

0006

JNC TJ7440 2005-036  
~~PNC Z-11303 93-001~~

~~限定資料~~

東北日本グリーンタフ地域新第三紀玄武岩類の  
深部地質環境データ  
(地下水)

(動力炉・核燃料開発事業団 契約業務報告書)

1993年 3 月

同和鉱業株式会社

本資料の全部または一部を複写・複製・転載する場合は、下記にお問い合わせ  
してください。

〒319-1184 茨城県那珂郡東海村村松 4 番地49  
核燃料サイクル開発機構  
技術展開部 技術協力課  
電話：029-282-1122 (代表)  
ファックス：029-282-7980  
電子メール：[jserv@jnc.go.jp](mailto:jserv@jnc.go.jp)

Inquires about copyright and reproduction should be addressed to:  
Technical Cooperation Section,  
Technology Management Division,  
Japan Nuclear Cycle Development Institute  
4-49 Muramatsu, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki 319-1184, Japan

◎核燃料サイクル開発機構  
(Japan Nuclear Cycle Development Institute)  
2005

~~この資料は、動燃事業団の開発業務を進めるため、特に限られた関係者だけに  
配布するものです。ついては供覧、複製、転載、引用等を絶対に行わないよう、  
また第三者への開示又は内容漏洩がないよう厳重に管理してください。また今回  
の開示目的以外のことには使用しないよう特に注意してください。~~

~~本資料についての問い合わせは下記にお願いいたします。~~

~~〒107 東京都港区赤坂1-9-13  
— 動力炉・核燃料開発事業団 —  
— 技術協力部 技術管理室 —~~

JNC TJ7440 2005-036  
~~JNC Z-11989 93-001~~

~~限定資料~~

東北日本グリーンタフ地域新第三紀玄武岩類の  
深部地質環境データ  
(地下水)

(動力炉・核燃料開発事業団 契約業務報告書)

1993年3月

同和鉱業株式会社



東北日本グリーンタフ地域新第三紀  
玄武岩類の深部地質環境データ  
(地下水)

要 旨

本資料は、東北日本グリーンタフ地域玄武岩類の深部地質環境データ（地下水）を収集し、取りまとめたものである。

調査地は、秋田県北部に位置し、黒鉱鉱床の密集地域で地質鉱床学的に北鹿ベーズンと称されるベーズン構造のほぼ中央にあたる。黒鉱鉱床の下盤を形成する新第三紀系中新統の石英安山岩体中に掘削した試錐孔「深地花岡No. 1（深度320m）」を利用して地下水を採取し分析を行った。

採水深度の決定はコアの各種試験結果より、（深度175.0～177.0m）とした。この採水区間の地下水を500m対応パッカー式地下水サンプラー（PGS-500HQ型）を用いて連続的に採取した。

地下水のモニター観測期間中の累計採水量は60ℓである。採水区間がモニター分析結果より、掘削水による汚染が解消され、もともとその深度の地層中に存在している地下水で満たされたと判断した後、各種調査のための地下水の採取を行った。調査項目は、主要、微量成分合わせて36種の化学種分析並びに、バクテリアの存在調査として全菌数計数と生菌数計数を行った。生菌としては鉄酸化細菌、硫酸塩還元細菌、およびメタン生成細菌の菌数を計数した。また硫酸塩還元細菌は属、種の同定も行なった。さらに対象試料として、試錐孔花岡No.1の掘削時に使用した地表水に関しても同様の化学分析とバクテリア調査を行った。

採取した地下水は、pH 9.7のアルカリ性で酸素を含まないものであった。溶存化学成分の測定結果より陽イオンはCa<sup>2+</sup>(37.7)とNa<sup>+</sup>(37.7)を等しく含み、陰イオンはSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>(151.6) > Cl<sup>-</sup>(11.6)の順でそれぞれ濃度が高かった（数値の単位はmg/ℓ）。また、トリチウム分析結果から約60年前にかん養されたもので、その起源は同位体分析結果より天水起源であることが示唆された。

バクテリア調査の結果から、全菌数は3.2×10<sup>6</sup>cells/ml、生菌の鉄酸化細菌は不検出、硫酸塩還元細菌、メタン生成細菌の検出はされなかった。

本報告書は同和鉱業株式会社が、動力炉・核燃料開発事業団との契約により実施した業務の成果である。

契約番号：042A1084

事業団担当部課室：環境技術開発推進本部 地層科学研究グループ

\* 同和鉱業株式会社 資源事業本部

\*\* 同和工営株式会社 資源事業部

MARCH, 1993

Data on the Deep Basaltic Rocks  
in the Green Tuff Region of Northeast Japan.  
(Ground Water)

Abstract

This paper presents geochemical and bacteria data of ground water obtained from the interval of 175.0 m to 177.0 metre in the deep drill hole.

The studied area is located in the Northwestern margin of the Hokuroku basin, northern part of Akita. Miocene basaltic rocks, formed prior to the formation of Kuroko deposit, was bored. Drilled basaltic has been affected moderately by hydrothermal alteration. After approximately 60 litter of ground water was taken out, the sampling for geochemical and bacteria analysis was conducted using PGS-500 HQ TYPE SAMPLER. Analyses of thirtyfour main and minor chemical species and bacteria, total bacteria counting and live bacteria numbers, were performed.

The ground water analysed showed the characteristics of pH 9.7 and annerobic. The main cations and anion were as follows;

Cations : Na<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>

Anions : SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup>

Isotopic analyses suggested that the ground water analysed was possibly isolated for a long period from hydrosphere surrounded.

Bacteria analysis showed bacteria in the water consist of iron-oxidizing bacteria, sulfate-reducing bacteria, and methanogenic bacteria. Total bacteria number accounts for a  $3.2 \times 10$  cells / ml. Live bacteria of iron-oxidizing ones, methanogenic ones and sulfate-reducing ones are not detected, respectively.

This suggested bacteria of the river have not incorporated into the ground water.

---

The work was performed by Dowa Mining Co., LTD. under contract with Power Reactor and Nuclear Fuel Development Corporation.

PNC Liaison : Geosciences Research Program

Radioactive Waste Management Project

( )

\* Dowa Mining Co., LTD. Mineral and Energy Resources Department .

\*\* Dowa Engineering Co., LTD Geoscience Consulting Division

## 目 次

1. 資料調査概要	1
1.1 調査件名	1
1.2 調査目的	1
1.3 資料調査位置および岩種	1
1.4 資料取りまとめ期間	1
1.5 資料調査項目	1
1.6 資料担当調査者	1
2. 調査概要	4
2.1 採水区間の決定	4
2.2 採水作業	4
2.3 試料採取	5
2.3.1 O <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , He, H <sub>2</sub> , CO, CH <sub>4</sub> , ΣCO <sub>2</sub> の定量用試料	
2.3.2 Fe <sup>2+</sup> , S <sup>2-</sup> の定量用試料	
2.3.3 TOCおよびフミン、フルボ酸の定量用試料	
2.3.4 Na, K, Li, Ca, Mg, Sr, Al, Total-Fe, Mnの定量用試料	
2.3.5 F, Cl, Br, I, SO <sub>4</sub> , P, N, Siの定量用試料	
2.3.6 δ <sup>18</sup> O, δD, <sup>3</sup> Hの分析用試料	
2.3.7 バクテリア調査用試料	
2.3.7 (1) 地下水	
2.3.7 (2) 河川水	
3. 化学分析の方法および結果	16
3.1 化学分析の方法	16
3.1.1 モニター期間における各項目の測定方法	
3.1.1 (1) 水温, pH, 電気伝導度, 酸化還元電位の測定	
3.1.1 (2) 各種化学成分のモニター分析	
3.1.2 地下水の化学分析方法	
3.1.2 (1) 溶存窒素	
3.1.2 (2) 溶存酸素	
3.1.2 (3) 水素、ヘリウム	
3.1.2 (4) メタン	
3.1.2 (5) 一酸化炭素	
3.1.2 (6) 二酸化炭素	
3.1.2 (7) ヘッドスペース法による各種溶存気体濃度の計算方法	
3.1.2 (8) 全有機性炭素(TOC)	
3.1.2 (9) Fe <sup>2+</sup> およびTotal-Fe	
3.1.2(10) 硫化物イオン	
3.1.2(11) F, Cl, Br, I, SO <sub>4</sub>	
3.1.2(12) Na, K, Li, Ca, Mg, Sr, Al, Mn, Total-Fe	
3.1.2(13) P, Total-P, NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> , Total-N	
3.1.2(14) Si	
3.1.2(15) フミン酸およびフルボ酸	
3.1.2(16) ウラニン	

3.1.3 同位体分析方法	
3.1.3 (1) $\delta D$	
3.1.3 (2) $\delta^{18}O$	
3.1.3 (3) トリチウム	
3.2 化学分析の結果 .....	34
3.2.1 モニター期間中測定結果	
3.2.1 (1) 水温	
3.2.1 (2) pH	
3.2.1 (3) 電気伝導度	
3.2.1 (4) 酸化還元電位	
3.2.1 (5) 陽イオン	
3.2.1 (6) 陰イオン	
3.2.1 (7) モニター分析のまとめ	
3.2.2 地下水の化学成分分析結果	
3.2.2 (1) 化学分析結果	
3.2.2 (2) 同位体分析結果	
3.2.2 (3) イオンクロマトグラフィーによる陽イオンの定量	
4. バクテリア分析の方法および結果 .....	48
4.1 バクテリアの調査方法 .....	48
4.1.1 調査フローシート	
4.1.2 全菌数計数	
4.1.3 生菌数計数	
4.1.3 (1) 鉄酸化細菌	
4.1.3 (2) 硫酸塩還元細菌	
4.1.3 (3) メタン生成細菌	
4.1.4 硫酸塩還元細菌の同定	
4.1.4 (1) 分離および純粋化	
4.1.4 (2) 同定	
4.2 バクテリア調査結果 .....	64
4.2.1 種々細菌数計数結果	
4.2.2 硫酸塩還元細菌の同定結果	
4.2.2 (1) 属の同定	
4.2.2 (2) 種の同定	
5. 考察 .....	71
5.1 地下水の年代 .....	71
5.2 地下水の同位体比 .....	72
5.3 地下水における酸化還元状態 .....	72
5.4 地下水の化学成分 .....	73
5.5 バクテリア調査結果に関する考察 .....	77
5.5.1 全菌数について	
5.5.2 鉄酸化細菌について	
5.5.3 硫酸塩還元細菌について	
5.5.4 メタン生成細菌について	
5.5.5 バクテリア調査のまとめ	
6. 参考文献 .....	81

## 本文付図目次

第1-1図	調査位置図	2
第2-1図	地下水試料の採取から分析までの概略	6
第2-2図	河川水試料の採取から分析までの概略	7
第2-3図	ガラス製ガス採取管の概略	9
第2-4図	地下水試料におけるヘッドスペース測定試料調整方法の概略	10
第2-5図	河川水試料におけるヘッドスペース測定試料調整方法の概略	11
第2-6図	TOCおよびフミン、フルボ酸定量用試料の採取までの操作概略	12
第2-7図	Na, K, Li, Ca, Mg, Sr, Al, Total-Fe, Mn定量用試料の採取までの操作概略	13
第2-8図	F, Cl, Br, I, SO <sub>4</sub> , P, Si定量用試料の採取までの操作概略	14
第2-9図	NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> 定量用試料の採取までの操作概略	14
第3-1図	モニター期間における水温, pH, 電気伝導度, 酸化還元電位測定の操作概略	16
第3-2図	吸光光度法による溶存酸素の定量操作概略	19
第3-3図	水中メタン分析装置の概略	20
第3-4図	非分散型赤外線吸収による炭酸ガス測定装置の概略	22
第3-5図	Fe <sup>2+</sup> の定量操作概略	25
第3-6図	Total-Feの定量操作概略	25
第3-7図	アンモニウムイオン定量におけるオートアナライザーのフローシート	28
第3-8図	硝酸・亜硝酸イオン定量におけるオートアナライザーのフローシート	28
第3-9図	リン酸イオン定量におけるオートアナライザーのフローシート	29
第3-10図	全窒素の定量における分解操作概略	29
第3-11図	全リンの定量における分解操作概略	29
第3-12図	ICPによるSiの定量操作概略	30
第3-13図	比色(モリブデン黄法)によるSiの定量操作概略	30
第3-14図	フミン・フルボ酸の定量操作概略	31
第3-15図	フミン酸の精製方法操作概略	32
第3-16図	モニター期間における水温, pH, 酸化還元電位, 電気伝導度の測定結果	40
第3-17図	モニター化学成分測定結果(その1 Si, Na, Ca, Mg)	42
第3-18図	モニター化学成分測定結果(その2 F, Cl, HCO <sub>3</sub> , 尿素)	43
第4-1図	バクテリア調査フローシート	48
第4-2図	二重皿培養法における試料接種手順の概略	51
第4-3図	硫酸塩還元細菌の分離および純粋化フローシート	56
第4-4図	走査型電子顕微鏡(SEM)観察試料の調製手順	58
第4-5図	グラム染色の手順	59
第4-6図	鞭毛染色の手順	60
第4-7図	キノン分析操作の概略	63
第4-8図	DNAの抽出・精製からGC含量測定までの手順概略	64
第4-9図	属の同定手順	68
第4-10図	河川水試料から純粋分離した硫酸塩還元菌の走査電子顕微鏡写真	66
第5-1図	秋田県における天水のδDとδ <sup>18</sup> Oの関係	69
第5-2図	地下水の陰イオン-陽イオン当量の帯グラフ	71
第5-3図	河川水, 地下水のトリリニアダイアグラム	73



## 本文付表目次

第1-1表	試料調査項目	3
第2-1表	各種調査のための採水容量	5
第3-1表	水温, pH, 電気伝導度, 酸化還元電位の測定方法および誤差	16
第3-2表	各種化学成分のモニター分析方法	17
第3-3表	炭酸塩平衡におけるPK1, PK2の値	21
第3-4表	淡水中の $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{HCO}_3^-$ , $\text{CO}_3^{2-}$ のモル百分率	22
第3-5表	水に対する気体の溶解度 (Bunsen吸収係数 $\alpha$ )	23
第3-6表	$\text{IO}_3^-$ の測定条件	26
第3-7表	比較電極の電位	34
第3-8表	モニター測定結果	35
第3-9表	測定値の統計計算結果	39
第3-10表	本調査における水温, pH, 酸化還元電位, 電気伝導度の測定結果	39
第3-11表	モニター化学成分分析結果	41
第3-12表	各種炭酸化学種の濃度算出のための計算	44
第3-13表	地下水および河川水の化学分析結果一覧	45
第3-14表	地下水および河川水のイオンバランス	46
第3-15表	地下水および河川水の同位体分析結果一覧	46
第3-16表	イオンクロマトグラフィーによる陽イオンの定量結果	47
第4-1表	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i> 計数用培地	52
第4-2表	硫酸塩還元細菌計数用培地	52
第4-3表	メタン生成細菌計数用培地	53
第4-4表	ビタミン混液の組成 (メタン生成細菌用)	54
第4-5表	微量元素溶液の組成 (メタン生成細菌用)	54
第4-6表	硫酸塩還元細菌の純粋化における混在菌 (群) の判定	57
第4-7表	基質資化性 (生育に利用する炭素源) 試験の概要	61
第4-8表	光合成紅色非硫黄細菌用培地	62
第4-9表	光合成硫黄細菌用培地	62
第4-10表	微量元素溶液の組成 [光合成細菌用]	63
第4-11表	ビタミン混液の組成 [光合成細菌用]	63
第4-12表	種々細菌数計数結果	67
第4-13表	硫酸塩計数時(MPN5本法)の陽性本数	67
第4-14表	形態、生理および遺伝学的試験結果一覧	70
第5-1表	窒素化合物にかんする酸化還元電位	70
第5-2表	地下水と河川水のデータの比較	77
第5-3表	全菌数計数値と水質の対比	80
第5-4表	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i> の一般的特性	82
第5-5表	主なメタン生成細菌の性状	83

## 1. 資料調査概要

### 1.1 調査件名

東北日本グリーンタフ地域新第三紀玄武岩類の地質環境データ（地下水）の購入

### 1.2 調査目的

我国の高レベル放射性廃棄物地層処分システムの性能評価と概念設計に資す地質環境モデルデータセット整備のため、秋田県大館地区同和鉱業（株）所有鉱区内における玄武岩帯中の地下水の水質的特性等に関し調査するものである。

### 1.3 資料調査位置および岩種

位 置：秋田県大館市花岡町字大吉沢78-5（同和鉱業株式会社所有鉱区内）

調査位置図を第1-1図に示す。

岩 種：第三紀玄武岩

### 1.4 資料取りまとめ期間

自・平成5年2月8日～至・平成5年3月16日

### 1.5 資料調査項目

調査項目を第1-1表に示す。

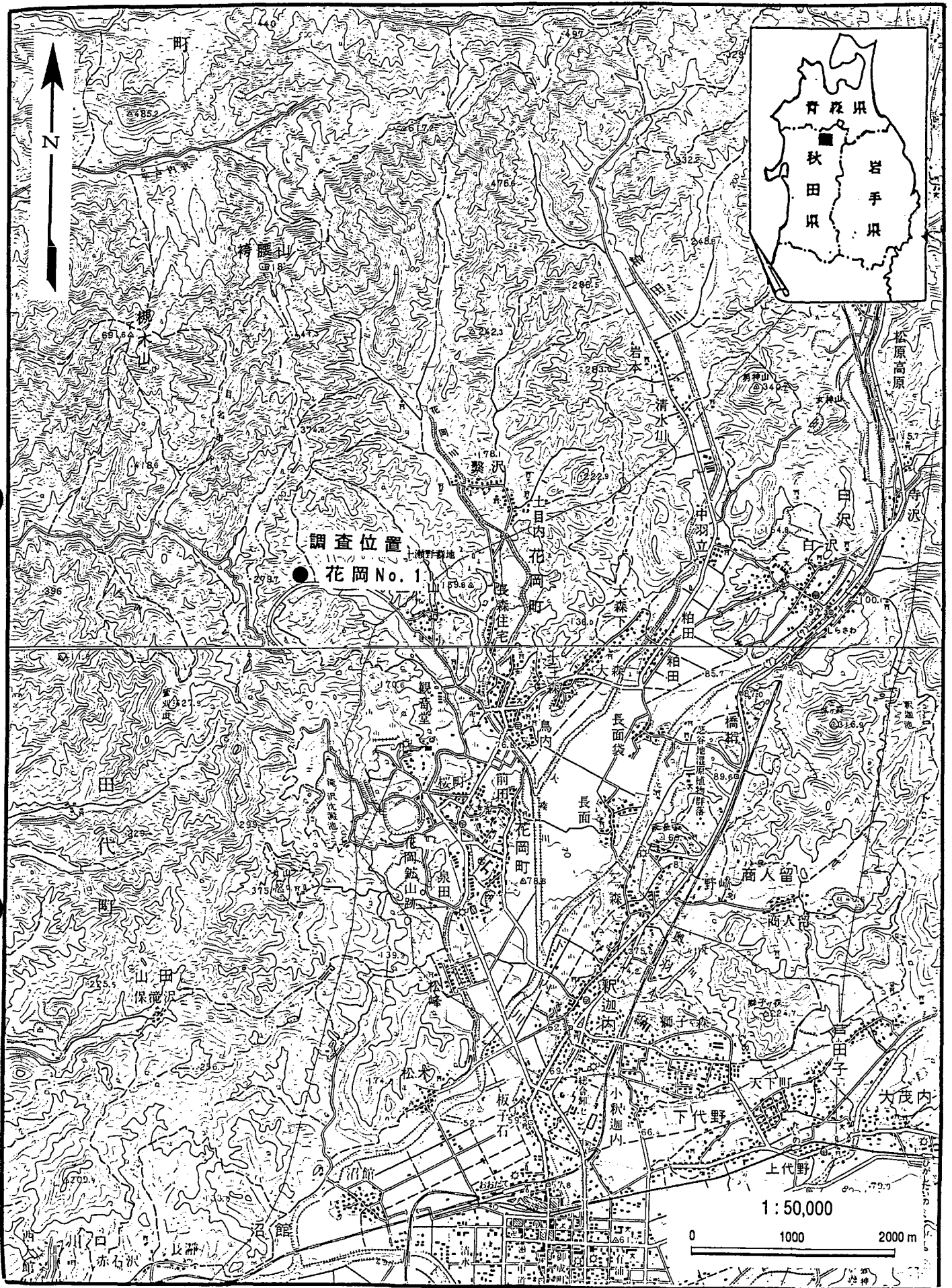
### 1.6 資料担当調査者

総 括	■■■■	*
主任技術者	■■■■	**
事務調整	■■■■	*
現場代理人	■■■■	**
調査・測定および報告書の担当者		
全 般	■■■■	**
化学分析	■■■■	**
バクテリア	■■■■	**

---

\* : 同和鉱業株式会社 資源事業本部

\*\* : 同和工営株式会社 資源事業部



第 2 図 調査地点位置図

第1-1表 資料調査項目

<p>モニター用分析*1</p>	<p>掘削水による汚染の影響が皆無な地下水がパッカー間に満たされていると判断するために採水開始時と、採水量がパッカー間容量（6ℓ）毎に以下の化学成分について分析を行う。          Si, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>, ウラニン          また現場でサンプラー回収後毎に以下の項目に関して連続測定する。          温度, pH, 電気伝導度, 酸化還元電位</p>
<p>化学成分の測定*2</p>	<p>O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, He, CH<sub>4</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, TOC, アミン酸, フルボ酸,          Si, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, T-Mn, Mn<sup>2+</sup>,          T-Fe, D-Fe, Fe<sup>2+</sup>, ウラニン          HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, S<sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>          NO<sub>2</sub><sup>2-</sup>, IO<sub>3</sub><sup>-</sup>, <sup>3</sup>H, δD, δ<sup>18</sup>O</p>
<p>バクテリアの調査*3</p>	<p>1. 全菌数計数          2. 特定バクテリアの存在調査            a) 鉄酸化細菌            b) 硫酸塩還元細菌            c) メタン生成細菌          3. 硫酸塩還元細菌の同定</p>

\*1：モニター用分析は(株)大館分析センターにて実施

\*2：<sup>3</sup>H, δD, δ<sup>18</sup>Oの分析は(株)三菱マテリアル中央研究所にて実施

\*3：同和工営株式会社柵原研究所にて実施

## 2. 調査概要

### 2.1 採水深度の決定

採水深度の決定は、試錐孔深地花岡No.1(孔底深度322.60m)においてなされた各種コア試験結果(PNC ZJ1303 92-003(1))に基づき深度175.0~177.0mとした。コア試験の調査概要は以下の通りである。

測定深度(m)	測定区間長(m)	地質	間隙水圧 (kgf/cm <sup>2</sup> )	透水係数 (cm/sec)
175.00 ~176.60	1.70	含ヒロブレッチャ- 玄武岩溶岩	1.250	$9.98 \times 10^{-4}$

### 2.2 採水作業

採水装置は500m対応パッカー式地下水サンプラーを使用し、その手順書「パッカー式地下水サンプラー (PGS-500NQU, HQ型) の製作 (PNC SJ4411 898-001)」に基づき採水を行った。すなわち、サンプリングカプセルにステンレスロッドをつなぎ、175.0m~177.0mに採水区間が設置されるように試錐機を用いて降下させた。次にラバーパッカーを水により加圧膨張させて採水区間外からの地下水の流入を遮断した。

採水容器を備えた地下水サンプラー (容量500m<sup>3</sup>) を減圧し、電動ウインチにより地下水サンプラーをサンプリングカプセルまで降下させた。サンプリングカプセルに着底後、一定時間 (10分~20分) 放置し地上に引き上げた。

なお、採水区間 (175.0m~177.0m) の容積は以下の様に計算した。

#### 採水区間の容量計算方法

A: パッカー間容積 (孔内の空間容量)

$$5 \times 5 \times 3.14 \times 200 = 15,700 \text{ cm}^3$$

B: バットシステム容積 (システム外枠排水量)

$$4.45 \times 4.45 \times 3.14 \times 200 = 12,400 \text{ cm}^3$$

C: バットシステム水の入る所の容積

$$4.45 \times 4.45 \times 3.14 \times 30 = 2,000 \text{ cm}^3$$

よってパッカー間に存在する水の容量(DEAD VOLUME)は次式によって計算することができる。

$$\text{DEAD VOLUME} = A - B + C$$

$$\therefore 15700 - 12400 + 2000 = 5300 \text{ cm}^3$$

ここで、計算値は5.3ℓになるが採水作業の計算等を簡潔にするため6ℓとした。

パッカー区間を満たしている地下水の容量を6ℓとし、採水開始時から6ℓ毎に、モニター化学分析を行った。水温、pH、電気伝導度、酸化還元電位の連続測定結果および、モニター化学分析の結果が安定し、もともとその深度の地層中に存在している地下水でパッカー間を満たされていると判断されるまでこの作業を繰り返し、連続的に地下水を採取した。なお、本試験では120回(約60ℓ)の採水を地下水モニター期間とし、その後の採水作業によって化学分析およびバクテリア調査用試料として採取した。各種調査における採水容量を第2-1表に示す。

第2-1表 各種調査のための採水容量

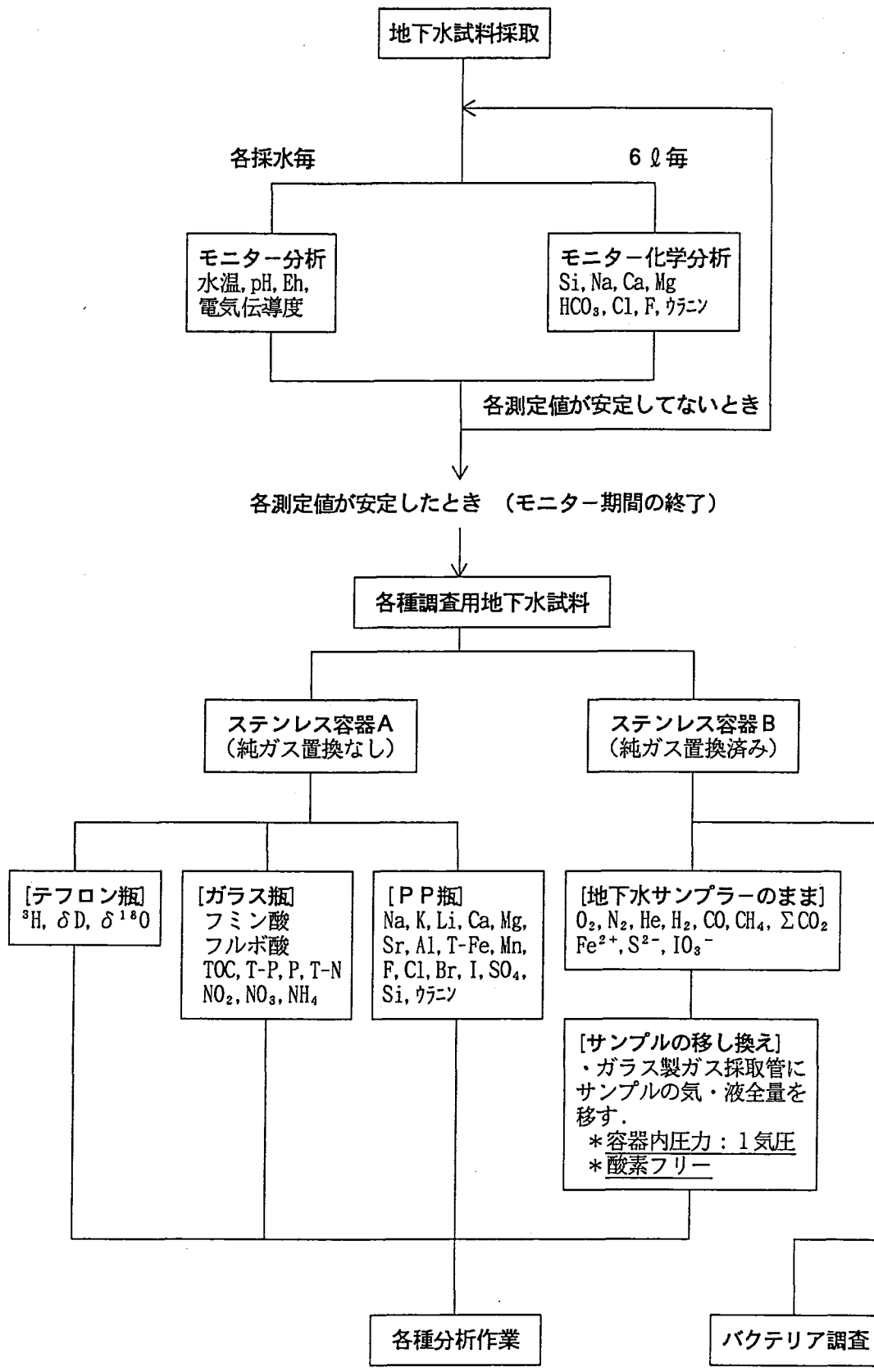
項目	総採水量(ℓ)	主な内訳
モニター用分析 化学成分の測定	60 12.5	溶存気体 2.5ℓ 同位体 5.0ℓ その他 5.0ℓ 予備 2.0ℓ
バクテリアの調査	5.5	分析用 (4+1.5)ℓ

### 2.3 試料採取

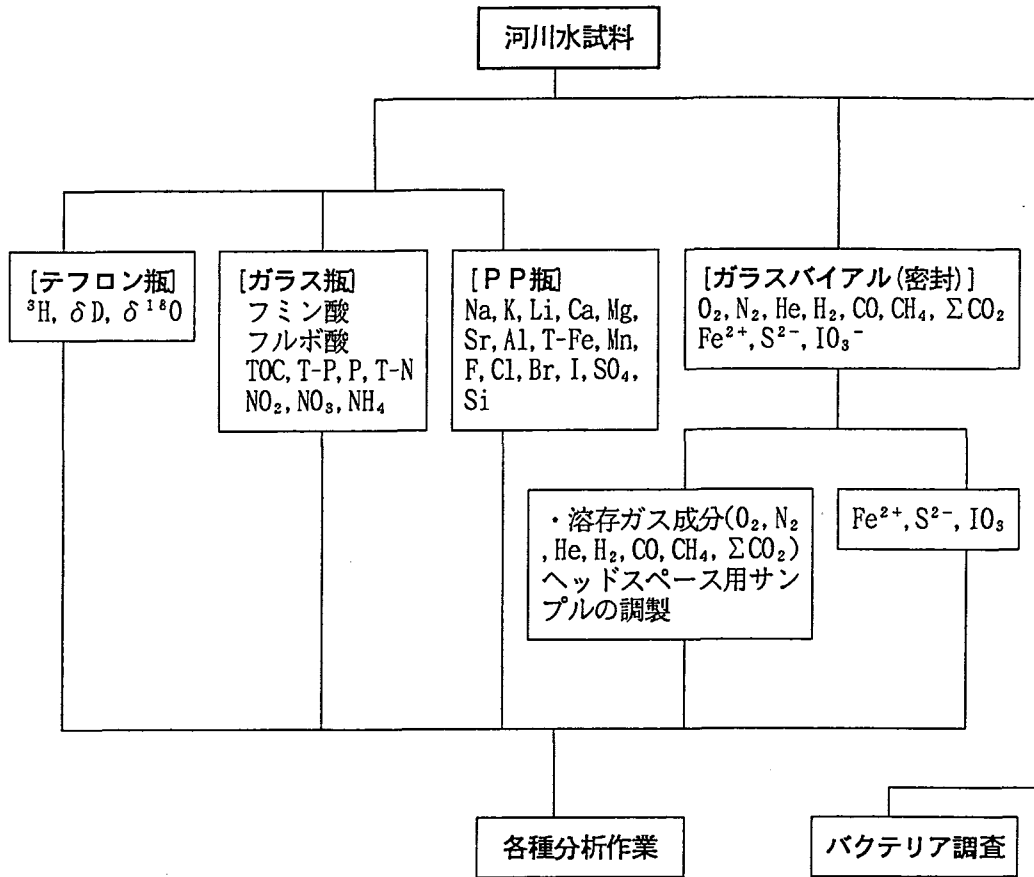
地下水の採取には、内部圧力を十分に保持できるステンレス製の地下水サンプラーを使用した。モニター期間における採水は地下水サンプラーを減圧し使用した。一方、化学分析およびバクテリア調査のための採水は地下水サンプラーを可能な限り減圧しても大気の影響を無視することは出来ず結果に誤差を生じさせる可能性がある。従って、あらかじめ地下水サンプラー内部を任意の高純度不活性ガス(99.999%以上)により置換し、ステンレス容器内への大気の影響を防いだ。ガスクロマトグラフィーによる各種溶存気体の定量の観点から、 $N_2$ 、 $O_2$ の定量用サンプルにはHeガスを用い、その他の成分の定量用サンプルは、Arガスによりパージした。なお、パージ操作は5回連続で行った。

