

健全性崩壊をもたらす微生物による視認不可腐食の
分子生物・電気化学的診断及び抑制技術の開発
(委託研究)

—令和2年度英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業—

Development of Genetic and Electrochemical Diagnosis and Inhibition Technologies
for Invisible Corrosion Caused by Microorganisms
(Contract Research)

-FY2020 Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource
Development Project-

福島研究開発部門 福島研究開発拠点 廃炉環境国際共同研究センター
物質・材料研究機構

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science,
Fukushima Research Institute, Sector of Fukushima Research and Development
National Institute for Materials Science

February 2022

Japan Atomic Energy Agency

日本原子力研究開発機構

JAEA-Review

本レポートは国立研究開発法人日本原子力研究開発機構が不定期に発行する成果報告書です。本レポートはクリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 ライセンスの下に提供されています。本レポートの成果（データを含む）に著作権が発生しない場合でも、同ライセンスと同様の条件で利用してください。（<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ja>）
なお、本レポートの全文は日本原子力研究開発機構ウェブサイト（<https://www.jaea.go.jp>）より発信されています。本レポートに関しては下記までお問合せください。

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構 JAEA イノベーションハブ 研究成果利活用課
〒319-1195 茨城県那珂郡東海村大字白方2番地4
電話 029-282-6387, Fax 029-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

This report is issued irregularly by Japan Atomic Energy Agency.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).
Even if the results of this report (including data) are not copyrighted, they must be used under the same terms and conditions as CC-BY.
For inquiries regarding this report, please contact Institutional Repository and Utilization Section, JAEA Innovation Hub, Japan Atomic Energy Agency.
2-4 Shirakata, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 319-1195 Japan
Tel +81-29-282-6387, Fax +81-29-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

健全性崩壊をもたらす微生物による視認不可腐食の分子生物・電気化学的診断
及び抑制技術の開発

(委託研究)

—令和 2 年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業—

日本原子力研究開発機構 福島研究開発部門 福島研究開発拠点
廃炉環境国際共同研究センター

物質・材料研究機構

(2021 年 11 月 5 日受理)

日本原子力研究開発機構 (JAEA) 廃炉環境国際共同研究センター (CLADS) では、令和 2 年度 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業 (以下、「本事業」という) を実施している。

本事業は、東京電力ホールディングス株式会社福島第一原子力発電所 (以下、「1F」という) の廃炉等をはじめとした原子力分野の課題解決に貢献するため、国内外の英知を結集し、様々な分野の知見や経験を、従前の機関や分野の壁を越えて緊密に融合・連携させた基礎的・基盤的研究及び人材育成を推進することを目的としている。

平成 30 年度の新規採択課題から実施主体を文部科学省から JAEA に移行することで、JAEA とアカデミアとの連携を強化し、廃炉に資する中長期的な研究開発・人材育成をより安定的かつ継続的に実施する体制を構築した。

本研究は、研究課題のうち、令和 2 年度に採択された「健全性崩壊をもたらす微生物による視認不可腐食の分子生物・電気化学的診断及び抑制技術の開発」の令和 2 年度の研究成果について取りまとめたものである。

本研究は、微生物が関与して誘起・加速する金属材料の腐食 (微生物鉄腐食) に関して、加速検査試験片、オンサイト遺伝子検査などの革新的な診断技術を開発、1F で想定される微生物腐食の発生・進行条件の洗い出しを行い、水質や環境コントロールによって微生物腐食を防ぐ方法を提案することを目的とした。さらに、材料・微生物・電気化学を基盤とした研究拠点を発展的に形成し、現場技術者が使用可能な技術の開発、さらには高い学際性を持つリーダー人材の育成を目指す。本年度の実験から特に 1F と関連する環境サンプルから微生物による腐食反応が確認でき、この腐食反応を抑制する条件の特定が今後進むことが期待できる。その他の計画に関しても、次年度以降の重要な実験を始めるための予備的な知見が得られた。

本報告書は、日本原子力研究開発機構の英知事業における委託業務として、物質・材料研究機構が実施した成果を取りまとめたものである。

廃炉環境国際共同研究センター：〒979-1151 福島県双葉郡富岡町大字本岡字王塚 790-1

Development of Genetic and Electrochemical Diagnosis and Inhibition Technologies for Invisible Corrosion Caused by Microorganisms

(Contract Research)

— FY2020 Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project —

Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science,
Fukushima Research Institute, Sector of Fukushima Research and Development
Japan Atomic Energy Agency
Tomioka-machi, Futaba-gun, Fukushima-ken

National Institute for Materials Science

(Received November 5, 2021)

The Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science (CLADS), Japan Atomic Energy Agency (JAEA), had been conducting the Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project (hereafter referred to “the Project”) in FY2020.

The Project aims to contribute to solving problems in the nuclear energy field represented by the decommissioning of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Station (1F), Tokyo Electric Power Company Holdings, Inc. (TEPCO). For this purpose, intelligence was collected from all over the world, and basic research and human resource development were promoted by closely integrating/collaborating knowledge and experiences in various fields beyond the barrier of conventional organizations and research fields.

The sponsor of the Project was moved from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology to JAEA since the newly adopted proposals in FY2018. On this occasion, JAEA constructed a new research system where JAEA-academia collaboration is reinforced and medium-to-long term research/development and human resource development contributing to the decommissioning are stably and consecutively implemented.

Among the adopted proposals in FY2020, this report summarizes the research results of the “Development of genetic and electrochemical diagnosis and inhibition technologies for invisible corrosion caused by microorganisms” conducted in FY2020.

The present study aims to develop innovative diagnostic techniques such as accelerated test specimens and on-site genetic testing for microbially induced and accelerated corrosion of metallic materials (microbially influenced corrosion, MIC), and to identify the conditions that promote MIC at 1F for proposing methods to prevent MIC through water quality and environmental control. We also aim to develop a research base based on materials, microorganisms, and electrochemistry, to develop technologies that can be used by engineers in the field, and to cultivate leaders with high interdisciplinary skills. From this year's experiments, microbial corrosion reactions have been confirmed in cultivation test using environmental samples around 1F, and the identification of conditions that inhibit these corrosion reactions will be advanced in the future. As for the other projects, we obtained knowledge to start important experiments planned in the next fiscal year.

Keywords: Microbially Influenced Corrosion, Iron Alloy, Extracellular Electron Transport, Sulfate-reducing Bacteria, On-site Diagnostic Technique

This work was performed by National Institute for Materials Science under contract with Japan Atomic Energy Agency.

目次

| | |
|-------------------------------------|----|
| 1. 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業の概要 | 1 |
| 2. 平成 30 年度 採択課題 | 2 |
| 3. 令和元年度 採択課題 | 5 |
| 4. 令和 2 年度 採択課題 | 8 |
| 付録 成果報告書 | 11 |

Contents

| | |
|--|----|
| 1. Outline of Nuclear Energy Science & Technology and Human Resource Development Project | 1 |
| 2. Accepted Proposal in FY2018..... | 2 |
| 3. Accepted Proposal in FY2019..... | 5 |
| 4. Accepted Proposal in FY2020..... | 8 |
| Appendix Result Report | 11 |

This is a blank page.

1. 英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業の概要

文部科学省では、「東京電力(株)福島第一原子力発電所の廃止措置等研究開発の加速プラン(平成26年6月文部科学省)」等を踏まえ、平成27年度から「英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業」(以下、「本事業」という。)を立ち上げ、「戦略的原子力共同研究プログラム」、「廃炉加速化研究プログラム」及び「廃止措置研究・人材育成等強化プログラム」を推進している。

具体的には、国内外の英知を結集し、国内の原子力分野のみならず様々な分野の知見や経験を、機関や分野の壁を越え、国際共同研究も含めて緊密に融合・連携させることにより、原子力の課題解決に資する基礎的・基盤的研究や産学が連携した人材育成の取組を推進している。

一方、日本原子力研究開発機構(以下、「JAEA」という。)では、平成27年に廃炉国際共同研究センター(以下、「CLADS」という。現:廃炉環境国際共同研究センター)を組織し、「東京電力ホールディングス(株)福島第一原子力発電所の廃止措置等に向けた中長期ロードマップ」等を踏まえ、東京電力ホールディングス株式会社福島第一原子力発電所廃炉(以下、「1F廃炉」という。)に係る研究開発を進めている。

また、平成29年4月にCLADSの中核拠点である「国際共同研究棟」の運用を開始したことを踏まえ、今後はCLADSを中核に、廃炉の現場ニーズを踏まえた国内外の大学、研究機関等との基礎的・基盤的な研究開発及び人材育成の取組を推進することにより、廃炉研究拠点の形成を目指すことが期待されている。

このため、本事業では平成30年度の新規採択課題から実施主体を文部科学省からJAEAに移行することで、JAEAとアカデミアとの連携を強化し、廃炉に資する中長期的な研究開発・人材育成をより安定的かつ継続的に実施する体制を構築することとし、従来プログラムを、①共通基盤型原子力研究プログラム、②課題解決型廃炉研究プログラム、③国際協力型廃炉研究プログラム、④研究人材育成型廃炉研究プログラム(令和元年度より新設)に再編した。

2. 平成 30 年度 採択課題

平成 30 年度採択課題については以下のとおりである。

課題数：19 課題

| | |
|-----------------|----------------------------|
| 共通基盤型原子力研究プログラム | 11 課題（若手研究 6 課題、一般研究 5 課題） |
| 課題解決型廃炉研究プログラム | 6 課題 |
| 国際協力型廃炉研究プログラム | 2 課題（日英共同研究） |

平成 30 年度 採択課題一覧

共通基盤型原子力研究プログラム

【若手研究】

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|---|-------|--------|
| 被災地探査や原子力発電所建屋内情報収集のための半自律ロボットを用いたセマンティックサーベイマップ生成システムの開発 | 河野 仁 | 東京工芸大学 |
| 汚染土壌の減容を目的とした重液分離による放射性微粒子回収法の高度化 | 山崎 信哉 | 筑波大学 |
| ラドンを代表としたアルファ核種の吸入による内部被ばくの横断的生体影響評価 | 片岡 隆浩 | 岡山大学 |
| 炉心溶融物の粘性及び表面張力同時測定技術の開発 | 大石 佑治 | 大阪大学 |
| iPS 細胞由来組織細胞における放射線依存的突然変異計測系の確立 | 島田 幹男 | 東京工業大学 |
| レーザー共鳴イオン化を用いた同位体存在度の低いストロンチウム 90 の迅速分析技術開発 | 岩田 圭弘 | 東京大学 |

共通基盤型原子力研究プログラム

【一般研究】

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|------------------------------------|--------|-----------------|
| 放射性核種の長期安定化を指向した使用済みゼオライト焼結固化技術の開発 | 新井 剛 | 芝浦工業大学 |
| 燃料デブリ取り出しを容易にするゲル状充填材の開発 | 牟田 浩明 | 大阪大学 |
| レーザー蛍光法を用いた燃料デブリ変質相の同定 | 斉藤 拓巳 | 東京大学 |
| 過酷炉心放射線環境における線量測定装置の開発 | 岡本 保 | 木更津工業 高等専門学校 |
| レーザー加工により発生する微粒子の解析と核種同定手法の開発 | 長谷川 秀一 | 東京大学 |

課題解決型廃炉研究プログラム

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|--|-------|-------------------|
| 合金相を含む燃料デブリの安定性評価のための基盤研究 | 桐島 陽 | 東北大学 |
| ガンマ線画像スペクトル分光法による高放射線場環境の画像化による定量的放射能分布解析法 | 谷森 達 | 京都大学 |
| 燃料デブリ取出し時における放射性核種飛散防止技術の開発 | 鈴木 俊一 | 東京大学 |
| アルファダストの検出を目指した超高位置分解能イメージング装置の開発 | 黒澤 俊介 | 東北大学 |
| ナノ粒子を用いた透明遮へい材の開発研究 | 渡邊 隆行 | 九州大学 |
| 先端計測技術の融合で実現する高耐放射線燃料デブリセンサーの研究開発 | 萩原 雅之 | 高エネルギー 加速器研究機構 |

国際協力型廃炉研究プログラム（日英共同研究）

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|-------------------------------|--------|------|
| 放射性微粒子の基礎物性解明による廃炉作業リスク低減への貢献 | 五十嵐 康人 | 茨城大学 |
| 放射線耐性の高い薄型 SiC 中性子検出器の開発 | 三澤 毅 | 京都大学 |

3. 令和元年度 採択課題

令和元年度採択課題については以下のとおりである。

課題数：19 課題

- 共通基盤型原子力研究プログラム 7 課題（若手研究 2 課題、一般研究 5 課題）
- 課題解決型廃炉研究プログラム 4 課題
- 国際協力型廃炉研究プログラム 4 課題（日英共同研究 2 課題、日露共同研究 2 課題）
- 研究人材育成型廃炉研究プログラム 4 課題

令和元年度 採択課題一覧

共通基盤型原子力研究プログラム

【若手研究】

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|---------------------------------------|--------|--------|
| ウラニル錯体化学に基づくテーラーメイド型新規海水ウラン吸着材開発 | 鷹尾 康一朗 | 東京工業大学 |
| 動作不能からの復帰を可能とする多連結移動ロボットの半自律遠隔操作技術の確立 | 田中 基康 | 電気通信大学 |

共通基盤型原子力研究プログラム

【一般研究】

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|--|----------------------------|------------------|
| 一次元光ファイバ放射線センサを用いた原子炉建屋内放射線源分布計測 | 瓜谷 章 | 名古屋大学 |
| 低線量・低線量率放射線被ばくによる臓器別酸化ストレス状態の検討 | 鈴木 正敏 | 東北大学 |
| 単一微粒子質量分析法に基づくアルファ微粒子オンラインモニタリングに向けた基礎検討 | 豊嶋 厚史 | 大阪大学 |
| 幹細胞動態により放射線発がんを特徴付ける新たな評価系の構築 | 飯塚 大輔 | 量子科学技術 研究開発機構 |
| 耐放射線性ダイヤモンド半導体撮像素子の開発 | 梅沢 仁 (令和元年度まで) 大曲 新矢 | 産業技術総合 研究所 |

課題解決型廃炉研究プログラム

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|--|-------|--------------------------|
| Multi-Physics モデリングによる福島2・3号機ペDESTAL燃料デブリ深さ方向の性状同定 | 山路 哲史 | 早稲田大学 |
| 燃料デブリ取出しに伴い発生する廃棄物のフッ化技術を用いた分別方法の研究開発 | 渡邊 大輔 | 日立 GE ニュークリ ア・エナジー |
| アパタイトセラミックスによる ALPS 沈殿系廃棄物の安定固化技術の開発 | 竹下 健二 | 東京工業大学 |
| 拡張型スーパードラゴン多関節ロボットアームによる圧力容器内燃料デブリ調査への挑戦 | 高橋 秀治 | 東京工業大学 |

国際協力型廃炉研究プログラム（日英共同研究）

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|--|-------|-------------------------------|
| 高い流動性および陰イオン核種保持性を有するアルカリ刺激材料の探索と様々な放射性廃棄物の安全で効果的な固化 | 佐藤 努 | 北海道大学 |
| 再臨界前の中性子線増に即応可能な耐放射線 FPGA システムの開発 | 渡邊 実 | 静岡大学 (令和2年度 まで) 岡山大学 |

国際協力型廃炉研究プログラム（日露共同研究）

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|-------------------------------|-------|--------|
| 燃料デブリ取出し臨界安全技術の高度化 | 小原 徹 | 東京工業大学 |
| 微生物生態系による原子炉内物体の腐食・変質に関する評価研究 | 金井 昭夫 | 慶應義塾 |

研究人材育成型廃炉研究プログラム

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|--|------------------------------|------------|
| 燃料デブリ取り出し時における炉内状況把握のための遠隔技術に関する研究人材育成 | 浅間 一 | 東京大学 |
| 化学計測技術とインフォマティクスを融合したデブリ性状把握手法の開発とタイアップ型人材育成 | 高貝 慶隆 | 福島大学 |
| 放射線・化学・生物的作用の複合効果による燃料デブリ劣化機構の解明 | 大貫 敏彦 (平成30年度まで) 竹下 健二 | 東京工業 大学 |
| 燃料デブリ分析のための超微量分析技術の開発 | 永井 康介 | 東北大学 |

4. 令和2年度 採択課題

令和2年度は、2つのプログラムにおいて、研究課題の採択を決定した。
公募の概要は以下のとおりである。

公募期間：令和2年3月17日～令和2年5月14日（課題解決型）
令和2年5月13日～令和2年7月15日（国際協力型）

課題数：10 課題

課題解決型廃炉研究プログラム 8 課題（若手研究2 課題、一般研究6 課題）
国際協力型廃炉研究プログラム 2 課題（日英共同研究）

これらの提案について、外部有識者から構成される審査委員会において、書面審査及び面接審査、日英共同研究については二国間の合同審査を実施し、採択候補課題を選定した。

その後、PD（プログラムディレクター）・PO（プログラムオフィサー）会議での審議を経て、採択課題を決定した。

令和2年度 採択課題一覧

課題解決型廃炉研究プログラム

【若手研究】

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|--|-------|-----------|
| 燃料デブリにおける特性の経年変化と環境劣化割れの調査 | 楊 会龍 | 東京大学 |
| 健全性崩壊をもたらす微生物による視認不可腐食の分子生物・電気化学的診断及び抑制技術の開発 | 岡本 章玄 | 物質・材料研究機構 |

課題解決型廃炉研究プログラム

【一般研究】

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|---|-------|---------------|
| 遮蔽不要な臨界近接監視システム用ダイヤモンド中性子検出器の要素技術開発 | 田中 真伸 | 高エネルギー加速器研究機構 |
| α / β / γ 線ラジオリシス影響下における格納容器系統内広域防食の実現：ナノバブルを用いた新規防食技術の開発 | 渡邊 豊 | 東北大学 |
| β 、 γ 、X線同時解析による迅速・高感度放射性核種分析法の開発 | 篠原 宏文 | 日本分析センター |
| 合理的な処分のための実機環境を考慮した汚染鉄筋コンクリート長期状態変化の定量評価 | 丸山 一平 | 東京大学 |
| 溶脱による変質を考慮した汚染コンクリート廃棄物の合理的処理・処分の検討 | 小崎 完 | 北海道大学 |
| マイクロ波重畳 LIBS によるデブリ組成計測の高度化と同位体の直接計測への挑戦 | 池田 裕二 | アイラボ |

国際協力型廃炉研究プログラム（日英共同研究）

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|-------------------------------|-------|---------------|
| 革新的水質浄化剤の開発による環境問題低減化技術の開拓 | 浅尾 直樹 | 信州大学 |
| 無人航走体を用いた燃料デブリサンプルリターン技術の研究開発 | 鎌田 創 | 海上・港湾・航空技術研究所 |

本報告書は、以下の課題の令和2年度の研究成果を取りまとめたものである。

課題解決型廃炉研究プログラム

| 課題名 | 研究代表者 | 所属機関 |
|--|-------|---------------|
| 健全性崩壊をもたらす微生物による視認不可腐食の分子生物・電気化学的診断及び抑制技術の開発 | 岡本 章玄 | 物質・材料 研究機構 |

研究成果を取りまとめた成果報告書を付録として添付する。

付録
成果報告書

This is a blank page.

令和 2 年度

日本原子力研究開発機構

英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業

健全性崩壊をもたらす微生物による
視認不可腐食の分子生物・電気化学的診断
及び抑制技術の開発
(契約番号 R02I138)

成果報告書

令和 3 年 3 月

国立研究開発法人物質・材料研究機構

本報告書は、国立研究開発法人日本原子力研究開発機構の「英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業」による委託業務として、国立研究開発法人物質・材料研究機構が実施した「健全性崩壊をもたらす微生物による視認不可腐食の分子生物・電気化学的診断及び抑制技術の開発」の令和2年度の研究成果を取りまとめたものです。

目次

| | |
|---|-------|
| 概略..... | vi |
| 1. はじめに..... | 1-1 |
| 2. 業務計画..... | 2.1-1 |
| 2.1 全体計画..... | 2.1-1 |
| 2.2 令和2年度の成果の目標及び業務の実施方法..... | 2.2-1 |
| 2.2.1 急速かつ局所的電気微生物腐食の診断と抑止技術の開発..... | 2.2-1 |
| 2.2.2 バイオマーカー遺伝子の探索及びオンサイト診断技術の開発 (再委託先：JAMSTEC)..... | 2.2-1 |
| 2.2.3 1F設備において微生物腐食リスクが高まる環境条件のスクリーニング (再委託先：電中研)..... | 2.2-2 |
| 2.2.4 1F周辺環境の微生物の特徴の把握及び微生物腐食挙動の評価 (連携先：原子力機構)..... | 2.2-2 |
| 2.2.5 研究推進..... | 2.2-2 |
| 3. 令和2年度の実施内容及び成果..... | 3.1-1 |
| 3.1 急速かつ局所的電気微生物腐食の診断と抑止技術の開発..... | 3.1-1 |
| 3.1.1 電気腐食細菌の濃縮技術を利用した鍵酵素群（バイオマーカー）の特定..... | 3.1-1 |
| 3.1.2 オンサイトで電気腐食機構の有無を検査する投げ込み試験片の開発..... | 3.1-2 |
| 3.1.3 培養株を用いた微生物腐食機構速度の各条件での評価と抑制対策法の確立..... | 3.1-4 |
| 3.2 バイオマーカー遺伝子の探索及びオンサイト診断技術の開発 (再委託先：JAMSTEC)..... | 3.2-1 |
| 3.2.1 鉄腐食性メタン生成菌を用いた培養試験..... | 3.2-1 |
| 3.2.2 好気環境でのステンレス鋼の微生物腐食試験..... | 3.2-3 |
| 3.2.3 環境試料を用いた培養試験..... | 3.2-5 |
| 3.2.4 環境試料及び培養物の微生物群集構造解析..... | 3.2-7 |
| 3.3 1F設備において微生物腐食リスクが高まる環境条件のスクリーニング (再委託先：電中研)..... | 3.3-1 |
| 3.3.1 設備環境を想定した環境条件下での腐食試験-腐食試験における培養条件の選定-..... | 3.3-1 |
| 3.3.2 微生物試料の取得及び実験条件の確立..... | 3.3-8 |
| 3.4 1F周辺環境の微生物の特徴の把握及び微生物腐食挙動の評価 (連携先：原子力機構)..... | 3.4-1 |
| 3.4.1 1F周辺環境の微生物の特徴の把握..... | 3.4-1 |
| 3.4.2 微生物腐食挙動の評価..... | 3.4-3 |
| 3.5 研究推進..... | 3.5-1 |
| 4. 結言..... | 4-1 |
| 用語の説明書..... | 5-1 |

執筆者リスト

| | | |
|-------|---|---|
| 事業代表者 | 国立研究開発法人物質・材料研究機構 独立研究者 | 岡本 章玄 |
| 再委託先 | 国立研究開発法人海洋研究開発機構 研究員 | 超先鋭研究開発部門 若井 暁 |
| 再委託先 | 一般財団法人電力中央研究所 上席研究員 | 環境科学研究所 平野 伸一 |
| 連携先 | 国立研究開発法人日本原子力研究開発機構 炉内状況把握ディビジョン 同 特殊環境腐食研究グループ 燃料デブリ研究ディビジョン 燃料デブリ取扱技術開発グループ 同 同 | 廃炉環境国際共同研究センター 副ディビジョン長 研究員 リーダー 研究副主幹 研究員 上野 文義 大谷 恭平 池田 篤史 北垣 徹 土津田雄馬 |

表一覧

| | | |
|-----------|-----------------------------------|--------|
| 表 3.1.2-1 | 各合金の腐食速度（30 日） | 3.1-3 |
| 表 3.1.3-1 | 全研究機関の培地情報まとめ..... | 3.1-5 |
| 表 3.3.1-1 | 処理水タンクの水質 2015～2016 年..... | 3.3-4 |
| 表 3.3.1-2 | 処理水タンク水質 2019 年度 | 3.3-5 |
| 表 3.3.1-3 | Sr 処理水タンクの水質 | 3.3-6 |
| 表 3.3.1-4 | これまでの分析データから示される処理タンクの水質の範囲 | 3.3-7 |
| 表 3.3.2-1 | 採取試料の基礎性状..... | 3.3-9 |
| 表 3.3.2-2 | 水試料の陽イオン組成..... | 3.3-9 |
| 表 3.3.2-3 | 培養結果..... | 3.3-11 |
| 表 3.4.1-1 | 環境サンプリングの種類とサンプリング場所..... | 3.4-1 |

