

泥炭中の微生物数およびウレアーゼ活性度のばらつき

Variation of the number of microorganisms and urease activity in peat

土木研究所寒地土木研究所 ○正 員 佐藤厚子(AtsukoSato)
北海道大学 正 員 川崎 了(Satoru Kawasaki)
富山県立大学 正 員 畠 俊郎(Toshiro Hata)
土木研究所寒地土木研究所 林 憲裕 (Toshihiro Hayashi)

1. はじめに

北海道に分布する泥炭の改良方法の一つとして、筆者らはこれまで、泥炭中に生息する微生物の代謝活動を利用した固化改良技術に取り組んできた。その結果、ウレアーゼ活性を有する微生物が泥炭中に生息すれば、炭酸カルシウム法により、泥炭を固化できる可能性を見いだした¹⁾。さらに、泥炭中の微生物のウレアーゼ活性を電気伝導度の増加量により推定できることがわかった²⁾。しかし、泥炭は高有機質土であること、および、深さ方向による均一性が乏しい³⁾材料であることから、採取する箇所により、生息する微生物数にばらつきが発生すると考えられる。このため、微生物の代謝活動を利用した固化改良の効果に影響が生じる。そこで、泥炭中に生息する微生物数や尿素加水分解速度を測定し、これらのばらつきを調べた。

2. 試験方法

北海道内 13 箇所より採取した泥炭についてウレアーゼ活性の有無を調査し、ウレアーゼ活性が確認された泥炭について、微生物数および電気伝導度を利用して泥炭中に生息する微生物の電気伝導度の増加量を測定した。

電気伝導度の増加量が大きければ、ウレアーゼ活性が高いことを示す。

試験の対象とした泥炭は、堆積箇所の表土をはぎ取った後、バックホウのバケットにより表土の下から約 1m³掘削し、その中から 10kg 程度ずつ 10 袋を採取した。その中の 1 袋を採取箇所の代表試料として、土粒子密度、自然含水比、強熱源量などの基本物性値を、地盤工学会の方法⁴⁾により測定した。

試験を行った泥炭の基本物性値を表-1 に示す。採取した泥炭は、一般の土砂と比較⁴⁾して、自然含水比、強熱減量が非常に高く、土粒子密度が小さい。また、泥炭の特性で pH が非常に低い。

すべての泥炭試料について、Cristensen の尿素寒天培地組成⁵⁾によってウレアーゼ活性試験を行った。

No.1～No.12 の試料について、微生物数(生菌数)を測定した。微生物数は、任意の 100g から 1g の湿潤状態の試料を採取して 9ml の生理食塩水で懸濁状にし、適切な倍率で希釈した後、標準寒天にシクロヘキシミド(400mg/L)を加えた培地を 30℃で 7 日間培養して、希釈平板法(0.1ml 表面塗抹 CFU 法)により測定した。微生物数は、同一希釈の検体を 3 回測定した。

表-1 泥炭の基本物性値と試験項目

No.	試料名 (採取地)	含水比 w(%)	土粒子密度 ps(g/cm ³)	強熱減量 Li(%)	pH	試験内容			
						ウレアーゼ 活性試験	微生物数 の測定	電気伝導度の測定	
								自然含水比	ばらつき
1	利別川	93.3	2.474	17.5	4.7	○	○	-	○
2	富川	119.6	2.206	39.0	2.5	○	○	-	○
3	江別	300.0	1.943	49.2	5.6	○	○	-	○
4	北広島	402.6	2.093	43.3	4.5	○	○	-	○
5	江別太 1	510.2	1.970	52.9	5.1	○	○	-	○
6	江別太 2	545.9	1.895	56.6	4.1	○	○	-	○
7	当別	578.3	1.773	77.1	4.7	○	○	-	○
8	岩見沢 1	664.1	1.514	93.2	4.6	○	○	-	○
9	稚内	924.8	1.542	93.8	3.9	○	○	-	○
10	北島	109.9	2.421	18.6	3.3	○	○	○	-
11	岩見沢 2	292.9	2.176	32.0	4.3	○	○	○	-
12	岩内 1	1028.6	1.557	93.8	5.5	○	○	○	-
13	岩内 2	-	-	-	-	○	-	-	-