溶存ガスおよび $Fe^{2+}$ 、 $S^{2-}$ の測定に供する試料水(地下水)は、地下水サンプラー容器のまま氷冷保存(約2℃)して実験室に持ち帰った。その他の分析に供する試料水(地下水)は原則としてポリプロピレン製容器あるいはガラス製バイアルに分注し、氷冷保存して実験室に持ち帰った(第2-1図参照)。なお、各試料の分注に伴う共洗い回数は同位体分析用試料除き3回程度行った。

河川水の採取には、特別な手法および採水容器は使用しなかった。ただし、溶存ガス成分については、先端にゴム管を付けたディスポーザブルシリンジ(50mℓ容)に河川水を採取し、ゴム管をバイアル瓶の底部まで差し込み、試料水をオーバーフローさせながら採取した。いずれの容器に採取した河川水試料とも地下水試料と同様に氷冷保存し持ち帰った(第2-2図参照)。



第2-1図 地下水試料の採取から分析までの概略



第2-2図 河川水試料の採取から分析までの概略



### 2.3.1 O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, He, H<sub>2</sub>, CO, CH<sub>4</sub>, ΣCO<sub>2</sub>の定量用試料

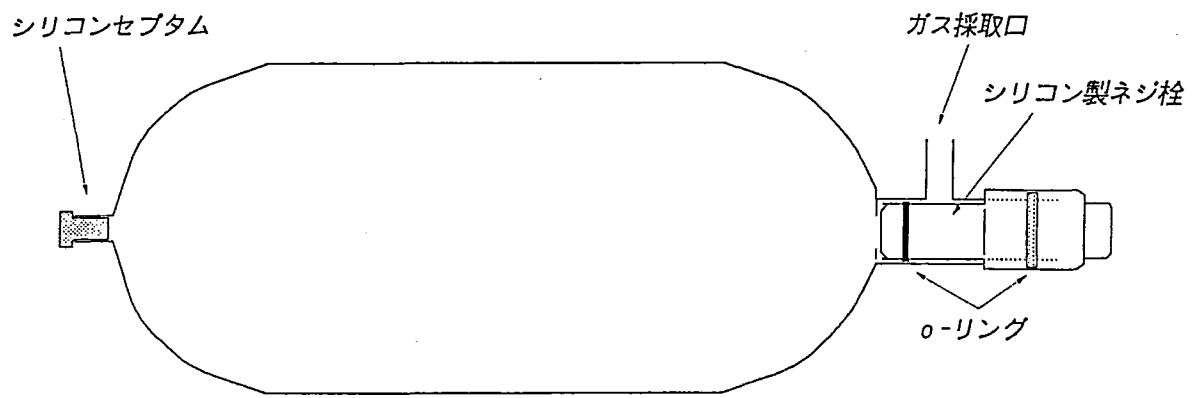
地下水サンプラーにより採取した地下水試料は、第2-3図に示すようなガラス製ガス採管（1ℓ容量）に全量を移し、その後各分析に供試した。ステンレス製採水容器からガラス製ガス採取管に地下水試料を移す手順は以下のように行った。

- 1) ガラス製ガス採取管について真空引きおよび任意の純ガス充填を5回繰り返し、容器内部を完全に任意ガスに置換した後に、容器内部を真空にした。このときの容器内部の圧力は約 -750 mmHg（デジタルマノメータの指示値による）であった。
- 2) 1)で得られたガラス製ガス採取管とステンレス製採水容器を注射針で連結し、ステンレス製採水容器内部の液相と気相をガラス製ガス採取管に移行させた（第2-4図 参照）。さらに、両者を連結させた状態のまま、ステンレス製採水容器に任意のガスを充填したテドラバックを注射針により連結し、ステンレス製採水容器内部の気相を全てガラス製ガス採取管に移した。なお、このときのガラス製ガス採取管内の圧力は常圧であった。
- 3) 試料に塩化第2水銀溶液（1 w/v%）を2ml加えて生物活性を停止させた。  
ここで使用した任意ガスは酸素、窒素ガス測定用にはヘリウムを使用し、水素、ヘリウム、一酸化炭素ガスおよびメタンガス測定用には窒素ガスを使用した。試料採取後から36時間以内に上記作業を完了した。

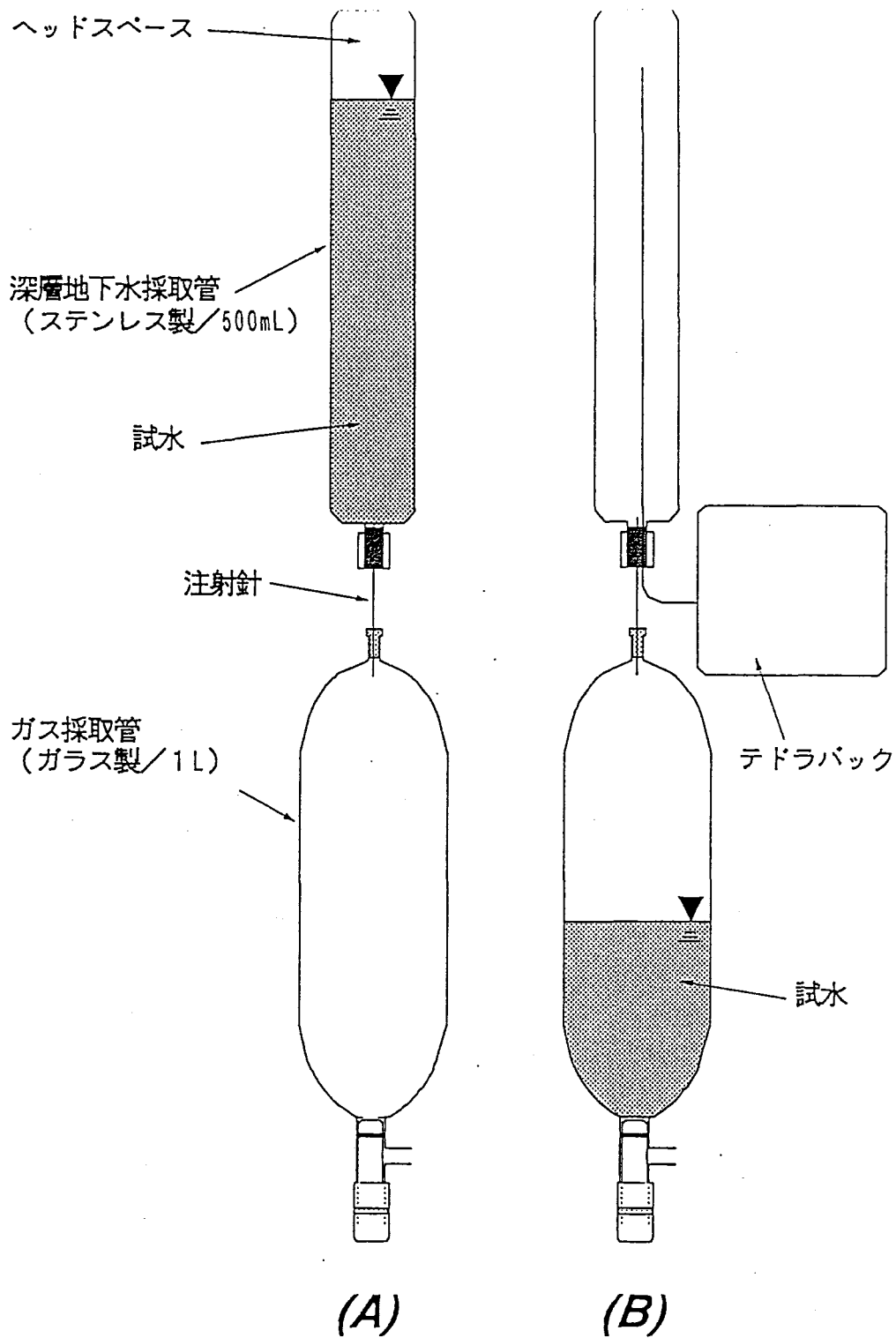
河川水試料は、ブチルゴム栓付きのガラス製バイアル瓶（120ml容）にヘッドスペースを残さないように採取し、さらにアルミシールを施して密封した。このバイアル瓶試料に注射器により塩化第2水銀溶液（1 w/v%）を添加し、生物活性を停止させ水冷保存して持ち帰った。得られた試料水をシリンジにより採取し、別に任意のガス置換を行い、減圧状態（-200~-300mmHg）にしたバイアル瓶（120ml）に約30~40ml分注し、その後、必要があればテドラバックを用いて任意のガスを充填しバイアル瓶内の圧力を1気圧に戻した。この作業のうち、試料水をシリンジで採取する際には、バイアル瓶内が減圧状態にならないように、液層と気層を分離し外部からの空気の汚染を防ぐためにN-ヘキサン（CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>）を緩やかに注入させるような仕組みをとった（第2-5図参照）。

採取した試料水の分だけヘキサンを注入する方法は、メタン測定器において密封バイアル瓶から試料水を自動採取するときに応用している（項目3.1.2参照）。ここで水層とヘキサン層を無攪拌状態に保持し、両層の接触面積を極力制限したときの水層からヘキサン層へのメタンの移行は1時間以内の接触では4%以下である。したがって、他の無機ガスにおけるヘキサン-水系における分配係数および水に対する吸収係数は、メタンとほぼ同程度であることから、いずれのガス成分においてもヘキサン層へのガス成分の移行は無視できるものと考えられる。河川水試料について、上記作業を試料採取後約36時間以内に完了した。

以上の様に調製した地下水、河川水試料を、酸素、窒素、ヘリウム、水素、一酸化炭素、全炭酸、メタンの各測定に供試した。

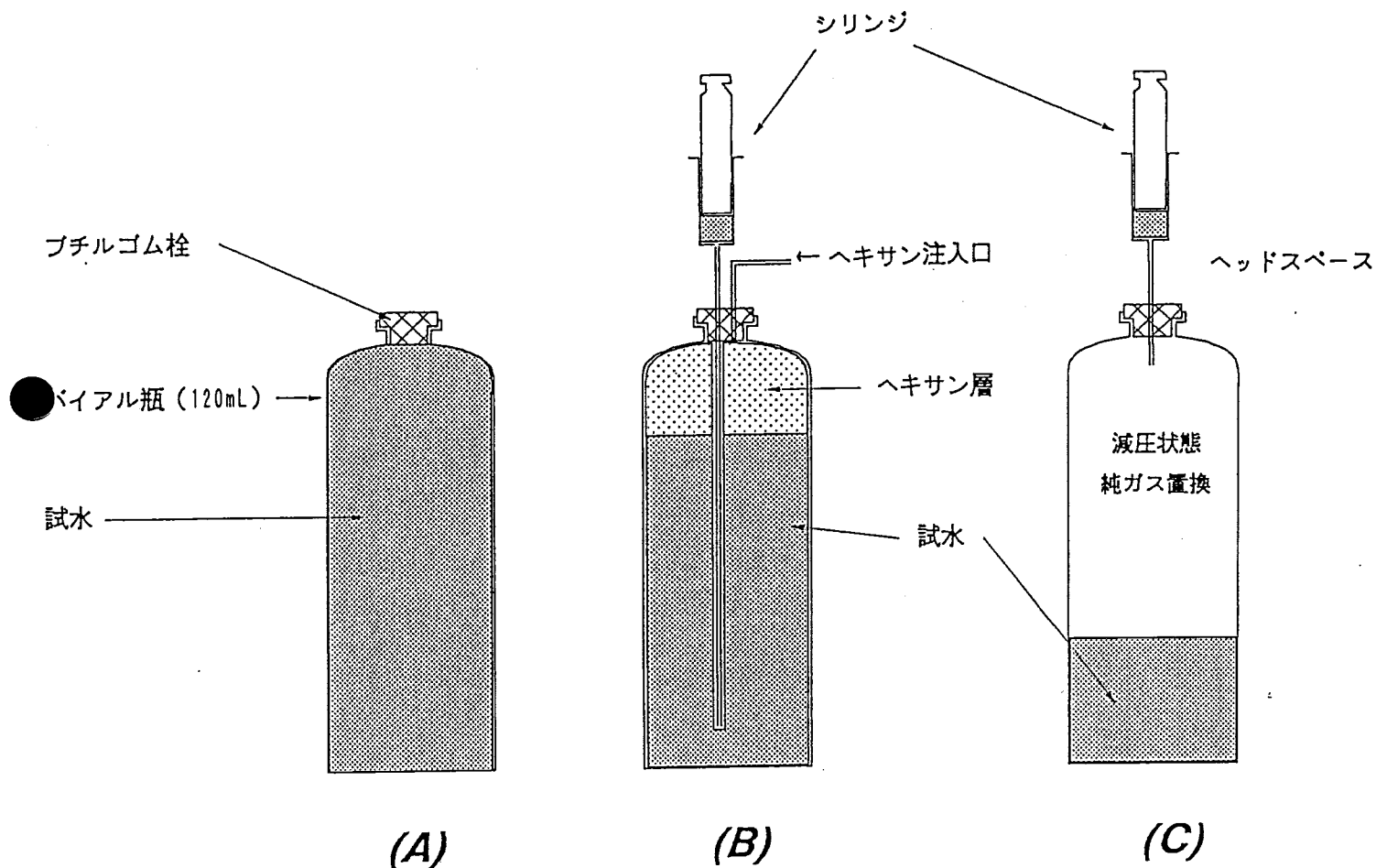


第2-3図 ガラス製ガス採取管の概略  
(採取容量：約1ℓ)



第2-4図 地下水試料におけるヘッドスペース測定試料調整方法の概略

- (A) 深層地下水を汲み上げたステンレス製採水容器は10気圧程度の加圧状態である。一方ガラス製採取容器は任意の純ガスにより置換した後に減圧に保持した。これらの容器を注射針で連結すると試料水およびヘッドスペース中のガスが移行する。
- (B) 試料水およびガスがある程度移行し、両容器の圧力が等しくなった時点(減圧状態)でテドラバックにより任意の純ガスをステンレス製採取容器に導入する。この作業によりステンレス製採取容器内の試料ガスのほとんどがガラス製ガス採取容器へ移行し、同時に全ての系が常圧に戻る事になる。



第2-5図 河川水試料におけるヘッドスペース測定試料調整方法の概略

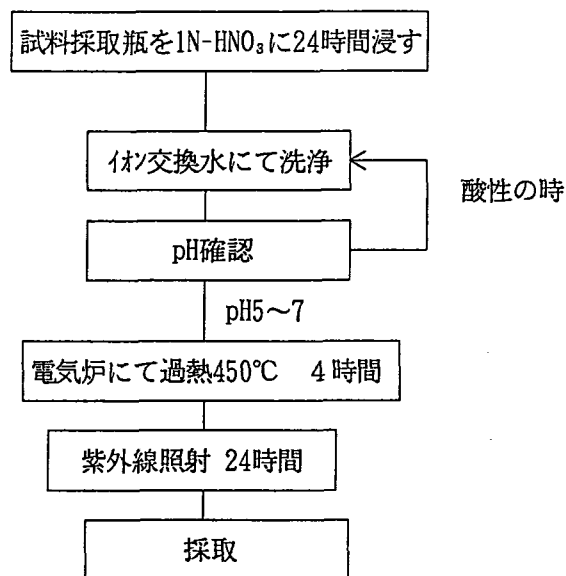
- (A) 河川水を採取したバイアル瓶
- (B) (A) から注射器により試料を採取する。このとき採取した試料と等容量のヘキサンを (A) に充填することによりバイアル瓶内にヘッドスペースを作らないようにする。
- (C) 任意の純ガスにより置換し減圧状態にした別のバイアル瓶に、注射器により採取した試料水を注入する。このときのバイアル瓶内の圧力は常圧 (大気圧) である。

### 2.3.2 $\text{Fe}^{2+}$ , $\text{S}^{2-}$ , $\text{IO}_3^-$ の定量用試料

深層地下水における溶存態還元物質（酸素による汚染により、化学種が大きく変わる成分）の測定に供する試料は、原則としてステンレス製地下水サンプラーのまま実験室に持ち帰り、その後、注射器（20mℓ）により採取して分析作業に供した。なお、地下水試料の採取および試料保存は溶存ガス成分と同様である。河川水試料の採取は溶存ガスの場合と同様に行った。

### 2.3.3 TOCおよびフミン、フルボ酸の定量用試料

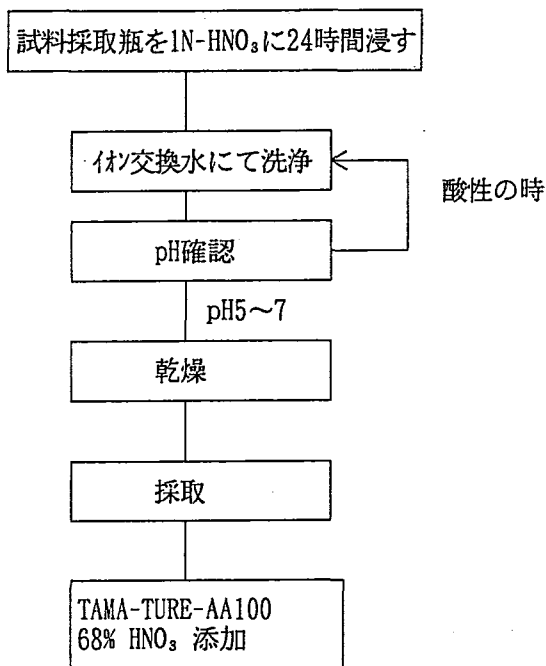
深層地下水および河川水ともに、酸処理、熱処理（450℃、4時間）および紫外線照射を施したスクリーキャップ付きバイアル瓶にできるだけ空気が残らないように分注し、氷冷保存して実験室に持ち帰った。TOCおよびフミン、フルボ酸の定量用試料の採取までの操作概略を第2-6図に示す。



第2-6図 TOCおよびフミン、フルボ酸の定量用試料の採取までの操作概略

### 2.3.4 Na, K, Li, Ca, Mg, Sr, Al, Total-Fe, Mnの定量用試料

深層地下水および河川水ともに、酸処理をしたポリプロピレン製容器に分注し、最終濃度として1 (v/v%) になるように精密分析用硝酸を添加した後に氷冷保存して実験室に持ち帰った。Na, K, Li, Ca, Mg, Sr, Al, Total-Fe, Mnの定量用試料採取までの操作概略を第2-7図に示す。

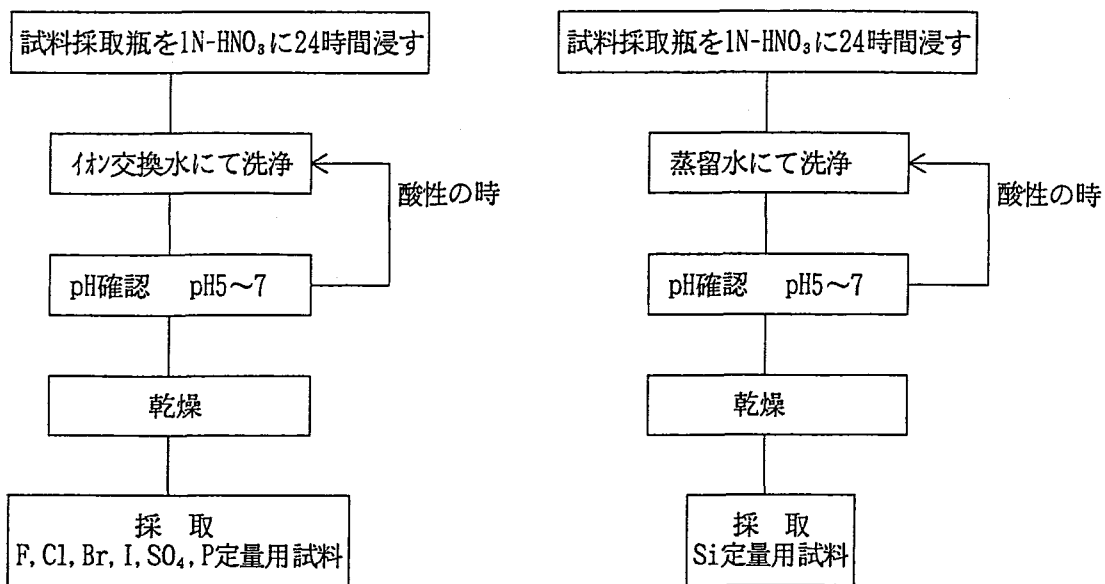


第2-7図 Na, K, Li, Ca, Mg, Sr, Al, Total-Fe, Mnの定量用試料試料の採取までの操作概略

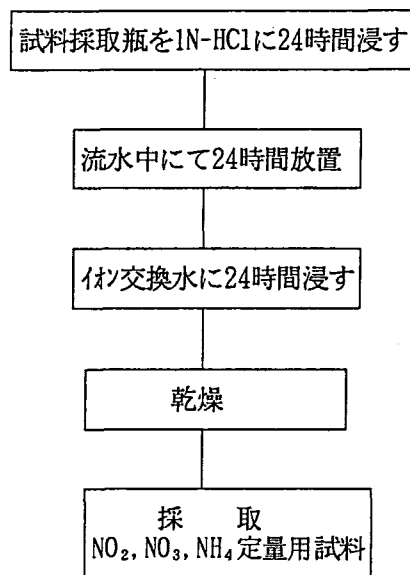
### 2.3.5 F, Cl, Br, I, SO<sub>4</sub>, P, N, Siの定量用試料

深層地下水および河川水ともに、酸処理したポリプロピレン製容器に分注し、氷冷保存して実験室に持ち帰った。なお、いずれの試料においても、懸濁物質濃度が極めて低かったので、ガラスファイバーフィルターあるいはメンブランフィルター等による濾過は行わずに分析に供試した。

なお、P分析用試料に関しては、ガラス製バイアル瓶に採取した。またSi分析用試料瓶の洗浄には、蒸留水を用いた。これはイオン交換樹脂からのコンタミネーションを考慮したためである。また、窒素化合物(NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>) 定量用試料の採取容器に関しては、塩酸によって洗浄し、24時間流水中に放置した後、イオン交換水にて洗浄、乾燥を行ったガラス製瓶に採取した。各項目における試料の採取までの操作概略をそれぞれ第2-8, 2-9図に示す。



第2-8図 F, Cl, Br, I, SO<sub>4</sub>, PおよびSiの定量用試料の採取までの操作概略



第2-9図 NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>定量用試料の採取までの操作概略

### 2.3.6 <sup>3</sup>H, δD, δ<sup>18</sup>Oの分析用試料

深層地下水および河川水ともに、36時間1N有害金属測定用塩酸に浸したテフロン製広口瓶をイオン交換水によりよく洗浄し乾燥器によって乾燥したものに採取した。各成分における採取量それぞれ、<sup>3</sup>Hで5ℓ、δDおよびδ<sup>18</sup>Oは合計0.5ℓである。また、同位体分析用試料採取における各採取瓶の共洗いは瓶容量の約10%程度の試料水で各々5回行った。

## 2.3.7 バクテリア調査用試料

### 2.3.7 (1) 地下水

地下水は、オートクレーブ滅菌済みの地下水サンプラーにより採取した。地下水採取に際して地下水サンプラーは、減圧（真空引き）およびアルゴンガス（純度99.99999%以上）充填を繰り返し、内部を完全に窒素ガスに置換してから使用した。

#### 1) 全菌数計数用試料の採取

地下から採取した試料を、現場においてシリンジにより地下水サンプラーから抜き出し、ポリプロピレン製瓶に分注した。その後、直ちに中性ホルマリン（ホルマリンにホウ酸ナトリウムを30 g/l 添加して使用）を2%になるように添加し、冷暗所に保存して持ち帰った。このとき使用したポリプロピレン製瓶は、オートクレーブ滅菌後、無菌水(0.2 μm以下)で洗浄したものを使用した。

#### 2) 生菌数計数用試料の採取

採水管により採取した試料は、採水管のまま氷冷保存（約2℃）し運搬した。持ち帰った採水管からシリンジにより試料を採取し、各細菌の存在調査に供試した。

### 2.3.7 (2) 地表水

#### 1) 全菌数計数用試料の採取

地下水と同様に無菌処理を施したポリプロピレン製瓶に試料を直接採取した。その後、直ちに中性ホルマリンを2%濃度となるように添加し、冷暗所に保存して持ち帰った。

#### 2) 生菌数計数用試料の採取

滅菌済みバイアルに直接採取し、空気が残らないように滅菌済みシリコン栓で密封し、アルミシールを施した後、氷冷保存して実験室へ持ち帰り、各細菌の存在調査に供試した。



### 3. 化学分析の方法および結果

#### 3.1 化学分析の方法

##### 3.1.1 モニター期間における各項目の測定方法

500m対応パッカー式地下水サンプラーを孔内に設置後、掘削水により汚染された地下水をパッカー間から除くためにモニター期間を設け連続的に地下水を採取した。この作業は、モニター分析結果の各測定項目の値が安定を示し、パッカー間がもともとその地層中に存在していた地下水で満たされていると判断されるまで行った。

採取した地下水は直ちに、アルゴンガス(99.99999%)で満たされたグローブバック内で分注し、水温、pH、電気伝導度、酸化還元電位の順で測定した。またモニター化学分析としてSi、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、F<sup>-</sup>、ウランの8成分に関して採水量6ℓ毎(パッカー間容量)に分析を行った。

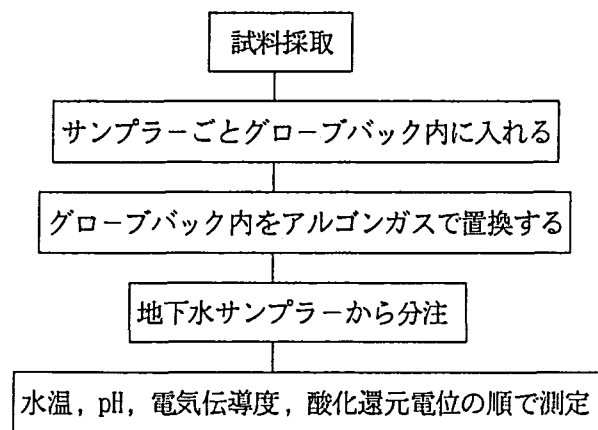
##### (1) 水温、pH、電気伝導度、酸化還元電位の測定

還元物質を含む溶液に対するpHおよび酸化還元電位の測定を大気中で行うと、還元物質と酸素の化合および、酸素の溶存によって重大な誤差を生じさせる原因となる。そこで、グローブバック内をアルゴンガスで置換した。また、モニター期間連続採水83回目以降は採水容器中の大気をアルゴンガスによってパージし減圧した後採水に用いた。

水温、pH、および酸化還元電位はTOA電波工業RP-11Mによって測定した。また電気伝導度はYOKOKAWA CONDUCTIVITY METER SC51によって測定した。なおpHおよび電気伝導度の測定はそれぞれpH9標準溶液およびISOP標準海水を用い各測定毎にドリフト補正を行った。それぞれの測定方法および誤差を第3-1表に示す。また以上の操作概要を第3-1図に示す。

第3-1表 水温、pH、電気伝導度、酸化還元電位の測定方法および誤差

測定項目	測定方法	精度および誤差 *1
水温	水銀温度計および電極	±0.1 (°C)
pH	ガラス電極法	±0.01
電気伝導度	電極法	2% (変動係数)
酸化還元電位	白金電極	±1 (mV)



第3-1図 モニター期間における水温、pH、電気伝導度、酸化還元電位測定の実操作概略

\*1: メーカーカタログ値を使用

(2) 各種化学成分のモニター分析

各種化学成分のモニター分析方法を第3-2表に示す。試料は採取後、ポリプロピレン製容器に移す。この時、酸の添加等を行わず、出来るだけ迅速に分析するように心掛けた。やむを得ず試料を放置するときには、冷暗所にて保存した。すべての試料は48時間以内に分析した。

第3-2表 各種化学成分のモニター分析方法

元素	測定方法
Si	ICP法
Na <sup>+</sup>	ICP法
Ca <sup>2+</sup>	ICP法
Mg <sup>2+</sup>	ICP法
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	簡易滴定法
Cl <sup>-</sup>	イオンクロマトグラフ法
F <sup>-</sup>	イオンクロマトグラフ法
ウラン	蛍光光度法

### 3.1.2 地下水の化学分析方法

地下水のモニター期間における測定結果が大きな変動を示さず安定を示し、パッカー間が掘削等による汚染の無い地下水で満たされていると判断した後、化学分析用の地下水試料を採取し分析を行った。各項目における定量方法を以下に記す。

#### (1) 溶存窒素

深層地下水および河川水ともに小山(1991)が示したように、ガスクロマトグラフィー(日立社製、検出器: TCD)により測定した。なお、本方法はJIS K 2301(燃料ガスおよび天然ガス分析法)に準じた。測定試料は前項(2.3.1)のように調製したヘッドスペース測定用試料について、その気相の任意容積をガスタイトシリンジにより採取し、ガスクロマトグラフィーにインジェクトした。測定条件は内径3mm、長さ3mのステンレススチール製カラムに、60~80メッシュのモレキュラーシーブ13X(60/80メッシュ)を充填し、カラム温度30°Cで水素をキャリアーガスとし、その通気量を16m<sup>3</sup>/minとした。このようにして測定した気相部分の窒素ガス濃度をHenryの法則およびBunsenの吸収係数により試料水中の溶存窒素ガス濃度を計算により求めた。本方法における窒素ガスの検出限界は試料水に対して0.5ppmであり、繰り返し精度は5%以内である。なお、測定に供する試料は一定温度(20°C)に保持した。

#### (2) 溶存酸素

深層地下水および河川水の溶存酸素濃度は、前述(1)で示した溶存窒素と同様に、ガスクロマトグラフィーにより測定した。ガスクロマトグラフィーの測定条件も溶存窒素測定時と全く同様である。

溶存酸素濃度の測定において、ガスクロマトグラフィーよりも隔膜電極法、ウィンクラー法(Winkler, 1888)および吸光度法(Broenkow and Cline, 1969)の方が検出精度および検出限界の点で優れている。したがって、本調査においてこれらの方法も用いて溶存酸素の測定を実施した。それぞれの方法における溶存酸素濃度の検出限界は、ガスクロマトグラフィー法および隔膜電極法では0.43~1mg/l、ウィンクラー法では0.8mg/l、吸光度法では0.07mg/lである。

隔膜電極法では電極の性能や試水の攪拌程度(溶存酸素の膜透過における物理的要因)に依存するが1mg/l以下の値は参考程度とするのが普通である。また、ガスクロマトグラフィーによる定量は、他のガス成分(窒素やアルゴン)などが酸素よりも多く存在した場合、それらのピーク(テーリング等)の影響による検出限界低下とガスタイトシリンジによる繰り返し精度の悪さが原因している。ガスクロマトグラフィー法による酸素分析の標準混合ガスにより検定した繰り返し精度は窒素の時のそれより多少悪く6%以内であった。以上の操作を以下に示す。

##### a) 隔膜電極法

隔膜電極法にはYSI社製のDOメータを使用して、深層地下水試料について採取後直ちに窒素ガスにより置換したグローブボックス内においておこなった。このときのグローブバック内における気相中の酸素濃度はDOメータの指示値で0.5%以下であった。また、河川水については現場河川にプローブを投げ込み測定をおこなった。

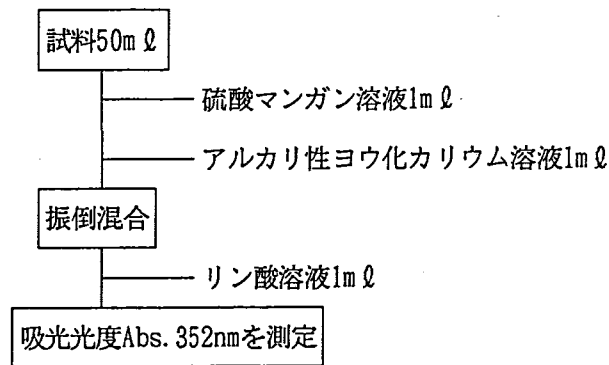
##### b) ウィンクラー法

ウィンクラー法による溶存酸素の測定において、河川水試料についてはブチルゴム管を付けたディスポーザブルシリンジ(50m<sup>3</sup>容)によりバイアル瓶にオーバーフローさせながら採取し、直ちにブチルゴム栓とアルミシールにより密封した後に、注射器(1m<sup>3</sup>容)を用い固定液をバイアル瓶内に注入した。また、深層地下水試料は、ディスポーザブルシリンジ(50m<sup>3</sup>容)に抜取り、直ちに注射器(1m<sup>3</sup>容)により固定液を注入した。ここで得

