

ビーチロックから採取したウレアーゼ活性菌

呉工業高等専門学校 正会員 ○加納 誠二
 呉工業高等専門学校 学生会員 越智 恭平

1. はじめに

我が国では、国土が狭いため、古くから斜面地にも擁壁などを用いて宅地が造成されている。しかし、これまで地震や降雨による災害が度々発生しているが、大規模な補修工事などが難しいため現在このような宅地の補給が防災上の大きな問題となっている。

そこで、新たな地盤改良の一つとして、微生物による地盤改良が提案されている(J DeJoung 2007)¹⁾。これは、自然の地盤中に存在する微生物(ウレアーゼ活性を有する菌)を利用する工法であり、環境負荷の低い自然にやさしい工法として期待されている。しかし、現在行われている研究の多くが、ATCC(American Type Culture Collection)から菌(*Sporosarcina pasteurii*、以降SPとする)を購入しており、その利用については環境への負荷など注意が必要である。

一方、日本国内にはビーチロックと呼ばれる砂が固められた岩が亜熱帯地域を中心に多く存在している。砂浜の潮間帯に生ずるビーチロックは比較的固結力が強く、建材としても利用され、例えば、沖縄県首里城などにも利用されている(NAKAZATO, 2012)²⁾。

そこで本研究では、石川県、沖縄県から採取したビーチロックにウレアーゼ活性菌が存在しているか確認し、存在するのであればその炭酸カルシウム生成能力について検討し、試料から日本在来ウレアーゼ菌の採取を試みた。

2. 試料採取

今回試料を採取したビーチロックは図-1に示すように、石川県輪島市[三ツ子浜(A)]、沖縄県国頭郡今帰仁村[古宇利大橋(B)]、国頭郡本部町備瀬[エメラルドビーチ(C)]、国頭郡恩納村瀬良垣[万座ビーチ(D)]、中頭郡読谷[読谷ビーチ(E)]、日航アリビラ(F)の6か所で採取した。

図-2は、沖縄県中頭郡読谷村にある砂浜に広がるビーチロックの様子を示す。

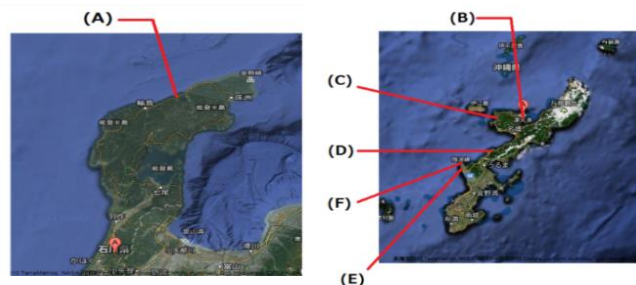


図-1 採取場所の地図上の位置

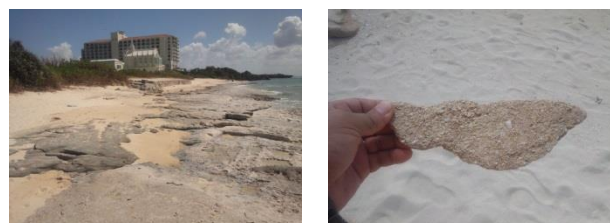


図-2 ビーチロックの様子 (F 地点)

3. ウレアーゼ活性試験

コニカルチューブに尿素、酵母エキスを溶かした培養液を入れ、さらに試料、フェノールフタレイン液を入れ、35℃前後で攪拌した。その反応結果を表-1、図-3に示す。

表-1 活性の有無

		三ツ子浜	古宇利大橋	エメラルドビーチ	万座ビーチ	読谷ビーチ	日航アリビラ
反応	48hr	x	x	x	x	x	0
	72hr	x	x	0	0	0	0
	1w	x	0	0	0	x	x

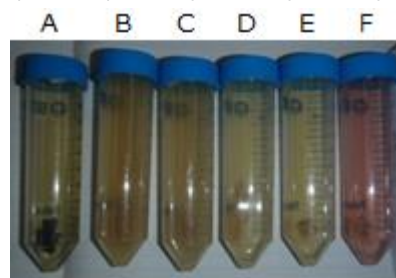


図-3 反応の様子(48時間後)

表-1より三ツ子浜以外の菌では時間に差があるもののウレアーゼ活性がみられた。このことから、沖縄の

ビーチロックはウレアーゼ活性菌によって形成された可能性があることがわかる。また、三ツ子浜のビーチロックに反応が見られなかったのは、吉富ら³⁾の研究でも示されているように、ビーチロックが CaCO_3 でなく、 SiO_2 が主体であることと一致する。

