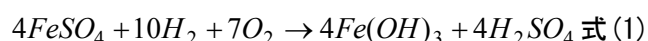


1. はじめに

トンネルの掘削や切土法面の施工などに関連し、全国各地で酸性土壌に遭遇する事例が報告されている。pH が 5.5 以下の酸性土壌では農業上酸性障害が問題となることが知られており、施工後の植生復元などにおいても障害を起こす可能性が高いと考えられる¹⁾。国内において確認される酸性土の多くは硫酸第一鉄を含んでおり、酸素と水に反応することで硫酸が生成され pH 低下がおこると考えられる。本研究において想定している酸性化のメカニズムを式(1)に示す。

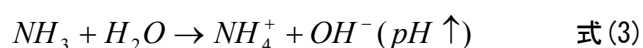
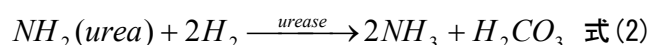


現状、建設工事で遭遇する事例の多くは石灰を用いた中和処理を行っている。しかしながら、石灰による中和処理では、pH が 8.0 以上と強アルカリ側に改良されてしまい植生がダメージを受ける事例も少なくない。あわせて、中和には大量の石灰を必要とするため、大型重機等が必要となり処理コストの増大が懸念されている。

以上の状況を踏まえ、本研究ではウレアーゼ活性を持つ原位置微生物の機能を利用し中和処理を行い、環境負荷が少なく、安価な技術の実用化に取り組んでいる。

2. 実験の概要

提案技術の基本的有効性評価を目的とし、国内において採取した酸性土壌の溶出液に尿素およびウレアーゼ産出微生物を添加し、pH の上昇（中和効果）および小松菜の発芽率が向上するかどうかの検討を行うこととした。本研究において着目したウレアーゼ産出微生物による酸性土壌の中和メカニズムを式(2)、(3)に示す。



本実験では、中和効果が期待される *B.Pasteurii* と遺伝子解析によりウレアーゼ産出能が確認されている *L.Fusiformis* の 2 種類を用いることとした。なお、酸性土のサンプルは寒冷地を中心に石川県、北海道、長野県で採取した。

3. 実験手順

ウレアーゼ産出微生物による酸性土壌の中和・発芽率向上効果の検証を目的として行った試験の概要を以下に示す。

3-1 試験水の調整²⁾

土懸濁液の pH 測定方法(JGS 0211)に準拠して試験水の調整を行った。具体的には、純水と酸性土の質量比が 5 になるように量り取り、攪拌して約 24 間後に上澄みを回収する方法を用いた。なお、24 時間後に測定した pH を初期 pH とした。

3-2 中和処理

初期 pH 測定後の試験水に尿素を 0.15mol/L の濃度で添加し、菌体を植菌後に密栓することとした。試験期間中は 30℃×160rpm の条件で培養することとし、pH が約 5.0 近傍までの上昇が認められた段階で植生可能と判断して発芽試験を実施することとした。

3-3 発芽の条件

pH が 5.0 程度まで上昇し、植生可能と判断されたサンプルについて 1 試験区あたり発芽床 4 枚を用いることとした。作業の手順としては、最初に 1 枚の発芽床(滅菌済シャーレ)に 5B のろ紙および試験水を 5mL 添加し紫外線を用いて 15 分間滅菌処理を行う。その後、小松菜の種子を 100 粒播種し、約 30℃ に設定された恒温器にて培養を行った。測定期間は 5 日間とし、発芽数のカウントは毎日行った。なお、本実験においては幼根が種子の大きさより長く伸びた状態も発芽とみなすこととした。発芽率の算出式を式(4)に示す。

$$\frac{\text{発芽率}}{\text{播種した粒数}} \times 100(\%) \text{ 式(4)}$$

4. 研究成果と考察

中和処理実施前の純水，石川県，北海道，長野県での発芽率測定結果を図-1 に示す．石川県，北海道で採取した酸性土については植生復元が困難であるとの結果が得られた．一方，長野県で採取した酸性土壌は低 pH であるにもかかわらず中和処理前から発芽数率が高いことから以降の実験で用いないこととした．次に 2 種類の微生物を用いた中和処理前後の pH 測定結果を表-1 に示す．

あわせて，*L.Fusiformis* による中和処理後の発芽率を図-2，*B.Pasteurii* による中和処理後の発芽率を図-3 にそれぞれ示す．いずれも顕著な発芽率の改善効果が期待できる結果が得られた．