られた溶存酸素固定済みシリンジは嫌気ガスパック（ベクトンディッキンソン社製）に保存して持ち帰った後に、直ちに滴定をおこなった。なお、深層地下水試料において、ステンレス製採水容器のまま氷冷保存して持ち帰った試料についてもウインクラ法による測定をおこなった。

### c) 吸光光度法

吸光光度法はステンレス製採水容器のまま持ち帰った試料について実施し、測定手順は Broenkow and Cline (1969) の示した方法に従った。本方法は、ウインクラ法の一部を改変し、さらに酸化されたヨウ素の量を滴定ではなく、吸光度で求めるものである。実際的な操作は以下の通りである。シリンジを使用した固定作業および使用する固定試薬はウインクラ法とほぼ同様であるが、注入試薬は全て窒素あるいはアルゴンガスで置換し、酸素の影響を極力最小限にした。ヨウ素酸水素カリウム標準溶液により作成した検量線からその濃度を求めた。第3-2図に吸光光度法による溶存酸素の定量操作概略を示す。



第3-2図 吸光光度法による溶存酸素の定量操作概略

硫酸マンガン溶液およびアルカリ性ヨウ化カリウム溶液は、溶液に溶存している酸素の影響を最小限にするために純窒素ガスでパージしたものをを用いる。

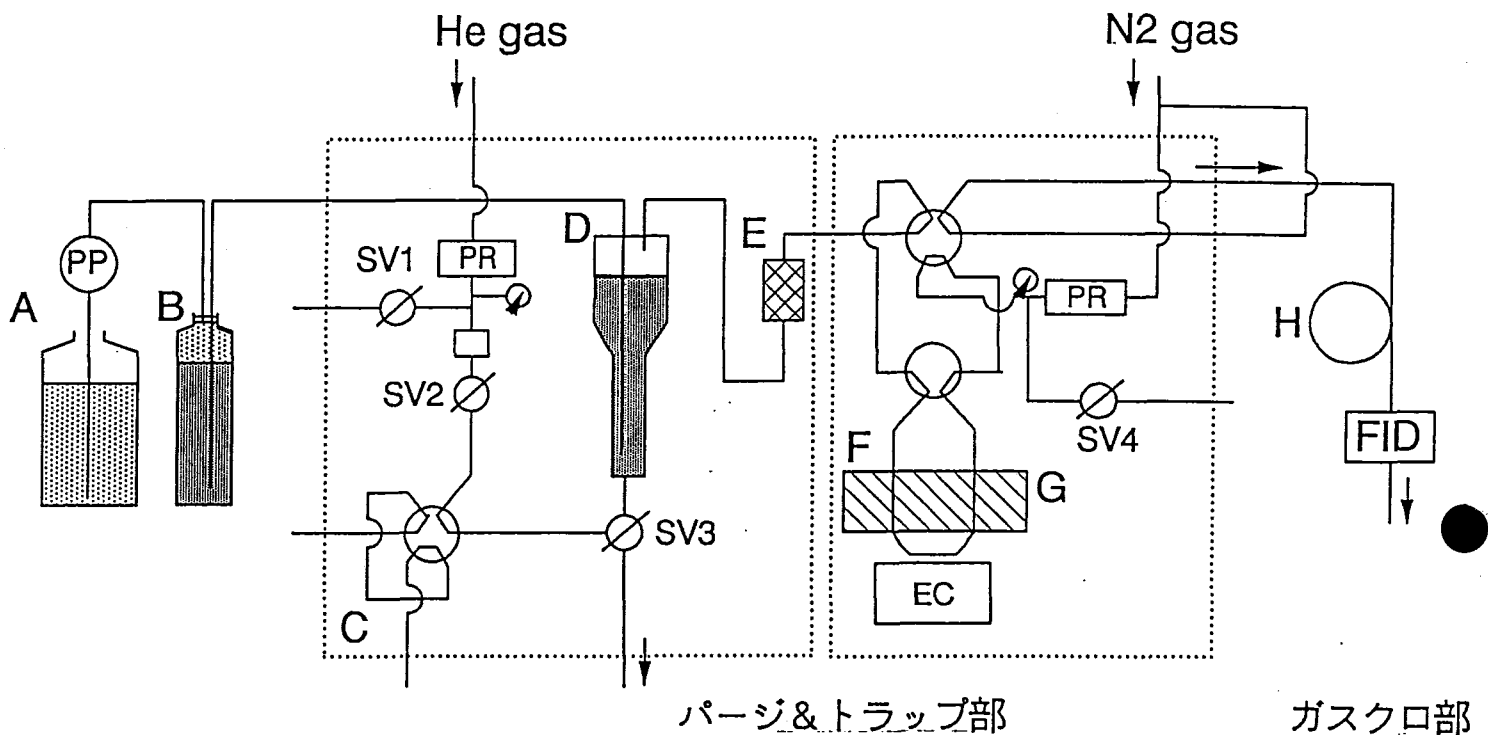
### (3) 水素，ヘリウム

溶存水素およびヘリウムは、溶存窒素と同様にガスクロマトグラフィー（TCD）により測定した。測定条件はキャリアーガスに窒素を用いる以外は全て同じである。このときの水中における水素およびヘリウムガス濃度の検出限界は各々0.2および0.4mg/ℓであり、繰り返し精度は水素、ヘリウムともに5%以内である。

#### (4) メタン

前項(2.3.1)に示したヘッドスペース測定用試料について検出器にFIDを付したガスクロマトグラフィー(島津社製, GC-14A)により測定した。測定条件は分離カラム: Porapack Q 3 m, 温度: 45°Cの定温, 流量: 窒素35mℓ/minとして, FIDでメタンを検出した。なお, 大気中に存在するメタンガスは1.6~1.8 ppm前後であることが知られており, 例えば25°Cにおける大気と平衡にある水中のメタン濃度は約2 nM (32ng/ℓ)である。つまり, 本調査において河川水中のメタン濃度をヘッドスペース法により定量する事は不可能である。したがって, 本調査では, 河川水については, パージアンドトラップ法により河川水試料を濃縮した後にガスクロマトグラフィーに導いて定量をおこなった。

本方法は, 河川水試料の約10mℓをバイアル瓶からパージ容器に直接導入し, ヘリウムガスでパージし, 活性炭トラップ(粒状活性炭60/80メッシュ, 温度-30°C)に導く。トラップしたメタンを120°Cに加熱して窒素ガスにてガスクロマトグラフィー部に導入して測定する(第3-3図参照)。この手法では検出限界が約2 nMであり, 定量範囲については, μM以上に及ぶ直線性を確認している。なお, メタン分析においてヘッドスペース法における検出限界は0.4ppmであり, 繰り返し精度は4%以内である。ヘッドスペース法における測定データの悪さは気体試料をガスタイトシリンジによりインジェクトするためである。



- |                    |                     |                  |
|--------------------|---------------------|------------------|
| A : ヘキサリザーブボトル     | F : 活性炭カラム          | SV : 電磁バルブ       |
| B : サンプルバイアル       | G : 活性炭カラム加熱ヒータ     | PR : 圧力調整弁       |
| C : 標準ガスループ (1 mL) | H : GCカラム (モレキュラーブ) | EC : 電子クーラ       |
| D : サンプルパージ容器      |                     | PP : プランジャーポンプ   |
| E : シリカゲルカラム       |                     | FID : 水素炎イオン化検出器 |

第3-3図 水中メタン分析装置の概略

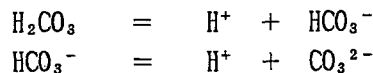
(5) 一酸化炭素

一酸化炭素はガスクロマトグラフィー法によりJIS K 0098(排ガス中の一酸化炭素分析方法)のうち、メタン化反応装置付きFIDにより前項(2.3.1)に示したヘッドスペース測定用試料について、その気相部を測定した。なお、一酸化炭素ガスはTCDによっても検出可能であるが、その検出能力は比較的低い。したがって、本調査では、一酸化炭素を水素ガスと触媒によりメタンに還元し、生成したメタンをFIDにより検出した。測定には島津社製ガスクロマトグラフィー(GC6A)を使用し、測定条件は内径3mm、長さ3mのステンレスカラムにモレキュラシーブ13X(60/80メッシュ)を充填し、カラム温度30°C、検出器温度100°Cとし、キャリアーガスには水素を使用し、その流量は30ml/minとした。検出限界は水中濃度として0.05mg/lであり、繰り返し精度は4%である。

(6) 二酸化炭素

水中における炭酸物質は遊離炭酸(CO<sub>2</sub>)、水和炭酸(H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、炭酸水素イオン(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)および炭酸イオン(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>)の4つの異なった形態で存在する。これらの炭酸分子種の量的な相互関係は[H<sup>+</sup>]により決定される。従って、水中の全炭酸濃度とpHが分かれば水中における炭酸分子種の各々の量を求めることができる(例えば半谷と小倉, 1985; 三宅ら, 1970)。

水中にいてH<sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>は次式に示す平衡状態にある。



すなわち、

$$K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}, \quad K_2 = \frac{[\text{H}^+][\text{CO}_3^{2-}]}{[\text{HCO}_3^-]}$$

と表される。したがって、これらの関係式からK<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>が与えられれば、任意のH<sup>+</sup>のときの[H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>]:[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]:[CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>]のモル比が求められる。K<sub>1</sub>およびK<sub>2</sub>をそれぞれpK<sub>1</sub> = -LogK<sub>1</sub>とし、Harnea and Davis(1943)によるpK<sub>1</sub>およびGarrels and Christ(1965)によるpK<sub>2</sub>の値を第3-3表に示す。

第3-3表 炭酸塩平衡におけるpK<sub>1</sub>, pK<sub>2</sub>の値

温度(°C)	0	5	10	15	20	25	30	40	50
pK <sub>1</sub>	6.58	6.52	6.47	6.42	6.38	6.35	6.33	6.30	6.29
pK <sub>2</sub>	10.62	10.56	10.49	10.43	10.38	10.33	10.29	10.22	10.17

本調査において深層地下水試料および河川水試料におけるCO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>の各々の濃度は試料水中の全炭酸濃度とpHの測定値から算出した。なお第3-4表に上記のpK<sub>1</sub>, pK<sub>2</sub>を用い任意のpH及び水温を代入し計算した淡水中のH<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>のモル百分率の一部を示す。

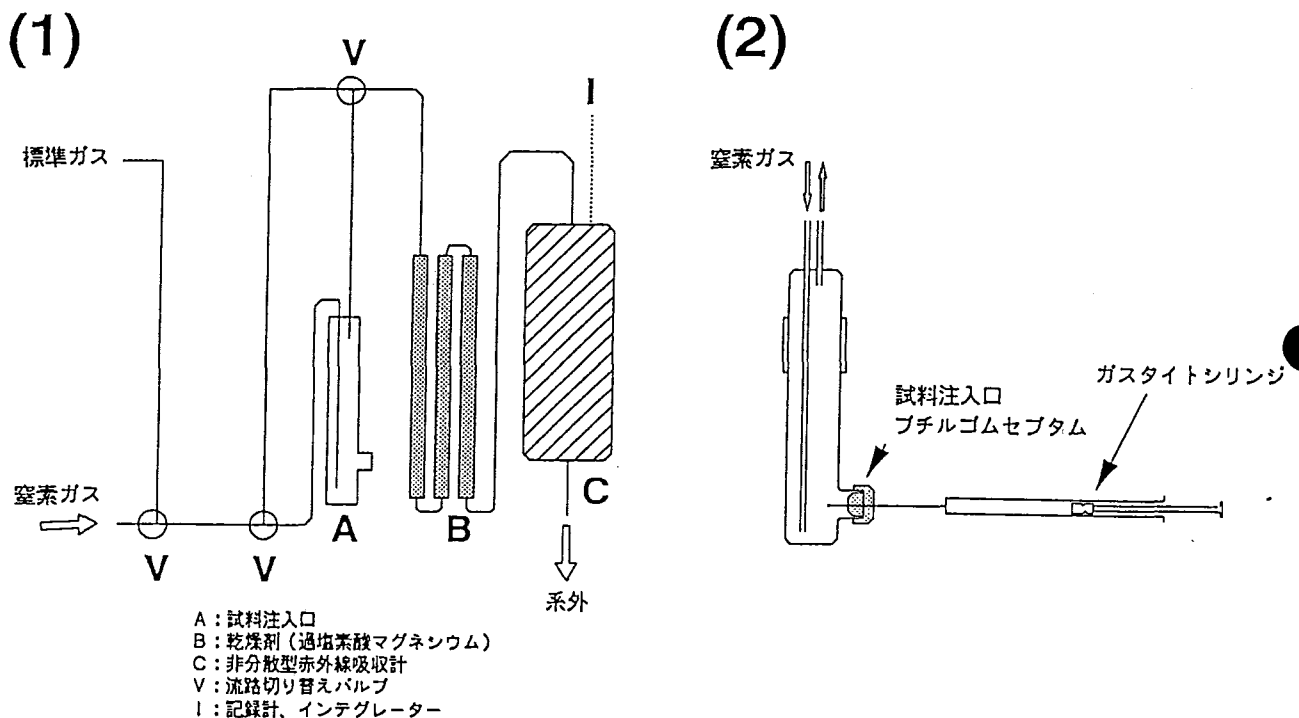
試料中の全炭酸濃度は前項(2.3.1)に示したヘッドスペース測定用試料について、その気相部を赤外線吸収により無機炭酸を定量するIC分析装置(オーシャノグラフィー社製)に導入して測定した(第3-4参照)。ここで測定された気層中の炭酸濃度からヘンリーの法則に従い、Bunsenの吸収係数を用いて算出により試料水中の全炭酸濃度を求めた。なお、クロスチェックとして、イオンクロマトグラフィーを用いた野尻(1990)の方法によっても全炭酸濃度を測定した。イオンクロマトグラフィー法において、ヘッドスペース測定用試料の液相部をイオンサプレッサー機構を持ったイオンクロマトグラフィー(横河電機社製, IC-100)に導入し、イオン交換カラム(横河電機社製, PCS5-52)により炭酸イオンを分離し、全炭酸として定量する方法である。溶離液に0.1mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を用い、除去液には10mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を使用した。溶離液および除去液ともに流量は2ml/minとした。な

お、溶離液は純窒素（99.99%以上）によりパージしながら使用した。赤外線吸収法における検出限界は液相濃度で0.02mM(炭酸ガスの絶対量として1ppm)である。また、イオンクロマトグラフィー法における検出限界は共存する無機イオン成分の濃度により異なるが、炭酸イオンのみを含む溶液においてはおよそ0.001mM(炭酸ガスの絶対量として0.05ppm)の定量が行える。いずれの方法においても、自然界中の炭酸濃度の測定において十分な感度を持っている。なお、赤外線吸収法およびイオンクロマトグラフィー法における繰り返し精度は、各々0.8および0.3%以内ある。

第3-4表 淡水中の $H_2CO_3$ ,  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$ のモル百分率\*1

pH	10°C			12°C			14°C			16°C		
	$H_2CO_3$	$HCO_3^-$	$CO_3^{2-}$	$H_2CO_3$	$HCO_3^-$	$CO_3^{2-}$	$H_2CO_3$	$HCO_3^-$	$CO_3^{2-}$	$H_2CO_3$	$HCO_3^-$	$CO_3^{2-}$
9.0	0.3	96.6	3.1	0.3	96.5	3.2	0.3	96.3	3.4	0.3	96.1	3.6
9.1	0.2	95.9	3.9	0.2	95.7	4.1	0.3	95.3	4.4	0.3	95.1	4.6
9.2	0.1	95.1	4.8	0.1	94.8	5.1	0.2	94.4	5.4	0.2	94.2	5.6
9.3	0.1	93.8	6.1	0.1	93.5	6.4	0.2	92.9	6.9	0.2	92.7	7.1
9.4	0.1	92.5	7.4	0.1	92.1	7.8	0.1	91.5	8.4	0.1	91.3	8.6
9.5	0.0	90.6	9.4	0.0	90.2	9.8	0.0	89.5	10.5	0.0	89.2	10.8
9.6	0.0	88.6	11.4	0.0	88.2	11.8	0.0	87.5	12.5	0.0	87.0	13.0
9.7	0.0	85.9	14.1	0.0	85.2	14.8	0.0	84.5	15.5	0.0	83.8	16.2

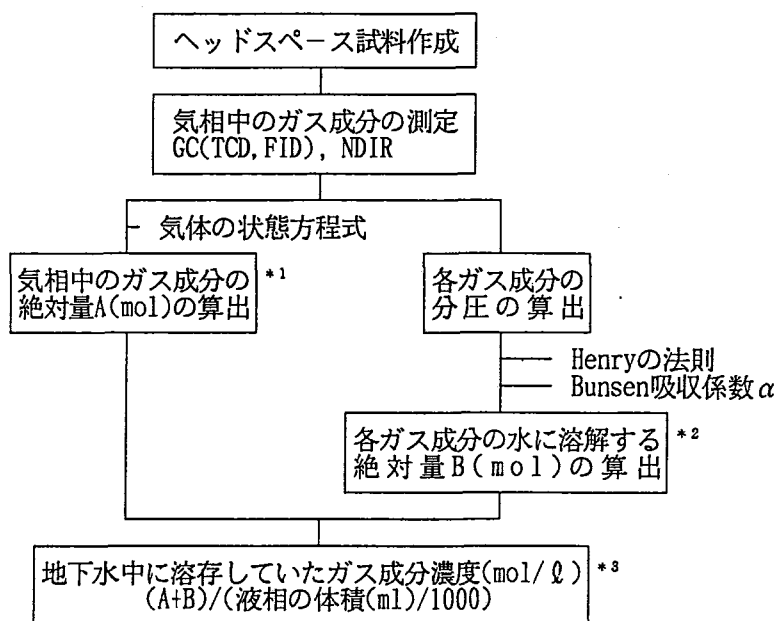
\*1 : Harnea and Davis(1943), Garrels and Christ(1965)の定数を用い猿橋(1953)が算出



第3-4図 非分散型赤外線吸収による炭酸ガス測定装置の概略

(7) ヘッドスペース法による各種溶存気体濃度の計算方法

ヘッドスペース法により定量した各種溶存気体成分（窒素、酸素、水素、ヘリウム、メタン、一酸化炭素、二酸化炭素）の計算方法を以下に示す。ヘッドスペースサンプルの気相中の各ガス成分の濃度から分圧を算出し、液相中に溶存している各ガス成分量をHenryの法則に従いBunsenの吸収係数を用いて計算した。すなわち試料を注入したヘッドスペース測定用容器内部の全圧 $P_a = 1 \text{ atm}$ とすると、求めるガス成分の水に対する溶解度が小さくて溶媒と反応しないとすれば、Henryの法則により、圧力が高くない範囲では一定温度での溶解度は分圧に比例する事になる。従って、求めるガス成分の分圧を $P_1$ とすれば、Bunsen吸収係数 $\alpha$ に $P_1/P_a$ を乗ずれば、分圧 $P_1$ における溶解度が求められる。以上から求める試料中に溶存していた各ガス成分濃度は気相と液相の各ガス成分量の和を試料液量で除したものとなる。第3-5図にヘッドスペース法における計算手順、第3-5表に水に対する気体の溶解度（Bunsen吸収係数 $\alpha$ ）を示す。



第3-5図 ヘッドスペース法における計算手順

第3-5表 水に対する気体の溶解度（Bunsen吸収係数 $\alpha$ ）

Temp.	$\alpha \times 10^2$						
(°C)	H <sub>2</sub>	He	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>
0	2.14	0.940	2.31	4.89	3.54	171.7	5.56
10	1.95	0.898	1.83	3.80	2.82	123.8	4.18
15	1.88	0.884	1.66	3.42	2.54	101.5	3.69
20	1.82	0.874	1.52	3.10	2.32	87.3	3.31
25	1.75	0.866	1.41	2.83	2.14	75.9	3.01

※ 化学便覧基礎編 改訂3版(日本化学会, 1984)より引用

\*1, \*2, \*3: 数字は次ページ計算例の項目に対応する。



### 《計算例》

ヘッドスペース試料の条件及び分析結果を以下のような形で得られたとする。

気層の体積 : 500mℓ  
液層の体積 : 500mℓ (1000-500=500:ガラス製ガス採取管の容量は1000mℓ ;第2-3図参照)  
容器内の全圧 : 1atm  
温度 : 20°C (一定)  
気相中のガス成分 : N<sub>2</sub> = 6000 ppm =0.6%

#### 1)気相中におけるN<sub>2</sub>の絶対量

気体の状態方程式  $PV = nRT$  より

$$n \text{ (mol)} = \frac{P(\text{N}_2\text{ガスの分圧}) \times V(\text{体積})}{0.0821 \times 293.15}$$
$$= \frac{1 \text{ (atm)} \times (0.6/100) \times (500/1000)}{0.0821 \times 293.15}$$
$$= 0.0001246 \text{ (mol)}$$
$$= 124.6 \text{ (}\mu\text{mol)}$$

#### 2)液相中のN<sub>2</sub>の絶対量

Bunsen吸収係数 $\alpha$ によれば、気体の分圧が1atmのとき、溶媒1mℓに溶解するN<sub>2</sub>の体積(mℓ)は20°Cにおいて0.0152mℓ(0°C, 1atmでの換算値)である。

N<sub>2</sub>ガスの分圧 $P_1$ は以下のように計算できる。

$$P_1 = 1 \text{ (atm)} \times (6000 \text{ ppm}/10^6) = 1 \text{ (atm)} \times (0.6\%/100) = 0.006 \text{ (atm)}$$

である。ここで、ヘンリーの法則により、N<sub>2</sub>ガスの溶解度は分圧に比例するから、溶媒1mℓに対するN<sub>2</sub>の溶解量はBunsen吸収係数 $\alpha$ を用い以下のように計算できる。

$$P_1 \times \alpha = 0.006 \text{ (atm)} \times 0.0152 \text{ (mℓ)} = 9.12 \times 10^{-5} \text{ (ml)}$$

更に、液相の体積は500mℓであるから液相には

$$9.12 \times 10^{-5} \text{ (mℓ/mℓ)} \times 500 \text{ mℓ} = 0.0456 \text{ mℓ} = 4.56 \times 10^{-6} \text{ (ℓ)}$$

のN<sub>2</sub>がとけ込んでいる事になる。

ここで得られたN<sub>2</sub>ガスの溶解量(ℓ)は、すべて0°C, 1気圧の標準状態における値である。液相中のN<sub>2</sub>のmol数は以下の式で得られる。

$$4.56 \times 10^{-6} / 22.4 = 2.036 \text{ (}\mu\text{mol)}$$

#### 3)試料中濃度への換算

1)および2)より得られた値から以下の式により、本来の試料中に溶存していたガス濃度を求めると以下ようになる。

気相中の絶対量(mol) + 液相中の絶対量(mol)

液体の体積

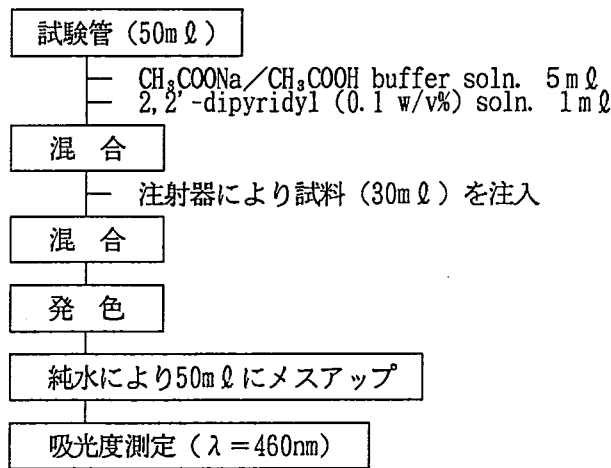
$$= (124.6 \text{ (}\mu\text{mol)} + 2.04 \text{ (}\mu\text{mol)}) / 0.5 \text{ (ℓ)} = 253.28 \text{ (}\mu\text{mol/ℓ)}$$
$$= 7.09 \text{ (mg/ℓ)}$$

(8) 全有機性炭素 (TOC)

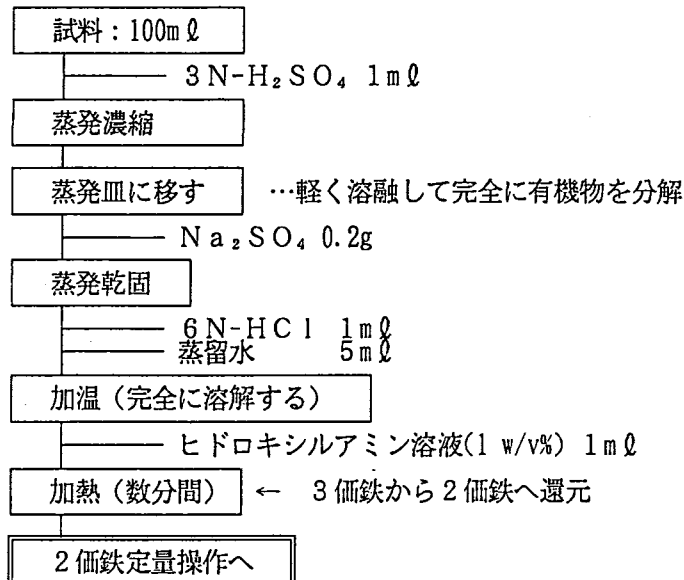
ガラス瓶にて持ち帰った試料を濾過せずTOC分析装置(ベックマン社製, 915-B)を用い赤外吸収による乾式法により測定した。すなわち, 試水を希塩酸によりpH=4以下に調整し, その後純窒素ガスにてバブリングを行い炭酸ガスを除去する。この調製された試水をTOC測定系に導入して分析をおこなった。なお本分析における検出限界は0.14mg/ℓ, 繰り返し精度は1%である。

(9) 吸光光度法を用いたFe<sup>2+</sup>およびTotal-Fe

遊離2価鉄および全鉄は小山(1991)が示した吸光光度法により分析した(第3-5および3-6図参照)。試料水は濾過せず用いた。遊離2価鉄の定量は, 2,2'-ジピリジル(2,2'-dipyridyl)により発色させた後に波長460 nmにおける吸光度を測定して求めた。全鉄は有機物を完全に分解し, 塩酸ヒドロキシルアミンで3価鉄を2価鉄に還元した後に2価鉄の定量と同様に2,2'-ジピリジル(2,2'-dipyridyl)により発色させて吸光度測定から求めた。また, 全鉄はICPによっても測定をおこなった。吸光光度法によるFeの検出限界は0.036mg/ℓ, 繰り返し精度は1%である。



第3-5図 Fe<sup>2+</sup>の定量操作概略

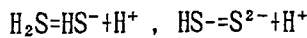


第3-6図 Total-Feの定量操作概略

(10) 硫化物イオン

硫化物イオンは、ヨウ素滴定法および電極法により測定した。いずれの方法においても試料中の $H_2S$ 、 $HS^-$ 、 $S^{2-}$ の各々の濃度はpHとの関係より求めた。

硫化水素が水中に存在する場合は以下の2段のイオン解離反応による。



ここで上式におけるイオン解離定数はそれぞれ以下の通りになる(田村, 1988)。

$$K_1 = \frac{[HS^-][H^+]}{[H_2S]} = 9.55 \times 10^{-8} \quad K_2 = \frac{[S^{2-}][H^+]}{[HS^-]} = 1.259 \times 10^{-14}$$

水中硫化物イオン種の相対存在比を考える場合 $K_1$ は $K_2$ に対して極めて小さいイオン解離であることを示している。従って $[S^{2-}]$ は他のイオン種に対して無視出来る濃度である。pH9.8の天然水に溶存している $H_2S$ 、 $HS^-$ のモル比はイオン解離定数より $[H_2S] : [HS^-]$ は1:150と計算することができる。このように求めた濃度は溶液のイオン強度およびpHの測定誤差のため最大で10%程度の誤差が生じる。ヨウ素滴定法はJIS K 0102に準じておこなった。

また、電極法による測定はBaumann(1974)の方法に従っておこなった。すなわち、シリンジを用いて試水を空気に触れないように還元剤を添加したアルカリ性溶液(Sulfide Anti Oxidant Buffer soln.)と1:1の割合で混合し、恒温水槽中で銀および比較電極により電位差測定をして硫化物イオン濃度を求めた。本方法による検出限界は0.05ppmである。

(11) F, Cl, Br, I,  $SO_4$ ,  $IO_3^-$

フッ素、塩素、シュウ素、ヨウ素、硫酸イオンは、イオン排除型イオンクロマトグラフィー(横河電機社製、IC-100)により測定した。分離カラムはイオン交換カラム(SAM3-075 プレカラムはPAM3-035)を使用した。溶離液(4.4mM  $Na_2CO_3$  / 1.2mM  $NaHCO_3$ )、除去液(15mM  $H_2SO_4$ )の流量はいずれも2mL/minとした。イオンクロマトグラフィーによる無機イオンの検出限界は、目的物質により異なり、また他のピークのテーリング等によっても異なるが、おおよそ0.1 mg/Lは十分に定量できると考えられる。また、繰り返し精度は極めて良好で0.7%程度であった。

フッ素イオンの定量において、イオン選択電極法(JIS K 0102)によっても測定を行った。測定は恒温水槽中(20°C)において実施した。本方法の検出限界は0.05mg/Lである。

なお、ヨウ素酸イオン( $IO_3^-$ )は紫外分光検出器を用いたイオンクロマトグラフィー(間接吸光法)によりおこなった。 $IO_3^-$ の測定条件を第3-6表に示す。<sup>\*1</sup>

第3-6表  $IO_3^-$ の測定条件

カラム	Shim-pack CLC-ODS
プレカラム	Shim-pack GRD-ODS
カラム温度	40°C
移動相	0.8mM トリメシン酸 1.0mM 水酸化テトラブチルアミン (水酸化カリウムでpH4.6に調整)
流量	1.5 mL/min
検出器	UV 8 2 1 (282nm), 日本分光製

\*1:  $IO_3^-$ の測定理由については5章考察5.3を参詳

(12) Na, K, Li, Ca, Mg, Sr, Al, T-Mn, D-Mn, T-Fe, D-Fe

Ca, Mg, Sr, Al, Mn, Fe の各金属成分は I C P (島津社製 ICPS-1000 III) を用い定量した。なお, Al, Mn, Fe については, 標準添加法を取り入れた。また Na, K, Li は原子吸光 (SEIKO-1 製) を用い定量した。本方法における検出限界 (mg/ℓ) は前に示した順に各々 0.08, 0.05, 0.09, 0.04, 0.08, 0.03, 0.04, 0.01 (T-Mn, D-Mn とも), 0.04 (T-Fe, D-Fe とも) であり, 繰り返し精度はすべての元素においておおよそ 1% 以内である。

ここで, Mn 及び Fe に関し T, D の記載に付いては濾過処理の有無であり, T は試水を直接実験に供し, D については 0.2 μm のフィルターで濾過を施した。

