

地層処分における微生物影響の評価研究(概要)

(核燃料サイクル開発機構 業務委託報告書)

2002年2月

石川島播磨重工業株式会社

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ください。

〒319 1184 茨城県那珂郡東海村大字村松 4 49

核燃料サイクル開発機構

技術展開部 技術協力課

Inquiries about copyright and reproduction should be addressed to:

Technical Cooperation Section,

Technology Management Division,

Japan Nuclear Cycle Development Institute

4 19 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)

2002

地層処分における微生物影響の評価研究 (概要)

(核燃料サイクル開発機構 業務委託報告書)

福永 栄* 中山 衛* 神徳 敬* 菅野 毅* 工藤 章**

要旨

地層処分における微生物影響の評価に関わる次の4つの調査及び試験を実施した。

FEP 辞書の網羅性、内容、重要度評価レベルの向上及び微生物による硝酸塩の化学形態変化の調査を実施し、処分施設のニアフィールド母岩での微生物、及び硝酸塩と電子供与体が共存した場合の脱窒を行う微生物の重要性が示された。

微生物の圧縮ベントナイト中における移行性の試験をNa型ベントナイト及びCa型化ベントナイト(ともにケイ砂混合率30%)を用いて実施した。Na型ベントナイトは降水系地下水及び海水系地下水で3週間、Ca型化ベントナイトは、降水系地下水で9週間の試験期間を設定した。結果、Na型はともに菌の移動は検知されなかった。Ca型は最下層(20mm)まで菌の移動がみられた。

超長期のベントナイト中の微生物移行の推測及び生息状況調査では、外界に接するNa型およびCa型のベントナイト鉱床をボーリングし、深さ方向にかけてコアの鉱物組成の調査、微生物数計測及び若干の系統解析を実施した。その結果、外界に比べれば数は少ないが、ベントナイト層の内部にも微生物が生存していることがわかった。

微生物と核種の相互作用評価は、硫酸還元菌を用い、酸化還元電位を最も活性である-500mV から強制的に-85mV に設定し実施した。酸化還元電位がNpの分配係数に及ぼす影響を評価した。

本報告書は、石川島播磨重工業株式会社が核燃料サイクル開発機構との契約により実施した研究成果に関するものである。

機構担当部課室：東海事業所 環境保全・研究開発センター 処分研究部

処分材料研究グループ

* 石川島播磨重工業株式会社

** 京都大学

Study on microbial influence assessment in geological disposal
(Document Prepared by Other Institute, Based on the Trust Contract)

Sakae Fukunaga*, Mamoru Nakayama*, Takashi Jintoku*,
Takeshi Kanno*, and Akira Kudo**

Abstract

We conducted the following four investigations concerned with microbial influence in geological disposal facilities.

(1) Improvement of the FEP dictionary and investigation on chemical evolution of nitrate by microbes. (2) Experimental estimation of microbial mobility in compacted Na bentonite saturated by synthetic seawater with 30wt% silica sand and Ca bentonite with 30wt % silica sand. (Both dry densities are 1.6 g/cm³.) (3) Habitation of microbes in Na rich bentonite deposit and Ca rich one. (4) Interaction between SRB (sulfate reducing bacteria) and Np in a reducing environment at Eh=-85mV.

As the result, it was revealed that (1) microbial activity in near field rock and microbial denitrification of nitrate under the existence of electron donor are important, (2) microbes didn't move in Na bentonite in 3 weeks and moved to the distance of 20mm in Ca bentonite, and (3) microorganisms existed at the inside of the deposits. (4) The difference between distribution coefficient of Eh=-85mV and Eh=-500mV was evaluated.

This work was performed by Ishikawajima-Harima Heavy Industries Co., Ltd. under contract with Nuclear Cycle Development Institute.

