資源·素材学会 論文誌 別刷 Journal of MMIJ

2016 Vol. 132, No. 12

Journal of the Mining and Materials processing Institute of Japan REPRINT

一般社団法人 資源・素材学会

〒 107-0052 東京都港区赤坂 9-6-41 TEL: 03-3402-0541 FAX: 03-3403-1776 E-mail: info@mmij.or.jp URL: http://www.mmij.or.jp/





繊維質固化処理土工法に用いるセルロース繊維の 生分解性に関する実験的研究*

An Experimental Study on Biodegradability of Cellulose Fiber by Fiber-Cement-Stabilized Soil Method

by Yuto MORIa*, Hiroshi TAKAHASHIb, Nobuo KAKUc and Hiroyuki NISHIMURA

- a. Mori Institute for Environmental Technology (*Corresponding author, E-mail: info@mori-kankyo.co.jp)
- b. Graduate School of Environmental Studies, Tohoku University
- c. Department of Food, Life, and Environmental Sciences, Faculty of Agriculture, Yamagata University

It is difficult to reuse the construction sludge directly because the water content of it is extremely high. Therefore, it has been disposed as industrial waste in the final disposal site. In order to reduce the construction cost and environmental load, the effective reuse of construction sludge has been an important problem. In order to increase the recycling rate of construction sludge and to solve the above mentioned problem, the authors have already developed a new recycling method for construction sludge by using paper debris and cement. As this method can improve the high water content sludge into high quality ground materials on sites, this method has already been utilized in over 400 construction sites in Japan.

On the other hand, the biodegradation of fibrous materials is not made clear as yet. It is considered qualitatively that fibrous materials used in this method is hard to be biodegraded by soil microbes, because fibrous materials still remains in the soil which was improved by this method 10 years ago. However, the degradation by soil microbes is not confirmed quantitatively.

Therefore, the biodegradability of fibrous materials was investigated experimentally through a culture test and a soil buried test. As a result, it was found that paper fragments were degraded in the solution of pH7.0, but were not degraded in the solution of pH9.5. Furthermore, it was confirmed through soil buried test that paper fragments buried in the normal mud were degraded significantly, but those buried in Fiber-Cement-Stabilized soils were not degraded and fibrous materials remained. Therefore, it was concluded that the fibrous materials in Fiber-Cement-Stabilized soil are not degraded by soil microbes when pH of Fiber-Cement-Stabilized soil is over 9.5, and they remains in the modified soils for a long time.

KEY WORDS: Mud, pH, Biodegradability, Cellulose, Bacteria

1. はじめに

近年,循環型社会の構築を目的として,「資源の有効な利用の促 進に関する法律」¹⁾を受け、様々な廃棄物の再資源化・有効利用 が注目されているが、建設現場から発生する建設汚泥等は含水比 が高く,直接利用が困難であるため,廃棄物の処理及び清掃に関 する法律上の「汚泥」として管理型最終処分場に埋立て処分され ている。平成24年の調査によれば、建設汚泥は年間約657万ト ン排出されているにもかかわらず、再資源化率は約69%と他の建 設廃棄物に比べて低く, 最終処分場に持ち込まれる建設廃棄物の 内,約34%が建設汚泥である²⁾。また,平成20年度における港 湾から発生した浚渫土砂は 2.083 万 m^3 となっており、その 25% が港湾埋立に利用され、40%が土砂処分場に処分されている³⁾。

一方で、平成24年度の調査によれば、公共工事で使用された 山砂などの新材(採取土,購入土)の採取量は2,633万m3/年と 発表されており,環境負荷の低減と公共工事のコスト削減に向け, 再生資源の有効利用を統合的・計画的に推進することが、重要な 課題となっている⁴⁾。

ところで、「建設発生土利用技術マニュアル」⁵⁾によれば、「泥 土」とは発生土のうちコーン指数が 200kN/m² 未満の泥状の掘削 物および泥水を言い、建設汚泥や浚渫土砂等が該当する。泥土を 地盤材料として再利用するには、天日乾燥等の含水比低下や、セ メントや石灰を混合する安定処理などの土質改良が必要となり, 同マニュアルで示される「適用用途標準」に従って、各土木構造 物に利用しなければならない。これまでに、原料土投入フィーダ や固化材フィーダ、各種撹拌ミキサーを内蔵した自走式土質改良 機で泥土を改良する安定処理工法が提案されてきたが、これらは 塑性状態を維持できない軟弱土には適用できないという問題点 があった。

