熱状況の把握および地下生態系に配慮した浅部地中熱利用の可能性を目的として、GSHP システムの熱源となる

HGHE の数値シミュレーションモデルを構築し、地表面からの熱流入状況および地盤浅部に設置した地中熱交換器の採放熱状況を再現する。

今後、再生可能エネルギーの大量導入となる脱炭素社会において、GSHP システムの普及拡大を実現する上で考慮すべき留意点の一つとなることを目指す。

1.5 本研究に関連する研究事例

1.5.1 土壌微生物に関する研究事例

地中熱利用による地下微生物への影響についての研究事例は、これまで地下水を対象とした研究があるものの、地盤（土壌）を対象とした報告例は少ない。Bonte らによる帯水層蓄熱システムの研究では、敷地より採取した堆積物と地下水を用いたカラム試験において、加温条件（25～60℃）で微生物群集の変化が認められ、60℃で硫酸還元細菌の増加やヒ素などの重金属の溶出が生じることが報告されている（Bonte et al., 2013, 2014）。また、地中熱利用ではないが土壌の加温試験における微生物群集構造や微生物数、活性の変化を調査した研究では、加温により微生物群集構造が変化した報告がある一方で、土壌微生物の活性は増加するが微生物群集構造やバイオマス量は変化しないという報告もある（Zogg et al., 1997, Schindlbacher et al., 2011, Kuffner et al., 2012）。これらの報告では、それぞれ試験条件（加温条件や土壌特性）が異なり、土壌微生物群集は試験場所に特有の群集構造を構成しているため、加温に対して異なる挙動が観察されたと考えられる。さらに、異なる土壌に対して加温条件を同一とした加温試験（5～20 年、周辺温度+5℃程度に加温）においては、無機質土壌では加温の有無による微生物群集構造の変化がなく、有機質土壌では変化が認められ、調査対象土壌の特性によっても土壌微生物群集への熱影響が異なることが示されている（DeAngelis et al., 2015）。

1.5.2 水平型地中熱交換器および数値シミュレーションに関する研究事例

数値シミュレーションモデルは GSHP システムの設計や運用時の改善にしばしば用いられるが、長期シミュレーションが必要な場合、近似式を用いて簡素化し計算時間を短縮することが望ましいと考える。Congedo et al. (2012)は、汎用 CFD ソフトである Ansys fluent 6.3 を用いて Slinky-coil 式 HGHE の形状やパイプの流動状態を厳密に再現した数値モデルを構築し、同モデルを用いたケーススタディを通じてコイルのピッチや設置深度などの設計パラメーターが熱媒体温度挙動に及ぼす影響について評価した。その結果、運転条件における熱媒体速度や土壌の熱伝導率が熱交換量の増進に重要なパラメーターであることが分かった。その一方で、ケーススタディに用いた数値モデルは要素数が非常に多いこと、また Navier-Stokes の式の収束性の厳しさから成る解析コストの大きさから時間的に短期的なシミュレーシ

ョンが実施され、HGHE が及ぼす蓄熱の影響については議論されていない。これに対し、Fujii et al.(2012)は解析コストを低減させるために FEFLOW ver.6.2 を用いて Slinky-coil 式 HGHE を平板としてモデリングする近似的な手法について提案した。平板のジオメトリは元のジオメトリに対して流路面積が等価になるように平板の厚さや幅を調整することで決定した。また、元のジオメトリのパイプ内の流動状態に基づく熱移動に関しては、平板では見かけの熱伝導率において流動状態の影響を包括することで考慮した。見かけの熱伝導率はフィールド試験の結果を用いたヒストリーマッチングを通じて試行錯誤的に決定され、近似的手法を適する際に必要となる Slinky-coil のループピッチと見かけ熱伝導率の関係についてまとめた。

冷暖房熱負荷が偏る条件においては、地中熱交換器の設置条件や蓄熱状況を踏まえ、経年変化により地中温度が一方に偏り、運転性能が低下しないことを運用時に把握しておくことが重要である。Zachini et al. (2012)は COMSOL Multiphasics を用いて大規模なボアホール式熱交換器モデルを構築し、冷暖房シミュレーションを実施した。その結果、冷暖房時における年間の熱負荷の収支に偏りがある場合においても地下水流れの移流の大きさが僅かにあれば性能向上が期待されることが推測された。一方で、地下水流れがない場合においては年間の蓄熱量を冷暖房時における運転条件を調整することで性能低下を回避することが重要であると推測された。また、藤井ら(2017)は首都圏の鉄道トンネル下床板下に設置した HGHE の運転挙動に関する検討および数値モデルの構築を行った。都市部の気候条件から冷房需要が多く排熱過多になることで、その排熱が地盤内に蓄熱されていることがフィールドデータから推定された。一方で、フィールドを再現した数値モデルによる感度計算では長期運転による温度挙動を予測し、排熱過多な条件下でも冷暖房運転性能が低下しないことを推定した。

HGHE の場合、設置場所によって被覆状況が異なると考えられるが、津谷ら(2020)は深度 1.0 m に設置した Slinky-coil 式 HGHE において、アスファルト、芝生、裸地の異なる地表面被覆が与える地中温度の影響を測定し、フィールド試験により地表面被覆の違いが熱交換効率に影響することを証明した。加えて数値シミュレーションモデルにおける熱交換効率の予測計算では、芝生面がアスファルト面よりも 10%高いエネルギー効率を示すことが推定されている。

HGHE による数値シミュレーションモデルの構築および予測計算に関する研究事例として、Tang et al.(2021)は自作のコードを用いた HGHE の CFD モデルを構築し、フィールド試験の結果を用いたヒストリーマッチングより計算値と実測値の RMSE を算出することでモデルの妥当性を検証した。その後、妥当性を確認したモデルを用いたケーススタディを通じて熱交換器を埋戻す際の埋設土の熱物性値、熱交換器の設置深度、および熱交換器の入口温度を変化させた場合の蓄熱量の違いについてまとめた。

第2章 浅部土壤微生物の概要と評価方法

2.1 分析対象とする浅部土壤微生物

微生物とは、人の肉眼では構造が判別できない微小な生物の総称であり、細菌類、カビ類、原生動物類など分類学上の異なる範囲の生物群が含まれる。本研究では、土壤に生息する微生物のうち細菌を対象とする分析とした。したがって、本研究での地下微生物群集は細菌群集（菌叢）を指すこととする。本節では環境中に生息する微生物に影響を与える要因（生育場所、温度、pH、水分、栄養素）と微生物の特徴（物質循環、病原性、移動性、分類）についてまとめた。

2.1.1 生育場所

土壤中の微生物は、土壤を構成する粒子（砂、粘土など）の間隙に生息しており、間隙は地下水位より上の深度においても水（間隙水）で満たされている（Fig. 4）。間隙がない圧縮された岩盤中では微生物は生育することができない。地中熱を利用する地盤中においても同様に、微生物は間隙水中で生育しているものと考えられる。

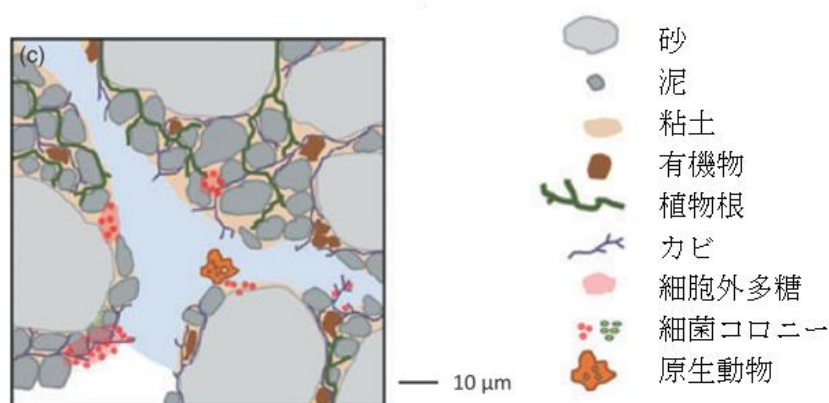


Fig. 4 土壤微生物の生育場所（※水は水色部分を示す）

2.1.2 温度

細菌が生育可能な温度域は種類によって異なる。細菌は生育温度域の違いによって好冷性細菌、低温性細菌、中温性細菌、高温性細菌（好熱性細菌）、高度好熱性細菌および超高熱性細菌の6種類に分類される（Table 1）。それぞれの細菌群は、生育可能な温度範囲内であっても、至適増殖温度の近傍以外の温度では増殖速度が低下するなど、温度によって異なる応答を示す。

地中熱を利用する極限環境（熱水域、氷床など）を除いた土壌や地盤では、一般的に中温性細菌および低温性細菌が多く生息している。これらの細菌は、地中熱利用による地盤温度変化後の温度条件（夏季は外気温よりも低く、冬季は外気温よりも高い温度範囲）において生育が可能である。地盤温度が変化した場合に、地盤温度の上昇・低下後の温度が生育に適している細菌が増加する可能性が考えられる。

Table 1 生育温度域による細菌の分類(Madigan, M.T., 2012)

細菌群	生育温度域
好冷性細菌	20℃以下（至適増殖温度：15℃以下）
低温性細菌	0℃～30℃（至適増殖温度：20℃以下）
中温性細菌	10℃～45℃（至適増殖温度：30℃～38℃）
好熱性細菌	45℃以上（至適増殖温度：55℃～65℃）
高度好熱性細菌	50℃以上のみ（至適増殖温度：55℃～65℃）
超好熱性細菌	50℃以上のみ（至適増殖温度：80℃以上）

2.1.3 pH

細菌が生育（増殖）可能な pH 域は種類によって異なり、生育 pH 域の違いによって好酸性細菌、好アルカリ性細菌、それ以外の pH 中性域付近で生育する細菌の 3 種類に分類される（Table 2）。それぞれの細菌群は、生育可能な pH 範囲内であっても、至適増殖 pH の近傍以外の pH では増殖速度が低下するなど異なる pH 応答を示す。一般に、畑や森林土壌の pH は弱酸性（pH 5～6 程度）であり、生息する微生物の多くは pH 中性域付近で生育する細菌であるが、存在量は少ないながらも好酸性細菌、高アルカリ性細菌も生息している。土壌 pH と微生物群集の関連性については、土壌の酸性化（pH 低下）により微生物群集構造が変化した文献（C.L.Lauber, 2009）、（K.Brenzinger, 2015）、（Y.Wu, 2015）などの報告例があり、pH は微生物群集構造を決定する一因であると考えられる。

Table 2 生育 pH 域による細菌の分類(Madigan, M.T., 2012)

細菌群	生育pH域
好酸性細菌	pH5.5以下で増殖可能
中性細菌	pH5.5～8.0で増殖可能
好アルカリ性細菌	pH8.0以上で増殖可能

2.1.4 水分

微生物が利用できる物質中に存在する水は自由水と呼ばれる。物質中の成分と結合した水（結合水）は微生物が利用することはできない。土壌水（土壌間隙中に存在する水分）には、土壌から流れ出す重力水、土壌孔隙の毛管に保持される懸垂水（毛管水）、土壌粒子表面に吸着される吸湿水などがある。これらの中で重力水や懸垂水が自由水に相当する。

細菌の種類によって増殖が可能な水分量（乾燥に対する耐性）は異なっている。土壌中の水分量は地下微生物数の増減や活性に影響を及ぼすとともに、微生物群集構造を決定する一因であると考えられる。

2.1.5 栄養素

土壌中に生息する微生物の多くは、微生物体内で栄養素として無機化合物や有機化合物から生命活動に必須なエネルギー源である ATP（アデノシン三リン酸）を化学合成している。これらの微生物はそれぞれ、利用する栄養によって独立栄養性化学合成細菌、従属栄養性化学合成細菌と呼ばれている（Table 3）。

ATP 合成には微生物体内で電子伝達が必要であり、電子を与える物質と与えられる物質は、それぞれ電子供与体、電子受容体と呼ばれている。Table 3 に記す電子供与体、電子受容体間で電子がやり取りされるが、それらの反応が進行する酸化還元電位は電子受容体によって異なる。環境中の酸化還元電位が高い順に酸素、硝酸イオン、鉄(III)イオン、硫酸イオン、二酸化炭素を電子受容体とした反応が進行することが知られている（M.T.Madigan, 2012）。これらの物質も微生物の栄養素として重要である。このように微生物は様々な物質を栄養素として利用でき、必要となる栄養素は微生物の種類によって異なる。これは、後述する物質循環と密接な関係がある。

Table 3 栄養素に基づいた細菌の分類(久馬, 1997)

細菌の種類	エネルギー源の 生成方法	栄養素			酸素要求性 (好気/嫌気)
		炭素源	電子供与体	電子受容体	
独立栄養性 化学合成細菌	化学合成	CO ₂ (独立栄養)	NH ₄ ⁺	O ₂	好気
			S		
			CH ₄		
従属栄養性 化学合成細菌		有機物 (従属栄養)	有機物 (糖類, 有機酸 など)	O ₂	好気
				NO ₃ ⁻	嫌気
				Fe(III)	
				SO ₄ ²⁻	
	CO ₂				

2.1.6 物質循環

先述のとおり、微生物は栄養素として様々な物質を利用している。栄養素としての化学物質は微生物の代謝により形態が変化し、他の微生物や植物などに利用されることで、環境中を循環している。このような一連の化学物質の流れを物質循環と呼ぶ。例として、土壌中での窒素循環を示し、以下に微生物による窒素循環を述べる (Fig. 5)。

- ① 大気中の窒素ガスは、窒素固定細菌により取り込まれ、アンモニウムイオンに変換される。この作用を窒素固定と呼ぶ。
- ② 窒素固定や有機肥料、動物の排泄物、植物や動物の死骸などが細菌によって分解されて生成したアンモニウムイオンは、アンモニア酸化細菌により亜硝酸イオンに変換される (アンモニア酸化)。次いで、亜硝酸酸化細菌によって硝酸イオンに変換される (亜硝酸酸化)。アンモニア酸化および亜硝酸酸化反応を合わせて硝化と呼ぶ。
- ③ 硝酸イオンは、硝酸還元菌や脱窒菌により亜硝酸、一酸化二窒素へ還元された後 (硝酸還元)、窒素ガスへ変換され大気中に放出される。この作用を脱窒と呼ぶ。大気中に放出された窒素ガスは、①によって再び利用される。
- ④ 上記の①から③の作用で生成された硝酸イオン、亜硝酸イオン、アンモニウムイオンは、栄養素として植物に吸収され、タンパク質やアミノ酸、核酸などの窒素化合物を生成する。これを窒素同化という。植物に取り込まれた窒素は②によってアンモニウムイオンとなり再び利用される。

Fig. 5 に示すように、一つの元素の物質循環には複数の種類が異なる微生物が関与しており、それらの微生物が共存することで成り立っている。本研究では物質循環に関わる微生物の調査として、Table 3 に記した土壌微生物の主要な栄養元素である炭素、窒素、硫黄、金属 (鉄、マンガン) に着目し、化学物質および化学反応に関与する微生物について分析を行っ

た。本研究で地中との熱交換を行う深度 2 m 付近においては、土壌中の酸素濃度が低く嫌気的反応が主流と考えられるが、システムを設置する際には土壌の掘削と埋設が不可欠であり、好気条件となることから、好気的な反応についても分析対象とした。

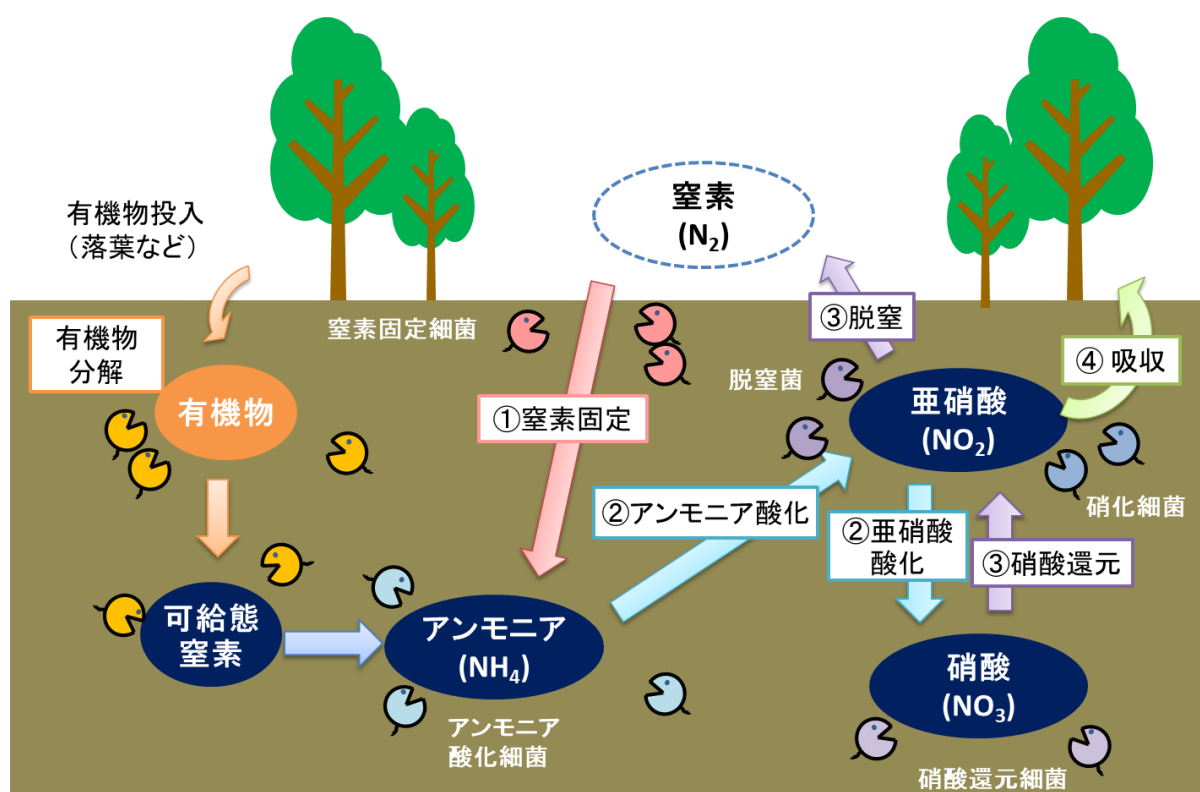


Fig. 5 土壌中における窒素の循環

2.1.7 病原性

微生物の中にはヒト・動物および植物に対して病原性を持つ種類があり、病原性細菌と呼ばれている。病原性細菌には土壌中に生息するものが多数存在している。しかし、特定の病原性細菌が生息する土壌環境（生息分布）について網羅的に調査した事例はない。そのため、いずれの土壌についても病原性細菌が検出される可能性があり、ある土壌で病原性細菌が検出されるか否かについては、その都度、調査を実施する必要がある。

病原性細菌が検出される可能性の高い土壌としては、病原性細菌が含まれるヒトや動物の糞尿などが混入する可能性がある環境が該当する。一方、土壌中に混入した病原性細菌の増殖の有無は、土壌の環境条件、混入した病原性細菌と土壌中の微生物群集の関係によって決定される。病原性細菌の増殖は、土壌が病原性細菌の性質に適した環境である場合や、病原性細菌が土壌中の微生物と共生可能、もしくは他の微生物の活動を抑制する能力（例えば抗生物質の生成など）を保有している場合などで起きるものと推測される。

2.1.8 移動性

土壌中の微生物の移動は、微生物自体による移動と雨水の透水などによる移動の 2 つに大別される。微生物自体の移動方法としては、鞭毛によるものと走化性によるものがあるが、前提条件として水分が必要である。鞭毛は微生物が持つ遊泳器官であり、一部の種類の微生物が保有している。走化性は、特定の微生物がある化学物質の濃度勾配に対して方向性を持って移動する性質で、走化性を引き起こす化学物質は微生物の種類によって異なる。鞭毛や走化性による移動速度は時速数 mm 程度との報告 (M.Vos, 2013) がある。環境中における化学成分の濃度勾配は局所的なものであることから、このような微生物の移動は極めて限定的なものであると結論付けている (Svensk Kärnbränslehantering AB, 2006)。

透水による微生物の移動については、土壌を用いたカラム試験での検証例が複数報告されている (J.T.Gannon, 1991), (D.Or, 2007)。また、透水によって微生物が土壌から流出し移動する際、移動した微生物が移動先の土壌粒子に付着してとどまることが示されている (J.T.Gannon, 1991)。土壌粒子への微生物の付着は、流出速度と土壌の地質、微生物の種類によって異なるため、透水による微生物移動の定量的判断は困難である。一方、雨水の地下土壌での流れを考えると、地下深部よりも地表面で流速が高く、流れ方向は重力方向（地下方向）に流れていることが推測される。すなわち、地下深部では雨水の流れは遅いことが推測され、微生物の移動も限定的である可能性が示唆されるが、詳細についてはさらなる試験や調査が必要である。

2.1.9 分類

微生物の分類は、様々な方法で分類されている。例えば、先に述べたとおり生育温度範囲や利用可能な栄養素など微生物の生態的特徴によって分類されることがある。一方で、微生物を含むあらゆる生物は、国際命名規約により学術的に分類され、名前（種名）が付けられている。この分類方法は系統分類と呼ばれ、従来の形態的特徴や生化学的な特徴などによる系統分類を基礎にして、最新の遺伝子情報を反映させ、再構築した分類方法である。細菌の分類には、すべての細菌が保有している 16S rRNA 遺伝子の塩基配列が用いられる。未知の細菌（群集）の分類は、その細菌の 16S rRNA 遺伝子配列と既存のデータベースに登録された 16S rRNA 遺伝子配列との相同性を比較することで種名（学名）を特定する。

系統分類方法には分類階級があり、上位階級に複数の下位階級が含まれる階層的な体系となっている。上位階級から界、門、綱、目、科、属、種の順となり、種名は属と種をイタリック体で表記する決まりとなっている (Table 4)。

Table 4 微生物の分類階級の例（枯草菌, *Bacillus subtilis*）

階級 (Rank)	例
界 (domain)	Bacteria
門 (phylum)	Firmicutes
綱 (class)	Bacilli
目 (order)	Bacillales
科 (family)	Bacillaceae
属 (genus)	<i>Bacillus</i>
種 (species)	<i>Bacillus subtilis</i>

2.2 環境中の微生物群集

2.1 に述べたように微生物は種類によって固有の性質を持っており、生育に適した環境条件も異なっている。また、微生物間では共生関係あるいは競合関係（栄養素の取りあいや抗生物質の分泌による生育阻害）といった相互作用が生じる場合もある。そのため、環境中の微生物群集は生息場所（環境）に特有のものであり、類似した環境条件であっても異なる微生物種が検出されることがある。

一方、微生物群集を分類階級の上位区分である門レベルで分類すると、環境に応じて特定の門が優占的に検出される傾向がある。その一例として、土壌、海洋堆積物および海洋における微生物群集を門レベルで分類した結果を Fig. 6 に示した。土壌環境では、他の環境と比較して Acidobacteria 門が多く検出され、Acidobacteria 門は土壌に生息する一般的な細菌グループの一つと考えられる。

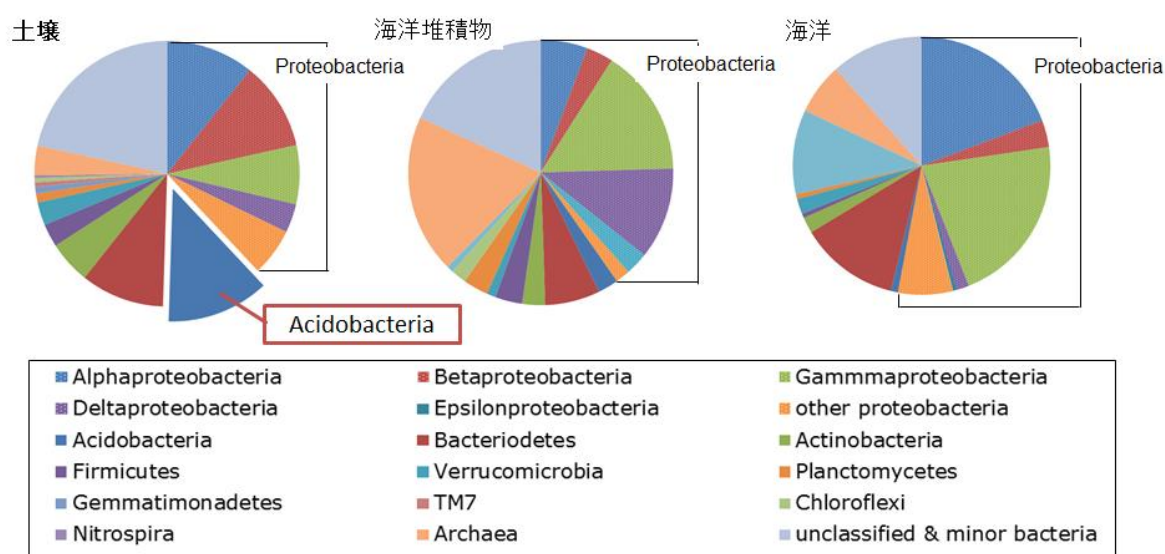


Fig. 6 各環境で検出された微生物（「Block Biology of Microorganisms」よりデータを引用）

2.3 環境影響評価に必要な調査項目

地下環境における生態系等への影響評価について公的な定めとしては、「微生物によるバイオレメディエーション利用指針（環境省）」が唯一挙げられる。バイオレメディエーション利用指針では、外部から地下圏へ汚染浄化微生物や栄養剤を導入した際に、地下環境の微生物群集に与える影響について、調査方法や定量的ではないが影響の有無を判断する方法が記載されている。そこで、バイオレメディエーション利用指針に記載されている利用微生物の選定基準や地下環境の微生物への影響調査方法をもとに、地中熱利用による地盤温度変化が原位置の地下微生物に与える潜在的な影響を抽出し、それら进行评估するための調査方法および判断基準を設定した（Table 5）。

Table 5 環境影響評価に必要な調査項目

バイオレメディエーション利用指針における評価方法 （「第三章：生態系への影響評価の実施」より）		本研究	
		影響の考え方	調査項目
利用微生物の安全性を評価	導入微生物に病原性がないことを調査	① 地中熱利用によって原位置に生息する病原性細菌が増加しない	1. 病原性細菌
微生物群集が影響を受けたことにより、本来の土壌機能が失われる、その状態が長期間継続的に維持されるか否かを評価	微生物群集の構成変化を調査	② 熱影響のある土壌の群集構造が熱影響のない土壌の群集構造に比べて極端に変化しない	2. 微生物群集構造
	物質循環に関与する特定細菌数の増減を調査	③ 関連する微生物数、土壌の化学成分濃度が大きく変化しない ④ 変化しても地中熱利用終了後に回復する	3. 物質循環に関わる微生物群集

地中熱利用による地盤温度変化が微生物に与える潜在的な影響については、大きく分けて以下の2点が考えられる。

- (1) 地中熱利用によって動植物ならびにヒトに対して病原性を保有する微生物が増加すること
- (2) 地中熱利用により地下微生物群集が影響を受けたことによって、本来あるべき土壌としての機能（生物遺体や廃棄物などの有機物を分解し、環境中での物質循環を担う機能）が失われ、かつ、その状態が長期間継続的に維持されること

2.4 影響評価法および分析方法

本研究において土壌を用いて微生物の影響評価を行う分析方法は、次世代シーケンス解析およびリアルタイム PCR (Polymerase Chain Reaction) 法とした。次世代シーケンス解析法は微生物群集構造解析の主流となっており、1 試料あたり数千から十数万の微生物を網羅的に検出することにより高解像度で微生物群集構造の把握が可能である。また、リアルタイム PCR 法は、試料から抽出した DNA を用いて簡易的かつ迅速に分析対象の微生物数を定量することができる。

得られた分析データをもとに、熱影響の有無により期間中の微生物群集の変化に差異があるか否かは、統計解析を用いて判断した。病原性細菌、土壌の溶出成分濃度、物質循環に関わる微生物数については対応のない 2 群（独立した 2 つのデータ）の t 検定 (Student's t-test) を、微生物群集構造の変化については ANOSIM (Analysis of similarity: 類似度行列分析) 解析をそれぞれ用いた。対応のない 2 群の t 検定は、各データの平均値と標準偏差からデータ数とばらつきを要約した統計量 t 値を算出し、t 値の絶対値が棄却値以上であれば 2 群間で有意な差があり、棄却値より小さければ有意な差はないものとする統計学的手法である。棄却値はデータ数と有意水準によって異なり、本研究では有意水準を 0.05（一般的に 0.05 が用いられる）とした。ANOSIM 解析は、各試料間における微生物群集の類似性（非類似度）をもとに、2 群の微生物群集の違いが偶然誤差であるか否かを判断する統計学的手法である。

各試料の微生物群集構造データから算出した非類似度をもとに、2 群の微生物群集構造に差がないと判断される確率 (p 値) を算出する。p 値が有意水準 (0.05) より大きければ 2 群間で有意差が認められない（微生物群集が類似する）と判断する。なお、統計学上の「有意な差が認められない」は必ずしも「差がない」ことと同義ではなく、本研究では得られるデータ数（分析試料数）が限られているため、検定結果とともに分析データの推移傾向や文献値等を併せて検討し、熱影響の有無を判断することとした。さらに、「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」を“対応のない 2 群”とし、期間中における微生物群集の変化に差があるか否かを評価した。

2.4.1 病原性細菌の調査方法

(1) DNA 抽出

採取した土壌試料 3.0 g を DNA 抽出に用いた。DNA 抽出には、市販の DNA 抽出用キット Extrap Soil DNA Kit Plus ver.2（日鉄住金環境社製）を使用し、DNA 抽出方法はキット付属のプロトコルに準じた。