なお, Total-Fe は比色法 (前項 2.3) によっても測定を実施した。比色法による Fe の定量における検出限界は 0.036 mg/ℓ である。

(13) P, Total-P, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, Total-N

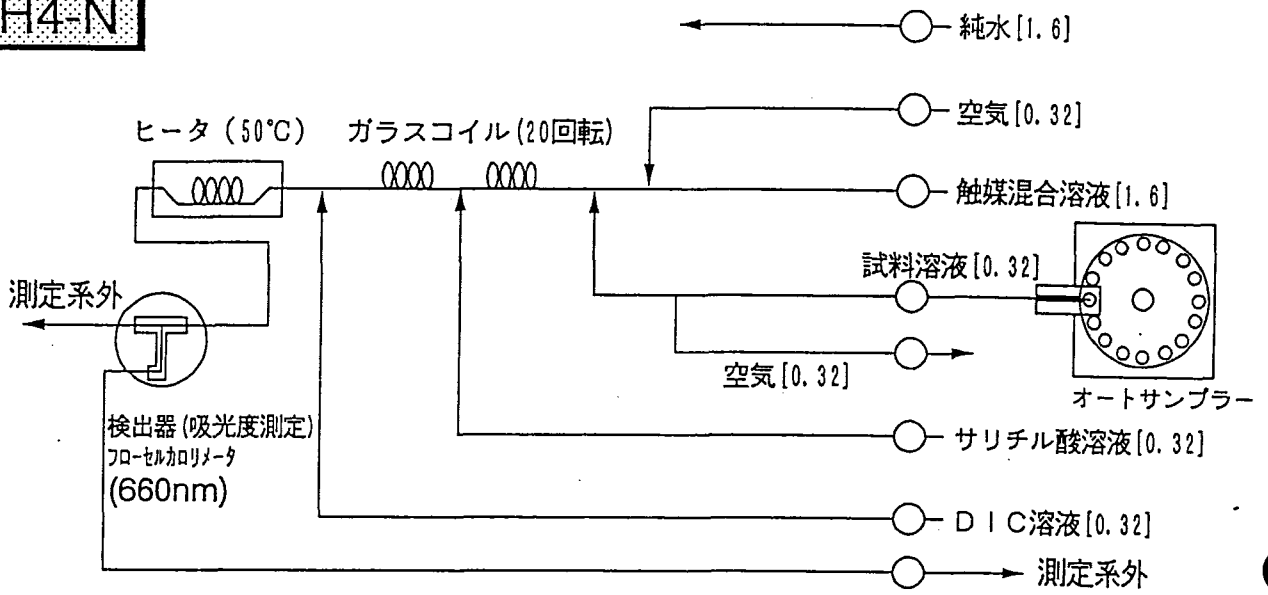
栄養塩類の分析はオートアナライザー (テクニコン社製, AA II) を使用し, 大槻 (1982, 1985) の示した方法に準じて測定した (第 3-7~3-9 図参照)。オートアナライザーを用いた栄養塩類の測定における検出限界 (mg/ℓ) は, リン酸態リン, 硝酸態窒素, 亜硝酸態窒素およびアンモニア態窒素でそれぞれ 0.0005, 0.005, 0.005, 0.005, 全窒素および全リンが 0.01 mg/ℓ である。繰り返し精度は全窒素, 全リンおよび NH<sub>4</sub> は 5%, その他のイオン成分は 0.6% 以内である。ここで全窒素および全リンの分析精度が落ちた理由は, 後に述べる試料の前処理 (分解操作) に起因するものであり, 自動分析における精度は他のイオン成分と同じであるが, 標準列試料のブランクが高くなったことが大きな原因である。

アンモニウムイオンはインドフェノール青改良型吸光光度法, 亜硝酸イオンはスルファニルアミドと N エチレンジアミンにより発色させる吸光光度法 (JIS K 0102), 硝酸イオンはカドミウム還元カラムによる還元法 (厚生省令第 56 号) により測定した。全窒素はアルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解法 (環境庁告示第 140 号) により硝酸態に酸化し (第 3-8 図参照), その後, 硝酸イオンと同様に測定した。ここで硝酸イオンの定量において, 試料中の全ての硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元して測定し, この値から別に測定した試料中の本来の亜硝酸イオン濃度の値を差引いて硝酸態窒素濃度を求めた。

オルトリン酸イオンはモリブデン青吸光光度法と原理が同じである混合試薬吸光光度法 (Murphy and Riley, 1962) により定量した。全リンはペルオキシ二硫酸 (過硫酸) カリウムを用い, オートクレーブ (120°C, 60 分間) 分解を行う湿式分解法 (Mentzel ら, 1965; 環境庁告示第 140 号) によりほとんど全てのリンをリン酸態リンに分解して測定を行った (第 3-9 図参照)。なお, ペルオキシ二硫酸 (過硫酸) カリウムは栄養塩測定用として販売されている和光純薬製のものを用いた (有害金属測定用には多量の N および P が含まれているため)。

本調査において Mentzel ら (1965) の湿式分解法を採用した。この湿式分解法は他の方法よりも酸化力が弱いとされているが, これは底泥試料や多量の懸濁物 (腐植性物も含む) が含有される試料について問題とされることであり, 一般の河川, 湖沼, 海水を対象とした時には, ほとんど全てのリンを定量できる。本調査における深層地下水試料には, 懸濁物がほとんど含まれていないこと, そして河川水試料の水質と比較する必要があることから適当な分解法であると判断した。

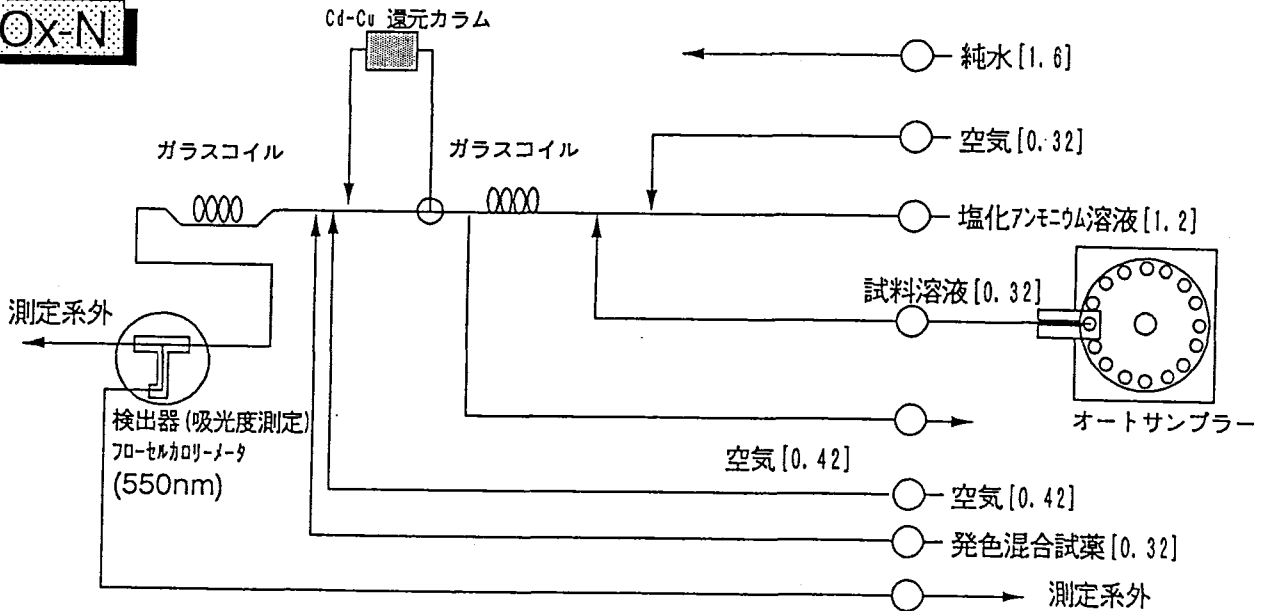
# NH<sub>4</sub>-N



第3-7図 アンモニアイオン定量における  
 オートアナライザーのフローシート

○ : 定量ポンプ, D I C : シクロシマル酸ナトリウム (1 w/v%),  
 Catearist soln. : ケン酸カリウム (10 w/v%), フェロシアン化カリウム (2 w/v%) 混液  
 Salicylate : サリチル酸ナトリウム溶液 (40 w/v%)

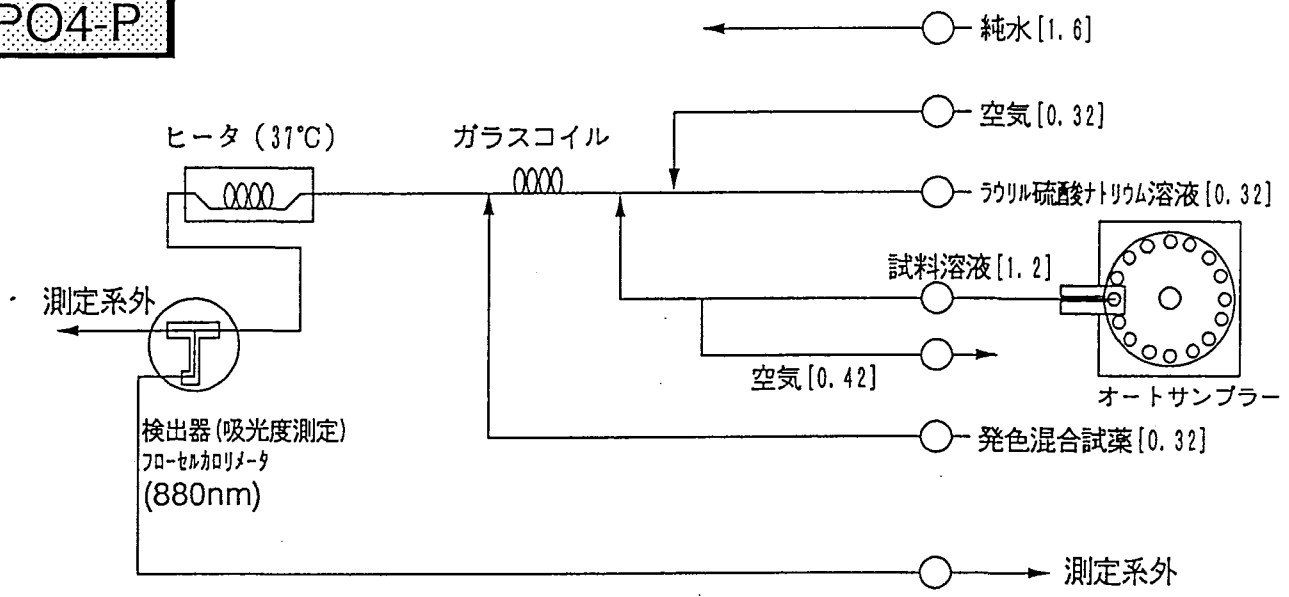
# NO<sub>x</sub>-N



第3-8図 硝酸・亜硝酸イオン定量における  
 オートアナライザーのフローシート

○ 定量ポンプ, Color Reagent : スルファニルミド 溶液, N-1-ナフチルアミン溶液  
 ※硝酸イオン定量時は Cd-Cu 還元カラム側に流路を変更

**PO4-P**



第3-9図 リン酸イオン定量における  
オートアナライザーのプロシート

○ : 定量ポンプ, Color Reagent :  $H_2SO_4, (NH_4)_2MoO_4, L\text{-アスコルビン酸}, 酒石酸アンチモニルカリウム混液$   
S L S : ラウリル硫酸ナトリウム

試料 : 25 mL (耐圧テフロン瓶)
— アルカリ性過硫酸カリウム溶液 (30g in 1N-NaOH) 3 mL
オートクレーブ分解 (120°C, 60min)
— 2.24-N HCl 1 mL
— $NH_4OH/NH_4Cl$ buffer soln. (pH=8.5) 1 mL
オートアナライザーにより定量 ( $\lambda=550nm$ )

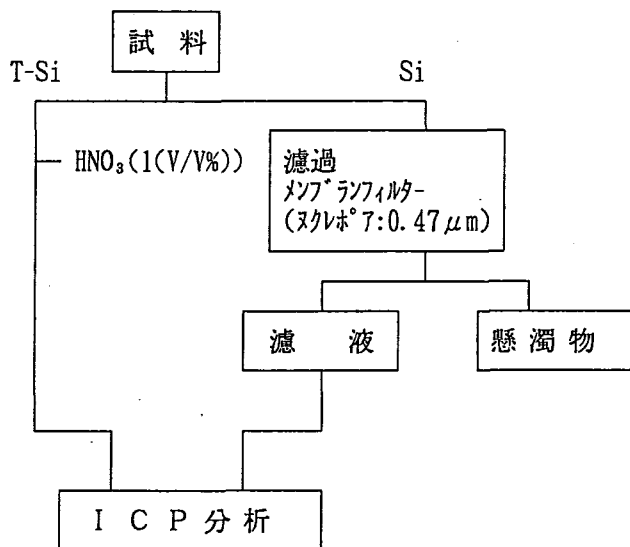
第3-10図 全窒素の定量における分解操作概略

試料 : 25 mL (耐圧ネジ口瓶)
— 過硫酸カリウム溶液 (4 w/v%) 5 mL
オートクレーブ分解 (120°C, 60min)
オートアナライザーにより定量 ( $\lambda=880nm, 37°C$ )

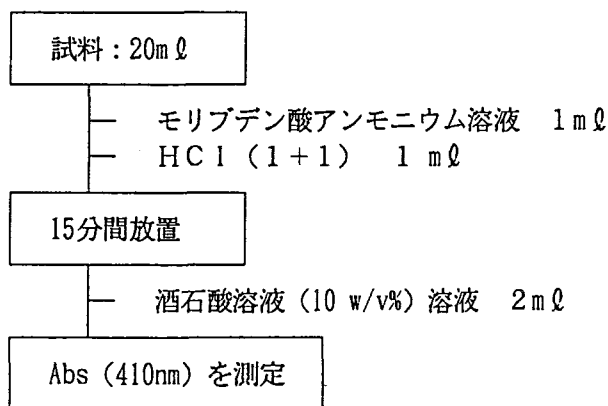
第3-11図 全リンの定量における分解操作概略

(14) Si

Siの分析は比色法およびICP法により求めた。ICP法によるSiの定量操作概略を第3-12図に示す。また、比色法におけるSiの定量はモリブデン黄法(JIS K 0101)により定量した(第3-13図参照)。また、ICP法では島津社製ICPS-1000Ⅲにより定量した。検出限界(mg/ℓ)は比色法が2.5, ICP法が0.1である。なおICP法における繰り返し精度は0.9%である。濾過せず直接ICPによって定量した値をT-Si, 濾過を施した試料に関する値をD-Siと表示した。比色法で定量されるSiは主に溶存態珪酸塩, ICP法によって定量されるT-Siは懸濁物を含んだ全珪素, Siはコロイド状のSiを含めた溶存態Siである。なお、比色法によるSiの定量については妨害元素等が多いため参考値として取り扱うことが望ましい。



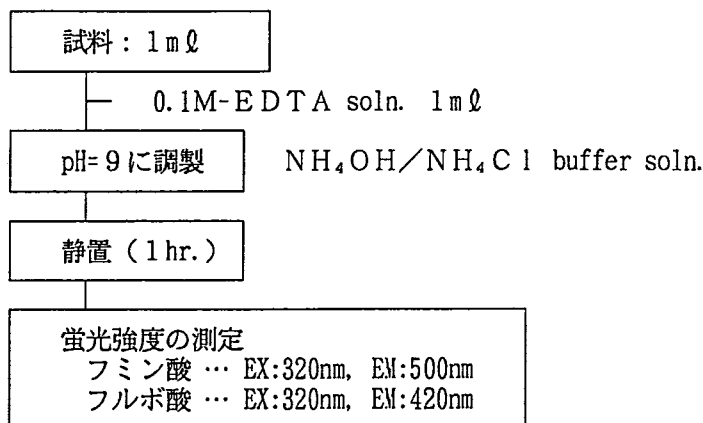
第3-12図 ICPによるSiの定量操作概略



第3-13図 比色 (モリブデン黄法) によるSiの定量操作概略

### (15) フミン酸およびフルボ酸

深層地下水および河川水試料についてフミン酸およびフルボ酸の定量を松田ら(1979)の方法を一部改編して求めた(第3-14図参照)。すなわち、試料1mℓに対して0.1M-EDTA溶液を1mℓ、アンモニア水-塩化アンモニウム緩衝溶液によりpHを9に調製し1時間静置した。この溶液に対して励起波長320nmにおいてフミン酸(500nm)およびフルボ酸(420nm)のそれぞれの蛍光強度を測定した。標準試料としては、フミン酸の定量は和光純薬製のフミン酸を精製したものを使用した。また、フルボ酸は東京化成のリグニンスルホン酸ナトリウムを標準試薬とした。蛍光光度計は日本分光製821-FPを使用した。



第3-14図 フミン、フルボ酸の定量操作概略

#### a) フミン酸およびフルボ酸の精製方法

現在、日本で入手可能なフミン酸の標準試薬は和光純薬製およびAldrich Chemical Co., Inc製のものが代表的である。このようにして入手したフミン酸標準試薬について、定量・定性分析に使用する際には以下のことについて考慮しなくてはならない。

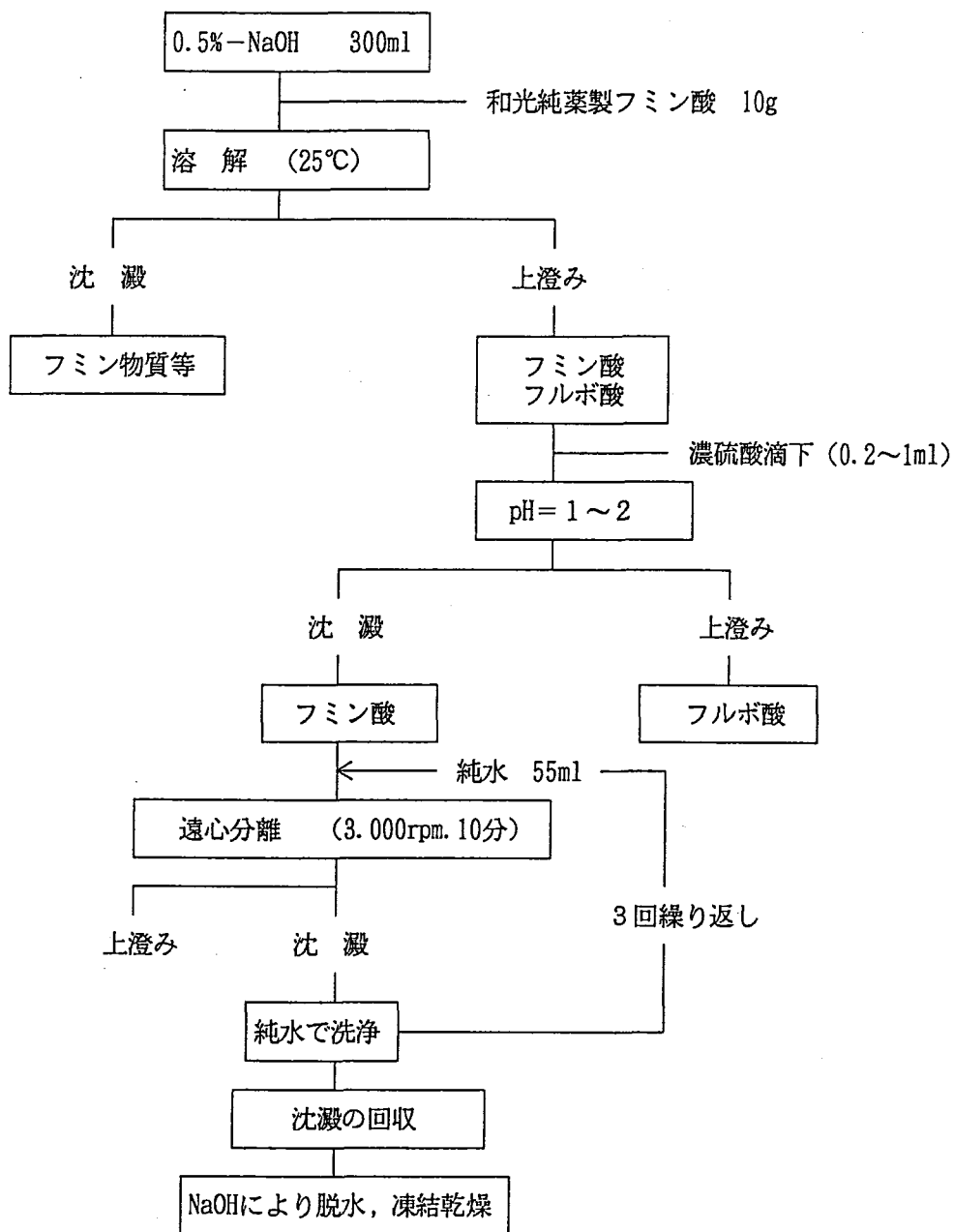
和光純薬が市販しているフミン酸には、目的とするフミン酸以外に、Ca, Mg等の金属、フミン酸、フルボ酸以外の物質(いわゆるフミン物質)等が混入している可能性が高い。一方Aldrich Chemical Co., Incのものは、混入する金属をNaで置換した物であるが、その他の不純物質については和光純薬のものと同等と思われる。いずれにしても、以上の理由によりフミン酸として業者から購入した試薬については使用に際してフミン酸のみを精製する事が必要となってくる。

例えば、ある地域の溶存態フミン酸を定量する時は、目的とする土壌もしくは水を採取し、そこからフミン酸を抽出して標準試料とする事が望ましい。しかしながらフミン酸抽出および精製には試料水が大量に必要となるばかりでなく、抽出、精製に国際的に基準化された方法はない。さらに、一つの地域におけるモニタリングでは有効な手段であるが、目的とする地域が多岐にわたるときはデータの標準化の観点からも標準試薬として代表的なものを選択することが望ましいと考えられる。

以上の観点から本試験では和光純薬のフミン酸を第3-15図の方法で精製した物を標準列試料の調製等に用いた。なおリグニンスルホン酸ナトリウムおよび精製したフミン酸のC:H:N含有量(%)は以下のとおりである。

リグニンスルホン酸ナトリウム	C:H:N= 25.3:3.41:0.51
精製フミン酸	C:H:N= 23.0:4.60:0.11





第3-15図 フミン酸の精製方法操作概略

### (16) ウラニンの分析

予め、本調査孔掘削時に掘削水にトレーサーとして添加したウラニンを、採取した地下水の掘削時の汚染の程度を知るための指標として定量した。

試料中のウラニン濃度は蛍光測定により励起波長365nm、測定波長510nmで測定した。ただし、本調査における試料中のウラニン濃度は極めて低く、試料原液の蛍光波長特性からは検出できなかったために、標準添加法によっても測定した。すなわち、試料原液にウラニン濃度が0.05ppb～0.5ppbになるように添加し、最小自乗法により濃度と蛍光強度の関係直線式から、その濃度を求めた。

#### 3.1.3 同位体分析方法

水試料の同位体比分析は $\delta D$ は $H_2$ ガス、 $\delta^{18}O$ は $CO_2$ ガスにして、質量分析計 (Finogan MAT delta-E) を用いて行う。分析試料のガス化への前処理は下記の方法による。安定同位体組成は、 $\delta$  (デルタ) 値で表現され次の式で定義される。単位は‰ (パーミル) で表す。

$$\delta = (R_x - R_{st}) / R_{st} \times 1000$$

x, s t は測定試料および標準試料を示し、Rは対象とする同位体比 ( $D/H$ ,  $^{18}O/^{16}O$ ) である。標準試料としては $\delta D$ ,  $\delta^{18}O$ にSMOW (標準平均海水) が用いられる。

#### (1) $\delta D$

水試料は、ファインピペットを用いて5 $\mu$ lを採取し、反応容器内 (ガラスストップコック付き石英段つき管) で約0.1gの金属亜鉛と、真空下450°Cで反応させ $H_2$ ガスを発生させる。誤差は $\pm 1.5\%$ である。

#### (2) $\delta^{18}O$

5mlの水試料はポリエチレン製注射器内にとり、これに1気圧、30mlの $CO_2$ ガスを市販の $CO_2$ ボンベより導入し、よく振った後一度 $CO_2$ をすてて溶存空気を追い出した後、新しい $CO_2$ をいれる。これを25°C付近の恒温室で6時間以上放置する。この結果水-二酸化炭素間での酸素同位体交換反応により、二酸化炭素ガスは水の酸素同位体比よりも45.15%ほど $^{18}O$ に富む同位体組成に固定される。この二酸化炭素ガスを真空装置を用いて水と空気を取り除いたのち、質量分析計で測定することにより試料水の同位体比を算出する (YOSHIDA AND MIZUTANI, 1989)。誤差は $\pm 0.15\%$ である。

#### (3) $^3H$

2lの水試料は、いったん濾過され蒸留され電解濃縮される。これを繰り返して数mlまで濃縮しパッカド社2550TRI液体シンチレーションカウンターで測定される。定量下限値は0.3TR, 誤差は0.1TRである。

### 3. 2化学分析の結果

#### 3. 2. 1 モニター期間中測定結果

採水区間（深度175.0～177.0m）の地下水が掘削等による水質変化の影響が無くなったと判断出来るまで60ℓの連続採水を地下水のモニター期間とし各種測定を行った。以下モニター期間における測定結果の概要について述べる。

##### (1) 水温

水温は、最高値で17.7℃、最低値で10.6℃、平均で15.9℃、標準偏差は1.4であった。採水開始時の水温は10～11℃であったが、作業の進行とともに上昇し、20回目以降は15～18℃となり安定している。

##### (2) pH

pHは採水開始時に10.18と最も高い値を示し、その後、採水の進行とともに低下し、おおむね9.6～9.8付近を変動している。

##### (3) 電気伝導度

電気伝導度は緩やかな増加傾向がみられる。25℃換算における電気伝導度の平均は0.447(mS/cm)、標準偏差は0.029、最終的には0.457(mS/cm)であった。25℃における電気伝導度の換算は以下の式に準じた。

$$(EC \times (25 - t) \times 2 / 100) + EC$$

ただし EC: 電気伝導度の測定値  
t: 測定時の水温(℃)

##### (4) 酸化還元電位

酸化還元電位の連続測定結果をみると、採水開始時に連続的な正のピークが見られるもののその後、徐々に減少していく。また採水回数80回以降はサンプリングボトルをアルゴンガスによりパージし採水に供したところ、約40mVの減少が確認された。なお、Ehの算出は第3-7表より以下の式に従って算出した。

第3-7表 比較電極の電位

温度(℃)	電位(mV)
5	221
10	217
15	214
20	210
25	206
30	203
35	199

$$Eh(mv) = -(t - 10) \times 0.6 + 217 + ORP$$

ただし t: 測定時の水温(℃)  
ORP: 酸化還元電位の測定値

モニター測定結果を第3-8表に示す。また水温、pH、電気伝導度、酸化還元電位の統計計算結果を第3-9表に示す。水温、pH、電気伝導度、酸化還元電位の測定結果を第3-16図に示す。なお、水温は採取直後の水温を記載し、水温による補正が必要な項目に関しては、測定時の水温により補正を行った物を示す。

第3-8表 モニター測定結果

採水回数	採水時間(分)	採水量(ℓ)	累計(ℓ)	水温(℃)	pH	ORP(mV)	Eh(mV)	EC(mS/cm)	EC(25°)(mS/cm)	備考
1	30	0.5	0.5	10.9	10.18	122	338	0.332	0.426	分析
2	15	0.5	1.0	10.9	9.87	144	360	0.264	0.338	
3	20	0.5	1.5	10.6	9.93	182	398	0.247	0.314	
4	20	0.5	2.0	11.5	9.91	208	424	0.249	0.314	
5	20	0.5	2.5	11.9	9.93	185	399	0.278	0.336	
6	20	0.5	3.0	13.5	9.59	145	357	0.314	0.359	
7	20	0.5	3.5	14.5	9.59	145	357	0.322	0.366	
8	20	0.5	4.0	15.5	9.69	129	341	0.330	0.374	
9	20	0.5	4.5	15.5	9.72	140	353	0.331	0.385	
10	20	0.5	5.0	15.5	9.34	140	352	0.337	0.384	
11	20	0.5	5.5	13.9	9.83	141	356	0.327	0.400	
12	20	0.5	6.0	14.5	9.84	128	343	0.340	0.419	分析
13	20	0.5	6.5	15.5	9.90	130	345	0.342	0.423	
14	20	0.5	7.0	15.4	9.95	140	354	0.348	0.423	
15	20	0.5	7.5	15.5	10.06	120	335	0.348	0.426	
16	20	0.5	8.0	15.2	9.88	120	334	0.364	0.435	
17	20	0.5	8.5	15.6	9.90	121	335	0.363	0.436	
18	20	0.5	9.0	15.4	9.87	122	334	0.406	0.462	
19	20	0.5	9.5	16.3	9.87	128	340	0.408	0.462	
20	20	0.5	10.0	16.4	9.81	131	343	0.398	0.456	
21	20	0.5	10.5	16.9	10.05	144	356	0.404	0.462	
22	20	0.5	11.0	16.8	10.06	143	356	0.390	0.459	
23	20	0.5	11.5	16.6	9.99	142	358	0.370	0.463	
24	20	0.5	12.0	15.2	9.89	145	360	0.377	0.467	分析
25	20	0.5	12.5	14.5	9.88	144	359	0.378	0.460	
26	20	0.5	13.0	14.2	9.90	141	356	0.378	0.464	
27	20	0.5	13.5	14.5	9.87	143	357	0.376	0.456	
28	20	0.5	14.0	15.2	9.85	145	359	0.376	0.456	
29	20	0.5	14.5	15.6	9.78	147	361	0.395	0.468	
30	20	0.5	15.0	16.6	9.82	144	358	0.381	0.457	
31	20	0.5	15.5	16.3	9.82	144	359	0.373	0.457	
32	20	0.5	16.0	16.5	9.79	145	359	0.385	0.459	
33	20	0.5	16.5	16.6	9.86	146	360	0.386	0.460	
34	20	0.5	17.0	16.5	9.83	147	363	0.347	0.445	
35	20	0.5	17.5	16.1	9.53	141	357	0.347	0.442	
36	20	0.5	18.0	16.5	9.89	141	357	0.350	0.438	分析
37	20	0.5	18.5	16.3	9.84	143	357	0.370	0.450	
38	20	0.5	19.0	16.4	9.15	144	359	0.365	0.449	
39	20	0.5	19.5	16.2	9.83	145	359	0.387	0.460	
40	20	0.5	20.0	16.0	9.73	131	345	0.385	0.457	

第3-8表 モニター測定結果

採水回数	採水時間(分)	採水量(ℓ)	累計(ℓ)	水温(℃)	pH	ORP(mV)	Eh(mV)	EC(mS/cm)	EC(25°)(mS/cm)	備考
41	20	0.5	20.5	16.1	9.54	123	336	0.386	0.455	
42	20	0.5	21.0	16.1	9.54	120	333	0.388	0.457	
43	20	0.5	21.5	16.5	9.84	141	354	0.389	0.455	
44	20	0.5	22.0	16.5	9.61	134	347	0.391	0.457	
45	20	0.5	22.5	16.6	9.64	130	343	0.388	0.453	
46	20	0.5	23.0	17.2	9.54	131	344	0.392	0.453	
47	20	0.5	23.5	16.8	9.54	130	343	0.398	0.463	
48	20	0.5	24.0	15.9	9.78	129	342	0.387	0.457	分析
49	20	0.5	24.5	15.5	9.56	130	344	0.388	0.462	
50	20	0.5	25.0	15.5	9.68	124	338	0.382	0.455	
51	20	0.5	25.5	15.4	9.71	120	334	0.386	0.460	
52	20	0.5	26.0	15.2	9.70	120	334	0.382	0.457	
53	20	0.5	26.5	15.3	9.61	121	335	0.387	0.462	
54	20	0.5	27.0	14.8	9.75	111	325	0.382	0.460	
55	20	0.5	27.5	15.3	9.76	109	323	0.386	0.461	
56	20	0.5	28.0	15.4	9.76	108	322	0.387	0.461	
57	20	0.5	28.5	15.6	9.72	100	314	0.379	0.450	
58	20	0.5	29.0	14.7	9.72	105	319	0.379	0.457	
59	20	0.5	29.5	15.4	9.69	100	314	0.384	0.458	
60	20	0.5	30.0	15.4	9.62	100	314	0.382	0.455	分析
61	20	0.5	30.5	15.1	9.66	98	312	0.381	0.456	
62	20	0.5	31.0	15.7	9.64	99	313	0.387	0.459	
63	20	0.5	31.5	16.2	9.70	95	308	0.389	0.457	
64	20	0.5	32.0	16.0	9.66	98	311	0.388	0.458	
65	20	0.5	32.5	16.3	9.65	95	308	0.392	0.460	
66	20	0.5	33.0	16.0	9.63	90	303	0.388	0.458	
67	20	0.5	33.5	15.7	9.60	88	302	0.387	0.459	
68	20	0.5	34.0	15.7	9.58	87	301	0.387	0.459	
69	20	0.5	34.5	15.0	9.59	91	305	0.381	0.457	
70	20	0.5	35.0	14.7	9.58	91	305	0.379	0.457	
71	20	0.5	35.5	17.3	9.60	92	305	0.398	0.459	
72	20	0.5	36.0	14.2	9.63	93	307	0.372	0.452	分析
73	20	0.5	36.5	14.6	9.64	91	305	0.375	0.453	
74	20	0.5	37.0	15.5	9.65	91	305	0.384	0.457	
75	20	0.5	37.5	17.3	9.67	99	312	0.397	0.458	
76	20	0.5	38.0	16.3	9.65	88	301	0.391	0.459	
77	20	0.5	38.5	16.3	9.76	85	298	0.393	0.461	
78	20	0.5	39.0	16.5	9.75	87	300	0.393	0.460	
79	20	0.5	39.5	17.2	9.64	89	302	0.394	0.455	
80	20	0.5	40.0	17.3	9.64	90	303	0.398	0.459	

