

ウレアーゼ産出能を持つ微生物によるビーチロック形成促進効果に関する検証

長野高専 学生会員 横山 珠美
正会員 畠 俊郎

1 はじめに

周囲を海に囲まれた我が国の重要な資源である海岸について、「防護」「環境」「利用」の調和のとれた整備と保全に関する取り組みが進められている。この「環境」に配慮した新しい技術として、砂浜において短期間に砂が固化するビーチロックに着目した。

現在までに、尿素の加水分解酵素 (Urease) をもった微生物を利用して炭酸カルシウムを析出させ、砂を固化させる効果が明らかとなっている。本研究では、この固化機能をビーチロックの形成促進に応用することで波による浸食などから海岸線を保全する新しい社会基盤整備技術の開発に取り組んでいる。ウレアーゼ活性を持つ微生物による炭酸カルシウム析出促進効果は明らかになっているものの、微生物種により異なると考えられるウレアーゼ活性の違いと尿素の分解速度と析出の関係については未解明な点が多い。微生物種ごとに異なる尿素の加水分解速度を比較することができれば、最適な溶液組成の決定などに有益であると考えられる。以上の状況を踏まえ、陸域および海域で単離されたウレアーゼ活性を持つ2種類の微生物を用いて尿素の加水分解速度および固化能力の比較試験を行うこととした。

2 微生物種の選定、形成メカニズムおよび実験手法

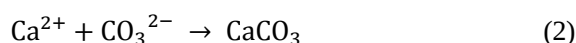
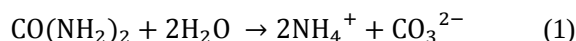
2-1 微生物種の選定

本研究では、沿岸域におけるビーチロックの形成促進を目的とし、陸域・海域で単離されたウレアーゼ活性を持つ微生物による尿素の加水分解速度の比較を行うこととした。

陸域から単離された微生物としては固化効果が確認されている *Bacillus pasteurii* を選定した。海域から単離された微生物としては、*Bacillus pasteurii* と同じくウレアーゼ活性が陽性であり炭酸カルシウム析出促進により砂の固化能力をもつ *Sporosaricina aquimarina* を選出した。

2-2 炭酸カルシウムの生成メカニズム

微生物由来の酵素(Urease)を利用して発生させた二酸化炭素と添加したカルシウム源とを反応させることで、炭酸カルシウムを析出させる。尿素の加水分解反応を式(1)、炭酸カルシウムの析出反応を式(2)に示す。



2-3 実験手順および分析項目

a) 電気伝導度による尿素の加水分解速度比較

2種類の微生物由来の酵素(Urease)がもつ尿素の加水分解速度を比較するため、電気伝導度試験を行った。手順を以下に示す。1) 1.5mol/Lの尿素 40mLに、菌体培養液 10mLを添加する。2) スターラーにて 120rpmの条件で攪拌し、2分ごとに電気伝導度を測定する。3) 攪拌開始から30分後まで測定を行う。なお、菌体培養液の代わりに純水を用いた試験も同様に行い、微生物由来の電気伝導度上昇値だけを求めることとした。

b) 固化試験による炭酸カルシウム析出効果の比較

プラスチックモールド(φ=5cm)の底部をカッターで切り抜き、曾々木海砂を Dr=50% になるように投入する。砂の表面が動かないよう不織布を敷き、ガラスビーズで固化溶液の添加による海砂の巻き上げりを抑制する。下から菌体培養液を間隙体積分だけ注入し、上から固化溶液を間隙体積分だけ通水する。その後、添加したカルシウムイオンを90%前後消費したことを確認してから、再び上から固化溶液を間隙体積分だけ通水する。採取したサンプルは pH、アンモニウムイオン濃度、カルシウムイオン濃度を測定した。固化溶液の組成は表-1に示す。

表-1 固化溶液の組成

ニュートリエントブロス	1.50 g
NH ₄ Cl (塩化アンモニウム)	5.00 g
NaHCO ₃ (炭酸水素ナトリウム)	1.06 g
CO(NH ₂) ₂ (尿素)	4.50 g
CaCl ₂ (塩化カルシウム)	8.32 g
純水	500 mL

キーワード ビーチロック, 微生物, 室内試験

連絡先 〒381-8550 長野県長野市徳間 716 国立長野高専 TEL 026-295-7096

3 実験結果および考察

a) 電気伝導度による尿素の加水分解速度比較

電気伝導度の推移を図-1に示す。微生物由来のウレアーゼによる尿素の加水分解速度の比較試験結果から、*B.pasteurii*は*S.aquimarina*と比較して約3倍の速度で尿素の加水分解反応を進める能力を持つことが明らかとなった。このことは、同じウレアーゼ活性陽性微生物であっても、種により尿素の加水分解速度が異なることを表していると考えられる。また、尿素の加水分解速度を簡易的に評価する手法として電気伝導度の有効性も明らかとなった。

b) 固化試験による炭酸カルシウム析出効果の比較

pHの推移を図-2に、アンモニウムイオン濃度の推移を図-3にそれぞれ示す。pHについてはいずれの微生物もアルカリ側で推移し、炭酸カルシウムの析出が期待できる結果となった。アンモニウムイオンについては、微生物種に関係なく同程度の傾向を示した。このことは、添加した尿素の量が同じであれば日数に係わらずアンモニウムイオンの生成量には差が出ないことを表わしていると考えられる。浸透前後の固化溶液に含まれるカルシウムイオン濃度差から求めた炭酸カルシウムの析出量の推移を図-4に示す。最終的に得られた間隙体積に対する析出量は、*B.pasteurii*が5.82%、*S.aquimarina*が5.89%であった。しかしながら、*S.aquimarina*が*B.pasteurii*と同程度の析出量に至るまでの期間は約2倍必要となり、電気伝導度から求めた尿素の加水分解速度と固化速度に関連性があることが明らかとなった。

