

透水性の低下における微生物機能の活用に関する研究

長野高専 学生会員 横山 珠美
正 会 員 浅野 憲哉
正 会 員 畠 俊郎

1 はじめに

微生物の代謝機能を利用して非掘削で原位置透水性を制御する技術の開発を進めている．現在までに微生物機能により炭酸カルシウムを析出・再溶解させる効果が認められており，炭酸カルシウムの再溶解は間隙水の pH を 5.5 以下に低下させることが重要であると明らかになった．これまでの検討から，有機物濃度が透水性および有機酸の組成に関与している可能性が示されているが，微生物濃度が透水性や有機酸の組成に与える影響などについては未解明な点が多い．以上の状況を踏まえ，微生物濃度を 2 段階に設定した連続透水試験を実施して透水係数, pH, 有機酸濃度推移の比較検討を行い, PCR-DGGE 法による微生物群集構造解析を行った．

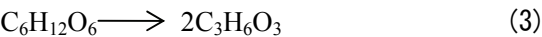
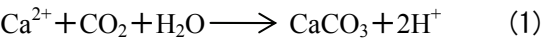
2 研究フレームおよび手法

2-1 試験の概要

微生物機能に伴う炭酸カルシウムの析出および再溶解が地盤の透水性および有機酸の組成に与える影響の検証を目的とした連続透水試験器の概略を図-1 に示す．本研究では，砂層地盤を想定して豊浦砂を使用し，定水位で試験を行った．

2-2 炭酸カルシウムの生成および再溶解メカニズム

本研究では，有機物の好気代謝と嫌気代謝によって CO₂ を発生させ，式 (1) に示すカルシウムイオンと有機物の代謝に伴い発生する CO₂ により炭酸カルシウムを生成するメカニズムと，式 (2)，(3) に示す有機物の酢酸発酵と乳酸発酵による再溶解メカニズムに着目した．



2-3 実験手順および分析項目

試験条件を表-1 に示す．豊浦砂を使用して内径 8cm，高さ 9.6cm，断面積 50.23cm² のカラムを用い，Dr=50% を目標として空中落下法により供試体を作成した．試験期間中は毎日サンプリング・透水係数測定・pH 測定を行った．分析項目，分析方法等の条件を表-2 に示す．

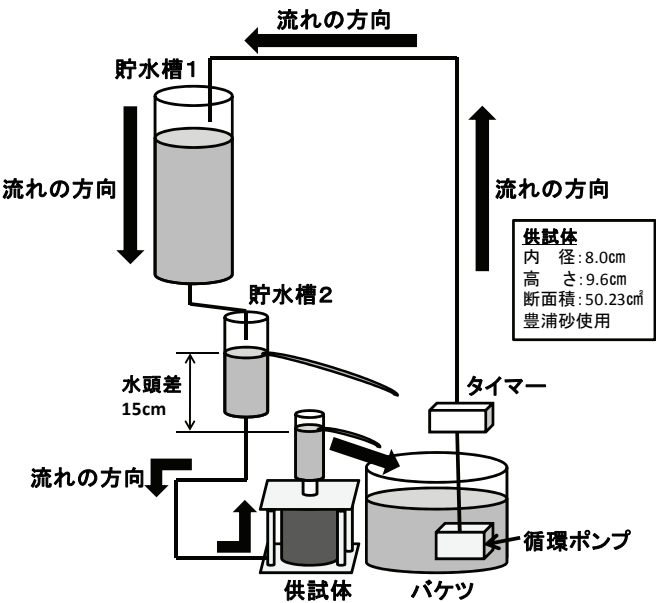


図-1 連続透水試験器の概略

表-1 溶液の組成，微生物源，試験条件

		実験1 (微生物量が少ない)	実験2 (微生物量が多い)
試験水	ため池水		
	Tris濃度	0.10mol/L	
	CaCl ₂ ・2H ₂ O濃度	0.10mol/L	
	スクロース濃度	0.10mol/L	
微生物源	環境微生物	ため池水	
	添加微生物	ドライイースト (液重量0.01%)	ドライイースト (液重量0.10%)
試験条件	試験期間	9日間	
	試験温度	20℃	

表-2 分析項目，分析方法，装置，規格

分析項目	分析法
透水係数	JIS 0311-2000
pH	ガラス電極法 上水試験法(1993)
VFA	FID-ガスクロマトグラフ 下水試験法(1997)
乳酸	F-キットL-乳酸 J.K.インターナショナル INC.製
微生物群集構造	PCR-DGGE法 (QuickBath and Dcode)