そこで、筆者らは従来地盤材料としての使用が不適とされてき

[著者連絡先] FAX: 0233-22-0932

E-mail: info@mori-kankyo.co.jp -ワード:泥土, pH, 生分解性, セルロース, 分解菌

^{*2016}年4月1日受付 2016年10月11日受理

^{1.} 株式会社森環境技術研究所 取締役

正会員 東北大学大学院環境科学研究科 教授

^{3.} 山形大学農学部食料生命環境学科 教授

^{4.} 株式会社森環境技術研究所 顧問





Fig.1 Mud sampling situation.

た高含水泥土に、主に家庭回収古紙を約15㎜角に破砕加工し土木 資材として製品化された繊維質系泥土改良材と, セメントまたは 石灰系の固化材を混合し、現場内で路体や河川堤防等に再資源化 する繊維質固化処理工法(以下,本工法という)を開発した^{6,7)}。 本工法の特徴は、これまで改良が困難であった高含水泥土に繊維 質系泥土改良材と固化材を混合することにより改良直後に即時運 搬が可能となり、また本工法によって生成された処理土(以下、 繊維質固化処理土という)は、乾湿繰り返しに対して非常に高い 耐久性を有する点が挙げられる。 さらに、本工法は現場内で発生 した泥土を地盤材料に再資源化するため泥土の処分費用や運搬費 用を削減することができ,新たに山砂等の購入土を調達する必要 も無くなるため大幅なコスト縮減が可能となる。

これまで,本工法は全国で約400件の施工実績を有しているが, 処理土中の繊維質系泥土改良材の分解については明らかになって いない。セメントや石灰系の固化材を使用するため繊維質固化処 理土中の pH はアルカリ性になること,本工法施工後約 10 年が 経過した現場の繊維質固化処理土を採取しても繊維質が残存して いることなどから, 処理土中の繊維質系泥土改良材は土中の微生 物によって分解され難いと推察されるが、実験的に実証されてい ない。そこで、本研究では、本工法の施工状況を模擬した培養試 験,土壌埋設試験を実施し,繊維質系泥土改良材の生分解性に関 する検討を行った。

2. セルロースの分解について

繊維質系泥土改良材の原材料である古紙の主成分は結晶性セル ロースで、これらは植物体中に最も多く存在する多糖類であり、 自然界で最も多い天然化合物でもある。このセルロースの分解に は、特定の微生物が生産する「セルラーゼ」が関与しており、エ ンドグルカナーゼ, エキソセロビオヒドロラーゼ, $\beta-D$ ーグル コシターゼの3種類に分類される。結晶性セルロースをグルコー スにまで分解するには、これら3つの酵素が欠けることなく働く 必要がある⁸⁾。

- ① まず、このエンドグルカナーゼがセルロースの非結晶領域だ けでなく, 結晶領域にも作用して切れ目を入れる。
- ② 次に、これによって生じた非還元末端にエキソセロビオヒド ロラーゼが作用する。
- ③ 切れ目が大きくなると、さらにエンドグルカナーゼも作用し やすくなり, このような機構で相乗作用的に結晶セルロース が分解される。
- ④ 得られたセロビオースなどのオリゴ糖は、 βD グルコシ ターゼでグルコースにまで分解される。

セルラーゼを生産する微生物は限られ, Bacillus 属, Cytophaga 属, Streptomyces 属, Clostridium 属等の土壌細菌や, Trichoderma

属, Penicillium 属, Chetomium 属等の土壌糸状菌(以下, セルロー ス分解菌という)がその代表で、Clostridium 属やそれに近縁なセ ルロース分解菌は嫌気条件下でセルラーゼを生産する⁹⁾。