4 まとめ

電気伝導度試験より、*S.aquimarina*を用いたビーチロックの形成促進を行う場合には*B.pasteurii*の約3倍の期間が必要であることが明らかとなった。今回の試験ではすでにウレアーゼ活性が明らかとなっている微生物を用いたが、現地に生息するウレアーゼ活性陽性の微生物を用いることでビーチロックの形成促進効果が期待できると考えられる。そのため、環境中からウレアーゼ活性を持つ微生物を単離するプロセスについて検討を進めていく必要があると考えている。将来的には現地の状態に合わせた強度および形成期間に基づき、原位置に生息する微生物機能を活用してビーチロックの形成を促進させる技術の確立を目指していきたい。

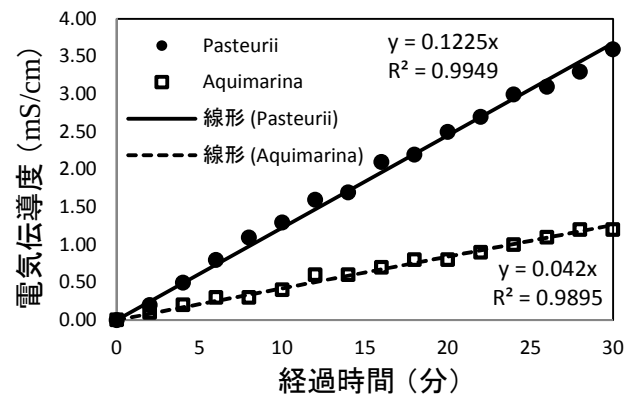


図-1 電気伝導度の推移

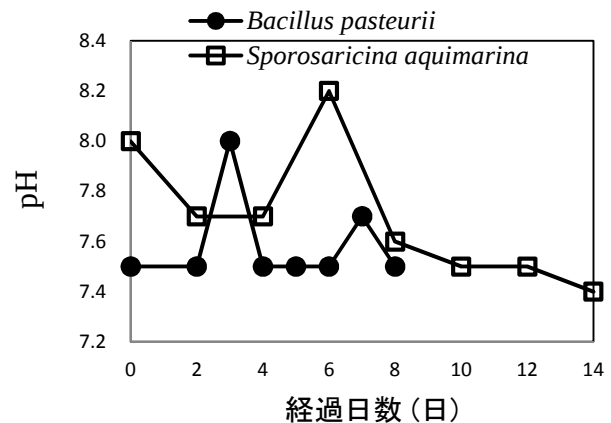


図-2 pHの推移

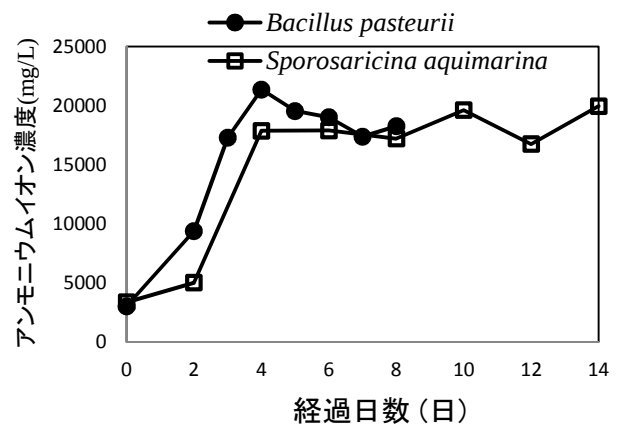


図-3 アンモニウムイオン濃度の推移

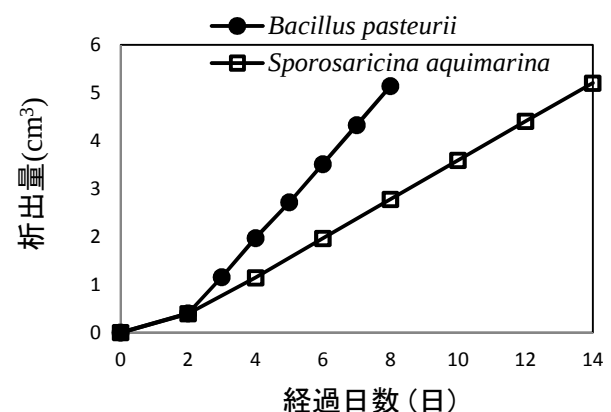


図-4 炭酸カルシウム析出量の推移