3 実験結果および考察

連続透水試験における透水係数の推移を図-2に示す。初期の添加微生物量が多いほど透水係数の低下が早く、実験2では2日目、実験1では5日目に最も低い値を示した。その後、どちらも同程度の値を維持した。

pHの推移を図-3に示す。実験1のpHは初期値の8.0から7.6まで低下したのに対し、実験2のpHは4.5まで低下した。この結果から初期の添加微生物量が多いほど試験期間中のpH低下が著しいことが明らかとなった。この原因としては有機物の代謝により生成された有機酸の影響が考えられる。

有機酸の組成を明らかにするためにガスクロマトグラフにより酢酸・プロピオン酸・酪酸・吉草酸の濃度測定を行った。あわせて、F-キットにより乳酸濃度を測定し、それぞれの結果を比較することとした。測定した有機酸のなかで最も顕著な差が認められた乳酸の結果を図-4に示す。生成された乳酸濃度の最大値は、実験1で44.2mg/L、実験2で309.4mg/Lであった。初期の添加微生物量が多い実験2は実験1に比べ乳酸が多く生成された。以上のことから本実験におけるpH低下には微生物の代謝機能により生成された乳酸が関与していると考えられる。

PCR-DGGE法による微生物群集構造解析の結果を写真-1に示す。なお、PCR-DGGE法の解析においては16SrRNAを対象とし、GC-341f&534rのプライマーセットを用いた。アクリルアミドゲルの濃度勾配は30%~70%とし、130V×5Hrの泳動条件とした。ドライイーストのみの試験区で確認されたバンドが全てのサンプルで認められた。このことから、ドライイースト由来の微生物が試験期間を通じて生息していたと考えられる。しかし、このバンドが酵母菌と確定するためには遺伝子解析を進めて確認する必要がある。初期の添加微生物量が多い実験2は実験1に比べて微生物の多様性が増すことが明らかになった。このことから、初期の添加微生物量を増やすことで、微生物群集構造を工学的に制御できると考えられる。

4 まとめ

今回の実験で得られた知見を以下に示す。

- ・初期の添加微生物量が多いほど透水係数の低下が早い。
- ・初期の添加微生物量が多いほどpHの低下が著しい。
- ・pHの低下には乳酸が関与していると考えられる。
- ・添加微生物量が多いほど微生物の多様性が増す。

今回の実験結果から、初期の添加微生物量の違いが透水性の低下に大きく関与することが明らかとなった。その主要原因であると考えられる乳酸の生成について、関与している微生物を明らかにしていきたい。

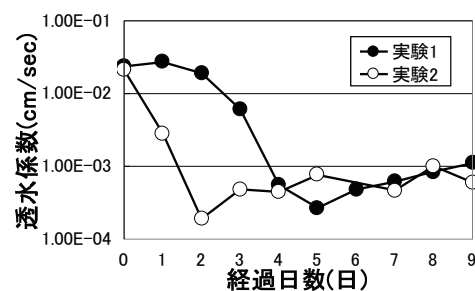


図-2 透水係数の推移

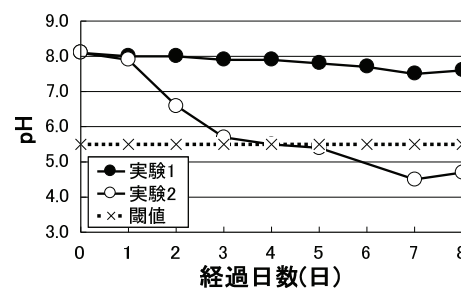


図-3 pHの推移

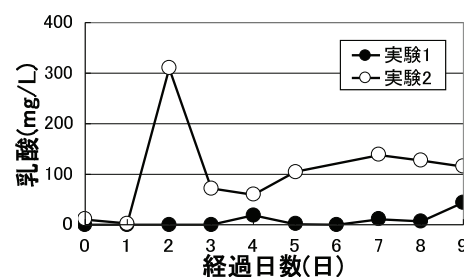


図-4 乳酸の濃度推移

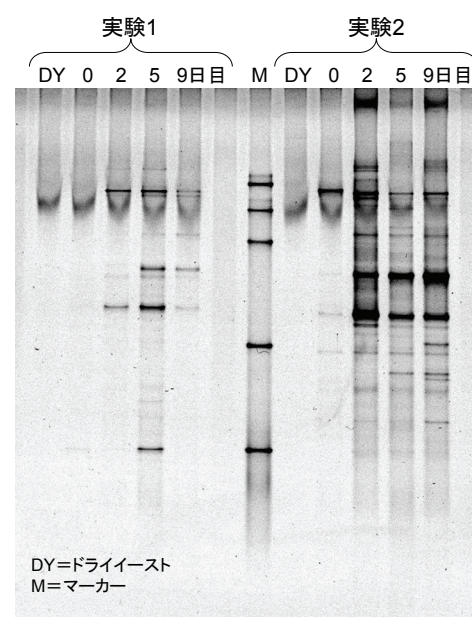


写真-1 DGGEによる微生物群集構造解析