また、微生物の生育は培地のpHに大きく影響される。生育温 度と同様に各々の微生物には至適生育 pH が存在し、一般的には 中性の pH7 付近が至適生育 pH である $^{10)}$ 。最近の研究では、温 泉や海底熱水孔に生息する好熱菌 (Thermophile) の他に、高山や 深海などの低温環境で生息する高冷菌 (Psychrophile),酸性土壌 などから分離される好酸菌 (Acidophile), アルカリ性塩湖や土壌 中から分離される好アルカリ菌 (Alcaliphile),塩湖などから分離 される好塩菌 (Halophile), 深海などの高圧環境から分離される 好圧菌 (Barophile) などの「極限環境微生物 (Extremophile)」の研 究 11) が進んでいるが、このような pH12 以上の極限環境で結晶 性セルロースを完全に分解する菌は我々の知る限りこれまで報告 されていない。

一方, 本工法により生成された繊維質固化処理土は, 繊維質系 泥土改良材の他にセメント系や石灰系の固化材を併用するため, 処理土内部は pH12 程度の高アルカリ状態となる。従って、繊維 質固化処理土中の繊維質系泥土改良材が微生物により分解される 可能性は極めて低いと推察されるが,実験的に実証されていない。

そこで, 本研究では繊維質固化処理土中の繊維質系泥土改良材 が、pH12程度の環境下でも土中のセルロース分解菌によって分 解されることなく長期間残存することを実証するため、培養法、 土壌埋設法によるセルロース分解試験を実施したので、その結果 を報告する。

3. 試 験 方 法

3・1 培養法によるセルロース分解試験

本試験に用いた泥土は, 山形県新庄市十日町地内のため池にお いて、落ち葉等の有機物が堆積し、ヘドロ状となっていたものを 採取した。また、泥土中の落ち葉や小石などを除去し、空気が入 らないように留意しながら混合して均一化した。さらに、泥土に 空気が入らないよう容器を密閉し、試験に使用するまでの間4℃ で保存した。泥土採取状況を Fig. 1 に示す。

セルロース分解に対する pH の影響を調べるため、pH 7.0, 9.5 および12.0の3種類の培地を作成した。本試験で使用した培地 の組成を Table 1 に示す。培地の pH を NaOH 液で調節しただけ では、嫌気性微生物が有機物を分解した際に生成する有機酸によ り pH を大きく変動させしてしまうため、セルロース分解に与え る pH の影響について正しく評価できなくなる可能性がある。そ こで、pH7.0 の培地には緩衝剤 MOPS (同仁化学研究所), pH9.5 の培地には緩衝剤 CHES (同仁化学研究所), pH12.0 の培地には 緩衝剤 CAPS (同仁化学研究所)を添加し, pH の安定化を図った。

Table 1 Composition of the medium in cellulose biodegradation test (per 1000mL).

	Т
H ₂ O	998mL
KH_2PO_4	1.5g
KH ₂ PO ₄	2.9g
CH ₄ N ₂ O	2.1g
Yeast extract	0.45g
L-Cysteine-HCl • H ₂ O	0.3g
0.1%(W/V)Resazurin-Na	1.0mL
Vitamin mixture(100mL) · Biotin: 1mg · Cobalamin: 1mg · P-ABA: 3mg · Folic acid: 5mg · Thiamin: 5mg · Riboflavin: 5mg · Pyridoxamine: 15mg	1.0mL
pH7.0 : MOPS (Morpholinopropane sulfonic acid)	20.9g
pH9.5 : CHES (N-Cyclohexyl-2-aminoethanesulfonic acid)	20.7g
pH12.0 : CAPS (N-Cyclohexyl-3-aminopropanesulfonic acid)	22.1g
<u> </u>	