また、No.1～No.12 の試料について、電気伝導度の増加量を求めた。電気伝導度は、畠らの研究⁶⁾を参考とした。この研究では、菌体の培養液 10mL と 1.5mol/L の尿素溶液 40ml を混合し、混合直後から 20 分間、1 分おきに電気伝導度を測定するものである。すなわち、尿素加水分解速度を尿素加水分解速度として求めるものである。

しかし、泥炭は高含水比であり、ほとんどが水分であることから、菌体の培養液 10mL を泥炭 10g に置き換えて、尿素溶液 40ml と混合して懸濁状態にし、泥炭の電気伝導度増加量を求めた。

図-1 に示すように、泥炭中の微生物数および電気伝導度増加量のばらつきは任意の 3 袋(①、②、③)で測定することとした。この中の 1 袋(②)について含水比を 2 種類(②-A、②-B)に低下させた。これらの 5 種類の試料(①、②、③、②-A、②-B)について含水比、微生物数、電気伝導度を測定した。

また、微生物による固化では、pH が中性域～弱アルカリ性域の場合にその効果が良好である⁷⁾とされていることから、③の電気伝導度の計測時に pH も測定した。電気伝導度、pH は、3 回測定した。

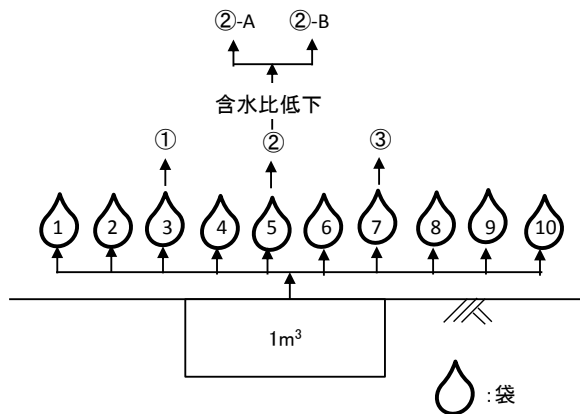


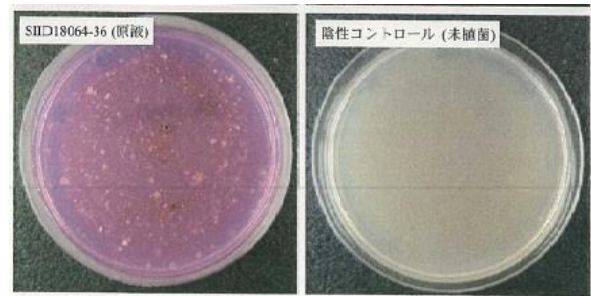
図-1 試験に用いた試料の状況

3. 試験結果

3.1 ウレアーゼ活性

クリステンゼン培地による方法は、培地中の尿素がウレアーゼ活性を有する微生物により加水分解されると、二酸化炭素とアンモニアが生成されることを利用したものである。アンモニアはアルカリ性であり、クリステンゼン培地中のフェノールレッドがアルカリ性になると赤変することから、培地が赤変すればアンモニアが生成されたこととなり、ウレアーゼ活性があることを示す。

ウレアーゼ活性試験の結果の中で、No.9を微生物不在の場合とともに写真-1に示す。微生物不在では培地の色に変化していないが、No.9の培地は赤変しており、ウレアーゼ活性を持つ微生物が生息していることが確認できた。他の12試料すべてで同様な結果となり、泥炭にはウレアーゼ活性を有する微生物が生息していることが確認できた。