4. 遺伝子解析

ビーチロックから培養した菌を顕微鏡観察した結果を図-4に示す。これより桿菌であることが分かる。これらの菌を遺伝子解析した結果、Bは *Paenibacillus fonticola* :99%、Dは *Lysinibacillus sphaericus* :99%、Eは *Sporosarcina* sp :99%という結果であった(：の数値はRNAの一致度を表している)。C、Fは同定できなかった。EはDeJoungらが使用している菌と同類である可能性が高く、カルシウム生成に期待できる。

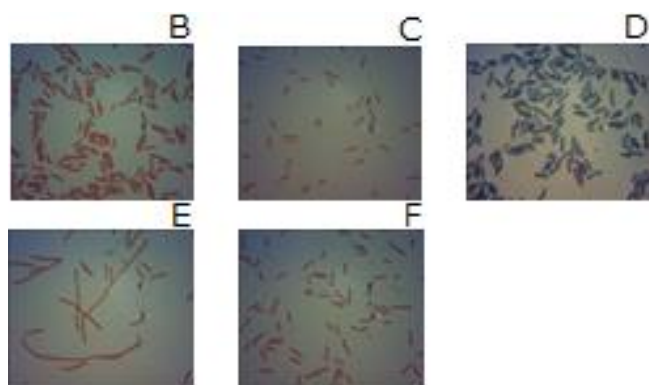


図-4 顕微鏡観察結果

5. 成長曲線

成長曲線の検査結果を図-5に示す。D以外はSPと同じ傾向を示しているが、SPよりも成長が早く、より有利であると思われる。

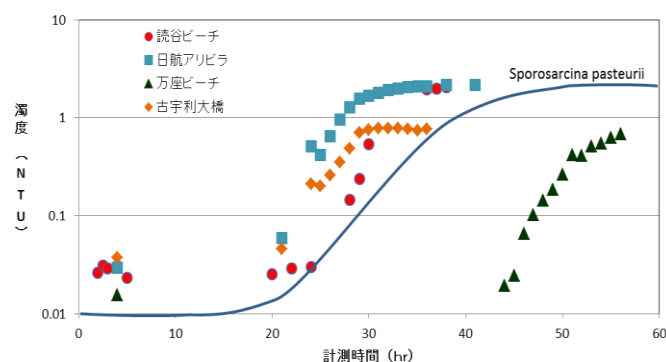


図-5 成長曲線結果

6. カルシウム析出実験

培養液に菌と塩化カルシウムを入れ、2日間培養し、炭酸カルシウムの生成量の比較を行った。その結果を表-2に示す。

表-2 カルシウム析出実験結果

	CaCO_3 (g)	還元率 (%)
B	0.231	22.9
C	0.496	49.2
D	0.442	43.9
E	0.878	87.2

ここで、還元率=(析出した CaCO_3 質量÷ CaCl_2 全てが CaCO_3 に変換された場合の質量)×100 とした。

表-2より、実験が行えた全ての菌で炭酸カルシウムが生成されていることがわかる。その中でも、Eの菌は約87%炭酸カルシウムに還元することが出来ている。Fについては菌が育たなかったため今回実験できなかった。

7. 結論

本研究ではビーチロックが微生物によって生成されたのかを調べるため、菌の同定、ウレアーゼ活性試験、炭酸カルシウム析出実験より検討した。

(1)ウレアーゼ活性試験の結果は沖縄県のビーチロックには反応がみられたが、石川県のビーチロックでは確認できなかった。

(2)遺伝子解析よりBは *Paenibacillus fonticola*、Dは *Lysinibacillus sphaericus*、Eは *Sporosarcina* sp、である可能性が判明した。

(3)炭酸カルシウム析出試験より、実験を行えたすべての菌で、塩化カルシウムから還元して炭酸カルシウムを生成していることが推測できた。中でも、Eの菌は還元率87%と他よりも大幅に大きくなった。

参考文献

- 1) Jason T. De Jong, Brina M. Mortensen, Brian C. Martinez, Douglas C. Nelson Bio-mediated soil improvement, Ecological Engineering, pp5-13, 2007.
- 2) Takeshi NAKAZATO : 竹富島の地質と岩石の利用, 竹富島総合調査報告書, pp.1-6, 2012.
- 3) 吉富, 次重, 小笠原: 能登半島, 輪島市曾々木海岸のビーチロック, 日本地質学会第111年学術大会演旨, 302, 2004.