第3-8表 モニター測定結果

採水回数	採水時間(分)	採水量(ℓ)	累計(ℓ)	水温(℃)	pH	ORP(mV)	Eh(mV)	EC(mS/cm)	EC(25°)(mS/cm)	備考
81	20	0.5	40.5	17.3	9.72	95	308	0.398	0.459	
82	20	0.5	41.0	17.1	9.73	94	307	0.398	0.461	
83	20	0.5	41.5	17.1	9.74	51	264	0.391	0.453	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
84	20	0.5	42.0	16.8	9.73	55	268	0.394	0.459	Ar <sup>h</sup> °-ジ°, 分析
85	20	0.5	42.5	17.0	9.65	58	271	0.395	0.458	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
86	20	0.5	43.0	17.5	9.68	50	263	0.397	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
87	20	0.5	43.5	17.3	9.63	54	267	0.395	0.456	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
88	20	0.5	44.0	16.0	9.64	55	268	0.384	0.453	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
89	20	0.5	44.5	15.7	9.63	45	259	0.385	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
90	20	0.5	45.0	15.7	9.76	45	259	0.385	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
91	20	0.5	45.5	17.4	9.78	45	258	0.395	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
92	20	0.5	46.0	17.3	9.67	54	267	0.395	0.456	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
93	20	0.5	46.5	17.2	9.68	55	268	0.394	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
94	20	0.5	47.0	17.5	9.52	53	266	0.396	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
95	20	0.5	47.5	15.7	9.12	54	268	0.385	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
96	20	0.5	48.0	17.3	9.68	54	267	0.390	0.450	Ar <sup>h</sup> °-ジ°, 分析
97	20	0.5	48.5	15.6	9.73	55	269	0.384	0.456	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
98	20	0.5	49.0	15.8	9.72	53	267	0.386	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
99	20	0.5	49.5	15.7	9.75	51	265	0.383	0.454	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
100	20	0.5	50.0	15.3	9.63	54	268	0.386	0.461	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
101	20	0.5	50.5	17.2	9.64	55	268	0.395	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
102	20	0.5	51.0	17.2	9.62	49	262	0.394	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
103	20	0.5	51.5	17.3	9.64	48	261	0.397	0.458	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
104	20	0.5	52.0	14.6	9.54	56	270	0.380	0.459	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
105	20	0.5	52.5	15.1	9.62	47	261	0.380	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
106	20	0.5	53.0	15.3	9.70	56	270	0.383	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
107	20	0.5	53.5	17.3	9.73	55	268	0.395	0.456	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
108	20	0.5	54.0	17.5	9.72	51	264	0.387	0.445	Ar <sup>h</sup> °-ジ°, 分析
109	20	0.5	54.5	17.1	9.73	61	274	0.391	0.453	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
110	20	0.5	55.0	17.4	9.67	51	264	0.395	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
111	20	0.5	55.5	17.5	9.63	55	268	0.396	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
112	20	0.5	56.0	16.7	9.67	54	267	0.393	0.458	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
113	20	0.5	56.5	16.3	9.64	55	268	0.395	0.464	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
114	20	0.5	57.0	16.8	9.73	55	268	0.392	0.456	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
115	20	0.5	57.5	17.5	9.72	54	267	0.394	0.453	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
116	20	0.5	58.0	17.5	9.73	51	264	0.396	0.455	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
117	20	0.5	58.5	17.3	9.74	48	261	0.393	0.454	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
118	20	0.5	59.0	15.3	9.77	53	267	0.383	0.457	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
119	20	0.5	59.5	15.2	9.74	54	268	0.380	0.454	Ar <sup>h</sup> °-ジ°
120	20	0.5	60.0	15.4	9.69	55	269	0.379	0.452	Ar <sup>h</sup> °-ジ°

第3-8表 モニター測定結果

採水回数	採水時間(分)	採水量(L)	累計(L)	水温(°C)	pH	ORP(mV)	Eh(mV)	EC(mS/cm)	EC(25°)(mS/cm)	備考	
121	20	0.5	60.5	15.0	9.68	57	271	0.379	0.455	Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>	
122	20	0.5	61.0	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
123	20	0.5	61.5	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
124	20	0.5	62.0	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
125	20	0.5	62.5	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
126	20	0.5	63.0	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
127	20	0.5	63.5	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
128	20	0.5	64.0	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
129	20	0.5	64.5	バクテリア調査サンプリング (1)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
130	20	0.5	65.0	17.5	9.61	57	270	0.394	0.453	Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>	
131	20	0.5	66.0	予備採水							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
132	20	0.5	66.5	ウラン定量用サンプリング							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
133	20	0.5	67.0	ウラン定量用サンプリング							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
134	20	0.5	67.5	ウラン定量用サンプリング							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
135	20	0.5	68.0	同位体分析用サンプリング							
136	20	0.5	68.5	同位体分析用サンプリング							
137	20	0.5	69.0	同位体分析用サンプリング							
138	20	0.5	69.5	同位体分析用サンプリング							
139	20	0.5	70.0	同位体分析用サンプリング							
140	20	0.5	70.5	同位体分析用サンプリング							
141	20	0.5	71.0	同位体分析用サンプリング							
142	20	0.5	71.5	17.7	9.64	45	257	0.395	0.453	Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>	
143	20	0.5	72.0	同位体分析用サンプリング							
144	20	0.5	72.5	同位体分析用サンプリング							
145	20	0.5	73.0	同位体分析用サンプリング							
146	20	0.5	73.5	溶存ガス, 還元物質定量用サンプリング							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
147	20	0.5	74.0	溶存ガス, 還元物質定量用サンプリング							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
148	20	0.5	74.5	溶存ガス, 還元物質定量用サンプリング							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
149	20	0.5	75.0	溶存ガス, 還元物質定量用サンプリング							He <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
150	20	0.5	75.5	溶存ガス, 還元物質定量用サンプリング							He <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
151	20	0.5	76.0	予備採水							
152	20	0.5	76.5	予備採水							
153	20	0.5	77.0	元素定量用サンプリング							
154	20	0.5	77.5	元素定量用サンプリング							
155	20	0.5	78.0	元素定量用サンプリング							
156	20	0.5	78.5	元素定量用サンプリング							
157	20	0.5	79.0	予備採水							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
158	20	0.5	79.5	バクテリア調査サンプリング (2)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
159	20	0.5	80.0	バクテリア調査サンプリング (2)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
160	20	0.5	80.5	バクテリア調査サンプリング (2)							Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>
161	20	0.5	81.0	17.6	9.71	48	260	0.398	0.457	Ar <sup>h</sup> -ジ <sup>*</sup>	

第3-9表 測定値の統計計算結果

測定項目	最高値	最低値	算術平均	標準偏差
水温 (°C)	17.7	10.6	15.9	1.8
pH *1	10.18	9.12	9.69	6.71E-11*3
Eh	424	257	313	39.4
電気伝導度*2	0.467	0.314	0.447	0.029

\*1 pHに関する統計計算はpHを [H<sup>+</sup>] に変換した後、再計算を施した。

\*2 単位はmS/cm 25°C換算

\*3 pHに関する標準偏差は水素イオン変動個数として表記した。

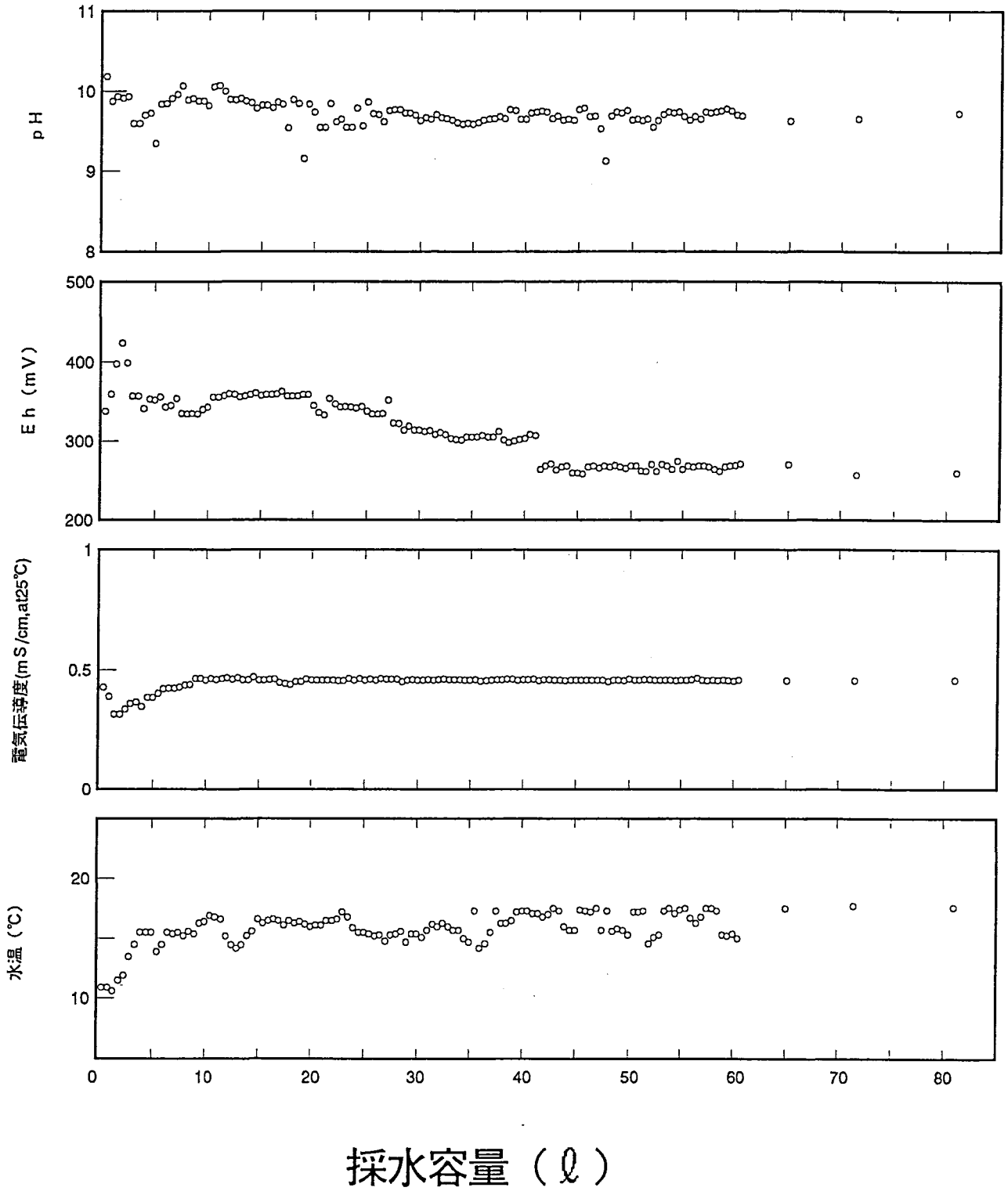
なお、本調査における地下水および河川水の水温、pH、Eh (mV)、電気伝導度の測定値は以下の様に決定し、第3-10表に示す。

第3-10表 本調査における水温、pH、Eh、電気伝導度の測定結果

分析項目	単位	地下水測定値	計算方法	河川水測定値	計算方法
水温	(°C)	15.9	(調査全平均)	8.0	
pH		9.69	(調査全平均)	7.60	(採取時測定)
Eh	(mV)	265	(Ar <sup>+</sup> -シ容器測定平均)	521	
電気伝導度	(mS/cm)	0.447	(調査全平均)	0.141	



地下水モニター期間	Arガスによるパージ	本採水期間
-----------	------------	-------



第3-16図 モニター期間における水温, pH, Eh, 電気伝導度の測定結果

(5) 陽イオン

陽イオンの分析成分はSi, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>の4項目である。各化学成分の変動を第3-17図に示す。採水の進行と共に各成分とも変動してはいるが明確な、増加若しくは減少傾向を示すものはない。SiおよびCaの変動にやや減少傾向がみられる。

(6) 陰イオン

陰イオンの分析成分はF<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>の3項目である。F<sup>-</sup>は採水開始には4ppmあったが、105ℓ（パッカー容量の7倍）以降は定量下限値以下(tr.)となった。F<sup>-</sup>およびHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>には減少傾向が認められる。

これらの結果を第3-11表に示す。これらの結果を第3-18図に示す。

第3-11表 モニター化学成分分析結果

採水量(ℓ)	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54
測定項目										
Si	10	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Ca <sup>2+</sup>	23	39	41	41	41	41	43	42	42	42
Mg <sup>2+</sup>	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3
Na <sup>+</sup>	41	54	53	53	53	53	53	54	54	54
F <sup>-</sup>	0.26	0.38	0.39	0.41	0.39	0.38	0.38	0.39	0.40	0.39
Cl <sup>-</sup>	9.91	12.3	12.6	12.3	12.3	12.5	12.4	12.5	12.5	12.5
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	18.2	6.0	4.5	4.4	4.3	4.5	4.6	4.7	4.7	4.7
ウラン	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr

[濃度の単位は全てmg/ℓ]

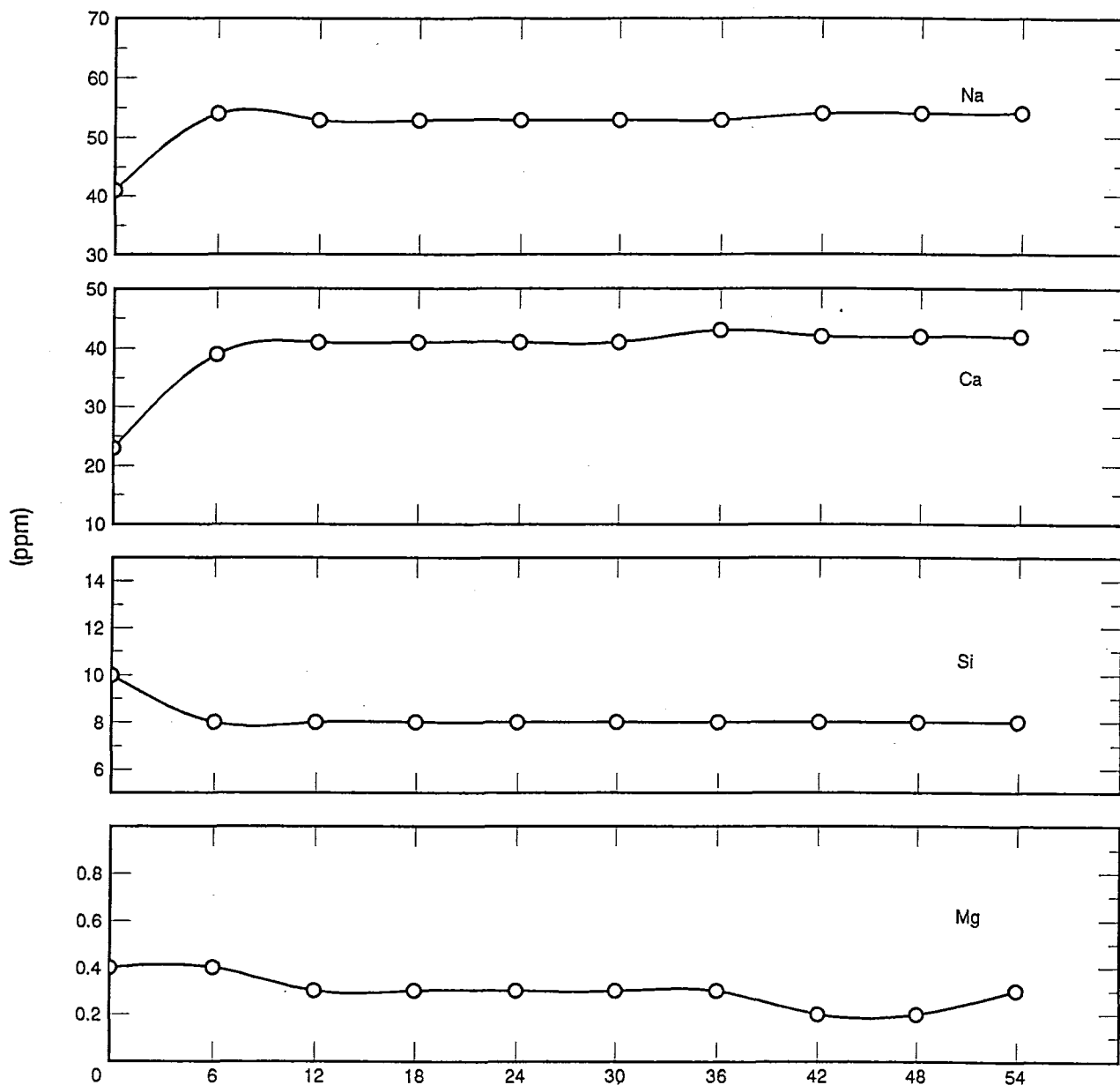
(7) モニター分析のまとめ

ボーリング孔からの地下水採取において生じる最も大きな問題は、掘削方法に起因する地下水の水質変化である。通常ボーリング作業に使用される水は、付近の地表水であり元来地下に存在していた地下水の水質は、ボーリング作業によって大きく変化すると考えられる。

このため、採水区間の地下水が掘削等による水質変化の影響が無くなった地下水を採取するためには、採水区間に残っている孔内滞留水を汲み上げる必要がある。その汲み上げ量がどの程度必要であるかは、地下水位の位置、地層の透水性、ボーリング孔の深度等に影響されるため、一概に決定することは出来ない。そのため、各種モニター分析を行い各測定項目が安定し、今後採水をつづけても変化の無いと予想される時点を、採水区間が汚染の無い地下水に完全に置換されたと判断した。この様な観点に立つと掘削時に添加したウランは、地下環境に化学的変遷をもたらさず、その濃度変化は重要な指標となり得るが、本試験では定量下限以下であった。

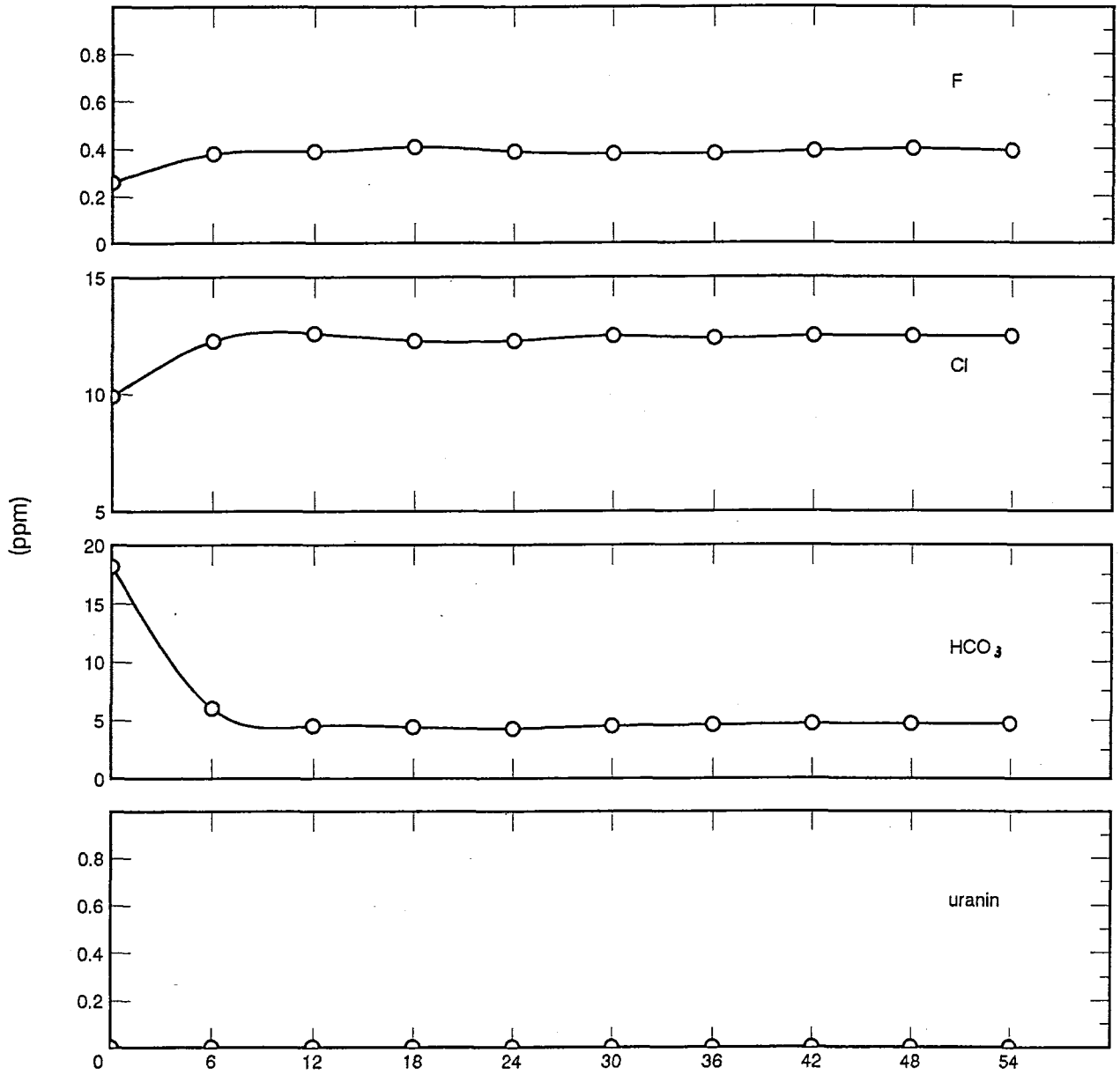
従って、本試験では地下水の電気伝導度、pH、水温、酸化還元電位の変化が認められず、一定の幅におさまっていること、陽イオン、陰イオン濃度に顕著な変動がないことを確認し、採水区間が完全に元来から存在していた地下水で満たされたと判断し、化学分析およびバクテリア調査のための採水を行った。

また、化学分析およびバクテリア調査のための採水に関し、調査開始時、調査中間時、調査完了時に水温、電気伝導度、酸化還元電位、pHの測定を行ったが、何れの結果もモニター期間に得られた測定値と同様の傾向にあり、調査終了まで一貫した同一の地下水を採取し続けたと考えられる。



## 採水容量 (l)

第3-17図 モニター化学成分測定結果 (その1 Si, Na, Ca, Mg)



## 採水容量 (ℓ)

第3-18図 モニター化学成分測定結果 (その2 F, Cl, HCO<sub>3</sub>及びウランin)

### 3.2.2 地下水の化学成分分析結果

前述の様にモニター分析の結果から採水区間が完全に元来から存在していた地下水で満たされたと判断し、化学分析およびバクテリア調査（バクテリア調査の詳細に関しては第4章参照）のための採水を行った。

#### (1) 化学成分の結果

得られた化学成分分析結果の一覧を第3-13表に示す。表中には各分析手法の概略と検出下限値および誤差を示した。

各分析値における検出限界(limit of detection)は以下のように定義した。すなわち、検出限界とは、ブランクまたはバックグラウンドと有意に異なる機器信号(y)を与える濃度といてよい。しかしながらこの有意に異なるという表現に関し専門家や公的団体の間で統一された見識はない。通常分析化学関係の論文の中で使われる検出限界はブランク信号にブランクの標準偏差SBの2倍を加えたものに等しい信号を与える分析種濃度が検出限界の定義として一般に用いられる(J. C. Miller and J. N. Miller., 1991)。

本試験における定量下限値も上記の定義に基づき算出した。つまり、ブランク信号を複数回測定し標準偏差(SB)を求め、ブランク信号に関し2SBを足し、これを検量線から濃度になおしたものを定量下限値とした。ただし、この定量下限値は試料のマトリックス効果を見逃した値であり、各測定項目に対し絶対的な値ではない。本試験の様な比較的高塩分の試料である場合は、試料水中の個々の元素の干渉作用が大きくなるために、測定時のバックグラウンドが高くなる可能性がある。

誤差に関しては試料を数回の測定をし、試料濃度に対する誤差として標準偏差と平均値から変動係数を次式に従って表した。定量下限値以下の測定成分については、最も低い濃度の標準列試料を用い10回測定し算出した。

$$\begin{aligned} \text{標準偏差 SB} &= (\sum(X_i - X_{ave.})^2 / (n-1))^{0.5} \\ \text{平均値 } X_{ave.} &= \sum X_i / n \\ \text{変動係数 CV(\%)} &= S_c / X_{ave.} \times 100 \end{aligned}$$

本試験における各種炭酸化学種の濃度算出のための計算方法を以下に記す。

本試験におけるNDIRによる $\Sigma CO_2$ の定量値は11.2及び35.4(mg/l)である。これはC<sub>セル</sub>濃度に換算すると、それぞれ0.255及び0.805mmol/lに相当する。ここで地下水はpH9.7、水温16.0°C、河川水pH7.6、水温8.0°Cの時の淡水中のH<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>のモル百分率は、0:83.8:16.2及び7.3:92.6:0.1となる。そこで、これらのモル百分率を用い $\Sigma CO_2$ の定量値を分配しH<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>の濃度を計算する事が出来る。

第3-12表 各種炭酸化学種の濃度算出のための計算

	地下水	河川水
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (mg/l)	0.255 × 0.0 × 62 = 0.00 *1	0.805 × 0.073 × 62 = 3.64
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	0.255 × 0.838 × 61 = 12.78	0.805 × 0.926 × 61 = 45.5
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	0.255 × 0.162 × 60 = 2.48	0.805 × 0.0001 × 60 = 0.00483

\*1 C<sub>セル</sub>濃度 × 対象炭酸化学種モル百分率/100 × 対象炭酸化学種分子量

第3-13表 地下水および河川水の化学分析結果一覧

分析項目	単 位	地下水 分析値	変動係数 (%)	河川水 分析値	変動係数 (%)	分析方法	定量下限値
O <sub>2</sub>	mg/L	n. d		-		比色法	0.07
O <sub>2</sub>	mg/L	n. d		7.01	1.6	ウインクラー法	0.8
O <sub>2</sub>	mg/L	n. d		6.5	4.0	GC(TCD)/P&T	0.4
N <sub>2</sub>	mg/L	37.3	3.5	24.8	4.0	GC(TCD)/P&T	0.5
H <sub>2</sub>	mg/L	n. d		n. d		GC(TCD)/P&T	0.2
He	mg/L	n. d		n. d		GC(TCD)/P&T	0.4
CO	mg/L	n. d		n. d		GC(FID)還HS	0.05
CH <sub>4</sub>	mg/L	n. d		n. d		GC(FID)/P&T	0.4
CH <sub>4</sub>	μg/L	-		0.035	4.5	GC(FID)/P&T	0.005
ΣCO <sub>2</sub>	mg/L	11.2	0.8	35.4	0.2	赤外線吸	0.14
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	mg/L	0.00		3.64		* 計算	
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/L	12.78		45.5		* 計算	
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	mg/L	2.48		0.005		* 計算	
TOC	mg/L	0.15	5.6	0.3081	2.6	乾式法	0.14
フミン酸	mg/L	n. d		n. d		蛍光法	0.5
フルボ酸	mg/L	n. d		n. d		蛍光法	1.0
T-Si	mg/L	10.4	0.01	6.4		ICP	0.1
D-Si	mg/L	10.3		6.4		ICP	0.1
SiO <sub>2</sub> -Si	mg/L	13.2	0.01	8.7		比色法	2.5
Na	mg/L	37.7	0.37	8.43	0.87	AAS	0.08
K	mg/L	0.26	2.2	0.14	2.6	AAS	0.05
Li	mg/L	n. d		n. d		ICP	0.09
Ca	mg/L	37.7	0.1	7.56	0.08	ICP	0.04
Mg	mg/L	0.027	1.5	2.48	0.5	ICP	0.08
Sr	mg/L	0.057	1.1	0.02	1.0	ICP	0.03
Al	mg/L	n. d		n. d		ICP	0.04
T-Fe	mg/L	0.053	2.5	n. d		ICP	0.04
D-Fe	mg/L	n. d		n. d		ICP	0.04
Fe <sup>2+</sup>	mg/L	n. d		n. d		比色法	0.04
T-Mn	mg/L	n. d		n. d		ICP	0.01
D-Mn	mg/L	n. d		n. d		ICP	0.01
ΣS <sup>2-</sup>	mg/L	n. d		n. d		滴定法	0.9
ΣS <sup>2-</sup>	mg/L	n. d		n. d		電極法	0.05
F <sup>-</sup>	mg/L	0.18	2.5	0.05	20	蒸留&電極	0.03
F <sup>-</sup>	mg/L	n. d		n. d		HPLC	0.09
Cl <sup>-</sup>	mg/L	11.6	0.5	6.5	1.4	HPLC	0.09
Br <sup>-</sup>	mg/L	n. d		n. d		HPLC	0.07
I <sup>-</sup>	mg/L	n. d		n. d		HPLC	0.06
IO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/L	n. d		n. d		HPLC	0.06
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	mg/L	151.6	0.1	3.8	0.9	HPLC	0.1
T-P	mg/L	0.0029	5.1	0.0038	5.2	比色法	0.001
PO <sub>4</sub> -P	mg/L	0.0015	6.6	n. d		比色法	0.0001
T-N	mg/L	0.179	2.0	0.748	0.2	比色法	0.008
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	0.015	2.1	0.0081	7.0	比色法	0.005
NO <sub>3</sub> -N	mg/L	n. d		0.444	0.6	比色法	0.005
NO <sub>2</sub> -N	mg/L	n. d		0.0004	1.0	比色法	0.0001
Uranin	mg/L	n. d		n. d		蛍光法	

GC:ガスクロマトグラフ; HS:ヘッドスペース法; P&T:パージアンドトラップ法; FID:水素化炭イオン化検出;  
TCD:熱伝導度検出; AAS:原子吸光光度法; HPLC:高速液体クロマトグラフ; ICP:イオン結合プラズマ  
T:NON FILTER; D:0.2μm FILTER; n. d.:検出下限値以下

試料溶液は電氣的に中性であり、陰イオンと陽イオンの電荷の総計はつり合うはずである。実際には分析誤差等もあるため以下の式によって確認する(田村, 1988)。

$$|\Sigma_{\text{ANION}} - \Sigma_{\text{CATION}}| \leq (0.1065 + 0.0155 \Sigma_{\text{ANION}})$$

本試験の結果は、以下のとおりであった。

第3-14表 地下水および河川水のイオンバランス

	$\Sigma_{\text{ANION}}$	$\Sigma_{\text{CATION}}$	$ \Sigma_{\text{ANION}} - \Sigma_{\text{CATION}} $	$0.1065 + 0.0155 \Sigma_{\text{ANION}}$
地下水	3.54	3.70	0.16	0.161
河川水	1.00	0.95	0.05	0.122

(2) 同位体分析結果

同位体分析結果を第3-15表に示す。

第3-15表 地下水および河川水の同位体分析結果一覧

測定項目	試料		測定方法
	深層地下水	河川水	
$\delta D$ (‰)	-66.5	-51.4	亜鉛バッチ法
$\delta^{18}O$ (‰)	-10.4	-8.9	水-二酸化炭素ガス交換法
$^3H$ (TU)	$0.30 \pm 0.08$	$7.7 \pm 0.1$	液体シンチレーション

### (3) イオンクロマトグラフィーによる陽イオンの定量

本試験では、予備実験として、最も現地調査に対応するであろうイオンクロマトグラフィーによりNa, K, Mg, Ca, 及びLiの分離定量を行った。その際の分析条件を第3-16表に示す。

第3-16表イオンクロマトグラフィーにおける分析条件

#### 1価カチオン (Na, K, Li) の分析条件

カラム カラム温度	Shim-pack IC-C1 40°C
移動相	5mM 硝酸
流量	1.5 mL/min
検出器	Shodex (昭和電工製)