No. 9 微生物不在
写真-1 ウレアーゼ活性試験結果

3.2 微生物数のばらつき

No.1～12 の試料について、微生物数を測定したときの同一希釈の 3 回の微生物数を図-2 に示す。図には、No.1～No.9 の①、②、③と No.10～No.12 の①を示している。同一の袋の中では大きなばらつきはない。袋が異なっても微生物数がほぼ等しい場合もあるが、試料によっては袋が異なると 10 倍～100 倍程度、微生物数が異なる場合がある。泥炭は 1m³ 程度の範囲の中で採取したことから、狭い範囲においても生息する微生物数がばらつくことがあるといえる。

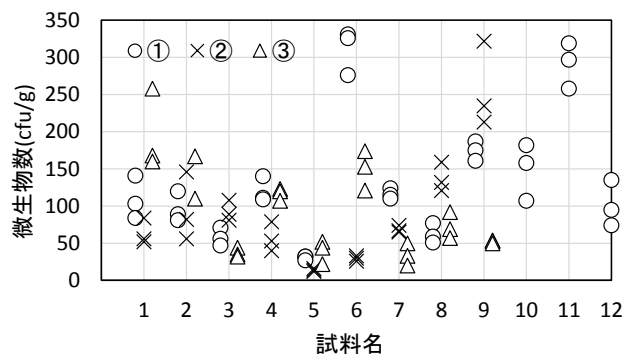


図-2 泥炭に生息する微生物数のばらつき

3.3 尿素液混合後の電気伝導度の増加量、pH の変化

尿素液混合後の時間と電気伝導度の増加量および pH の関係として、No.3 試料の例を図-3 に示す。時間の経過とともに pH は小さくなり、この試料では、試験開始から 5 分程度で pH は 4.5 程度となりその後一定値となった。尿素液混合後の時間が経過すると電気伝導度の増加量が大きくなっていく傾向にある。同一の袋で 3 回測定した尿素液混合後の pH の変化はほぼ同じであった。

しかし、尿素液を混合してから 10 分程度経過すると、電気伝導度の増加量ははじめよりも増加割合が小さくなった。pH が低くなって一定値となる時間よりも若干遅い時間であった。試料によって pH が一定値になる時間や電気伝導度の増加割合が小さくなる時間は異なっていたが、このような傾向は、すべての試料で見られた。泥炭では計測の間、尿素加水分解速度が直線的な関係にな

っている時間は5～10分程度であった。これより、尿素混合から5～10分程度の尿素加水分解速度を求めた。

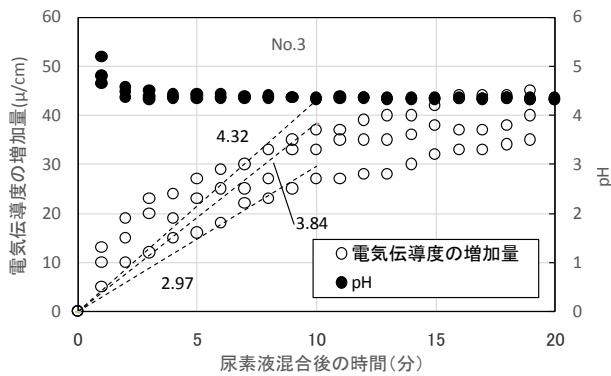


図-3 尿素液混合後の電気伝導度の増加量、pH

実際の改良では、試料を中性化する対策が必要である。また、電気伝導度の増加量は、3回の計測で若干異なっている。尿素混合から10分までの尿素加水分解速度を図に示したが、2.97、3.84、4.32 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{min}$ であった。全体の傾向として、同一の袋であってもこのようなばらつきがあった。このことより、電気伝導は複数回計測して、例えば平均値を対象とする試料の電気伝導度の増加量とする。

3.4 含水比と微生物数、尿素加水分解速度の関係

泥炭は一般的な土砂と比較して高含水比であることから、固化改良する場合、発現強度を大きくするために含水比を低下させることが合理的な場合がある⁸⁾。

対象とする試料に均等に微生物が生息していれば、含水を低下させることにより、単位あたりの微生物数が多くなると考えられる。そこで、含水調整して含水比を低下させたときの微生物数を求めた。