図一覧

| | | |
|------------|--|--------|
| 図 2.1-1 | 年度別全体計画..... | 2.1-1 |
| 図 2.1-2 | 実施体制図..... | 2.1-2 |
| 図 3.1.1-1 | 開発した磁気ナノ粒子と細菌の相互作用..... | 3.1-2 |
| 図 3.1.2-1 | 炭素鋼と Mo、Sb 入り鉄合金の腐食試験..... | 3.1-3 |
| 図 3.1.3-1 | 環境サンプルの電気化学培養..... | 3.1-5 |
| 図 3.2.1-1 | 異なる塩濃度及び pH 条件下での腐食によるガス発生量..... | 3.2-2 |
| 図 3.2.2-1 | 電位モニタリング培養の様子..... | 3.2-3 |
| 図 3.2.2-2 | 栄養塩及び塩化物イオン添加時の SUS316 試験片電極の電位挙動..... | 3.2-4 |
| 図 3.2.2-3 | 栄養塩のみを添加した場合の SUS316 試験片電極の電位挙動..... | 3.2-5 |
| 図 3.2.3-1 | 3 か月集積培養後のボトルの外観..... | 3.2-6 |
| 図 3.2.3-2 | 各培地で培養した時の腐食加速度..... | 3.2-7 |
| 図 3.3.1-1 | 原子炉建屋内の水質..... | 3.3-2 |
| 図 3.3.1-2 | 処理水タンク内の水質の整理..... | 3.3-7 |
| 図 3.3.2-1 | 腐食試験系培養後の写真..... | 3.3-10 |
| 図 3.3.2-2 | 炭素鋼を用いた硫酸還元菌の腐食活性の評価..... | 3.3-10 |
| 図 3.3.2-3 | 培養 1 か月後の培養試料の例..... | 3.3-12 |
| 図 3.3.2-4 | 培養条件①～③における培養液中の硫酸イオン濃度..... | 3.3-13 |
| 図 3.3.2-5 | 培養条件①～③における培養液中の Fe(II)濃度..... | 3.3-13 |
| 図 3.3.2-6 | 培養条件④における培養液中の硫酸イオン濃度..... | 3.3-14 |
| 図 3.3.2-7 | 培養条件④における培養液中の Fe(II)濃度..... | 3.3-14 |
| 図 3.3.2-8 | 培養条件④における植え継ぎ培養液中の硫酸イオン濃度..... | 3.3-15 |
| 図 3.3.2-9 | 培養条件④における植え継ぎ培養液中の Fe(II)濃度..... | 3.3-15 |
| 図 3.3.2-10 | 培養条件⑤における培養液中の硫酸イオン濃度..... | 3.3-16 |
| 図 3.3.2-11 | 培養条件⑤における培養液中の Fe(II)濃度..... | 3.3-16 |
| 図 3.3.2-12 | 白濁した地下水①培養試料..... | 3.3-17 |
| 図 3.3.2-13 | 培養条件⑤における植え継ぎ培養液中の Fe(II)濃度..... | 3.3-17 |
| 図 3.3.2-14 | 植え継ぎ試料の気相成分..... | 3.3-18 |
| 図 3.3.2-15 | 培養液中の細胞の顕微鏡観察結果..... | 3.3-19 |
| 図 3.3.2-16 | 腐食生成物の顕微鏡観察画像..... | 3.3-19 |
| 図 3.3.2-17 | 地下水③培養実験..... | 3.3-20 |
| 図 3.4.1-1 | 富岡町内での環境サンプリング場所..... | 3.4-1 |
| 図 3.4.1-2 | 環境サンプリング場所の写真..... | 3.4-2 |
| 図 3.4.1-3 | 培養したサンプルの外観 (28 日間培養)..... | 3.4-3 |
| 図 3.4.2-1 | 試料調製装置..... | 3.4-4 |
| 図 3.4.2-2 | 腐食影響の観察・分析・測定装置..... | 3.4-5 |

略語一覧

| | |
|-------------|---|
| AFM | : Atom Force Microscope (原子間力顕微鏡) |
| CLADS | : Collaborative Laboratories for Advanced Decommissioning Science (廃炉環境国際共同研究センター) |
| CRIEPI, 電中研 | : Central Research Institute of Electric Power Industry (一般財団法人電力中央研究所) |
| EDS | : Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (エネルギー分散形 X 線分光器) |
| FE-SEM | : Field Emission Scanning Electron Microscope (電解放出型走査電子顕微鏡) |
| JAEA, 原子力機構 | : Japan Atomic Energy Agency (国立研究開発法人日本原子力研究開発機構) |
| JAMSTEC | : Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (国立研究開発法人海洋研究開発機構) |
| 3D | : Three Dimension (三次元) |

概略

微生物が関与して誘起・加速する金属材料の腐食（微生物鉄腐食）は暗所や視認不可な場所で最大数十 mm/年で進行し、突発的な石油パイプラインの破損を引き起こすなど、甚大な事故の原因となっている。東京電力ホールディングス株式会社福島第一原子力発電所（以下「1F」という）のストロンチウム処理水タンクにおいても、2018年10月に環境中から混入した細菌に由来する硫化水素の発生が確認されたことから、健全性崩壊の新たなリスクとして懸念される。しかし、世界的にも微生物腐食のリスクは未だ定量されておらず、これを制御する技術は確立していない。本研究では、我々が明らかにした腐食反応に重要な役割を演じる鍵酵素や腐食機構の新知見に基づき、加速検査試験片、オンサイト遺伝子検査などの革新的な診断技術を開発する。さらに、1Fで想定される微生物腐食の発生・進行条件の洗い出しを行い、水質や環境コントロールによって微生物腐食を防ぐ方法を提案する。また、材料・微生物・電気化学を基盤とした研究拠点を発展的に形成し、現場技術者が使用可能な技術の開発、さらには高い学際性を持つリーダー人材の育成を目指す。

1. はじめに

1Fには様々な水を取り扱う設備や構造があり、場所によっては高レベルの放射性物質を含んでいる。廃炉作業を進める上で、このような汚染水の漏洩はあってはならない事故であるが、金属腐食によって突発的に生じ得るインシデントの1つである。この設備の健全性の崩壊の引き金になるリスクは長期的な廃炉作業が終了するまで付きまとうため、構造健全性を確認・確保したいというニーズに繋がっている。しかし、現状のガイドラインの中では、これまで多くの化学プラントやエネルギープラントで漏洩事故等を引き起こしてきた微生物による腐食（微生物腐食）に対して明記されていないのが現状である。

腐食の中でも最も診断やコントロールが難しい微生物腐食は、一度発生すると数十 mm/y といった急激な速度で局所的に鉄材料を腐食する事例がある。例えば、日常的に目視確認できない環境（石油パイプライン内部など）での微生物腐食は、これまで突発的かつ重大な事故を誘発した事例が多数報告されている。原子力関連設備においても例外ではなく、米国の原子力関連施設での微生物腐食が報告されており、1F においても地下水が流入している高放射線レベルの建屋内、汚染水や処理水を扱う設備、処理水の貯留タンクなど視認不可な環境に微生物が生息し、微生物腐食リスクがある。実際に、1F の処理水貯留タンクでの硫化水素発生も確認された。これは環境中の腐食微生物が集積されている確かな証拠であり、微生物腐食が建屋内で現実的な問題になりうることを明確に示している。しかしながら、1F におけるリスク評価、微生物腐食を低減させる有効な防止対策は共にその重要性すら認識されていない。

実は、原子力関連施設に限らず、現状の微生物腐食に対する知見の乏しさが、世界的な対応の遅れの本質的な原因である。一方で、近年、微生物が鉄表面から直接電子を引き抜いて能動的に腐食を促進する機構が明らかになった。この「電気腐食」は、古典的な生物由来硫化水素による受動的な腐食では説明できなかった局所的かつ急速な腐食を説明可能であるとして世界中で研究が進められている。我々は、世界に先駆けて電気腐食メカニズムを分子レベルで明らかにしており、得られている基礎的知見を用いて、現場での微生物腐食リスク予知・診断技術ならびに抑制技術を開発する。

これまで想定されてこなかった微生物を原因とする汚染水漏洩事故リスクの把握、1F 廃炉までの建屋及び汚染水貯蔵タンクの早急な健全性の評価は喫緊の課題であり、微生物腐食の防止による長期的視野での健全性を確保することが、漏洩事故等を回避しながら安全に廃炉を完了するために不可欠である。

上記のような背景から、本研究では、1F で想定される環境内での微生物腐食リスクを可視化し、環境コントロールにより微生物腐食リスクを低減させることで、汚染水漏洩をもたらす微生物による視認不可腐食のリスク診断ならびに抑制技術の開発を目指す。

達成目標：構造及び設備の健全性の確認と確保のために、本研究では3つの目標を立てる。

- (1) これまで想定されてこなかった汚染水漏洩事故リスクの把握
- (2) オンサイトで使用可能な腐食リスクを可視化する技術の確立
- (3) 環境コントロールによる微生物腐食防止方法の確立

廃炉に向けて建屋及び構造物の健全性の確認と確保は、汚染物質の漏洩を防ぐために必須の要件である。加えて、東日本大震災以降増え続けている処理水については、近年その処分方法にも注目が集まっており、このような社会的注視の中でタンクからの腐食による漏洩は、廃炉プロセスの大きな弊害となり、絶対に防がなければならない事象の1つである。

2. 業務計画

2.1 全体計画

以下、図 2.1-1 に実施体制を示す。

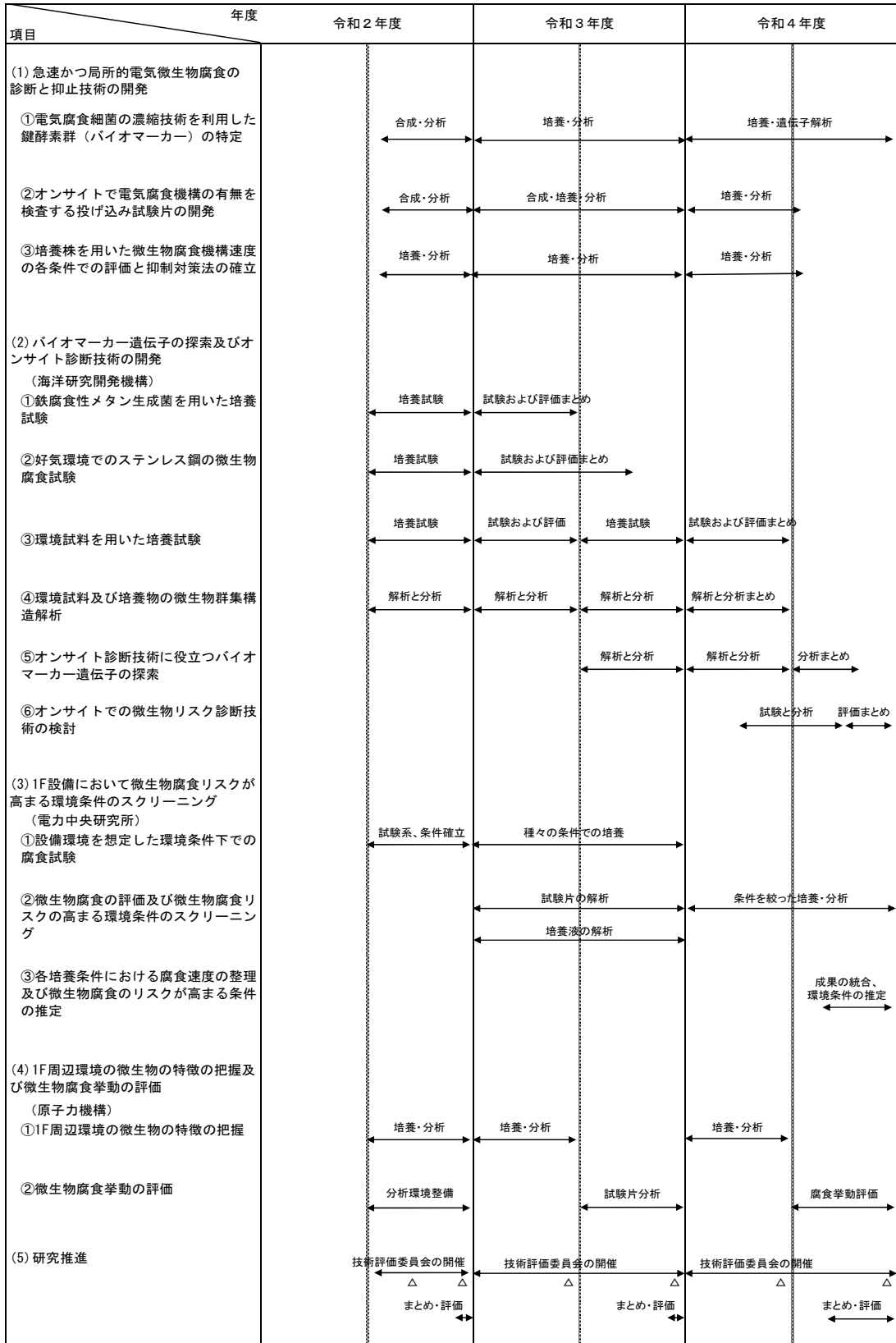


図 2.1-1 年度別全体計画

以下、図 2.1-2 に実施体制を示す。

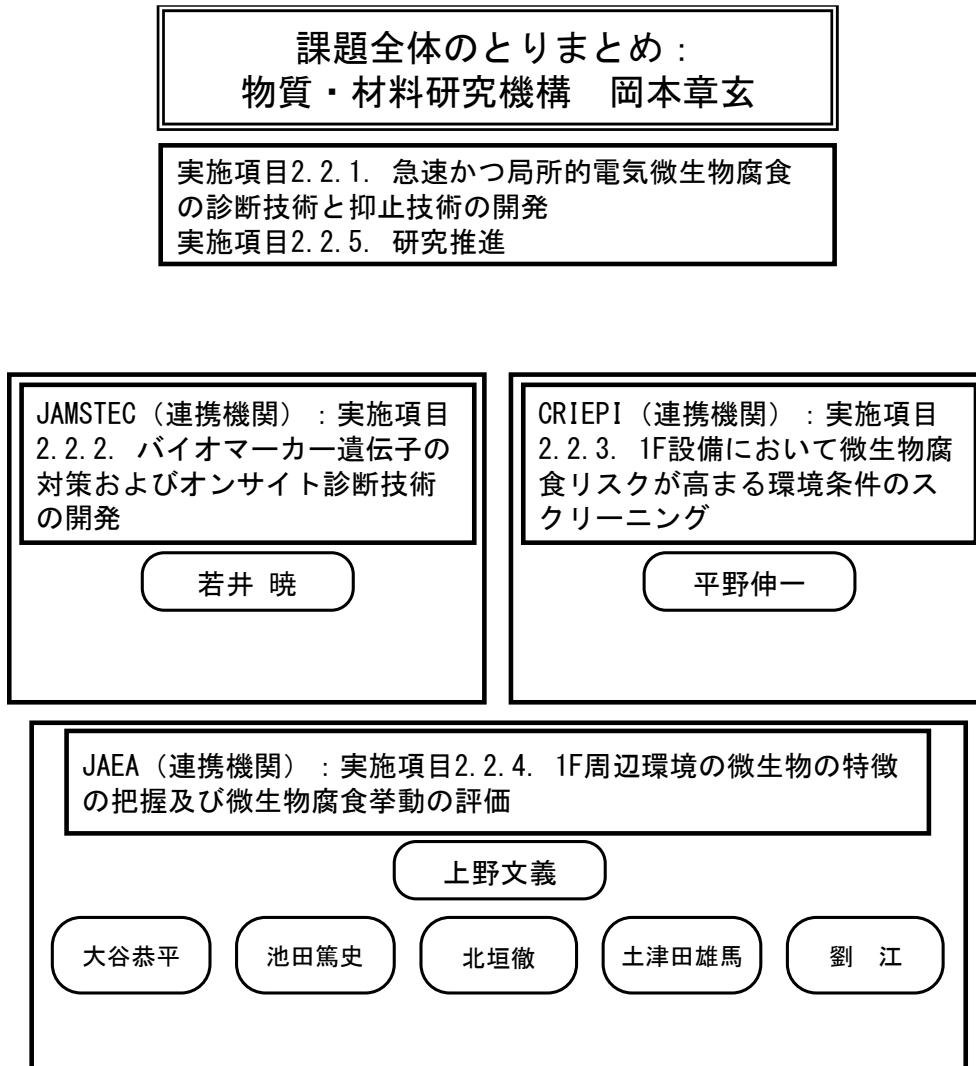


図 2.1-2 実施体制図

2.2 令和2年度の成果の目標及び業務の実施方法

2.2.1 急速かつ局所的電気微生物腐食の診断と抑止技術の開発

① 電気腐食細菌の濃縮技術を利用した鍵酵素群（バイオマーカー）の特定

細菌の表面に局在する電子を引き抜く酵素である外膜シトクロム酵素は、電気腐食機構に重要であることが知られているので、細胞表面の細胞外酵素によって特異的に重合反応が進むモノマー分子とポリマーと高い親和性を持つナノ粒子を用いて、電気腐食細菌を濃縮する技術を開発する。1F 周辺環境水から電気腐食菌を分離するための予備検討を行う。具体的には、モデル培養株を用いて電気腐食細菌の濃縮技術によって分離できる細菌数の上限や、効率を定量する。

② オンサイトで電気腐食機構の有無を検査する投げ込み試験片の開発

黒サビの電気導電性に影響を与える鉄合金を作成することで、電気腐食の速度を加速する材料の開発を行うため、Cu、Bi、Zn、Mo、Sb といった金属を 10%程度溶解させた鉄合金を国立研究開発法人物質・材料研究機構（以下「物質・材料研究機構」という）内の材料創製・加工ステーションを利用して作成し、それぞれの合金について、まず電気腐食を行う培養細菌株を用いて腐食の速度を重量変化によって比較する。

③ 培養株を用いた微生物腐食機構速度の各条件での評価と抑制対策法の確立

1F で想定される環境（主に培地組成、塩濃度、pH 及び温度）を模倣した条件で腐食されやすい炭素鋼を用いて網羅的に腐食実験を行い、腐食活性を評価する。

2.2.2 バイオマーカー遺伝子の探索及びオンサイト診断技術の開発（再委託先：国立研究開発法人海洋研究開発機構（以下「JAMSTEC」という））

① 鉄腐食性メタン生成菌を用いた培養試験

窒素雰囲気下の 1F 格納容器内に当該微生物が存在した場合のリスクを想定して、当該微生物が 1F 環境で腐食反応に影響する可能性について検討する。具体的には、想定される 1F の環境水組成等の条件を用いて鉄腐食性メタン生成菌を培養し、各環境下での腐食速度についてデータを集積する。腐食量の評価は、培養に伴う金属イオンの溶出量とガス生産量を測定することで行う。

② 好気環境でのステンレス鋼の微生物腐食試験

ステンレス鋼に微生物腐食が発生している培養系を用いて、1F 環境を想定した環境の変動を与え、どのような環境下で腐食が進行し、あるいは、腐食が抑制されるのかを調べる。腐食挙動は、培養中のステンレス鋼電極の電位をモニタリングすることで評価する。

③ 環境試料を用いた培養試験

1F 周辺の環境サンプル（河川水や土壌）を用いて、ラボベースでの腐食再現実験を実施する。腐食再現試験には、既に多くの腐食性微生物の培養方法として確立されている嫌気培養を実施するとともに、好気的な環境での電位モニタリング培養を実施する。嫌気条件での腐食特性の解析は、溶出金属イオン濃度の分析や気相のガス分析により行い、好気条件での腐食性は電位の挙動から判断する。

④ 環境試料及び培養物の微生物群集構造解析

培養実験に使用するサンプルから DNA を抽出し、どのような微生物が存在しているのか、次世代シーケンス解析を用いてその微生物群集構造を網羅的に明らかにする。また、培養後の微生物群集構造についても、随時解析を実施し、腐食能と微生物群集構造の相関について検討する。

2.2.3 1F設備において微生物腐食リスクが高まる環境条件のスクリーニング（再委託先：一般財団法人電力中央研究所（以下「電中研」という））

設備環境を想定した環境条件下での腐食試験

① 腐食試験における培養条件の選定

1F設備（処理水タンク底部、格納容器トラス部、使用済燃料プール等）における微生物腐食リスクを評価するため、これらが晒される環境を想定した種々の環境条件下での腐食試験（培地組成、塩素濃度、pH、温度、溶存酸素量、試験材料等）が必要であるので、1Fの設備が晒されうる環境条件の範囲を推定するとともに、既存の他類似設備における腐食情報等を整備することで、腐食試験に用いる試験条件の選定を行う。

② 微生物試料の取得及び実験条件の確立

既存の腐食活性が報告されている微生物のうち、複数株（硫酸還元菌、メタン菌等）を選定し、炭素鋼を材料とした嫌気培養を実施することで、本研究項目において腐食を評価していくための試験系を確立する。併せて確立した腐食試験系におけるこれら既存腐食微生物の腐食速度（試験片の重量減損から算出）を基礎情報として取得する。また、日本原子力研究開発機構（以下「原子力機構」という）、JAMSTECと連携し、1Fサイト周辺の地下水や河川水の環境サンプリングを行う。得られた環境試料を用いて腐食試験を開始する。

2.2.4 1F周辺環境の微生物の特徴の把握及び微生物腐食挙動の評価（連携先：原子力機構）

① 1F周辺環境の微生物の特徴の把握

1F周辺環境に生息する微生物を同定するため、1Fサイト周辺の表層水・地下水や河川水の環境サンプリングを行う。また、サンプリングされた水試料中に存在する微生物を培養するための培地の種類や培養条件の検討を行い、最適化された条件で当該水試料中の微生物を培養する。

② 微生物腐食挙動の評価

微生物による材料表面での腐食の影響をマイクロレベル及びナノレベルで評価するため、材料表面を当該スケールで測定・分析するために最適な手法を検討・選定し、分析・測定環境を整備する。

2.2.5 研究推進

研究代表者の下で各研究項目間ならびに廃炉環境国際共同研究センター（CLADS）等との連携を密にして、研究を進める。また、研究実施計画を推進するための打合せや会議等を開催する。

3. 令和2年度の実施内容及び成果

3.1 急速かつ局所的電気微生物腐食の診断と抑止技術の開発

3.1.1 電気腐食細菌の濃縮技術を利用した鍵酵素群（バイオマーカー）の特定

外膜シトクロム酵素を持つモデル電気細菌として *Shewanella oneidensis* MR-1株を用いて電気細菌を濃縮する材料と技術の開発を行った。我々は、細胞表面の外膜シトクロムの反応性によって特異的に重合反応が進むモノマー分子を特定しており、重合反応後にそのポリマーと高い親和性を持つ官能基を表面に有する磁気ナノ粒子を使って、MR-1株の培養液から得られる菌体の様子やタンパク質量を比較、分離できる細菌数の上限や、効率を定量した。MR-1株表面のポリマーとの親和性の有無を制御し（活性中心となる薬剤の添加の有/無で制御した）、MR-1と混合し、基盤に定着させ洗浄・乾燥後、走査型電子顕微鏡での観察を行なった（図3.1.1-1A）。活性部位無の場合には、細菌表面に磁気ナノ粒子が付着していなかった。一方で、活性部位有の場合には、MR-1表面に有意にナノ粒子の定着が見られた。走査型電子顕微鏡のサンプル処理には10回以上の洗浄工程が必要なため、ナノ粒子がMR-1表面と高い親和性を有していることを示している。次に、細菌濃度を变化させた際に磁気ビーズで分離できる菌量を比較した。波長600 nmにおけるOptical Density (OD) 1.0、0.5、0.1の細胞懸濁液と2 μ Lの磁性ナノ粒子懸濁液を混合、インキュベート、磁気分離、洗浄した後にタンパク質量を行って分離効率を比較した（図3.1.1-1B）。OD=1.0の際には、初期菌体量がOD=0.5の場合に比べて倍だったにも関わらず、磁気分離後のタンパク量にはほとんど差がなかった。一方で、OD=0.5と0.1を比較すると、4倍程度の差が見られた。これらの結果は、2 μ Lの磁気ビーズを用いる際には、OD 0.5～0.1程度の細菌濃度がOD 1.0に比べて適当であることを示している。また、ビーズ濃度を増加させればOD 1.0における分離効率を高めることが可能であると考え、追加の実験を行なった。予想に反して、10～30 μ Lの懸濁液を用いてもタンパク質量は増加するどころか減少した。これは、磁気ビーズ量が多すぎると分離効率が下がることを明確に示しており、2 μ Lが細菌液に添加すべき適切な量であることを示唆している。また、磁性ビーズ量と反比例して菌体量が減った理由としては、例えば、タンパクがビーズ表面に吸着して定量できていないことが考えられる。以上の結果から、合成した磁性ナノ粒子に関しては、2 μ Lのビーズ量で菌体濃度がOD 0.1～1.0の懸濁液に適用すると比較的高い分離効率が得られることが分かった。2021年度はこの条件を用いて、環境中細菌群集から電気細菌を濃縮することを目指す。