(2) 病原性細菌数の定量

試料中の病原性細菌数は、一次評価と二次評価の2段階で調査する。以下に、各評価方法について記載する。

【一次評価】

- ① 次世代シーケンス解析データの各 OTU (Operational Taxonomic Unit: 操作的分類単位) の分類帰属から、日本細菌学会が定めるバイオセーフティレベル (BSL) 2 以上に分類される病原性細菌と同じ属の OTU 代表配列データを抽出する。
 - ② 抽出された OTU 代表配列データについて、相同性検索プログラムである BLAST によりデータベース上にある既存配列との照合を行い、相同性 98% 以上の近縁な細菌種 (以下、近縁種) を特定する。
 - ③ 同定された近縁種が BSL2 以上に分類される病原性細菌種に該当する場合、病原性細菌の可能性のある細菌として、それらの病原性細菌種を含む細菌属の検出割合を算出する。下記の式にて、病原性を持つ可能性のある細菌数を計算し (Fig. 7), 「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」での菌数の経時変化を調査する。なお、全細菌数はリアルタイム PCR にて定量する。
- ・病原性を持つ可能性のある細菌数 [copies/g] = BSL2 以上の細菌種を含む細菌属の検出割合 (%) × 全細菌数 [copies/g]
- ④ 「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」で病原性を持つ可能性のある細菌数の経時変化に差があるか否かを t 検定により評価する。t 検定については、2.4.4 で詳細を述べる。

- ・検出された細菌属 = 属レベルで分類が確定された細菌: 次世代シーケンス解析で調査 (グラフでは各色 (細菌の種類) と各色部分がグラフ全体で占める面積 (検出割合) を表示)
- ・全細菌数 = 試料中の微生物数: リアルタイム PCR で定量 (グラフの未分類の細菌属を含めた細菌数)

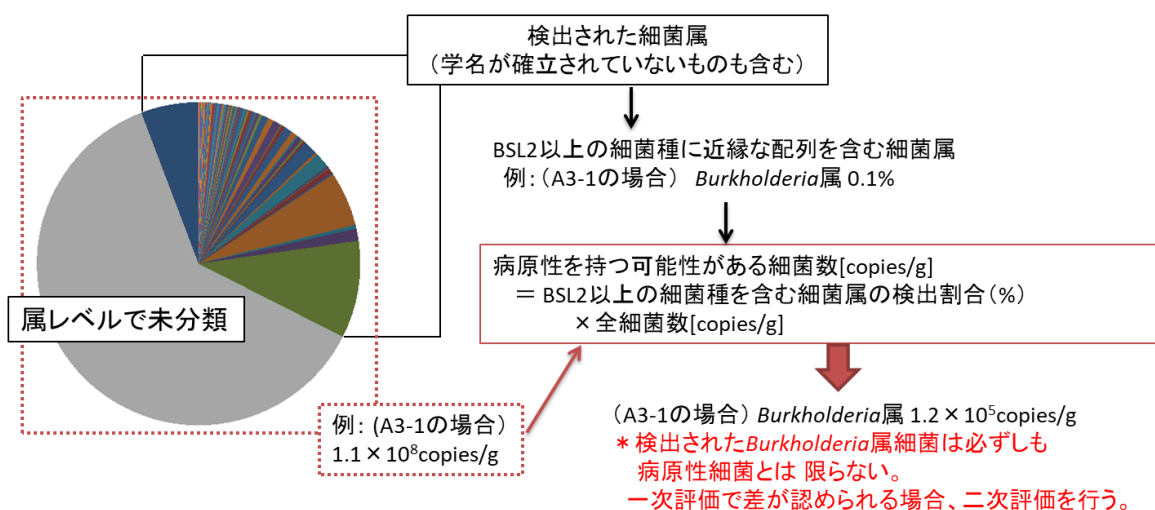


Fig. 7 病原性を持つ可能性のある細菌数の計算方法

一次評価で「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」における病原性を持つ可能性がある細菌数の経時変化に差が認められた場合、二次評価を実施する。また、リアルタイム PCR については Fig. 8 に詳細を示す。次世代シーケンス解析については 2.4.2 に示す。

【二次評価】

一次評価で差が認められた細菌属に分類される BSL2 以上の病原性細菌をリアルタイム PCR により、個別に定量する。検出系および測定装置は下記のとおりである。プライマーは二次評価の対象となった細菌種別に設定する。対応のない 2 群の病原性細菌数の経時変化を比較し、熱影響ありの試料にて病原性細菌数が増加したか否かを判断する。

◆バイオセーフティレベル (BSL) の分類

バイオセーフティレベル (BSL) とは、細菌・病原体を発症時の危険性に基づいてグループ分けしたものであり、危険性に応じてレベル 1~4 に分類される。レベルが高いものほど感染の危険性が高く、重篤な疾病を引き起こす。現時点においてレベル 4 に分類される病原体はウイルスのみであり、BSL4 の細菌は存在しない。

・BSL1 に分類される病原体

ヒトに疾病を起こす、又は動物に獣医学的に重要な疾患を起こす可能性が小さいもの。

例) ワクチンなどに利用される微生物、日和見感染を起こす細菌。

・BSL2 に分類される病原体

ヒト又は動物に病原性を有するが、当該微生物 (病原体) を扱う実験者および所属する集団や家畜・環境に対して重大な災害を起こす可能性はほとんどないもの。また、実験室内で曝露すると重篤な感染を起こす可能性はあるが、有効な治療法、予防法があり、他の個体への伝播の可能性が低いもの。

例) 食中毒を引き起こす細菌 (サルモネラ菌: *Salmonella enteritidis*, 腸炎ビブリオ: *Vibrio parahaemolyticus* など), インフルエンザウイルス

・BSL3 に分類される病原体

ヒトに感染すると重篤な疾病を起こすが、他の個体への伝播の可能性は低いもの。

例) 結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*), 狂犬病ウイルス, HIV ウイルス

・BSL4 に分類される病原体

ヒト又は動物に重篤な疾病を起こし、罹患者より他の個体への伝播が直接又は間接的に起こり易く、有効な治療法・予防法が確立されていないもの。

例) エボラ出血熱ウイルス, 天然痘ウイルス

調査対象とする病原性細菌は、「微生物によるバイオレメディエーション利用指針の解説」

(経済産業省・環境省) より, 日本細菌学会が作成しているバイオセーフティレベル(BSL) リストにおいて BSL2 以上に分類される細菌 (BSL2: 78 属, BSL3: 10 属, ただし, BSL は細菌種に対して設定されており, これらの細菌属は病原性を持つ細菌種と持たない細菌種の両方を含む) とする。

◆リアルタイム PCR による全細菌数の定量

全細菌数は, SYBR Green I を用いた蛍光検出系によるリアルタイム PCR により定量する。Fig. 8 にリアルタイム PCR の概要を示す。測定装置には LightCycler 1.0 (Roche) を用いる。使用したプライマーおよび反応サイクルは Table 6 および Table 7 に記す。検量線の作成には, 大腸菌 (*Escherichia coli*) の 16S rRNA 遺伝子の希釈系列を標準遺伝子として使用する。測定単位は遺伝子の単位の一つであるコピー(copy)で表される。なお, 各微生物の 16S rRNA 遺伝子のコピー数は平均 4 である (The Ribosomal RNA Database (<https://rrndb.umms.med.umich.edu/>))。

◆ リアルタイムPCR: DNAの増幅に伴って発色する蛍光を基に簡易的かつ迅速に定量を行う方法

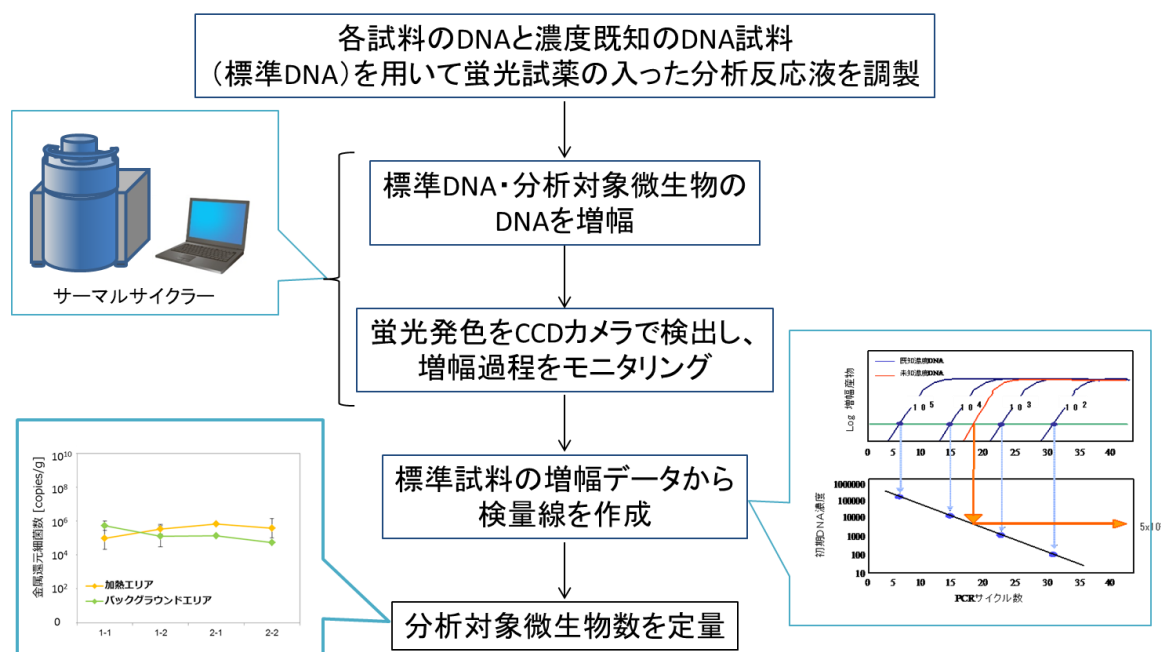


Fig. 8 リアルタイム PCR の概要

Table 6 リアルタイム PCR に使用したプライマー配列

プライマー名	配列 (5'→3')	標的遺伝子
341F	CCTACGGGAGGCAGCAG	16S rRNA遺伝子
R806	GGACTACHVGGGTWTCTAAT	

Table 7 リアルタイム PCR の反応条件

ステップ*	反応	温度 (°C)	時間
1	熱変性反応	95	30秒
2	熱変性反応	95	5秒
3	アニーリング反応	59	30秒
4	伸長反応	72	40秒

*ステップ2から4は45回の反復反応

2.4.2 微生物群集構造の調査方法

従来の研究では、微生物群集構造の変化を DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)法を用いたが、検出可能な微生物が限定されており、定量性に乏しいことや、試料間での比較が困難であることが課題として挙げられた。近年の分子生物学技術のめざましい発展により、次世代シーケンス解析が開発され、微生物群集構造解析の主流となっている。この手法では、1 試料あたり数千から十数万の微生物を検出することができ、高解像度で微生物群集構造の把握が可能である。また、微生物群集構造の定量的な評価および比較についても、DGGE 法より容易である。さらに、バイオレメディエーションなど微生物利用における生態系影響評価手法として、次世代シーケンサーを用いた微生物群集解析の分析方法標準手順書（2016 年）が、独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンターより発表されている。以上のことから、本研究では次世代シーケンス解析により微生物群集構造を調査することとした。

微生物群集構造（微生物の種類と検出割合）を明らかにするため、抽出 DNA を用いて次世代シーケンス解析を実施する。Fig. 9 に次世代シーケンス解析の概要を示す。次世代シーケンス解析は 1 つの試料につき 2 反復行うこととする。「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」での微生物群集の経時変化は、各試料の微生物群集の類似性を比較することにより、熱影響の有無を判断する。次世代シーケンス解析の各 OTU の代表配列およびリード

数をもとに、各試料間の類似性を算出する UniFrac 解析を行い、採取エリアおよび採取時期が異なるすべての試料間について微生物群集の非類似度（UniFrac 距離）を算出する。「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」の微生物群集に差があるか否かの判断は、ANOSIM 解析を行い評価する。以下に、次世代シーケンス解析による微生物群集の調査方法詳細手順を述べる。

◆ 次世代シーケンス解析: 複数試料の分析対象遺伝子配列を並列して網羅的に解読する手法

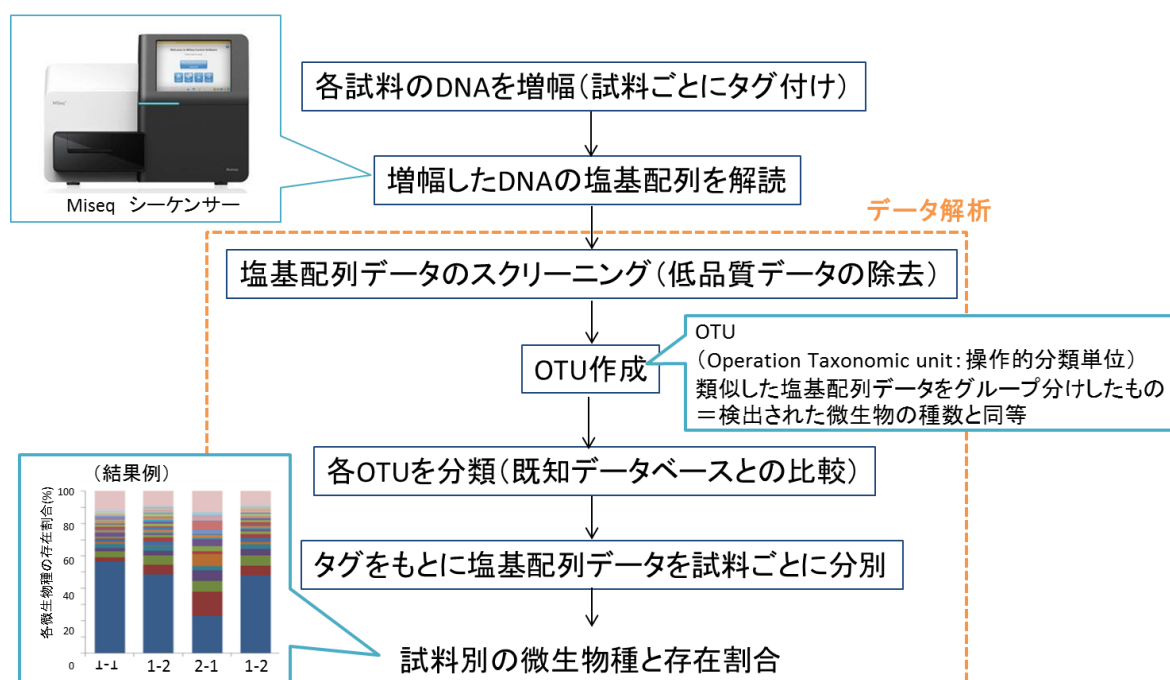


Fig. 9 次世代シーケンス解析の概要

◆ 次世代シーケンス解析

- ① 抽出した DNA を鋳型として、PCR により真正細菌の系統分類に広く使用されている 16S rRNA 遺伝子 V4V5 領域を増幅する。V4V5 領域の増幅に用いたプライマー配列と PCR 反応溶液は、それぞれ Table 8, Table 9 に記す。また、PCR 反応条件を Table 10 に示す。
- ② ①で得られた PCR 産物が、目的とするサイズであることを電気泳動によって確認したのち、不純物を除去するため MonoFAS DNA 精製キット（ジエールサイエンス）を用いて精製する。精製手順はキット付属のプロトコルに準じる。
- ③ 精製した PCR 産物を鋳型として、次世代シーケンス解析を実施するための PCR を行う。この PCR 反応では、得られた微生物データを試料ごとに仕分けするためのタグ（インデックス配列）を付加する。
- ④ 試料ごとに作成した PCR 産物は、次世代シーケンス用精製キット NucleoMag NGS

Clean-up size selection (MACHEREY-NAGEL) を用いて、余剰プライマーなどの不純物の除去と精製を行う。精製手順はキット付属のプロトコルに準じる。

- ⑤ 各試料の精製 PCR 産物を等モルとなるように混合し、次世代シーケンス解析用の試料（アンプリコンプール）を作成する。
- ⑥ 次世代シーケンサーMiSeq (Illumina)を用いてアンプリコンプール中の DNA 塩基配列を解読する。一度の解析によって得られる配列データ（以下、リード）は平均解析配列長 400 bp 程度、リード数は約 100 万である。なお、1 つのリードは、1 種の微生物に相当する。
- ⑦ 得られたリードはインデックス配列を指標として、試料ごとに仕分ける。
- ⑧ 配列の相同性が 97%以上の条件で一致する条件にてクラスタリング解析を行い OTU に分類する。微生物の分類では、通常 16S rRNA 遺伝子の塩基配列相同性 97 %以上で同種とみなす。したがって、クラスタリング解析で得られた OTU 数は試料中に存在する微生物種(phylogroup)の数に相当する。
- ⑨ 各 OTU の代表配列について、既存データベースとの比較により分類帰属を決定する。
- ⑩ 分類帰属ごとにデータを集計し、微生物群集の構造を決定する。

以上のようにして、「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」での微生物群集を得ることとする。両試料の微生物群集の経時変化は、UniFrac 解析により微生物群集の非類似度を算出し、ANOSIM により「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」の差を評価する。なお、UniFrac 解析と ANOSIM 解析については 2.4.4 で詳細を述べる。

Table 8 PCR 使用プライマー配列

プライマー	配列(5'-3')	標的遺伝子
515F	GTGCCAGCMGCCGCGGTAA	16S rRNA遺伝子
909R	CCCGYCAATTCMTTTRAGT	

Table 9 PCR 反応溶液組成

試薬	液量
10X Ex Taq bufer	5 µL
dNTP Mixture	4 µL
primer 515F (10 µM)	1 µL
primer 806R(10 µM)	1 µL
Template DNA	5 µL
Takara Ex Taq	0.25 µL
Water	33.75 µL

Table 10 PCR 反応サイクル

ステップ*	反応	温度 (°C)	時間
1	熱変性反応	94	2分
2	熱変性反応	94	30秒
3	アニーリング反応	50	30秒
4	伸長反応	72	30秒
5	伸長反応	72	5分

*ステップ2から4は25回の反復反応

2.4.3 物質循環に関わる微生物の調査

土壌中の物質循環に関連する化学成分および関与する微生物として、Table 11 に記す項目（化学成分 8 項目、関与する微生物 9 項目）について分析を行う。また、微生物群集全体が影響を受ける要因としてリン濃度および土壌 pH についても分析を行うものとする。「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」の物質循環に関わる微生物数および化学成分濃度に差異があるか否かの判断は、2.4.1 の（2）と同様に t 検定により評価する。

Table 11 土壌中の物質循環に関わる化学成分・微生物

元素	反応	化学成分	関与する微生物
鉄・マンガン	鉄・マンガン還元	鉄イオン，マンガンイオン	金属還元細菌
硫黄	硫酸還元，硫黄酸化	硫酸イオン	硫酸還元細菌，硫黄酸化細菌
炭素	メタン生成，メタン酸化	全炭素，全有機炭素	メタン生成菌，メタン酸化細菌
窒素	アンモニア酸化，硝酸還元，窒素固定	硝酸性窒素，アンモニア性窒素，全窒素	アンモニア酸化細菌，脱窒菌，硝酸還元細菌，窒素固定菌

(1) 物質循環に関わる微生物数の定量

物質循環に関わる微生物数は、Table 12 に記したように微生物ごとにリアルタイム PCR 法により定量する。検出系および測定装置は 2.4.1 の（2）に記したとおりである。検量線作成のため、Table 12 に記した分離菌株を用いて標準試料を作製する。標準試料は各分離菌株から DNA を抽出し、PCR により各遺伝子を増幅した後、増幅した遺伝子を精製、クローニングを行い作製する。

Table 12 物質循環に関わる微生物のリアルタイム PCR 条件

遺伝子名	検出対象細菌	プライマー名	配列	基準試料DNA (分離株)	PCR条件
16S rRNA	金属還元菌	Geobacteraceae-494F	AGGAAGCACCGGCTAACTCC	<i>Geobacter daltonii</i>	95°C1分→ (95°C10秒→62°C15秒→72°C40秒) × 40サイクル
		Geo-825R	TACCCGCTACACCTAGT		
		DSR-1F+	ACSCACTGGAAGCACGCCGG		
<i>dsr</i>	硫酸還元細菌	DSR-R	GTGGMRCCTGCAKRTTGG	<i>Desulfovibrio desulfuricans subsp. desulfuricans</i>	95°C30秒→ (95°C5秒→60°C10秒→72°C30秒) × 40サイクル
<i>soxB</i>	硫酸酸化細菌	soxB-710F	ATCGGYCAGGCCYTTYCCSTA	<i>Paracoccus denitrificans</i>	95°C3分→ (95°C5秒→55°C10秒→72°C20秒) × 40サイクル
		soxB-1184R+	MAVGWGCCGTTGAARTTGC		
<i>pmoA</i>	メタン酸化細菌	A189F	GGNGACTGGGACTTCTGG	<i>Methylomonas koyamae</i>	94°C1分→ (94°C25秒→65°C20秒→72°C45秒) × 40サイクル
		mb661	CCGGMGCAACGTCYTTACC		
<i>mcrA</i>	メタン生成菌	MLf	GGTGGTGTMGGATTCACACART	<i>Methanosarcina acetivorans</i>	94°C1分→ (94°C30秒→60°C[-1°C/サイクル]45秒→72°C30秒) × 5サイクル → (94°C30秒→55°C30秒→72°C30秒) × 40サイクル
		MLr	AYGCWACAGC		
			TTCATTGCRTAGTTWGGRTAGTT		
<i>amoA</i>	アンモニア酸化細菌	amoA-1F	GGGGTTTCTACTGGTGGT	<i>Nitrosomonas europaea</i>	95°C30秒→ (95°C10秒→54°C15秒→72°C40秒) × 40サイクル
		amoA-2R'	CCTCKGSAAAGCCTTCCTC		
			AAAGGYGGWATCGGYAARTCCAC		
<i>nifH</i>	窒素固定菌	nifH-F	CAC	<i>Azospirillum brasilense</i>	95°C15秒→ (95°C45秒→55°C45秒→72°C45秒) × 40サイクル
		nifH-R	TTGTTSGCSGCRATCATSGCCATCA		
			T		
<i>nosZ</i>	脱窒菌	nosZF	CGYTGTTCMTGACAGCCAG	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	94°C2分→ (94°C30秒→58°C[-1°C/サイクル]30秒→72°C1分) × 5サイクル → (94°C30秒→53°C30秒→72°C1分) × 40サイクル
		nosZ-1622R	CGSACCTTSTTGCCSTYGC		
<i>nirS</i>	硝酸還元菌	nirS-1F	CCTAYTGCCGCCR CART	<i>Paracoccus denitrificans</i>	94°C2分→ (94°C30秒→58°C[-1°C/サイクル]30秒→72°C30秒) × 5サイクル → (94°C30秒→53°C30秒→72°C30秒) × 40サイクル
		nirS-6R	CGTTGAACTTRCCGGT		
<i>nirK</i>	硝酸還元菌	nirK-1F	GGMATGGTKCCSTGGCA	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	95°C5分→ (95°C30秒→58°C40秒→72°C43秒) × 40サイクル
		nirK-5R	GCCTCGATCAGRTTIRTGG		

(2) 土壌の化学分析

◆ 土壌溶出溶液の調製

土壌溶出溶液は、環境庁告示 46 号試験(<http://www.env.go.jp/kijun/dojou.html>)に準じ、以下の手順に従って調製する。

- ① 採取した土壌から、中小礫、植物断片等を除き、土塊、団粒を粗砕した後、非金属製の 2 mm の目のふるいを通して得た土壌を十分混合する。
- ② 土壌試料 100 g に対し、純水 (pH 5.8 以上 6.3 以下に調整済み) を 1,000 mL を加えて混合し、試料液とする。
- ③ 調製した試料液を常温常圧 (20 °C, 1 気圧) で振とう機 (振とう回数 200 rpm, 振とう幅を 4 cm 以上 5 cm 以下に調整) を用いて、6 時間連続で振とうする。
- ④ 振とうした試料液を 10 分から 30 分間静置した後、3,000 rpm で 20 分間遠心分離を行う。上澄み液を孔径 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過し、土壌溶出溶液とする。

◆ 各化学成分の分析方法

Table 11 に記した微生物代謝に関与する化学成分について、土壌溶出溶液中の濃度を測定する。各化学成分の分析方法を Table 13 に記す。溶出溶液の濃度から、土壌 1 kg 中に含まれる各成分濃度を算出する。

Table 13 土壌溶出成分の分析方法

分析項目	分析方法	JIS	検出下限 [mg/L]
pH	ガラス電極法	K0102(2013)-12.1	-
アンモニア性窒素	流れ分析法	K0102(2013)-42.1および42.2	0.1
硝酸性窒素	流れ分析法	K0102(2013)-43.2.1	0.1
鉄（溶存態）	ICP法	K0102(2013)-57.4	0.01
マンガン（溶存態）	ICP法	K0102(2013)-56.4	0.01
有機態炭素	TOC法	K0102(2013)-22.1	1
全炭素	TOC法	K0102(2013)-22.1	1
窒素含有量	流れ分析法	K0102(2013)-45.6	0.2
リン含有量	流れ分析法	K0102(2013)-46.3.4	0.01
硫酸イオン	イオンクロマトグラフィー法	K0102(2013)-41.3	0.1

・アンダーライン：地中熱利用にあたってのガイドラインに掲載されたモニタリング項目

2.4.4 統計解析

上記で得られた各データについて、科学的に「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」とに差異があるか否かを判断するために、統計解析を実施する。病原性細菌、物質循環に関連する微生物と化学種については、t 検定を用いた。微生物群集構造については、UniFrac 解析による非類似度データをもとに ANOSIM 解析を行う。t 検定と ANOSIM 解析は統計解析ソフト「R」を、UniFrac 解析は菌叢解析用ソフトウェア「Mothur」を用いる。以下に、各手法の詳細を述べる。

◆ t 検定

「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」の分析値データの平均値および標準偏差から t 値を算出する。算出した t 値と棄却値（t 分布表より取得）を比較し、t 値の絶対値が棄却値より大きい場合、エリア間で有意な差があるとする。なお、棄却値は分析データ数と有意水準によって異なる。Fig. 10 に t 検定の概要を示す。

◆ t検定: 2つのグループ間の平均値の差が偶然誤差の範囲か否かを判断する検定方法

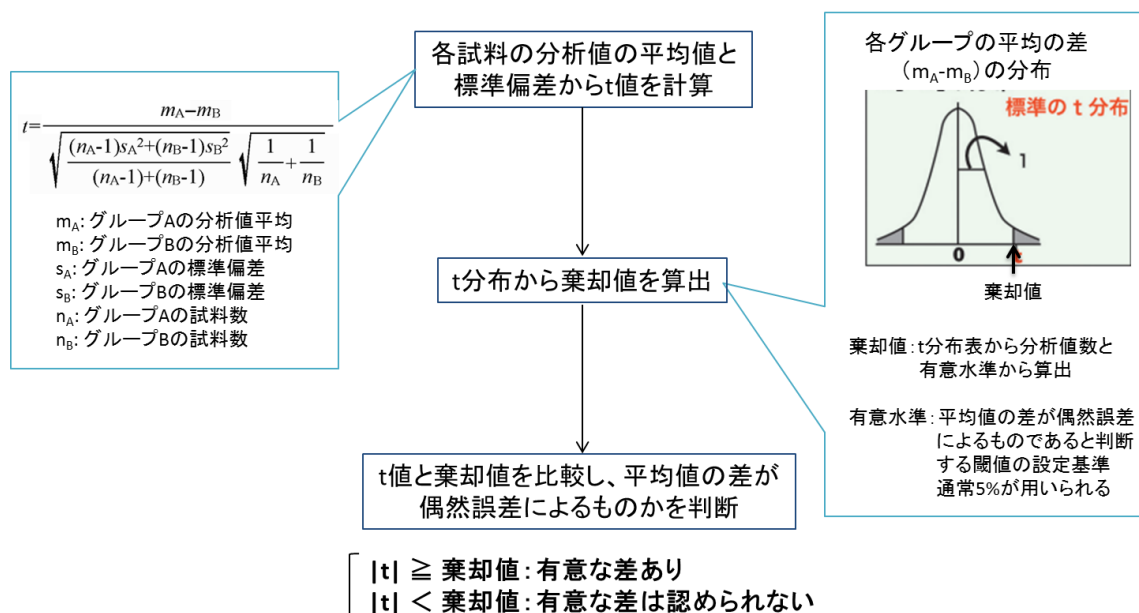


Fig. 10 t 検定の概要

◆ 微生物群集の類似性解析

- ① 各試料のリード数を合わせる標準化を行う。すなわち、次世代シーケンス解析において試料ごとに得られるリード数が異なるため、試料ごとにリードのランダムサンプリングをしてリード数を合わせる。
- ② すべての試料の OTU 代表配列をもとに系統樹を作成する。
- ③ ②で作成した系統樹および各 OTU に分類されたリード数データをもとに UniFrac 解析を行い、試料総当たりでの 2 試料間の非類似度 (UniFrac 距離) を算出する。非類似度とは、2 つの試料間における群集の類似性を表す指標である。非類似度は 0~1 の値をとり、2 つの試料の微生物群集が同一である場合は 0、完全に異なる細菌種で構成されている場合は 1 となる。UniFrac 解析の概要を Fig. 11 に示す。
- ④ ③で算出した非類似度データを用いた ANOSIM 解析を行い、地中熱利用による「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」における微生物群集の変化を評価する (Fig. 12)。非類似度データから、対応のない 2 群間で群集を比較するための R 値を計算し、その値が偶然によるものである確率 p を計算する。確率 p の計算には、試料データの並べ替え試験によって得られる R 分布の数値を使用する。確率 p が 0.05 以下である場合、エリア間で群集に有意な差があるとみなす。