さらに、培地に添加した各緩衝剤の違いがセルロース分解に影響 しないことを確認するため、pH7.0 に調整した培地に pH9.5 用の 緩衝剤である CHES, pH12.0 用の緩衝剤である CAPS を添加し た。培地は、 ϕ 18 mm × 180 mmのねじ口試験管に 10ml ずつ分注し、 これに繊維質系泥土改良材を模擬した紙片(定性濾紙 No.2, 東 洋濾紙,幅 10 mm×長さ50 mmに裁断)を投入した。採取した 泥土は, Table 2 に示す嫌気的希釈液で 5 倍に希釈し, 得られた 希釈液 0.3ml を試験管に接種した。試験管の口をブチルゴムセプ タムとスクリューキャップで封じ、オートクレーブ滅菌 (121℃, 15 分間) した。培地調製における一連の操作は、酸素除去窒素 ガス気流下で嫌気的に行った。セルロース分解に対する温度の影 響を調べるため、培養は10・20・30℃で実施し、培地単体では 紙片が分解しないことを証明するため、泥土を接種せずに保温し た培地も併せて作成した。また、再現性を高めるため同配合の試 料を3本作製し、これを105日間培養した。各条件で培養した試 料を定期的にデジタルカメラで撮影し、紙片の分解状況を観察し た。本試験の配合一覧を Table 3 に示す。

なお,本研究では,繊維質系泥土改良材の主成分であるセルロー スが、泥土中に存在するセルロース分解菌によって分解されるか 否かを検証することが目的であるため、泥土に含まれる菌種の特 定は実施しなかった。そこで、本試験に先立ち、採取した泥土中 のセルロース分解菌の存在有無を定性的に調べるため、pH7.0 に 調製した培地に紙片と泥土を投入した検体を3本作成し、30℃で 20 日間培養した予備試験を実施した。

嫌気環境下における有機物の微生物分解の過程では、揮発性脂 肪酸やアルコール類とともに、 H_2 、 CO_2 、 CH_4 などガスが生成さ れる ¹²⁾。本試験で使用した培地には、Yeast extract 等のいくつか の有機物が含まれているため、泥土を接種した培地中で各種嫌気 性微生物が増殖すると、それらの有機物に由来するガスが生成さ れる。したがって、培養中にセルロース分解が進行した場合、紙 片を添加した試料の方が多くのガスが生成されるはずである。そ こで、嫌気環境下におけるセルロース分解による生成物を把握す るため、pH 7.0 と 12.0 の試料を 30℃で培養した試験管の気相部 分からガスを採取し、培養 35・70・105 日目における H2・CO2・ CH4の濃度を TCD 検出器を装着したガスクロマトグラフ (GC-3200, ジーエルサイエンス) を用いて測定し, 培地 1L 当たりの生

Table 2 Composition of anaerobic diluent solution in cellulose biodegradation test (per 100mL)

H ₂ O	85mL
S1 solution • 0.6%(W/V) K ₂ HPO ₄	7.5mL
S2 solution • 0.6%(W/V) K ₂ HPO ₄ • 1.2%(W/V) (NH ₄) ₂ SO ₄ • 1.2%(W/V) NaCl • 0.12%(W/V) MgSO ₄ • 7H ₂ O • 0.12%(W/V) CaCl ₂ • 2H ₂ O	7.5mL
0.1%(W/V)Resazurin-Na	0.1mL
L-Cysteine-HCl • H ₂ O	50mg
pH	7.0
Gas(N ₂)	100%

Table 3 Compounding list in cellulose biodegradation test.

No.	Incubation Temperature	рН	Mud Existence	Buffer
1-1-0		7.0	×	MOPS
1-1-1		7.0	0	MOPS
1-2-0	10℃	9.5	×	CHES
1-2-1	10 C	9.5	0	CHES
1-3-0		12.0	×	CAPS
1-3-1		12.0	0	CAPS
2-1-0		7.0	×	MOPS
2-1-1		7.0	0	MOPS
2-2-0	20°C	9.5	×	CHES
2-2-1		9.5	0	CHES
2-3-0		12.0	×	CAPS
2-3-1		12.0	0	CAPS
3-1-0	30℃	7.0	×	MOPS
3-1-1		7.0	0	MOPS
3-2-0		9.5	×	CHES
3-2-1		9.5	0	CHES
3-3-0		12.0	×	CAPS
3-3-1		12.0	0	CAPS
4-1-0		7.0	×	CHES
4-1-1	30℃	7.0	0	CHES
5-1-0		7.0	×	CAPS
5-1-1		7.0	0	CAPS