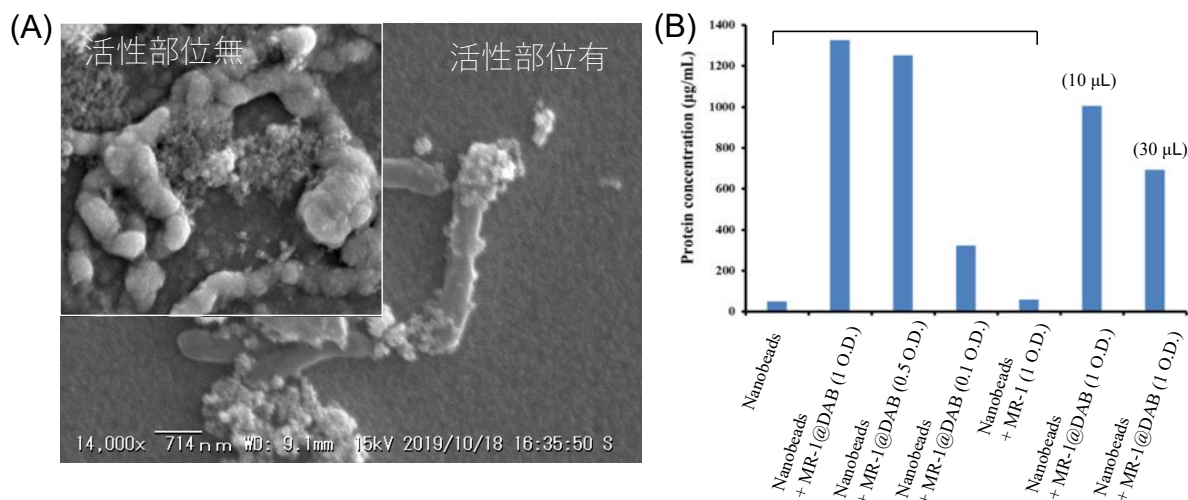


図 3.1.1-1 開発した磁気ナノ粒子と細菌の相互作用

(A) 活性部位無・有の磁気ナノ粒子存在下の細菌の走査型電子顕微鏡像

(B) ナノ粒子量、細菌量を変化させた際の磁気分離された菌体量 (タンパク質量)

3.1.2 オンサイトで電気腐食機構の有無を検査する投げ込み試験片の開発

Cu、Bi、Zn、Mo、Sb を 10%溶解させた鉄合金を作成し、*Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough 株をモデル電気腐食細菌として用いて腐食速度の比較を行なった。ここで、合金が腐食される場合には、生成物である黒サビの組成が変化してその電気導電性が変化することが期待される。そこで、腐食実験を行う際に 2 枚の鉄片を 1.0 mm 離れた状態でエポキシ固定したものをを用いた (図 3.1.2-1A)。こうすることで、腐食が進んだ際にはこの隙間が腐食生成物で満たされ、その抵抗値を測定できるはずである。まず 2020 年度は、Mo、Sb を 10%含む合金を用いて腐食試験を行なった。DV 用培地を用いて 30 °C で 120 日間培養を行なったところ、反応容器内が黒い腐食生成物で見えなくなった。電気導電性を測定すると、炭素鋼が 1.2 Ω なのに対して Mo 合金では 33.3 Ω、Sb 合金では 3.3 Ω となった。ここで、MoS や SbS は、FeS に比べて電気導電性が著しく低いことが知られている。そのため、得られた結果は定性的には予想通りとなった。10%の金属を溶解させて有意な抵抗値の変化が見られたため、今後、より溶解させる金属の比率を増やすことで電気導電性を大きく変化させられると期待できる。次に、重量減損量を各サンプルにおいて測定した (表 3.1.2-1)。導電性が下がった Mo と Sb を含む鉄合金は、炭素鋼に対して腐食が阻害された。一方で、Cu を含む鉄合金では重量減損量が増加した。CuS は、硫化鉄に比べて導電性が高いことが知られており、腐食速度の増加はいずれも差は小さいものであったが、傾向としては期待した通りの結果が得られた。これらの結果から、本研究の黒サビの導電率を変化させるアプローチは、腐食速度をある程度制御する上で有効であると考えられる。一方で、大幅な腐食の加速を行うためには他金属の割合の増加に加えて、Ni などのより導電性が高い硫化物を生み出すことが可能な金属を含む鉄合金を作成する必要性が示された。

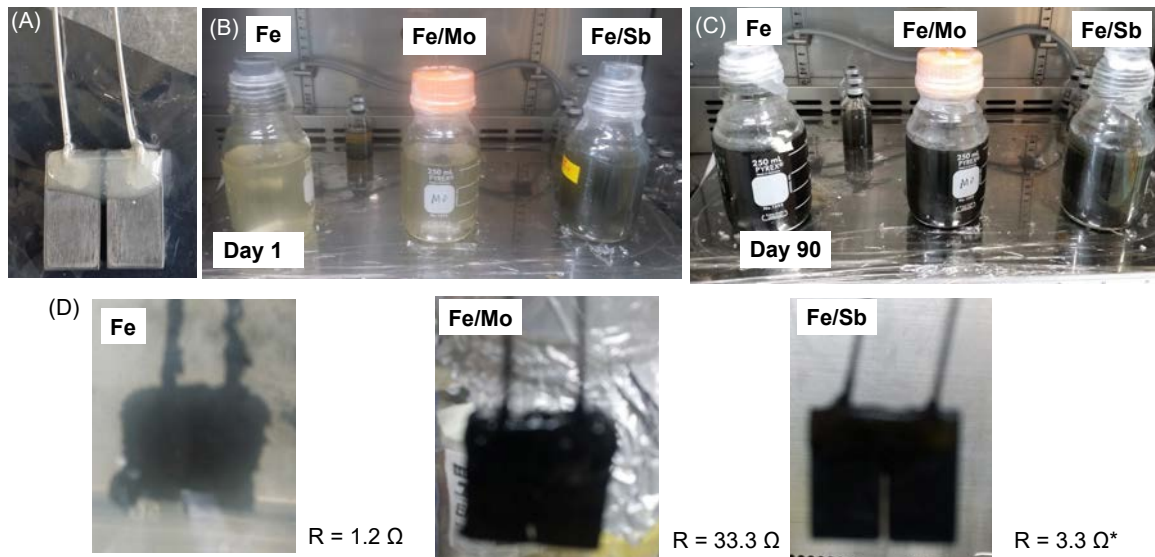


図 3.1.2-1 炭素鋼と Mo、Sb 入り鉄合金の腐食試験
 (A) 炭素鋼片 2 枚を 1 mm の距離で固定した試験用電極
 (B) 腐食試験開始 1 日目の外観
 (C) 腐食試験開始 90 日目の外観
 (D) 90 日目の試験用電極の様子

表 3.1.2-1 各合金の腐食速度 (30 日)

| Alloy | Initial wt (g) | | Final wt (g) | | Weight loss (mg) | | Avg wt loss (mg) |
|-------|----------------|--------|--------------|--------|------------------|------|------------------|
| | S1 | S2 | S1 | S2 | S1 | S2 | |
| Fe | 2.3018 | 2.3059 | 2.2885 | 2.294 | 13.3 | 11.9 | 12.6 |
| Cu | 2.3892 | 2.3955 | 2.3773 | 2.3805 | 11.9 | 15 | 13.45 |
| Mo | 2.5715 | 2.5027 | 2.5666 | 2.4939 | 4.9 | 8.8 | 6.85 |
| Sb | 2.3883 | 2.3845 | 2.378 | 2.3735 | 10.3 | 11 | 10.65 |

3.1.3 培養株を用いた微生物腐食機構速度の各条件での評価と抑制対策法の確立

1F 周辺環境に生息する微生物を同定するため、1F サイト周辺の表層水・地下水や河川水の環境サンプリングを行った。環境サンプリングは、2020 年 11 月 17 日（火）（晴れ）に実施した。詳細は 3.4.1 に示す。サンプリングされた水試料中に存在する微生物を培養するための培地の種類や培養条件の検討を行った。各環境サンプルの詳細に関しては後述するが、物質・材料研究機構では、電気細菌の存在を電気化学測定系によって確認、電極培養によって集積した後に、炭素鋼を使った腐食試験へと移行した。この集積実験・腐食試験によって電気細菌が単離された場合には、この菌を用いて 2021 年度以降の条件検討を進めるつもりである。1F 周辺環境サンプルに対して電気化学実験に用いることが出来る各種培地を用いて培養を行った。電気化学測定系は 96 ウェルプレートの底辺に電極が印刷されているものを用いた（図 3.1.3-1A）。環境サンプルのうち、河川水、地下水はそのまま使用、もしくは濃縮して使用し、表層土壌は PBS buffer へ懸濁し超音波処理を行なった後に使用した。測定に使用する培地については、実験室で一般的に広く使用されている細菌培地に加え、微生物分離に実績のある培地をベースに使用した。以下に使用培地を記す。

Luria-Bertani broth (LB)、1/10 LB、1/100 LB、1/10 GAM、Marine broth (MB)、1/10 MB、1/100 MB、DM_L、BT medium [1-1] with 0.5 % glucose and xylose、PY medium [1-2] with 0.5 % glucose、cellobiose、maltose、xylose and soluble starch. YPGX medium containing 0.6 % peptone、0.3 % of yeast extract、1 % of KH_2PO_4 、0.05 % of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.5 % glucose and 0.5 % xylose.

各ウェルにおいて、150 μL の培地に対し環境サンプルを 10 μL 添加し、30 $^{\circ}\text{C}$ 、200 mV vs Ag/AgCl、嫌気条件（窒素 99 %、水素 1 %）下での電流値を測定した結果、複数ウェルから電流値が検出され、電気細菌の存在が示唆される結果が得られた（図 3.1.3-1B）。特に表層土 1 に関しては、GAM や LB で、表層土 2 に関しては、BTGX、MB、LB で高い電流値が得られた。A、B、C と記載があるものは、表層土サンプルをまず LB 培地で異なる時間インキュベートしたカルチャーである。こちらも LB、MB、GAM で電流生成が見られた。地下水や河川水からも培地によっては高い電流値が得られた。これらの結果は、電気細菌が各サンプル内に存在していることを示している。また、どのサンプルと培地の組み合わせで電気細菌が増殖するという情報も得られた。一方で、LB、MB、GAM などの電子源リッチな培地で腐食試験を行なっても鉄から電子をとる細菌は集積されづらい。そこで、表層土を菌源として PY や BT 培地といった培地に硫酸を入れて炭素鋼を用いた腐食実験を開始する予定である。現在、微生物の培養に用いる培地の種類は 1000 種類以上も存在し、単一の培地で全ての微生物を培養することは不可能である。一方で、比較的広範囲の微生物を培養することが可能な培地や目的に応じて使用される培地も存在する。したがって、本研究では、比較的広範囲の微生物の培養が可能な培地、腐食性微生物の培養に用いられる培地、電気細菌の培養に用いられる培地等を用いる。全研究機関で用いた培地に関して、表 3.1.3-1 にまとめた。

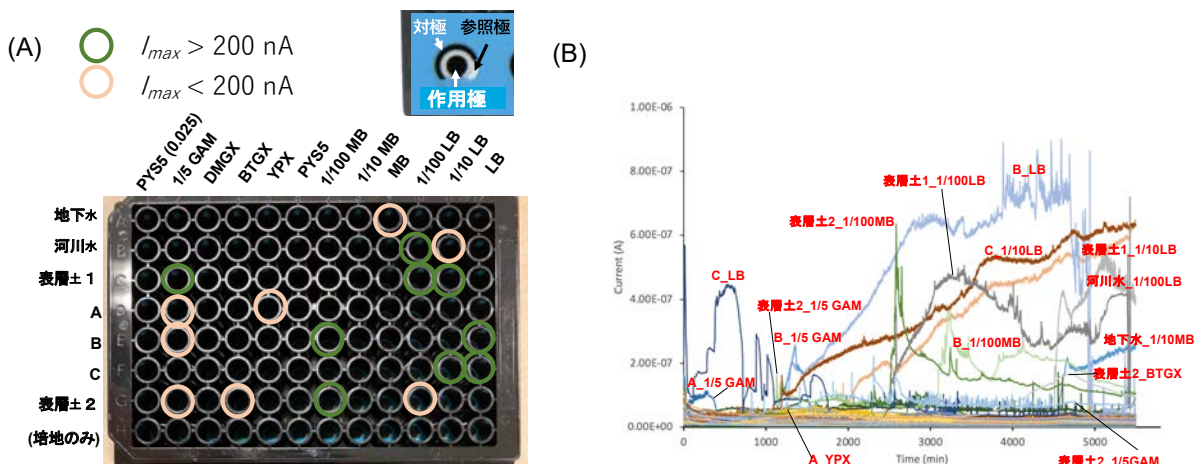


図 3.1.3-1 環境サンプルの電気化学培養

(A) 電気化学培養プレートと各ウェルの条件（縦：菌源、横：培地）
 (B) 各ウェルにおける電流値の時間変化。電流が時間と共に立ち上がったウェルにおいて、最大電流値が 200 nA 以上（緑）、以下（黄）の菌源と培地の組み合わせをハイライトした。右上の挿入図は各ウェル底面にスクリーン印刷された三電極系で、作用極、対極はカーボン、参照極は銀/塩化銀電極。作用極の直径は 4 mm。電流値は測定値をそのまま掲載。

表 3.1.3-1 全研究機関の培地情報まとめ

| | 培地 | 組成 | 培地の特徴 | 報告書の該当箇所 |
|-----------------|---|--|--|----------|
| 電流モニタリング培養 | LB | Luria-Bertani broth培地を1, 10, 100倍希釈 | 細菌用栄養培地 | 3.1.3 |
| | GAM | Gifu Anaerobic Medium培地 | 嫌気性細菌用培地 | |
| | MB | Marine broth培地を1, 10, 100倍希釈 | 海洋微生物用培地 | |
| | DMGX | Roh, Y., et al. [1-1] with 0.5 % glucose, xylose | 海水に近い培地 | |
| | BTGX | Kodama, Y., et al.[1-2] with 0.5 % glucose, xylose | 貧栄養培地 | |
| | PYS5 | Satoh, A., et al. [1-3] with 0.5 % glucose, cellobiose, maltose, xylose, soluble starch | 複糖混合培地 | |
| | YPX | 0.6 % peptone, 0.3% yeast extract, 1 % KH2PO4 0.05 % MgSO4·7H2O, 0.5 % glucose, 0.5 % xylose | 微生物培養培地 | |
| 電位モニタリング培養 | mNB+300Cl培地 | 1/1000濃度Nutrient Broth、300 ppm Cl | 極貧栄養培地に塩を添加した培地 | 3.2.2 |
| | mNB培地 | 1/1000濃度Nutrient Broth | 極貧栄養培地 | 3.2.2 |
| 腐食性微生物の培養 (好気性) | mNB+300Cl培地 | 1/1000濃度Nutrient Broth、300 ppm Cl | | 3.2.3 |
| | GP培地 | Sawayama et al [3-20] | 中性鉄酸化細菌用の培地 | 3.3.2 |
| | Modified Wolfe's Mineral Medium | ATCC medium; 2672 MVMを改編 NH4Cl 1.0 g, MgSO4·7H2O 0.4 g, CaCl2·2H2O 0.1 g, NaHCO3 1.68 g, Na2SiO3 0.05 g, K2HPO4 0.05 g, KH2PO4 0.05 g(pH6.5) +2.0 g Iron granules | 独立栄養性の中性鉄酸化細菌用の培地 | 3.4.1 |
| 腐食性微生物の培養 (嫌気性) | 鉄顆粒添加模擬人工海水培地 | 鉄腐食性メタン生成菌用培地[2-1]をベースにNaCl濃度を1~5%、pHを5-9に調整した培地 | 鉄腐食性メタン生成菌用の培地を改変した培地 | 3.2.3 |
| | lg-SW | 鉄腐食性メタン生成菌用培地[2-1] | 鉄腐食性メタン生成菌用の培地 | |
| | lg-dMB | 2.0 g Iron granules、1/10濃度Marine Broth 2216 | 有機物を栄養塩として生育する塩要求性の微生物を標的とし、鉄腐食能を確認するための純鉄顆粒が入った培地 | |
| | lg-mNB | 2.0 g Iron granules、1/1000濃度Nutrient Broth | 生育に塩を要求せず、極貧栄養環境で生育する微生物を標的とし、鉄腐食能を確認するための純鉄顆粒が入った培地 | |
| | lg-dNB | 2.0 g Iron granules、1/10濃度Nutrient Broth | 生育に塩を要求せず、有機物を栄養塩として生育する微生物を標的とし、鉄腐食能を確認するための純鉄顆粒が入った培地 | |
| | Widdel培地 | 硫酸還元菌用培地 Widdel, et al [3-16] | | 3.3.2 |
| | Widdel培地-L | 硫酸還元菌用培地 +乳酸ナトリウム 1 mM | 無機塩培地に対して異なる有機物(炭素源)を添加した培地。異なる条件下、それぞれ異なる微生物が増殖することを想定。 | |
| Widdel培地-A | 硫酸還元菌用培地 +酢酸ナトリウム 50 mM | | | |
| Widdel培地-M | 硫酸還元菌用培地 +混合基質(16種の糖、有機酸、アルコールの混合、詳細は3.3.2参照) | | | |
| VM-I培地 | 従属栄養硫酸還元菌用培地 Wikiel et al [3-17] | 栄養塩豊富な培養条件 | | |

参考文献

- [1-1] Roh, Y. et al., Metal Reduction and Iron Biomineralization by a Psychrotolerant Fe(III)-Reducing Bacterium, *Shewanella* sp. Strain PV-4, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.72, no.5, 2006, pp.3236-3244.
- [1-2] Kodama, Y. et al., An Electricity-Generating Prosthecae Bacterium Strain Mfc52 Isolated from a Microbial Fuel Cell, *FEMS Microbiology Letters*, vol.288, no.1, 2008, pp.55-61.
- [1-3] Satoh, A. et al., Physiological Properties and Phylogenetic Affiliations of Anaerobic Bacteria Isolated from Roots of Rice Plants Cultivated on a Paddy Field, *Ecology/Environmental Microbiology*, vol.8, no.5, 2002, pp.233-246.

3.2 バイオマーカー遺伝子の探索及びオンサイト診断技術の開発（再委託先：JAMSTEC）

3.2.1 鉄腐食性メタン生成菌を用いた培養試験

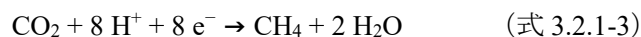
窒素雰囲気下の 1F 格納容器内に当該微生物が存在した場合のリスクを想定して、当該微生物が 1F 環境で腐食反応に影響する可能性について検討した。具体的には、想定される 1F の環境水組成等の条件を用いて鉄腐食性メタン生成菌を培養し、各環境下での腐食速度についてデータを集積した。腐食量の評価は、培養に伴う金属イオンの溶出量とガス生産量を測定することで行った。

鉄腐食性メタン生成菌 *Methanococcus maripaludis* KA1 株[2-1]を鉄顆粒添加模擬人工海水培地（2% NaCl、pH 7.0）にて 2 週間 37℃で培養し、この培養物を接種源として、0、1、2、3、4、5% NaCl 濃度下、及び、pH 5、6、7、8、9 の条件下で培養した。各培地の pH 調整は、pH 5 及び 6 については終濃度 50 mM MES-NaOH 緩衝液、pH 7 及び 8 は終濃度 50 mM HEPES-NaOH 緩衝液、pH 9 は終濃度 50 mM Bicine-NaOH 緩衝液により行った。培養後に、気相部分を 100 µL 回収してガスクロマトグラフィーにより分析し、ガス発生挙動での腐食度の評価を行った。

各培養条件について溶液組成の影響による科学的な影響を検討するために、無菌区を用意した。無菌区では、嫌気的な条件ということもあり、生じ得るカソード反応として水素イオンの還元による分子状水素の発生が考えられる（式 3.2.1-1）。



0～5% NaCl 間での塩濃度別では、水素発生量に大きな違いは出なかったが、pH の影響は顕著であり酸性側の pH 5 及び 6 で水素発生量の増加が見られた（図 3.2.1-1A）。これは、酸性条件によって与えられる水素イオン濃度の高さによると考えられる。一方で、鉄腐食性メタン生成菌存在下では、メタン生成菌の活動域である 2 と 3% NaCl、pH 6 と 7 でメタン生成が確認されたが、pH 8 以上及び 5 以下で顕著に阻害された（図 3.2.1-1B）。鉄腐食性メタン生成菌によるメタン生成は金属鉄の溶解から生じた電子（式 3.2.1-2）を用いて CO₂ を還元することで生じる（式 3.2.1-3）。



また、鉄腐食性メタン生成菌はメタン生成を行っている時に金属鉄からの電子流失を最も加速させることが分かっており[2-2]、2～3% NaCl、pH 6～7 で最も腐食を加速していると言える。以上の結果より、pH を 8 以上にすることで鉄腐食性メタン生成菌による腐食は顕著に抑制可能であるだろう。

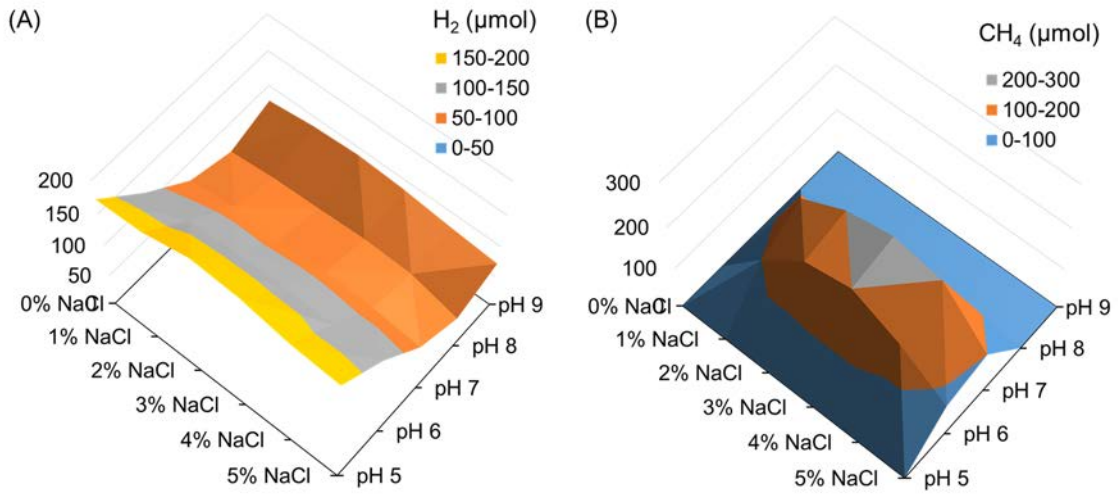


図 3.2.1-1 異なる塩濃度及び pH 条件下での腐食によるガス発生量
 (A) 無菌区での水素発生量 (B) 鉄腐食性メタン生成菌存在下でのメタン生成量

3.2.2 好気環境でのステンレス鋼の微生物腐食試験

1F 環境では様々な設備においてもステンレス鋼が使用されており、ステンレス鋼材料に対する微生物腐食を検討するために、地下水由来の集積培養物でステンレス鋼に電位貴や腐食発生を誘導する微生物群集を用いて電位モニタリング培養を実施した。1F 環境では、損傷を受けた建屋に地下水が流入しており、このような環境にどのような環境要因の変動が起こると腐食発生に繋がるかを検討するために、栄養塩や塩化物イオン濃度を変えて SUS316 ステンレス鋼電極に対する電位変化をモニタリングした。

電位モニタリング培養に用いる作用電極は、溶接線加工された SUS316 ステンレス鋼 (50×20×10 mm) に穴あけ加工を行い、穴加工部分に樹脂被覆銅線を結線し、絶縁性のシリコン樹脂で結線部を被覆することで作製した。参照電極には、銀・塩化銀電極を用いた。250 mL 容量のメディウム瓶に 200 mL の 1000 倍希釈 Nutrient Broth 培地 (300 mg/L 塩化物イオン添加) を入れ、被せ式シリコ栓 (C-55) をセットし、シリコ栓のメッシュ状シリコン部分に樹脂被覆銅線を貫通させ、電圧ロガー (日置電機株式会社 LR5042) と結線した (図 3.2.2-1)。この培地にステンレス鋼腐食性集積培養物を接種し、30 °C で培養しながら、電位を 5 分間隔でロギングした。



