

泥炭由来の土壤微生物を用いた新しい地盤改良技術の適用性に関する室内実験

長野高専 学生会員 山崎 寛史
正 会 員 畠 俊郎

1. はじめに

北海道に広く分布している泥炭は軟弱地盤であるとともに、 $\text{pH}=4.8$ という強酸性を示すことが知られている¹⁾。本研究では、微生物機能による泥炭の中和、カルサイト析出による強度増加を利用し、泥炭の再利用促進を目的とした検討を進めている。これまでに行った検討から、泥炭内にすでに生息している土壤微生物の機能を促進させることにより炭酸カルシウムの析出を部分的に促進させる効果が明らかとなっている。しかしながら、酸性条件化での挙動などについては未解明の点が多い。そこで、泥炭由来の土壤微生物を用い、酸性条件でのウレアーゼ活性を持つ土壤微生物の生育および炭酸カルシウム析出効果について検証した結果を報告する。

2. 室内試験の概要

2-1 耐酸能力評価試験

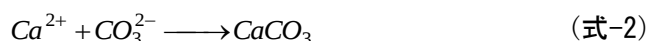
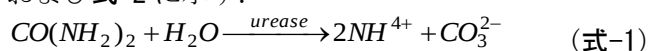
微生物の酸性環境下での挙動評価を目的とし、酸性状態の液体培地を用いた生育試験を実施した。培地には単離に用いた標準寒天培地（寒天未添加）を用いることとした。この培養液を滅菌後、塩酸にて pH を $3.0\sim 4.0$ に調製した後に植菌を行い、 $30^{\circ}\text{C}\times 160\text{rpm}$ の条件で 7 日間培養を行った。なお、微生物数の計測には標準寒天培地($\text{pH}=7.0$)によるコロニーカウント法を用いた。また、比較対象として本校グラウンドより単離した微生物についても同様の試験を行った。本試験に用いた酸性液体培地組成および培養条件を表-1 に示す

表-1 酸性液体培地組成, 培養条件

酸性液体培地組成	Bact-Yeast-Extract	2.5g
	ポリペプトン	5.0g
	グルコース	1.0g
	塩酸	10mL(10倍希釈)
	純水	1L
	pH	3.5 ± 0.5
培養条件	培養期間	7 日間
	菌数確認	0, 4, 7 日目
	培養条件	30°C 160rpm

2-2 カルサイト析出能力評価試験

耐酸能力評価試験とともに、これまでの検討から効果が明らかとなっている固化溶液内に対象微生物を添加・培養を行い、カルサイト析出量の比較を行った。具体的な作業手順としては、固化溶液 10mL 内に泥炭由来の土壤微生物を入れ、7 日間培養 $30^{\circ}\text{C}\times 160\text{rpm}$ の条件で培養をおこなった。本実験において着目しているカルサイト生成のメカニズムを式-1 および式-2 に示す。



カルサイト生成量の評価方法としては、試験期間中の溶液に含まれるカルシウムイオン濃度を測定し、初期濃度との差から推定されるカルサイト析出量を計算により求めることとした。カルサイト析出能力評価試験で用いた固化培養液組成、培養条件を表-2 に示す。実験期間中はコンタミネーションに気をつけながら毎日 1mL ずつサンプリングを行い、カルシウムイオン濃度を測定した。なお、カルシウムイオン濃度測定には、フレイム原子吸光光度法を用いた。

表-2 固化溶液組成, 培養条件

固化溶液組成	Nutrient Broth	3.00g
	NH_4Cl	10.00g
	NaHCO_3	2.12g
	Urea	18.02g(0.3mol/L)
	CaCl_2	33.29g(0.3mol/L)
	pH	7.0
培養条件	純水	1L
	培養期間	7 日間
	サンプリング	毎日
	培養条件	30°C 160rpm

3. 実験結果および考察

3-1 耐酸能力評価試験

耐酸能力評価試験における生菌数の推移を図-1 に示す。基準株として選定した遺伝子解析により同定されている *Lysinobacillus fusiformis* 近縁株については酸性条件化においても 10 倍程度に菌数が増加する傾向が確認された。その他、新規に単離した微生