成量 (mmol/L) を算出した ¹²⁾。

同様に,培養試験終了後,試験管内の液相部分を採取し,揮発 性脂肪酸 (VFA) である酢酸 (Acetic acid), プロピオン酸 (Propionic acid), イソ酪酸 (Isobutyric acid), 酪酸 (Butyric acid), イソ吉草 酸 (Isovaleric acid), 吉草酸 (Valeric acid) の濃度を FID 検出器を装 着したガスクロマトグラフ (G-5000、日立ハイテクノロジーズ) で測定し、培地 1L 当たりの生成量 (mmol/L) を算出した $^{13)}$ 。

最後に、培養終了後における紙片表面の微生物繁殖状況を観察 するため, 走査型電子顕微鏡 (SEM) で撮影した。試験管から取り出 した紙片を4%パラホルムアルデヒド液で固定し、紙片を滅菌蒸留水 に浸した後に洗浄した。その後、電子染色剤 (TI ブルー、日新 EM) で20分間染色し、再度蒸留水で洗浄してから卓上顕微鏡 (Miniscope TM3000, 日立ハイテクノロジーズ)で紙片の SEM 画像を撮影した。

3・2 土壌埋設法によるセルロース分解試験

実際の本工法の施工方法を模擬し、微生物による生分解状況を



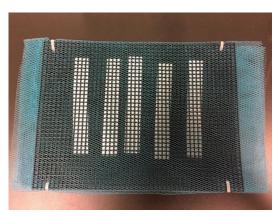
(1) Sample mixing



(2) Sample curing



(3) Fiber-Cement-Stabilized Mud completion



(4) The piece of paper inserted between the plastic net



(5) Sample tamping



(6) Sample completion

Fig.2 Cellulose biodegradation test situation by soil buried method.

観察するため、ため池から採取した泥土単体に紙片を埋設した試 料と、その泥土で作成した繊維質固化処理土で紙片を埋設した試 料を作成し、所定期間保管後の紙片分解状況を確認した。まず、 泥土に繊維質系泥土改良材 25 kg/m³, セメント系固化材 (GS200, 太平洋セメント)100 kg/m³を添加混合した後,3 日間予備養生し, 繊維質固化処理土を作成した。これを解きほぐし、プラスチック 製の網とネットで挟んだ紙片(幅15mm,長さ100mに裁断)を プラスチック製コンテナボックス (縦 300mm×横 200mm×高さ 100mm) に埋設・転圧した。同様に、プラスチック製の網とネッ トで挟んだ紙片を泥土単体で埋設した。それぞれ 25℃± 2℃の室 内で6ヶ月間保管した後、各試料から紙片を取り出し、目視によ り分解状況を確認した。Fig. 2 に土壌埋設法によるセルロース分 解試験状況を示す。

4. 結果と考察

4・1 培養法によるセルロース分解試験

採取した泥土のセルロース分解菌の存在有無を調べるために実 施した予備試験の結果, Fig. 3 に示すとおり, 20 日間で紙片がほ ぼ完全に分解され、泥土中にセルロース分解菌が存在することを 定性的に確認した。

次に、セルロース分解に対する pH の影響を調べるために実施 した培養試験における紙片状況写真を Table 4 に示す。その結果、 培養温度 10℃の試料では、すべての pH において紙片の分解が確 認されなかった。これは、一般的に土中の細菌は20~30℃でよ く増殖し、活動するものが多いが $^{14)}$ 、今回は 10 という低温環 境下であったため、セルロース分解菌が活動できなかったものと





Day1 Day20

Fig.3 Results of a preliminary test was conducted in order to investigate existence of cellulolytic fungus in the sampled mud.

 $\label{thm:condition:con$

No.	$^{\circ}$ C	pН	Mad	Buffer	Day1	Day105
1-1-0	10	7.0	×	MOPS	III	W
1-1-1	10	7.0	0	MOPS	III	
1 - 2 - 0	10	9.5	×	CHES		W
1 - 2 - 1	10	9.5	0	CHES		
1-3-0	10	12.0	×	CAPS	W	III
1-3-1	10	12.0	0	CAPS	M	
2-1-0	20	7.0	×	MOPS	W	III
2-1-1	20	7.0	0	MOPS	W	
2-2-0	20	9.5	×	CHES	W	
2 - 2 - 1	20	9.5	0	CHES		
2-3-0	20	12.0	×	CAPS	W	
2-3-1	20	12.0	0	CAPS	W	