図 3.2.2-1 電位モニタリング培養の様子

(左) 多連での外観 (右上) 被せ式シリコ栓を上から見た図 (右下) 単体での外観

培養開始後、300 時間までは 0 V 付近で安定していたが、300 時間を過ぎた辺りから電位が上昇 (貴化) し始め、0.18 V 付近で頭打ちとなり、831 時間後に急激に電位の減少が見られた (図 3.2.2-2)。浸漬開始当初は電極表面に微生物が付着していないため電位は安定しているが、300 時間頃までに十分な微生物量が電極表面に付着し、電極表面上の微生物の活動により電位が貴化したと考えられる。その後、塩化物イオンの影響によって不働態皮膜の破壊をきっかけとして活性溶解に伴う電位の急激な減少が生じたと考えられる。試験後の電極試験片

上には、局部腐食を起こしたと思われる赤さびが部分的に発生しており、実際の腐食挙動を捉えていることが強く示唆された。

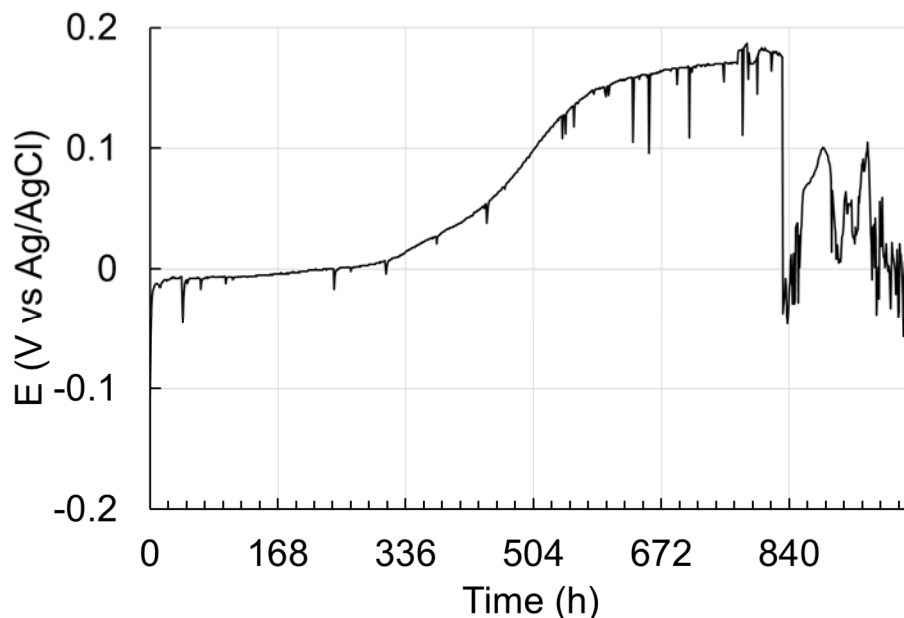


図 3.2.2-2 栄養塩及び塩化物イオン添加時の SUS316 試験片電極の電位挙動

次に、栄養塩だけを添加し塩化物イオンを添加しない場合での電位モニタリング培養を実施した。この場合、電位は 700 時間後辺りまで緩やかに貴化を起こしたが、到達電位は 0.1 V 程度と低く、739 時間後に栄養塩の枯渇を考慮して再度 1/1000 濃度 Nutrient Broth を添加したが電位のさらなる上昇は認められず、その後緩やかに電位は下降した (図 3.2.2-3)。培養終了後の電極表面にも赤さび等は確認されず、腐食は起こっていなかった。以上の結果から、ステンレス鋼の腐食には、微生物の活動と塩化物イオンの影響の両方が必要であることが分かった。ステンレス鋼腐食において塩化物イオンが不働態皮膜破壊に影響していることは以前から明らかであったが、ステンレス鋼に対する微生物の活動による腐食を再現性のある実験手法で実施することは確立されていなかったため、今後、本手法を用いて栄養塩濃度と塩化物イオン濃度の相互的な影響について検討する。

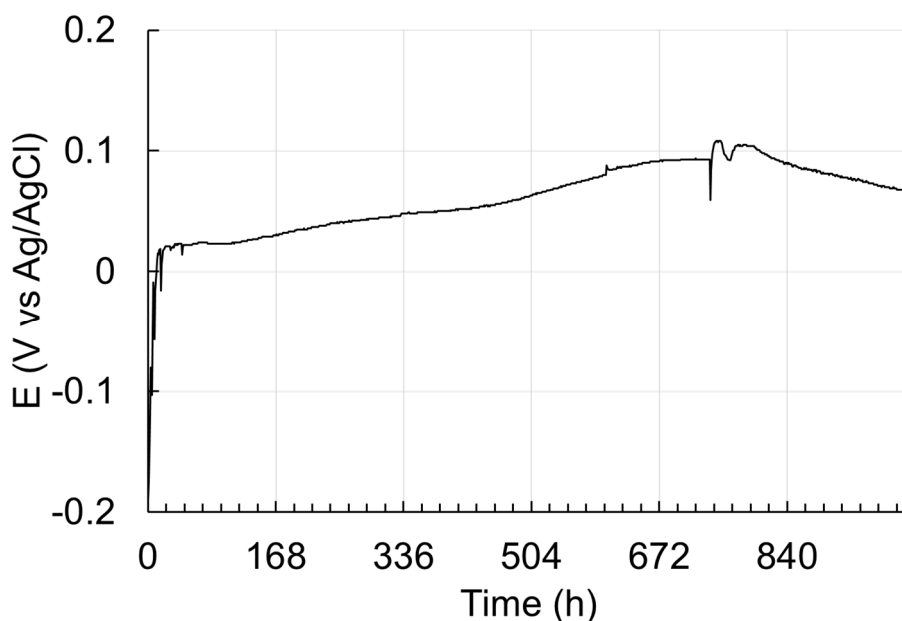


図 3.2.2-3 栄養塩のみを添加した場合の SUS316 試験片電極の電位挙動

3.2.3 環境試料を用いた培養試験

1F では損傷を受けた建屋内に環境水が流入している環境にあり、環境サンプルに潜在的に含まれる腐食性微生物のリスクを完全に排除することが難しい。また、腐食性の微生物の全容は微生物腐食研究においてもブラックボックスとなっており、環境中の微生物群集構造解析だけでは微生物腐食のリスクを可視化することは現状難しい。そこで、本項目では、1F 周辺の環境サンプル（河川水や土壌）を用いて、ラボベースでの腐食再現実験を実施する。腐食再現試験には、既に多くの腐食性微生物の培養方法として確立されている嫌気培養を実施するとともに、好気的な環境での電位モニタリング培養を実施する。嫌気条件での腐食特性の解析は、溶出金属イオン濃度の分析や気相のガス分析により行い、好気条件での腐食性は電位の挙動から判断する。

単一の培地で培養可能な微生物種は限られている反面、個々の微生物種に最適化された培地は 1000 種類以上存在するため網羅的に培養することは難しい。一方で、最適化された培地は栄養塩濃度が自然環境ではありえないほどの高濃度で設定されていることが多く、実際に腐食が懸念される環境とは大きく異なることから、本実験では有機物フリーあるいは希薄な栄養塩存在下、金属鉄顆粒と培養することで加速的な鉄溶解が起こるかどうかを検討した。

JAMSTEC では、1F 周辺環境から回収したサンプルの内、表層土壌①を乾燥土壌（表層土壌①-D）と含水土壌（表層土壌①-W）サンプル 9 種類を回収して実験室に持ち帰った。好気的な環境での試験では、SUS304 ステンレス鋼電極を浸漬し、Nutrient Broth を通常の 1/100 倍濃度で添加し、30 °C で回転振とう培養を行った。微生物叢が比較的安定する 3 カ月培養後、培地を 1000 倍希釈 Nutrient Broth 培地（300 mg/L 塩化物イオン添加）に交換し、ステンレス鋼電極と銀・塩化銀電極を電圧ロガーにつなぎ、電位モニタリング培養を開始した（電位モニタリング培養の詳細については 3.2.2 を参照）。現在までに、顕著な電位挙動や金属表面に腐食形成が起こった形跡はない。

一方で、嫌気的な環境での培養試験では、純鉄顆粒 2.0 g を加えた人工海水培地 (Ig-SW)、1/10 倍濃度 Marine Broth 2216 培地 (Ig-dMB)、1/1000 倍濃度 Nutrient Broth 培地 (Ig-mNB)、1/10 倍濃度 Nutrient Broth 培地 (Ig-dNB) を N₂/CO₂ (80/20) 混合ガスで置換して、30 °C で培養を行った。その結果、多くのサンプルで硫酸還元活性を示す培地及び鉄顆粒の黒変が観察され (図 3.2.3-1)、複数の培養物において加速された鉄イオンの溶出 (すなわち微生物活動による腐食促進) が観察された。

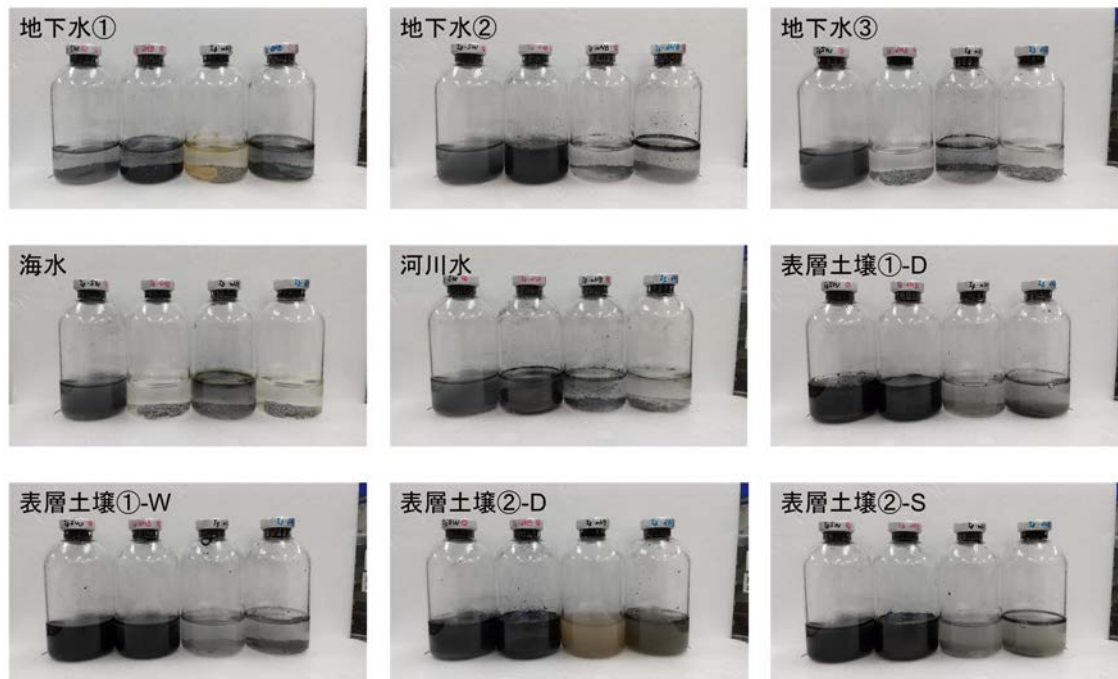


図 3.2.3-1 3 か月集積培養後のボトルの外観

各パネル中左から順に、Ig-SW 培地、Ig-dMB 培地、Ig-mNB 培地、Ig-dNB 培地

特に、Ig-dMB 培地で培養した河川水、表層土壌②-D、表層土壌②-S では、それぞれ無菌区の 5.2、6.0、6.4 倍と顕著に高い腐食加速度を示した (図 3.2.3-2、紫棒グラフ)。次いで、Ig-dMB 培地で培養した表層土壌①-W、Ig-mNB 培地で培養した表層土壌①-W と表層土壌②-D、及び、Ig-dNB 培地で培養した表層土壌②-D と表層土壌②-S において 4 倍以上 (赤棒グラフ) の腐食加速度を示し、Ig-dMB 培地で培養した地下水②と表層土壌①-W、Ig-mNB 培地で培養した表層土壌②-S、で 3 倍以上 (赤棒グラフ)、Ig-SW 培地で培養した表層土壌①-D、Ig-dMB 培地で培養した地下水①、Ig-dNB 培地で培養した表層土壌①-W で 2 倍以上 (橙棒グラフ) の腐食加速度を示した。

Ig-SW 培地は鉄腐食性メタン生成菌の培養で使用される培地であり、腐食性の高い微生物の集積が期待されたが最も高い物で僅か 2.9 倍となり、鉄腐食性メタン生成菌の腐食活性と比べるとかなり低い。Ig-dMB 培地はこれまでも化学工場排水を用いた培養試験において硫酸塩還元細菌を主体とする群集構造による腐食が確認されている培養条件[2-3]であり、似たような腐食加速度であることと培養物が黒変していることから硫酸塩還元細菌を主体とした腐食性微生物が集積されている可能性が高い。これまでに嫌気条件下で腐食性微生物の集積に至ったことがない Ig-mNB や Ig-dNB でも高い腐食加速度が示されたことは興味深く、塩分濃度が Marine Broth 系の培地よりもかなり低いことに加えて、Ig-mNB では栄養塩濃度も 1/1000 倍とかなり限られた環境での腐食であり、これまでに腐食性微生物として報告のない

微生物の集積が期待される。また、Ig-mNB 培地や Ig-dNB 培地では培地の黒変が見られないことから硫酸塩還元細菌とは異なる微生物種が影響している可能性が高い。

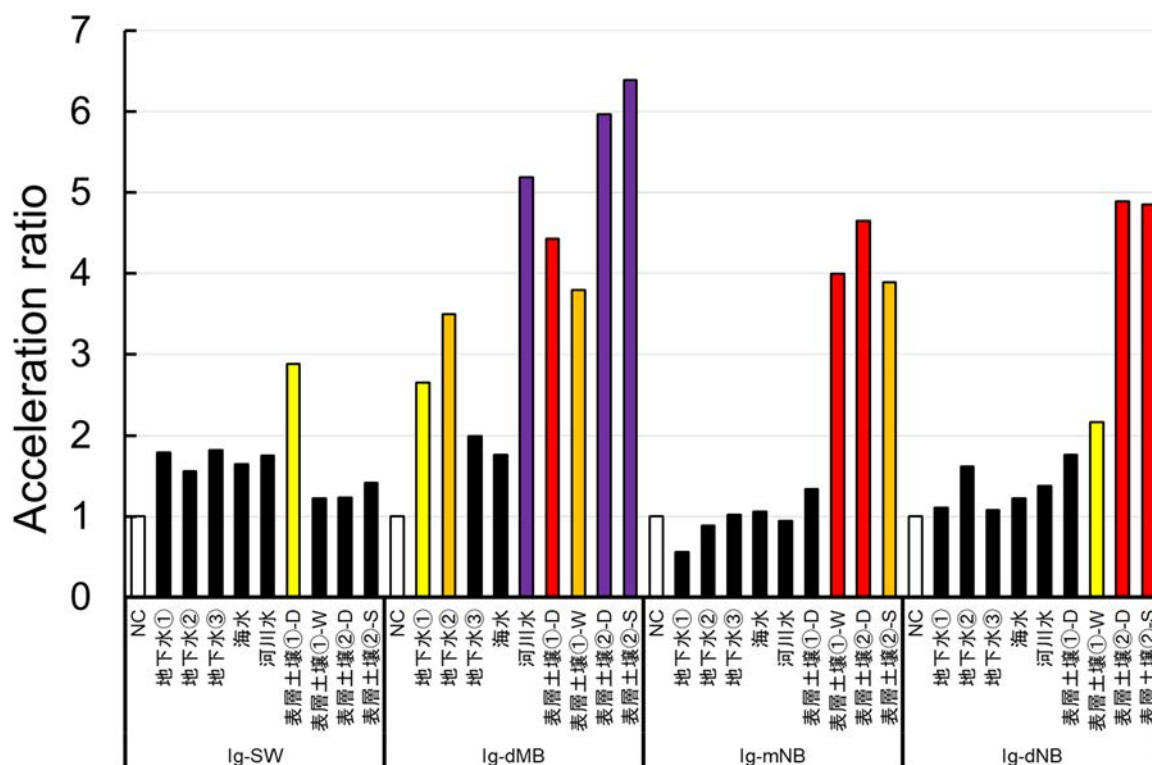


図 3.2.3-2 各培地で培養した時の腐食加速度

各培地での無菌区（NC）の腐食量を 1 とし、各培養物での腐食量を比率で表している。各培地の無菌区での腐食量（鉄溶出濃度）は、それぞれ 6.8、3.3、5.7、及び、4.9 mM である。

3.2.4 環境試料及び培養物の微生物群集構造解析

培養実験は培養可能な微生物の能力を知る方法としては有効であるが、培養可能な微生物は限られており環境中に潜在的に存在する微生物群集の情報を得るためには遺伝子解析が有効である。本実験では、1F 周辺環境から入手したサンプル中の微生物群集とラボベースでの培養実験で腐食能の有無を調べている培養物の微生物群集の情報を得ることを目的としている。微生物群集構造の解析には、原核生物が普遍的に持っている 16S rRNA 遺伝子を標的とし、次世代シーケンサを用いたアンプリコンシーケンシングにより実施した。

1F 周辺環境から回収したサンプルから DNA を抽出した。地下水①はほとんど濁りのない清浄なサンプルであったため、2L の水を孔径 0.22 μm のメンブレンフィルターでろ過をして微生物を集積し、このメンブレンフィルターから DNA を抽出した。地下水②及び③は同様に、500 mL の水をろ過して微生物細胞を回収し、DNA 抽出を実施した。土壌試料は、湿重量 0.5 g から DNA 抽出を実施した。DNA 抽出には、ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep Kit (Zymo Research 社) を用いて、取り扱い説明書に従い微生物由来の DNA を抽出した。また、培養実験の培養物からも同キットを用いて DNA 抽出を実施した。

抽出した DNA を鋳型にして細菌とアーキアの 16S rRNA 遺伝子を標的とした U530F/U907R プライマー[2-4]を用いた PCR により遺伝子断片を増幅した。抽出微生物濃度が非常に少なく、微生物群集構造解析のための 16S rRNA 遺伝子断片の増幅確認を実施した。全てのサンプル

から当該遺伝子の増幅が確認できている。今後、これらの PCR 産物を用いて次世代シーケンサを用いたアンプリコンシーケンシングを実施して、微生物群集構造を明らかにする。

参考文献

- [2-1] Uchiyama, T. et. al., Iron-corroding Methanogen Isolated from a Crude-oil Storage Tank, *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 2010, pp.1783-1788.
- [2-2] Wakai, S., Electron Flow Rate in Microbiologically Influenced Corrosion and Its Applications, *Electron Based Bioscience and Biotechnology-eBioX-*, Springer, Ishii, M. & Wakai, S. (Eds.), pp.193-206.
- [2-3] 若井暁, 津川貴臣, 次世代シーケンス解析を用いた微生物腐食リスク予測—化学プラント排水配管—, *材料と環境 2018 講演集*, pp.297-300.
- [2-4] Caporaso, J. G. et al., Ultra-high-throughput Microbial Community Analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq Platforms, *ISME J.*, 6, 2012, pp.1621-1624.

3.3 1F設備において微生物腐食リスクが高まる環境条件のスクリーニング（再委託先：電中研）

3.3.1 設備環境を想定した環境条件下での腐食試験 —腐食試験における培養条件の選定—

微生物腐食は微生物が含まれる水もしくは土壌と接する金属材料において潜在的に発生するリスクがある。2011年3月11日に発生した地震による津波被害で電源喪失後に、1Fの1～3号機の原子炉及び1～4号機の使用済み燃料プールの温度を下げるため、緊急対応として一時的に海水が注入された履歴がある[3-1]。また、建屋の損壊により現在も原子炉建屋内には微生物を含む地下水が連続的に流入している（22 m³/日（2021年1月25日現在）[3-2]）。これら地下水流入に伴って発生する汚染水を処理した大量の処理水は敷地内のタンクに貯蔵されている（多核種除去設備等処理水の貯蔵タンク1020基、ストロンチウム処理水の貯蔵タンク27基、淡水化装置（RO）処理水12基、濃縮塩水2基（2021年3月18日現在）[3-2]）。そこで1F設備の中では、建屋内原子炉格納容器（以下「PCV」という）の底部、トラス部、処理水タンク底部、使用済み燃料プールにおいて微生物腐食の潜在的なリスクがあると考えられる。ただし、微生物が金属材料と接触すれば微生物腐食が発生するわけではなく、金属材料—腐食性微生物の存在—腐食性微生物が活動できる環境の3条件が揃った場合にのみ腐食は発生する。そこで、本研究では、1F周辺から腐食性微生物を探索すると共に、それら腐食性微生物の上述の設備の水質環境における腐食活性を評価することにより、1Fにおける微生物腐食リスクの可能性を間接的に推定するとともに、リスクがある場合にはどのような環境パラメーターに注意すべきか提示することを目的とした。本項目では、まず公知情報をもとに、PCV、処理水タンク、使用済み燃料プールの水質を整理し、微生物腐食試験に用いるべき培養条件を設定した。

(i) 原子炉建屋内の水質について

原子炉建屋内の水質は、津波による浸水、初期海水注入の影響や現在流入する地下水、雨水、冷却水として注入される浄化された水とのバランスによって形成される。原子炉建屋内の水質は定期的に分析され、分析結果は東京電力ホールディングス株式会社のホームページにおいて報告されている[3-3]。これらのデータのうち2019年度から2021年度の情報を抽出し、環境条件の推定及び微生物の培養条件設定に参考となるCl、Ca、Mg濃度を経時変化としてまとめた（図3.3.1-1）。

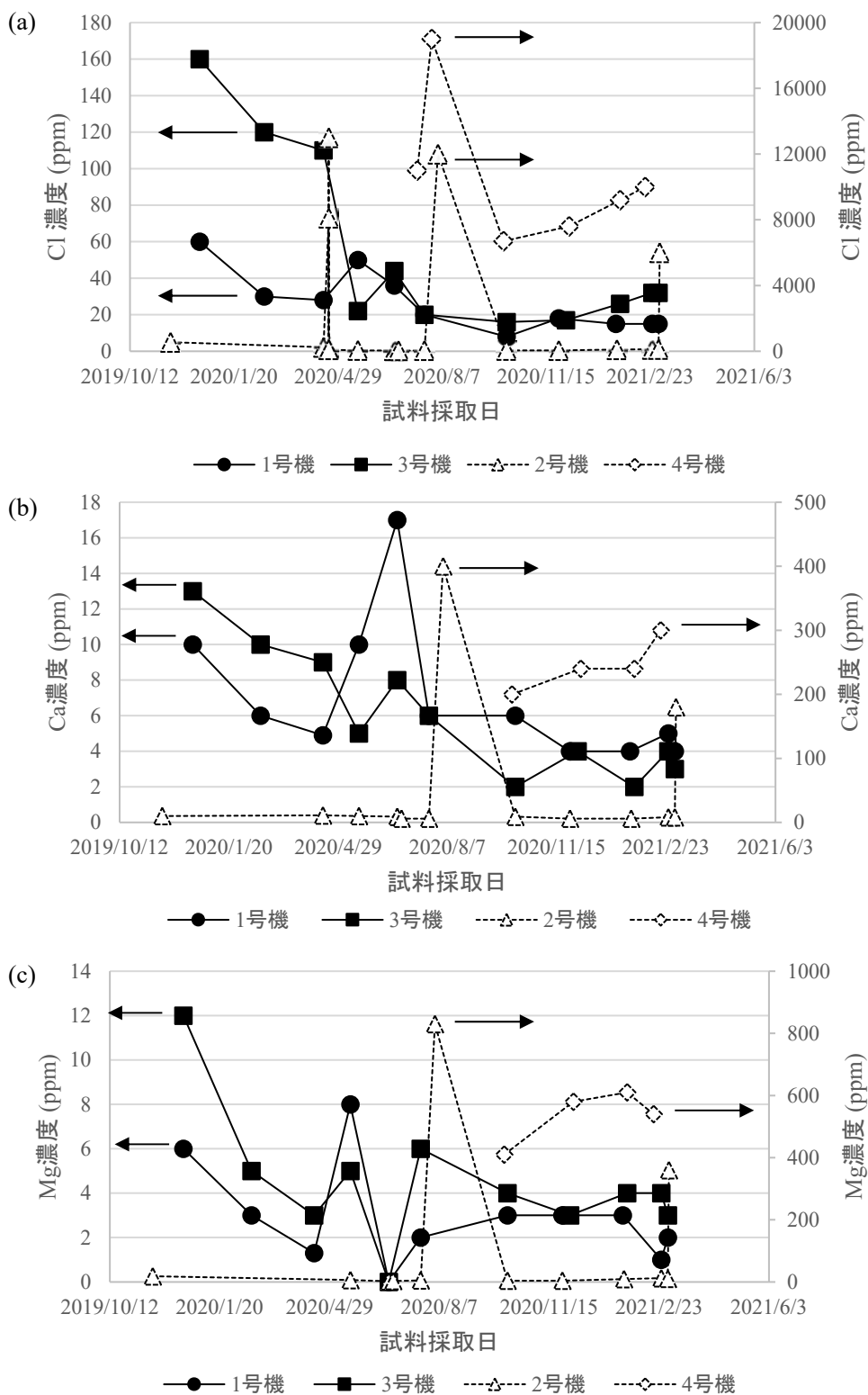


図 3.3.1-1 原子炉建屋内の水質
 (a) Cl 濃度 (b) Ca 濃度 (c) Mg 濃度

1号機、3号機は左縦軸、2号機、4号機は右縦軸に対応（図中矢印で示す）

3.3-2

1号機、3号機の各イオン濃度は2号機、4号機と比較して低く、かつ2019年よりゆるやかに減少していく傾向が見られた。2020年度後半に限った場合、1号機及び3号機のCl濃度は20ppm前後、Ca濃度は4ppm前後、Mg濃度は3ppmの淡水環境であった。一方で、4号機のCl濃度は6700～19000ppmであり、Cl濃度のみから判断すると海水～希釈された海水（汽水）の範囲と言える。Ca、Mg濃度についても同様の傾向であった。4号機については汚染水を処理した浄化水の循環注水が行われていないため、水質が異なることが推定された。2号機はデータを取り纏めた期間における値のばらつきが大きく、50～13000ppmと淡水～海水の幅広い水質を示した。