◆ UniFrac解析:

系統樹(類縁関係)データをもとに各試料間の類似性をUniFrac距離(非類似度)として算出する

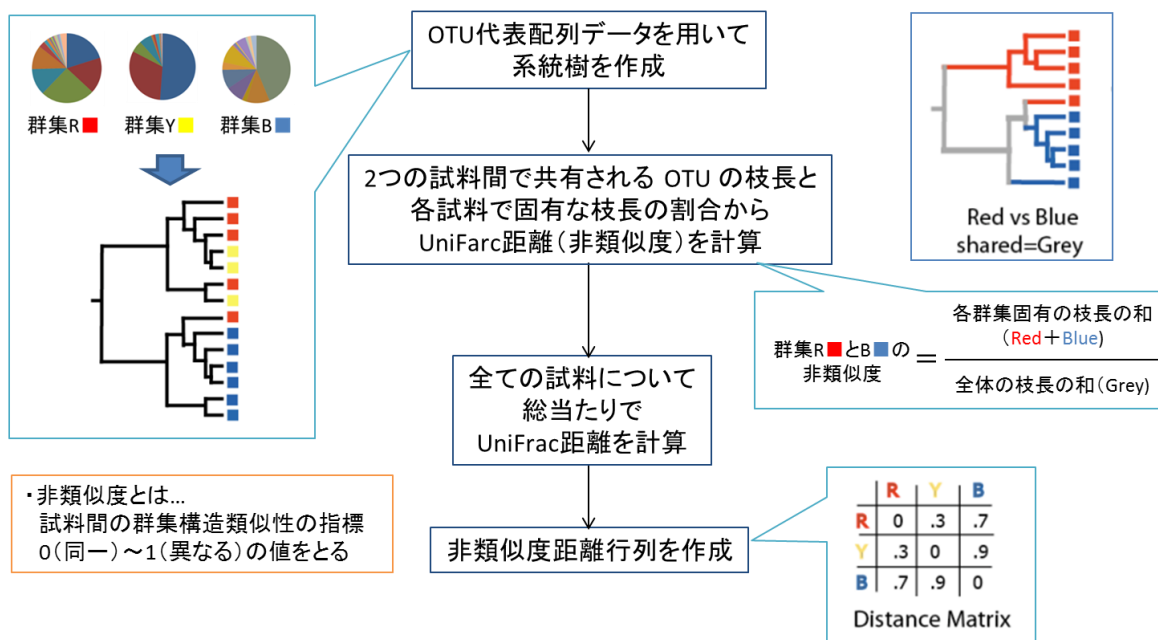


Fig. 11 UniFrac 解析の概要

◆ ANOSIM (analysis of similarity):

各試料間の類似性をもとに2つグループの差が偶然誤差の範囲か否かを判断する

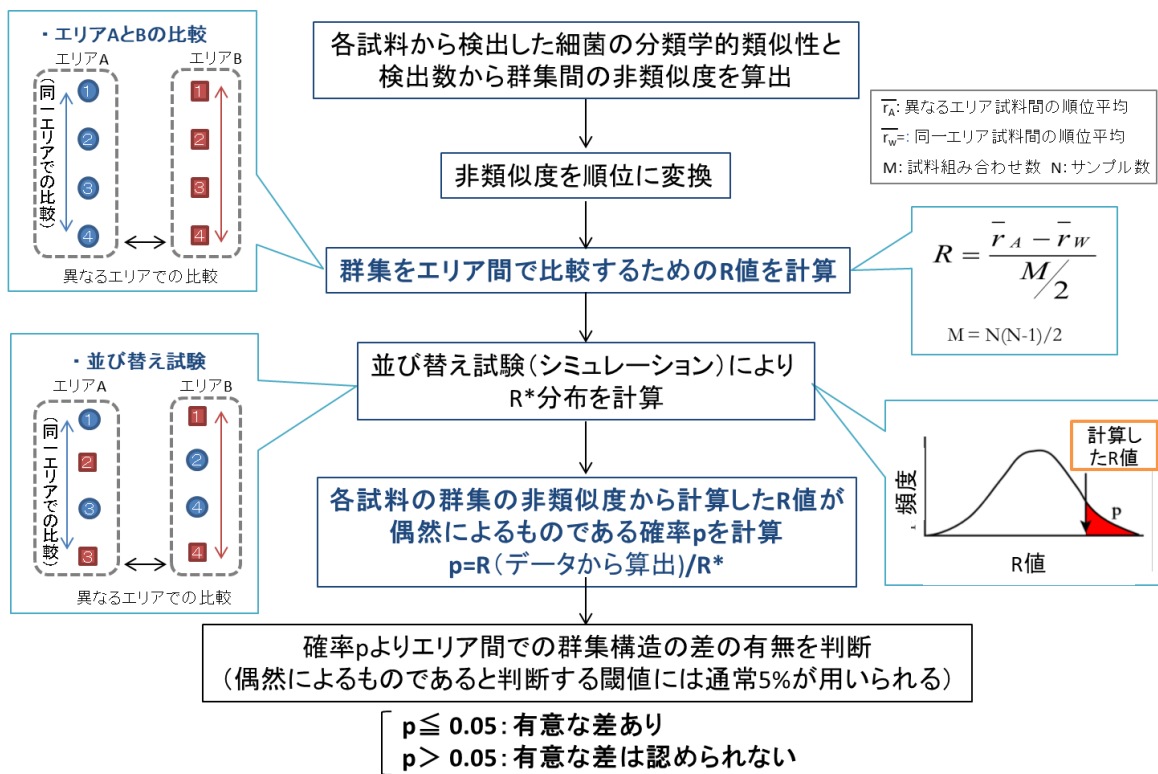


Fig. 12 ANOSIM の概要

第3章 水平型地中熱交換器のフィールド試験

3.1 実証フィールド概要

3.1.1 実証フィールドの選定

本研究における実証フィールドは国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構の敷地内（茨城県つくば市観音台2-1-6）にある、農村工学研究部門の研究所建物および隣接する屋外のスペースを利用した。HGHE を用いた GSHP システムのフィールド試験を行うため、熱交換器の設置スペースが確保できるような広い土地を保有していること、代表土質を的確にサンプリングするため、設置深度までの地質が均一であって微生物の生存が複雑でないなどの条件を満たすことから選定に至った。

まず、フィールド予定地の地質状況を確認した。土質が均質でなく混在している場合、的確なサンプリングができないことや、枯死植物等の有機物含量が多い土壌は微生物解析および化学分析結果に誤差が生じやすいおそれがある。そのため、対象予定地の深度 2 m（地中熱交換器の設置位置）までの地質が均一であることが本研究での前提条件であり、土壌の性質を予め確認する必要があった。簡易的に目視により確認した結果、深度 2.3 m までの地質状況は均一なロームの土質（火山灰質粘性土）であることが確認できた。一般的にローム層は均質であるため、微生物解析や化学分析の誤差は少ないことが予想される。なお、微生物および土壌化学分析においてはサンプリング後の適切な保管が必要となることから、分析場所の所在地から近く、利便性を有している。以上より本研究における実証フィールドを決定した。

3.1.2 実証フィールドの地域特性

実証フィールドが位置するつくば市は関東平野の北東部、茨城県の南西部に位置し、北に筑波山を擁し、東には霞ヶ浦が存在する。また、筑波山地域を除く市域の大部分は常陸台地－稲敷台地に分類され（Fig. 13）、標高 20～30 m の関東ローム層に覆われた平坦な地形であり、小貝川、桜川、谷田川、西谷田川などの河川が北西から南東へ流れている。

気候は、年間平均気温が 13.8 °C と温暖な地域であり、年間降雨量は 1,282.9 mm（アメダス平年値；つくば）である。また、降雪は年に 2～3 回程度で、特に冬季に吹く「筑波おろし」と呼ばれる乾いた冷たい風は、筑波山南部地域の特徴である。（つくば市 HP：<https://www.city.tsukuba.lg.jp/shisei/joho/profile/1002187.html>）

稲敷台地を含む周辺の地質は Fig. 14 に示すとおり、表層が新期関東ローム層により厚く覆われており、続いて難透水性の粘土層である常総層が広く分布している。

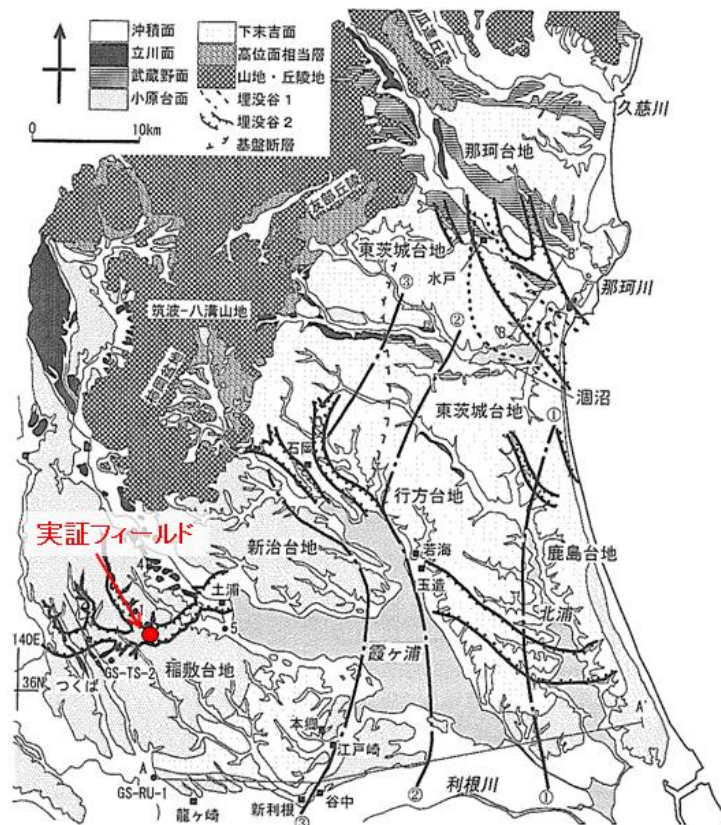


図 4.3.23 常陸台地の地形面区分図 (吉岡ほか, 2001; 宇野沢ほか, 1982; 早川, 2000 を編集)
 ボーリング位置●は宇野沢ほか (1988), 黒田ほか (1985) による。埋没谷 1 は見和層中部層, 埋没谷 2 は見和層下部層もしくは清川層が埋積する (坂本ほか, 1981; 宇野沢ほか, 1988; 青木・馬場, 1979)。基盤の推定断層は坂本ほか (1981) による。A-A' は図 4.3.24 の断面線, B-B' は図 4.3.27 の断面線。①, ②, ③はそれぞれ藪層下部層, 藪層上部層, 上泉層 (笠神層) の分布の西縁を示す。

Fig. 13 常陸台地の地形面区分図 (日本地質学会, 2008)

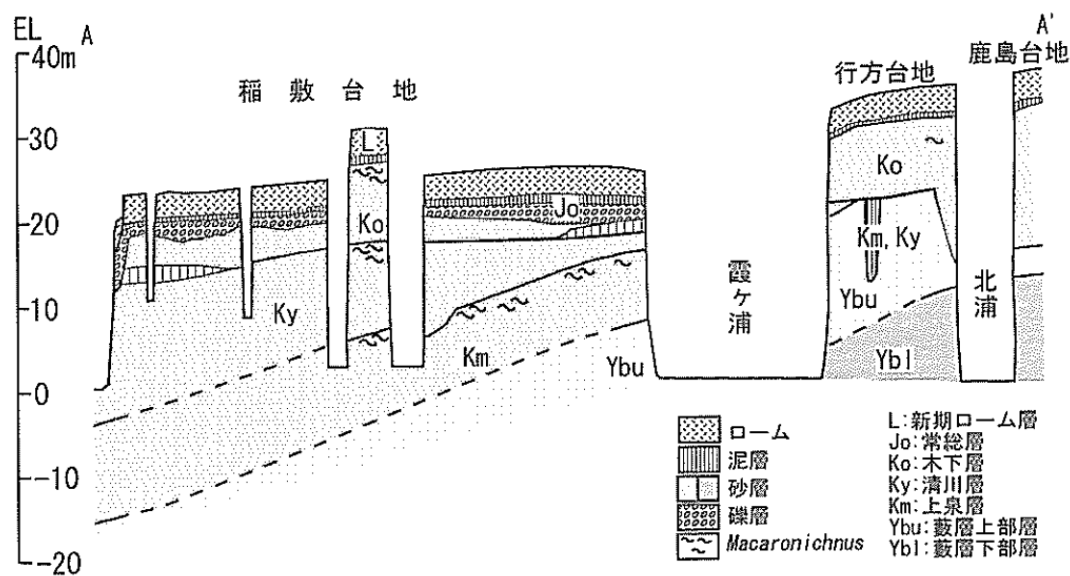


図 4.3.24 稲敷台地～鹿島台地の東西模式断面図

Fig. 14 稲敷台地～鹿島大地の東西模式断面図 (日本地質学会, 2008)

3.1.3 対象土壌の一般的性質

本実証フィールドにおいて、HGHE を深度 2.0 m に設置し、熱交換器設置周辺の土壌をサンプリングし地下微生物および化学成分を調査するため、対象となる地質は深度 2 m までの土壌である。事前調査として予定地の地質状況を確認した結果、深度 2.3 m までは均一なローム層であった。国内におけるローム層は“火山灰質粘性土”に分類され、この火山灰質粘性土は火山灰または火山レキなどの火山噴出物が堆積後次第に風化し、その一部または大部分が粘土化したものである。我が国の火山灰質粘性土は古来より農業生産物の生産土壌として、またその他人間生活に密着した存在である（高速道路調査会、1973）。

3.1.4 フィールド周辺の地下水位

実証フィールド周辺の地下水位について、周辺既存井を調べたところ、Fig. 15 に示すとおり 3 か所の既存井が存在した。これらの既存井についての情報を Table 14 にまとめた。観測井 A はフィールド地点から約 1.2 km 離れた所に位置し、通年水位観測している井戸であり、地下水位は平均して GL-2~3 m 程度であった。一方、フィールドに最も近い観測井 B（フィールド地点からの距離 50 m）および観測井 C（フィールド地点からの距離 300 m）の地下水位はそれぞれ GL-6.45 m, GL-7~8 m であった。これらから実証フィールド近傍の地下水位は本研究の対象深度に影響しない程度であると考ええる。



Fig. 15 実証フィールド周辺の既存井位置図

Table 14 周辺の既存井情報一覧

既存井	井戸深度	フィールドからの距離	地下水位	地質情報
観測井 A	GL-10m	1,200m	GL-2～3m, 降雨で一時的に GL-1m へ上昇	GL-4m 程度まではロームまたは凝灰質粘土, 以深は細砂
観測井 B	GL-7.5m	50m	GL-6.45m (2015/11/7 測定)	GL-0.95～3.0m ローム, 6.45m まで粘土, 以深は細砂
観測井 C	不明	300m	GL-8.0m	不明

※観測井 A：農水省委託プロジェクト研究「地域資源を活用した再生可能エネルギーの生産・利用のためのプロジェクト」による水位観測中データより 提供資料参照（内田洋平氏）

※観測井 B：農工研 施設工学研究領域 広域防災 所有井戸，地質柱状図提供資料参照（井上敬資氏）

※観測井 C：農工研 資源循環工学研究領域 水資源工学 所有井戸，提供資料参照（石田聡氏）

3.1.5 農作物の生育と地中温度の関係

一般的に HGHE は、水位より上の不飽和層の地中に設置されることが多いため、飽和層を対象にした垂直型の熱交換器に比べ、蓄熱性が高い。さらに、敷設深度も浅く（一般的には深度 1～2 m 程度）、人間の生活圏や植物・農作物の育成環境に最も近い位置である。本項では農作物の生育に影響を及ぼす土壌範囲および地中温度の関係性について述べる。

農作物において地温は根の伸長や根系の形成に直接影響を及ぼす。また、地温が高くなると有機物の分解が早くなり、多くの窒素が土壌中に放出され養分が供給されるなど、養水分の吸収に関連する。さらに、土壌微生物の活動を介して間接的に生育に影響を及ぼす。その作物根が相当程度自由に貫入できる土層（有効土層）厚さが、水田・草地等で 50 cm 以上、樹園地で 1 m 以上あれば I 等級耕地と見なされるとされている（Table 15）。また、主要な畑作物、野菜の有効根群域深さも 40～100 cm であることから、作物に影響する深さは地表面から 50～100 cm が目安と考えられる（Table 16）。

Table 15 農業生産における土層の種類と概要（新潟県，2005）

用 語	概 要
有効土層	作物根がかなり自由に貫入できる土層を有効土層といい、硬度計によるち密度測定値が29mm以上を示す厚さ10cm以上の土層、極端な礫層及び地下水面があれば、その上の層までを有効土層という。地表下50cm以内に存在する耕盤など有効土層を制限している土層を心土耕等によって改良し、根が貫入できる層になるとその層も有効土層と考える。 水田、草地等では、有効土層50cm以上、樹園地では1m以上あれば良好なⅠ等級耕地と見なされる。
作土層	作土層は土壌の最上位層に位置し、耕うんや施肥、かん水など作物生産のため人間が土層に影響を強く与えている土層である。 また、耕土層ともいう。
耕土層	作土層と同義語
心土層	作土層より下の土層の総称で、一般に心土層は作土層よりち密で腐植や有機物が少なく、養分も乏しい、しかし、作土層から溶脱した養分が集積し得る場合は、肥沃化した心土となることがあり、その場合、天地返しなどで作土層へ養分を供給することが可能となる。
すき床層	作土層直下のすき底に当たる部分で、機械の大型化やロータリー耕により更にち密化する傾向にあり、すき床層が浅層化しており問題となる。
耕盤	耕盤とは、植物根の伸長を著しく阻害し、透水性を低下させているち密層であり、土壌硬度計のち密度が29mm以上で厚さ10cm以上の層をいう。大型機械の踏圧や鉄や粘土の集積により発達する。

Table 16 主要な畑作物・野菜の有効根群域深さ（青森県，2008）

項 目	小 麦	なたね	ばれいしょ	大豆・小豆
改良深度、作土の深さcm	25	25	25	25
主要根群域の深さcm	25	30	25	25
有効根群域の深さcm	60	60	40	40
有効根群域の最高ち密度 mm以下	22	22	18	22
地下水位cm	80	80	60	60
pF1.5の気相率%	15	15	15	20

（青森県「土壌及び作物体分析の手引」（平成4年編）から引用）

項 目	す い か メ ロ ン	きゅうり ト マ ト	スイート コ ー ン	だいこん にんじん	ながいも ご ぼ う	にんにく	はくさい キャベツ レ タ ス
改良深度、作土の深さcm	20～40	20～40	20～30	30～40	30～40	20～30	20～30
主要根群域の深さcm	40	40	30	40	50	30	30
有効根群域の深さcm	50	50	50	50～100	50～100	50	50
有効根群域の最高ち密度 mm以下	20	20	20	15	15	20	20
地下水位cm	60	60	60	100	100	60	60
pF1.5の気相率%	30	30	20	20	20	20	20

（青森県「土壌及び作物体分析の手引」（平成4年編）から引用）

作物の好適地温は、一般的に昼間の最適気温と夜間最適気温の平均値に近い（Table 17）。自然状態では好適地温は気温と比例的であるので、露地栽培では気温が好適温度に維持される栽培期間であれば地温確保に神経を使うことはなく、せいぜい人為的な制御は水田での湛水水温管理や畑のマルチング程度である。一方、施設園芸においては気温の制御を積極的に行うのに合わせて地温の制御も行われる。例えば、アルストロメリアでは冷水の地中配管による夏季の地中冷却栽培が広く普及している。また、アスパラガスでは温湯地中配管による伏せ込み促成栽培技術で生育促進効果をあげている。配管深さはアルストロメリアで 5～20 cm、アスパラガスで 60 cm といったところである。なお、イチゴやガーベラでは地際の生長点の加温や冷却により増収効果をあげているが、この場合は地中ではなく地表面付近での温度が重要である。

このように、施設園芸では作目によっては根群域の地温制御により大きな生育効果が認められ、栽培に積極的に利用されている。露地栽培では施設栽培のような積極的な地温制御は規模や経費面から困難なこともあり、気温と地温が大きく異なる条件での生育調査はほとんどなされていない。今後、水田・草地や樹園地等農地において HGHE による浅部土壌の採放熱を行う場合は気温と地温が大きく異なる状況が発生する可能性があるため、有効根群域の地温を作物好適地温や生育限界地温との関係から注視しておく必要があると考えられる（Table 18）。ただし、気温と地温が大きく異なる条件下での生育応答や好適地温、栽培限界地温は不明であり、気温と根域地温が大きく異なる状況が発生することはこれまで想定されていない。

Table 17 野菜の種類別生育適温一覧（三原，1980）

表 9.7 野菜の種類別生育適温

種 類	昼間気温	夜間気温		地 温
	適 温	適 温	最低維持温度	適 温
	°C	°C	°C	°C
ト マ ト	25～20	10～8	5	18～15
ナ ス	28～23	18～13	10	20～18
ビーマン	30～25	20～18	12	20～18
キュウリ	28～23	15～12	10	20～18
スイカ	28～23	18～13	10	20～18
メロン	30～25	20～18	15	20～18
カボチャ	23～18	15～10	8	18～15
イチゴ	23～18	7～5	3	18～15

（注） トマトは品種により夜間適温が上記に +5～+7
あり。キュウリは白いば系

Table 18 野菜の実用的最低地温（三原，1980）

表 9.9 実用的最低地温 °C（三原 1970）

ト	マ	ト (13)~ 15	キュウリ(白)	15 ~ (18)
ナ		ス 15 ~ (18)	〃 (黒)	(15)~ 18
ピ	ー	マン (15)~ 18	温室メロン	(15)~ 23
イ	チ	ゴ 13 ~ (18)	セルリー	(13)

3.2 フィールド試験設備

Fig. 16 に屋外施設の設置平面図・断面図を示す。建物近傍の空き地を利用し、深度 2 m 地点に総延長 80 m (10 m × 4 列 × 2 段) の HGHE (スリンキータイプ、コイル径 ϕ 800 mm, 重複幅 200 mm, 水道用二層管第 1 種 (25 A)) を設置した。HGHE は 2 段重ねた状態で均一に採放熱されるように半円ずらし、パイプ内の熱媒体はプロピレングリコール 30 wt% とした。また建物内には一般家庭用を想定した最小規模の地中熱源ヒートポンプ (定格冷房出力 5 kW, 定格暖房出力 4 kW) を配置し、ヒートポンプの出力に見合う規模の HGHE と連結し約 2 年間の冷暖房運転を行った。冷暖房運転は日中や夜間の運転を想定し、断続的に 3 ヶ月ずつ実施した。

HGHE の設置場所は加熱 (採熱・放熱) エリアと称し、地盤温度や土壤微生物評価の比較対象として HGHE による加熱の影響がない場所をバックグラウンドエリアとした。土壤微生物の評価では、それぞれのエリアから「熱影響ありの試料」と「熱影響なしの試料」を同時にサンプリングし比較することにより、加熱エリアの変化を相対的に評価する指標とする。加熱エリアは 5 m 幅 × 10 m 長 × 2 m 深の範囲であり、均質な土壤条件に加え、熱影響もなるべく均一にする必要があるため、加熱エリア内が均一な温度分布となるように上段・下段のコイルは対向流として配管した。なお、埋め戻し後のボーリング工事を想定し、サンプリング箇所をあらかじめ決定しておき、ボーリング時のコイルの破損を避けるため設置間隔を考慮した。コイル列の設置間隔はサンプリング地点 (Fig. 16 平面図の 1~2 列目間および 3~4 列目間) で 600~700 mm, 2~3 列目間は 50~70 mm 程度である。また、加熱エリアとバックグラウンドエリアの間隔を 3 m 以上離し、熱干渉はないものとして設置した。掘削工事の際にも深度 2 m までの掘削断面は均質な地層であることを確認している。設置後は深度 1~2 m と植生のある表層部を除く 1 m までを区別しておいた土壌をなるべく均一になるように可能な限り攪拌して埋め戻した。また、地中熱交換効率の向上および締め固めのため、途中で散水した。一方、バックグラウンドエリアは 5 m 幅 × 3 m 長 × 2 m 深の範囲を掘削し、加熱エリアの比較対象としての機能を持たせるため、同様に攪拌し埋め戻した。

フィールド内に設置した温度センサーは、加熱エリアとバックグラウンドエリアの深度毎の比較対象として、それぞれ記号 A および B で表現した。これらの温度センサーは深度 0.5 ～ 2.5 m まで 0.5 m 間隔で設置し (A-0.5～A-2.5, B-0.5～B-2.5 に対応), その他にシミュレーションモデル構築用の温度センサーとして、加熱エリアの深度 1.5 m 地点の両端に C-1.5 および D-1.5 を設置した。さらにサンプリング地点の温度変化状況を把握するため、コイル間の距離が等しい地点に E-2.0 を設置した。

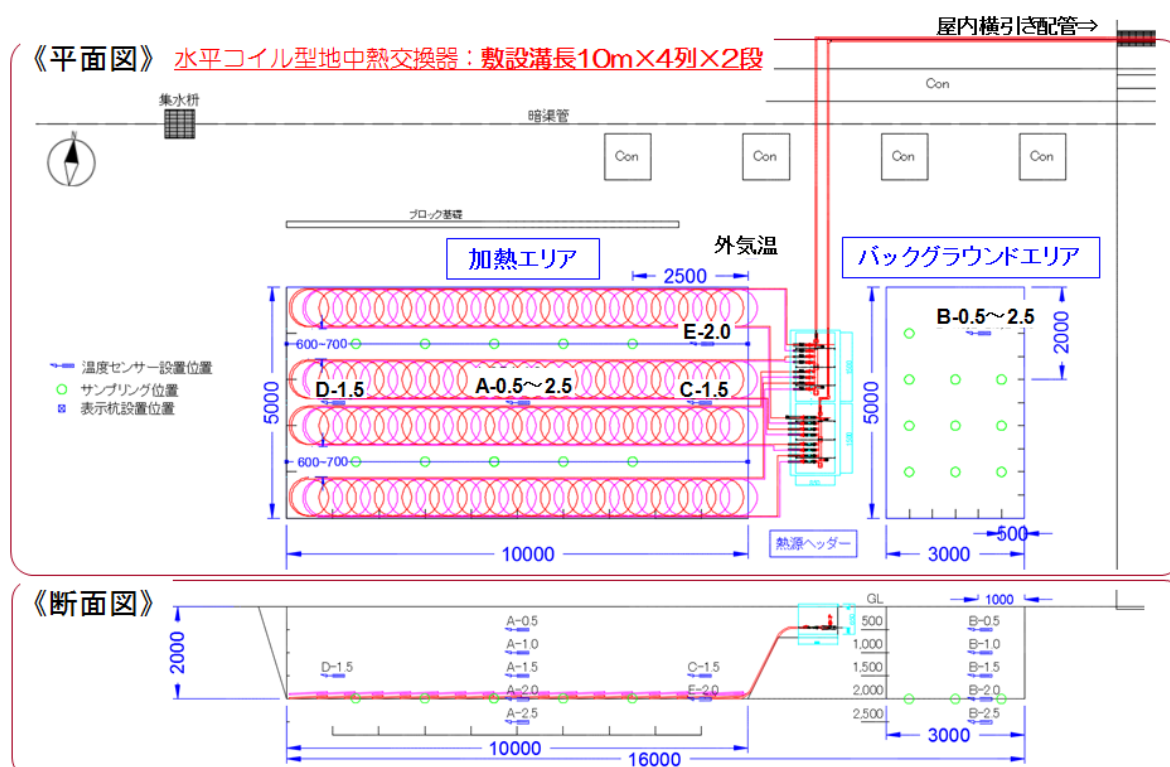


Fig. 16 実証フィールドにおける屋外設備概念図

Fig. 17 に実証フィールドの屋内施設概念図を示す。屋内に室外機・室内機を設置し、横引き配管内に地中熱交換器入口・出口温度および循環流量センサーを設置した。また、エアコンの吹出し口に温度センサーを取り付け、暖房・冷房時の吹き出し温度状況を確認することとした。なお、2 次側の屋内施設は現在倉庫として使用されており 400 m² 程度と非常に広い空間である。