(次頁に続く)

No.	$^{\circ}$	рН	Mad	Buffer	Day1	Day105
3 - 1 - 0	30	7.0	×	MOPS		III
3 - 1 - 1	3 0	7.0	0	MOPS	VII	
3 - 2 - 0	3 0	9.5	×	CHES	III	III
3 - 2 - 1	3 0	9.5	0	CHES		
3 - 3 - 0	3 0	12.0	×	CAPS	III	III
3 - 3 - 1	3 0	12.0	0	CAPS		
4 - 1 - 0	3 0	7.0	×	CHES	W	W
4 - 1 - 1	3 0	7.0	0	CHES	W	
5-1-0	3 0	7.0	×	CAPS	W	W
5-1-1	3 0	7.0	0	CAPS	W	

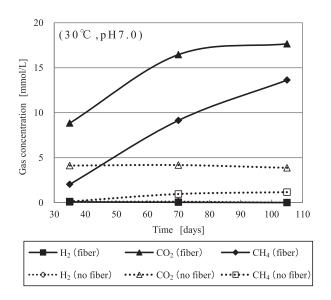
推察される。培養温度 20℃と 30℃の試料では、pH 7.0 の条件下 では紙片の分解が確認されたが、pH 9.5 と pH 12.0 では 105 日間 経過後も紙片の分解は確認できなかった。これは、セルロース分 解菌の好適範囲 pH を外れたため菌が死滅または活動が停止し、 その結果セルラーゼが生成されず、紙片が分解されなかったもの と推察される。さらに、培地に添加した各緩衝剤がセルロース分 解に与える影響を確認した結果, pH 7.0 に調整した培地に CHES および CAPS を添加した試料 (No.4-1-1 および 5-1-1) では紙片が 分解し、CHES を添加しpH 9.5 に調整した試料、CHAPS を添加 しpH 12.0 に調整した試料では紙片が分解しなかった。したがっ て、使用した緩衝剤の影響により紙片分解が阻害されないことが 確認された。

次に, pH 7.0 と 12.0 の試料を 30℃で培養した試験管の気相部 分からガスを採取し、培養 35・70・105 日目における $H_2 \cdot CO_2 \cdot$ CH4 の濃度を測定した結果を Fig. 4 に示す。pH 7.0 の紙片無添 加試料では、H2 はほとんど検出されず、CH4 は 105 日目までに 1.2mmol/L, CO₂ は 3.9mmol/L 生成された。これらのガスは、培 地に含まれる有機物と泥土由来の有機物から生成されたものと 推察される。また、pH 7.0 の紙片添加試料では、H2 はほとんど 検出されなかったが、CO₂とCH₄は紙片無添加の場合よりも早 く生成され, 最終的には CH4 は約12倍, CO2 は4倍生成され た。これは微生物により紙片が分解され、紙片無添加の場合より もガスが多く生成されたものと推察される。pH 12.0 の試料では,

紙片の有無に関わらず, 各種ガスが検出されなかった。これは, pH 12.0 環境下では微生物の活動が停止または死滅したため、紙 片を分解することができず、ガスが発生しなかったものと推察さ れる

次に、培養試験終了後、試験管内部の液相部分を採取し、揮 発性脂肪酸 (VFA) の測定結果を Fig. 5 に示す。pH7.0 の紙片無添 加試料では、酢酸 (Acetic acid) が僅かに検出されたが、紙片添加 試料では、酢酸を中心に多くのプロピオン酸 (Propionic acid), 酪 酸 (Butyric acid) が検出された。これは、セルロース分解菌によっ て紙片が分解され,低分子化した結果,紙片添加有試料の方が 多く VFA が検出されたものと推察される。また、pH 12.0 の試料 では、紙片の有無に関わらず VFA が検出されなかった。これは、 pH 12.0 環境下では微生物の活動が停止または死滅したため、紙 片を分解することができず、VFA が発生しなかったものと推察 される。