また、現在も原子炉建屋内に流入する地下水の水質を推定するため、1F周辺の地下水水質に関する既往の事例を調査した結果、南相馬市周辺において連続的に地下水・湧水の水質調査を実施した事例が存在した[3-4][3-5][3-6]。1Fは地質図上での分類としては相双地域に位置し、南相馬市は同一地域に位置している。これら既報から相双地域の地下水水質について以下の知見を得た。

- ・導電率は10～20 mS/mの範囲にあり、津波の浸水被害を受けた地域の湧水も海水の影響は残っていない（2016年において）。
- ・地下水、湧水のpHは7～9の中性からアルカリ性を示す地点が多く、特に地面下から湧出する湧水では高い値を示し、高い値を示す試料は地下での滞留時間が相対的に長いと考えられた。
- ・全有機体炭素（以下「TOC」という）、化学的酸素要求量（以下「COD」という）は10ppm前後であった。
- ・水質組成では、Ca-HCO₃型が多く分布しているが、Na-HCO₃型、Ca-SO₄型など地点により異なる。イオン濃度はCl 10ppm前後、SO₄ 10～60ppm、Na 10～25ppm、Ca 10ppm前後程度である。

加えて、後述するが、CLADS国際共同研究棟の所在する富岡町において我々のグループ（物質・材料研究機構、電中研、JAMSTEC、原子力機構）で地下水、河川水、海水を採取、水質分析を行っている。相双地域にある富岡町の地下水水質は既報の南相馬市の地下水水質と同程度の値であった。これら1F周辺地下水の水質と比較して、1号機、3号機の建屋内水質は、Cl濃度はわずかに高いものの、地下水と同様の水質と推定された。現在、PCVにおいて水素爆発を防ぐため、窒素パージが行われているため、原子炉建屋内の滞留水は嫌気に近い条件下にあると想定される。よって、PCVを想定した場合の微生物腐食試験としては嫌気条件下での炭素鋼腐食を主に淡水環境、加えて4号機を想定した海水環境において検討するのが望ましいと言える。

一方、現在の1Fにおいては、原子炉建屋・PCV等が水素爆発により一部損傷し、閉じ込め機能が低下しているため、燃料デブリ取り出し時においては負圧管理による閉じ込め機能の構築が検討されている[3-7]。負圧管理を行う場合、PCV内に空気が流入することとなる。そのため、PCV内部で流入する空気（酸素）による環境変化を微生物培養条件設定として考慮する必要がある。現時点において空気の流入量や、酸素濃度設定は不明であるが、培養条件を選定するひとつの材料として2020年7月に実施された2号機PCVの減圧機能確認結果がある[3-8]。減圧確認期間中の酸素濃度としては0～1%であり、大気条件（好気）よりも気相中の酸素濃度は低い状況であるため、低酸素濃度条件を上述の嫌気条件に加えて設定することが望ましい。低酸素濃度条件という観点では、2014年に1F敷地内の地下水バイパス揚

水井において好気性微生物である鉄酸化細菌が発生し、ポンプ流量を低下させたことが報告されている[3-9]。この結果は、1F 設備に流入する地下水中に鉄酸化細菌が含まれており、酸素が供給される環境では鉄酸化細菌が増殖する可能性を示唆している。鉄酸化細菌は低い酸素濃度条件を好んで増殖し、鉄腐食にも関与することから、PCV において低酸素濃度環境を想定する場合には鉄酸化細菌による炭素鋼腐食も検討する必要がある。

以上、原子炉建屋内及び 1F 周辺の地下水の水質を整理し、腐食試験として設定すべき条件として、嫌気条件 淡水（1～3 号機）～海水（4 号機）、低酸素条件 淡水、を選定した。

(ii) 処理水タンクの水質について

原子炉建屋内の汚染水から Cs、Sr を取り除き、淡水化装置で塩分を分離した淡水が冷却水として再利用され、Sr 処理水としてタンクに貯蔵され、Sr 処理水は多核種除去設備（ALPS）で大部分の放射性核種を取り除いた処理水としてタンクに貯蔵されている。タンク内の処理水は定期的に分析され、ホームページ上に公開されている[3-10]。放射性物質に関する計測結果が主であるが、一部、微生物の培養に関与する水質情報が報告されている。2015 年度以降の処理水タンクの水質データを収集し（2020 年 12 月 30 日）、表 3.3.1-1～3.3.1-2 に取り纏めた。

表 3.3.1-1 処理水タンクの水質 2015～2016 年

| 試料名称 | 試料採取日 | Cl (mg/L) | SS (mg/L) | Mg (mg/L) | Ca (mg/L) |
|----------------------|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Sr 処理水タンク-J1-B タンク | 2015/9/8 | 2300 | <1 | 12 | 24 |
| Sr 処理水タンク-J1-C タンク | 2015/9/8 | 600 | 430 | 31 | 44 |
| Sr 処理水タンク-J1-G タンク | 2015/9/8 | 850 | <1 | 33 | 71 |
| Sr 処理水タンク-C-B タンク | 2015/9/11 | 900 | <1 | 73 | 81 |
| Sr 処理水タンク-G3-D タンク | 2015/9/11 | 700 | 44 | 44 | 69 |
| Sr 処理水タンク-G3-E タンク | 2015/9/11 | 570 | <1 | 29 | 65 |
| Sr 処理水タンク-G3-F タンク | 2015/9/11 | 540 | <1 | 34 | 73 |
| Sr 処理水タンク-G3-G タンク | 2015/9/11 | 1400 | <1 | 73 | 93 |
| Sr 処理水タンク-K1-C タンク | 2015/9/11 | 490 | <1 | 77 | 73 |
| Sr 処理水タンク-K2-A タンク | 2015/9/11 | 640 | <1 | 41 | 69 |
| Sr 処理水タンク-J1-B タンク | 2015/10/9 | 900 | 5 | 58 | 60 |
| Sr 処理水タンク-J1-C タンク | 2015/10/9 | 620 | 1160 | 36 | 101 |
| Sr 処理水タンク G3-E タンク | 2016/1/20 | 580 | <1 | 38 | 60 |
| Sr 処理水タンク G3-F タンク | 2016/1/20 | 2600 | 2 | 139 | 144 |
| Sr 処理水 タンク G3-G タンク | 2016/1/20 | 700 | <1 | 43 | 56 |
| Sr 処理水 タンク G3-H タンク | 2016/1/20 | 910 | 3 | 50 | 80 |
| Sr 処理水タンク D-B タンク | 2016/1/20 | 910 | 4 | 50 | 100 |
| Sr 処理水タンク D-C タンク | 2016/1/20 | 700 | <1 | 34 | 52 |
| Sr 処理水タンク D-D タンク | 2016/1/20 | 800 | 1 | 38 | 68 |
| Sr 処理水タンク J1-B タンク | 2016/1/20 | 910 | <1 | 48 | 60 |
| Sr 処理水タンク H8-A タンク | 2016/1/20 | 910 | 1 | 38 | 80 |
| ALPS 処理水タンク G3-D タンク | 2016/1/20 | 2800 | <1 | 2 | <1 |
| ALPS 処理水タンク J1-C タンク | 2016/1/20 | 4000 | <1 | 3 | 5 |
| ALPS 処理水タンク J1-A タンク | 2016/1/20 | 2900 | <1 | <1 | <1 |
| ALPS 処理水タンク J1-G タンク | 2016/1/20 | 2700 | <1 | <1 | <1 |

表 3.3.1-2 処理水タンク水質 2019 年度

| 試料名称 | 試料採取日 | pH | Cl (mg/L) | SS (mg/L) | Mg (mg/L) | Ca (mg/L) | SO ₄ (mg/L) | Na (mg/L) | Fe クラウド、不溶性鉄 (mg/L) | Fe 溶解鉄 (mg/L) |
|-------------------------|------------|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|------------------------|-----------|---------------------|---------------|
| Sr 処理水タンク-G3-G7①下層 | 2019/4/9 | 8 | 520 | 320 | 36 | 52 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7①中層 | 2019/4/9 | 8 | 520 | <1 | 34 | 48 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7①上層 | 2019/4/9 | 8.2 | 500 | 15 | 34 | 48 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7②下層 | 2019/4/22 | 8.2 | 520 | 3 | 36 | 52 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7②中層 | 2019/4/22 | 8 | 520 | 2 | 34 | 48 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7②上層 | 2019/4/22 | 8.1 | 520 | 2 | 31 | 52 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7③中層 | 2019/5/15 | 8 | 520 | 3 | 36 | 52 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7③下層 | 2019/5/15 | 8 | 520 | 4 | 31 | 52 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-G7③上層 | 2019/5/15 | 8 | 520 | 2 | 34 | 48 | | | | |
| Sr 処理水タンク-G3-E1_底部 | 2019/8/20 | 7.3 | 1000 | 30 | | | 340 | 690 | 6.7 | 0.2 |
| Sr 処理水タンク-G3-E1_底部 1m | 2019/8/20 | 7.3 | 1000 | <1 | | | 370 | 750 | 0.04 | 0.06 |
| Sr 処理水タンク-G3-E1-中部 | 2019/8/20 | 7.3 | 1100 | <1 | | | 380 | 750 | 0.03 | 0.1 |
| ALPS 処理水タンク-G3-A1_底部 | 2019/8/21 | 8.9 | 4800 | 86 | | | 590 | 3900 | 6.5 | <1 |
| ALPS 処理水タンク-G3-A1_底部 1m | 2019/8/21 | 8.9 | 4800 | 11 | | | 590 | 3600 | <1 | <1 |
| ALPS 処理水タンク-G3-A1_中部 | 2019/8/21 | 8.9 | 4800 | 5 | | | 600 | 3700 | <1 | <1 |
| ALPS 処理水タンク-G6-C1 | 2019/9/17 | | | | | | | | | |
| ALPS 処理水タンク-G6-C5 | 2019/10/3 | 8.4 | | | | | | | | |
| ALPS 処理水タンク-G6-C7 | 2019/10/3 | 8.4 | | | | | | | | |
| ALPS 処理水タンク-G3-D1_底部 | 2019/10/11 | 8.9 | 2700 | 27 | | | 290 | 2100 | 11 | 0.04 |
| ALPS 処理水タンク-G3-D1_底部 1m | 2019/10/11 | 8.9 | 2800 | 11 | | | 290 | 2100 | 2.3 | 0.03 |
| ALPS 処理水タンク-G3-D1_中部 | 2019/10/11 | 8.9 | 2800 | 10 | | | 290 | 2100 | 2.3 | 0.04 |

また、Sr 処理水タンクについては 2018 年 12 月に溶接型タンク（G3 エリア～E1 タンク）内部で硫化水素の発生が確認されており、硫酸還元菌の関与が推定されたため、周辺の Sr 処理水タンクについて詳細に微生物の増殖に関する水質情報が調査され、廃炉・汚染水対策チーム会合／事務局会議にて報告されている [3-11] [3-12]。報告資料中のデータを表 3.3.1-3 に整理した。

表 3.3.1-3 Sr 処理水タンクの水質

試料採取日：*は 2019 年 2 月 28 日報告資料に値が記載、採取日は不明

| | 試料 採取日 | pH | Cl (mg/L) | SS (mg/L) | SO ₄ (mg/L) | Fe ク ラッド (mg/L) | S (mg/L) | Na (mg/L) | TOC (mg/L) | COD (mg/L) |
|----------|------------|-----|--------------|--------------|---------------------------|-----------------------|-------------|--------------|---------------|---------------|
| G3-D8 | * | 8 | 1400 | 2 | 190 | 1.2 | 6.9 | | 0.8 | |
| G3-E1 上層 | 2018/11/1 | 7.1 | 1000 | 3 | 360 | 0.25 | | 730 | 17 | 4 |
| G3-E1 下層 | 2018/11/1 | 7.1 | 1000 | 110 | 370 | 26 | | 730 | 17 | 3 |
| G3-E1 | * | 7.5 | 1000 | 41 | 330 | 7.5 | 77 | | 16 | |
| G3-E5 | * | 7.4 | 1200 | 110 | 330 | 32 | 32 | | 2.6 | |
| G3-E10 | * | 7.4 | 1000 | 38 | 350 | 11 | 8.2 | | 3.8 | |
| G3-F1 中層 | 2018/11/2 | 7.4 | 1100 | <1 | 360 | 1.6 | | 660 | 2 | <1 |
| G3-F1 | * | 7.4 | 1400 | 53 | 390 | 16 | 3.8 | | 1.8 | |
| G3-F9 | * | 7.7 | 1700 | 67 | 450 | 19 | 2.6 | | 1.9 | |
| G3-F10 | * | 7.6 | 1400 | 72 | 450 | 22 | 3.8 | | 7 | |
| G3-G1 上層 | 2018/11/5 | 7.1 | 950 | 1 | 340 | 0.88 | | 570 | 6 | 2 |
| G3-G1 下層 | 2018/11/5 | 7.1 | 900 | 580 | 340 | 120 | | 570 | 4.9 | <1 |
| G3-G1 | * | 7 | 1100 | 90 | 360 | 27 | 3.8 | | 4.3 | |
| G3-G7 | * | 7.8 | 1000 | 30 | 290 | 13 | 4 | | 2.4 | |
| G3-G4 | * | 7.4 | 1000 | 73 | 290 | 25 | 5.1 | | 2.7 | |
| G3-H1 中層 | 2018/11/5 | 7.9 | 110 | <1 | 54 | 0.14 | | 81 | 0.7 | <1 |
| D-B1 中層 | 2018/10/26 | 8 | 1000 | <1 | 240 | 0.003 | | 630 | 1.6 | <1 |
| H8-A1 中層 | 2018/10/25 | 7.6 | 700 | <1 | 150 | 0.4 | | 390 | 1.3 | <1 |
| H8-B1 中層 | 2018/10/25 | 7.8 | 850 | <1 | 200 | 1.5 | | 480 | 2 | <1 |
| J1-B1 中層 | 2018/10/26 | 8.4 | 950 | <1 | 240 | 0.3 | | 570 | 1.1 | <1 |
| K2-B1 中層 | 2018/10/22 | 7.9 | 560 | <1 | 260 | 0.04 | | 370 | 1.7 | <1 |
| K1-D1 中層 | 2018/10/22 | 7.8 | 700 | <1 | 320 | 0.006 | | 450 | 2.2 | <1 |

以上、2015 年以降の処理水タンクの微生物培養に関わる水質データを整理したところ、Sr 処理水タンク及び ALPS 処理水タンク共に水質について大きな経年変化の傾向は見られなかった。処理水タンク内の水質パラメーターが取り得る範囲として、整理した全データをもとに、それぞれの成分の範囲を表 3.3.1-4 として示した。

表 3.3.1-4 これまでの分析データから示される処理タンクの水質の範囲

| | pH | Cl (mg/L) | SS (mg/L) | COD (ppm) | Mg (mg/L) | Ca (mg/L) | SO ₄ (mg/L) | Na (mg/L) | Fe クラ ッド、 不溶解 性鉄 (mg/L) | Fe 溶 解鉄 (mg/L) | TOC (ppm) |
|-------------|---------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------|---------------|-------------------------------------|----------------------|--------------|
| Sr 処理水タンク | 7.1-8.4 | 500- 2600 | <1- 1160 | | 12-139 | 24-144 | 54-450 | 81-750 | 0.03- 120 | 0.06- 0.2 | 0.7-17 |
| ALPS 処理水タンク | 8.4-8.9 | 2700- 4800 | 5-86 | <1 | <1-3 | <1-5 | 290- 600 | 2100- 3900 | <1-6.5 | <1 | 0.5 |

Sr 処理水タンクと ALPS 処理水タンクの水質を比較したところ、pH、イオン濃度 (Cl、Na、SO₄) は ALPS 処理水のほうが高い値を示し、Cl 濃度と SO₄ 濃度の間には相関が見られた (図 3.3.1-2)。一方で、TOC や SS (水中に浮遊する直径 2 mm 以下の不溶性物質)、鉄成分、Mg、Ca は ALPS 処理水の方が低い値を示した。今後、表 3.3.1-4 に示す条件設定において、処理水タンク的环境を想定した微生物腐食試験を実施する。

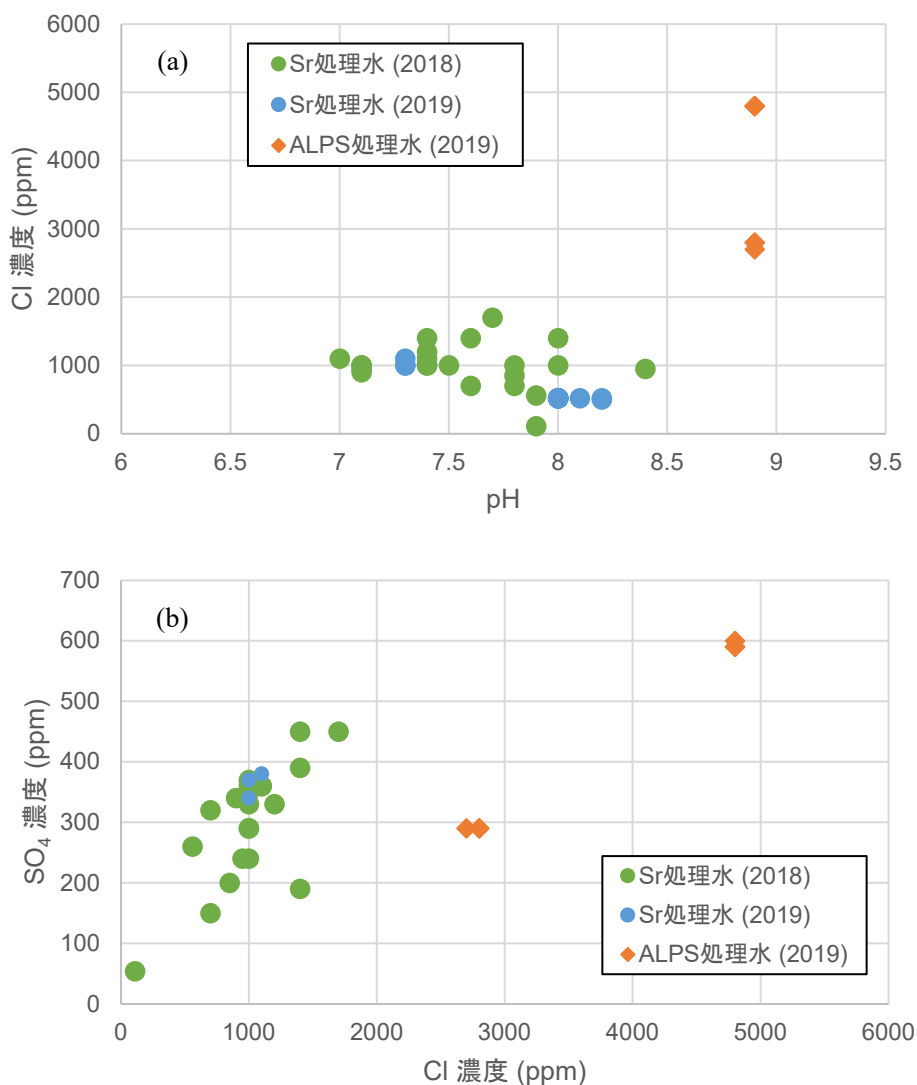


図 3.3.1-2 処理水タンク内の水質の整理
(a) pH vs Cl 濃度 (b) Cl 濃度 vs SO₄ 濃度

(iii) 使用済み燃料プールについて

使用済み燃料プールについては、事故当時より微生物腐食のリスクを想定して窒素バブリングに加え、ヒドラジンを注入しているため [3-1]、微生物の増殖及びプールライナーであるステンレス鋼の微生物腐食のリスクは極めて低いことが推定される。一方で、インドの Madras Atomic Power Station 使用済み燃料プールにおいてはヒドラジンを添加しているが、ステンレス鋼表面においてバイオフィーム (*Bacillus*、*Staphylococcus* を含む) が形成されていることが報告されており [3-13]、1F 使用済み燃料プールにおいて微生物増殖の可能性を完全には否定できない。

以上、原子炉建屋内及び処理水タンク内の水質条件を公知情報から整理し、微生物腐食試験を行う上で必要な水質パラメーターの範囲を設定した。今後は、これらの水質条件をもとに 1F 周辺環境より得られた微生物群集を用いた培養試験を行うことで腐食リスクの推定を進める。

3.3.2 微生物試料の取得及び実験条件の確立

1F 周辺から腐食性微生物を探索することを目的として 1F 周辺より表層水・地下水、河川水を採取した (表 3.4.1-1)。試料採取の詳細は 3.4.1 に記載する。地下水①、②、河川水、海水は 1 L 採取できた一方で、地下水③については湧出量が少なく、採取量は 50 mL 程度に留まった。そのため、地下水③について水質分析は実施せず、培養条件も限定した 1 条件のみとした (3.3.2 (ii))。詳細は後述するが、他の採取試料と異なり、地下水③は湧出地点周辺に鉄酸化物の析出が確認されるとともに、鉄酸化細菌の存在が観察されたため、腐食微生物のひとつである鉄酸化細菌を対象を絞った培養を実施した。地下水③を除き、採取した表層水・地下水、河川水 (表 3.4.1-1) について基礎情報を取得するため、水質分析 (pH、酸化還元電位 (以下「ORP」という)、線量、TOC、COD、陽イオン、陰イオン成分) を行った。pH、ORP については採取後すぐに現場においてマルチデジタル水質計 2ch WQ-320J (堀場製作所) を用いて計測した。また、試料の線量についてはバックグラウンドが無視できる程度に低い地点においてシンチレーションサーベイメータ TCS-171B (日立アロカメディカル株式会社) を用いて行った。採取試料はクーラーボックスを用い、低温を維持しながら搬送し、実験室に持ち帰った。水試料は速やかに実験室において、メンブレンフィルター (孔径 0.2 μm) を用いてろ過を行い、ろ液を各種成分分析に用いた。水試料中の溶存有機物は TOC として TOC150 (東レ株式会社) を用いて測定し、COD は未ろ過試料を用い BRD-200 及び DR3900 (Hach 社) によって測定した。また、水試料に含まれる溶存陰イオン濃度 (Cl^- 、 Br^- 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 SO_4^{2-})、陽イオン濃度 (Li^+ 、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) はイオンクロマトグラフ ICS-1500 及び ICS-2000 (日本ダイオネクス株式会社) を用い、測定を行った。カラムは陰イオン用カラム AS11-HC (日本ダイオネクス株式会社)、陽イオン用カラム CS16A (日本ダイオネクス株式会社) を用いた。鉄はフェナントロリン法[3-14]にて計測した。土壌は土壌試験法[3-15]に従い、1:5 で脱イオン水に懸濁後、pH 及び海塩の影響を見るため陰イオン濃度について計測を行った。水質及び土壌の成分分析結果を表 3.3.2-1 と、表 3.3.2-2 に示す。本研究で注目している硫酸還元菌の増殖に必要な SO_4^{2-} イオン濃度について、日本河川水の平均値は 10 ppm、地下水 10~20 ppm、海水は 2600 ppm であり、今回採取した試料が一般的な水質の範囲であることが確認された。地下水①②の成分は既報の南相馬市の地下水の水質性状の範囲 (Cl^- 濃度: 10 ppm 前後、 SO_4^{2-} 濃度: 10~60 ppm、Na 濃度: 10~25 ppm、Ca 濃度: 10 ppm 前後) に含まれており、総合的であった[3-4][3-5][3-6]。詳細に地下水①と地下水②の成分を比較した