JNC Liaison : Material Research Group, Waste Isolation Research Division, Waste Management and Fuel Cycle Research Center, Tokai Works

* : Ishikawajima-Harima Heavy Industries Co., Ltd

** : Kyoto University.

目次

1 はじめに.....	1
1.1 研究開発の背景・動機.....	1
1.1.1 研究開発の背景.....	1
1.1.2 研究開発の動機.....	1
1.2 本研究開発の位置づけ・目的.....	1
1.2.1 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価.....	1
1.2.2 ベントナイト中の微生物の移行評価.....	2
1.2.3 超長期のベントナイト中の微生物移行の推測及び生息状況調査.....	3
1.2.4 微生物と核種の相互作用評価.....	4
1.3 研究開発方法の概要・特徴・特記事項.....	5
1.3.1 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価.....	5
1.3.2 ベントナイト中の微生物の移行評価.....	5
1.3.3 超長期のベントナイト中の微生物移行の推測及び生息状況調査.....	5
1.3.4 微生物と核種の相互作用評価.....	6
1.4 参考文献.....	7
2 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価.....	8
2.1 研究開発の方法.....	8
2.2 研究開発の結果.....	8
2.2.1 FEP 辞書の網羅性、内容、重要度評価レベルの向上.....	8
2.2.2 硝酸イオンの化学形態変遷調査.....	17
2.3 結果の考察・検討.....	20
2.4 参考文献.....	21
3 ベントナイト中の微生物の移行評価.....	24
3.1 研究開発の方法.....	24
3.1.1 試験材料.....	24
3.1.2 試験の手順.....	24
3.2 研究開発の結果.....	31
3.2.1 海水系培地による微生物の培養確認.....	31
3.2.2 ケイ砂混合率 30wt% : 乾燥密度 1.6g/cm ³ : Na 型ベントナイト成型体における微生物透過試験.....	31
3.2.3 ケイ砂混合率 30wt% : 乾燥密度 1.6g/cm ³ : 海水系 Na 型ベントナイト成型体における微生物透過試験.....	31
3.2.4 ケイ砂混合率 30wt% : 乾燥密度 1.6g/cm ³ : 9 週間 Ca 型化ベントナイト成型体における微生物透過試験.....	31

3.3	結果の考察・検討.....	31
3.4	参考文献.....	32
4	超長期のベントナイト中の微生物移行の推測及び生息状況調査.....	33
4.1	研究開発の方法.....	33
4.1.1	ベントナイト鉱床の選定.....	33
4.1.2	ボーリング作業.....	33
4.1.3	試料採取と物理化学的性状分析.....	34
4.1.4	微生物分析用の試料採取.....	35
4.1.5	培養法による微生物数計測.....	35
4.1.6	新しい手法による微生物数計測および遺伝子工学的手法による系統解析....	35
4.2	研究開発の結果.....	36
4.2.1	選定したベントナイト鉱床の状況.....	36
4.2.2	ボーリング作業.....	37
4.2.3	試料採取と物理化学的性状分析.....	37
4.2.4	微生物分析用の試料採取.....	43
4.2.5	培養法による微生物数計測.....	43
4.2.6	新しい手法による微生物数計測および遺伝子工学的手法による系統解析....	43
4.3	結果の考察・検討.....	45
4.3.1	ベントナイト鉱床の選定.....	45
4.3.2	ボーリング作業.....	45
4.3.3	試料採取と物理化学的性状分析.....	45
4.3.4	微生物分析用の試料採取.....	47
4.3.5	培養法による微生物数計測.....	47
4.3.6	新しい手法による微生物数計測および遺伝子工学的手法による系統解析....	50
4.4	参考文献.....	50
5	微生物と核種の相互作用評価.....	51
5.1	研究開発の方法.....	51
5.1.1	試験方法.....	51
5.1.2	データの解析方法.....	52
5.2	研究開発の結果.....	52
5.2.1	実験結果.....	52
5.3	結果の考察・検討.....	55
5.4	参考文献.....	56
6	おわりに.....	57
6.1	微生物影響におけるシナリオの網羅性評価.....	57
6.2	ベントナイト中の微生物の移行評価.....	57

6.3 超長期のベントナイト中の微生物移行及び生息状況調査.....	57
6.4 微生物と核種の相互作用評価.....	58
6.5 今後の課題.....	58
6.6 おわりに.....	59