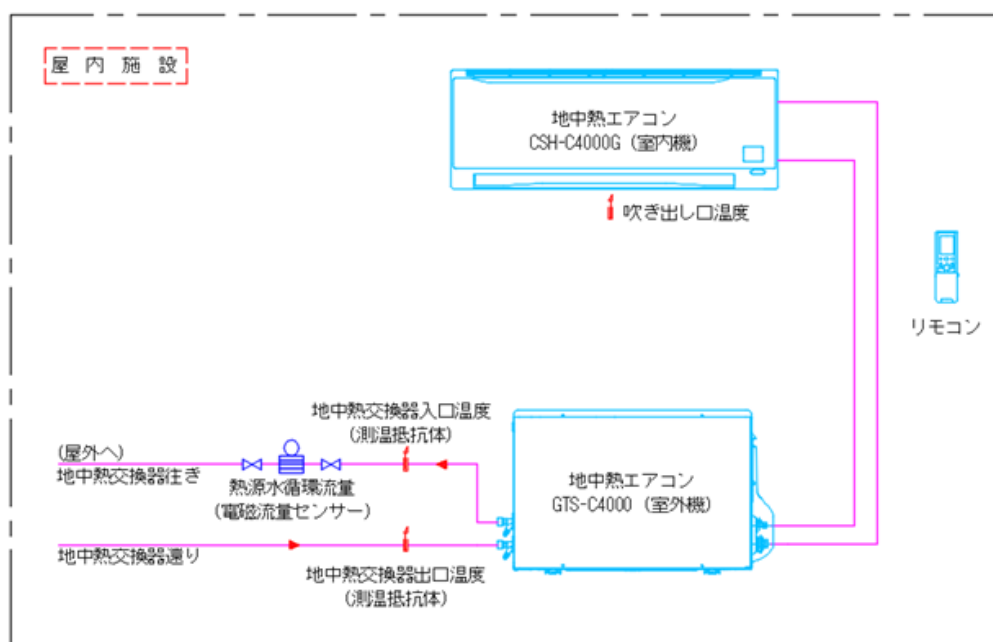


Fig. 17 実証フィールドにおける屋内設備概念図

Fig. 18 および Fig. 19 には現地施工状況を示す。温度センサーおよびコイル埋設時には設置箇所を都度確認し、破損や断線のないよう配慮しながら施工した。屋外のヘッダー部からの屋内のヒートポンプまでの横引き配管距離は 20 m 程度である。横引き配管ルートはほぼ地上部となることから、保温を施して対応した。また、配管内流体に不凍液を使用した理由としては、実証フィールド周辺の気象状況と横引き配管が地上や地中浅部であることを考慮して凍結防止を目的としたためである。施工後の加熱エリアおよびバックグラウンドエリアの状況を Fig. 20 に示す。



Fig. 18 実証フィールド構築状況



Fig. 19 HGHE 加工・敷設状況

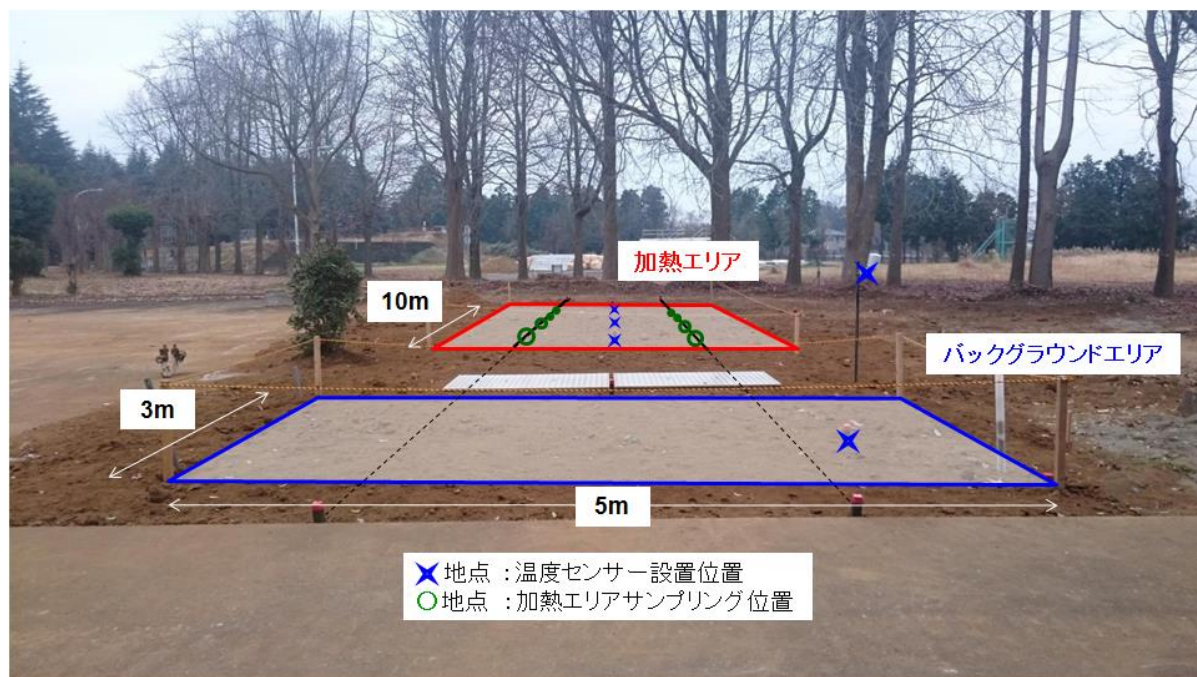


Fig. 20 実証フィールド施工後状況

以下に実証フィールド設備の概要をまとめる。

【実証フィールド設備概要】

◆ 地中熱ヒートポンプエアコン（コロナ社製）

型式： GTS-C4000（室外ユニット）

CSH-C4000G（室内ユニット）

定格能力：暖房 5.0 kW，冷房 4.0 kW

定格消費電力：暖房 1.389 kW，冷房 1.0 kW

◆ 熱源容量（加熱エリア）

水平コイル型地中熱交換器：敷設溝長さ約 80 m = 10m × 4 列 × 2 段

熱交換器敷設位置：深度 2 m

熱交換器敷設面積：100 m³ = 5 m × 10 m × 2 m (W × L × H)

地中熱交換器 材質：水道用二層管第 1 種 (PE50)

サイズ：25A (外径 0.034 m，内径 0.024 m)

コイル仕様 コイル径：φ 0.8 m

重複部：0.2 m

◆ システムのモニタリング

モニタリングデータは遠隔監視にて運転状況や異常が随時わかるように設定した。

Table 19 に示した各温度測定点は全て白金測温抵抗体（Pt100，クラス A）を使用した。

Table 19 本研究におけるモニタリング項目一覧

CH	呼称No.	測定箇所	備考
CH1	INLET	熱交換器入口温度	=ヒートポンプ出口温度
CH2	OUTLET	熱交換器出口温度	=ヒートポンプ入口温度
CH3	A-0.5	加熱エリア深度0.5m	加熱エリア中心部(2.5m×5m地点)に設置
CH4	A-1.0	加熱エリア深度1.0m	〃
CH5	A-1.5	加熱エリア深度1.5m	〃
CH6	A-2.0	加熱エリア深度2.0m	〃
CH7	A-2.5	加熱エリア深度2.5m	〃
CH8	C-1.5	加熱エリア深度1.5m	加熱エリア(2.5m×1.0m:手前側)に設置。シミュレーション用
CH9	D-1.5	加熱エリア深度1.5m	加熱エリア(2.5m×9.0m:奥側)に設置。シミュレーション用
CH10	B-0.5	バックグラウンドエリア深度0.5m	バックグラウンドエリア(1.0m×1.0m地点)に設置
CH11	B-1.0	バックグラウンドエリア深度1.0m	〃
CH12	B-1.5	バックグラウンドエリア深度1.5m	〃
CH13	B-2.0	バックグラウンドエリア深度2.0m	〃
CH14	B-2.5	バックグラウンドエリア深度2.5m	〃
CH15	E-2.0	加熱エリア深度2.0m (追加参考)	加熱エリア(サンプリングスペース)に設置。熱伝導確認用
CH16	OUTSIDE	外気温	フィールドエリアに設置
CH17	-	-	
CH18	FLOW RATE	循環流量	
CH19	BLOW	エアコン吹出し温度	
CH20	-	-	
PULSE1	-	積算流量	参考値
PULSE2	-	積算消費電力量	ヒートポンプ・循環ポンプの合計値

3.3 フィールド試験計画

本研究のフィールド試験は、地中を加熱することで地盤の熱変動による影響の有無を確認することが目的である。ただし、GSHP システムが省エネルギー性能に優れる状態を保持した運用が前提であることから、熱源水温度（地中熱交換器出口温度）が外気温よりも夏季（冷房時）は低く、冬季（暖房時）は高い状態を保つ必要がある。そのため、まずは1日8～10時間程度を想定し、温度状況を確認しながら状況に応じて柔軟に対応するものとした。暖房運転より開始し、1月から3か月間行った後、3か月の回復期間を設け（4月～6月）、冷房運転を7月から同様に3か月間行った後、3か月間の回復期間（10月～12月）とした1年間の試験計画とした。

3.4 浅部地盤の温度モニタリング

地下浅部の地盤温度を長期的に測定した事例は少なく、本研究では比較対象のバックグラウンドエリアにおいて、表層が裸地の状態で日射や降雨等の気候の影響を受ける深度 0.5 m から 2.5 m までの 0.5 m 毎の地盤温度（順に B-0.5, B-1.0, B-1.5, B-2.0, B-2.5 と称す）を測定し、深度による変化の違いを考察した。計測を開始した 2015 年 12 月 20 日から 2018 年 4 月 8 日まで（840 日間）の日平均の地盤温度、当該フィールド内で測定した外気温（日平均）および降水量（アメダス「つくば（館野）」）を Fig. 21 に示す。

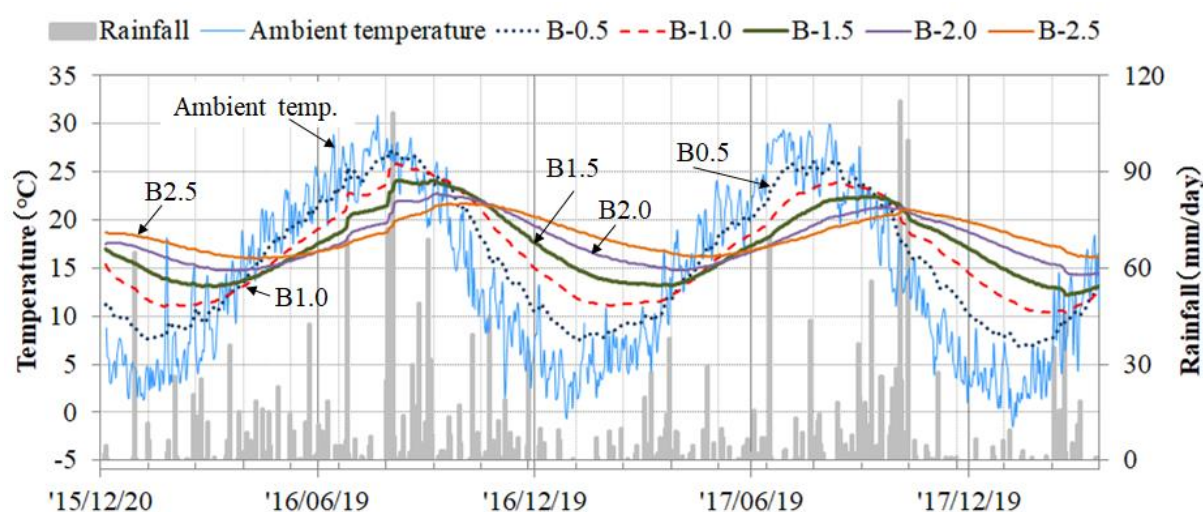


Fig. 21 各深度の浅部地盤温度と降水量との関係

Fig. 21 によると、まず降水量が認められた時点で地盤温度が上昇・低下している状況が見られた。地盤温度は地面に近い地点を除いては緩やかな曲線を描くが、特に夏期の降水量が多い時期に温度変動が顕著であり、例えば 2016 年 8 月 16 日頃の降水量が多い日は、深度 2.5 m までの全深度で温度上昇が確認された。これは温度の高い降雨が地中へ浸透した影響であると推定する。

次に、地盤温度の年変化について考察する。各深度の地盤温度は深度方向に伴い温度変化の振幅が徐々に小さくなり、かつ最大・最小値のピークが遅れる事象が見られた。測定期間中の外気温および各深度の最大・最小値を Table 20 に示す。外気温は日平均で $-0.7 \sim 30.9^{\circ}\text{C}$ （温度差 $\Delta T = 31.6^{\circ}\text{C}$ ）の範囲で推移している一方で、深度 2.0 m の B-2.0 では $14.8 \sim 22.8^{\circ}\text{C}$ （ $\Delta T = 8.0^{\circ}\text{C}$ ）と小さい振幅であり、年間を通して一定である深度 10 m 以深に比べれば変動はあるものの、安定した推移を示していた。また、極値の遅れ（位相差のずれ）は夏期に外気温最高値を記録した日（2016 年 8 月 9 日）から 50 日後に深度 2.0 m で最高値を迎える（ 22.8°C ）が、冬期にいたっては外気温最低値の記録日（2017 年 1 月 15 日）から 88 日後に

深度 2.0m の最低値 (14.8℃) となった。さらに B-2.0 より 0.5m 深い B-2.5 での温度変化は 16.2～21.7℃ ($\Delta T=5.5^\circ\text{C}$) であり、極値の遅れは夏期で 58 日、冬期で 103 日であった。地盤温度は、外気温の影響により各深度に到達するまでの時間が遅れて観測されることは明らかであるが、夏期と冬期で極値の遅れの日数が異なる結果については、先述した降雨浸透による地盤温度の上昇が大きく影響していると推定される。本来、外気温と地盤温度は地表面の条件が一時的に変わるなどの外的要因（他には降雪による地表面被覆の変化等）がない限り相関関係は保たれるため、季節に依存するものではない。夏期に限らず、他の季節でも著しい降雨量が認められれば温度変化が促進され、極値の遅れが生じると推定される。

極値が遅れる期間は地表面の状態により様々であると考えられるが、いずれにしても外気温に比べて浅部地盤の温度変化は小さく、その極値は外気温の極値とは時間的に大きく異なるため、その時間差を活かした熱利用が期待できる。GSHP システムの導入を考えた場合、浅部地盤であっても十分に熱利用できる可能性があり、これらの特性を把握した設計は、低コストでの導入が可能な GSHP システムの熱源になりうると考えられる。

Table 20 外気温および各深度の最高・最低温度と温度差

Unit(°C)					
2016	Date	T_{min}	Date	T_{max}	delta T
Ambient temp	2016/01/25	1.3	2016/08/09	30.9	29.6
B-0.5	2016/01/27	7.6	2016/08/19	27.2	19.6
B-1.0	2016/02/11	11.0	2016/08/25	25.9	14.9
B-1.5	2016/03/14	13.1	2016/08/25	24.1	11.0
B-2.0	2016/04/12	14.7	2016/09/28	22.8	8.1
B-2.5	2016/04/20	16.0	2016/10/06	21.7	5.7
2017	Date	T_{min}	Date	T_{max}	delta T
Ambient temp	2017/01/15	-0.7	2017/08/24	30.0	30.7
B-0.5	2017/01/26	7.5	2017/08/26	26.0	18.5
B-1.0	2017/02/19	11.1	2017/08/29	23.9	12.8
B-1.5	2017/03/28	13.2	2017/09/19	22.4	9.2
B-2.0	2017/04/13	14.8	2017/10/10	21.4	6.6
B-2.5	2017/04/28	16.2	2017/10/23	21.1	4.9

なお、実証フィールドにおけるバックグラウンド温度の妥当性については、同敷地内で常時観測されている所内観測データ（深度 0.5 m および 1.0 m のみ観測）を引用し、本研究の B-0.5 および B-1.0 の測定値と比較した。約 2 年間のモニタリングデータを比較した結果、Fig. 22 に示すとおりほぼ類似する傾向が見られたことから有効なデータであると判断した。ただし、夏期のデータに多少の温度差が生じている箇所は、日射の影響が大きくなることによる観測地点周辺環境の違いと推測する。

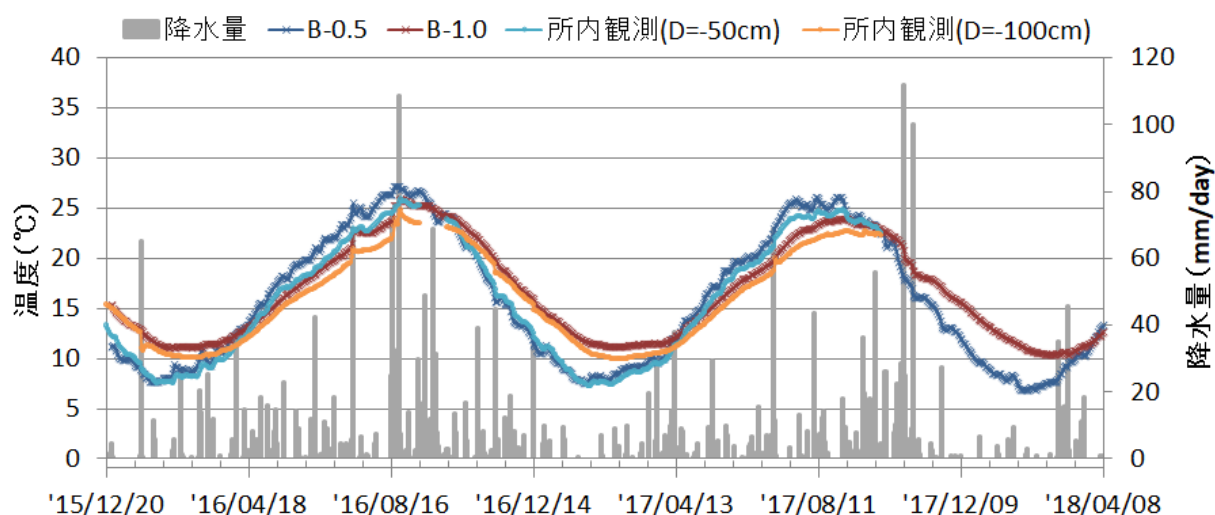


Fig. 22 深度 0.5m および 1.0m 地点における地盤温度の比較

HGHE を利用する場合の多くは不飽和層への設置となるため、冷暖房運転を繰り返す際に本来の地盤温度に比べて当初の温度まで回復できない事象、つまり地中蓄熱の状態になることは多くあると考える。その事象の基準となる本来の浅部地盤温度について、冷暖房運転それぞれの運転開始前時点のバックグラウンド温度は、降雨などの短期的な外的要因がない限り変わらないことを確認した。バックグラウンドエリアの深度 5 地点（B-0.5～B-2.5）における運転開始前（ n 年）温度とその 1 年後の運転開始前（ $n+1$ 年）温度の相関を Fig. 23 に示す。Fig. 23 によると、1 年後の運転開始前にはほぼ元の状態（ $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以内）に戻っていることが示されたため、これを比較対象の地盤温度とした。

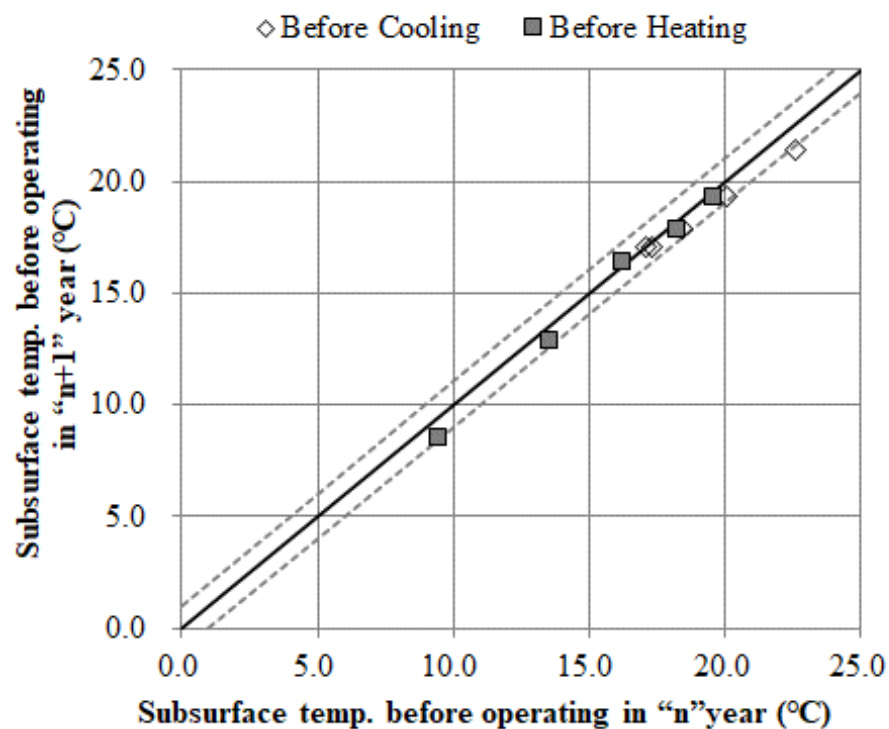


Fig. 23 各運転前の浅部地盤温度比較

3.5 冷暖房運転結果

実証フィールドでの GSHP システムの冷暖房運転は、Table 21 のとおり 2016 年 1 月から 2017 年 9 月までの期間にて冷暖房共に 3 ヶ月ずつ繰り返し行った。本研究は地盤全体を均一に加熱し、土壌内の地下生態系への影響を調査するという本来の目的により、夏期は日中に、冬期は夜間にそれぞれ 1 日 8 時間程度の運転としたが、地盤温度がおおよそ 30℃以上、0℃以下にならないよう注意しながらモニタリング状況を把握し、運転時間や設定温度を調整した。なお、地盤温度の上下限値の指標は当該地域における外気温の最低値・最高値から決定したものである（日最低気温平年値 -3.2℃，日最高気温平年値 30.2℃）。1 年目の運転を基準にすると、2 年目の地中熱交換量は暖房運転，冷房運転でそれぞれ 1.2 倍，1.02 倍程度であり，2 年間の運転はおおよそ同程度の負荷であった。

Table 21 冷暖房運転条件および実績

Item	Unit	Heating 1	Cooling 1	Heating 2	Cooling 2
Date	-	2016/01/05 ～03/23	2016/07/04 ～09/30	2017/01/07 ～03/23	2017/07/01 ～09/28
Days	Days	78	88	75	90
Operation time per day	Hours/ day	10 → 12	12 → 7	8	8
Time zone	-	9:00-21:00	10:00-17:00	1:00-9:00	10:00-18:00
Indoor set temperature	°C	20	20 → 27	20	25 → 27
Operation control	-	Manual	Automatic	Automatic	Automatic
Total operation time	Hours	515	666	608	570
Total heat exchange rate	kWh	977.8	1,730.0	1,186.7	1,757.0
Electricity consumption of heat pump	kWh	437.9	281.5	854.0	367.5
COP	-	3.62	5.55	2.40	4.33

Table 21 には測定したデータから求めた地中熱交換量積算値(kWh)、ヒートポンプの消費電力積算値(kWh)、およびこれらから計算した COP（成績係数）の期間平均値を示す。ただし、ヒートポンプの消費電力は循環ポンプの消費電力を含むため、流量に応じたメーカーの近似式（消費電力[kW] = $0.0075 \times \text{循環流量[L/min]} - 0.0286$ ）により循環ポンプの消費電力を求め、これを実測値から除することでヒートポンプ単体の消費電力を算出した。なお、本運転実績は地盤温度を所定の温度まで変動させることを目的としているため、試行錯誤的に運転を調整した結果であり、運転の性能向上を追求したものではない。

次に、加熱エリアおよびバックグラウンドエリアの各深度における地盤温度モニタリング結果を示す。Fig. 24 は深度 0.5 m および 1.0 m の地盤温度（A-0.5, A-1.0, B-0.5, B-1.0）、Fig. 25 は深度 1.5～2.5 m の地盤温度（A-1.5, A-2.0, A-2.5, B-1.5, B-2.0, B-2.5）、Fig. 26 には加熱エリア内に設置した深度 1.5 m の任意の地点の地盤温度（C-1.5, D-1.5）を示す。

Fig. 24 によると、地表面に近い 0.5 m および 1.0 m の地盤温度比較では、深度 0.5 m 地点で加熱エリアとバックグラウンドエリアの温度差は小さく、加熱の影響よりも地表面からの温度影響が支配的であると考えられるが、深度 1.0 m 地点になると、加熱の影響が顕著になっており、極値のピークも大きくずれていることが分かる。次に、Fig. 25 において加熱エリ

アの温度比較では、深度 2.0 m、深度 1.5 m、深度 2.5 m の順で地盤温度の変化が大きい。バックグラウンド温度と比較しても深度 2.0 m では地中熱交換器の加熱の影響が著しいことは明確である。ただし、HGHE 設置深度の 2.0 m から等距離にある深度 1.5 m および深度 2.5 m においては、冷房時、暖房時いずれの場合も深度 2.5 m の温度変化が小さく、バックグラウンド温度の推移 (Fig. 21) でも見られたように地盤温度の安定性の違いであると考える。

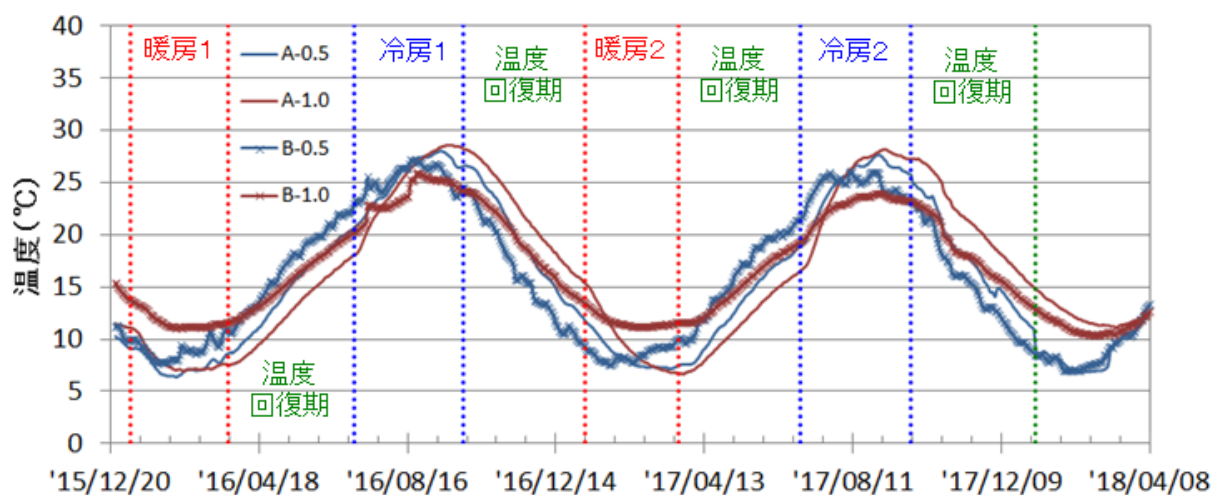


Fig. 24 全期間における地盤温度推移 (深度 0.5m–1.0m)

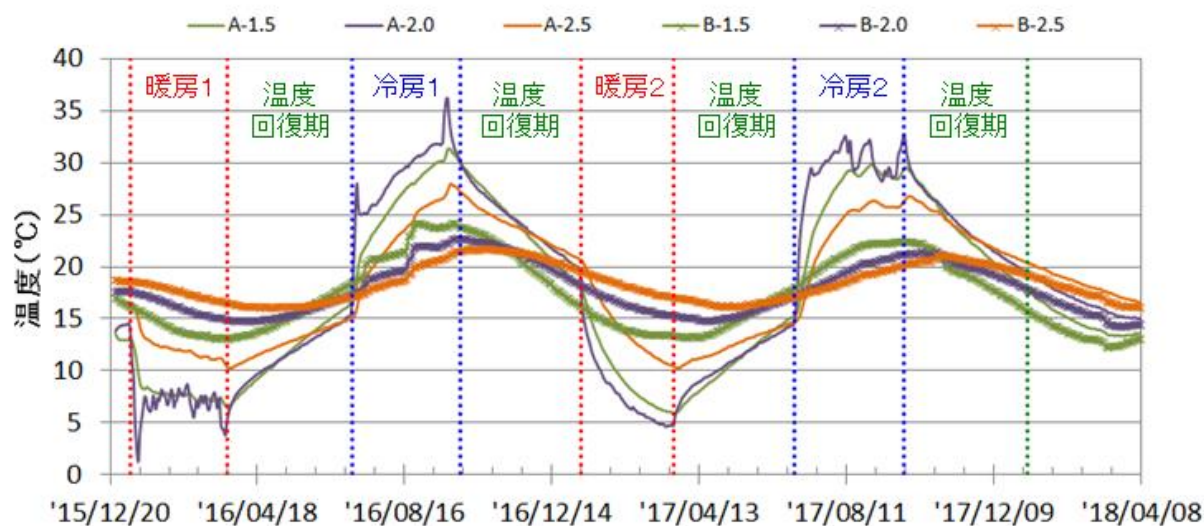


Fig. 25 全期間における地盤温度推移 (深度 1.5m–2.5m)

Fig. 26 では深度 1.5 m において、平面的に場所が異なる A-1.5, C-1.5, D-1.5 の温度変化を比較したが、全期間において同様の温度変化を示しており、加熱エリア内がほぼ均一に加熱されている様子がみられた。