ところ、地下水①のほうが pH、Na、Ca、Mg 濃度が高く、地質的な影響を受けている時間（滞留時間）が相対的に長い地下水であることが推定された。また、地下水②については地表湧出水であるため、周辺の樹木からの落葉などの影響を受け、固形有機物が多く、COD が高い値を示したことが推定される。土壌に関する成分分析結果からは、表層土壌②は塩分濃度が高く、海水の影響を受けていることが推定された。

表 3.3.2-1 採取試料の基礎性状

| | pH | ORP (mv) | 線量 (μSv/h) | TOC (mg/L) | COD (mg/L) | Cl (mg/L) | NO ₂ (mg/L) | Br (mg/L) | NO ₃ (mg/L) | SO ₄ (mg/L) |
|-------|------|----------|------------|------------|------------|-----------|------------------------|-----------|------------------------|------------------------|
| 地下水① | 8.35 | 71.8 | 0.1 | 2.96 | 4.4 | 10.121 | - | 0.153 | - | 10.4517 |
| 地下水② | 7.05 | -18.9 | 0.07 | 4.38 | 15.2 | 7.459 | 0.022 | 0 | 0.283 | 14.2184 |
| 河川水 | 8.37 | 14.7 | 0.09 | 2.31 | 2.5 | 5.737 | 0.012 | 0.002 | 1.891 | 18.4385 |
| 海水 | 7.91 | -107.2 | 0.16 | 3.79 | 9.8 | 19198.165 | - | 69.396 | - | 2628.622 |
| 表層土壌① | 7.3 | | 0.2 | | | 5.511 | 0.028 | - | 0.142 | 3.182 |
| 表層土壌② | 5.0 | | 0.2 | | | 18.518 | 0.123 | - | 11.847 | 39.021 |

表 3.3.2-2 水試料の陽イオン組成

| | Fe (mM) | Li (mg/L) | Na (mg/L) | NH ₄ (mg/L) | K | Mg | Ca |
|------|---------|-----------|-----------|------------------------|---------|---------|----------|
| 地下水① | 41 | - | 23.505 | 1.248 | 7.551 | 4.489 | 14.3373 |
| 地下水② | 32 | - | 9.112 | 3.01 | 2.804 | 3.11 | 7.4844 |
| 河川水 | 5 | - | 9.236 | 0.542 | 1.708 | 4.057 | 15.3426 |
| 海水 | 23 | 1.75 | 10293.429 | n.a. | 543.303 | 1303.51 | 395.4797 |

次に、腐食試験の実験条件の確立について記載する。1F において PCV 内部は窒素パージされているため、原子炉建屋内部に滞留する水は嫌気環境であると推定される。また、Sr 処理水タンクにおいては硫酸還元菌の増殖が報告されており、タンク底部は同じく嫌気環境であると推定された。そこで、まず嫌気条件下において腐食微生物を培養可能かつ腐食活性を評価できる試験系を確立した。電中研で保有する腐食活性を有する硫酸還元菌 4 種（*Desulfovibrio*×3 株（淡水、汽水、海水環境よりそれぞれ取得）、*Desulforhabdus*）及び NBRC より購入した腐食性メタン菌 *Methanococcus maripaludis* KA1 株を対象として 50 mL バイアル瓶に無機塩培地と炭素鋼試験片（0.8 mm 角）を添加し、気相部分を N₂/CO₂=8:2 に置換した状態で用いた嫌気培養を実施した。培養の結果、硫酸還元菌、メタン菌共に腐食を伴った増殖が確認できた（図 3.3.2-1）。

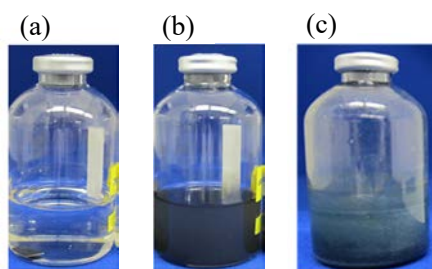


図 3.3.2-1 腐食試験系培養後の写真
(a) 非植菌区 (b) 硫酸還元菌 (c) メタン菌

硫酸還元菌による炭素鋼片の重量減損量を経時的に計測した。*Desulforhabdus* を植菌した 3 か月間の試験結果を図 3.3.2-2a に示す。非植菌区と比較した結果、培養 2 週間までは植菌と非植菌区で腐食量に違いは見られず、それ以降において *Desulforhabdus* による腐食の促進が確認された。この特徴は他の硫酸還元菌においても同様に観察された。硫酸還元菌による腐食の促進のためには、炭素鋼表面で硫酸還元菌が増殖するための時間が必要であると考えられた。そこで、本研究で用いる環境試料の腐食試験系として培養期間を 1 か月と設定した。

上述のように確立した腐食試験系において、硫酸還元菌 4 種の腐食活性を 1 か月後の炭素鋼重量減損量で比較した (図 3.3.2-2b)。1 か月後において非植菌区と比較して硫酸還元菌による腐食の大小を評価可能であり、今回比較した 4 株の中では *Desulforhabdus* が最も高い腐食活性を示した。今後、1F 周辺環境試料から腐食微生物を取得し、腐食評価を行っていく上での基礎情報として、最大の腐食活性を示した *Desulforhabdus* の腐食速度を 3 か月間の試験片の重量減損量から算出した。その結果、0.3 mm/年 (全面腐食換算) という値が得られ、無菌区の 10 倍以上の腐食速度であった。ここで確立した腐食評価手法及び基礎データを使って、1F 周辺環境試料における腐食微生物群集の探索を進めた。

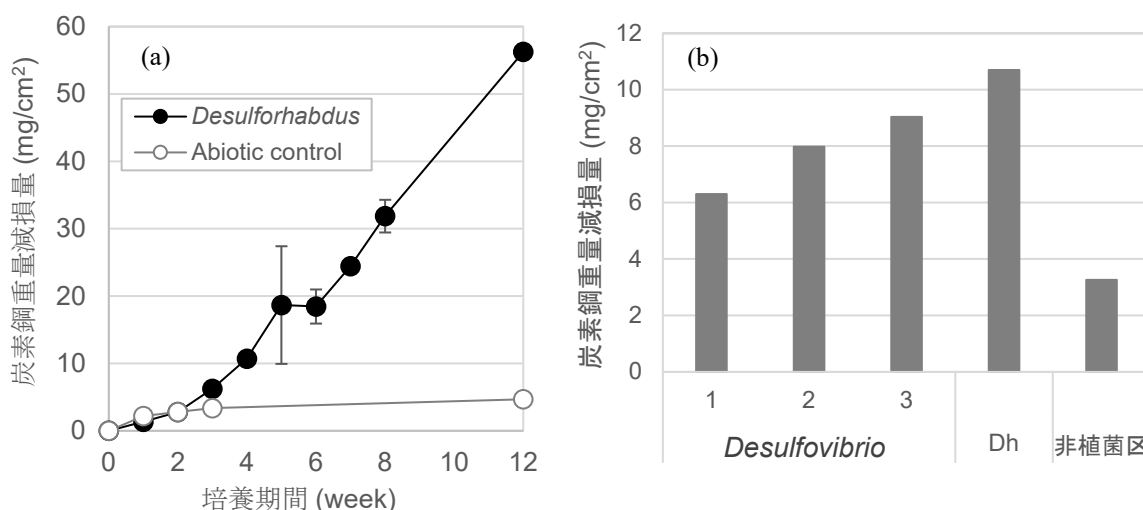


図 3.3.2-2 炭素鋼を用いた硫酸還元菌の腐食活性の評価
(a) *Desulforhabdus* の経時変化 (b) 硫酸還元菌 4 種の腐食活性比較
Desulfovibrio 1 (淡水)、2 (汽水)、3 (海水)、Dh: *Desulforhabdus*

(i) 採取した水試料を用いた培養試験（嫌気環境）

採取した環境試料から鉄腐食活性を有する微生物群集を集積するために、複数の培地条件を用いて、環境試料を植菌源として鉄顆粒と共存下で嫌気培養を開始した。1F Sr 処理水タンクにおいて増殖したことが推定されている硫酸還元菌に焦点を置き、微生物の増殖を加速するために栄養源（有機物等）を添加した。添加する有機物については1F 周辺試料に含まれる微生物に対して有効に作用する有機物が不明であるため、異なる以下の条件を設定した。海洋性硫酸還元菌用の無機塩培地[3-16]（Widdel 培地、pH7.2）をベースとして、有機物として①乳酸ナトリウム 1 mM、②酢酸ナトリウム 50 mM、③混合基質（各最終濃度 0.1 mM、glycerol、glucose、lactate、fumarate、malate、succinate、formate、acetate、propionate、butyrate、valerate、caproate、methanol、ethanol、1-propanol、1-butanol）を添加した条件（①Widdel 培地-L、②Widdel 培地-A、③Widdel 培地-M）、④乳酸ナトリウム 6 g/L、クエン酸ナトリウム 0.3 g/L、カザミノ酸 2 g/L、トリプトン 2 g/L を含む VM-I 培地[3-17]を設定した。また、⑤添加しない条件についても対照として設定した。混合基質は深海試料より硫酸還元菌を分離する際に使用された実績のある構成であり、深海のような貧栄養環境に存在する硫酸還元菌を増殖させるために広い種類の有機物構成となっている[3-18]。そこで、本試験において効率的に地下水試料をはじめ環境試料から硫酸還元菌を培養するために、選択肢として含めた。また、淡水環境より採取した試料（地下水①、地下水②、河川水）を培養する際には NaCl を培地組成から除くことで淡水条件を設定した。培養試験には 3.3.1 で確立した手法を用いた。50 mL バイアル瓶を用い、別途オートクレーブ滅菌した 30 mL の培地及び、鉄顆粒（iron 99.98 %、1~2 mm、Alfa Aesar）3 g 添加、ブチルゴム栓で密栓し、気相部分を混合ガス（N₂:CO₂=8:2）で置換した。気相置換後、水試料を 3 mL 植菌し、培養を開始した（繰り返し数 n=5）。培養条件は 30 °C、静置培養とした。また、同様の試験条件において採取試料を植菌しない非植菌区を対象として設定した（繰り返し数 n=3）。

各培養試料の硫酸還元菌の増殖及び腐食活性を評価するために、培養 1 か月後、気相成分、培養液成分（鉄イオンの溶出、硫酸イオン）を測定した。気相については、あらかじめ高純度窒素ガスにて置換しておいたブチルゴム栓付バイアル瓶（容量 10 mL）に、密閉瓶からガスタイトシリンジを用いてヘッドスペースガス（2 mL）を採取後、ガスクロマトグラフ（TCD 検出器搭載の Varian Inc. 製 CP4900）によって H₂、CO₂、CH₄ の測定を行った。また、硫酸イオン及び腐食反応の進行に伴って溶出する Fe(II)濃度の測定を行った。

培養開始後、1 か月において各試料、各培養条件における硫酸還元菌の増殖を表 3.3.2-3 にまとめて示した。硫酸還元菌が増殖した場合には、硫酸還元活性により発生する硫化水素と鉄が反応し、黒い硫化鉄が形成されるため、培養液中の黒色沈殿物の形成により硫酸還元菌の増殖の有無を判定できる（図 3.3.2-3）。

表 3.3.2-3 培養結果

(n=5、硫酸還元活性が見られた本数 5 本◎、4-3 本○、2-1 本△、0 本×)

| 有機物添加 | 酢酸 Na 50 mM | 乳酸 Na 1 mM | 混合基質 0.1 mM each | VM-I 培地 | なし |
|-------|----------------|---------------|---------------------|---------|----|
| 地下水① | × | × | ◎ | × | × |
| 地下水② | △ | ◎ | ◎ | ◎ | △ |
| 河川水 | × | △ | ○ | ○ | × |
| 海水 | × | × | ◎ | △ | △ |



図 3.3.2-3 培養 1 か月後の培養試料の例
(a) 海水培養試料 (b) 非植菌区

その結果、混合基質にを使った場合において地下水①、②、河川水、海水のいずれの試料においても硫酸還元菌の増殖が確認された。地下水①については混合基質でのみ硫酸還元菌の増殖が確認された一方で、地下水②については全ての有機物条件についても増殖が見られており、地下水②は地下水①と比較して多様かつ多くの硫酸還元菌を多く含んでいた可能性が考えられる。また、有機物を添加しない試験系においても、地下水②及び海水試料の一部の培養試料については硫酸還元菌の活性が見られた。この結果は、本研究において重要なターゲットとしている、有機物を使わず金属鉄を栄養源（エネルギー）として増殖する電気腐食微生物が増殖した可能性を示唆している。次に、硫酸還元活性を確認するとともに、鉄腐食活性を推定するために、培養液中の二価鉄イオン濃度及び硫酸イオン濃度を示す（図 3.3.2-4、図 3.3.2-5）。

乳酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、混合基質を用いた培養試料においては、非植菌区に対して採取試料を植菌した試験区のうち淡水条件の試験区では硫酸イオンの減少が確認され、地下水②において最も高い硫酸還元活性が見られた。この結果は培養液の見た目（硫化鉄の発生）と整合的である。一方、海水試料では淡水試料と比較して顕著な硫酸還元活性は見られなかった（図 3.3.2-4）。次に、腐食活性を評価するために、培養液中の Fe(II)濃度を測定した。嫌気環境においても鉄は溶液中のプロトンを還元しながら、遅い速度で非生物的に腐食し、Fe(II)を溶出する。この非植菌区の培養液中 Fe(II)濃度と植菌区における培養液中の Fe(II)濃度を比較することで、微生物による腐食促進を評価した（図 3.3.2-5）。その結果、淡水試料、海水試料共に非植菌区と比較して顕著に Fe(II)濃度が上昇している試料は確認されなかった。

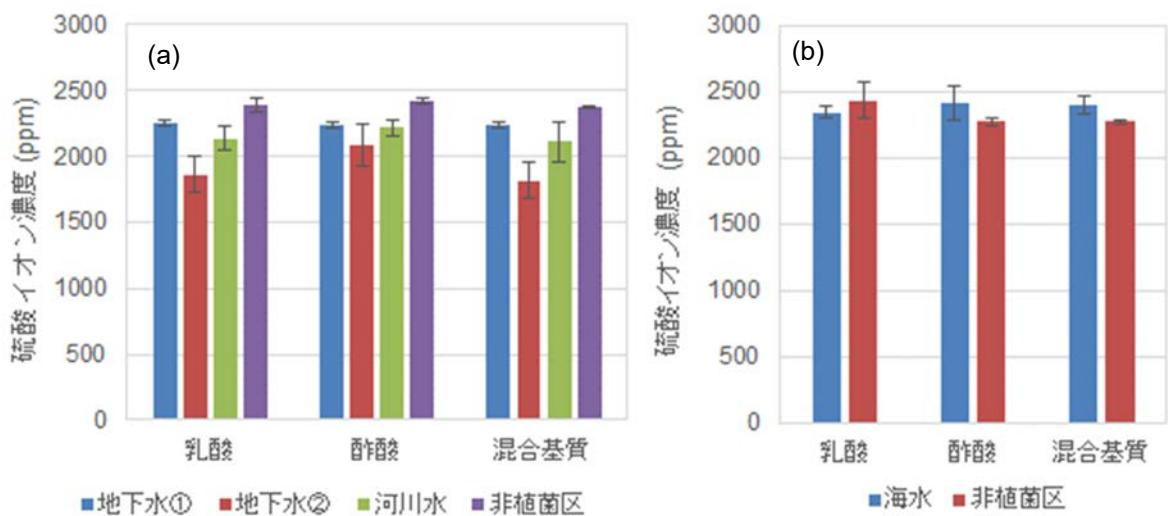


図 3.3.2-4 培養条件①～③における培養液中の硫酸イオン濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料

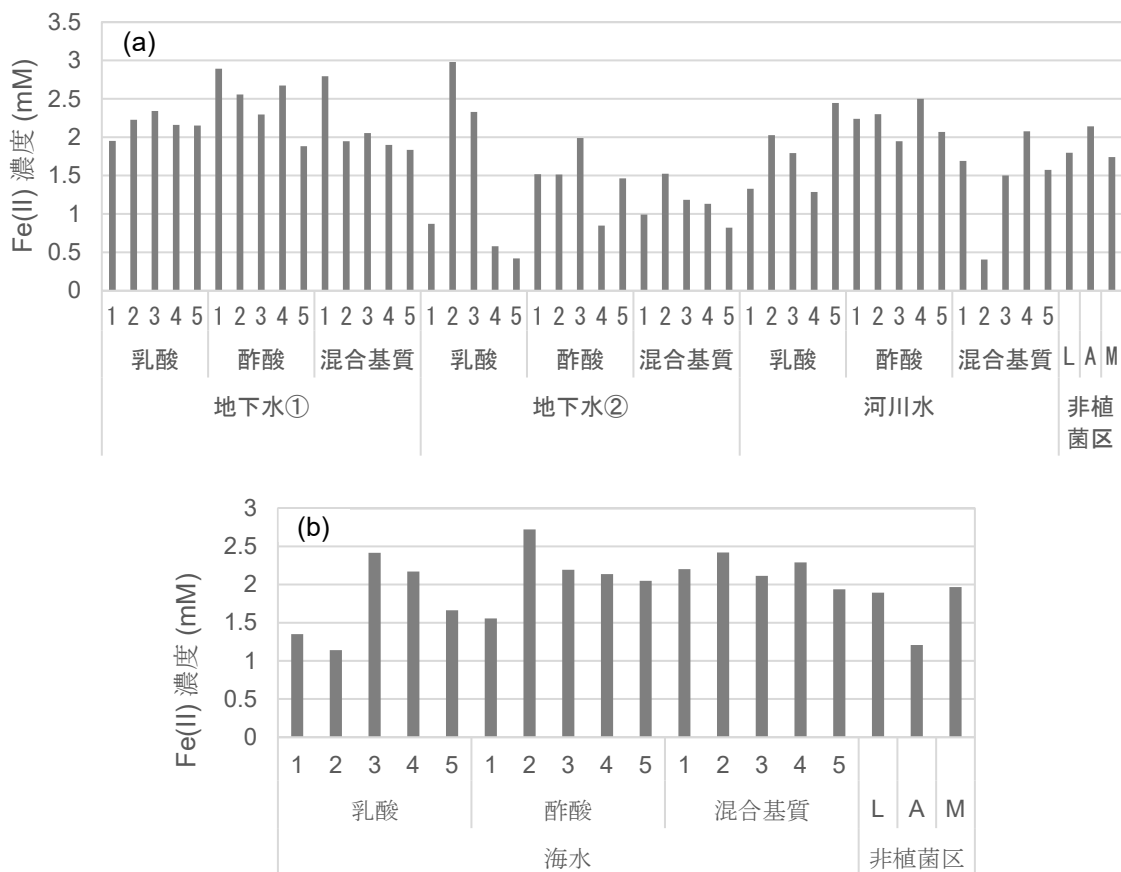


図 3.3.2-5 培養条件①～③における培養液中の Fe(II)濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料
L : 乳酸、A : 酢酸、M : 混合基質

VM-I 培地を用いた試験区においては、淡水試料、海水試料共に培地中の硫酸イオンの減少が確認され、河川水を植菌源とした試料において最も高い活性が見られた (図 3.3.2-6)。淡水環境試料について培養液中の Fe(II)濃度を比較したところ、地下水②を植菌源とした試料において最も高い Fe(II)濃度が見られ、その濃度は非植菌区と比較して 2 倍程度であり、腐食反応が促進されていると推定された (図 3.3.2-7a)。一方で、河川水を植菌源とした試料では顕著な硫酸還元が見られるものの、Fe(II)濃度の測定結果は非植菌区よりも低い値を示していた。これらの試料においてはバイアル瓶の壁面に黒い硫化鉄が固着しており、Fe(II)濃度測定のサンプリング時に採取が困難であるため、低い値となった可能性が考えられる。そのため、腐食活性を正確に評価できていない可能性がある。一方、海水試料については同じ植菌源を用いた 5 連の試験のうち、1 試料 (5 番) においてのみ非植菌区と比較して Fe(II)濃度の上昇が見られた (図 3.3.2-7b)。

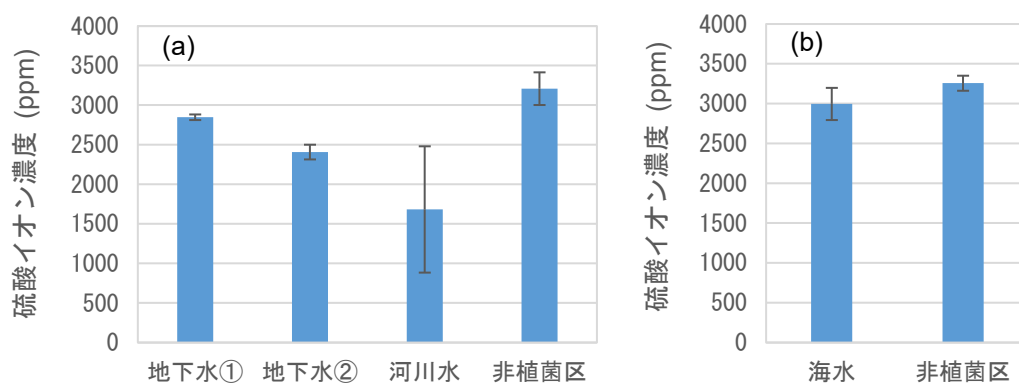


図 3.3.2-6 培養条件④における培養液中の硫酸イオン濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料

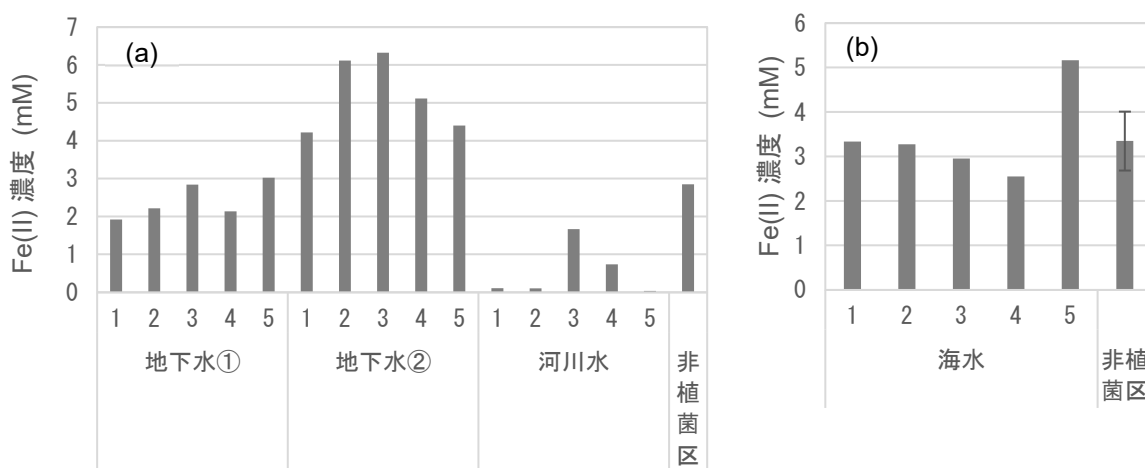


図 3.3.2-7 培養条件④における培養液中の Fe(II)濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料

1 か月培養後の試料のうち、培養液中の Fe(II)濃度が非植菌区よりも高かった地下水②の 5 本、海水試料 (5 番) について 1 mL 培養液を採取し、新しい培地に植え継ぎを行った。また、河川水試料については培養液中の Fe(II)濃度は低いものの、高い硫酸還元活性が検出されたことから同様に植え継ぎを行った。これら植え継ぎを行った試料についても同様に培養 1 か月後に Fe(II)濃度及び硫酸イオン濃度の測定を行った。その結果、硫酸イオン濃度については地下水②、河川水、海水共に非植菌区と比較して減少が見られ、地下水②については 1 回目の培養試料よりも同一培養期間での硫酸イオン減少量が大きかった (図 3.3.2-8)。また、地下水②試料は非植菌区よりも高い培養液中の Fe(II)濃度を示し、さらに一部の試料 (1、5 番) については非植菌区の 4 倍以上の Fe(II)濃度を示した (図 3.3.2-9a)。この値は 1 回目の培養試料の値よりも増加しており、硫酸減少量も増加していたことから、植え継ぎにより腐食に関わる硫酸還元菌が集積されていることが推定される。一方で、植え継ぎを行った海水試料については培養液中の Fe(II)濃度は非植菌区よりは大きかったものの (図 3.3.2-9b)、1 回目の試料よりも低い値であり、植え継ぎを行ったことにより腐食活性は低下する傾向が見られた。

