

## 微生物機能を用いた土の強度増加に関する基礎的検討

（その１ 室内培養試験について）

長野工業高等専門学校 学生会員 細尾 誠  
 同 非 会 員 土屋 慧  
 同 正 会 員 畠 俊郎

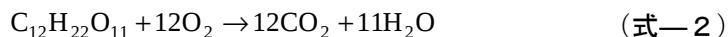
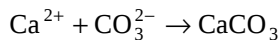
## 1. はじめに

土壌・地下水汚染浄化や、地盤の透水性の制御に関して微生物機能に着目した技術が開発されている。

土の強度増加についても、微生物機能を用いて炭酸カルシウム（以下  $\text{CaCO}_3$  と称す.）を生成し、土粒子の結合を強める技術が検討されている。本文では、既往の研究より基本的有効性の示された有機栄養源によるもの<sup>1)</sup>、ウレアーゼ活性によるもの<sup>2)</sup>を対象とし、一般環境に生息する土壌微生物を使用した際の有効性について、培養試験を行い検討した結果を報告している。

## 2. 試験の概要

本研究では、式—1に示すメカニズムから、カルシウムイオンと二酸化炭素（以下  $\text{CO}_2$  と称す.）が結合し  $\text{CaCO}_3$  として土粒子間に析出することで、土粒子同士の結合力を高めることに着目している。本技術では、微生物機能を用いて  $\text{CO}_2$  を発生させているため、低コスト・低環境負荷で土の強度増加を行える。本文では、微生物機能による  $\text{CO}_2$  発生メカニズムに関して、有機栄養源の分解によるもの（式—2）と、ウレアーゼによるもの（式—3）の比較検討を行っている。ウレアーゼは尿素（以下  $\text{urea}$  と称す.）1mol をアンモニア ( $\text{NH}_4$ ) 2mol と  $\text{CO}_2$  1mol とに分解する加水分解酵素であり、動物および植物の多くが有している。また、カルシウム系鉱物は  $\text{pH}=5.5$  以下で脱灰を起こすことも知られているため、 $\text{pH}$  についても併せて評価した。



本試験では、自然界に在来する微生物の能力を評価するため、土壌微生物を採取し添加することとした。そのため、予備試験として、3地点における土壌微生物のウレアーゼ活性について評価を行った。結果を表—1に示す。その中から、

活性度および強度試験用試料への適性から最適なものを選択し、培養試験に用いた。培養試験は、表—2に示す培地を精製水でメスアップ後、バイアル瓶に 50ml ずつ分注し、土壌微生物を添加後、密栓し 37℃で 5日間振とう培養した。土壌微生物は、予備試験より最適と判断した本校グラウンドの土 1g に、ペプトン生理食塩水 5ml を加え、15 秒間ボルテックスしたものを 1 時間静置し、上澄み 2ml を用いた。サンプルは 2 ケースでそれぞれ 4 本ずつ作成し、0, 1, 3, 5 日にサンプリング及び分析を行った。分析項目の一覧及び目的を表—3に示す。アンモニア性窒素濃度については、 $\text{urea}$  を添加した Case2 についてのみ計測を行った。

表—1 ウレアーゼ活性

|         | グラウンド  | 農地<br>土壌殺菌有 | 農地<br>土壌殺菌無 |
|---------|--------|-------------|-------------|
| 活性(U/g) | 283.48 | 58.29       | 374.42      |

表—2 培地組成

| Case1                                     | 濃度       | Case2                                     | 濃度        |
|-------------------------------------------|----------|-------------------------------------------|-----------|
| sucrose                                   | 0.1mol/L | urea                                      | 0.17mol/L |
| Bacto Yest Extract                        | 20g/L    | Bacto Yest Extract                        | 20g/L     |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.1mol/L | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.1mol/L  |
| pH                                        | 8        | pH                                        | 7.5       |

表—3 分析項目

| 項目             | 目的                  | 方法（装置）                             |
|----------------|---------------------|------------------------------------|
| 遊離炭酸           | $\text{CO}_2$ 溶解度評価 | 上水試験方法                             |
| アンモニア性窒素       | 尿素分解度評価             | 上水試験方法                             |
| カルシウム<br>イオン濃度 | 結晶化評価               | フレイム<br>原子吸光光度法<br>(z2300 hitachi) |
| pH             | 培地 pH 評価            | Docu pH<br>(sartorius)             |

### 3. 分析結果及び考察

図—1に pH, 図—2に遊離炭酸濃度, 図—3にアンモニア性窒素濃度及び図—4にカルシウムイオン濃度の推移を示す.

Case1 の pH は 1 日目に 5 程度まで低下し, その後も若干減少しながら推移している. これは, 有機物が分解される際に生じた有機酸のためと考えられる. また, Case1 は Case2 より多量の遊離炭酸を有し, カルシウムイオンは, 試験期間を通じて減少していないことが確認されている. これらから, Case1 では pH が 5.5 を下回ったことにより  $\text{CaCO}_3$  の析出が起きず,  $\text{CO}_2$  およびカルシウムイオンが消費されなかったと考えられる.