物については、増加・減少とさまざまな傾向が確認された。増加傾向を示す微生物は 0 日目から 4 日目の培養初期に急激に増加する傾向が示された。一方、減少傾向を示す微生物については、急激に減少していくものと緩やかに減少していくものの 2 種類が存在することが明らかとなった。あわせて、増加後に減少した No.21 株について、短期間は pH3.5 程度の強酸性条件で増殖できるものの、長期的にはダメージを受けると考えられる。以上のことは、ウレアーゼ産出微生物でも酸性環境下での生育特性が異なることをあらわしている。そのため、実際の施工時には土壌 pH にあわせた適切な菌類の選定が重要になると考えられる。また、比較対象として本校のグラウンドから単離した微生物(not Urease)については、顕著な減少傾向が認められた。本実験の結果では 7 日間の培養期間を通じて増加傾向が認められた *L.fusiformis* と No. 22 株について耐酸性のウレアーゼ産出微生物であると判定できると考えている。

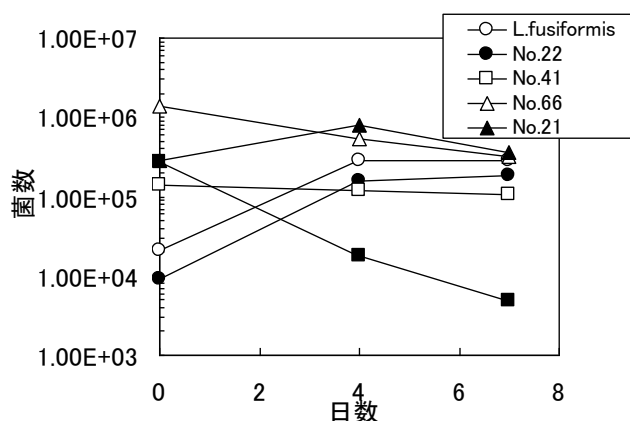


図-1 菌数の推移

3-2 カルサイト析出能力評価試験

試験期間中のカルシウムイオン濃度の変化から求めた計算上のカルサイト析出量の推移を図-2 に示す。耐酸性能力評価試験において異なる生育特性が認められたにもかかわらず、ウレアーゼ活性が陽性と判断されたすべての微生物についてカルサイト生成が期待できることが明らかとなった。また、比較対象として同様の実験を行ったウレアーゼ活性が陰性と判断された微生物(not Urease)と比較すると約3~4倍の違いが確認された。特に、耐酸性能力評価試験において菌の増殖が認められなかった No. 66 株において顕著なカルサイト析出が期待できる結果となった。

このことは、ウレアーゼ活性が陽性の微生物であっても、耐酸性能力や固化速度が異なる可能性を示していると考えられる。そのため、微生物による泥炭の固化処理においては初期の土壌および固化溶液の pH が大きく寄与する可能性を示していると考えられる。初期 pH がカルサイトの析出効果に与える影響については別の土壌から単離したウレアーゼ産出微生物も含めた室内試験により明らかにしていきたい。

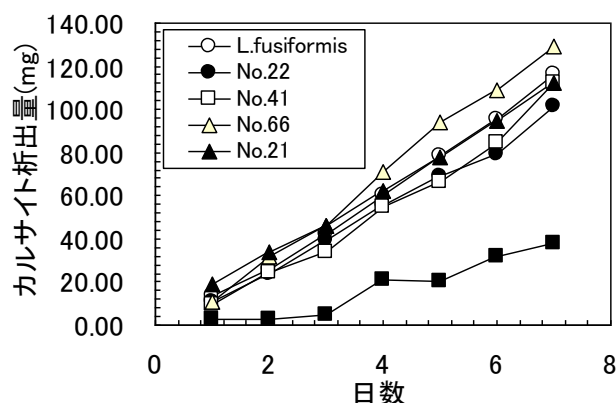


図-2 カルサイト析出量

4. まとめおよび今後の予定

本研究では軟弱かつ酸性を示す土壌として知られる泥炭のリサイクル促進を目的とし、2 種類の室内実験を行い微生物機能の活用方法について検討した。その結果、

- ・ ウレアーゼ陽性と判断された微生物について、微生物の種類により耐酸性能力が異なる。
- ・ ウレアーゼ陽性かつ耐酸性能力を持つと判断された微生物を選定することで泥炭の固化効果が期待できる

が明らかとなった。今後は、泥炭そのものを用いた小規模試験の実施等により pH 調整および強度発現効果を検討していきたいと考えている。

謝辞: 本研究の一部は高速道路関連社会貢献協議会平成 23 年度研究助成事業「原位置微生物の活用による新たな表土補強および植生促進技術に関する検討」の補助を受け実施した。ここに、謝意を表させていただく。

参考文献

- 1) 野本有里: 泥炭由来の土壌微生物を用いた炭酸カルシウム析出に関する検討、平成 22 年度長野工業高等専門学校卒業論文