#### 2価カチオン (Ca, Mg) の分析条件

カラム カラム温度	Shim-pack IC-C1 40°C
移動相	4mM 酒石酸 2mM エチレンジアミン
流量	1.5 mL/min
検出器	Shodex (昭和電工製)

今回は予備試験として定量を行った元素は、全てアルカリ金属でありイオン化傾向が比較的高く、試料採取時の雰囲気によって化学形が変化する恐れが小さい。これらの元素は、ポリ瓶等への吸着、及び測定時における共存元素による妨害に注意を払さえすれば、正確に定量することが可能な元素である。換言するならば、現地で定量分析しなくとも、信頼性に関し大きな問題はない。しかしながらイオンクロマトグラフィーの良い点として、ICP, AAS等に比較し軽量で、測定に際しガスを使用する必要が無い点、Fe<sup>2+</sup>などの現地での迅速な分析の望ましい還元性物質に対応が可能である等を考慮すると現地モニター分析等には使用可能であると考えられる。実験結果を第3-17表に示す。

本試験では、Na以外のイオンクロマトグラフィーによる各成分の定量値については、ほぼAAS, ICP等と同様の結果を得る事が出来た。炎光分析を行う際に、注意を払わなくてはならない事の一つに、共存成分によるピークの変動である。一方、クロマトグラフィー法における共存成分による妨害は、ディテクションタイムが重ならない限り少ないと考えられる。従って、高塩分濃度を持つ地下水の分析に関しては、イオンクロマトグラフィーの使用も、考慮に入れる必要があると考えられる。

第3-17表 イオンクロマトグラフィーによる陽イオンの定量結果

No.	分析項目	単位	地下水		河川水	
			分析値	±標準偏差	分析値	±標準偏差
1'	Na	mg/L	41.99	± 0.0903	8.620	± 0.0668
2'	K	mg/L	0.262	± 0.0208	0.260	± 0.0408
3'	Li	mg/L	n. d		n. d	
4'	Ca	mg/L	38.767	± 0.3399	7.447	± 0.0929
5'	Mg	mg/L	n. d		2.740	± 0.0455

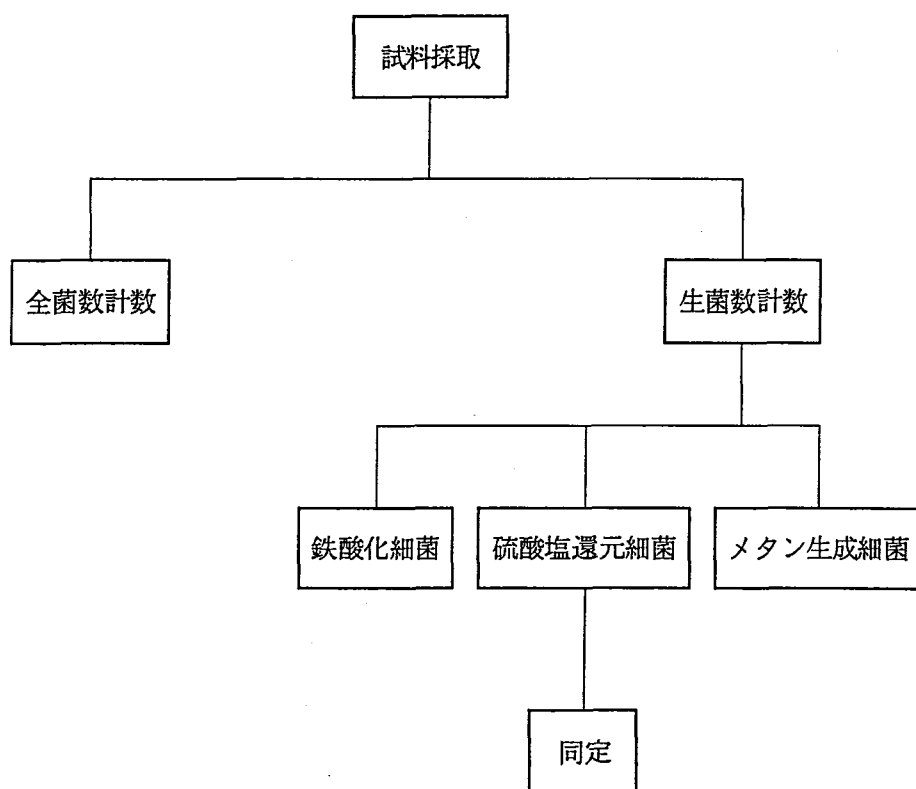


#### 4. バクテリア調査の方法及び結果

##### 4.1 バクテリアの調査方法

###### 4.1.1 調査フローシート

調査のフローシートを第4-1図に示す。本調査では、地下水と地表水各1件ずつ計2件の試料について実施した。



第4-1図 バクテリア調査フローシート

#### 4.1.2 全菌数計数

全菌数の計数は、Hobbieら(1977)が示したアクリジンオレンジ染色法に準拠し行った。その方法は以下の通りである。

直径25mmのヌクレポアーフィルター（ポアサイズ：0.2 $\mu$ m）により試料を濾過し、その後アクリジンオレンジ0.01W/V%溶液により染色した。染色をしてから約30分後に、1試料につき3枚のプレパラートを作製した。次に、蛍光用エマルジョンオイルを用いて、蛍光フィルター（BG12）を付した落射型蛍光顕微鏡（オリンパス光学工業、model BH-RFL）により、倍率1500倍にて計数を行った。この時、アクリジンオレンジで染色された細胞は、蛍光励起によりオレンジないしは青色に発色する。これらの発色が認められるもののうち、明らかにバクテリア細胞と判別できるものについて計数した。従って本法で計数された全菌数は、生菌・死菌に係わらず顕微鏡下で微生物の細胞と認識された全てのものの数である。なお、計数視野は、1枚のフィルターに付き20~40視野とした。

#### 4.1.3 生菌数計数

##### (1) 鉄酸化細菌

鉄酸化細菌のうち *Thiobacillus ferrooxidans* を計数した。

*Thiobacillus ferrooxidans* の計数には、SilvermanとLundgrenの計数培地を使用した。その組成を第4-1表に示す。この培地の調製は以下に記すよう行った。オートクレーブ滅菌（120°C、15分間）した〔A〕液に、 $\gamma$ 線滅菌済みのミリポアフィルター（ポアサイズ0.2 $\mu$ m）により濾過滅菌をした〔B〕液を、無菌的に混合した。

このように調製した液体培地を乾熱滅菌（180°C、4時間）したアルミキャップ付き試験管（30m $\ell$ 容）に約20m $\ell$ 分注し、MPN（5本）法【注1】による計数用培地とした。なお、1試料について2連で培養計数を実施し、希釈段階は5段とした。このように用意した計数用培地に、試料原液あるいは段階希釈試料を10v/v%接種し、試験管ミキサー（ボルテックスミキサー）にて良く攪拌した。培養条件は30°C、暗条件下において振盪培養した。培養期間は1ヶ月とし、培養期間内において培養開始から5、10、15、20、30日目に顕微鏡観察による生育チェックを行った。

本調査試料は、水質測定結果（pHなど）から *T. ferrooxidans* の存在が極めて少ないと考えられ、以上のような常法では、適正な値が求め難いと判断された。そこで、試料の接種量を常法よりも10倍増やし、培養計数をMPN（3本）法により再度実施した。すなわち、500m $\ell$ の三角フラスコに200m $\ell$ の液体培地を分注し、試料原液あるいは段階希釈試料の接種量を20m $\ell$ とした。この時の三角フラスコは、綿栓を施し乾熱滅菌をしたもので、使用した培地及び培養条件はMPN（5本）法の時と同じとした。

##### (2) 硫酸塩還元細菌

MPN（5本）法と二重皿法【注2】の2種類の培養計数手法により、計数を行った。使用した培地はPostgateの培地を一部改変したもので、その培地組成を第4-2表に示す。以下にMPN法及び二重皿法における手順を述べる。

MPN法は、培地に寒天を0.3w/v%添加して半固体培地とし、全量が15m $\ell$ の試験管に培地10m $\ell$ を無菌的に分注して使用した。試料は、培地10m $\ell$ に対して1m $\ell$ の割合で接種し、ピペットの先端を培地中に挿入して空気との接触をできるだけ避けるようにした。接種後、直ちに還元剤としてチオグリコール酸ナトリウムとアスコルビン酸ナトリウムを0.01%添加した1.5%寒天溶液により培地表面をシール、空気との接触を無くし、無酸素状態が保持できるようにした。試料接種が完了した培養試験管を、暗条件下、30°Cで静置培養し、培養開始後、7日目及び14日目に計数を行った。なお、培養計数は、1試料に付き2連で実施した。

二重皿法には寒天を1.5w/v%添加した固体培地を使用した。それ以外はMPN法とまっ

たく同じである。試料の接種量は培地15mℓに対して1mℓである。培養条件もMPN法の時と同様である。なお、培養計数は1試料、1希釈段階につき3枚のプレートを作製し実施した。

MPN法、二重皿法とも試料の希釈の際、希釈水には還元剤を培地と同様の割合で添加した生理食塩水(NaCl 0.85w/v%)を使用した。また、硫酸塩還元細菌の生育は、硫化鉄の生成による培地の黒変及び黒色コロニーの出現により判断した。

### (3) メタン生成細菌

第4-3表に示す組成の培地を用い、MPN(5本)法により培養計数を行った。培養容器にはシリコン栓の付いたガラス製バイアル瓶(120mℓ容)を、アルミシールで密封して使用した。培地の調製手順と計数方法を以下に記す。

第4-3表に示す組成において、ビタミン混液、微量金属溶液及び炭酸水素ナトリウム溶液を除く組成の液体培地を、ガラス製バイアル瓶に分注し、アルミシールにて密封した後に、オートクレーブ滅菌を行った。オートクレーブ滅菌終了後、まだ熱い間に、濾過滅菌したビタミン混液、微量金属溶液及び炭酸水素ナトリウム溶液をシリンジで添加し、その後、流水で冷却しながらバイアル瓶の内部を無菌的に水素/二酸化炭素(20/80)混合ガスで置換した。ガス置換は、クリーンベンチ内において、滅菌済み注射針とγ線滅菌済みミリポアフィルター(0.2μm)を用いて、減圧とガス充填を数回繰り返した。この時、培地に加えたレサズリンの薄赤色が発色していないことを確かめ、完全な無酸素状態であることを確認してから、培養計数に使用した。(ここで、レサズリンは、酸素が存在すると青~紫色を呈し、微好気環境下では薄赤色へと変わり、無酸素環境下では発色しない。すなわち、本培地の場合は透明となる。) 試料の接種及び希釈にはシリンジを使用し、グローブボックス内で作業を行った。なお、希釈液には、培地と等濃度の割合でレサズリンと還元剤を添加した生理食塩水を、培地調製時と同様な滅菌及びガス置換操作により調製したものをを用いた。培養は暗条件下、25℃で静置培養し、培養開始後、30日、45日、60日、80日目に生育の判定を行った。生育の判定は、バイアル瓶のヘッドスペース部におけるメタンガスの有無で行った。メタンガスの定性分析は、ヘッドスペース部のガスをガスタイトシリンジで採取し、FIDを検出器としたガスクロマトグラフィー(島津社製、GC-14A)で行った。ガスクロマトグラフィーの測定条件は、分離カラム: Porapak Q 3m, 温度: 45℃定温, キャリアーガス及び流量: 窒素, 35mℓ/min, とした。

### 【注1】MPN法

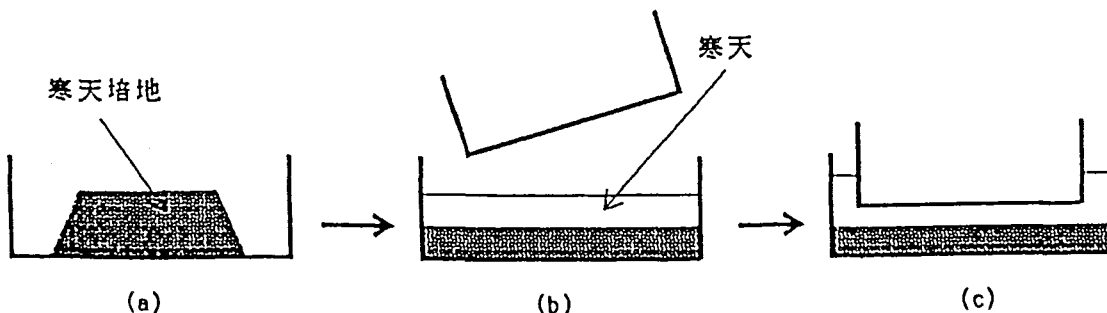
濃度未知の細菌懸濁液を、たとえば10倍の倍率で順次希釈していき、各希釈液の一定量（例：1ml）ずつをそれぞれ培地の入った数本（例：5本）の試験管（培養器）に接種して培養したとする。その結果、 $10^{-5}$ 希釈液を接種したすべての培養器で生育が認められ、 $10^{-6}$ 希釈液では2本生育、 $10^{-7}$ 希釈液では全く生育がなかったとする。つまり、生育のあった培養器本数が $10^{-5}$ - $10^{-6}$ - $10^{-7}$ 希釈で5-2-0（コード）であったとすると、もとの細菌懸濁液濃度は $10^5 \sim 10^6$  cells/mlの間にあることは見当づけられるが、統計的方法によればより正確に推定できる。ここで推定される細菌濃度をMPN（most probable number）と呼ぶ。

### 【注2】二重皿法

被検液の一定量をシャーレ内で寒天培地とよく混合して平板培養を行い、生成したコロニー数を数える平板培養コロニー計数法のうち、第4-2図のような培養を行うものである。この場合、すべての細菌が認められるようなコロニーをつくること、1個の細菌が1つのコロニーをつくることを前提としている。

今回行った二重皿培養法の試料接種手順の概略を、第4-2図で説明する。

- (a) 乾熱滅菌（ $180^{\circ}\text{C}$ ，4時間）処理したガラスシャーレの裏蓋に、温度を $38^{\circ}\text{C}$ に保持した寒天培地15mlを入れる。直ちに試料原液あるいは還元剤を添加した生理食塩水による段階希釈試料を1ml接種し、試料と培地が均一に混合されるように充分混ぜる。このとき気泡を作らないように注意する。
- (b) 試料と混合した寒天培地が固まったら、還元剤を添加し温度を $38^{\circ}\text{C}$ に保持した1.5w/v%寒天溶液15mlを重層する。
- (c) 重層した寒天溶液が固まらない間に、シャーレの残りの一方を寒天に軽く押し付けるようにして密着させる。このように密着させることにより培地表面からの空気（酸素）の供給を閉ざし、培地内を嫌気状態に保持する。



第4-2図 二重皿培養法における試料接種手順の概略

第4-1表 Thiobacillus ferrooxidans計数用培地

[A]	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3.0 g
	KCℓ	0.1 g
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g
	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.01g
	∕Ion Exchanged Water	500 ml
	pH adjusted at 2.0 with H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
[B]	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10.0 g
	∕Ion Exchanged Water	500 ml
	pH adjusted at 2.0 with H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	

第4-2表 硫酸塩還元細菌計数用培地

Yeast Extract(Difco)	1.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
NH <sub>4</sub> Cℓ	1.0 g
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1 g
CaCℓ <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.1 g
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2 g
Sodium Lactate	3.5 g
Agar-(1)	3.0 g
Agar-(2)	15.0 g
∕Ion Exchanged Water	1000 ml
pH adjusted at 7.2 with 1N-HCℓ soln.	

- 注) ・Agar-(1)はMPN法, Agar-(2)は二重皿法の時である。  
 ・培地にはオートクレーブ滅菌後, 還元剤として濾過滅菌したチオグリコール酸ナトリウムとアスコルビン酸ナトリウムを, 各々最終濃度が0.01%になるように添加する。

第4-3表 メタン生成細菌計数用培地

ギ酸ナトリウム	2.5 g
酢酸ナトリウム	2.5 g
メタノール	2.5 ml
CaCl <sub>2</sub>	0.01 g
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.01 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.25 g
システイン塩酸塩	0.2 g
レサズリン	0.001g
イオン交換水	1000 ml
ビタミン混液 <sup>1)</sup>	2.0 ml
微量金属溶液 <sup>2)</sup>	10.0 ml
NaHCO <sub>3</sub> (8% soln.)	65.0 ml

注) ・接種時に還元剤として、新たにシステイン塩酸塩とNa<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>Oの混合液を加える。その方法は、50w/v%システイン塩酸塩及び30w/v%Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>Oの濾過滅菌溶液を、1000mlの培地に対してシリンジで1ml加える。

従って、システイン塩酸塩の最終濃度は、0.02+0.05=0.07w/v%、Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>Oの最終濃度は0.03w/v%となる。

・1)と2)は各々第4-4, 4-5表に示す。

第4-4表 ビタミン混液の組成 (メタン生成細菌用)

チアミン	0.25 g
アスコルビン酸	0.25 g
リボフラビン	0.25 g
ビオチン	0.50 g
ビタミンB <sub>12</sub>	0.06 g
ピリドキシン	0.05 g
葉酸	0.10 g
コリン	0.25 g
p-アミノ安息香酸	0.50 g
／イオン交換水	1000 ml

第4-5表 微量金属溶液の組成 (メタン生成細菌用)

CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.004g
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.004g
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1.0 g
ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.06 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.08 g
Na <sub>2</sub> EDTA	6.0 g
／イオン交換水	1000 ml

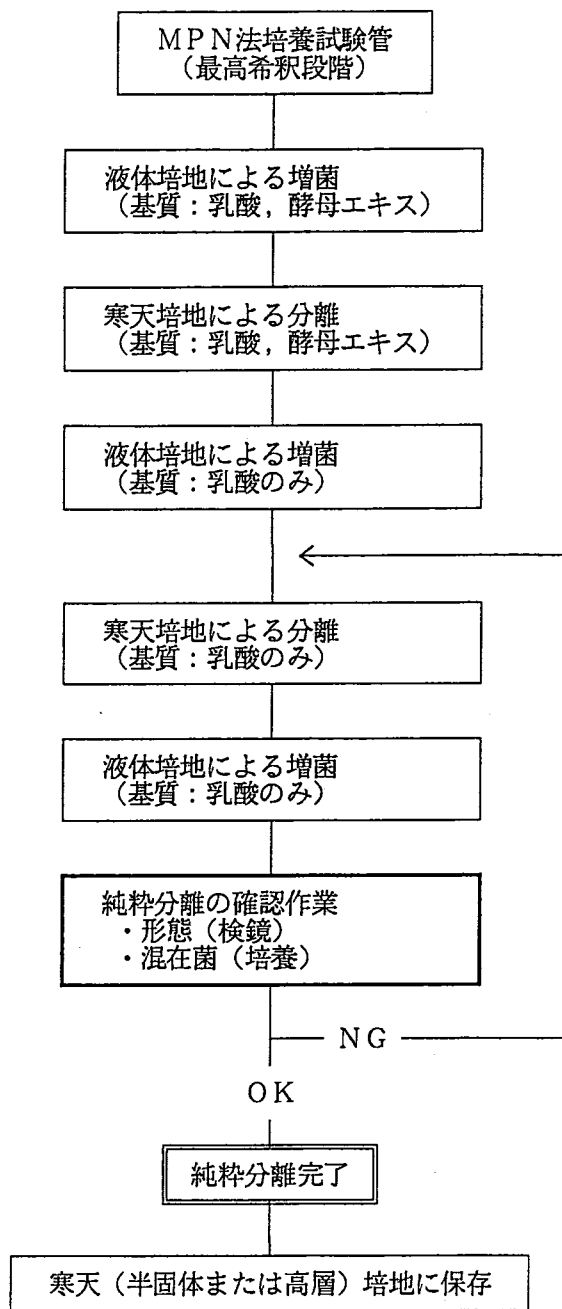
#### 4.1.4 硫酸塩還元細菌の同定

硫酸塩還元細菌の存在が確認された地表水試料から1株分離し、分離株についてその属及び種の同定を行う。ここで、純粋分離は前項目[4.1.3(2)]に示したMPN法による硫酸塩還元細菌の計数の際、最高希釈段階に出現した培養試験管から釣菌して純粋化を行う。従って、得られた分離株は確率的に最も現存量の多い種である可能性が高いと考えられる。このようにして分離された菌株について、形態学的試験と生理学的試験等から属・種の同定を試みた。以下の項目に分離、純粋化から同定にいたるまでの方法を記す。

##### (1) 分離及び純粋化

硫酸塩還元細菌の分離は前項目4.1.3(2)に示したMPN(5本)法において最高希釈段階で出現した試験管の培地の黒変部分をパスツールピペットにより釣菌することから開始する。この試料をPostgateの培地から寒天を除いた組成の液体培地に接種し、暗条件下、30°Cで増菌培養する。増菌させた培養液から1mlを採取し還元剤を添加した生理食塩水に懸濁(希釈)させ、希釈液の1mlを38°Cに保持した固体寒天培地と混合し、シャーレにて嫌気培養(ベクトンディッキンソン社製、ガスパックパウチ)を行う。その後嫌気培養したシャーレ(固体培地)に出現したコロニーを再び液体培地に接種し増菌を行う。ただし、ここから先の段階で用いる培地には粉末酵母エキスは含まれない。これは、共存する従属栄養細菌の増殖を抑え、硫酸塩還元細菌の単一コロニーを得るための配慮である。以後、固体寒天培地と液体培地による培養を繰り返して地表水試料からの純粋株を1株得る(第4-3図に本調査で実施した硫酸塩還元細菌の純粋分離の操作手順を示す)。なお、純粋株が得られたか否かのチェックは他の細菌群との混在のないこと、あるいは同じ硫酸塩還元細菌の複数種の混在のないことについて確認する(第4-6表参照)。すなわち、他の細菌群との混在(共生)については従属栄養細菌、光合成硫黄細菌あるいは化学合成硫黄細菌の混在のないことを培養および顕微鏡観察により確かめる。また、硫酸塩還元細菌の複数種の存在性は顕微鏡観察により形態が単一であることから判断する。





第4-3図 硫酸塩還元細菌の純粋分離の操作手順

第4-6表 硫酸塩還元細菌の純粋化における混在菌(群)の判定

対象細菌群	試験(判定)方法
好気性従属栄養細菌群	Nutrient(Difco社製)培地及び同培地に乳酸(最終濃度30mM)を添加したもので寒天平板培養(30℃, 1~2週間) ▽判定方法: 増殖コロニーの確認
嫌気性従属栄養細菌群	Nutrient(Difco社製)培地及び同培地に乳酸およびブドウ糖(最終濃度30mM)を添加したもので重層寒天によりガスパック嫌気培養(30℃, 2~3週間) ▽判定方法: 増殖コロニーの確認
光合成紅色非硫黄細菌 ( <i>Rhodospirillaceae</i> 科)	BibleとPfennig(1981)の培地(第4-8表参照)で寒天混釈法により嫌気・明培養(30℃, 3週間) ▽判定方法: 増殖コロニーの確認
光合成紅色硫黄細菌 ( <i>Chromatiaceae</i> 科)	PfennigとTruper(1974)の培地(第4-9表参照)で寒天混釈法により嫌気・明培養(30℃, 4週間) ▽判定方法: 増殖コロニーの確認
光合成綠色硫黄細菌 ( <i>Chlorobiaceae</i> 科)	光合成紅色硫黄細菌と同じ
無色硫黄細菌群	光学顕微鏡(400倍)により観察 ▽判定方法: 糸状性細胞の有無

## (2) 同定操作

前項(1)で得られた純粋株に関して、形態学的試験及び生理学的試験等を行い属・種の同定を同定した。さらに同定結果の裏付けとして化学的分類手法(キノプロファイル法)及び遺伝学的手法(GC含量測定)を実施した。以下に試験の内容を記す。

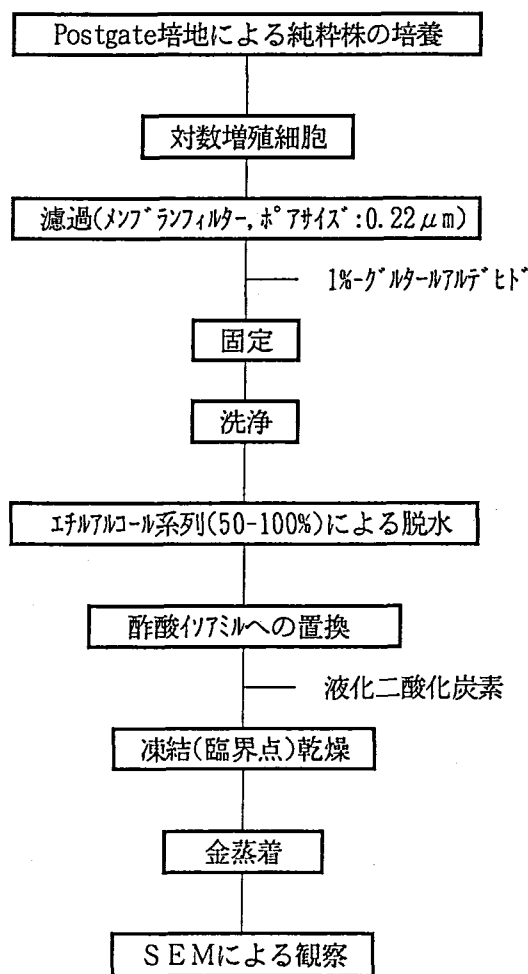
### 1) 形態学的試験

- ① 光学顕微鏡及び電子顕微鏡による細胞の形態観察  
走査型電子顕微鏡(SEM)観察試料の調整手順を第4-4図に示す。
- ② 運動能観察
- ③ グラム染色  
グラム染色の手順を第4-5図に示す。
- ④ 鞭毛観察  
鞭毛染色の手順を第4-6図に示す。
- ⑤ 孢子形成能試験  
孢子形成能試験は、メチレンブルーによる単染色後、検鏡により孢子の形成を観察する。さらに生細胞懸濁液を、85℃で10分間加熱した後、Postgateの培地で培養し、生育の確認を行う。ここで孢子形成能の有る細菌であるならば熱処理後も生育するが、非形成の細菌なら生育しない。

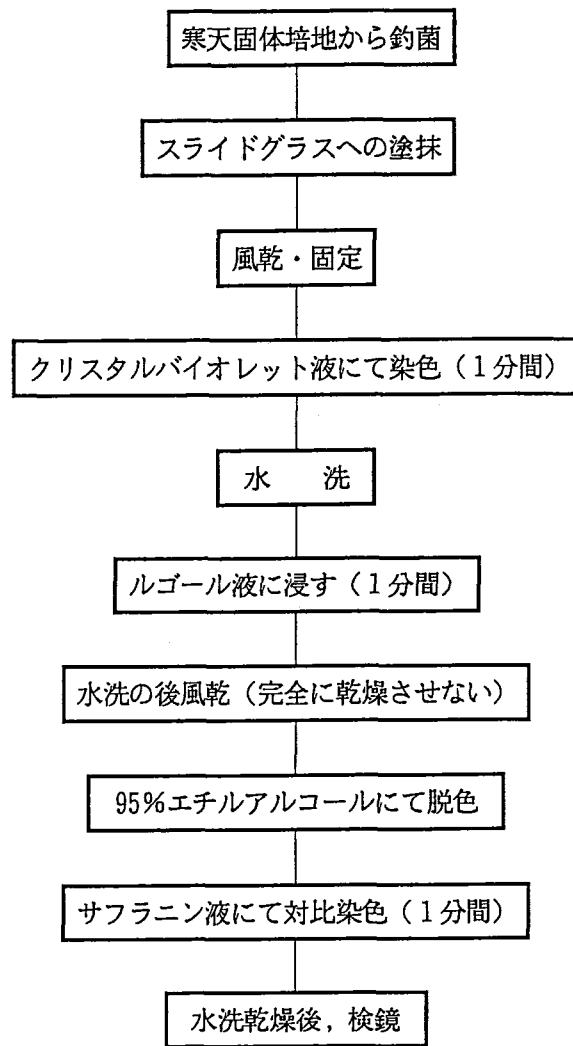
#### 走査型電子顕微鏡観察の手順

分離、純粋化した菌株をPostgate培地(液体)により30℃、暗条件下で培養した細胞懸濁液を走査型電子顕微鏡(SEM)用の試料とする。SEM観察用試料の調製は以下の通りである。

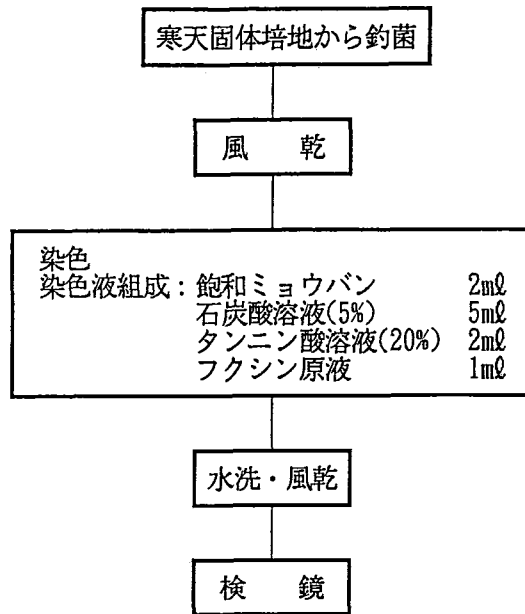
- a 細胞懸濁液の上澄液をメンブランフィルター(ヌクレポアフィルター、ポアサイズ0.22 $\mu\text{m}$ )により濾過し、適量の無菌水で洗浄する。
  - b 続いてフィルター上に集めた細胞試料を1%グルタルアルデヒド(0.2Mリン酸緩衝液によりpH7.2に調整)で固定し、無菌水で洗浄する。
  - c 得られたフィルターをエチルアルコール系列(50~100%)により脱水を行い、酢酸イソアミル-エタノール(1:1)、酢酸イソアミルを数回通して酢酸イソアミルに置換し、耐圧容器内で液体二酸化炭素により臨界点凍結乾燥を行う。
  - d 凍結乾燥完了後、SEM用試料台に張り付け、真空蒸着装置で金蒸着する。
  - e 以上の操作手順により調製した試料をSEMにより観察し、同時に写真撮影を行う。
- なお、使用したSEMはSIGMA-II(明石製作所製)を、真空蒸着装置にはQuick Co-ater SC-701(SANNYU-DENSHI製)を使用する。また、濾過試料固定用の1%-グルタルアルデヒドは電子顕微鏡用(和光純薬製)のものを使用する。



第4-4図 走査型電子顕微鏡(SEM)観察試料の調製手順



第4-5図 グラム染色の手順



第4-6図 鞭毛染色の手順

## 2) 生理学的試験

### ① 基質資化性（生育に利用できる炭素源の検討）

Postgateの培地から粉末酵母エキス及び乳酸を除き、これらの有機物源のかわりにリンゴ酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、及びブドウ糖を添加した培地で培養を行い生育を観察する。また、硫酸塩の存在しない場合の基質の資化性についても試験を行う。

この場合は、Postgateの培地の硫酸塩と有機物源を除き、かわりにピルビン酸あるいはコリンを添加した培地で培養を行い、生育を観察する。

### ② NaCl 要求性

### ③ 好温性

第4-7表 基質資化性（生育に利用できる炭素源）試験の概要

項目	内容
培養方法 培養容器	スクリーキャップ試験管(20mL) (空気の混入を避けて、培養液を試験管に満し密封)
培地組成	Postgateの培地を基本として、基質炭素及び硫酸塩の組成を変化させる a 硫酸塩の存在下： 乳酸塩 リンゴ酸塩 ギ酸塩 酢酸塩 ブドウ糖 b 硫酸塩の非存在下： ピルビン酸塩 コリン
培養温度等	30°C，暗所，静置
増殖の判定	試験管のまま細胞の懸濁状況を経時的に測定する。 測定は比色計にて、波長660nmの吸光度を調べる。

注) 培地に添加した全ての有機物基質は最終濃度を30mMとする。

### 3) 化学分類手法(呼吸鎖キノンの測定)

キノンは細菌の細胞膜に含まれる呼吸鎖や光合成電子伝達鎖の必須成分である。従って、好気呼吸、嫌気呼吸、あるいは光合成によるエネルギー獲得形式を備えた細菌には全てこの成分が存在する。細菌の呼吸鎖キノンは、ナフトキノン型及びベンゾキノン型に大別され、各々、メナキノンとユビキノンに代表される。このキノン分子種は通常略して表される。すなわち、イソプレレン単位  $n$  個のメナキノン、ユビキノンは各々、MK- $n$ 、Q- $n$  のように表す。近年、真性細菌の属・分類群において、優占キノン分子種は例外なく決まっていることが明らかとされており、例えば、*Paracoccus* はユビキノン (Q-10) を、*Pseudomonas* はユビキノン (Q-8) を優占キノン分子種として持っている。このように細菌の属・種に固有の呼吸鎖キノンは、近年微生物の分類・同定に広く応用されている (Hiraishi, 1988, Dudley, 1980, 平石, 1990)。