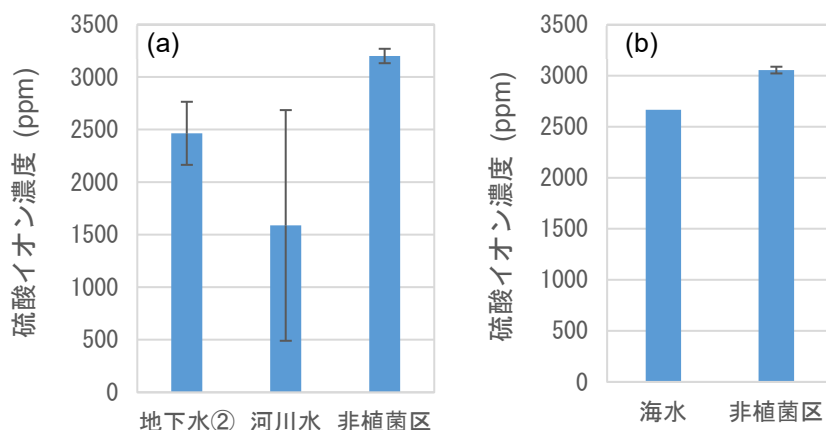


図 3.3.2-8 培養条件④における植え継ぎ培養液中の硫酸イオン濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料

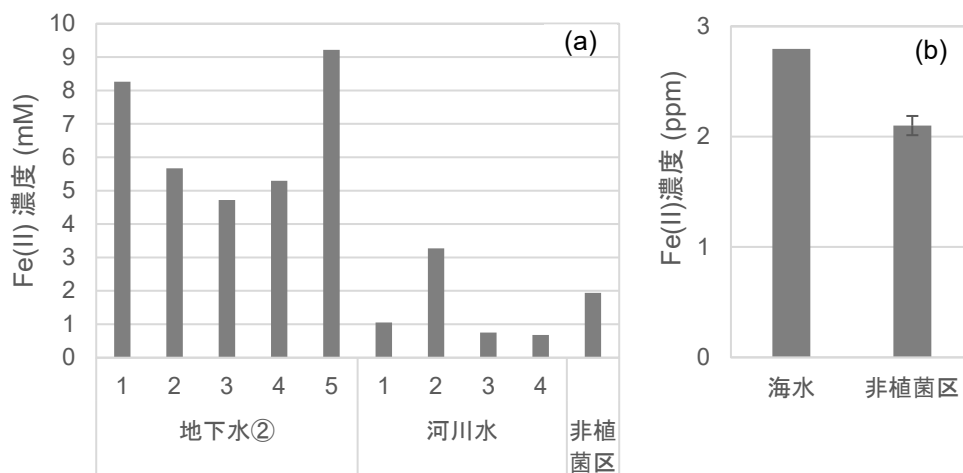


図 3.3.2-9 培養条件④における植え継ぎ培養液中の Fe(II)濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料

有機物を添加しない試験系において、培養 1 か月後に培養液中の硫酸イオン濃度及び Fe(II)濃度の測定を行った結果、培地において黒色沈殿の形成が見られた地下水②では硫酸イオン濃度の減少が確認され（図 3.3.2-10a）、一部の地下水②培養試料（1 番、5 番）については非植菌区に対して高い Fe(II)濃度が見られた（図 3.3.2-11a）。これらの試料中には鉄を電子源として増殖する電気腐食性硫酸還元菌が存在する可能性が考えられる。一方で、培養 1 か月後では地下水①、河川水については非植菌区より高い Fe(II)濃度を示す試料は存在しなかった。また、海水培養試料 1 番についても少ないながら Fe(II)濃度が非植菌区よりも高い値を示した（図 3.3.2-11b）。そこで、地下水②培養試料（1～5 番）、海水培養試料（5 番）から培養液を 1 mL 採取し、植え継ぎを行い、電気腐食性硫酸還元菌の更なる集積と活性の評価を進めた。

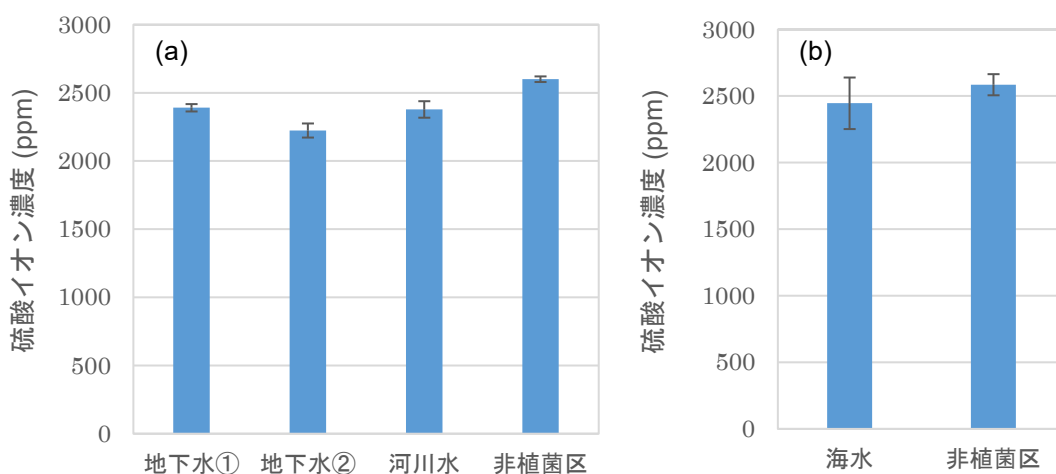


図 3.3.2-10 培養条件⑤における培養液中の硫酸イオン濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料

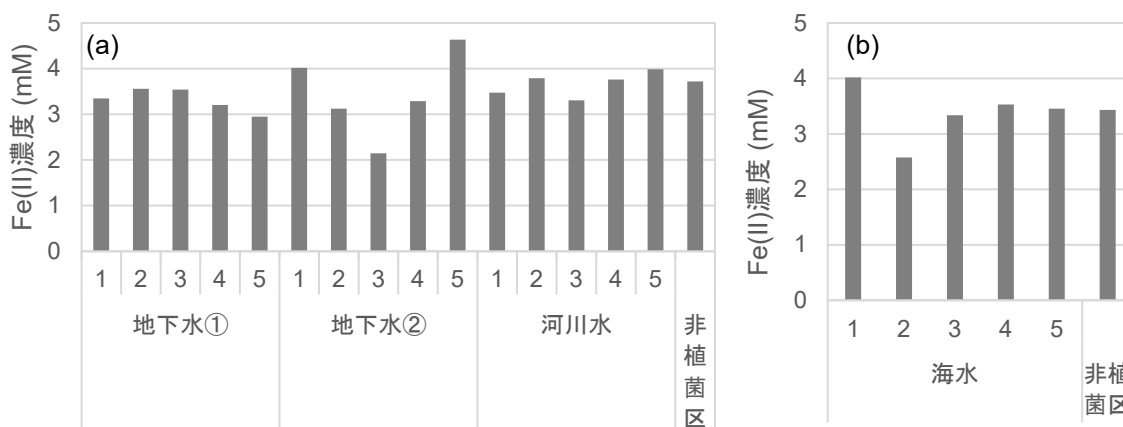


図 3.3.2-11 培養条件⑤における培養液中の Fe(II)濃度
(a) 淡水培養試料 (b) 海水培養試料

また、有機物を添加しない試験系においては、環境試料に含まれる微生物の増殖に時間が掛かることが想定されたため、1か月の活性評価後も更に培養を継続した。その結果、興味深いことに培養2~3か月後に地下水①培養試料のうち一部（3番）において培養液が白い腐食生成物により白濁する現象が見られ（図3.3.2-12）、気相部にはメタンガスが検出された。Fe(II)濃度を測定したところ、9.8 mMと顕著に高い値を示した。これらの結果は、地下水①培養試料（3番）の中に鉄を腐食しながら増殖するメタン菌が存在することを示唆している。これまでも腐食活性を有する微生物としては、硫酸還元菌だけでなくメタン菌も報告されている[3-19]。そこで、地下水①培養試料（3番）についても同様に植え継ぎを行い、腐食性微生物の集積及び活性の評価を行った。



図 3.3.2-12 白濁した地下水①培養試料

植え継ぎを行い、1か月の培養後に溶液中のFe(II)濃度及び気相成分の分析を行った。その結果、非植菌区と比較して、地下水①（3番）は約4倍高いFe(II)濃度を示し、地下水②（1-5番）は1.5倍程度高い値を示した（図3.3.2-13）。気相成分の分析を行った結果、非植菌区においては非生物的な鉄の腐食に伴ったH₂の発生が見られたが、培養試料においてH₂はほぼ検出できず、地下水①培養試料においてのみメタンガスの発生が検出された（図3.3.2-14）。また、地下水①培養試料については非植菌区と比較して気相部におけるCO₂の減少が確認された。

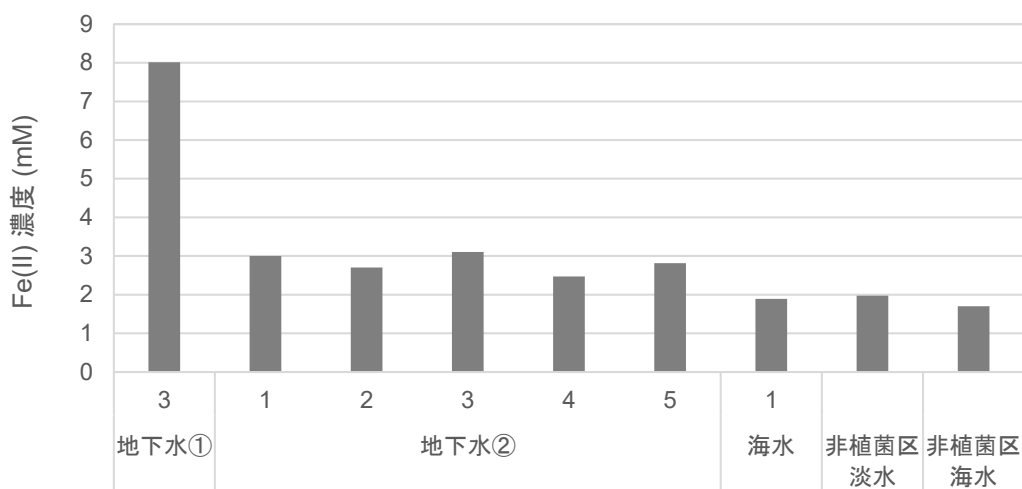


図 3.3.2-13 培養条件⑤における植え継ぎ培養液中のFe(II)濃度

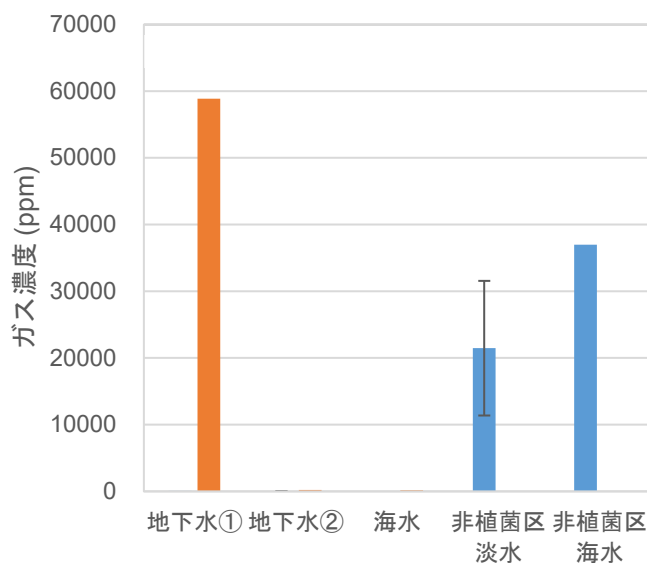
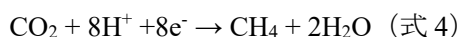
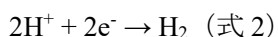
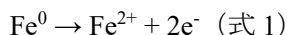


図 3.3.2-14 植え継ぎ試料の気相成分
オレンジ：CH₄、青：H₂

メタン菌は H₂ と CO₂ からメタンを合成できるため、地下水①培養試料で検出されたメタンは非生物的腐食により発生した水素から合成された可能性がある。そこで、非生物的に発生する水素から生産されるメタン量の理論値と実際に生産されたメタンの量を比較した。非植菌区淡水条件において非生物的に Fe⁰ の酸化に伴い発生した水素 (式 1、式 2) 2147 ppm が全てメタン菌の作用によりメタンに変換された際には、発生するメタンガス量の理論値は同一気相容量下において水素の 1/4 であり (式 3)、5000 ppm 程度と算出された。



それに対して、実際はその 10 倍程度のメタン発生量が見られたため、メタン菌が積極的に鉄から電子を獲得して腐食を促進した結果、鉄の溶出量及びメタン生成量が増加したと考えられた (式 1、式 4)。この培養液を一部採取し、蛍光顕微鏡による観察を行ったところ、10 μm 程度の桿菌が観察され、これらはメタン菌に特有の自家蛍光を発したことから培養液中にメタン菌が増殖していることが確認された (図 3.3.2-15)。これらメタン菌は腐食生成物内に凝集して存在している様子が観察され (図 3.3.2-16)、腐食との相関が推定された。よって、地下水①培養液のなかには電気腐食性のメタン菌が存在することが強く示唆される。地下水①には電気腐食活性を持つメタン菌、地下水②には電気腐食活性を持つ硫酸還元菌の存在が示唆された。今後更なる集積、単離を進め、1F 環境を想定した条件での腐食評価を進める予定である。

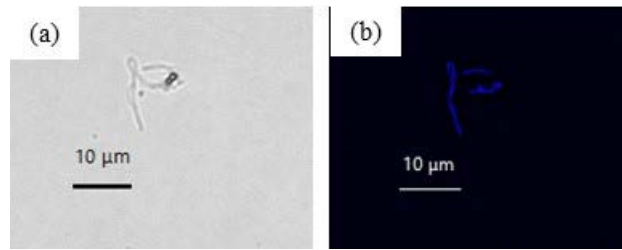


図 3.3.2-15 培養液中の細胞の顕微鏡観察結果
(a) 明視野像 (b) 自家蛍光観察像

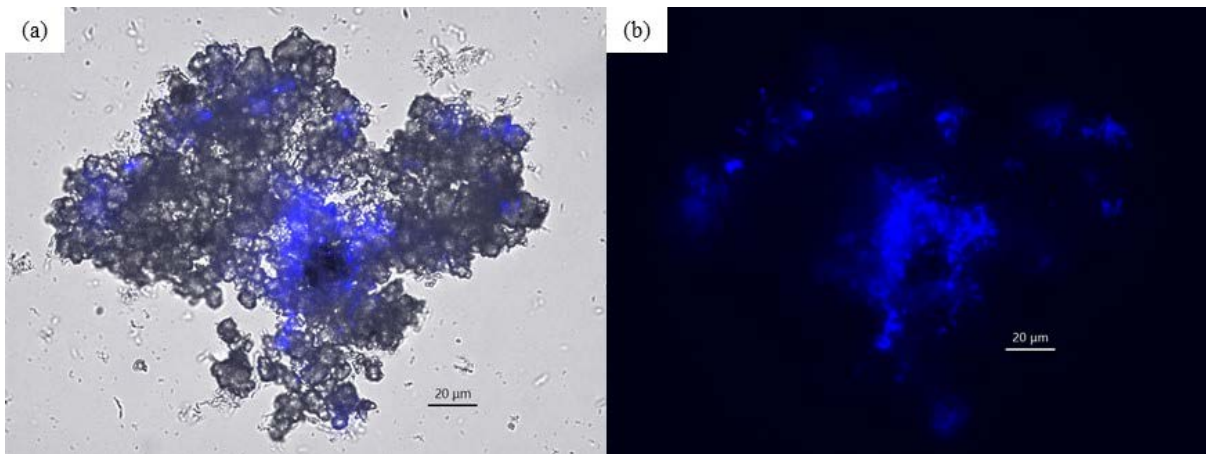


図 3.3.2-16 腐食生成物の顕微鏡観察画像
(a) 明視野像+蛍光像の重ね合わせ (b) 自家蛍光観察像

(ii) 好気環境を想定した培養試験

3.3.1 に記載した地下水バイパスの事例のように 1F に流れ込む地下水から鉄酸化細菌が増殖する可能性が考えられる。鉄酸化細菌は好気環境下において腐食に関与することが報告されている。各環境試料の顕微鏡観察の結果、地下水③については鉄酸化細菌に特徴的な鞘状の形態が観察された(図 3.3.2-17a)。そこで、地下水③を植菌源として好気条件下において鉄酸化細菌の培養を開始した。試験管に鉄酸化細菌培養の実績のある GP 培地[3-20] (NaHPO_4 0.76 g、 KH_2PO_4 0.02 g、HEPES 2.383 g、 $\text{FeSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 mg、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.5 g pH 6.8) と地下水③を等量添加し、そこに炭素鋼 SS400 試験片 (0.8 mm 角) を加え培養を行った。培養開始 1 か月後の写真を図 3.3.2-17b に示す。植菌区において炭素鋼表面に鉄酸化物の形成が見られており、鉄酸化細菌の増殖の可能性が考えられるため、今後更なる解析を進める。

以上のように、1F 周辺より環境試料を採取し、異なる複数の条件で鉄顆粒を使った嫌気条件下での腐食培養試験を開始した。その結果、いくつかの試料において硫酸還元菌やメタン菌による腐食活性がみられており、1F 周辺環境中にも腐食性微生物が存在し、様々な条件(淡水、海水、貧栄養～栄養豊富)で腐食活性を示しうるということが推定された。また、地下水バイパスでの増殖が報告されている鉄酸化細菌の培養についても環境試料を用いて開始した。今後は、引き続き腐食活性を有する微生物の培養を進めると共に、3.3.1 で整理した 1F 環境条件の範囲において微生物による腐食活性の違いを評価していく予定である。

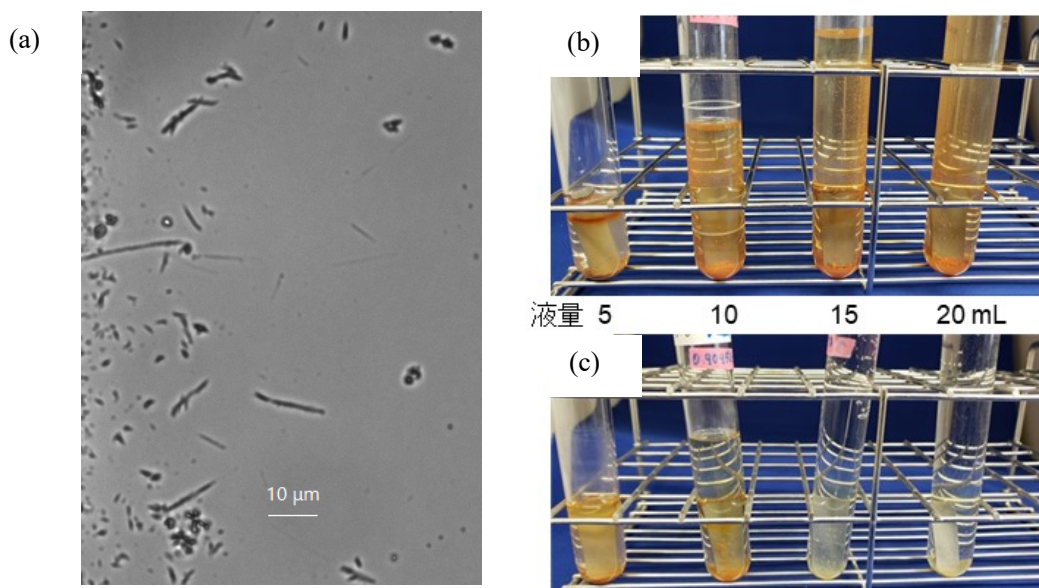


図 3.3.2-17 地下水③培養実験

(a) 顕微鏡観察像 (b) 培養後の試験管写真 (c) 培養後の試験管写真 (非植菌区)

参考文献

- [3-1] Fukaya, Y. et al., Corrosion Mitigation Activities Performed After the Fukushima Daiichi Accident, Corrosion, vol.74, no.5, 2018, p.577-587.
- [3-2] 東京電力ホールディングス株式会社, 処理水ポータルサイト,
<https://www.tepco.co.jp/decommission/progress/watertreatment/> (参照: 2021年3月5日) .
- [3-3] 東京電力ホールディングス株式会社, IV. 滞留水・建屋内汚染水,
https://www.tepco.co.jp/decommission/data/daily_analysis/retained_water/index-j.html (参照:
2021年3月5日) .
- [3-4] 藪崎志穂, 津波被害を受けた湧水の時間経過に伴う水質変化 —南相馬市沿岸部に位置する湧水の観測例—, 地下水学会誌, vol.61, no.1, 2019, pp.65-73.
- [3-5] 藪崎志穂, 柴崎直明他, 福島県南相馬市沿岸域の地下水, 湧水の水質とトリチウム濃度について —2013年に実施した調査結果報告—, 福島大学地域創造, vol.27, no.1, 2015, pp.37-46.
- [3-6] 藪崎 志穂, 福島県北部沿岸域の地下水の水質・同位体比を用いた地下水流動に関する考察 —調査結果と今後の課題—, 水文・水資源学会 2016年度研究発表会, 2016, P40.
- [3-7] 原子力損害賠償・廃炉等支援機構, 東京電力ホールディングス(株)福島第一原子力発電所の廃炉のための技術戦略プラン 2020,
https://www.dd.ndf.go.jp/files/user/pdf/strategic-plan/book/20201006_SP2020FT.pdf(参照日: 2020年12月30日) .
- [3-8] 東京電力ホールディングス株式会社, 2号機原子炉格納容器(PCV)の減圧機能確認の結果について, 経済産業省 廃炉・汚染水対策チーム会合/事務局会議(第80回), 2020年7月30日,
<https://www.meti.go.jp/earthquake/nuclear/decommissioning/committee/osensuitaisakuteam/2020/07/3-3-4.pdf> (参照: 2020年12月30日) .

- [3-9] 東京電力株式会社, 地下水バイパス揚水井 No.11 ポンプ点検の状況, 2014 年 11 月 27 日, https://www.meti.go.jp/earthquake/nuclear/pdf/141127/141127_01_018.pdf (参照: 2020 年 12 月 30 日) .
- [3-10] 東京電力ホールディングス株式会社, II. 構内タンク, https://www.tepco.co.jp/decommission/data/daily_analysis/tank/index-j.html (参照: 2020 年 12 月 30 日) .
- [3-11] 東京電力ホールディングス株式会社, ストロンチウム処理水を貯留している溶接型タンク (G3 エリア) における水の性状について, 経済産業省 廃炉・汚染水対策チーム会合/事務局会議 (第 61 回), 2018 年 12 月 27 日, <https://www.meti.go.jp/earthquake/nuclear/decommissioning/committee/osensuitaisakuteam/2018/13/3-1-3.pdf> (参照: 2020 年 12 月 30 日) .
- [3-12] 東京電力ホールディングス株式会社, タンク建設進捗状況, 経済産業省 廃炉・汚染水対策チーム会合/事務局会議 (第 63 回) 2019 年 2 月 28 日, <https://www.meti.go.jp/earthquake/nuclear/decommissioning/committee/osensuitaisakuteam/2019/02/3-1-5.pdf> (参照: 2020 年 12 月 30 日) .
- [3-13] Karley, D. et al., Microbiota of Spent Nuclear Fuel Pool Water with Emphasis on Their Biofilm Forming Ability on Stainless Steel (SS-304L), *J. Biosci.*, vol.44, no.5, Article: 108.
- [3-14] Lovley, DR., Phillips, EJ., Rapid Assay for Microbially Reducible Ferric Iron in Aquatic Sediments, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.53, no.7, 1987, pp.1536-1540.
- [3-15] 鬼鞍豊他, 土壌標準分析・測定法, 土壌肥料学会監修, 土壌標準分析 測定法委員会編, 1994, 博友社, 354p.
- [3-16] Widdel, F., Bak, F., Gram-Negative Mesophilic Sulfate-Reducing Bacteria, *The Prokaryotes*, 1992, pp.3352-3378.
- [3-17] Wikieł, AJ. et al., Impact of *Desulfovibrio Alaskensis* Biofilms on Corrosion Behaviour of Carbon Steel in Marine Environment, *Bioelectrochemistry*, vol.97, 2014, pp.52-60.
- [3-18] Fichtel, K. et al., Isolation of Sulfate-Reducing Bacteria from Sediments Above the Deep-Subseafloor Aquifer, *Front. Microbiol.*, vol.3, 2012, Article 65.
- [3-19] Dinh, H.T. et al., J. Iron Corrosion by Novel Anaerobic Microorganisms, *Nature*, vol.427, no.6977, 2004, pp.829-832.
- [3-20] Sawayama, M. et al., Isolation of a *Leptothrix* Strain, OUMS1, from Ocherous Deposits in Groundwater, *Curr. Microbiol.*, vol.63, no.2, 2011, pp.173-180.