培養試験終了後,試験管から取り出した試料 3-1-1 (30℃培養, pH7.0, 泥土有)の紙片と, 試料 3-3-1 (30℃培養, pH12.0, 泥土 有)の紙片の SEM 画像を Fig. 6 に示す。試料 3-3-1 (30℃培養, pH12.0, 泥土有)は紙片の形を保っており、繊維が本来の状態 を保っていたが, 試料 3-1-1 (30℃培養, pH7.0, 泥土有) は紙片 の形が崩れており、繊維1本1本も細く劣化していた。また、 pH12.0 では微生物と思われるものは確認されなかったが、pH7.0 では鞭毛を有した微生物が繊維表面に高密度で付着しているのが



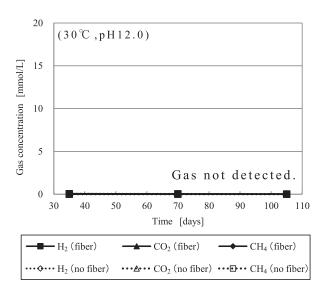
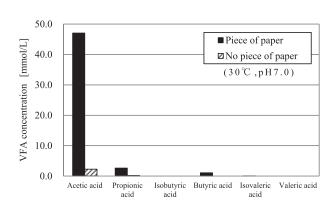


Fig.4 Relation between culture period and the gas concentration.



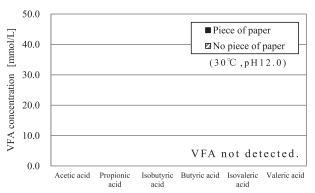


Fig.5 Relation between the VFA type and the VFA concentration.

確認された。pH12.0 では微生物の存在が確認されず、pH7.0 には 同形状の微生物が高密度に付着していたことから, セルロース分 解菌と思われる微生物が好適環境下で紙片の主成分であるセル ロースを分解しているものと推察される。さらに、SEM 画像に おける紙片への微生物付着状況は、先のガス分析結果や VFA 分 析結果とも一致しており, pH12.0 ではガスや VFA は発生しなかっ たが、pH7.0 ではガスや VFA が多く発生していたため、微生物 によるセルロース分解を裏付ける結果であると考えられる。

4・2 土壌埋設法によるセルロース分解試験

土壌埋設6ヶ月後に取り出した紙片状況をFig.7に示す。泥土 単体に埋設した試料は紙片がほぼ完全に分解していたが、繊維質 固化処理土で埋設した試料は試験開始直後とほぼ同じ状態で紙片 が残存していた。また、埋設試験終了後の試料の pH を測定した ところ, 泥土単体は pH6.6, 繊維質固化処理土は pH11.5 であった。 これは,先に報告した培養試験で得られた結果とも一致しており, 繊維質固化処理土中の pH を高アルカリに保つことにより,紙片 が分解されないことを示している。

5. 結

本研究では、本工法で用いる繊維質系泥土改良材が土中の微生 物によって分解されず, 処理土の長期安定性を解明するため, 紙 片(セルロース繊維)を用いた種々の実験を行い、検討を行った。 本研究より得られた成果を以下に示す。

(1) 培養試験の結果から、pH7.0 に調整した試料は培養期間を経

- ることによって紙片が徐々に分解されてしまうが、pH9.5以 上に調整した試料では、紙片は分解されないことがわかった。
- (2) 培養試験におけるガス分析, VFA 分析の結果から, pH7.0 に 調整した試料は紙片が分解され、多くの VFA やガスを発生 していたが、pH12.0 に調整した試料は紙片が分解せず、VFA やガスが確認されなかった。したがって、異なる pH 環境下 におけるセルロースの分解度を、分解生成物である VFA や ガス成分から間接的に確認することができた。
- (3) SEM 画像解析の結果から、pH 12.0 の培養では微生物の増殖 が認められず、紙片の分解も確認できなかった。しかし、pH 7.0 で培養した紙片には同形状の微生物が高密度で付着してお り、セルロースの分解が進行していることが明らかになった。
- (4) 土壌埋設試験の結果から、泥土単体で埋設した紙片は大きく 分解していたが、繊維質固化処理改良土で埋設した紙片は試 験開始直後と同じ状態で残存していた。先に実施した培養試 験における結果が、実際の施工方法でも再現可能であること を確認した。