酸性土壌の中和効果が微生物機能による尿素的加水分解に伴い発生したアンモニア由来であるかどうかの評価を目的とし，北海道で採取した酸性土壌からの抽出液を対象とした比較試験を実施することとした．尿素的濃度は同じく 0.15mol/L とし，微生物としては国内で単離された *L.Fusiformis* を用いることとした．本実験では微生物の添加による促進効果評価を目的とし，微生物の添加を行わず尿素的のみ添加した試験も行った．試験期間中における pH および NH_4^{4+} の濃度推移を図-4 に示す．pH については尿素的のみを添加した場合よりも *L.Fusiformis* で中和処理を行ったサンプルの方が高い値を示した．あわせて NH_4^{4+} 濃度も上昇していることから，pH 上昇の要因として微生物が産出したウレアーゼによる尿素的加水分解に伴い発生するアンモニアが強く関与していることを表していると考えられる．

表-1 試験前後の pH

	北海道	石川
<i>L.Fusiformis</i>	2.3→7.5	2.3→6.1
<i>B.Pasteurii</i>	2.3→5.1	2.3→4.9

5. 今後の展開

今回の試験結果から，ウレアーゼ産出微生物である *L.Fusiformis* と *B.Pasturii* は酸性土を中和し発芽可能な環境に復元する機能を有することがわかった．

しかしながら，微生物種により中和・発芽率の改善傾向が異なることも明らかとなった．今後は，対象土壌にあわせた菌体や尿素的の量等を適切にすることで効率的な処理技術の開発に取り組んでいきたい．

参考文献

(1) 青木正雄：強酸性土および酸性水による被害と環境保全対策(強酸性の概念),J.Soc.Mat.Sci.,Japan,Vol. 53, No.12,pp.1351-1358,2004

(2) 地盤工学会：地盤材料試験の方法と解説一二分冊の1一，土懸濁液の pH 試験方法, JGS 0211-2009, 310p, 平成 21 年

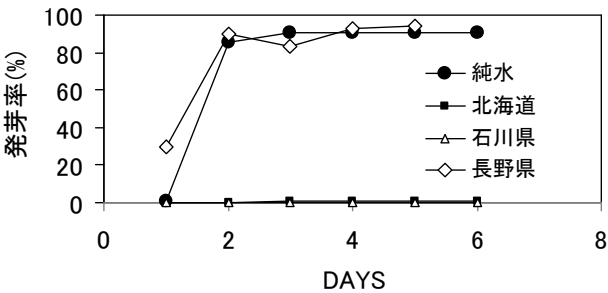


図-1 中和処理前における発芽率

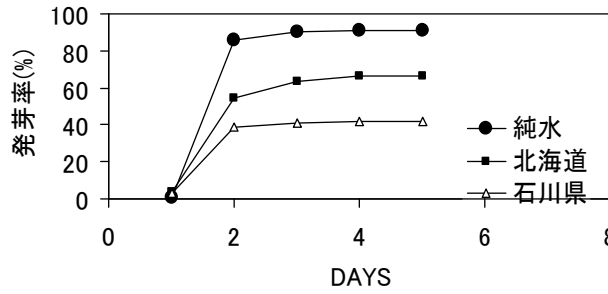


図-2 *L.Fusiformis* による中和処理後

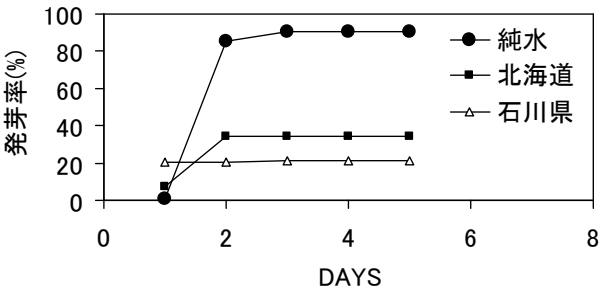


図-3 *B.Pasteurii* による中和処理後

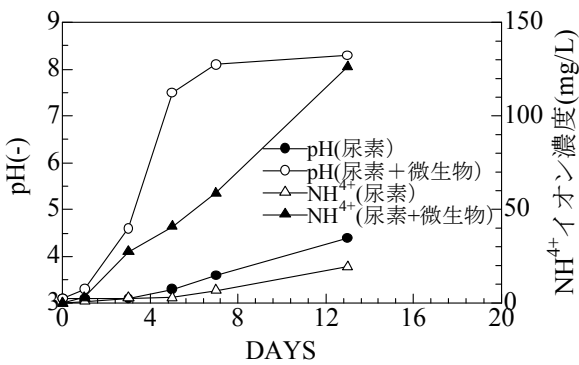


図-4 pH および NH_4^{4+} 比較試験結果