図-4にNo.9試料の例を示す。含水比が大きく異なってもほぼ同じような微生物数であり、含水比と微生物数の間には明確な関係性が見られない。他の試料についても同様な傾向であり、含水比は微生物数と関係がないようである。

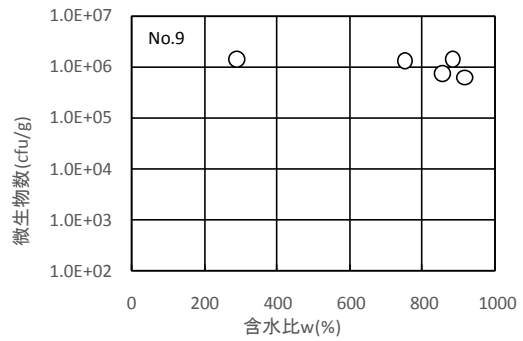


図-4 含水比と微生物数

次に、含水比と尿素加水分解速度の関係を求めた。図-5 a.はNo.5試料、図-5b.はNo.2試料の例である。②、②-A、②-Bは、同じ袋の試料で含水比を低下させた場合である。a.のNo.5試料の場合、②→②-A→②-Bと含水比が低くなると尿素加水分解速度は大きくなり、含水比を低下させることにより、ウレアーゼ活性が高まると考えられる。

しかし、b.のNo.2試料では、②→②-Aに含水比が低くなったとき尿素加水分解速度は小さくなった。さらに②-A→②-Bと含水比が低くなると尿素加水分解速度は大きくなった。

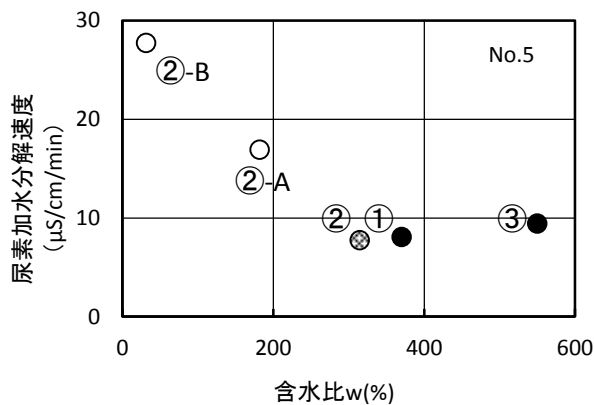
袋が異なる①、②、③については、a.のNo.5試料では、含水比は異なっていたが、微生物数はほぼ等しかった。b.のNo.2試料では、①、②は、含水比と尿素加水分解速度はほぼ同じであったが、③はどちらも異なっていた。

本実験を行った泥炭9試料のうち、含水比低下により、尿素加水分解速度が大きくなる傾向が見られたのは3試料、この傾向が見られなかったのは6試料であった。

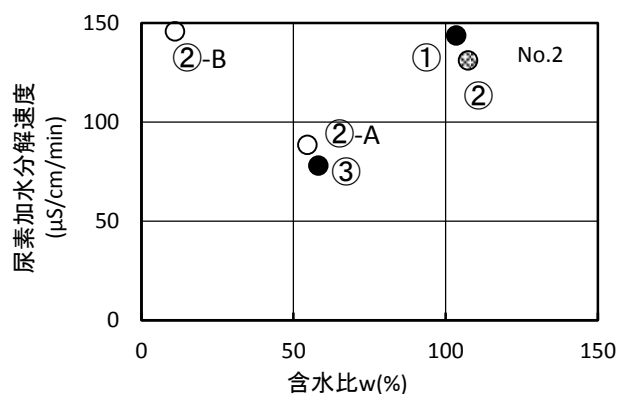
泥炭のウレアーゼ活性度を評価するときは複数で電気伝導度を計測することが望ましい。