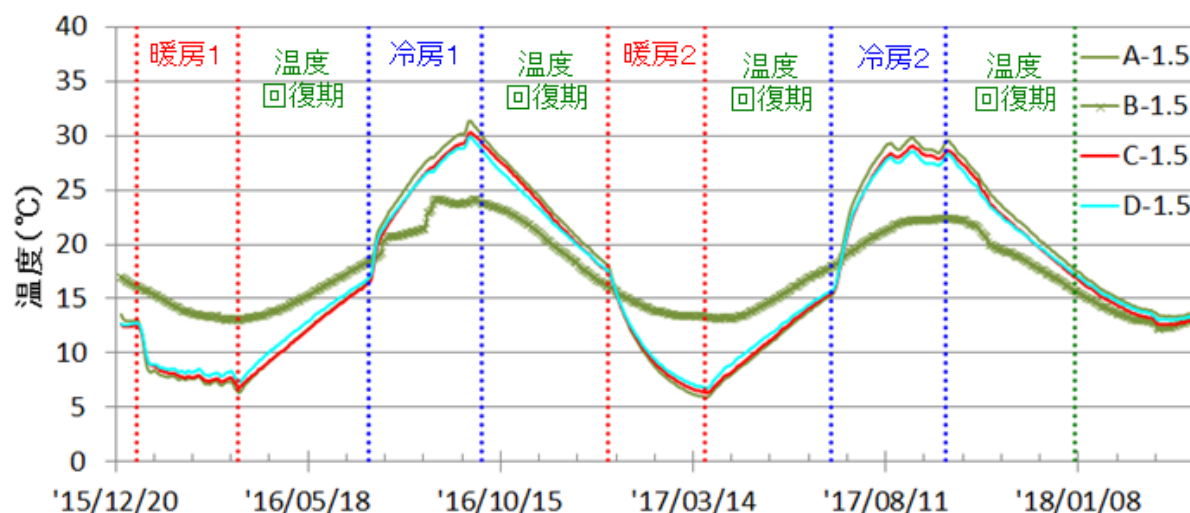


Fig. 26 全期間における地盤温度推移（深度 1.5m）

3.6 浅部地盤を利用した GSHP システムの蓄熱効果

運転中の地中熱交換器出入口温度平均値（以降、熱源水温度）、外気温および深度 2.0 m で測定した地盤温度（それぞれ日毎の平均値）を Fig. 27 に示す。深度 2.0 m の地盤温度は熱影響の無い B-2.0, HGHE の直近に設置した A-2.0, 隣接する両隣の地中熱交換器からそれぞれ 0.3 m 離れた土壌サンプリング付近 E-2.0（Fig. 16 参照）の測定結果を表す。

冷暖房運転期間中は、地中熱交換器内を循環する熱媒体の高温または低温の熱が地盤内の土壌と熱交換することにより土壌内へ熱拡散されるが、地中熱交換器直近の A-2.0 や地中熱交換器から 0.3 m 離れた E-2.0 の温度推移により採放熱状況がわかる。一般的な垂直型の地中熱交換器と異なり、水平型の場合は当該深度で本来の自然な温度変化も生じているため、運転中の熱源水温度と B-2.0 の温度差が水平方式における地盤の蓄熱量と考えられる。

一方、冷暖房運転終了後の温度回復状況は B-2.0 に対する A-2.0 や E-2.0 の温度挙動で確認することができる。運転終了後、次の運転開始までに A-2.0 や E-2.0 は完全に温度が回復しきれていないものの、次の運転には有利な温度帯（いわゆる蓄熱効果）であると考えられる。1 年目の冷房運転開始直前の同じ日で比較すると、A-2.0 は B-2.0 に比べ -2.0°C の温度差があり、同様に 2 年目の暖房運転開始直前では $+1.3^{\circ}\text{C}$ 、冷房運転開始直前は -2.7°C であった。ここで、蓄熱量の指標となる各運転時の累計地中熱交換量は Table 2 に示すとおりであり、1 年目の暖房運転では 977.8 kWh の地中熱交換量を地中に与えた後、次の冷房運転開始時において -2.0°C 分の温度差が残った。また 1 年目の冷房運転では $1,730\text{ kWh}$ を放熱した後、2 年目の暖房運転開始時において $+1.3^{\circ}\text{C}$ 分の温度差が残った。ここで、冷房運転時の地中熱交換量は暖房運転時の約 1.8 倍であったにもかかわらず、温度差が暖房時に比べて小さい理由の一つとして、冷房開始前の -2.0°C 分の温度差が寄与していることが推測される。

なお、2年目の暖房運転前は $+1.3^{\circ}\text{C}$ 分が地中に蓄熱された上で、暖房運転時の累積熱交換量が $1,186.7\text{kWh}$ であり、1年目の暖房運転の約1.2倍となった。その後、2年目の暖房運転開始までに -2.7°C 分の温度差が残ったが、この温度差は次の冷房運転の効率に寄与したと推測される。なお、各運転時間および温度回復期間の設定はそれぞれ3ヶ月で一定であったが、2年目の冷房運転終了以降、6ヶ月後の2018年4月8日時点での温度モニタリング結果は、A-2.0 (15.0°C)、E-2.0 (14.6°C) 共に B-2.0 の温度 (14.4°C) までほぼ回復している状況が見られた。

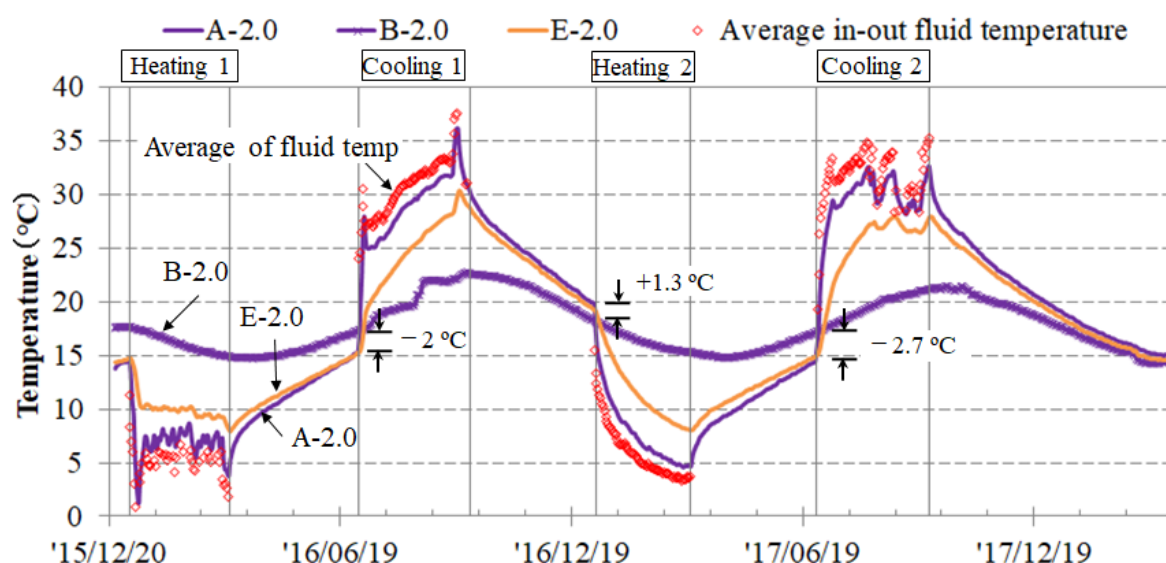


Fig. 27 測定期間中の熱源水温度および地盤温度推移

3.7 まとめ

本章では、地表面が裸地状態の浅部地盤温度挙動を約2年間実測し、地表面からの降雨浸透や外気温等の気象条件に影響する地盤内の温度変動の特徴を把握した。地表面の状態により様々であると考えられるが、本実証フィールドにおける深度2.0mの地盤温度は年間を通して $14.8\sim 22.8^{\circ}\text{C}$ の範囲で緩やかに推移しており、その温度差は 8.0°C と小さい振幅であった。また、外気温に比べて深度2.0mの地盤温度の極値は夏期で約2ヶ月後、冬期で約3ヶ月後と大きく異なっており、その時間差を活かした熱利用が可能である。したがって、GSHPシステムの導入は浅部地盤であっても十分に熱利用できる可能性があり、これらの特性を考慮した設計により、低コストで導入可能なGSHPシステムが期待できる。次に、HGHEを熱源としたGSHPシステムの冷暖房運転において、地盤温度の変化を同深度の自然温度と比較した。冷暖房運転によって加熱された地盤の温度は、次の運転開始までに同時期の自然温度と比べて暖房運転後は $-2.0\sim -2.7^{\circ}\text{C}$ 、冷房運転後は $+1.3^{\circ}\text{C}$ の温度差が生じ、元の温度まで完全に回復しなかったと考えられるが、これが次の運転には有利な温度と

して蓄えられる状況（蓄熱効果）となることが推定された。取得データからは地盤温度と地中熱交換量の相関関係を定量的に評価することは難しいが、数値シミュレーションモデルを利用して複数の運転条件による地盤の温度差と地中熱交換量の関係を推測し評価することは可能と考えられる。

第4章 地下微生物生態系への影響調査

4.1 地盤温度変化が土壌内の微生物に与える影響の考え方

地中熱利用による地盤温度変化が土壌内の微生物に与える潜在的な影響について、微生物の応答および影響の有無を判断するために必要となる調査方法および評価フローをFig. 28に示す。

図中の①～④は、地下環境中に存在する病原性細菌、微生物群集構造（微生物種の組成）とそれらの微生物が保有する機能と代謝物質に着目した評価項目である。なお、環境中の微生物群集は天候など様々な外的要因の影響を受けるため、時間経過によって変化しているものと考えられる。そのため、地中熱利用により地盤温度変化の影響を受ける地盤土壌（加熱エリア）と同じ地質で地盤温度変化がない地盤土壌（バックグラウンドエリア）の両者について同時に調査を行い、結果を相対比較することで地中熱利用による影響を評価することとした。

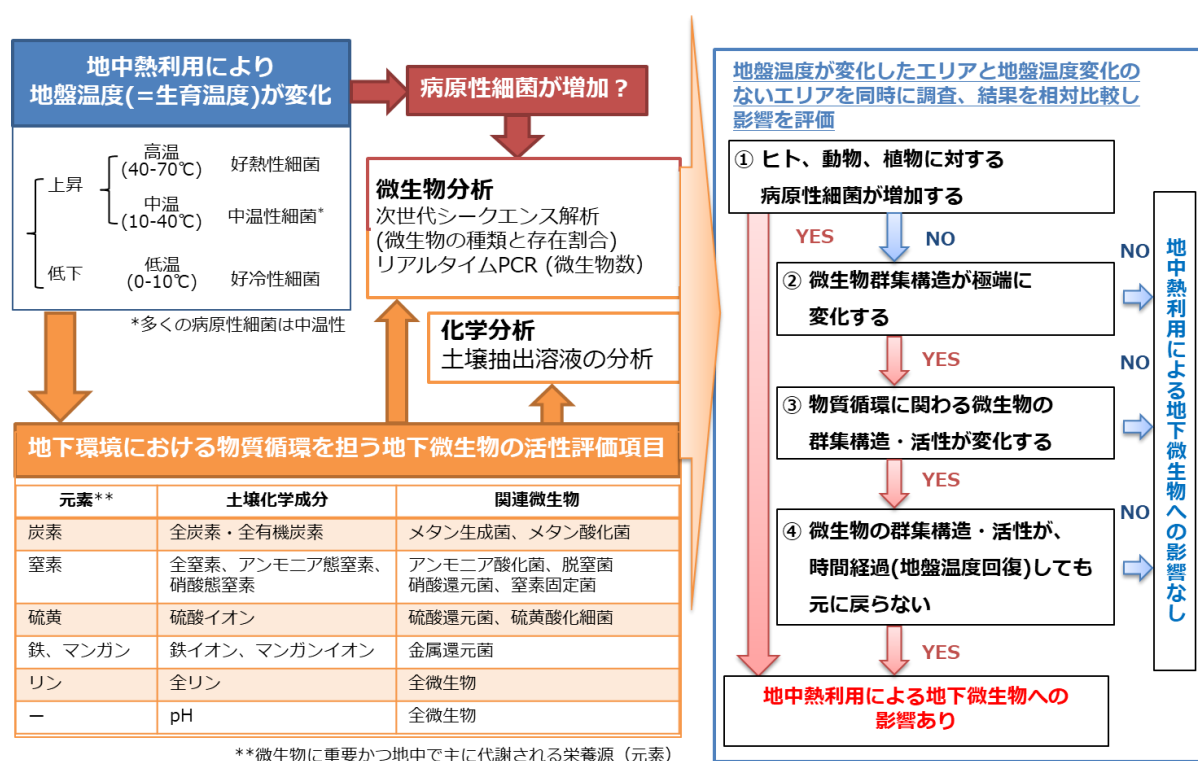


Fig. 28 地中熱利用における微生物影響の考え方

評価項目① 病原性細菌の調査

病原性細菌に対する影響評価の判断基準は、「加熱期間中から加熱停止後に地盤温度が回復した時に、ヒトや動植物に有害な病原性微生物の数が増加するか否か」となる。したがって、

土壌中に存在する病原性細菌数を定量する必要がある。しかし、調査対象とする原位置に生息する病原性細菌は不明である。また、リアルタイム PCR (Polymerase Chain Reaction) 法での定量は、一回の分析で 1～数種類の細菌を対象とした分析であり、すべての病原性細菌について測定するには、病原性細菌の数だけ繰り返して測定する必要がある、多大な費用や労力を要する。そこで本研究では、次世代シーケンス解析とリアルタイム PCR 法を併用した 2 段階の評価を行うこととした。

一次評価では、細菌を網羅的に検出することが可能な次世代シーケンス法により得られた微生物群集データから、試料中に存在する病原性を持つ可能性がある細菌、つまりバイオセーフティレベル 2 以上に分類される細菌種を含む細菌属を選別し、細菌数を算出した（細菌数の算出方法については 2.4.1 に記した）。加熱エリアとバックグラウンドエリアで病原性を持つ可能性がある細菌数に有意差があるか否かを調査し、有意差（加熱エリアでの潜在的病原性細菌の増加）が認められた場合は二次評価を実施することとした。二次評価では、一次評価で増加が認められた各病原性細菌種について、リアルタイム PCR 法を用いた定量を行うこととし、一次評価と同様に加熱エリアとバックグラウンドエリアで病原性細菌数に有意差があるか否かを調査することとした。

評価項目② 微生物群集構造の調査

微生物群集構造に対する影響評価の判断基準は、「加熱エリアの微生物群集構造が、バックグラウンドエリアと比較して、極端に変化したか否か」となる。原位置の微生物群集は、微生物の種類と存在割合、細菌数が反映されたものである。したがって、試料中に存在する微生物の種類と存在割合（微生物群集構造）を経時的に調査し、試料間での比較をする必要がある。

本調査では次世代シーケンス解析により微生物群集構造を調査することとした。加熱エリアの微生物群集構造の時間変化がバックグラウンドエリアの微生物群集構造の変化（時間経過にともなう自然変化）と比較して大きい場合、物質循環に関わる微生物の種類や数のデータ（評価項目③）に基づいて、地盤温度変化による影響の有無を判断する。

評価項目③ 物質循環に関わる微生物の調査

物質循環に関わる微生物に対する影響評価の判断基準は、「物質循環に関わる微生物の種類や数が、バックグラウンドエリアと比較して極端に変化するか否か」となる。ここでは、微生物の物質循環に関与する代謝能力（機能）に着目する。物質循環に関連する微生物の遺伝子を検出対象としたリアルタイム PCR 法により定量し、地下環境中の各種物質循環に関与する微生物数を調査した。物質循環に関連する微生物別に微生物数を定量することによって、

代謝機能の観点からの微生物群集構造（ある特定の代謝機能を持つ微生物別の存在割合）を把握することが可能となる。すなわち、地盤温度変化による物質循環に關与する微生物の変化を把握することができる。また、微生物が利用可能な土壤間隙水中の關連物質の濃度を分析し、機能遺伝子量データと合わせて地下環境での物質変換反応が維持されているか否かを検証する。

バックグラウンドエリアでの各物質循環に關連する微生物数の変化（時間経過による変化）を基準として、加熱エリアでの物質循環に關与する微生物数の変化が大きい場合は、地盤温度変化による影響ありと判断する。さらに、経時的な調査結果（評価項目④）に基づいて、最終的な地中熱利用による地下微生物への影響の有無を判断する。

評価項目④ 物質循環に關わる微生物の経時的な調査

物質循環に關わる微生物に対する経時的影響についての判断基準は、「物質循環に關わる微生物の種類や数が、バックグラウンドエリアと比較して変化し、さらに一定時間経過（地中熱利用による加熱の影響がなくなり地盤温度が回復するまでの時間）した後に、それらがバックグラウンドエリアと同じ状態（加熱の影響を受ける以前の状態）に戻るか否か」となる。評価項目③と同様にして、物質循環に關わる微生物数および關連する化学成分の濃度を経時的に調査する。本研究では、物質循環に關連する微生物群集が回復する期間を以下の2通り設定した。

- (1) 冷暖房運転停止後、約3か月（地盤温度回復期）
- (2) 2年間の地中熱利用が終了し、地盤温度が回復した後

以上より、本研究では地中熱利用における微生物影響の考え方とそれに伴う調査方法および分析方法を Fig. 29 のとおり定めた。

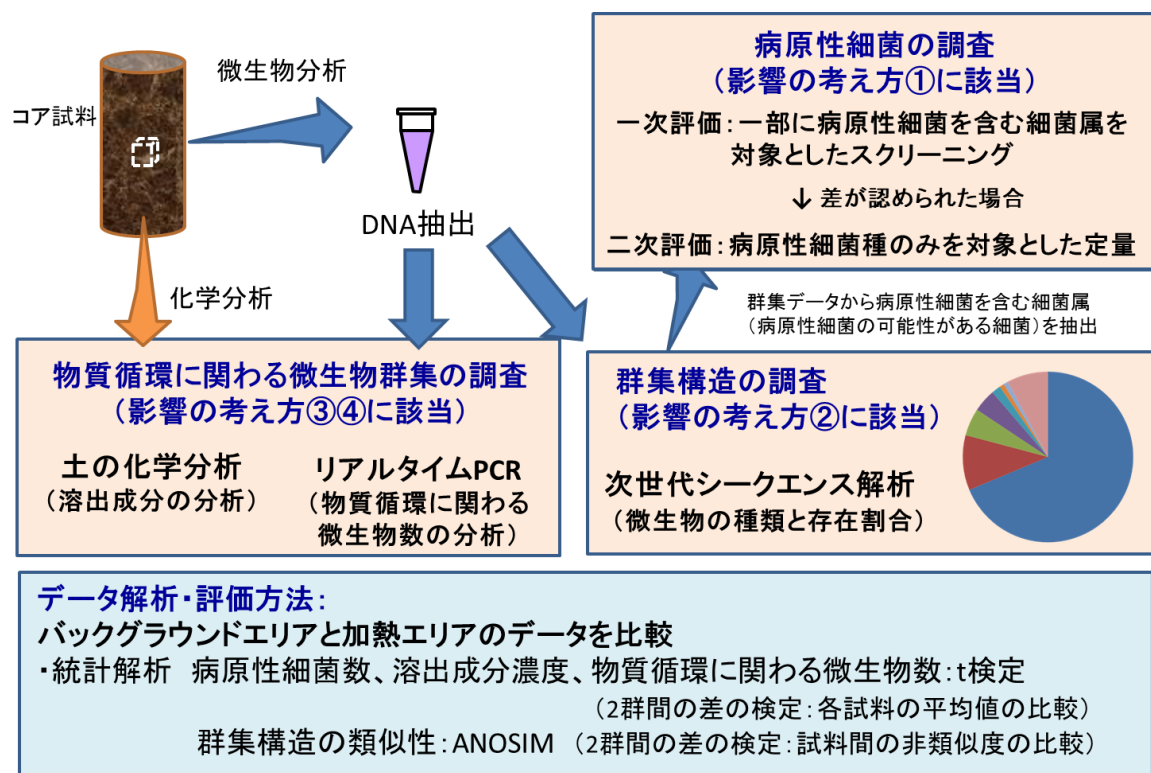


Fig. 29 分析方法の概要

4.2 試験フィールドにおけるサンプリング

地中熱利用による地盤温度変化の影響を受けた地盤（加熱エリア）と影響を受けない地盤（バックグラウンドエリア）について、実証フィールド土壌のサンプリングを実施した。バックグラウンドエリアは、温度変化のない自然状態における微生物群集および化学成分の時間経過に伴う変化（季節変化）を把握するために設定しており、バックグラウンドエリアでの経時変化を基準として、加熱エリアでの微生物群集および化学成分の変化を評価した。土壌試料のサンプリング日程および採取試料名を Table 22 に記す。

Table 22 サンプルング日時および試料名一覧

運転条件	期間	サンプリング	採取日時	サンプル名	
				加熱エリア	バックグラウンド エリア
運転開始前	-	1-1	2016/01/05	A1-1	B1-1
暖房運転 1 後	2016/01/05-03/23	1-2	2016/03/23	A1-2	B1-2
地温回復後	2016/03/24-07/03	2-1	2016/06/29	A2-1	B2-1
冷房運転 1 後	2016/07/04-09/30	2-2	2016/09/30	A2-2	B2-2
地温回復後	'16/10/01-'17/01/06	2-3	2017/01/06	A2-3	B2-3
暖房運転 2 後	2017/01/07-03/23	2-4	2017/03/23	A2-4	B2-4
地温回復後	2017/03/24-06/30	3-1	2017/06/30	A3-1	B3-1
冷房運転 2 後	2017/07/01-09/28	3-2	2017/09/28	A3-2	B3-2
地温回復後	'17/09/28-'18/01/05	3-3	2018/01/05	A3-3	B3-3

次に、各サンプリングでの深度 2 m 付近の土壌を下記の方法で採取し、試料とした。まず、Fig. 16 に記載のサンプリング位置にて深度 2.2 m までのオールコアボーリングを実施した。次に採取したフィールド土壌コアの深度 1.8 m から 2.2 m の部分を滅菌済みシートの上に移し、深度 2.0 m 付近を中心にして 2 分割した。微生物分析用試料として、分割断面からボーリングマシンと接触していないコア中心部分の土壌を、あらかじめオートクレーブ滅菌した薬匙を用いて滅菌済みの 50 mL チューブに採取した。残りの土壌は、化学分析用の試料として 250 mL のポリプロピレン製ボトルに採取した。

4.3 調査結果

地中熱利用（暖房運転、冷房運転）を通じた 2 年間の分析結果を、調査項目別に記した。地中熱利用の運転条件別で影響を評価するため、暖房運転、冷房運転のそれぞれの運転期間および通年期間（フィールド試験開始時から暖房運転と冷房運転の各 2 回を含む 2 年間）についてデータを集計し、統計解析を実施した。統計解析手法には、病原性細菌、物質循環に関連する微生物と化学成分については t 検定を、微生物群集構造解析は ANOSIM 解析を用いた。

解析を行った評価期間と試料の対応および試料採取時の加熱エリアとバックグラウンドエリアの温度差は Table 23 に記したとおりである。加熱エリアとバックグラウンドエリアの温度は、それぞれ Table 23 に示したモニタリング地点 E-2.0 および B-2.0 より得た。通年期間の評価は、運転開始前(1-1)から地盤温度回復後(3-3)までのすべてのデータを使用して解析を行った。

Table 23 評価期間と試料の対応

評価期間	運転前試料	運転後試料	地盤温度回復後試料
暖房運転1	1-1 (-2.9°C)	1-2 (-6.5°C)	2-1 (-2.1°C)
冷房運転1	2-1 (-2.1°C)	2-2 (+6.1°C)	2-3 (+0.4°C)
暖房運転2	2-3 (+0.4°C)	2-4 (-7.2°C)	3-1 (-2.2°C)
冷房運転2	3-1 (-2.2°C)	3-2 (+6.6°C)	3-3 (+1.0°C)

- ・ (加熱エリアとバックグラウンドエリアの温度差)
= 加熱エリアの温度(モニタリングE-2.0)-バックグラウンドエリアの温度(B-2.0)
- ・ 通年運転：1-1～3-3の二年間のデータを使用して解析を実施

4.3.1 病原性細菌の調査結果

微生物群集構造データより、病原性を持つ可能性がある細菌（BSL2 以上の細菌種を含む細菌属）として *Burkholderia* 属, *Nocardia* 属, *Mycobacterium* 属の 3 属が検出された。Fig. 30 に、これら 3 属の菌数および全細菌数の経時変化を示した。

全細菌数は、全運転期間（通年）を通して加熱エリア、バックグラウンドエリアともに $10^7 \sim 10^8$ copies/g の範囲で推移し、両エリアで同様の变化傾向が見られた（加熱エリア： $4.0 \times 10^7 \sim 4.1 \times 10^8$ copies/g, バックグラウンドエリア： $2.5 \times 10^7 \sim 4.4 \times 10^8$ copies/g）。各検出細菌属の細菌数は、通年で *Burkholderia* 属細菌 6.1×10^5 copies/g（微生物群集全体に占める割合：0.22%）、*Nocardia* 属細菌 1.5×10^5 copies/g (0.03%)、*Mycobacterium* 属細菌 1.8×10^5 copies/g (0.04%)以下で推移し、両エリアで類似した変化傾向が見られた。

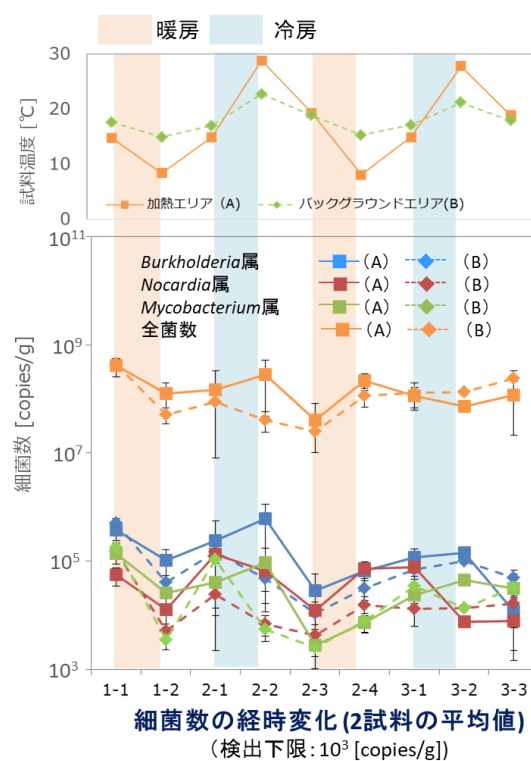


Fig. 30 全細菌数および病原性を持つ可能性のある細菌数の経時変化

((A) 加熱エリア, (B) バックグラウンドエリア, データは平均値と標準偏差を示す)

各運転期間中および通年で検出細菌属の検出割合の経時変化について t 検定の結果を Table 24 に記した。t 検定の結果, 検出された病原性を持つ可能性がある細菌 3 属とも, 各運転期間ならびに通年で, t 値が棄却値 (暖房・冷房運転: 2.228, 通年運転: 2.032) を下回った。すなわち, 運転条件にかかわらず加熱エリアとバックグラウンドエリアで細菌数に有意な差は認められなかった。加熱エリアにおける病原性を持つ可能性のある細菌数の経時変化は, バックグラウンドエリアにおける自然変化 (時間経過による変化) の範囲内であり, 地中熱利用による地盤温度変化が病原性細菌に及ぼす影響は小さいものと考えられる。

Table 24 検出細菌属の存在割合のエリア間比較結果 (t 検定による統計解析結果)

細菌属名	t値					評価
	暖房運転1	冷房運転1	暖房運転2	冷房運転2	通年	
<i>Burkholderia</i>	0.187	0.946	1.420	1.121	1.237	すべて有意差なし
<i>Nocardia</i>	0.755	1.636	1.563	0.932	1.663	すべて有意差なし
<i>Mycobacterium</i>	-1.028	-0.918	-0.683	1.446	-0.182	すべて有意差なし
使用データ	1-1~2-1	2-1~2-3	2-3~3-1	3-1~3-3	1-1~3-3	
棄却値	2.228				2.032	

検出された細菌属 3 属の特性を Table 25 に記した。3 属とも土壤環境中に生息する種類の細菌であり、試験フィールド土壤中にもともと存在していたものと考えられる。

Table 25 検出された病原性を持つ可能性のある細菌属の特性

	<i>Burkholderia</i> 属細菌	<i>Nocardia</i> 属細菌	<i>Mycobacterium</i> 属細菌
酸素要求性	種によって異なる	必要	必要
生育温度	20-40℃	20-45℃	15-45℃
栄養源	有機物	有機物	有機物・二酸化炭素
生息環境	土壌、根圏(植物)、 河川・湖沼	土壌・海洋堆積物・ 排水処理システム	土壌、河川・湖沼
病原性細菌種 (発症疾患)	<i>B.cepacia</i> (肺感染症) <i>B.mellai</i> (鼻疽) など	<i>N.asteroidea</i> <i>N.brasiliensis</i> (ノカルジア症) など	<i>M. tuberculosis</i> (結核) <i>M. avium</i> (抗酸菌症) など
非病原性細菌種	<i>B.multivorans</i> (油脂分解菌) など	<i>N. takedensis</i> (ゴム分解菌) など	<i>M.aromaticivorans</i> (芳香族炭化水素分解菌) など

(「Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria」より)

4.3.2 微生物群集の調査結果

(1) 微生物群集結果の概要

試料別の取得 OTU 代表配列について、目レベルでの分類階級（上位から順に、界，門，綱，目，科，属，種）の検出割合を Fig. 31 に示した。バックグラウンドエリアおよび加熱エリアで、共通する細菌目が同程度の割合で検出され、一部の期間を除いて両エリアの微生物群集構造は類似していた。両エリアで共通する検出数上位 5 つの細菌目の検出割合は、Subgroup2 目が加熱エリア 6.0%～19.0%，（バックグラウンドエリア）3.9%～17.8%，*Thermotogales* 目は 1.2%～12.0%，3.9%～19.5%，*Acidobacteriales* 目は 1.2%～9.1%，3.3%～10.2%，JG37-AG-4 目は 1.1%～7.3%，1.9%～7.0%，*Myxococcales* 目は 0.9%～6.0%，1.7%～6.7%で推移した。なお，Subgroup2 目，JG37-AG-4 目はいずれも学名が定まっていない細菌グループである。