Case2 の pH は, 1 日目で大幅に低下しているが, その後は pH=6 程度を維持しながら推移している. 遊離炭酸は 3 日目まで増加傾向にあるが, 3 日目から 5 日目はほぼ同じ濃度で推移している. また, アンモニア性窒素濃度は 3 日目まで著しく増加し, 5 日目への増加量は僅かである. 遊離炭酸とアンモニア性窒素がおおよそ同様の傾向を示していることが確認された. このことから, Case2 で発生した  $\text{CO}_2$  はウレアーゼによる尿素的加水分解によるものであることと推察される. また, ウレアーゼによる加水分解が活発な状態にあるのは 3 日目までと考えられる. しかしながら, カルシウムイオン濃度は 3 日目まで減少し, 5 日目に若干増加している. バイアル瓶を用いた試験によるため, サンプル毎に僅かながら差が生じたと考えられるが, 期間を通じて減少傾向にあるため,  $\text{CaCO}_3$  の析出が推察される.

### 4. まとめ

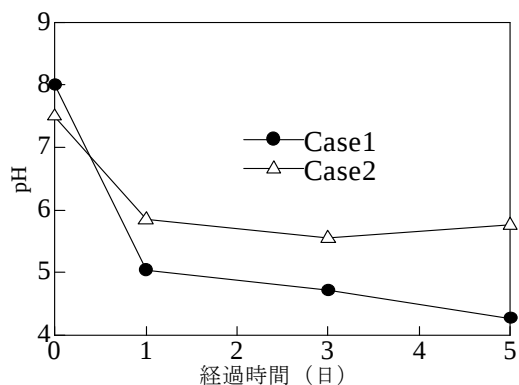
試験より得られた知見は以下の通りである.

- ・有機物, urea の添加とも, 微生物機能に由来すると推察される  $\text{CO}_2$  を発生することが確認された.
- ・sucrose は, 分解時に発生する有機酸が pH 低下を引き起こすため,  $\text{CaCO}_3$  の析出を阻害すると考えられる.
- ・自然界に在来する土壤微生物のウレアーゼを活用し,  $\text{CaCO}_3$  を析出させ土の強度増加を行える可能性が示唆された.

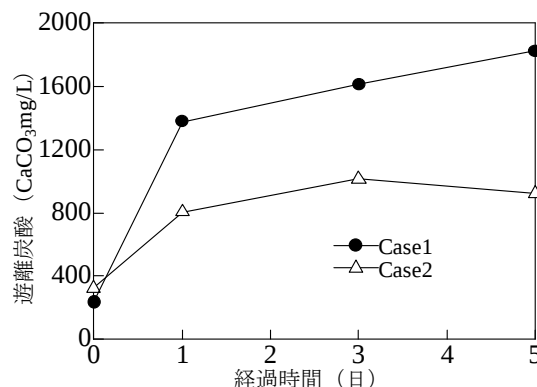
pH は  $\text{CaCO}_3$  析出に関する重要なファクターの 1 つといえる. sucrose を用いる場合には, 濃度や pH 緩衝剤の添加についても考慮する必要があるといえる. 今回の試験ではウレアーゼ活性の高い土壤微生物を使用したため, urea を用いた Case2 について有意な結果が得られた. 土壤微生物の特徴によって, urea と sucrose の使い分けもしくは併用も効果的であると考えられるが, さらなる検討が必要である.

(参考文献)

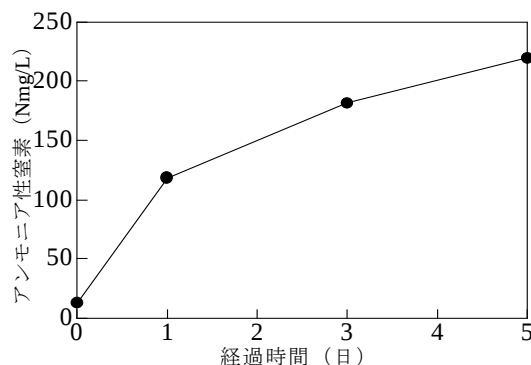
- 1)川崎ら: 微生物の代謝活動により固化する新しいグラウトに関する基礎的研究, 応用地質 Vol.47 No.1, pp. 2-12, 2006.
- 2)Victoria S.Whiffin: Microbial  $\text{CaCO}_3$  Precipitation for the production of Biocement, Murdoch University 博士論文, 2004.



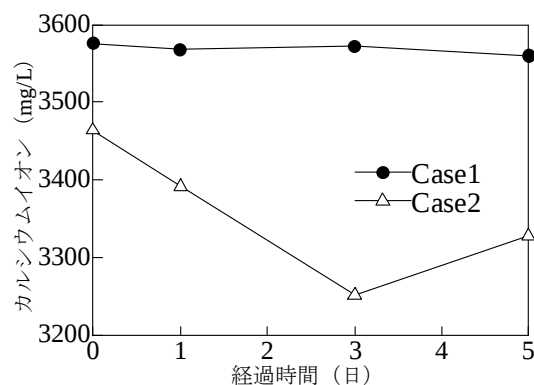
図—1 pH の推移



図—2 遊離炭酸濃度の推移



図—3 アンモニア性窒素濃度の推移



図—4 カルシウムイオンの推移