本調査においても、地下水試料から分離した硫酸塩還元細菌のキノン分子種の分析を行い、同定の際の情報として採用した。

硫酸塩還元細菌は、*Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfomonas*, *Thermodesulfobacterium*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfobacterium*, *Desulfonema* の10属、約30種から成るが、各々の優占キノン種は属により異なる。すなわち、*Desulfovibrio* の多くはMK-6を、*Desulfobulbus* はMK-5を、その他の属の大部分はMK-7を主に優占キノン分子種として有することが知られている (Collins and Widdel, 1986, Widdel, 1988)。従って、本分離株の優占キノン分子種を分析することにより、属レベルでの同定に関し有力な情報が得られると考えられる。細菌細胞からのキノンの抽出及び分離・定性操作の概略を第4-7図に示す。

4-7図に示したようにキノンの分析は以下の3段階に大別できる。

- ① 測定対象となる細菌の大量培養
  - ② 抽出
  - ③ 分離・定性の操作
- 以下に操作の詳細に付いて記す。

#### ① 測定対象となる細菌の大量培養

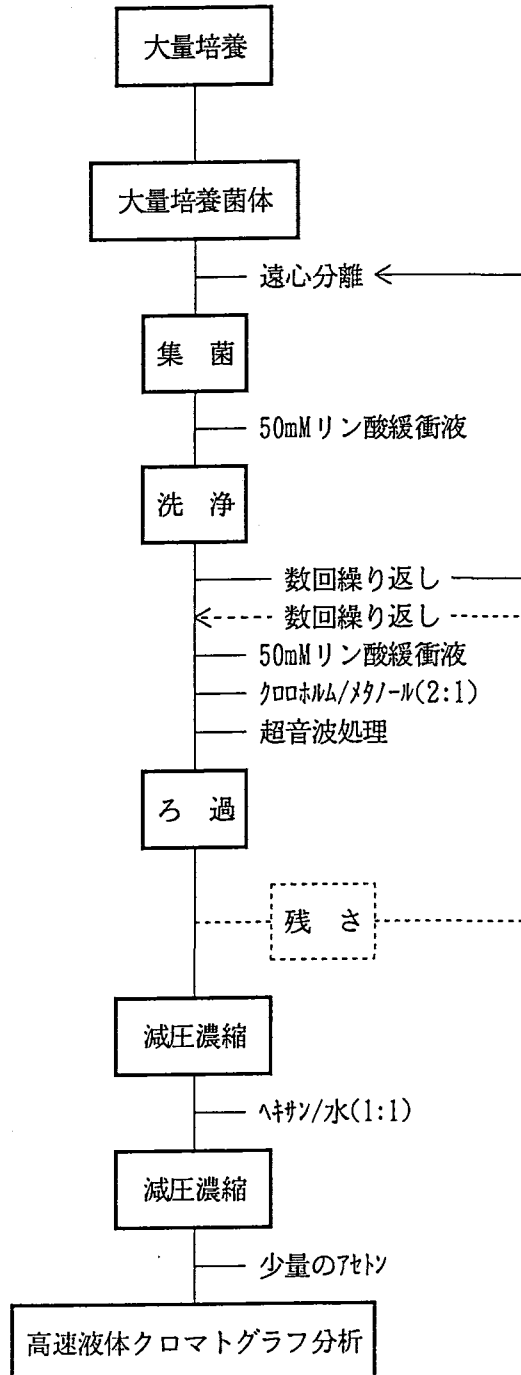
キノンを抽出するためには、細菌細胞が湿重量として約5.0g必要となる。このため純粋株について大量培養を行った。大量培養には製瓶にPostgate培地から粉末酵母エキスおよび硫酸鉄を除いたものを調整し、これと同じ液体培地で前培養(対数増殖期後半にある硫酸還元菌懸濁培養液)を1v/v%の割合で接種し、嫌気・暗条件下、30°Cにおいて約4~8日間培養した。次に大量培養された純粋株の細胞を遠心分離(14,000/rpm, 10min)により集菌し、50mMリン酸緩衝溶液で数回洗浄した後に、フリーザで凍結させ、凍結乾燥器により乾燥させた。ここで得られた乾燥菌体試料をキノン分析に供した。

#### ② 抽出

①で得た乾燥菌体試料を50mMリン酸緩衝溶液(約50ml)に嫌濁させ、この溶液に対して2~3倍量のクロロフォルム/メタノール(2:1, v/v)を加え、超音波処理(2分間)を施し遠心分離後中間層及び下層を回収し、濾紙(東洋社製5B)で濾過し、残渣について同様の抽出操作を数回行う。ここで得られた粗抽出画分にヘキサン、水を1:1の割合で加え抽出し上層を回収する。この抽出操作を数回繰り返す、抽出溶液をエバポレーターで濃縮する。アセトンに濃縮物質を溶解し液体クロマトグラフィーの試料とした。

③ 分離・定性の操作

キノンの分離・定性には紫外外部検出器を備えた高速液体クロマトグラフ(日立分光LC-800)を用いた。HPLCの測定条件は分離カラムにZobax ODS(4.6×250mm), 移動層にはメタノール/イソプロピルエーテル(3:1 v/v), 流速は1ml/分, カラム温度25℃である。各キノンの分子種のピーク同定はスタンダード試料と比較し, そのリテンションタイムにより判断した。



第4-7図 キノン分析操作の概略

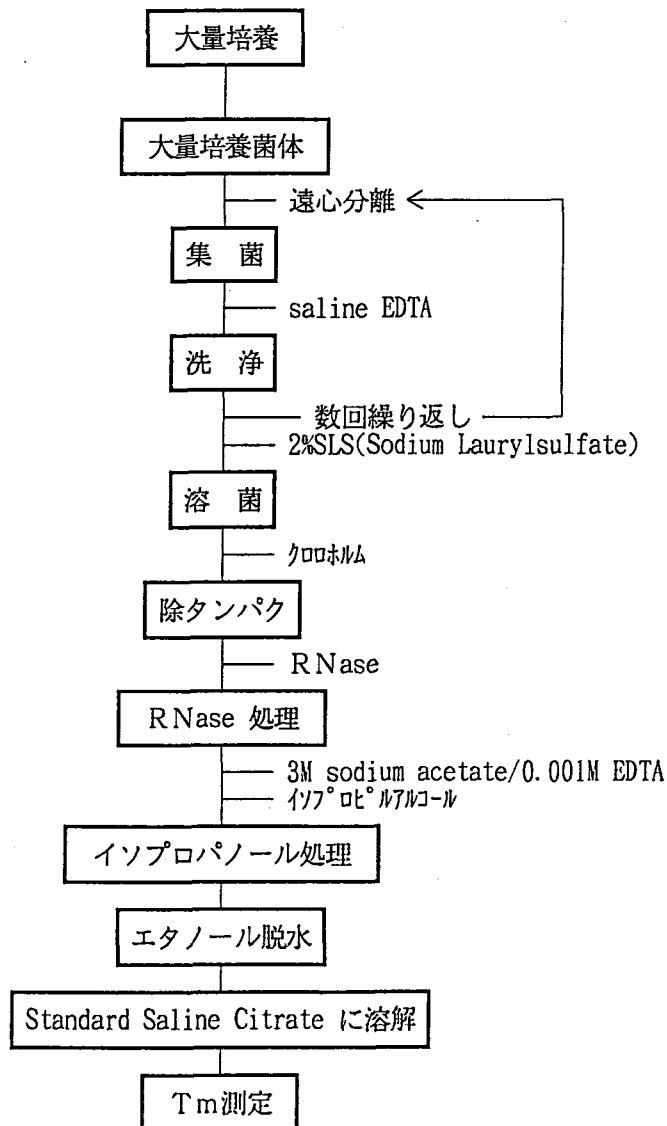


#### 4) 遺伝学的手法 (GC含量測定)

DNA塩基中に占めるグアニン (G) とシトシン (C) の割合は、同じ塩基配列を持つ同一生物間では同じ値となり、類似の塩基配列を持つ生物群では類似の値を示す。しかしながら、GC含量は単にDNA分子中の平均塩基組成比を示すに過ぎないことから、全く異なる生物間 (類縁性がない種間) でも同じGC含量値を示すことがある。従って、多くの表現形質が同じで且つGC含量も同じの場合に、はじめて分類学的に同じグループに包含できる。すなわち、従来の細菌分類体系で用いられている形態学、生理学的な情報の裏付けとしてGC含量の測定結果を用いることが望ましい。このように遺伝学的 (GC含量測定結果) 情報を利用することにより、より信頼性の高い同定が可能になるが、データの取扱いには注意を要する。本調査においても、上述した概念に基づき、GC含量の測定結果を半ば補助的な情報として取り扱うこととする。

DNAの抽出・精製操作の概略(駒形, 1985, 金子, 1985)を第4-8図に示す。DNAの熱変性曲線から全吸収増加の50%にあたる温度を変性温度(T<sub>m</sub>)と呼ぶが、これよりGC含量は次式で求まる。

$$GC \text{ 含量 } (GC \text{ mole} \%) = (T_m - 69.3) / 0.41$$



第4-8図 DNAの抽出・精製からGC含量測定までの手順概略

第4-8表 光合成紅色非硫黄細菌用培地

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.5 g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0.6 g
$\text{NH}_4\text{Cl}$ <sup>1)</sup>	1.0 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ <sup>2)</sup>	0.2 g
$\text{NaCl}$	0.2 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.05 g
Yeast Extract	0.1 g
Sodium Acetate	1.0 g
微量元素混液 <sup>3)</sup>	1.0 ml
ビタミン混液 <sup>4)</sup>	1.0 ml
イオン交換水	1000 ml
pH = 7	

- 1), 2) 原法では硫酸塩を用いるが、硫酸塩還元細菌の生育を抑えるために塩化物を使用した。
- 3) 第4-10表を参照
- 4) 第4-11表を参照

第4-9表 光合成硫黄細菌用培地

[基礎培地]	
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.0 g
$\text{NH}_4\text{Cl}$	1.0 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.2 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.05 g
微量元素混液 <sup>1)</sup>	1.0 ml
ビタミン混液 <sup>2)</sup>	1.0 ml
イオン交換水	1000 ml
[紅色硫黄細菌]	
1N-HCl	0.3 ml
8%- $\text{NaHCO}_3$ <sup>3)</sup>	0.5 ml
2%- $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	1.0 ml
基礎培地	18.2 ml
[綠色硫黄細菌]	
1N-NaOH	0.05 ml
8%- $\text{NaHCO}_3$ <sup>3)</sup>	0.5 ml
2%- $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	0.25 ml
基礎培地	19.2 ml

- 1) 第4-10表を参照
- 2) 第4-11表を参照
- 3) 濾過滅菌後使用

第4-10表 微量元素溶液の組成 [光合成細菌用]

EDTA-2Na	2000 mg
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2000 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	100 mg
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	100 mg
ZnCl <sub>2</sub>	100 mg
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	100 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	20 mg
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	20 mg
CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	10 mg
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	1 mg
イオン交換水	1000 ml

第4-11表 ビタミン混液の組成 [光合成細菌用]

チアミン-HCl	50 mg
ナイアシン	50 mg
p-アミノ安息香酸	30 mg
ビタミンB <sub>12</sub>	5 mg
ピリドキシン-HCl	10 mg
ビオチン	5 mg
イオン交換水	100 ml

## 4.2 バクテリア調査結果

### 4.2.1 種々細菌数計数結果

本調査において得られた種々細菌の現存量の一覧を第4-12表に示す。またMPN（5本）法における硫酸塩還元菌の最確数(MPN CODE)を第4-13表に示す。

第4-12表 各種細菌数計数結果

項目	単位	試料名称		計数方法
		地下水	地表水	
全菌数	cells/mℓ	$3.2 \times 10^1$	$4.3 \times 10^4$	AODC法
鉄酸化細菌	MPN/mℓ	N. D. *1	N. D. *1	MPN法
硫酸塩還元細菌	CFU/mℓ	N. D. *2	N. D. *2	二重皿法
	MPN/mℓ	N. D. *3	$0.8 \times 10^0$	MPN法
メタン生成細菌	MPN/mℓ	N. D. *4	N. D. *4	MPN法

\*1  $<2.0 \times 10^{-2}$ MPN/mℓ

\*2  $<1$ CFU/mℓ

\*3  $<2.0 \times 10^{-1}$ MPN/mℓ

\*4  $<4.0 \times 10^{-2}$ MPN/mℓ

第4-13表 硫酸塩計数時(MPN 5 本法)の陽性本数

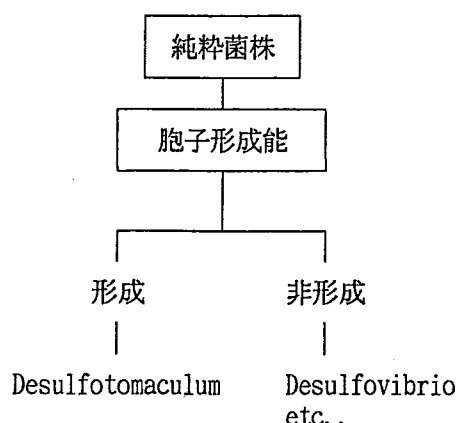
希釈倍率	1	10	100	1000	10000	MPN CODE	菌数 (MPN/mℓ)
河川水(1)*6	3	0	0	0	0	8	$0.8 \times 10^0$
河川水(2)	3	0	0	0	0	8	$0.8 \times 10^0$
地下水(1)	0	0	0	0	0	0	n. d.
地下水(2)	0	0	0	0	0	0	n. d.

\*6 (1),(2)は同一サンプルである。

#### 4. 2. 2 硫酸塩還元細菌の同定結果

##### 1) 孢子形成能試験

深層地下水より純粋分離した硫酸還元菌1株について以下の手順により、属名を決定した(第4-7図)。硫酸還元菌は先ず孢子形成能により大別されており、孢子非形成群はDesulfovibrio, Desulfomonas, Thermodesulfobacterium, Desulfobulbus, Desulfobacter, Desulfococcus, Desulfosarcina, Desulfobacterium, Desulfonemaと判断することができる。本菌株について孢子形成能の有無を顕微鏡観察により調べた。結果として孢子形成能が無いことが明らかとなった。このことにより本菌株はDesulfotomaculumではないことが明らかとなった。



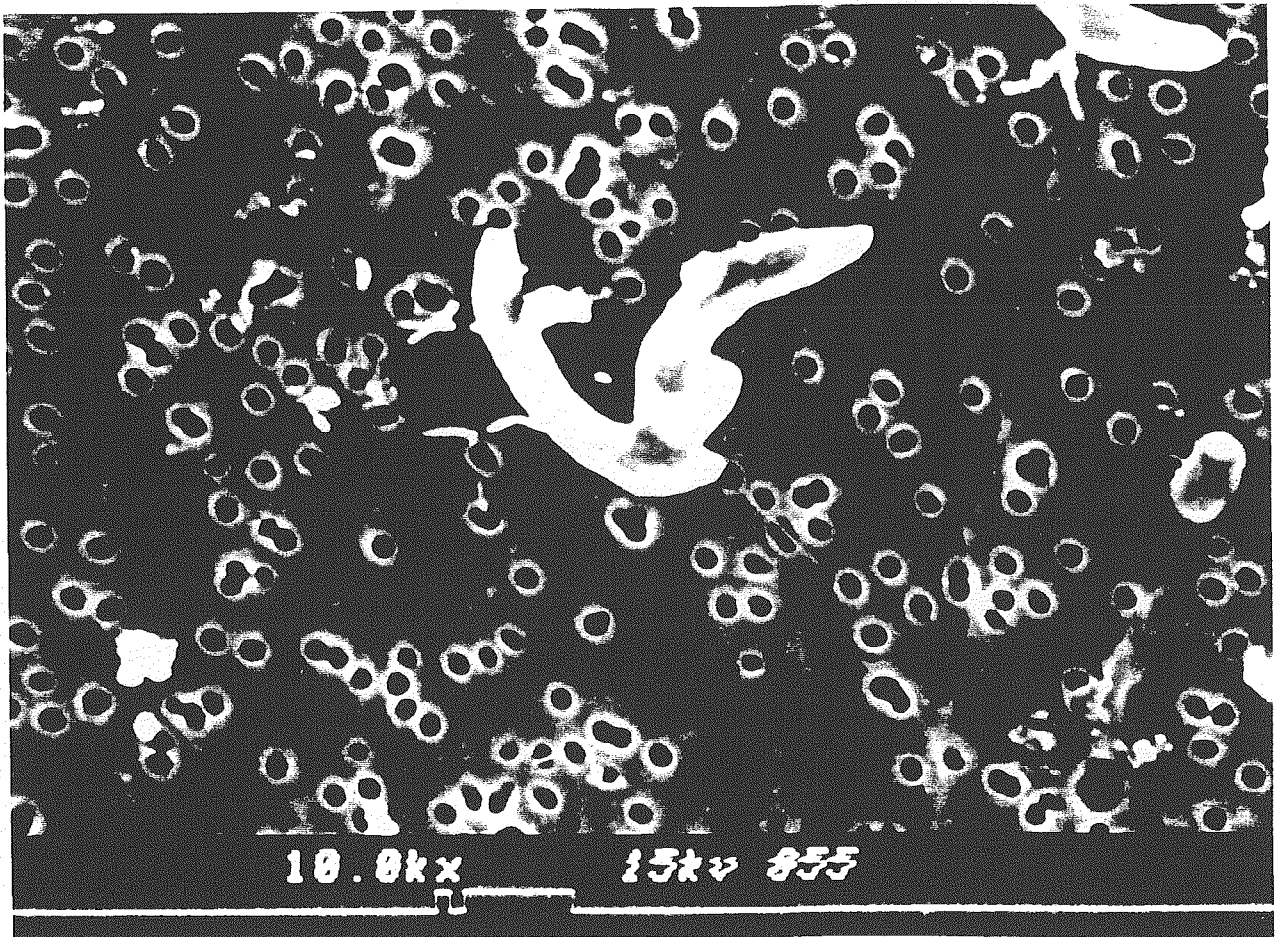
第4-9図 属の同定手順

##### 2) 形態学試験

本分離菌株の形態的特徴は、第4-10図に示した電子顕微鏡写真から明確なように、ピブリオ型である。別におこなった鞭毛観察では短極毛が観察された。また、生菌の顕微鏡観察において運動性が観察された。このことから本菌株はDesulfovibrio属の一種あるいはDesulfobacter curvatusの可能性が高いことが示唆された。

##### 3) 種の同定

本菌株の形態、生理学的試験をおこなった結果について第4-14表に示す。なお、第4-13表にはDesulfovibrioに属する代表的な種およびDesulfobacter curvatusについてBergey's Manual 8th Edition (1974), Postgate (1979)およびWiddel(1988)の記述から引用したデータを比較の為に併記した。第4-14表から明らかなように本菌株は、形態学的、生理学的および遺伝子学的にもDesulfovibrio desulfuricansであることが示唆された。



第4-10図 河川水試料から純粹分離した硫酸還元菌  
の走査型電子顕微鏡写真

第4-14表 形態、生理および遺伝学的試験結果一覽

本菌株	Desulfobacter curvatus	Desulfovibrio desulfuricans	Desulfovibrio desulfuricans subsp. aestuarii	Desulfovibrio vulgaris	Desulfovibrio salexigenus	Desulfovibrio africanus	Desulfovibrio gigas
形態	ビブリオ型	ビブリオ型	ビブリオ型	ビブリオ型	太いビブリオ型	シグモイド型	らせん型
幅(um)	0.5~1	0.5~1	0.5~1	0.5~1	0.5~1	0.5	1.2~1.5
長さ(um)	1.5~4	3~5	3~5	3~5	3~5	5~10	5~10
鞭毛	束毛	単極毛	単極毛	単極毛	単極毛	束毛	束毛
グラム染色	-	-	-	-	-	-	-
①基質資化性 (with sulfate)							
乳酸塩	+	+	+	+	+	+	+
リンゴ酸塩	+	+	?	+	+	+	-
ギ酸塩	+	±	±	±	±	±	±
酢酸塩	-	-	-	-	-	-	-
ブドウ糖	-	±	±	-	?	?	?
②基質資化性 (without sulfate)							
リンゴ酸塩	-	-	-	-	-	-	-
ピルビン酸塩	+	+	+	-	-	-	-
コリン	+	+	+	-	-	-	-
NaCl 要求性	-	-	+	-	+	-	-
優占キノン種	MK-6	MK-6	MK-6	MK-6	MK-6	MK-6	MK-6
G + C mole%	53.8	55.3 ± 1	55.3 ± 1	61.2 ± 1	46.1 ± 1	61.2 ± 1	60.2

## 5. 考察

### 5.1 地下水の年代

地下水中のトリチウム分析の主たる目的はその滞留時間の推定にある(近藤ら, 1983)。トリチウム(T)はHTOの形で普通の水素とともに水分子を形成している。一般的にトリチウムによる年代測定は60年が限度であるといわれているが、よく知られているように大気中のトリチウム濃度は1952年以後の大気中における熱核爆発実験によって急激に増加し、1963年には最大値が観測されている。そして1992年現在ではほぼ天然レベルの5~10TUまで回復している(本試験における河川水のトリチウム濃度は $7.7 \pm 0.1$ TUであった)。

本試験でえられたトリチウム濃度は $0.30 \pm 0.08$ と低く、トリチウムによる年代の推定の手法が適応できる最低ラインと言えるであろう。つまり、本試験で採取した地下水は、1952年から始まった大気圏内の核実験の影響が認められず、少なくとも40年以上前から地下に停滞していたといえる。なお、降水中のTUは経年変化の他に季節変動が認められ、暖候季に高くなる傾向があるが、核実験の影響のない天然レベルの降水のTUを10と仮定すると本試験中の地下水の年代 $t$ は次式より計算される。

$$t = \frac{T_{1/2}}{\ln 2} \times \ln \frac{N_0}{N}$$

ただし  $T_{1/2} = 12.43$  (年) トリチウムの半減期  
 $N_0 = 0.30$  (TU) 本地下水のトリチウム濃度  
 $N = 10.0$  (TU) 天然レベルの降水のトリチウム濃度(推定値)

上式より求めた地下水の年代は62.8年である。

実際には降水中TU濃度の時間的変動、および滞水層内における分散の効果により多少の誤差が生じるはずである。しかし1952年以後の核実験によるトリチウム異常が地下水に見いだされないことから、少なくとも1952年以前の陸水を起源としていることは明かである。また坑内に停滞していた水が現在とほぼ同じトリチウム濃度であったと仮定するならば(掘削に用いた水は河川水である)本試験で採取した地下水は掘削水による汚染を受けていない水であったと考えられる。

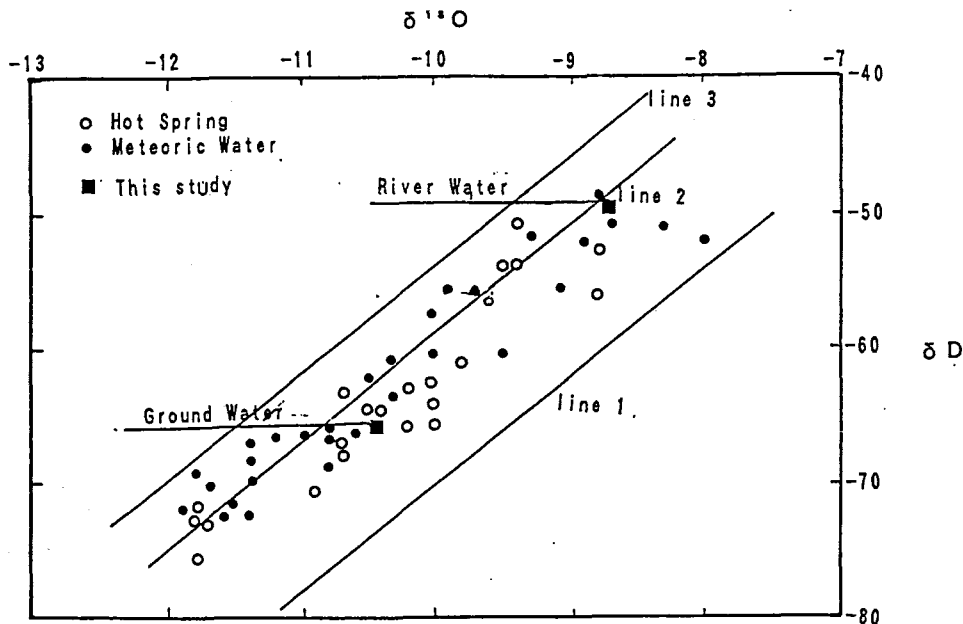
### 5.2 地下水の同位体比

水の構成要素である酸素および水素同位体組成は、水の起源を推定するための有力な情報を提供する。第5-1図に秋田県における天水および天水起源の温泉の $\delta D$ と $\delta^{18}O$ の関係(松葉谷ら, 1983)を比較したものに本試験結果をプロットしたものを示す。グラフ上の直線はそれぞれ以下の意味を表す。

- line 1:  $\delta D = 8 \delta^{18}O + 10$  : 太平洋側の天水の $\delta D$ と $\delta^{18}O$ の関係
- line 2:  $\delta D = 8 \delta^{18}O + 21$  : 秋田県の天水の $\delta D$ と $\delta^{18}O$ の関係
- line 3:  $\delta D = 8 \delta^{18}O + 26$  : 日本海側の天水の $\delta D$ と $\delta^{18}O$ の関係

第5-1図が示す様に、本試験の地下水はline 2上にプロットされる。これは地下水が天水起源であることを示し、水-岩石のあいだで酸素同位体交換を起こしていないことを示している。一方、河川水も同様にline 1とline 3の間にプロットされる。





第5-1図 秋田県における天水の $\delta D$ と $\delta^{18}O$ の関係 (松葉谷ら, 1983)

### 5.3 地下水における酸化還元状態

地下水における化学過程に影響を及ぼす主要な因子として、水温、圧力、酸化還元電位、pH等が挙げられる。地下水の酸化還元状態は、バクテリアによる有機物の微生物学的無機化作用、大気との閉鎖性等によって還元的になると考えられる。一般に土壌の気相中でさえ酸素はほとんど炭酸に変換され、残存している酸素は体積比で0.01%以下であるとされている(浅見, 茅野, 1983)。

今回、地下水分析項目に $IO_3^-$  ( $I^-$ ,  $IO_3^-$ の分別定量)を測定項目に入れた理由としては、以下の理由が挙げられる。

- 1) 無酸素下の状態でウインクラ法による試薬添加を行ったところ褐色沈澱が生成しなかった。(溶存酸素の欠乏)
- 2) 酢酸カドミウムを添加したところ黄色沈澱が生成しない( $S^{2-}$ の溶存はない)。

以上の事から地下水に含まれる酸化還元対化学種は $O_2-H_2O$ 系と $SO_4^{2-}-HS^-$ の間に有るものと考えられる。(酸化還元対の濃度がわかれば平衡酸化還元電位の算出が可能である。)

そこで、考えられる酸化還元対化学種は窒素系、ヨウ素系、Mn, Fe系などが挙げられる。ところでMn, Feは酸化還元反応により容易に固層-液層を移動するので、地下水中に痕跡を残さないことが考えられる。従って今回はヨウ素系、窒素系等を用い考察するために測定を行った。

本試験結果から、地下水中に溶存酸素は含まれていないが、 $\Sigma S^{2-}$ は含まず、硫酸塩還元反応までは進行していない。硫酸塩還元よりも高い電位で起こる酸化還元反応にはLiss et al(1973)が示した $IO_3^- - I^-$ 系や硝酸塩還元反応が挙げられるが、硫酸塩還元よりも上位の酸化還元電位において、その化学種を移行させる物質に関しては、定量下限値以下であった。

地下水の酸化還元状態は無機化学的には、大気との遮断、および地下深部からの硫化水素や他の還元物質の過剰な混入、微生物学的には有機物のバクテリアによる初期続成過程によって支配されるが、本調査地の様に地下深部からの物質の過剰な介入が考えにくい地域では、主にTOC含有量によって酸化還元電位が支配されると思われる。TOCの分解生成物は無機化学的には二酸化炭素となり、地下水中に於いて、炭酸化学種となる。しかしながら、本地下水の炭酸種濃度及び、TOC濃度は低く、地下水中には微生物学的無機化の反応が顕著に進行していないと考えられる。

ここで、本試験で採取した地下水は、以下の理由から生物学的活性に乏しいと考えられる。

- 1) バクテリア全菌数測定結果より総バクテリア数が少ない事
- 2) 有機物含有量が少ない事
- 3) 炭酸化学種含有量が少ない事

従って地下水中の生物活動による酸化還元電位の減少に伴う、鉄やマンガンの酸化物の還元とイオンの溶出、硫酸塩の還元等による大きな水質の変化の可能性は少なく、地下水と接触した岩石との水-岩石相互作用に支配されていると考えられる。

本試験に於いて確認された還元物質は窒素化学種であるアンモニア及び、窒素(気体)だけであった。硝酸還元のEh値は、おおよそ第5-1表に示すとおりである。白金電極によるEh測定結果では、本地下水のEhは約265mVであり、窒素の化学種に於いてアンモニアのみが検出された結果と矛盾しない。

第5-1表 窒素化合物の続成に関する酸化還元電位

	反応種	標準電極電位E° (mv)	反応の起こるEh(mv)
硝酸還元	脱窒素型	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /N <sub>2</sub> <sup>-</sup>	+750
	亜硝酸型	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	+430
	アンモニア型	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	+360
			+400~+100

#### 5.4 地下水の化学成分

地下水中の化学成分は物理的、化学的、生物的作用によって変化する。物理的作用とは他の地下水の混入や地殻の活動に伴う水温の変動等、化学的作用とは風化作用、続成作用、熱水変質などの様々な水-岩石(鉱物)相互作用、生物的作用とはバクテリアの介在による沈澱物の形成や環境変化等があげられる。前項で述べたように本地下水は、生物の活性に乏しく、地下水の水質を、決定する因子としては、接触した岩石との反応、地下水深部からのガス(マグマ発散物)、火山昇華物、及び高塩分水(saline water)等の混入が考えられる。

上記の原因の中で、地熱活動に起因する原因に付いては、地下水中のδD、δ<sup>18</sup>Oの同位体比がシフトしていないことから除外できると考えられる。また、高塩分水(主に古海水起源)の混入に関しては、海水の溶存成分であるNa/Cl比が0.556であるのに対して、本地下水は3.427であることから、可能性は薄いであろう。従って本地下水は付近の天水が、地下に浸透し水-岩石相互作用の結果、形成されたと考えられる。

第5-2表に地下水調査地付近にて採取した河川水と地下水の測定結果、変化量、濃度比を示し比較した。また、地下水の分析結果から第5-2図に陰イオンと陽イオンの当量で示した帯グラフを示す。これによるとイオンバランスはおおよそCa:Na:SO<sub>4</sub>=1:1:2となって吊りあっている。

第5-3図は、河川水および地下水について得られた主成分の当量濃度からプロットしたトリリニアダイアグラムである。これは図中でそれぞれが占める位置から地下水の特色を読み取るものである。本調査結果を用いて河川水をR.W、地下水をG.Wの点でそれぞれ示した。

第5-2表 地下水と河川水のデータの比較

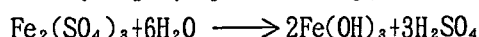
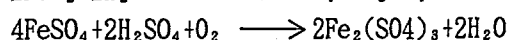
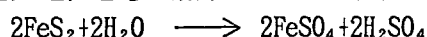
	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	ΣCO <sub>2</sub>	TOC	Si	Na	K	Ca	Mg	F	Cl	SO <sub>4</sub>
河川水(mg/ℓ)	6.5	24.8	9.66	0.308	6.4	8.4	0.14	7.56	2.48	0.03	6.5	3.8
地下水(mg/ℓ)	0.0	37.3	3.05	0.152	10.4	37.7	0.26	37.7	0.03	0.18	11.6	151.6
変化量(mg/ℓ)	-6.5	12.5	-6.61	-0.156	4.0	29.3	0.12	30.0	-2.45	0.15	5.1	147.8
濃度比 <sup>*1</sup>	-	1.50	0.31	0.494	1.63	4.48	1.85	4.97	0.01	6.00	1.78	39.9