暖房運転 2 後の試料(A2-4, B2-4)では両エリアともこれら 5 つの細菌目の検出割合が低く、異なる細菌目の検出割合が増加した（*Nitrospirales* 目(A2-4) 6.4%，(B2-4) 8.7%，*Planctomycetales*目(A2-4) 10.3%，(B2-4) 10.8%，*Legionellales*目(A2-4) 9.9%，(B2-4) 8.1%，*Streptomycetales* 目(A2-4) 11.4%）。

暖房運転 2 後の試料(A2-4, B2-4)で微生物群集構造が変化した。暖房運転 2 回復後の試料(A3-1, B3-1)および冷房運転 2(A3-1～A3-3, B3-1～B3-3)においては、暖房運転 2 以前(A1-

1～A2-2, B1-1～B2-2)と類似した微生物群集構造が確認され、微生物群集構造の変化が一時的なものであったことが示された。暖房運転後に微生物群集構造が変化した要因は Fig. 31 からは推察できないが、加熱エリア、バックグラウンドエリア双方で同様に変化した結果は、暖房運転によって低下した地盤温度に起因するものではないことを示唆している。

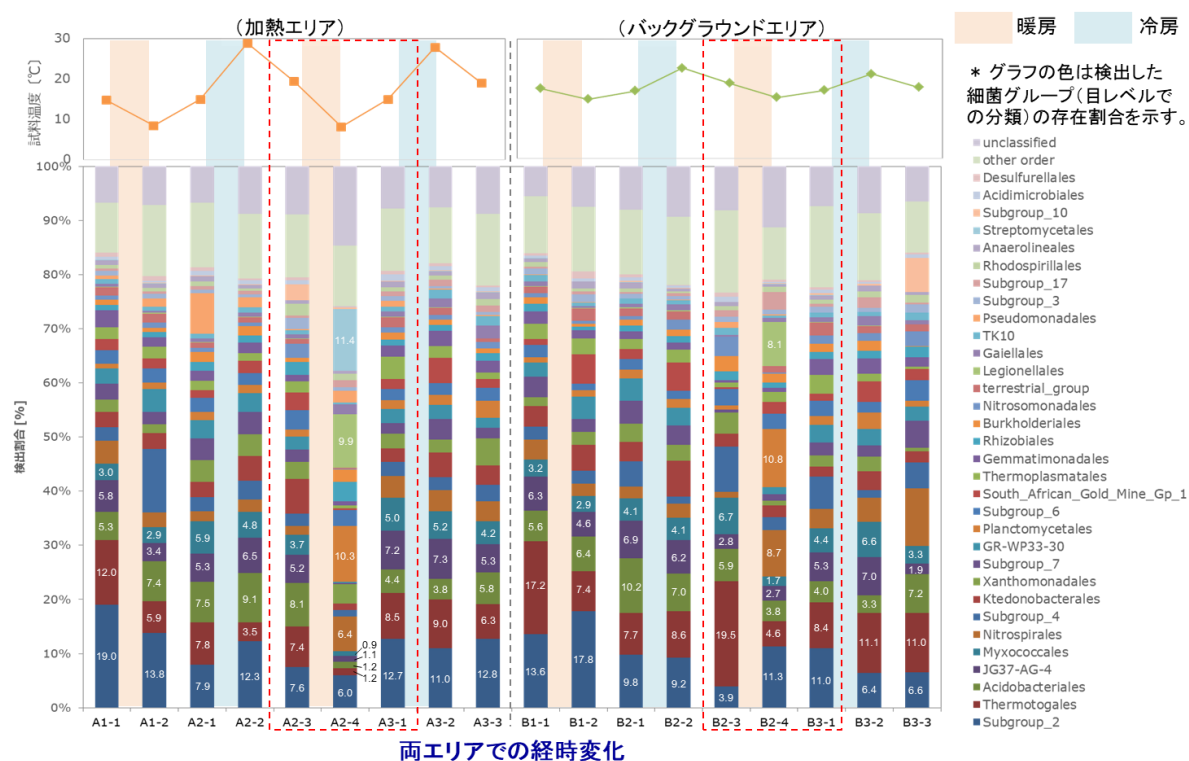


Fig. 31 加熱エリアおよびバックグラウンドエリアにおける目レベルでの微生物群集構造の経時変化
(グラフ中の数字は各細菌目の検出割合を示した。赤点線囲みは暖房運転 2 期間の試料を示した。)

(2) 微生物群集構造の経時変化の比較

加熱エリアおよびバックグラウンドエリアにおける微生物群集構造の類似性経時変化および各時点におけるエリア間での微生物群集構造の類似性（非類似度）を Fig. 32 に示した。

エリア別に運転前試料(1-1)と各試料(1-2～3-3)の微生物群集構造を比較した場合の非類似度は、両エリアとも暖房運転 2 前後(2-3, 2-4)で他の期間より高い非類似度(A2-4 : 0.156, B2-3 : 0.174)を示したが、それ以外の期間 (1-1～2-2, 3-1～3-3)では同程度の範囲 (加熱エリア : 0.064～0.109, バックグラウンドエリア : 0.065～0.132) で変動した。この結果は、Fig. 31 に示したように、一部期間（暖房運転 2）を除いて両エリアで微生物群集構造に著しい変化がなく、暖房運転 2 における群集構造の変化が一時的なものであったことと合致する。

各時点におけるエリア間での微生物群集構造の類似性比較 (Fig. 32, 青ポイント) では、暖房運転 2 前の試料 (A2-3 と B2-3 の比較) で最も非類似度が高くなった。非類似度が高くなった理由は、暖房運転 2 前(2-3)において、加熱エリアよりもバックグラウンドエリアで運

転前の状態から微生物群集構造が変化したため、エリア間での類似性の差が大きくなったと考えられる。

エリア間で微生物群集構造の経時変化を比較(ANOSIM による統計解析)した結果を Table 26 に記した。いずれの運転期間においても p 値は 0.202~0.865 の値であった。これは、エリア間で群集構造に差があるとみなされる $p \leq 0.05$ よりも大きい値である。すなわち、暖房運転、冷房運転および通年ともに、エリア間で微生物群集構造の経時変化に有意な差は認められなかった。以上の結果から、地盤温度が変化による地下微生物群集への影響は小さいものと考えられる。

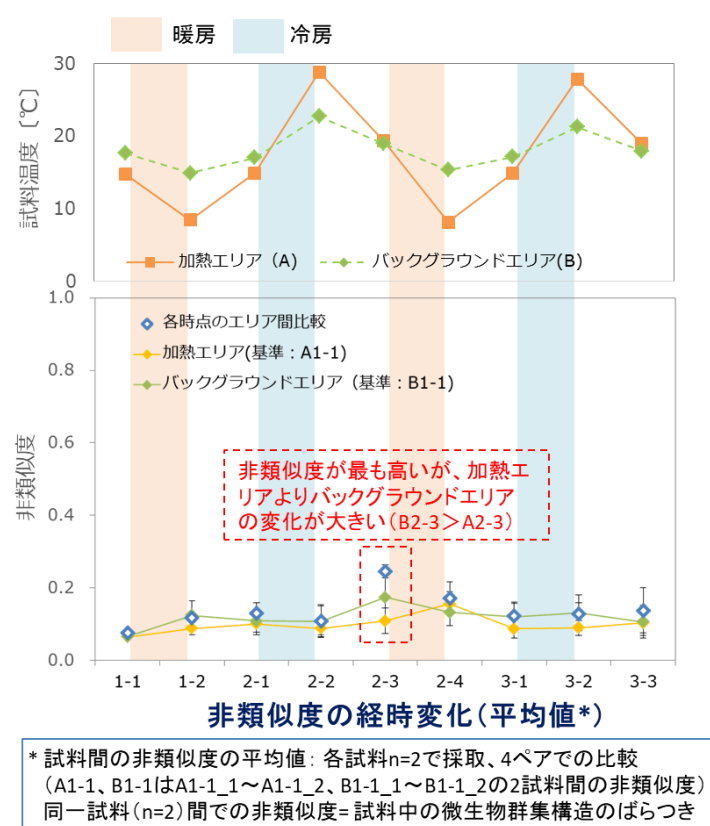


Fig. 32 微生物群集構造の類似性の比較 (経時変化の比較)

Table 26 群集構造変化のエリア間での比較結果 (ANOSIM による統計解析結果)

	使用データ	p値	評価
暖房運転1	1-1～2-1	0.544	p>0.05 → エリア間で、微生物群集構造の変化傾向に有意な差が認められない
冷房運転1	2-1～2-3	0.202	
暖房運転2	2-3～3-1	0.865	
冷房運転2	3-1～3-3	0.400	
通年	1-1～3-3	0.641	

4.3.3 物質循環に関わる微生物の調査結果

Table 27 に物質循環に関わる微生物の調査結果をまとめた。多くの調査項目で物質循環に関わる関連物質、関与する微生物は検出下限値未満であった。また、測定値が得られた項目では、硫酸イオン濃度および pH を除いた項目について、加熱エリアおよびバックグラウンドエリア間での有意差は認められなかった。各項目の詳細な結果について次に示す。

Table 27 物質循環に関わる微生物群集の調査結果

反応	調査項目・結果			
	関連物質（化学分析：10項目）		関与する細菌（リアルタイムPCR：9項目）	
鉄・マンガン還元	鉄(Fe)	検出せず(0.1mg/kg)* ¹	金属還元細菌 (鉄・マンガン)	エリア間で有意差が認められない
	マンガン(Mn)	検出せず(0.1mg/kg)* ¹		
硫酸還元	硫酸(SO ₄)	エリア間で有意差が認められた（暖房運転1）* ²	硫酸還元細菌	
			硫黄酸化細菌	
メタン生成	全炭素	エリア間で有意差が認められない	メタン生成菌	検出せず(3.6×10 ³ copies/g)* ¹
	全有機炭素	エリア間で有意差が認められない	メタン酸化細菌	検出せず(8.4×10 ³ copies/g)* ¹
硝酸還元 窒素固定	硝酸(NO ₃)	検出せず(1mg/kg)* ¹	硝酸還元細菌	検出せず(8.6×10 ³ copies/g)* ¹
	アンモニア(NH ₄)	検出せず(1mg/kg)* ¹	アンモニア酸化細菌	検出せず(1.8×10 ⁴ copies/g)* ¹
	全窒素	検出せず(2 mg/kg)* ¹	脱窒菌	検出せず(1.3×10 ⁴ copies/g)* ¹
			窒素固定菌	検出せず(5.1×10 ³ copies/g)* ¹
-	全リン	検出せず(0.1mg/kg)* ¹		
	pH	エリア間での有意差が認められた（冷房運転2）* ³		

*1：定量下限値

*2：暖房運転1期間中の硫酸濃度は、文献値範囲内に収まることから地盤温度変化による影響は小さいと考えられる。

*3：冷房運転2期間中のpHは、文献値範囲内に収まることから地盤温度変化による影響は小さいと考えられる。

(1) 金属（鉄・マンガン）還元に関わる微生物

Fig. 33 に金属（鉄・マンガン）還元細菌数の経時変化および各運転期間中の平均細菌数を示した。両エリアの金属還元細菌数は、ほぼ同じ範囲（加熱エリア： $5.8 \times 10^3 \sim 2.4 \times 10^6$ copies/g, $5.3 \times 10^3 \sim 1.1 \times 10^6$ copies/g（バックグラウンドエリア）で推移した。金属還元細菌数の経時変化について、暖房運転、冷房運転および通年の各期間の細菌数データを用いた t 検定を行った結果、t 値は暖房運転 1, 2 および冷房運転 1, 2 では 0.071~2.086, 通年では 0.897 の値となり、いずれも棄却値（暖房・冷房運転：2.228, 通年：2.032）よりも小さかった。すなわち、すべての運転条件においてエリア間で金属還元細菌数に有意な差は認められなかった（Table 28）。

一方、溶出溶液中の金属イオン（鉄・マンガン）は検出下限値未満であった。金属還元細菌が検出されたにも関わらず、鉄・マンガンが検出下限値未満であった理由として、①金属還元細菌の活動により金属イオンが消費されたため検出されなかった可能性と、②金属還元細菌が利用可能な金属は存在しているが、今回の土壌溶出条件では、金属イオンが溶出されずに検出されなかった可能性が考えられる。

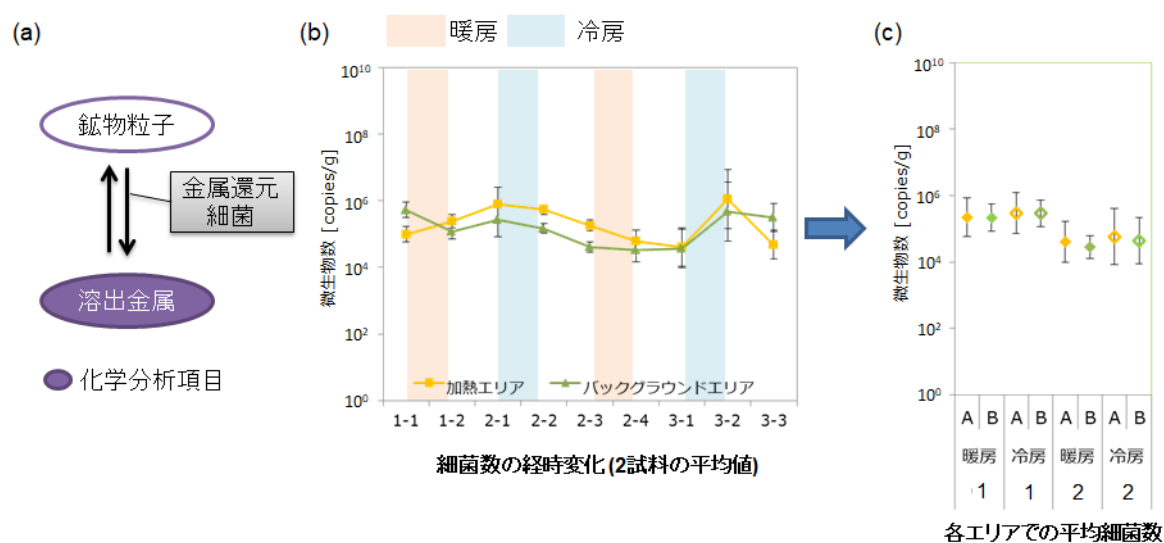


Fig. 33 鉄・マンガン還元に関わる微生物数の経時変化

- ((a) 土壌中の金属還元, (b) 金属還元細菌数の経時変化,
(c) 各エリア・運転期間での細菌数平均値：平均値±標準偏差)

Table 28 鉄・マンガン還元に関わる微生物数のエリア間比較結果 (t 検定による統計解析結果)

項目名	t値					評価
	暖房運転1	冷房運転1	暖房運転2	冷房運転2	通年	
金属還元細菌	0.377	2.086	1.081	0.071	0.897	すべて有意差なし
使用データ	1-1～2-1	2-1～2-3	2-3～3-1	3-1～3-3	1-1～3-3	
棄却値	2.228				2.032	

(2) 硫黄循環に関わる微生物

Fig. 34 に溶出液中の硫酸イオン濃度の経時変化および各運転期間中の平均濃度, Fig. 35 に硫黄循環に関わる微生物数の経時変化および平均細菌数を示した。また, t 検定による硫酸イオン濃度, 硫黄循環に関わる微生物数のエリア間での比較結果を Table 29 に記した。

溶出溶液中の硫酸イオン濃度は, 加熱エリア, バックグラウンドエリアともに, 試料によって変動 (加熱エリア: 69~270 mg/kg, バックグラウンドエリア: 17~230 mg/kg) したが (Fig. 34), 両エリアの硫酸イオン濃度の変動幅はほぼ同じであった (平均硫酸イオン濃度 ± 標準偏差 (SD) 加熱エリア: 123.4 ± 57.0 mg/kg, バックグラウンドエリア: 83.8 ± 57.7 mg/kg)。

統計解析 (t 検定) の結果, 暖房運転 1 では t 値が 2.269 と棄却値 (暖房・冷房運転: 2.228) よりも大きく, エリア間で有意差が認められた (Table 29)。しかし, 暖房運転 1 期間中の両エリアの硫酸イオン濃度は国内の土壌化学分析結果 (溶出溶液の硫酸イオン濃度: 3.8~576 mg/kg, (高橋・東, 2013)) の範囲内であることから, 地盤温度変化による影響は小さいと考えられる。暖房運転 1 以外の運転期間では, t 値は 0.495~1.467 と棄却値よりも小さな値となり, エリア間で有意差は認められなかった。

一方で, 暖房運転 2 前試料 (A2-3, B2-3) では両エリアとも硫酸イオン濃度が 2~7 倍に増加した。土壌中の硫黄循環に影響を与える要因の 1 つに落葉などの植物遺骸からの供給が知られている (久馬, 1997)。A2-3, B2-3 試料を採取した時期は, 両エリアとも試験フィールド近辺にある樹木からの落葉で地表面が覆われていた。そこで, フィールドから採取した落葉 10 g に蒸留水 100 mL を添加し, 2.4.3 に示した土壌溶出溶液の調製方法と同様の方法で落葉溶出液を得た。落葉溶出液中の硫酸イオン濃度を測定したところ, 7.8 mg/L であった。このことから, 硫酸イオン濃度が急激に増加した要因として, 試験フィールド近辺にある樹木からの落葉と降雨による落葉からの溶出, もしくは落葉の分解によって生成した栄養成分の流入の可能性が示唆される。

運転期間中の硫酸還元細菌数および硫酸酸化細菌数は, 両エリアとも概ね同じ細菌数 ((硫酸還元細菌) 加熱エリア: $1.4 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^7$ copies/g, バックグラウンドエリア: 2.8×10^4

～ 1.4×10^7 copies/g, (硫黄酸化細菌) 加熱エリア： $1.7 \times 10^4 \sim 2.7 \times 10^7$ copies/g, バックグラウンドエリア： $1.8 \times 10^4 \sim 6.4 \times 10^6$ copies/g が維持されており，類似した傾向で推移した (Fig. 35)。

統計解析 (t 検定) の結果，すべての運転期間で t 値 (硫酸還元細菌：-0.499～1.181, 硫黄酸化細菌：-1.571～0.739) は棄却値を下回り，エリア間で有意差は認められなかった (Table 29)。

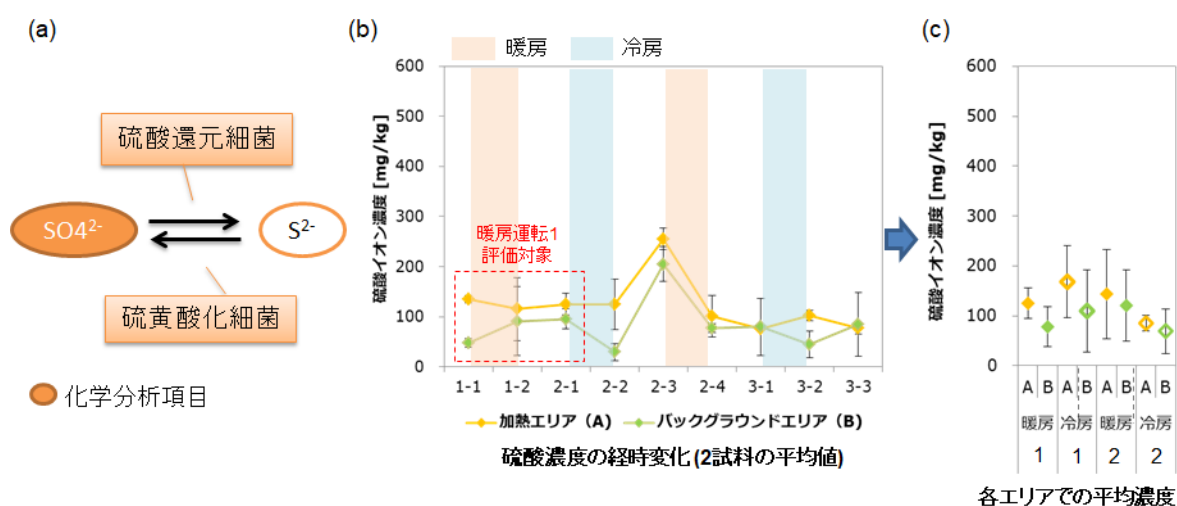


Fig. 34 硫酸イオン濃度の経時変化

((a) 土壌中の硫黄循環, (b) 硫酸イオン濃度の経時変化,
(c) 各エリア・運転期間での硫酸イオン濃度平均濃度：平均値±標準偏差)

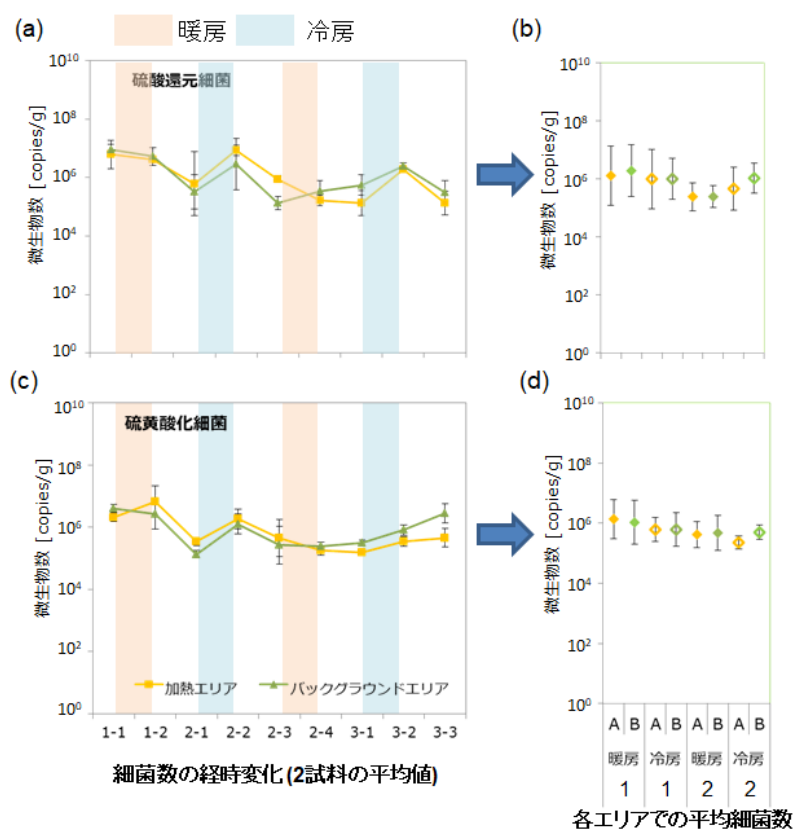


Fig. 35 硫黄循環に関わる微生物数の経時変化

((a)硫酸還元細菌数の経時変化, (b) 各エリア・運転期間での硫酸還元細菌の平均細菌数：平均値±標準偏差, (c) 硫酸酸化細菌数の経時変化, (d) 各エリア・運転期間での硫酸酸化細菌の平均細菌数：平均値±標準偏差)

Table 29 硫酸イオン濃度, 硫黄循環に関わる微生物数のエリア間比較結果 (t 検定による統計解析結果)

項目名	t値					評価
	暖房運転1	冷房運転1	暖房運転2	冷房運転2	通年	
硫酸イオン濃度	2.269	1.309	0.495	0.813	1.467*	暖房運転1で 有意差あり
硫酸還元細菌	-0.499	1.181	0.270	0.695	0.118	すべて有意差なし
硫酸酸化細菌	0.468	0.739	-0.628	-1.571	0.292	すべて有意差なし
使用データ	1-1～2-1	2-1～2-3	2-3～3-1	3-1～3-3	1-1～3-3 (2-1～3-3)*	
棄却値	2.228				2.032	

*硫酸イオン濃度のみ暖房運転 1 を除いた期間(2-1～3-3)のデータを用いて解析

(3) メタン生成・メタン酸化に関わる微生物

メタン生成細菌およびメタン酸化細菌は検出されなかった。地下環境中で進行する微生物反応の中でメタン生成反応は酸素が存在しない強い還元環境において進行することが知られている (M. T. Madigan et.al., 2012)。分析した試料は栄養塩濃度が低いため、有機物の分解に伴う酸素消費が少なくメタン生成細菌の生息に適した強い還元環境に達していないものと推測される。また、メタン生成が行われなため、メタン酸化細菌の生息に適した環境でなかったものと推測される。

Fig. 36 に全炭素、全有機炭素濃度の経時変化および平均濃度を示した。また、t 検定による全炭素・全有機炭素濃度のエリア間での比較結果を Table 30 に記した。運転期間中の全炭素および全有機炭素濃度は、両エリアともに同じ濃度範囲（全炭素：20～60 mg/kg、全有機炭素：10～40 mg/kg）で推移した。

次に、統計解析 (t 検定) の結果、すべての運転期間で t 値（全炭素：-0.255～1.861、全有機炭素：-0.286～1.865）は棄却値を下回り、エリア間で有意差は認められなかった (Table 30)。なお、両エリアともに暖房運転 2 前試料 (A2-3, B2-3) で全炭素濃度が増加したが (Fig. 36)、その原因として、硫酸イオンの増加と同様に外部からの流入の可能性が考えられる。

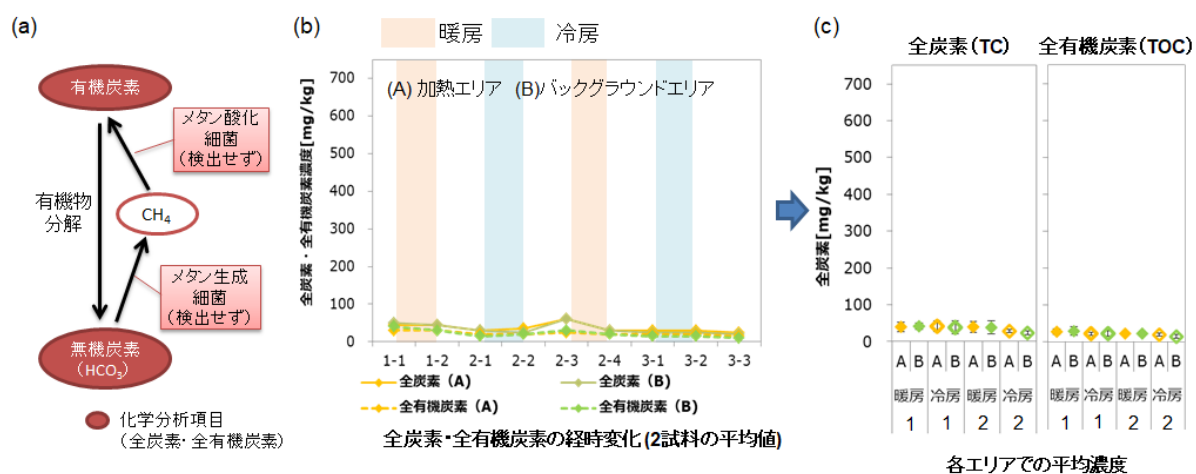


Fig. 36 全炭素・全有機炭素濃度の経時変化

((a) 土壌中の炭素循環, (b) 全炭素・全有機炭素濃度の経時変化, (c) 各エリア・運転期間での全炭素・全有機炭素の平均濃度：平均値±標準偏差)

Table 30 エリア間での全炭素・全有機炭素濃度変化の比較結果 (t 検定による統計解析結果)

項目名	t値					評価
	暖房運転1	冷房運転1	暖房運転2	冷房運転2	通年	
全炭素	-0.255	0.360	0.176	1.861	0.509	すべて有意差なし
全有機炭素	-0.286	0.000	0.000	1.865	0.200	すべて有意差なし
使用データ	1-1～2-1	2-1～2-3	2-3～3-1	3-1～3-3	1-1～3-3	
棄却値	2.228				2.032	

(4) 窒素循環に関わる微生物

Fig. 37 に土壌中の窒素循環に関わる微生物および関連物質の関係性を示した。窒素循環に関わる微生物はすべて検出下限値未満であった。また、アンモニア性窒素および硝酸性窒素濃度も検出下限値未満であった。全窒素は、暖房運転 2 前試料(A2-3, B2-3) でのみ検出された (A2-3, B2-3 とも 3 mg/kg)。関連する微生物および化学成分がほとんど検出されなかったため、t 検定による評価は行わなかった。なお、暖房運転 2 前試料(A2-3, B2-3) でのみ全窒素が検出された要因としては、硫酸イオンの増加と同様に外部からの流入の可能性が考えられる。

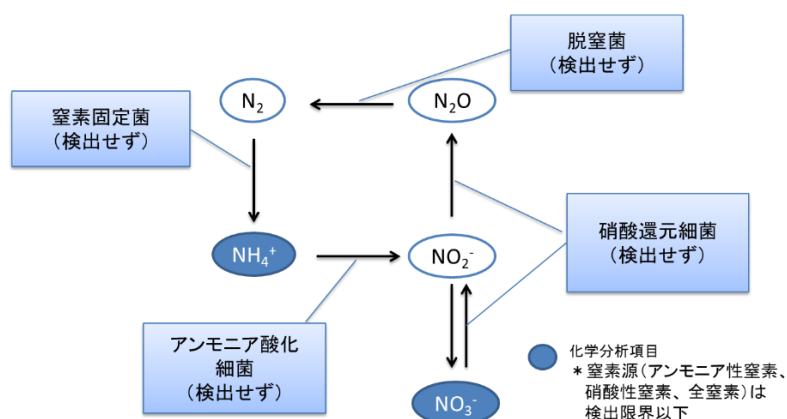


Fig. 37 窒素循環に関わる微生物および関連する化学成分

(5) pH およびリン濃度

Fig. 38 に pH の経時変化および平均濃度を示した。また、t 検定による pH のエリア間での比較結果を Table 31 に記した。運転期間中の pH は、両エリアともに同じ範囲 (加熱エリア: 6.1～7.4, バックグラウンドエリア: 6.1～7.0) で推移し、両エリアでほぼ同じ pH を維持していた。