培養法、土壌埋設法によるセルロース分解試験により得られた 成果から、本工法で使用する繊維質系泥土改良材が土中のセル ロース分解菌によって分解されることなく長期間残存させるため には,処理土中のpHを9.5以上の高アルカリ環境下に置くことで, セルロース分解菌が生息または繁殖ができず、これらが分解する ことなく処理土中に残存することが確認された。

なお、本試験は105日という期間で実験を行ったため、それ以

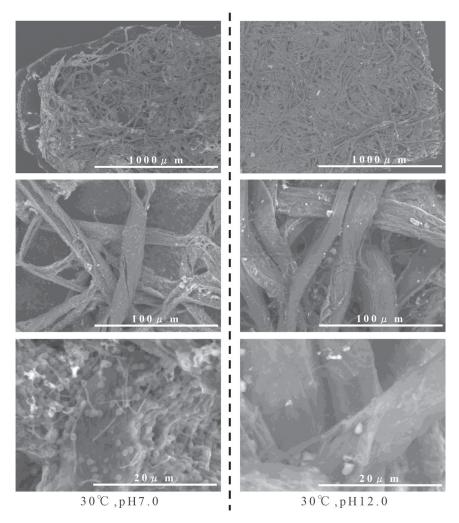


Fig.6 SEM images of the sample 3-1-1 piece of paper and the sample 3-3-1 piece of paper.



The piece of paper which was buried in the mud



The Piece of paper which was buried in the Fiber-Cement-Stabilized Mud

Fig.7 The piece of paper situation 6 months later.

上の長期安定性に関する検討を行っていない。したがって,過去 に本工法で施工した処理土をサンプリングし, セルロースの残存 状況と処理土の pH を測定し、更なる長期安定性について検討を 行う必要がある。

References

- 1) Cabinet Office: Act on the Promotion of Effective Utilization of Resources (1991).
- 2) Policy Bureau, Ministry of Land, Infrastructure, Transport and Tourism:http://www.mlit. $go.jp/sogose is aku/region/recycle/pdf/fukusan butsu/jitta ichousa/H24 sensus kekka_sankou.$
- 3) Ports and Harbours Bureau, Ministry of Land, Infrastructure, Transport and Tourism: http:// www.mlit.go.jp/common/000116478.pdf, (2010), p.8.
- 4) Policy Bureau, Ministry of Land, Infrastructure, Transport and Tourism:http://www.mlit. $go.jp/sogoseisaku/region/recycle/pdf/fukusanbutsu/jittaichousa/H24sensuskekka_sankou.$ pdf, (2014), p.8.

- 5) 土木研究所: 建設発生土利用技術マニュアル, (1994), pp.5-37.
- 6) M.Mori, H.Takahashi, A.Ousaka, K.Horii, I.Kataoka, T.Ishii and K. Kotani: Journal of MMIJ, 119 (2003), 155-160.
- 7) M.Mori, H.Takahashi, and K. Kumakura: Journal of MMIJ, 121 (2005), 37-43.
- 8) 都甲由紀子, 駒城素子: セルロース分解酵素セルラーゼについて, 生活工学研究, 1 (2), (1999), 99.
- 9) 服部勉, 宮下清貴: 土の微生物学, (養賢堂, 東京, 1996), pp.59-60.
-)))服部勉、宮下清貴: 土の微生物学、(養賢堂、東京, 1996), pp.13-14. 11) 石野良純: 極限環境で働くタンパク質の特徴と利用, 生化学, **81** (12), (2009), 1035.
- 12) N.Kaku, T.Uttanai, S.Hasegawa, A, Ueki and K, Ueki: Stabilization Factors for Propionate Oxidation in Methanogenic Process Treating Artificial Wastewater, JSWE, 33 (2010), 147.
- 13) N.Kaku, T. Uttanai, S. Hasegawa, A, Ueki and K, Ueki: Stabilization Factors for Propionate Oxidation in Methanogenic Process Treating Artificial Wastewater, JSWE, 33 (2010), 148.
- 14) 服部勉, 宮下清貴: 土の微生物学, (養賢堂, 東京, 1996), pp.13-14.