\*1 地下水濃度/河川水濃度

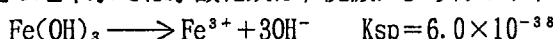
Holland(1978)によれば一般的な玄武岩中の陰イオンは $\text{HCO}_3^-$ を主成分とし、Ca, Mg, Na, 及びKの相対的易動度(地下水中の元素濃度/母岩中の元素濃度)の差異は少ない。従って玄武岩における化学風化過程に於いてCaO, MgO,  $\text{Na}_2\text{O}$ , 及び $\text{K}_2\text{O}$ の濃度は急速に、そしてほとんど同時に母岩から減少し、地下水中に供給されていくと述べている。

本地下水と河川水の各濃度を比較すると、最も特徴的なものは地下水の硫酸イオンの濃度が高く、河川水の約40倍に増えていることである。地下水(あるいは温泉水)の硫酸イオンの起源としては、主に海水起源の硫酸イオンの混入、火山ガスの酸化、亜硫酸の自己酸化還元、硫化鉄の酸化、石膏の溶出等が挙げられるが、初めに示した3つの要因に関しては除く事ができるであろう。同様に、石膏の溶出も以下の理由により否定する事ができると考えられる。硬石膏( $\text{CaSO}_4$ )及び石膏( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )は、沈澱岩、火成岩中の2次生成鉱物としても存在し、その溶解も石英と同じように他の物質との不均衡も生ぜず、またその参与無しに単純に鉱物が溶けるプロセスを持っている。また、地表水及び地下水に対する溶解度は2~3mg/lである。この溶解は、Ca: $\text{SO}_4$ が重量比で1:2.4となる。単純に地下水中のCaがすべて石膏の溶解によってもたらされたものとする、硫酸イオンの約50%が石膏の溶解によりもたらされたと計算できる。換言するならば残りの50%の $\text{SO}_4$ に関しては硬石膏及び石膏の単純な溶解では説明する事は出来ない。また、ボーリング注状試料のX線鑑定の結果(PNC ZJ1303, 92-003(1))からは、石膏の確認はされていない。

以上の事から、本地下水中の $\text{SO}_4$ の起源としては硫化鉄の酸化が最も可能性が高いと考えられる。硫化鉄は乾燥しているか若しくは還元的な地下水の中では安定であるが、酸化的水と共存していると以下のように酸化される。ここで、本試験に於いて地下水は硝酸還元が起こりうる程度の酸化還元電位をもつ溶媒であるから、硫化鉄よりも酸化鉄の方が安定相であると考えられる。



これらの反応は白鉄鋼(Marcasite)などが混在しているといちじるしいといわれており、火山ガスのない地域にあって、しかも $\text{SO}_4$ を多量に含む水温の低い鉱泉に関して、ある程度説明できるとされている。上記のような反応が行われたならば、地下水中の $\text{SO}_4$ :Feの重量比は、3.44:1となるため、本試験の鉄の濃度は低いといえるが、水酸化鉄の溶解は次式で表す事ができ、本試験のようなアルカリ性の地下水では水酸化鉄は、沈澱により除かれ、その痕跡を残さない事も考えられる。



また、各種コア試験の結果(PNC ZJ1004, 1990)からは、黄鉄鉱が確認されている。

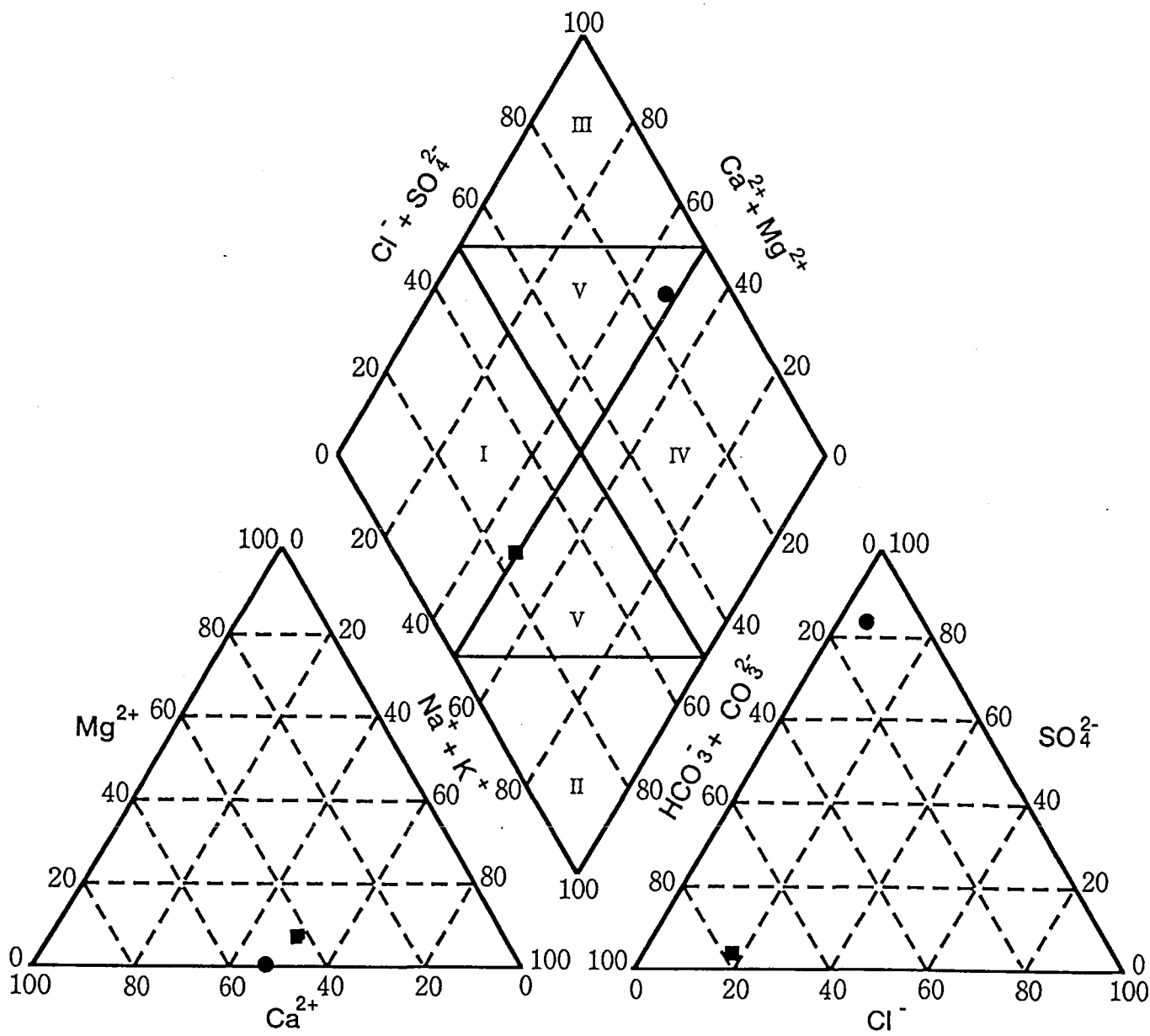
硫化鉄の酸化に伴って生じる $\text{H}_2\text{SO}_4$ は、Ca, Mgの炭酸塩がある環境ならば、Ca, Mgによって中和され、珪酸塩岩地域においてはNa, K, Ca, Mgによって中和される。これら溶出する陽イオンは、地下水と接触した岩石の組成によって異なる。

本地下水の水質は、今まで報告されてきたような玄武岩中に含まれ形成されるような地下水の特徴を有さない。本地下水が、一般に述べられているような水-岩石反応により、形成されたものとは異なるのは、酸化還元反応が著しいために、玄武岩と地下水の相互作用がかくされてしまった可能性や、化学的風化に重要な役割を果たす炭酸塩化学種の濃度が低いことも一つの原因であると考えられる。炭酸塩化学種の供給としては微生物学的無機化作用が大きく影響するが、地下水の水質が水-岩石間の化学反応のみならず、生物活動にともなう親生物元素(C, N, P, O, S)の挙動により決定される可能性も考慮する必要があると考えられる。

SO <sub>4</sub> 83.9	Cl 6.13	CO <sub>2</sub> 1.25 HCO <sub>3</sub> 8.27
-------------------------	------------	---

Ca 53.3	Na 46.5	(Mg+K) 0.2
------------	------------	---------------

第5-2図 本試験結果による地下水中の主要イオン比率



- 地下水
- 河川水

第5-7図 河川水、地下水のトリリニアダイアグラム

## 5.5 バクテリア調査結果に関する考察

### 5.5.1 全菌数について

地下水試料は $3.2 \times 10^1$  cells/ml, 地表水試料は $4.3 \times 10^4$  cells/mlと計数され, 地表水の方が微生物に富んでいた。微生物の生息環境として指標となる水質項目の測定値を, 地下水と地表水について, 第5-3表に示す。

第5-3表 全菌数計数値と水質の対比

項目	地下水	地表水
全菌数 (cells/ml)	$3.2 \times 10^1$	$4.3 \times 10^4$
水温 (°C)	14.6	8.0
pH	9.7	7.6
TOC (mg/l)	0.15	0.30

水質的には, 地下水の水温が14.6°Cであるのに対し, 地表水は8.0°Cと低く, 地下水の方が, 微生物の生息環境としては適していると考えられるが, 地表水のpHは中性付近であり, さらにTOCも地下水より高い濃度で検出され, 微生物の生息のための有機物の存在が推測される。これより本調査地における地下水中の微生物の生息に関する制限因子として以下の点が挙げられる。

- 1) pHが高いこと
- 2) TOCが低いこと

### 5.5.2 鉄酸化細菌について

本調査で計数した鉄酸化細菌は, *Thiobacillus ferrooxidans*である。この細菌の一般的特性を第5-4表に示す(伊藤一郎, 1976)。

第5-4表 *Thiobacillus ferrooxidans*の一般的特性

細菌の大きさ(μm)	0.5×1.0
最適温度(°C)	30
最適pH	2.5~3.8
グラム染色	-
運動性	+

今回の調査では地下水, 地表水共に *T. ferrooxidans*は検出されなかった。これは第5-表に見られるように, 地下水と地表水の水温及びpHが, *T. ferrooxidans*の生育環境から大きく外れていたためと考えられる。

### 5.5.3 硫酸塩還元細菌

自然水域における硫酸塩還元細菌のおよその出現オーダーは、不検出から $10^4$ /ml, 堆積物中では最高 $10^8$ /gに及ぶ。概して、有機物と $SO_4^{2-}$ に富む汽水域あるいは極度に富栄養化した水域から高い値が報告されている(竹内準一, 滝井 進, 1987)。硫酸塩還元細菌の生息に関する環境因子としては、温度、酸化還元電位、pH、硫化物濃度、塩分濃度、エネルギー源及び炭素源の存在などが挙げられる(竹内準一, 1989)。これらの内容を次に示す。

#### (1) 温度

一般に硫酸塩還元細菌は $15\sim 45^\circ\text{C}$ を生育範囲とするが、*Desulfovibrio vulgaris*など中温菌は $30^\circ\text{C}$ 、*Desulfotomaculum nigrificans*など高温菌は $55^\circ\text{C}$ に至適温度がある。通常の水の中細菌が $20\sim 25^\circ\text{C}$ で培養されることを考えれば、硫酸塩還元細菌の生育温度はやや高温側にシフトしていると考えられる。

#### (2) 酸化還元電位

硫酸塩還元細菌はすべて偏性嫌気性細菌であるが、ある種の硫酸塩還元細菌は曝気に耐えたり好気的な水体でも生存が可能であるという報告もある。しかしながら、増殖開始には $-100\text{mV}$ 程度の低い酸化還元電位が必要である。従って、ことに純粋培養の場合、還元剤の添加によって予め培地の酸化還元電位を低く保っておくことが欠かせない。ただし、好気性細菌との混合培養であれば、共存菌の働きによって速やかに培地が還元されるので、還元剤の添加は必ずしも要しない。自然界では、局在する生物遺骸を核として硫酸塩還元細菌の増殖が開始されるものと考えられている。

#### (3) pH

硫酸塩還元細菌の多くはpH4.5~9.5の範囲で生育でき、pH6.5~8.0の中性付近が至適条件である。

#### (4) 硫化物濃度

硫酸塩還元細菌の活動に伴って生成する遊離の $\text{H}_2\text{S}$ が $150\text{mg}/\ell$ 程度になると、この菌自身の増殖を阻害するようになる。しかし、自然界では鉄塩と反応して硫化鉄として固定されるので、 $800\text{mg}/\ell$ 程度まで集積しても阻害作用が認められないこともある。

#### (5) 塩分濃度

硫酸塩還元細菌の分布は、塩分濃度が0から飽和状態まですべての範囲にわたるが、一般的には、陸水環境に由来する菌株(非好塩性)は塩分濃度1%未満に、海洋環境からの菌株(好塩性)は3%付近に至適濃度をもっている。

#### (6) エネルギー源及び炭素源(電子供与体)

硫酸塩還元細菌が利用できる有機物の範囲は比較的狭く、乳酸、酪酸、プロピオン酸など炭素数が4ないし3程度の脂肪酸が中心になる。その後、炭素数2の酢酸や逆にもっと長鎖のパルミチン酸なども酸化できる菌種が見出され、有機物の利用範囲は徐々に広がっている。

硫酸塩還元細菌の多くの菌種がヒドロゲナーゼを有していて、分子状水素( $\text{H}_2$ )を用いて生育することが知られている。このことから硫酸塩還元細菌の独立栄養が信じられていた。しかし、現在ではこの場合も分子状水素の他に細胞の炭素源として酵母エキスなどの有機物が必要であり、混合栄養であることが明らかにされている。ただし、Widdelの分離した新しいタイプの硫酸塩還元細菌*Desulfonema*、*Desulfosarcina*には独立栄養性があるとされている。

不完全なエネルギー源としては分子状水素と同様にイソプロパノールやオキサミン酸などが挙げられる。これらの有機物は硫酸塩の還元を進めるが、硫酸塩還元細菌の生育は支持しない。

乳酸利用性の一般の硫酸塩還元細菌は、乳酸を酢酸まで酸化する過程でピルビン酸を経由する。従って、in vivoには当初からピルビン酸が利用できる。菌種によっては電子受容体である $\text{SO}_4^{2-}$ がない条件でもピルビン酸を用いて発酵的に生育することが可能である。

以上の知見の多くは純粋培養系でのものであり、自然界のように硫酸塩還元細菌が他の従属栄養細菌と共存する場合には、純粋培養系とは異なりきわめて広範囲の有機物が利用可能である。

#### (7) 硫酸塩濃度 (電子受容体)

硫酸塩還元細菌の活動によって生成する $\text{H}_2\text{S}$ は、環境中の $\text{SO}_4^{2-}$ に由来する。増殖に必要な $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度は、海洋起源の好塩性種でさえ海水の約1/100程度(標準塩素量の海水1kgに含まれる $\text{SO}_4^{2-}$ はおよそ2.65g、従って約27mg/l)で、硫酸塩還元細菌の自然界での分布を制限することはないと考えられている。しかし、生育環境中での硫化物集積量は $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度に比例する傾向にある。

これらの環境因子が自然界における硫酸塩還元細菌の生息・分布に及ぼす影響度は、例えば水界の堆積物中においては、温度が最も重要で、次いで電子供与体濃度(有機物等)、電子受容体濃度( $\text{SO}_4^{2-}$ )の順に強いとされている(Nedwell D.B. and Abram J.W., 1979)。

今回の調査試料における硫酸塩還元細菌の菌数は、地下水で不検出、地表水で $0.8 \times 10^6$  MPN/mlと計数され、地下水より地表水で豊富であったが、全菌数に占める硫酸塩還元細菌の割合を考えるとまでもなく、硫酸塩還元細菌の存在性としては極めて希薄な試料であったと考えられる。地下水においては、水温はかろうじて下限付近であるが、TOCが低く、硫酸塩還元細菌の電子供与体になりうる有機物が希薄であることを示唆している。またpHもアルカリ側にシフトしており、これらが硫酸塩還元細菌の制限因子になっていると考えられる。また地表水においては、電子供与体の不足、及び水温が低いことが制限因子になっていると考えられる。

#### 5.5.4 メタン生成細菌

絶対嫌気性細菌はたとえ極限濃度でも、酸素の存在下では生育できない微生物であるが、メタン生成細菌はその中でも酸素に対して非常に感受性の高いグループに属する。すなわちメタン生成細菌は極限濃度の酸素の存在下で生育できないだけでなく、酸素との接触によって速やかに死滅していく。従って、分布する環境は嫌気的環境である。

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8版(1974)では、メタン生成細菌は *Methanobacteriaceae* という1つのfamily(科)の中に、3genus(属)、すなわち *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanococcus* の9菌種として主に形態学的な性質別にまとめられている。また近年では分離技術の進歩に伴い、上記の3属に *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*, *Methanogenium*, *Methanospirillum* の4属が新たに追加され、メタン生成細菌は全体として7属、13菌種に分類されている。これらのメタン生成細菌のうち主な菌種の性状を第5-5表に示す。



第5-5表 主なメタン生成細菌の性状  
(柳田友道, 1983)

メタン生成細菌	菌の性質	メタン生成の基質	独立栄養による増殖の可否
<i>Methanobacterium arbohilicum</i> **	グラム陽性, かん菌	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub>	可
<i>Methanobacterium formicicum</i>	グラム不定, かん菌時に湾曲	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub> またはCO, HCOOH	可
<i>Methanobacterium ruminantium</i>	グラム陽性, 球菌ないし短かん菌	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub> , HCOOH	否
<i>Methanobacterium mobile</i>	グラム陰性, 短かん菌	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub> , HCOOH	否
<i>Methanobacterium thermoautrophicum</i>	グラム陽性, 好熱性, かん菌	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub>	否
<i>Methanococcus vanniellii</i>	グラム陽性, 球菌	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub> , HCOOH	可*
<i>Methanosarcina barkeri</i>	グラム陽性, 球菌	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> OH	可
<i>Methanospirillum hungatti</i> **	グラム陰性, 螺旋菌	H <sub>2</sub> とCO <sub>2</sub> , HCOOH	可*

\* システイン, チオグリコール酸などの有機の還元性物質とビタミン以外には有機物は存在しないという条件下で独立栄養的に増殖する。

\*\* Bergey's Manual(8版)には記載されていない。

上述した酸素に対する感受性という点では, メタン生成細菌の中でもこれらの種類によってある程度差があると考えられている。

今回の調査試料では, 地下水, 地表水共にメタン生成細菌は検出されなかった。これは両試料が, 特に嫌気度の面で, メタン生成細菌の生息環境に適合していなかったためと考えられる。

#### 5.5.5 バクテリア調査のまとめ

今回の調査試料は, 地下水と地表水で水質的には明らかに異なっているし, 微生物的にも, 全菌数及び硫酸塩還元細菌の存在性の面で, 相違が見られる。従って, 本調査試錐孔の地下水への, 地表水からの微生物的汚染の証拠は, 検出されなかった。本深層地下水における有機物濃度はTOCとして0.15ppmでしかなく, また栄養塩濃度はNH<sub>4</sub>-Nが15.4ppbで検出されたのに対してPO<sub>4</sub>-Pが1.5ppbと極めて低い値であった。すなわち, 生物が生育するには極めて低い有機物および栄養塩濃度であることが推測される。とくに, 有機物の分解をつかさどるバクテリアにとっては厳しい生育環境であることが伺われる。実際, 本調査で実施した深層地下水中の全菌数は3.2×10<sup>6</sup>(cells/mL)であり, この値は通常の地下水よりも2オーダー以上低い結果であったことから, バクテリアの生育あるいは生息環境としては, 栄養欠乏状態であることが裏付けられる。本調査において, 深層地下水中のメタン生成菌が不検出であったこと, さらに深層地下水中のSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が152ppmが15.4ppbの値で存在しているのに硫酸還元菌が検出されなかったのは, これらの細菌群のエネルギー獲得形態が主に有機物に依存している為と考えられる。

今後, このように微生物的に希薄な地下水が, 時間の経過と共に, どのように微生物的に汚染されるか(地表環境からどの程度微生物の導入があるか), 同じ試錐孔で観察できれば, 貴重な情報になると考える。

## 引用文献

- 相崎守弘, 中島拓男 : 陸水富栄養化に関する総合研究 (VI) -細菌分布から見た霞ヶ浦の物質代謝の特徴-. 国立公害研究所報告, 22, p. 63-87, (1981).
- 相崎守弘, 田中秀之, 北村 博 : 東京湾における無酸素水塊の形成と青潮. 用水と廃水, 1, (1), p. 41-45, (1990).
- APHA-AWWA-WPCF : Standard Method for Examination of Water and Wastewater 16th Ed. (1985).
- 浅見輝男, 茅野充男訳 : 環境無機化学 -元素の循環と生化学-, 博友社, (1983).
- Baumann, E. W : Determination of parts per billion sulfide in water with the sulfide-selective electrode., Anal. Chim., 46(9), p. 1345-1352, (1974).
- Bourg, A. C. M. and P. W. Schindler : Ternary surface complexes. I. Complex formation in the system silica-Cu(II)-ethylenediamine. Chimia, 32, p. 166-168, (1978).
- Broenkow, J. H. and J. D. Cline : Colometric determination of dissolved oxygen at low concentrations. Limnol. Oceanogr. 14, p. 450-454, (1969).
- Burba III, J. R. and J. L. McAtee, Jr. : The orientation and interaction of ethylenediamine copper(II) with montmorillonite. Clays Clay Miner., 25, p. 113-118, (1977).
- Collins M. D. and Wideel F : Respiratory Quinones of Sulfate-Reducing and Sulphur-Reducing Bacteria (A Systematic Investigation). Syst. Appl. Microbiol., 8, p. 8-16, (1986).
- Craig D. C. and Loughnan, F. C., Chemical and mineralogical transformation accompanying the weathering of basic volcanic rocks from New South Wales, Aust. J. Soil. Res. 2, p. 218-234, (1964)
- Cypionka H., Widdel F. and Pfennig N. : Survival of Sulfate-Reducing Bacteria after Oxygen Stress and Growth in Sulfate-Free Oxygen-Sulfide Gradients. FEMS Microbiol. Ecol., 31, p. 39-45, (1985).
- Davis, J. A. and J. O. Leckie : Effect of adsorbed complexing ligands on trace metal uptake by hydrous oxides. Environ. Sci. Technol., 12, p. 1309-1315, (1978).

Dudley D. J., Guentzel M. N., Ibarra M. J., Moore B. E. and Sagik B. P : Enumeration of Potentially Pathogenic Bacteria from Sewage Sludges. Appl. Environ. Microbiol., 39, p.118-125, (1980).

Easton, J. A. : Chemical Analysis of Silica Rocks., Elsevier Pub. Comp., p. 258, (1972).

Froelich, P. N., G. P. Klinkhammer, M. L. Bender, N. A. Luedtke, G. R. Heath, D. Cullen, P. Dauphin : Geochim. Cosmochim. Acta, 43, p.1075-1090, (1979).

福井 学, 滝井 進: 硫酸還元菌の微視的分布, 日本微生物生態学会講演要旨集, p40, (1989).

Garrels, R. M., and C. L. Christ : Solutions, Minerals, and Equilibria, Harper and Row, New York, 450p, (1965).

Gather, R., J. S. Davis and A. Mares : Regulation of Copper availability to phytoplankton by macromolecules in lake water. Environ. Sci. Technol., 12, p. 1416-1421, (1978).

G. J. Olson, W. P. Iverson, W. S. Docins, G. A. McFeter : Sulfate-Reducing and Methanogenic Bacteria from Deep Aquifers in Montana. Geomicrobiology Journal, vol 2, p. 327-340, (1984).

半谷高久, 小倉紀雄 : 水質調査法 (改訂第2版), p. 265-270, 丸善, (1985).

Harned, H. S. and Davis, R., Jr., The ionization constant of carbonic acid in water and the solubility of carbon dioxide in water and aqueous salt solutions from 0 to 50, J. AMER. Chem. Soc. 65, p. 2030-2037, (1943)

Hiraishi A : Respiratory Quinone Profiles as Tools for Identifying Different Bacterial Populations in Activated Sludge. J. Gen. Appl. Microbiol., 34, p. 39-56, (1988).

Hobbie J. E., R. J. Daley and S. Jasper : Use of Nuclepore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy., Appl. Environ. Microbiol 33, p642-647 (1977)

平石 明 : キノンプロファイルによる活性汚泥細菌の生態学的研究 . 用水と廃水, 32, (12), p. 13-24, (1990).

H. D. Holland著 山形登訳:大気・河川・海洋の化学, 318p. 産業図書, (1972).

今井和民 : 独立栄養細菌. 化学同人, 京都, 77p, (1984).

一國雅巳, 鈴木勸子, 鶴見実 : 水-岩石相互作用の生成物としてのアルカリ性鉱泉水,  
地球化学, 16, p. 25-29, (1982).

John G. Holt et al. : BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology WILLIAMS and  
WILKINS, Baltimore, (1974).

Karsten Pedersen : Deep ground water microbiology in Swedish granitic rock and  
it's relevance for radio-nuclide migration from a Swedish high level  
nuclear waste repository. : SKB TECHNICAL REPORT, 89-23, p. 1-13, (1989).

Karsten Pedersen : Distribution and activity of bacteria in deep granitic ground  
waters of Southeastern Sweden. SKB TECHNICAL REPORT, p. 1-28, (1990).

工業用水試験法 : JIS K 0101, 日本規格協会, (1986).

工業用水試験法 : JIS K 0102, 日本規格協会, (1986).

小山忠四郎 : 湖沼ガス代謝 -水の環境対策への基礎と応用-, p. 10-18, 成文堂, (1991).

小山忠四郎, 半田暢彦, 杉村行勇 : 湖水・海水の分析, 講談社サイエンティフィック,  
(1972).

近藤昭彦, 鈴木裕一, 高山茂美: トリチウムによる地下水の停滯時間の推定-会津盆地北部の  
自噴井の場合-. ハイテック, 13, p. 60-65, (1983).

日下譲, 辻治男, 藤本雄三, 石田桂子, 福井要 : 六甲山地周辺域の浅層地下水の水質,  
Jap. J. Liminol. 42, 2, p. 65-71, (1988).

松葉谷治, 越中浩, 小室昭一 : 秋田県温泉の同位体地球化学的調査報告, 秋田大学鉱山学  
部地下資源研究施設報告, 48, p. 11-24, (1983).

松田庄蔵, 平木敬三, 西川泰治 : フミン酸, リグニンスルホン酸ナトリウムのけい光法によ  
る同時定量 -堆積物中のフミン酸, フルボ酸の定量-, 分析化学, 20, p. 341-346,  
(1979).

メイスン著 一國雅巳, 松井義人訳: 一般地球化学, 402p, 岩波書店, 東京, (1970).

- Mentzel, D. W. and N. Corwin : *Limnol. Oceanogr.*, 10, 280p, (1965).
- Miller, J. C., and J. N. Miller 著 宗林信訳: データのまとめ方, 238p, 共立出版, 東京, (1991).
- Morris, J. C., and W. Stumm : Redox equilibria and measurements of potentials in the aquatic environment. In *Equilibrium Concepts in Natural Water Systems*, Advances in Chemistry Series 67, American Chemical Society, Washington, D. C., p. 270-285, (1967).
- Murphy, J. and J. P. Riley : A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Anal. Chem. Acta.*, 27, p. 31-36, (1962).
- 日本化学会編 : 土の化学, 187p, 学会出版センター, (1989).
- 日本化学会編 : 陸水の化学, p184p, 学会出版センター, (1992).
- 野尻幸宏 : イオンクロマトグラフィーによる天然水中の全炭酸の定量, 国立公害研究所 霞ヶ浦臨湖実験施設研究発表会 講演報告集, 3, p. 1-4, 2(1984)
- 大槻 晃 : 湖沼調査指針, 水質汚濁研究会編, (1982).
- 大槻 晃 : 環境測定分析法注解 (第3巻) -水質汚濁物質及び底質測定分析方法-, p. 82-91, (1985).
- PNC SJ 4411 89-001: パッカー式地下水サンプラー (PGS-500NQU, HQ型) の製作. 基礎地盤コンサルタント株式会社, 64p, (1989).
- PNC ZJ 4401 90-001: 地下深部におけるバクテリアの存在調査研究. 同和工営株式会社, 77p, (1991).
- PNC ZJ 1303 92-003(1): 東北日本グリーンタフ地域玄武岩類の地質環境モデルデータセット整備のための深部地質環境データ. 同和鉱業株式会社, 267p, (1992).
- Postgate J. R. : *The Sulfate-Reducing Bacteria*. Cambridge University Press, London, (1979).
- 猿橋勝子 : 天然水中の物質代謝の研究, 第1報 海水中の全炭酸について, *日化*, 74, p. 415-416, (1953)

- Sillen, L.G : The physical chemistry of sea water. In, Oceanography, ed. by M. Sears, American Association for Advancement of Science, Washington, D. C., p. 549-581, (1961).
- 高井康男 : 微生物の生態 5 -環境汚染をめぐって-, p.1-21, 学会出版センター, (1979).
- 高井康男, 和田秀徳 : 土と微生物, p. 45-72, 岩波書店, (1966).
- Takii Susumu : Methanogenesis in Sediments of the Polluted Lower Reaches of the Tama River. Jpn. J. Limnol., 50, (3), p. 235-246, (1989).
- 竹内準一, 滝井 進 : 潤沼と水月湖の湖水中における硫酸還元菌の分布. 用水と廃水. 29, (11), p. 3-7, (1974).
- Tanaka H., Aizaki M. and Kitamura H : Changes in Vertical Distributions of Several Kinds of Bacteria Caused by Up-Welling of Anoxic Water in Tokyo Bay. Japan Water Pollution Research and Control Preprint of Poster Papers, p. 143-146, (1990).
- 田中秀之, 相崎守弘 : 東京湾における青潮に関する研究 - 無酸素水塊の形成と硫酸還元菌の挙動 -. 第24回水質汚濁学会講演集, p. 317-318, (1990).
- 田中秀之, 相崎守弘, 木幡邦男, 中村康男, 竹下俊二, 滝井 進, 田井慎吾 : 東京湾における青潮に関する研究Ⅲ - 水中及び底泥での硫酸還元細菌の分布特性 -. 国立環境研究所臨湖実験施設研究報告集, 6, p. 1-5, (1992).
- 玉利祐三, 辻治雄, 日下讓 : 岩質と陸水の水質との関係 - 岩石の溶出実験による解析 -, 地球化学, 22, p. 139-147, (1987).
- 田村紘基 : 水の分析 (第3版), p. 378-380. 化学同人, (1988).
- 立見辰夫 : 現代鉱床学の基礎, p. 96-97. 東京大学出版界, (1977).
- Van Es FB, Meyer-Reil : Biomass and metabolic activity of heterotrophic marine bacteria. Marshall KC(ed) Advances in microbial ecology, vol 6, p. 111-170, (1982).
- Wakao N. and C. Furusaka : A New Agar Method for the Quantitative Study of sulfate-reducing Bacteria in Soil. Soil. Sci. Plant. Nutr., 18, p. 39-44, (1972).

Whitfield, M. : Thermodynamic limitations on the use of platinum in Eh measurements. *Limnol. Oceanogr.*, 19, p. 857-865, (1974).

White, D. E., Hem, J. D. and Waring, G. A. : Chemical composition of subsurface waters, in *Data of Geochemistry*. U.S. Geological Survey Professional Paper 440-F, 6th ed., Chapter F. (1972)

Winkler, L. W. : Die Bestimmung des im wasser gelosten sauerstoffes. *Chem. Ber.*, 21, p. 2843-2855, (1988).

山里一英, 宇田川俊一, 児玉 徹, 森地敏樹編 : 微生物の分離法 R and Dプランニング, 東京, 500p, (1986).

Yoshida, N. and Mizutani, Y. : Preparation of carbon dioxide for oxygen-18 determination of water by use of a plastic syringe. *Anal. Chem.* 58, p. 1273, (1986).

吉岡龍馬 : 天然水の化学組成からみた風化速度. 1988年度日本地球化学年講演要旨集, p. 95, (1988).

Zajic J. E. : *Microbial biogeochemistry* : Academic Press Inc., New York, (1969).