3.4 1F 周辺環境の微生物の特徴の把握及び微生物腐食挙動の評価（連携先：原子力機構）

3.4.1 1F 周辺環境の微生物の特徴の把握

1F 周辺環境に生息する微生物を同定するため、1F サイト周辺の表層水・地下水や河川水の環境サンプリングを行った。環境サンプリングは、2020 年 11 月 17 日（火）（晴れ）に実施した。サンプリングした種類と場所を表 3.4.1-1 及び図 3.4.1-1 に、サンプリング場所の写真を図 3.4.1-2 にそれぞれ示す。富岡町役場の了解を得てサンプリングした地下水①及び②をはじめ、計 7 か所からサンプリングした。

表 3.4.1-1 環境サンプリングの種類とサンプリング場所

| 種類 | サンプル名 | サンプリング場所 |
|------|-------|-----------------------|
| 地下水 | 地下水① | 富岡町役場駐車場地下水（許可を得て実施） |
| | 地下水② | 富岡町内湧水池（私有地、許可を得て実施） |
| | 地下水③ | ふたば医療センター附属病院敷地外の法面湧水 |
| 河川水 | 河川水 | 富岡町「学びの森」付近の富岡川支流 |
| 海水 | 海水 | 富岡漁港 |
| 表層土壌 | 表層土壌① | 富岡町「学びの森」付近の富岡川支流の河畔 |
| | 表層土壌② | 海岸（小良ヶ浜）付近 |



図 3.4.1-1 富岡町内での環境サンプリング場所

(国土地理院地理院地図 電子国土 Web

<https://maps.gsi.go.jp/#15/37.335173/141.011302/&base=std&ls=std&disp=1&vs=c1j0h0k010u0t0z0r0s0m0f1&d=m> にサンプリング場所を追記して作成)

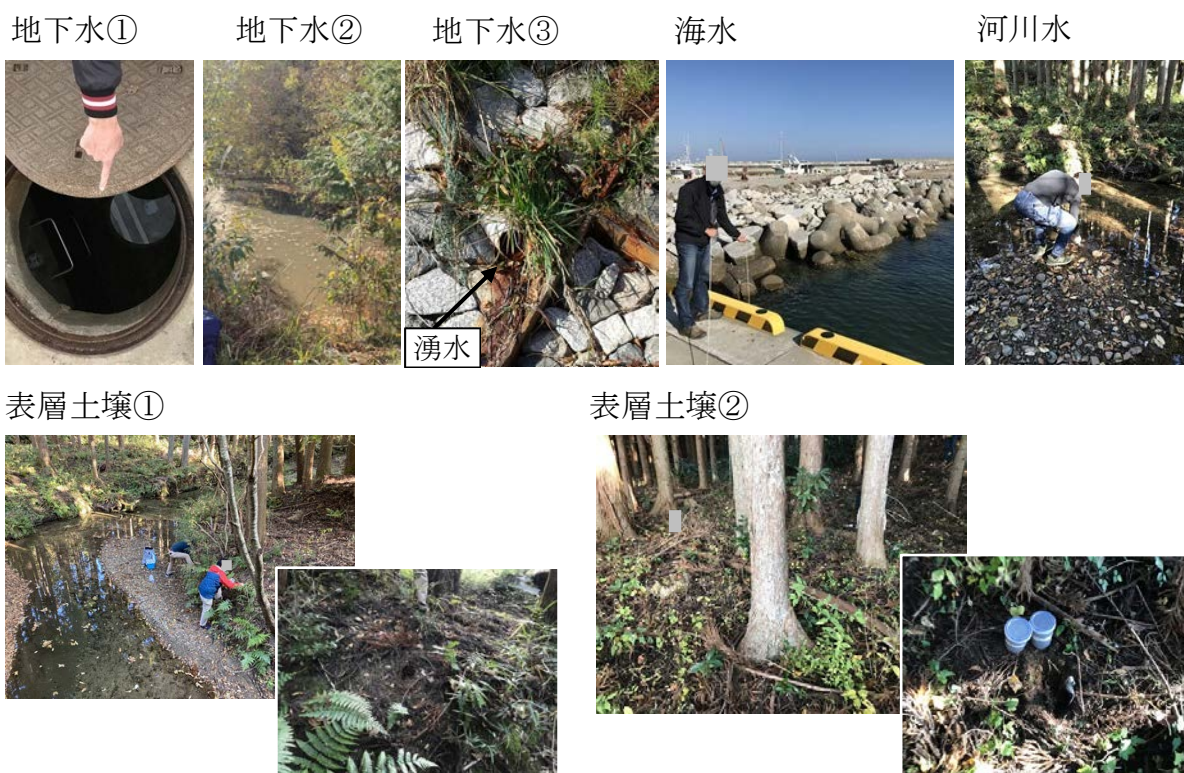


図 3.4.1-2 環境サンプリング場所の写真

サンプリングされた水試料中に存在する微生物を培養するための培地の種類や培養条件の検討を行い、最適化された条件で当該水試料中の微生物を培養した。

まず始めに、環境試料中より増殖させる微生物の培養方法の選定を行った。微生物腐食の代表的な微生物には鉄酸化細菌や硫酸塩還元菌などが知られているが、本試験では中性付近の pH で活動する微好気性の鉄酸化細菌を取り扱うこととした。各種文献[4-1][4-2][4-3]を参考に、以下の培地の組成を編成した。Modified Wolfe's Mineral Medium : NH_4Cl 1.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g/L、 NaHCO_3 1.68 g/L、 Na_2SiO_3 0.05 g/L、 K_2HPO_4 0.05 g/L、 KH_2PO_4 0.05 g/L (pH 6.5)。この培地に鉄源として 2.0 g/L の鉄粉を湿熱滅菌 (121 °C、15 min) したものを添加し鉄酸化細菌培養用培地とした。

上記の培地を用いて環境試料由来微生物を 50 mL 遠沈管中で静置培養したところ、図 3.4.1-3 のような変化が観察された。本試験では鉄粉の自然酸化を抑えるために培養液の気層部を少なくし、また、パラフィルムを巻くことで気層部の外部との置換を抑制したため、生成した茶褐色の鉄酸化物の大部分は微生物の代謝由来であると推察される。

また、サンプリングされた水試料中に存在する微生物を培養するための培地の種類や培養条件の検討を行い、最適化された条件で当該水試料中の微生物を培養した。

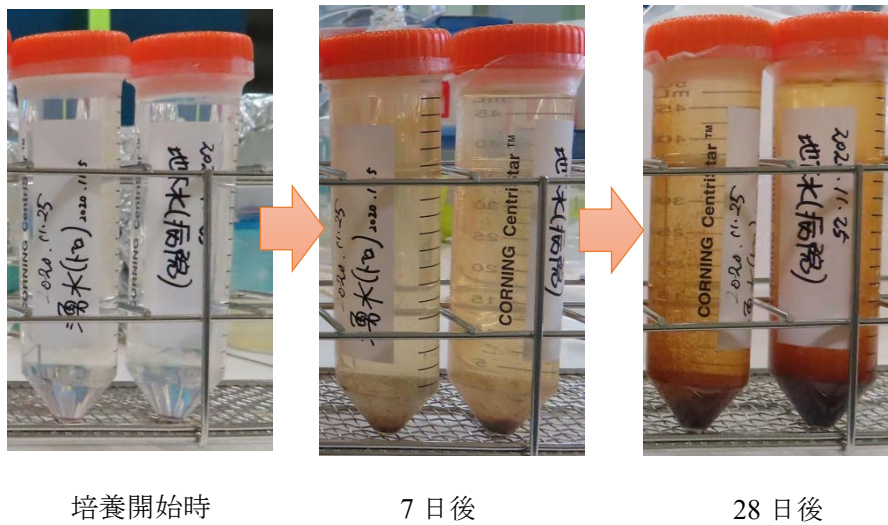


図 3.4.1-3 培養したサンプルの外観（28 日間培養）

3.4.2 微生物腐食挙動の評価

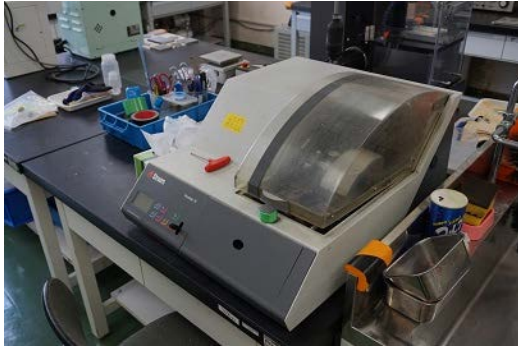
微生物による材料表面での腐食の影響をマイクロレベル及びナノレベルで評価するため、材料表面を当該スケールで測定・分析するために最適な手法を検討・選定し、分析・測定環境を整備した。

微生物が付着した材料表面には、過去の事例等から、概ね局所的な腐食が発生すると考えられる。したがって、微生物による材料の腐食影響を評価するには、腐食が発生する場所を推測して絞り込み、詳細に観察・分析・測定する手順や手法を検討・選定する必要がある。まず、腐食試験後、観察・分析までの手順を検討し、次のような手法を選定した。

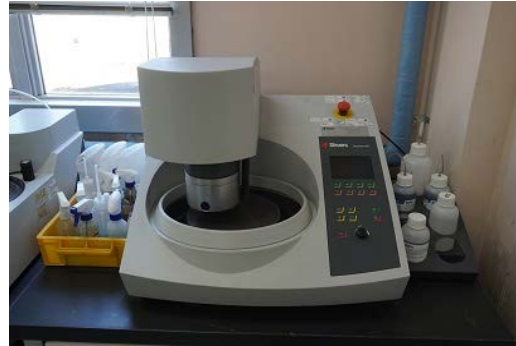
- ①腐食試験後の試料表面に付着した微生物あるいは腐食生成物の様相を観察して腐食が発生したと考えられる場所を推測し、腐食の状況を調べる対象部位を絞り込む。
- ②絞り込んだ部位の表面付着物（微生物あるいは腐食生成物）を酸溶液で除去し、試料表面や断面の観察・分析のために切断・研磨等の試料調製を行う。
- ③調製した試料を用い、FE-SEM を用いた表面・断面の観察や EDS を用いた元素分析を行って、腐食の状況を把握する。
- ④ワンショット 3D 形状測定機を用いたマイクロレベルの凹凸観察・測定、AFM を用いたナノレベルの凹凸観察・測定等を行って、腐食の進展を定量的に把握する。

上記の手順で微生物腐食挙動を分析・測定し評価するために必要な装置等を整備した。これらの装置は既に原子力機構が所有しているものであり、本研究に用いるために選定したものである。

試料調製には図 3.4.2-1(a)切断機及び図 3.4.2-1(b)自動研磨機のほか、マイクロレベル以下の精密研磨には図 3.4.2-1(c)イオンミリングを用いる。



(a) 切断機



(b) 自動研磨機



(c) イオンミリング

図 3.4.2-1 試料調製装置

上記にて調整した試料は、光学顕微鏡や図 3.4.2-2(a)の FE-SEM を用いて表面観察や FE-SEM に付属する EDS を用いて元素分析を行う。腐食進行の状況を定量化するための減肉や局部腐食深さまたは腐食減肉の分布の測定として、マイクロレベルの場合は図 3.4.2-2(b)ワンショット 3D 形状測定機、ナノレベルの場合は図 3.4.2-2(c)の AFM を用いる。なお、局部腐食が深くトンネル状（「たこつぼ状」と呼ばれることもある）となった場合は、これらの装置で測定することは難しいため、腐食部位の断面を FE-SEM で観察し、形状や寸法を測定する必要がある。



(a) 電解放出型走査電子顕微鏡 (FE-SEM)



(b) ワンショット 3D 形状測定機



(c) 原子間力顕微鏡 (AFM)

図 3.4.2-2 腐食影響の観察・分析・測定装置

以上の手順や装置を用いて腐食の状況を把握し、微生物や腐食生成物と腐食との関係を調べ、また腐食の進展を可能な限り定量化して腐食速度を求めることにより、微生物による腐食の影響を評価することが可能となる。

参考文献

- [4-1] American Type Culture Collection (ATCC), ATCC medium: 2672 Modified Wolfe's Minimal Medium, <https://www.atcc.org/~media/A457A0AE8C604A12B5597E5EB1A6583A.ashx> (参照日：2021年3月15日)。
- [4-2] The National Center for Marine Algae and Microbiota (NCMA), NCMA Medium 3: Modified Wolfe's Mineral Medium FeS/Gradient Plates, <https://ncma.bigelow.org/PDF%20Files/NCMA%20Medium%203%20MWM-FeS%20plates.pdf> (参照日：2021年3月15日)。
- [4-3] 鈴木智子, 新規機能材料創出に向けた難培養性鉄酸化細菌の単離と酸化鉄生成機構に関する基盤研究, 科学研究費助成事業データベース, <https://kaken.nii.ac.jp/ja/file/KAKENHI-PROJECT-15H06654/15H06654seika.pdf>, 研究課題／領域番号 15H06654, 研究成果報告書, 平成 29 年 6 月 6 日 (参照日：2021年3月15日)。

3.5 研究推進

研究代表者の下で各研究項目間ならびに CLADS 等との連携を密にして、研究を進めた。また、研究実施計画を推進するための打合せや会議等を開催した。

- ・打合せ会議（1回目）

開催日：2020年9月28日（月）

参加者：（以下敬称略）

物質・材料研究機構 岡本

JAMSTEC 若井

電中研 平野

原子力機構 山本、池田、上野、大谷

場所：物質・材料研究機構並木地区

内容：各機関における研究の進捗状況と本プロジェクトにおける目標の共有

- ・打合せ会議（2回目）

開催日：2021年1月14日（木）

参加者：

物質・材料研究機構 岡本

JAMSTEC 若井

電中研 平野

原子力機構 池田、上野

場所：オンライン

内容：進捗状況の確認と2021年度研究計画の確認

4. 結言

計画に沿って研究計画が行われ、順調に進んでいる。特に 1F と関連する環境サンプルから微生物による腐食反応が確認できており、この腐食反応を抑制する条件の特定が今後進むことが期待できる。その他の計画に関しても、重要な実験を始めるための知見が得られ始めており、2021 年度での成果が期待できる。2.1 全体計画の図 2.1-1 年度別全体計画における 2020 年度の計画に対して、それぞれの項目でどう達成されたかを以下に具体的に示す。

項目 (1) の電気腐食細菌の濃縮技術を利用した鍵酵素群 (バイオマーカー) の特定においては、2020 年度、モデル培養株を用いて電気腐食細菌の濃縮技術によって分離できる細菌数の上限や、効率を定量することを計画し、電気腐食細菌を濃縮する材料を合成、分離した菌をタンパク質量で定量することで、細菌量の上限や、粒子量と分離効率の関係に関して分析を進めた。オンサイトで電気腐食機構の有無を検査する投げ込み試験片の開発においては、計画した通り Cu、Bi、Zn、Mo、Sb といった金属を 10%程度溶解させた鉄合金の作成、それぞれの合金について、まず電気腐食を行う培養細菌株を用いて腐食の速度を重量変化によって比較する実験を完了した。腐食の速度を重量変化によって比較、これらの金属を含まない炭素鋼に比べて、Mo、Sb 合金では腐食が阻害され、Cu 合金では腐食速度が増加する予想通りの結果が得られた。培養株を用いた微生物腐食機構速度の各条件での評価と抑制対策法の確立においては、1F 周辺環境サンプル 9 種類を回収して実験室に持ち帰り、電気化学実験に用いることが出来る培地 5 種類を用いて、土壤サンプルから電気細菌の存在を示す電流値を観測出来る条件を明らかにすることが出来た。

項目 (2) のバイオマーカー遺伝子の探索及びオンサイト診断技術の開発では、鉄腐食性メタン生成菌が腐食を誘導する条件について塩濃度と pH の観点で明らかにし、好気環境でのステンレス鋼の微生物腐食についても電位貴化と腐食発生について微生物と塩濃度の観点からの情報を得た。さらに、環境試料を用いた培養試験において、明らかに加速された腐食を示す培養物を得ており、環境試料及び培養物の微生物群集構造解析について、DNA を抽出し、微生物群集構造解析に進んでおり、順調に目標を達成している。

項目 (3) の 1F 設備において微生物腐食リスクが高まる環境条件のスクリーニングにおいては、2020 年度は、1F 環境において微生物腐食リスクが高まる環境条件を明らかにするために必要な腐食評価試験系を確立するとともに、1F 環境を想定した培養条件を選定すること、1F サイト周辺の環境試料を用いた培養試験に着手することを目標とし、研究を実施した。公知情報から原子炉建屋内及び処理水タンク内の水質条件を整理し、微生物腐食試験を行う上で必要な水質パラメーターの範囲を整理した。具体的には 1 号機、2 号機、3 号機建屋内は淡水環境、4 号機建屋内は海水環境であり、Sr 処理水タンクは pH7.1~8.4、Cl 濃度 50~2600 ppm、ALPS 処理水タンクは pH8.4~8.9、Cl 濃度 8.4~8.9 ppm と異なる環境パラメーターを有することが示された。これら環境パラメーターの範囲をもとに腐食評価試験のための培養条件を選定した。既存の腐食活性が報告されている微生物のうち、硫酸還元菌 4 株、メタン菌 1 株を選定し、炭素鋼を材料としたバイアル瓶による嫌気培養を実施することで、腐食を評価していくための試験系を確立した。次に、本試験系を用いて、1F サイト周辺の環境試料の培養に着手した。培養の結果、一部の地下水試料、培養条件において腐食活性が得られ、メタン菌や硫酸還元菌のような腐食微生物の増殖が推定された。以上、計画通り 2020 年度の目標を達成した。今後は、2020 年度に設定した培養条件にもとづき、1F 周辺環境より得られた微生物群集を用いた培養試験を行うことで腐食リスクの推定を進める。

項目 (4) の 1F 周辺環境に生息する微生物を同定するため、1F サイト周辺の表層水・地下水や河川水の計 7 か所の環境サンプリングを行い、4 機関に持ち帰って培養試験に供した。このうち

原子力機構では、サンプリングされた水試料中に存在する微生物を培養するため、中性付近の pH で活動する微好気性の鉄酸化細菌を取り扱うこととし、**Modified Wolfe's Mineral Medium** に鉄源として 2.0 g/L の鉄粉を添加して鉄酸化細菌培養用培地を選定、環境試料由来微生物の培養を始めることが出来た。また、微生物による材料表面での腐食の影響をマイクロレベル及びナノレベルで評価するため、材料表面を当該スケールで測定・分析するために最適な手法を検討・選定し、分析・測定環境の整備を計画通り進めることが出来た。

用語の説明書

電気腐食：細胞外に存在する鉄や硫化鉄などの電子ドナーから電子を取り出し、生命活動を行う際のエネルギー源として用いる電気細菌が引き起こす鉄腐食。

多核シトクロム膜酵素：細菌の細胞膜に存在し、電子を細胞膜の内外へと動かす電気導線のよ
うに働くタンパク質。内部に数十個並ぶヘム反応中心が電子キャリアーとして働く。

ナノワイヤー：外膜シトクロムを持つ直径の 20 nm 程度のワイヤーであり、これを用いて細菌
から離れた鉄からも電子を引き抜くと考えられている。

DAB ポリマー：シトクロム酵素を電顕観察用に染色するために使われるポリマー。本研究では、
外膜シトクロムを持つ電気腐食細菌を環境サンプルから濃縮するために用いる。

バイオマーカー：特定の微生物のみが持つ情報。例えば、微生物腐食を引き起こす微生物のみ
が持っている酵素（タンパク質）など。

電位貴化：電位の上昇のこと。耐食性のあるステンレス鋼では、その表面に不働態皮膜と呼ば
れる緻密な酸化層が存在し、金属の溶出を防いでおり、環境中に酸化性物質があっ
た場合には電位の上昇が生じる。電位が隙間腐食発生電位や孔食発生電位を超えて
上昇した場合には、不働態皮膜が破壊されて腐食が生じる。

電位卑化：電位の下降のこと。特に、電位貴化を起こしたステンレス鋼材で急激な電位の卑化
が生じた場合には、不働態皮膜の破壊による腐食の発生として捉えることができる。

次世代シーケンス：21 世紀初頭に普及しだした新しい核酸塩基配列解析方法であり、超並列型
ショートリード解析と呼ばれるように、100~300 塩基対程度の短い塩基配列を同時
進行で大量に解析することで、一度の解析で 100 億塩基対を超える情報を得ること
ができる手法。この手法を用いる装置を次世代シーケンサと呼ぶ。

ナノポアシーケンサ：微小な孔（ポア）を核酸塩基が通過する際に生じる電気信号を用いて塩
基配列を決定することができる解析装置。次世代シーケンサが超並列型ショール
ード解析であるのに対して、ナノポアシーケンサは並列型ロングリード解析が可能
であり、長い核酸分子を解析できる。加えて、MinION という装置はハンディタイプ
のナノポアシーケンサであり、ノートパソコンに接続することで野外調査にも利用
可能。

メタゲノム：一生物の持つ全遺伝情報をゲノムと呼び、メタゲノムとは一試料中に存在する複
数の生物のゲノム情報を差す。例えば、腐食環境の微生物のメタゲノム解析を実施
することで、どのような微生物が存在しているかだけでなく、それらの微生物の持
つ遺伝子の種類についても情報を得ることができる。

メタトランスクリプトーム：一生物がある一時点で実際に活動させている遺伝子の種類と量の
情報をトランスクリプトームと言い、メタトランスクリプトームとは、複数の生物

種から成る集団がある一時点で実際に活動させている遺伝子の種類と量の情報のこと。例えば、一種の微生物は数千の遺伝子を持っているが、その全てが常に活動状態にあるわけではなく、特定条件でのみ活動する遺伝子も多々ある。したがって、腐食環境と非腐食環境の比較解析によって、腐食時に活動している遺伝子の特定が可能。

16S rRNA 遺伝子：全ての細菌が持っている遺伝子の1つで、タンパク質合成装置を構成する必須遺伝子であり、全世界共通のデータベース上にこの遺伝子情報が集約されており、系統分類的な微生物同定に使うことのできる遺伝子。

アンプリコンシーケンス：次世代シーケンスの手法の1つで、メタゲノム解析と異なりある特定の遺伝子領域だけを増幅させて解析する手法。16S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンスによって、ある環境中に存在する微生物の種構成を解析することが可能。

QIIME2 (微生物群集構造解析パイプライン)：16S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンスを実施すると、大量の塩基配列データが得られるが、それを1つずつ人間の手で解析することは情報量的に不可能であり、塩基配列データから微生物群集構造及び微生物多様性に関する情報をアウトプットするまでの解析を可能にしたソフトウェアの集合体。世界中の多くの微生物生態学研究者が使用している。

微生物群集構造解析：環境中には様々な微生物が混在しており、それらを網羅的に全て培養することができないので、微生物が共通して持っている遺伝子を標的としてその遺伝子配列を決定してどのような微生物がどれくらいの割合で存在しているかを解析する方法。

プライマー：核酸分子の部分配列を増幅させる技術である PCR において使用される 20 塩基程度からなる一本鎖のオリゴヌクレオチド。増やしたい遺伝子領域の両端に対応した塩基配列を持たせることで、挟み込んだ遺伝子領域を増幅することができる。

PCR：DNA は 4 種類のヌクレオチド（塩基部分が異なる）がリン酸時エステル結合により鎖状に長くつながったポリマー構造をしており、このような非常に長い生体高分子の一部を特異的に増幅する方法。耐熱性ポリメラーゼと呼ばれる酵素とプライマーを用いて連続的に反応させることで特定領域の増幅が可能。ポリメラーゼを連続的に反応させることから PCR と呼ばれる。

(培養) **基質**：微生物培養において培地成分の中でもエネルギーや炭素源として使われるものを基質と呼ぶ。例えば、グルコースなどの糖はエネルギー源や炭素源になり得るが、一部の微生物が使える鉄や硫黄といった無機物の基質はエネルギー源にしかならず、生体を構成する炭素は別から供給する必要がある。

オートクレーブ：微生物実験で頻繁に使用される高圧蒸気滅菌機のこと。一部の好熱性微生物や芽胞（微生物の卵のようなもの）を形成する微生物は煮沸では滅菌することができないので、121 °Cで 20 分程度処理することで滅菌が出来る。

(菌の) 植え継ぎ：微生物細胞は永久的には存在せず、時間と共に溶菌（細胞膜が劣化して中身が漏れ出した状態）して死んでしまうので、実験等で継続的に微生物を使用する場合には、培養物の一部を新鮮な培地に接種して、再度培養することで培養物を維持する。

This is a blank page.