3.5 微生物の生息環境と含水比

効率的に泥炭を固化させるためには、泥炭の含水比を低下させることが肝要である。その一方で、微生物はある程度湿潤状態の環境で生息活動が可能であり、乾燥す



a. No. 5 試料



b. No. 2 試料

図-5 含水比と尿素加水分解速度

ると休眠状態となる。そこで、計測したすべての泥炭について、含水比と微生物数および尿素加水分解速度の関係を求め、図-6 に示す。

含水比が約 10%程度でも微生物数を計測できた。また、この状態でも尿素加水分解速度が計測でき、微生物の代謝活動は維持できていると考えられる。泥炭の種類により限界の含水比がある場合も考えられるが、10%程度まで含水比を低下させても、ウレアーゼ活性が認められ、微生物による固化が可能と判断できる。

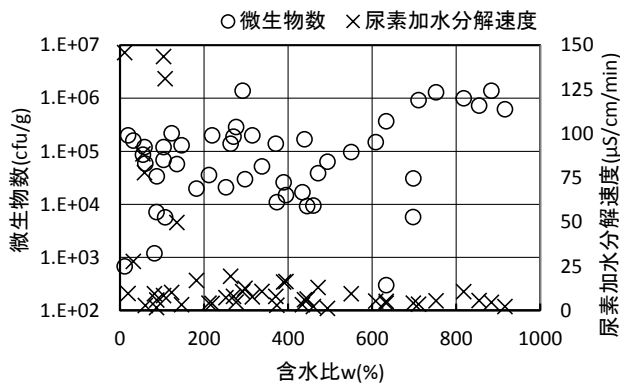


図-6 含水比と微生物数、尿素加水分解速度

4. まとめ

本研究では、微生物を利用した泥炭の固化実験に影響をおよぼすと考えられた泥炭のばらつきについて、微生物数とウレアーゼ活性度を尿素加水分解速度により測定した。その結果、以下のことがわかった。

- ①北海道のほとんどの泥炭には、ウレアーゼ活性を有する微生物が生息する。
- ②泥炭は強酸性であり、pH が低くなると電気伝導度の増加量が小さくなる。
- ③泥炭の尿素加水分解速度を計測する場合は、複数回の試験が必要である。
- ④泥炭の含水比を 10%程度まで低下させてもウレアーゼ活性を有する微生物は活動を休止しない。

5. おわりに

今後は、泥炭を微生物の代謝活動を利用して固化させ、ウレアーゼ活性の程度と固化の程度との関係を明らかにしたい。

参考文献

- 1) 佐藤厚子、川崎 了、畠 俊郎、山梨 高裕、西本 聡：現場の微生物活用による泥炭の固化技術に関する基礎的研究、土木学会論文集 C(地圏工学)、71(4)、427-439、2015.12.
- 2) 佐藤厚子、川崎了、畠俊郎、山梨高裕：泥炭を対象とした電気伝導度によるウレアーゼ活性の推定について、土木学会第 70 回年次学術講演会 2015.9.
- 3) 寒地土木研究所：泥炭製軟弱地盤対策工マニュアル、p.6、2011.3

- 4) 地盤工学会：地盤材料試験の方法と解説、2009.11.
- 5) T. Y. スエタニ、E. A. エーデルバーク、J. L. イングラム、M. L. ウィーリス著、高橋甫、斎藤日向、手塚泰彦、水島昭二、山口英世訳：微生物学入門編、pp. 67-74、培風館、1980.9.
- 6) 畠 俊郎、横山珠美、阿部廣史：尿素加水分解速度に基づく微生物固化技術の沿岸域への適用性評価、地盤工学ジャーナル Vol.8、No.4、pp.505-515、2013.10
- 7) 棕木俊文、吉永智昭、川崎了：異なる pH および有機栄養源がバイオグラウトの生成に及ぼす影響評価に関する基礎的研究、地盤工学ジャーナル、Vol. 5、No. 1、pp. 69-80、2010.
- 8) 寒地土木研究所：北海道における不良土対策マニュアル、2014.3