統計解析 (t 検定) の結果、冷房運転 2 では t 値が 2.402 と棄却値 (暖房・冷房運転: 2.228) よりも大きく、エリア間で有意差が認められた (Table 31)。しかし、冷房運転 2 期間中の両

エリアの pH は一般的な土壌の pH (3.5~8.5, 久馬(1997)他) の範囲内であることから、地盤温度変化による影響はないと考えられる。冷房運転 2 以外の運転期間では、 t 値は 0.722~2.013 と棄却値よりも小さな値となり、エリア間で有意差は認められなかった。

溶出溶液のリン濃度は検出下限値未満であった。本研究の土壌は栄養塩濃度が低く、水に溶出する形態のリンが極めて少なかったものと考えられる。

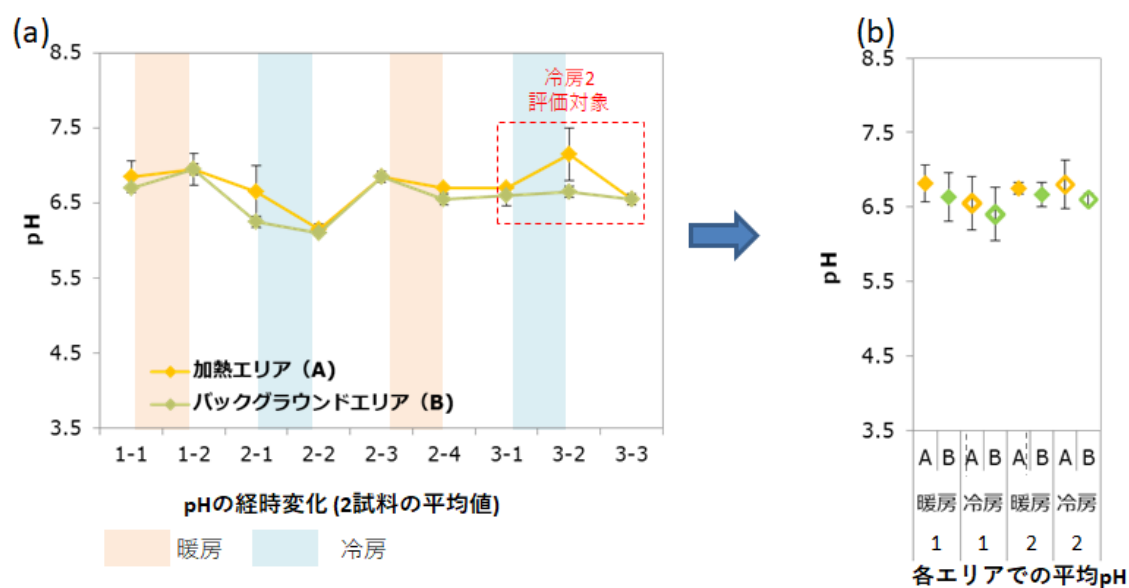


Fig. 38 pH の経時変化

((a) pH の経時変化, (b)各エリア・運転期間での平均 pH: 平均値±標準偏差)

Table 31 pH 変化のエリア間での比較結果 (t 検定による統計解析結果)

項目名	t値					評価
	暖房運転1	冷房運転1	暖房運転2	冷房運転2	通年	
pH	1.108	0.722	2.013	2.402	1.765	冷房運転2で 有意差あり
使用データ	1-1~2-1	2-1~2-3	2-3~3-1	3-1~3-3	1-1~3-1*	
棄却値	2.228				2.032	

*冷房運転期間2を除いた期間(1-1~3-1)のデータを用いて解析

4.4 まとめ

地中熱利用により生じる地中の熱変動や地下生態系（土壌微生物）の変化を現場環境で再現したフィールド試験を実施し、種々の環境微生物解析手法にて解析することにより、地中熱利用が地下の微生物群集に与える影響を定量的に評価した。2 年間の GSHP システム（HGHE）による冷暖房運転において、6.0～30.8℃の範囲で変動する実証フィールドの土壌（火山灰質粘性土）を経時的にサンプリングし、微生物分析および土壌溶出溶液の化学分析を実施した結果、地中熱利用による地盤温度変化が地下微生物生態系へ及ぼす影響は少ないものと考えられる。ただし、地下微生物の分野においては未だ解明されていない点が非常に多く、本研究の成果はすべての土壌に適用できるものではなく、限定的な結果であることも認識しておく必要がある。

以下に、各々の調査結果をまとめた。

① 病原性細菌の調査

- ・BSL2 以上の病原性細菌種を含む細菌属（病原性を持つ可能性がある細菌）は 3 属検出された。
- ・検出された細菌属の細菌数は、加熱エリア、バックグラウンドエリアで類似した傾向で推移し、各細菌属の存在割合の経時変化は、エリア間で有意な差が認められなかった。
- ・検出された細菌属は土壌を生息域とする細菌であり、試験フィールド土壌中にもともと存在していたものと考えられる。

② 微生物群集構造の調査

- ・暖房運転 2 で他の期間と比較して微生物群集構造の変化（非類似度の上昇）が認められたが、時間経過（地盤温度の回復）によって変化前と類似した群集構造に戻ることが確認された。
- ・両エリアの微生物群集構造は、時間経過に伴って同様の傾向で変化しており、微生物群集構造の経時変化はエリア間で有意な差は認められなかった。

③ 物質循環に関わる微生物群集の調査

- ・特定の運転期間にて、硫酸イオン濃度（暖房運転 1）、pH（冷房運転 2）の経時変化にエリア間で有意差が認められたが、両エリアでの硫酸イオン濃度、pH はいずれも基準値の範囲内であった。
- ・硫酸イオンおよび pH 以外の化学成分の濃度変化および物質循環に関わる微生物数の変化は、すべての運転期間においてエリア間で有意な差が認められなかった。

第5章 水平型地中熱交換器の数値シミュレーション

現状、GSHP システムの設計において地中蓄熱をあらかじめ定量的に考慮することはできないが、実用的に十分な精度で地盤温度を再現しうる簡素化した数値モデルを構築することで、地中蓄熱と地下生態系の双方に配慮したシステム設計が可能になると考えられる。地下生態系に配慮した浅部地中熱利用の可能性を目的として、実証フィールドでの GSHP システムの冷暖房運転データを使用し、HGHE の数値シミュレーションモデルを構築した。また、構築した数値モデルを用いて、地表面からの熱流入状況および地盤浅部に設置した地中熱交換器の採放熱状況を再現した。任意に条件を設定した水平型地中熱交換器による冷暖房運転の予測計算を行うことで、熱源水温度の変動による適正な熱源容量の検討や、採熱・放熱の影響範囲を容易に可視できると考えられる。

5.1 数値シミュレーションモデルの概要

5.1.1 シミュレーションモデル条件

実証フィールドのシミュレーションモデルの構築には、三次元地下水流動・熱輸送シミュレーションソフト FEFLOW ver.6.2 (DHI-WASY 社製) を用いた。Fig. 39 に作成した 3 次元モデル全体図を示す。モデル内には実証フィールドと同様に加熱エリアおよび熱影響の無いバックグラウンドエリアを設けた。モデル側面の影響を抑えるために、加熱エリアから十分な余白範囲を設け、モデルのサイズを $(x, y, z) = (25.5 \text{ m}, 30 \text{ m}, 10 \text{ m})$ とした。

モデルの層数は合計 30 層、メッシュの要素数は 1 層あたり 7,045 個とした。地質条件はフィールドに合わせて地表面から深度 3 m までをローム層 (1~28 層)、深度 6.5 m までを粘土層 (29 層)、10 m までを砂層 (30 層) として区別した。なお、深度 2 m に地中熱交換器を設けたため、ローム層は z 方向のグリッドを細分化した。Fig. 39 に示す a-a' の断面概略図、HGHE や流路を表現したモデルの拡大図、およびグリッドスケールを Fig. 40 に示す。

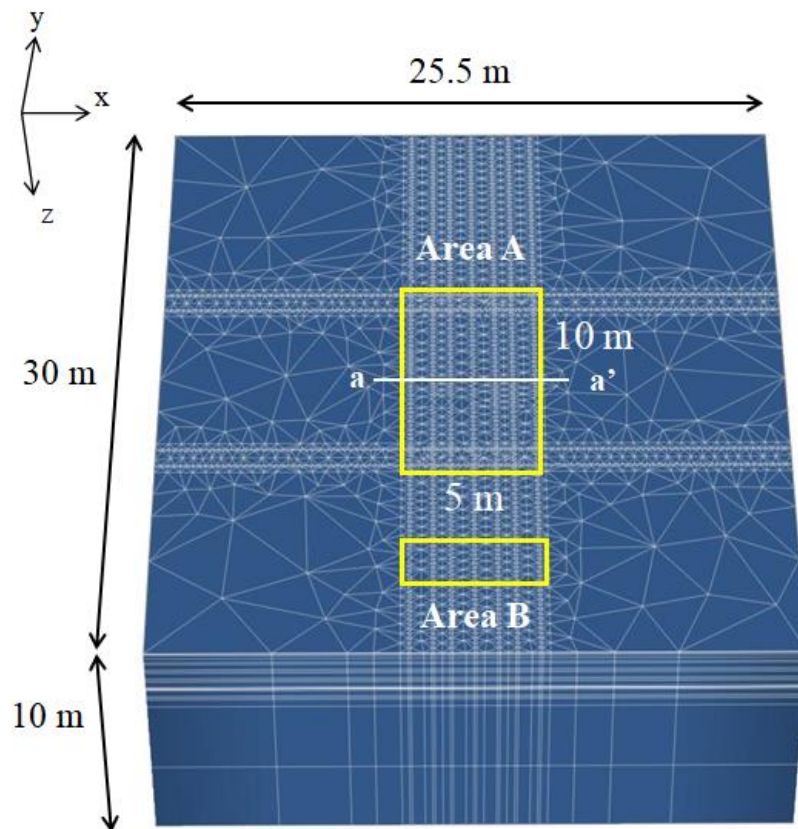


Fig. 39 The 3D view of a numerical model

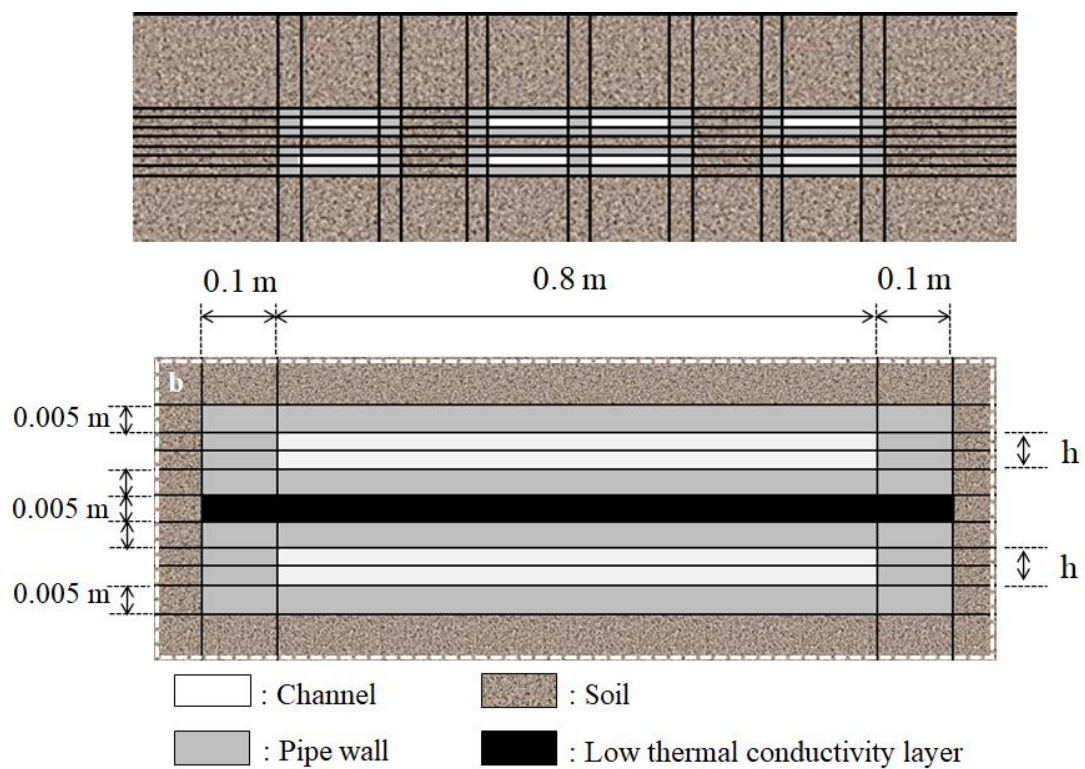


Fig. 40 Vertical section of a simulation model and the grid scale

3次元モデルを構築するにあたり、数値計算の簡便性や実用性を考慮し、Fujii et al.(2012)で提案された方法を用いて、地中熱交換器をコイル状ではなく薄い平板と見なした。平板は、埋設した地中熱交換器のコイル径および溝長さを勘案して幅 0.8 m, 全長 10 m とした。また、地中熱交換器の入口から出口までの熱媒体の到達時間を数値モデル上と実測値で一致させるため、平板の体積を地中熱交換器内の流路の体積と一致させた。したがって、平板の厚さ h は式 (1) によって $h = 0.0028$ m となり、層厚を 2 層分(16～17 層および 21～22 層)として流路をモデル上に表現した。また、平板化した流路を重ね合わせてモデル化することで、実際のコイル型地中熱交換器の重ね合わせよりも流路の熱干渉が大きくなることが予測されたため、流路間に「低熱伝導率層」を挟み込むように設定し、これらの物性値はヒストリーマッチングの変数とした。なお、2 段の地中熱交換器の管壁に相当するグリッドは 15～18 層、および 20～23 層に設定した。

$$WhL_{tr} = L_{pipe}A \quad (1)$$

ただし、

h : 流路に相当する層の厚さ [m]

W : 地中熱交換器を埋設した溝の幅 [m]

L_{tr} : 地中熱交換器を埋設した溝の長さ [m]

L_{pipe} : 熱交換器の総延長 [m]

A : パイプ断面積 [m²]

である。

5.1.2 ヒストリーマッチングにおける入力物性値および条件

シミュレーションモデル各層に入力した物性値を Table 32 に示す。土壌は不飽和であるとして、土壌を構成するローム、粘土、砂層の熱容量および熱伝導率は文献値（例えば北海道大学環境システム工学研究室, (2020), 空気調和・衛生工学会 (1981)) の範囲で 0.01 ピッチにて試行錯誤的に決定しており、孔隙率は透水性がないものとして便宜的に 1.00×10^{-4} を与えた。また、熱媒体に関しては、モデル上の流路は実際の流路と同様に不凍液のみで満たされた状態であるとして流路の孔隙率を 1.00, 熱容量は文献値（日本熱物性学会 (1990)）より、プロピレングリコール 30 wt% の値である $4.01 \text{ MJ}/(\text{m}^3 \cdot \text{K})$ とした。

Table 32 Physical property values set for each condition

	Heat capacity	Thermal conductivity
	MJ/(m ³ · K)	W/(m · K)
Flow path	4.01	-
Pipe	4.01	3.30×10^{-2}
Loam	2.68	0.95
Clay	3.06	1.10
Sand	3.03	1.53
Low thermal conductivity layer	2.68	1.00×10^{-4}

HGHE の熱容量は流路部分と同様のものを与えた。また、モデル上で平板として作成された地中熱交換器に相当するグリッドの表面積が、実際のコイル型地中熱交換器の表面積よりも大きくなるため、熱交換器のパイプに相当するグリッドに実際の熱伝導率 $0.34 \text{ W/(m} \cdot \text{K)}$ を与えると、深度方向の熱交換量が大きくなる。そのため、コイル型地中熱交換器のループピッチを考慮した式 (2) の見かけ熱伝導率の近似式 (Fujii et al., 2012) によって得られた $0.033 \text{ W/(m} \cdot \text{K)}$ をパイプと流路に与えた。なお、実際の熱交換器とモデル上の熱交換器の流速分布や流れの状態は形状の違いから異なるが、その差は式 (2) で求めた見かけ熱伝導率で包括的に考慮されるため、近似的にモデルを再現している。

$$y = 0.050x^2 - 0.11x + 0.081 \quad (2)$$

ただし、

x : ループピッチ [m]

y : HGHE の見かけ熱伝導率 [$\text{W/(m} \cdot \text{K)}$]

HGHE の設置場所が裸地の場合、地表面からの外気温や日射等が地中熱交換に与える影響は少なくないため、モデルの上面には、建物外表面の熱授受計算に使用される外気温や日射量、放射量等を考慮した相当外気温 (Sol-Air Temperature, 以降 SAT と称す) を適用し、地表面温度を再現した。SAT の算出に必要な地表面の熱伝達率や日射量、放射量は実証フィールドから約 300 m 離れた同敷地内の気象観測システムにて観測された外気温や風速、相対湿度等の実測値を用いて計算した。底面には不易層温度となる外気温平均値に 2°C 加えた 16.6°C (フィールド内測定値 $+2^\circ\text{C}$) を入力し、地盤内の各種物性値を入力したモデルにて一定期間計算した後の状態を初期温度条件として設定した。なお、不易層温度は一般的にそ

の地域の年間平均気温より 1～2℃と高い値とされている（北海道大学環境システム工学研究室, 2020）。境界条件は, 流体移動に関してモデル全体が不飽和層のため全層閉境界とするが, 地中熱交換器の流路には循環流量を与えることとした。また, 熱移動に関してはモデル上面には相当外気温を入力し, 側面境界は熱の流出入は無いものとして閉境界, さらに底面は初期条件と同様の 16.6℃で固定した。

5.2 ヒストリーマッチング

実証フィールドを再現したモデルを構築するため, 実測データを基にヒストリーマッチングを行った。対象期間は 1 年目の暖冷房運転期間を含む 2016 年 1 月 5 日から 9 月 28 日までの約 9 ヶ月間とした。入力値は地中熱交換器入口温度および循環流量の実測値を与え, 地中熱交換器出口温度および温度センサーを設置した地点の地盤温度を出力値とした。

地盤温度のうち, 深度 1.5 m, 2.0 m, 2.5 m の実測値と計算値の比較結果を Fig. 41 にそれぞれ示す。加熱エリアおよびバックグラウンドエリアにおける各深度の地盤温度の実測値と計算値は概ね良好な一致が見られた。ただし, バックグラウンド地点において 2016 年 8 月付近に温度上昇が生じているが, これは夏期の降雨浸透によるものであり, 数値シミュレーションモデル上では降雨の影響は考慮していないことから差異が生じたものと推察する。

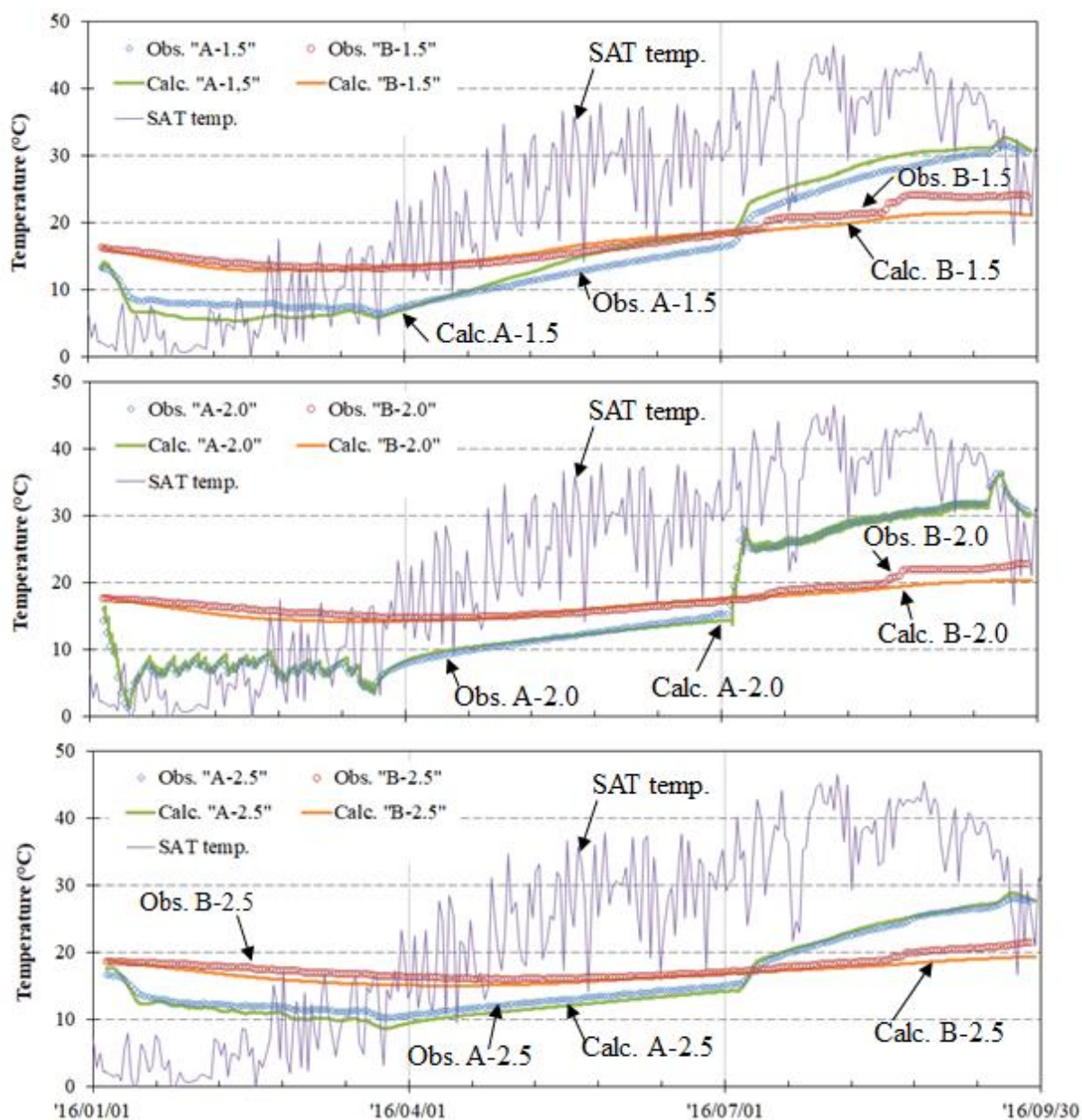


Fig. 41 Results of history matching as subsurface temperatures

暖房運転および冷房運転中の地中熱交換器出口温度の計算値と実測値の比較結果をそれぞれ Fig. 42 に示す。Fig. 42 によると、両者ともに断続的な温度比較であるが概ね良好な一致を示した。計算誤差の定量的な評価を行うために、以下の式(3)により算出される二乗平均平方誤差(Root Mean Squared Error, 以下 RMSE と示す)を求めた。

$$RMSE = \left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (T_{mea} - T_{cal})^2 \right]^{0.5} \quad (3)$$

ただし,

n : データ数 [-]

T_{mea} : 熱交換器出口温度の実測値 [$^{\circ}\text{C}$]

T_{cal} : 熱交換器出口温度の計算値 [$^{\circ}\text{C}$]

である。

式 (3) により, 暖房運転時の RMSE は 0.81°C , 冷房運転時の RMSE は 1.02°C となった。運転中の地中熱交換器出口温度は計算値と実測値に一定の温度差が生じる結果ではあるものの, 上述したように夏期の降雨による上面からの影響は反映していないことが誤差の要因と考えられる。また, ヒートポンプまでの横引き配管が長く簡易的な断熱は施しているものの, 一部が地上部に露出している状態であり数値モデル上で表現しきれていないことも, 実測値との誤差が生じた一因と推定される。

以上より, 本実証フィールドにて得られたデータを基に, HGHE を近似的に再現した数値シミュレーションモデルを構築し, モデルの妥当性を確認することができた。

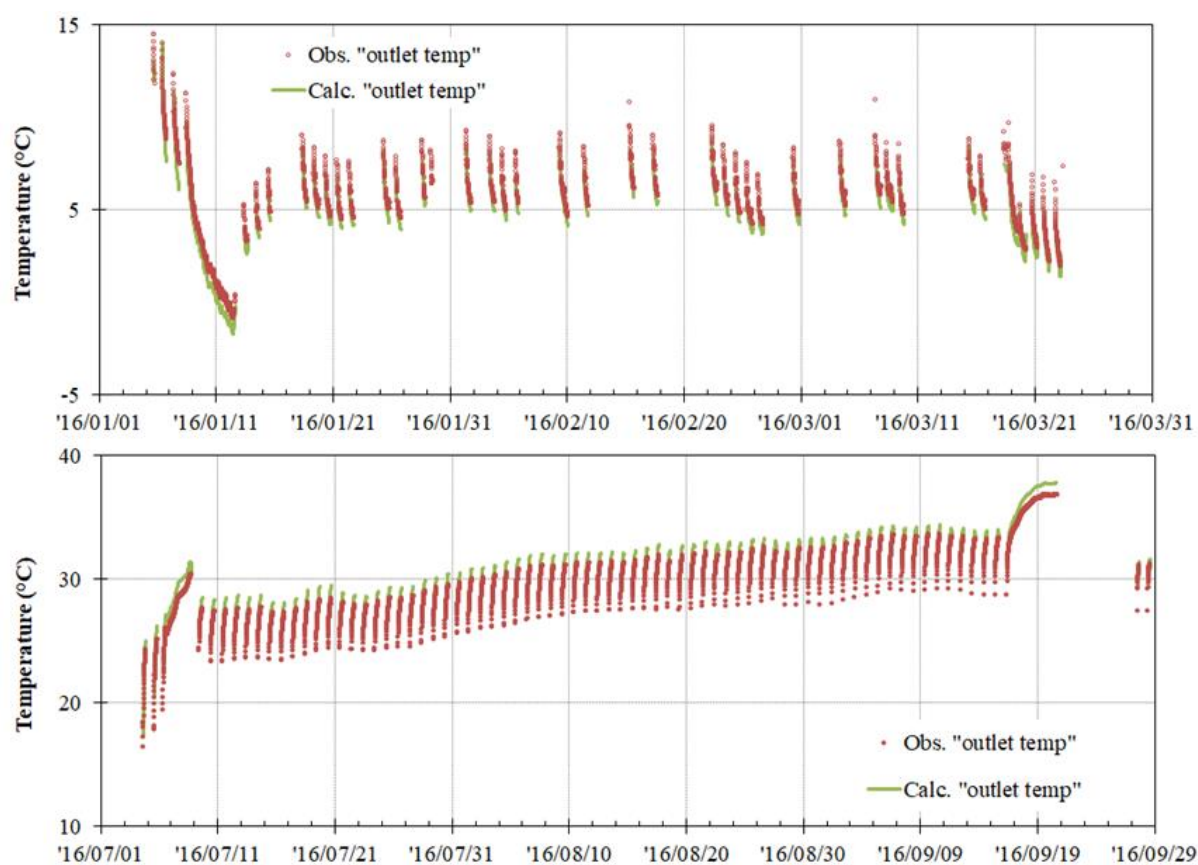


Fig. 42 History matching results of HGHE outlet temperatures during heating and cooling operation

5.3 数値シミュレーションモデルによる地盤内温度影響範囲予測

GSHP システムにおいて、冷暖房運転中の熱源水温度（特に、GSHP 入口温度となる地中熱交換器出口温度）が外気温（空気熱源ヒートポンプ入口温度）より夏期は低く、冬期は高くなる状態が継続されれば、外気を熱源とする空気熱源ヒートポンプに比べて GSHP の運転性能が向上し、省エネルギーであることを証明できる。したがって、その際の地中熱源容量（地中熱交換器の総延長）が最適な設計となる。一方で、蓄熱を考えた場合、多少の過負荷運転は冷暖房の次のシーズンに有利な地盤温度状況になることが期待される。ただし、過剰な運転は地盤内に存在する微生物等への生態系に影響が生じることも考えられる。第 4 章では本実証フィールドにおいて GSHP システム運転による地下生態系への影響を評価し、当該フィールドにおける評価用サンプリング土壌付近の地盤温度 (E-2.0) が、 $6.0\sim 30.8^{\circ}\text{C}$ の範囲では地下微生物に影響がないことを確認している。設置場所により存在する地下微生物は異なるため、どの場所でも上記温度範囲であれば影響はないとは言い切れないものの、GSHP システムの地中熱交換器を数値シミュレーションで表現できれば、地下生態系への影響を及ぼすような過剰な運転とならない温度範囲を確認し、数値モデル上で様々な熱負荷や運転方法の検討が可能である。また、地中採放熱による温度影響範囲を把握することで、例えば複数の HGHE を設置する際に熱干渉しない配置の検討や運転方法の検討ができるようになる。さらには、既に導入された GSHP システムにおいて、より省エネルギーとするための運用を改善するコミッショニングにも有効であると考ええる。

本節では、実証フィールドを再現した HGHE の数値シミュレーションモデルを用い、熱負荷を任意に与えた場合の計算により地盤温度状況を推定し、シミュレーション結果から推定される温度影響範囲について考察することを目的とした。

数値計算は冷暖房運転を 1 年間行い、それぞれ 1 日 8 時間運転の断続運転で 3 ヶ月ずつの期間とした。本実証フィールドに設置したヒートポンプ出力（定格暖房能力 4 kW での採熱量 3.72 kW、定格冷房能力 5 kW での放熱量 4.86 kW）に応じた地中熱交換量を任意に設定し、熱交換器の設置面積 (50 m^2) あたりの地中熱交換量を定めた。Case 1 は定格出力の 50% の負荷を想定し、年間の地中熱交換量は暖房、冷房それぞれ 26.8 kWh/m^2 、 35.0 kWh/m^2 の累積値を与えた。また、Case 2 は定格出力の 30% を想定し、同様に 16.1 kWh/m^2 、 21.0 kWh/m^2 の累積値を与えた。共通の条件として、運転中の循環流量は運転実績の平均値を用い（冷房時：23.0 L/min、暖房時：18.3 L/min）、地表面温度の境界条件は 5.1.2 で求めた 1 年間の相当外気温を算出し入力した。Table 33 に本研究に用いた GSHP システムの仕様およびケーススタディの運転条件を示す。

Table 33 Simulation conditions in case studies

項目	単位	暖房	冷房	備考
ヒートポンプ定格出力	kW	5.00	4.00	
ヒートポンプ消費電力	kW	1.39	1.00	循環ポンプ含む
循環ポンプ消費電力	kW	0.11	0.14	
地中熱交換量	kW	3.72	4.86	
循環流量	L/min	18.3	23.0	実績値参考
運転時間	h/year	720	720	1日8時間×3か月
HGHE敷設面積	m ²	50		
HGHE敷設長さ	m	80		
Case1	%	50%		
地中熱交換量	kW	1.86	2.43	
地中熱交換量累計値	kWh	1,339	1,748	
	kWh/m ²	26.8	35.0	
	kWh/m	16.7	21.9	
Case2	%	30%		
地中熱交換量	kW	1.12	1.46	
地中熱交換量累計値	kWh	803	1,049	
	kWh/m ²	16.1	21.0	
	kWh/m	10.0	13.1	

Fig. 43 には運転期間中の地中熱交換器出口温度、および空気熱源ヒートポンプとの効率比較の観点から日別外気温実測値（暖房時の採熱期間は日最低値、冷房時の放熱期間は日最高値）を示す。Case 1 では地中熱交換器出口温度が $-6.7\sim 46.5^{\circ}\text{C}$ の範囲で推移しており、土壤の大幅な温度変動が推測される。Fig. 43 によると、ほとんどの期間で地中熱交換器出口温度が外気温を超える運転となり、地中熱源の優位性がほぼなく効率が低下する過剰な運転であることが示された。したがって、当該条件では地中熱源容量が不足することが懸念される。また、本実証フィールドで生態系への影響がないと判断した評価用土壌サンプリング付近の地盤温度 (E-2.0) が $-1.4\sim 39.7^{\circ}\text{C}$ の範囲で推移しており、誤差を勘案しても生態系への影響が懸念される温度変動と推定される。

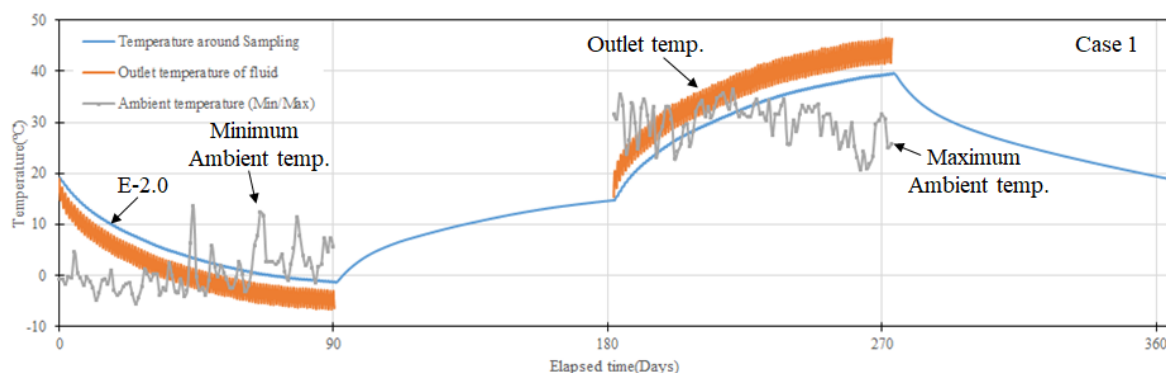


Fig. 43 Simulation results of outlet temperatures in Case 1

Case 1 における冷房運転の温度影響範囲を確認するため、冷房運転終了直後（273 日目）の数値シミュレーションモデル上における温度の等値線図を Fig. 44 に示す。Fig. 44 は数値モデルの x-z 断面であり、切断面は y 方向の中間地点（Fig. 39 の a-a' に相当）である。地盤温度は HGHE の設置箇所を中心にほぼ左右対称に均一に広がっており、HGHE 付近は 40℃（一点鎖線）を越えているものの、その影響は深度 2 m に設置した HGHE に対し 40℃以上の範囲が垂直（z）方向で深度 1.6～2.3 m の範囲と限定的であった。また、図の x 方向（水平方向）は HGHE の設置幅 5 m に対し 40℃以上となる範囲は 5.2 m であったため、HGHE の設置幅を勘案すると外側の土壤に広がる熱の範囲はわずか片側で 0.1 m 程度である。一方、生態系に影響がないとしている上限温度の約 30℃（点線）の到達範囲についても、水平方向（x 方向）への広がり小さく、HGHE の設置範囲（5 m）に対し 6.4 m であり、熱交換器よりも外側の土壤に広がる熱の範囲は片側約 0.7 m の範囲に収まっている。また、垂直方向（z 方向）においては、30℃を超える温度範囲は深度 0.7～3.0 m であり、図の通り楕円状に温度が広がっている様子が見られた。

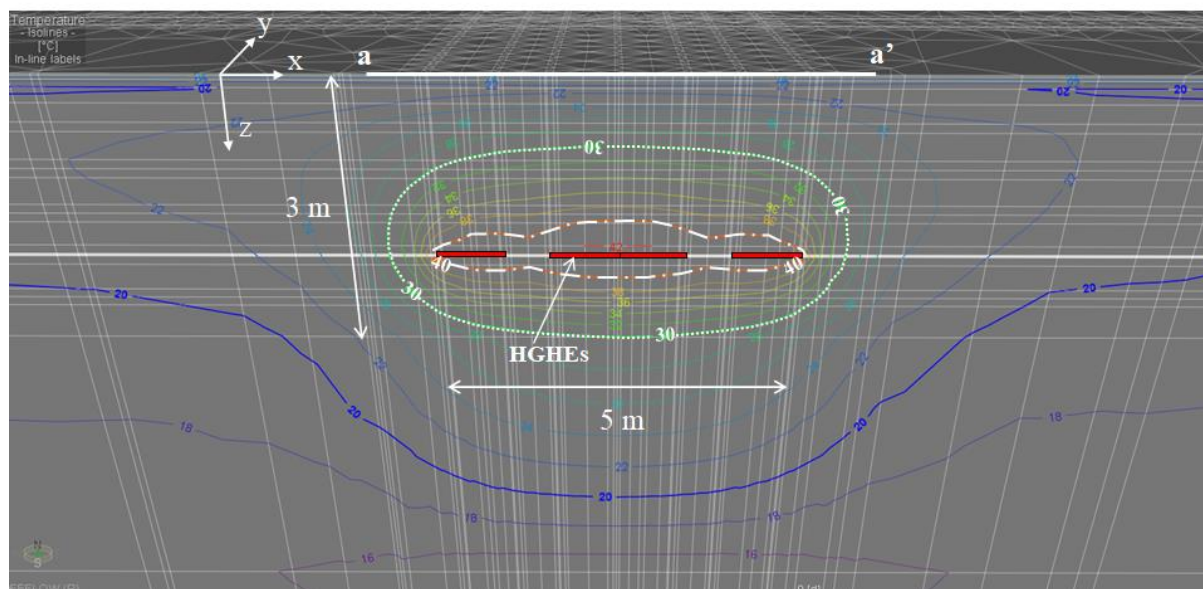


Fig. 44 The range of heat dispose effect during peak cooling operation (Case 1)

次に、Case 2 の計算結果を Fig. 45 に示す。Case 2 における地中熱交換器出口温度は 2.6～34.7℃の範囲で推移した。Fig. 45 の地中熱交換器出口温度および日別外気温の比較結果より、外気温が優位な期間が後半に多少現れるものの、おおよそ地中熱源が外気に対し優位な運転を継続していることが示された。また、E-2.0 は 5.8～30.7℃の範囲で推移しており、本フィールドで地下微生物に影響がない温度範囲（6.0～30.8℃）内であることが示唆された。さらに、温度影響範囲として夏期の冷房運転終了直後に温度が 30℃以上になる範囲は HGHE 設置の z 方向で深度 1.3～2.4 m、x 方向で 5.5 m の範囲であるため、設置幅よりも片側 0.25 m 外側までしか影響する熱の広がりはないことが推定された。HGHE は特に水平方向(x 方向)の熱の広がりが小さく、設置箇所以外に熱の影響が及ぶ範囲は小さいと考えられる。したがって、当該条件では地下生態系に影響を及ぼす範囲は非常に小さく、GSHP システムによる冷暖房運転を環境負荷を抑えて行うことが可能と推定される。以上のことから、Case 2 の負荷条件であれば本実証フィールドにおける GSHP システムは地中熱の優位性を保持した運転が可能であると推定される。また、地中の採放熱による温度影響範囲は限定的であることが数値シミュレーション結果から得られた。本計算条件では簡易的に運転時間や熱交換量を一定としたため、実際の運用とは異なるものの、GSHP システムの数値シミュレーションモデルを構築することで、より実態に合った運転条件での予測計算や、長期運転を見据えた地盤温度の経年変化の確認等に有用なツールとして利用できると考える。

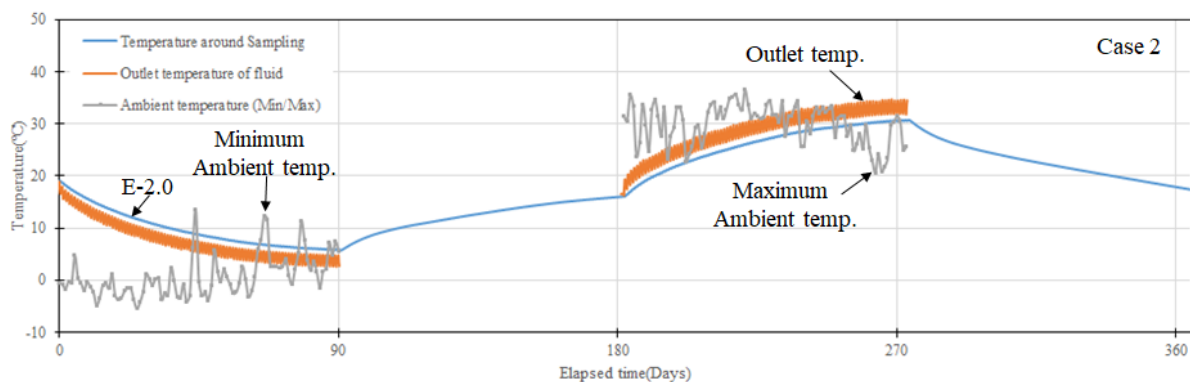


Fig. 45 Simulation results of outlet temperatures in Case 2

5.4 まとめ

本実証フィールドにおいて近似式を利用した HGHE の数値シミュレーションモデルを構築した。また条件を任意に設定した予測計算結果を基に、一般的なヒートポンプエアコンの熱源となる外気温と本システムの熱源となる地盤温度との優位性比較を行った。さらに、計算結果から HGHE 周辺の地盤温度の影響範囲は、冷房運転終了直後の HGHE 直近では高温となるが、その温度影響範囲は小さいことを示した。

HGHE の導入を検討する際、場所によって設置環境や設置方法、地盤内の物性値は様々であり、シミュレーションモデルも都度構築する必要がある。一方で、シミュレーションにより様々な運転ケースを想定した予測計算を行うことができ、地盤内の温度影響範囲や熱源水温度の変動予測により最適な運転条件の推定や、長期運転を見据えた地盤温度の経年変化の確認等に有用なツールとして利用できると考える。シミュレーションによる検討は、システムの導入・運用において重要な要素であり、モデルの構築や計算は短時間で実施する必要がある。本研究では、スリンキー型の HGHE により冷暖房運転を実施し、近似式を用いた HGHE のシミュレーションモデルの構築によって簡素化した予測計算を行うことができた。

GSHP システムの優良実績を積み上げるには、導入箇所の条件に応じた適切な設計に基づき、より省エネルギーで高効率な運転を継続することが重要である。広域的なモデルのみならず、このような局所的なモデルの構築と活用も最適な設計や運転のために必要なツールになると考えられる。

第6章 総括

地中熱利用が地盤環境に及ぼす影響について事前に把握・評価し、持続可能な地中熱利用に繋げることは重要である。地中を熱源とする GSHP システムの適切な設計は、外気を熱源とする汎用的な空気熱源ヒートポンプシステムと比較する場合、地中熱交換器周辺の地盤温度が夏季は外気温より低く、冬季は外気温より高い状態でシステムを稼働することである。これにより地盤温度が少なからず自然状態から変化し、地下微生物に何らかの変化を与えていると考えられるが、それが地上で生活するヒトや動物、さらには植物にとって影響を及ぼすものであるかを定量的に示した事例はこれまで見られなかった。

従来の地中熱利用に関する微生物解析・評価方法は定性的な評価に限られていた。しかし、評価にあたっては時間の経過によっても大きく変化する微生物に対して、できる限り様々な外的要因を排除し、実態に合わせた熱影響下で定量的に示すことが重要である。

本研究では、適切な設計下での地中熱利用によって生じる温度変動範囲を現場環境で再現したフィールド試験を実施し、深度 2 m の浅部地盤に設置した水平型地中熱交換器の温度変動特性について検討した。また、不飽和層における地中熱利用が地下微生物群集構造に与える影響について定量的な評価を行った。さらに、得られた試験データを活用して水平型地中熱交換器の数値シミュレーションモデルを構築し、負荷の違いによる地盤の温度変動範囲を推察した。

本論文第 2 章では、土壤に生息する微生物のうち細菌を対象とする分析としたことから、環境中に生息する微生物に影響を与える要因（生育場所、温度、pH、水分、栄養素）と微生物の特徴（物質循環、病原性、移動性、分類）についてまとめた。そして、バイオレメディエーション利用指針に記載されている利用微生物の選定基準や地下環境の微生物への影響調査方法をもとに、地中熱利用による地盤温度変化が原位置の地下微生物に与える潜在的な影響を抽出し、それらを評価するための判断基準を設定した。

- ① 地中熱利用によって原位置に生息する病原性細菌が増加しないこと。
- ② 熱影響のある土壤の群集構造が熱影響のない土壤の群集構造に比べて極端に変化しないこと。
- ③ 関連する微生物数、土壤の化学成分濃度が大きく変化しないこと。
- ④ 変化しても地中熱利用終了後に回復すること。

なお、地中熱利用による地盤温度変化が微生物に与える潜在的な影響を以下のように設定した。

- (1) 地中熱利用によって動植物ならびにヒトに対して病原性を保有する微生物が増加する。

(2) 地中熱利用により地下微生物群集が影響を受けたことによって、本来あるべき土壌としての機能（生物遺体や廃棄物などの有機物を分解し、環境中での物質循環を担う機能）が失われ、かつ、その状態が長期間継続的に維持される。

また、本研究にて影響評価を行う分析方法および統計解析について概説し、微生物の応答および影響の有無を判断するために必要となる定量的な調査方法について示した。

本論文第3章では、茨城県つくば市の実証フィールドにて取得したデータを用いて、浅部地盤における GSHP システムの有効性を検討した。地盤温度特性を含めて得られた知見は以下のとおりである。

- ① 降水量が認められた時点で地盤温度が上昇・低下している状況が見られ、特に夏期の降水量が多い日に顕著な温度上昇が確認された。これは外気温の影響を受けた降雨が地中へ浸透した影響であると推定する。
- ② 浅部地盤温度は深度方向に伴い温度変化の振幅が徐々に小さくなり、かつ最大・最小値のピークが遅れる事象が見られた。年間を通して外気温は日平均で温度差 $\Delta T = 31.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ の範囲で推移した一方で、深度 2.0 m の地盤温度は $\Delta T = 8.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ と小さい振幅であった。
- ③ ピーク値の遅れは夏期の最高気温観測日から 50 日後に深度 2.0 m で最高値を迎え、冬の最低気温観測日から 88 日後に深度 2.0 m の最低値となった。

極値が遅れる期間は地表面の状態により様々であると考えられるが、いずれにしても外気温に比べて浅部地盤の温度変化は小さく、その極値は外気温の極値とは時間的に大きく異なるため、その時間差を活かした熱利用が期待できる。GSHP システムの導入を考えた場合、浅部地盤であっても十分に熱利用できる可能性があり、これらの特性を把握した設計は、低コストでの導入が可能な GSHP システムの熱源になると考えられる。また、今回の取得データのように繰り返す運転は一定条件ではないため、蓄熱された温度差がヒートポンプ効率にどれだけ寄与したかを定量的に評価することは難しいが、例えば数値シミュレーションによって条件を一定とした場合に生じる温度差と、それが寄与する各パラメーターとの関係を推測することは可能と考えられる。

本論文第4章では、地中熱利用による地盤温度変化が微生物に与える潜在的な影響について、評価フローをまとめた。その上で微生物分析および土壌溶出溶液の化学分析を行い、評価フローに基づき評価を実施した。調査結果は以下の通りである。

- ① 病原性細菌の調査において、サンプリング試料に潜在的病原性細菌が3種類検出されたが、これらの細菌は実証フィールドの土壌中に元々存在していたものであり、地中熱による熱影響が直接作用して出現したものではないと考える。
- ② 熱影響あり・なしの両エリアにおける微生物群集構造（種類と存在割合）の調査では、

2年目の暖房運転前後で微生物群集構造の変化が認められた。ただし、両エリアともに同様の微生物群集構造が確認されたことから、その変化は熱影響以外の要因かつ一時的なものである可能性が高い。

- ③ 微生物の物質循環に関わる代謝機能の観点から、関連する微生物数の定量および土壌溶出溶液中の化学成分濃度を測定した。その結果、検出された関連物質および関与する微生物は7項目であり、熱影響あり・なしのエリア間で有意差が認められたのは硫酸イオンおよび pH であった。ただし、絶対量としては一般的な数値を示していることから、地盤温度変動による地下微生物への影響は小さいものと判断した。

以上より、年間の実稼働を想定した GSHP システムの空調利用によって、本フィールド土壌の地盤温度を変化させた範囲では、地下微生物生態系への影響は小さいものと考えられる。ただし、地下微生物の分野においては未だ解明されていない点が非常に多く、本研究の成果は一部であり、“普遍的”な評価手法を確立できるような段階にまで至っていないことも認識しておく必要がある。今後は、土壌のサンプル数を増やし本評価技術が広く適用できるよう解析結果を積み重ねていくことが重要である。

本論文第5章では、フィールド試験による GSHP システムの冷暖房運転データを使用し、HGHE の数値シミュレーションモデルを構築した。また、条件を任意に設定した予測計算結果を基に、一般的なヒートポンプエアコンの熱源となる外気の温度と本システムの熱源である地中の温度との優位性比較を行った。さらに、計算結果から HGHE 周辺の地盤温度の影響範囲は、冷房運転終了直後の HGHE 直近では高温となるが、その温度影響範囲は小さいことを示した。

GSHP システムの数値シミュレーションモデルを構築することは、最適な運転条件での予測計算や、長期運転を見据えた地盤温度の経年変化の確認等に有用なツールとして期待できる。特に HGHE の設置箇所周辺の地盤温度予測については、実証フィールドを構築しなくても地下生態系への影響が懸念される温度域、あるいは影響のない温度範囲を予測可能であると考えられる。そのためには、シミュレーションモデルの構築や計算は短時間で実施することが望ましく、本研究では HGHE におけるシミュレーションモデルの一つの成果とすることができた。今後 GSHP システムの優良実績を積み上げるには、導入箇所の条件に応じた適切な設計に基づき、より省エネルギーで高効率な運転を継続することが重要である。広域的なモデルのみならず、このような局所的なモデルの構築も最適な設計や運転のために必要なツールになると考えられる。

GSHP システムの地下への採放熱による地下生態系への影響を明らかにするため、本研究では水平型地中熱交換器を用いた GSHP システムの利用可能性と地下生態系への影響に関する評価方法を提案し、フィールド試験・微生物分析・数値シミュレーションによりその有効

性を実証した。本研究において限定的ではあるが、適正な設計下での GSHP システムの運転では地下微生物生態系への影響は見られないことを検証し、一つの定量的な評価結果を示すことができた。

今後、再生可能エネルギーの大量導入となる脱炭素社会を目指すにあたって、現状は太陽光や風力等の再生可能エネルギーの普及が先行しているが、カーボンニュートラル達成のためには地中熱などの再生可能エネルギー熱も普及拡大が必要な技術分野であると考えている。一方で地中熱のリスクマネジメントとして、地盤環境に及ぼす影響を考慮すべきであることも導入を推進する上では同時に考えておくべき事項である。本研究結果が今後の地中熱分野において考慮すべき一つの指標になれば幸いである。

参考文献

- (1) 経済産業省資源エネルギー庁 (2014) エネルギー基本計画, 26p.
- (2) IEA, Renewables 2019 Market analysis and forecast from 2019 to 2024 (2019)
- (3) John W. L and Aniko N. T, Direct Utilization of Geothermal Energy 2020 Worldwide Review, World Geothermal Congress 2020 (2020)
- (4) NPO 地中熱利用促進協会, 地中熱利用の概要, <http://www.geohpaj.org/introduction/index1/types>
- (5) 国土交通省国土技術政策総合研究所・国立研究開発法人建築研究所, 平成 28 年省エネルギー基準 (非住宅建築物) 地中熱ヒートポンプシステムの熱源水温度計算方法, 4p.
- (6) 国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (2020) NEDO40 年史, 112p.
- (7) 環境省 (2015) 地中熱利用にあたってのガイドライン改訂版, p.38
- (8) 環境省 (2008) 環境省平成 20 年度クールシティ推進事業「地中放熱による土壌内生態系への影響調査」報告書, p.61
- (9) Bonte, M., Röling, W.F.M., Zaura, E., van der Wielen, P.W.J.J., Stuyfzand, P.J., van Breukelen, B.M.(2013). Impacts of shallow geothermal energy production on redox processes and microbial communities. *Environmental Science and Technology*, 47, 14476-14484
- (10) Bonte, M., Stuyfzand, P.J., van Breukelen, B.M. (2014). Reactive transport modeling of thermal column experiments to investigate the impacts of aquifer thermal energy storage on groundwater quality. *Environmental Science and Technology*, 48, 12099-12107
- (11) Zogg, G.P., Zak, D.R., Ringelberg, D.B., White, D.C., MacDonald, N.W., Pregitzer, K.S. (1997). Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Science Society of America Journal*, 61, 475-481.
- (12) Schindlbacher, A., Rodler, A., Kuffner, M., Kitzler, B., Sessitsch, A., Zechmeister-Boltenstern, S. (2011). Experimental warming effects on the microbial community of a temperate mountain forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(7), 1417-1425.
- (13) Kuffner, M., Hai, B., Rattei, T., Melodelima, C., Schlöter, M., Zechmeister-Boltenstern, S., Jandl, R., Schindlbacher, A., Sessitsch, A. (2012). Effects of season and experimental warming on the bacterial community in a temperate mountain forest soil assessed by 16S rRNA gene pyrosequencing. *FEMS Microbiology Ecology*, 82(3), 551-562.
- (14) DeAngelis, K.M., Pold, G., Topçuoğlu, B.D., van Diepen, L.T. A., Varney, R.M., Blanchard, J.L., Melillo, J., Frey, S.D. (2015). Long-term forest soil warming alters

- microbial communities in temperate forest soils. *Frontiers in Microbiology*, 6, 104
- (15) Tang, F., Lahoori, M., Nowamooz, H., Rosin-Paumier, S., Masrouri, F. (2021) A numerical study into effects of soil compaction and heat storage on thermal performance of a Horizontal Ground Heat Exchanger. *Renewable Energy*, 172, 740-752.
- (16) 津谷俊介・藤井光・小助川洋幸 (2020) Slinky-Coil 式水平型地中熱交換器における地表面被覆と熱交換能力の関係について, 日本地熱学会誌, 42, 15-27.
- (17) Zanchini, E., Lazzari, S., Priarone, A. (2012) Long-term performance of large borehole heat exchanger fields with unbalanced seasonal loads and groundwater flow. *Energy*, 38, 66-77.
- (18) 藤井光・尾ヶ井佳祐・ハディ ファラビ アスル・石上孝・谷口聡子 (2017) 鉄道トンネル下床版下に設置した Slinky-coil 式地中熱交換器の挙動解析と数値シミュレーション, 日本地熱学会誌, 39, 157-165.
- (19) Congedo, P.M., Colangelo, G., Starace, G. (2012) CFD simulations of horizontal ground heat exchangers: A comparison among different configurations, *Applied Thermal Engineering*, 33-34, 24-32.
- (20) Fujii, H., Nishi, K., Komaniwa, Y., Chou, N. (2012) Numerical modeling of Slinky-coil horizontal ground heat exchangers. *Geothermics*, 41, 55-62.
- (21) 北海道大学環境システム工学研究室 (2020), 地中熱ヒートポンプシステム (改訂 2 版), 9p, 46p.
- (22) Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., Clark, D.P. (2012). *Brock biology of microorganisms*, Benjamin Cummings, 1152p.
- (23) C.L.Lauber, M. R. (2009). Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 5111-5120.
- (24) K.Brenzinger, P. G. (2015). pH-driven shifts in overall and transcriptionally active denitrifiers control gaseous product stoichiometry in growth experiments with extracted bacteria from soil. *Frontiers in Microbiology*, 24, 1-11.
- (25) TW. L and Aniko N.John. (2020). Direct Utilization of Geothermal Energy 2020 Worldwide Review. *World Geothermal Congress 2020*.
- (26) Y.Wu, J. Q. (2015). pH is the primary determinant of the bacterial community structure in agricultural soils impacted by polycyclic aromatic hydrocarbon pollution. *Scientific Reports*, 7, 1-7.
- (27) 高橋純子・東照雄 (2013) 北陸地方の土壌型を異にする森林土壌における 硫酸イオンの

- 断面分布と現存量, ペドロジスト, 57, 12-26.
- (28) 久馬一剛 (1997) 最新土壌学, 株式会社朝倉書店.
- (29) M.Vos, A. S. (2013). Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil. *FEMS microbiology reviews*, 37, 936-954.
- (30) Svensk Kärnbränslehantering AB. (2006). *Technical Report TR-06-19 : Geosphere process report for the safety assessment. SR-Can.*
- (31) J.T.Gannon, V. M. (1991). Relationship between cell surface properties and transport of bacteria through soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 190-193.
- (32) D.Or, B. J. (2007). Physical constraints affecting bacterial habitats and activity in unsaturated porous media-a review. *Advances in Water Resources*, 30, 1505-1527.
- (33) 経済産業省, 環境省 (2005), 微生物によるバイオレメディエーション利用指針, 4p.
- (34) 日本地質学会, 日本地方地質誌 3 関東地方, 2008
- (35) 高速道路調査会, 関東ロームの土工—その土質と設計・施工—, 共立出版, 1973
- (36) 新潟県 (2005) 新潟県における土づくりのすすめ方, <https://www.pref.niigata.lg.jp/uploaded/attachment/80270.pdf>, 2021/10/01 アクセス.
- (37) 青森県 (2008) 「健康な土づくり」技術マニュアル, https://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_sehi_kizyun/pdf/tuti231.pdf, 2021/10/01 アクセス.
- (38) 三原義秋 (1980) 温室設計の基礎と実際, 養賢堂, 273p.
- (39) 経済産業省・環境省 (2005) 微生物によるバイオレメディエーション利用指針の解説
- (40) 空気調和・衛生工学会 (1981) 空気調和・衛生工学便覧 II, 60p.
- (41) 日本熱物性学会 (1990) 熱物性ハンドブック, 407p.

謝辞

本論文の作成にあたり，秋田大学大学院国際資源学科の藤井光教授には格別のご指導，ご高配を賜りました。業務と勉学の両立に苦戦していた際に絶妙なタイミングで激励の言葉をいただいたことは，大いにモチベーションの向上になりました。厚く御礼申し上げます。また，副査として予備審査，本審査を通し大変有益なご助言をいただきました秋田大学大学院国際資源学研究科の長縄成実教授，石山大三教授に深く御礼申し上げます。そして，論文執筆において多大なるご協力をいただきました秋田大学国際資源学研究科の津谷駿介氏に感謝申し上げます。

本研究のとりまとめにあたっては，環境省平成 27～29 年度「環境配慮型地中熱利用システムの構築実証事業」委託業務で得られたデータを使用いたしました。当時の共同研究者である三菱マテリアルテクノ（株）の石黒幸治氏，渡部敦史氏，石上孝氏，尾ヶ井佳祐氏，中外テクノス（株）の高橋唯氏，（国研）農業・食品産業技術総合研究機構の奥島里美氏には多大なるご支援をいただきましたこと，心より御礼申し上げます。

最後に，日頃より支えとなっている両親，姉，親友にこの場を借りて感謝の意を表します。