表・図・写真目次

表 1.2-1	過去におけるベントナイト中の微生物の移行試験結果まとめ	2
表 1.2-2	ベントナイト中の微生物の移行評価に関する試験条件	3
表 1.2-3	微生物と核種の相互作用評価実施状況	4
表 2.2-1	文献[2]で述べられている重要度の定義	8
表 2.2-2	文献[1]で述べられている重要度の定義	9
表 2.2-3	FEP リストの重要度一覧表	14
表 3.1-1	LB 培地組成	30
表 3.1-2	EMB 培地	30
表 3.1-3	海水成分調整水組成	30
表 3.1-4	標準寒天培地組成	30
表 3.3-1	微生物透過試験結果のまとめ（平成7～13年度）	32
表 4.1-1	調査地点概要	33
表 4.2-1	外界側試料の水質分析結果	38
表 4.2-2	コア試料の分析結果 Point A	39
表 4.2-3	コア試料の分析結果 Point B	40
表 4.2-4	コア試料の分析結果 Point C	41
表 4.2-5	コア試料の分析結果 Point D	42
表 4.2-6	微生物数計測結果	44
図 2.2-1	プロセスインフルエンスダイアグラム	15
図 3.1-1	ベントナイト成型、加水膨潤および微生物透過処理のフロー	27
図 3.1-2	透過菌数測定フロー	28
図 3.1-3	ベントナイト透過試験装置の概要	29
図 4.3-1	深さ方向の微生物数の分布	48
図 5.2-1	硫酸還元菌とネプツニウムの分配係数（ K_d ）実験結果	53
図 5.2-2	硫酸還元菌とベントナイト混合液とネプツニウムの分配係数	54
写真 3.1-1	大腸菌（アンピシリン耐性菌：発光部）の顕微鏡写真	26
写真 3.1-2	透過試験状況	26
写真 4.2-1	コア Point A	37
写真 4.2-2	コア Point B	37
写真 4.2-3	コア Point C	37
写真 4.2-4	コア Point D（下3列）	37

1 はじめに

1.1 研究開発の背景・動機

1.1.1 研究開発の背景

地層処分施設の性能評価において微生物の影響にどの程度配慮すべきかは、難しい問題である。1980年代に海外で、材料劣化、ガス発生、水質変化、核種移行、などに及ぼす微生物の影響が指摘されて[1][2]以来、多くの調査、研究がなされてきた。これらの見解より、地層処分施設全体において微生物の影響を無視することはできないが、廃棄物近傍で微生物影響が小さいことは、少なくとも環境中の高 pH による微生物抑制を根拠に想定できる。しかしながら、次の点ではしっかりした見解を出せる状態に至っていない。

廃棄物近傍以外の部分を含めた処分施設全域の微生物影響には未解明の部分が大きく、とくに硝酸塩の影響の検討が不十分で、総合的な微生物影響評価を困難にしている。

高 pH 以外の微生物抑制の手段として考えられているベントナイトによる微生物侵入の阻止効果（フィルトレーション効果）のデータは、Ca 型化ベントナイトではまだ少なく、更に海水系地下水では全く無い。

このベントナイトによるフィルトレーション効果は数週間のオーダーでは実証されているが、数年、数十年といったオーダーでは実証困難である。

異なる酸化還元電位における核種と微生物の相互作用のデータが十分に蓄積されておらず、核種移行に及ぼす微生物の影響評価が遅れている。

1.1.2 研究開発の動機

本研究の動機は、これらの課題に応える調査、実験データを蓄積することにより、地層処分施設における微生物影響評価の精度を高め、また今後必要な検討項目を抽出することである。

1.2 本研究開発の位置づけ・目的

1.2.1 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価

平成 12 年度の JNC の研究[3]においては、微生物活動に関連する FEP 辞書を作成し、それに基づき PID(Process Influence Diagram)を作図したが、以下の問題点が残っていた。

網羅性が完全でなく、とくにニアフィールド母岩の部分の情報不足している

インフルエンシ、現在までの知見、評価などの記述をもう少し整理する必要がある
重要度評価が本来の定義[4]に基づくものでない

微生物による硝酸塩の化学形態変遷がどのような環境条件で生じるかという観点の
調査が不十分

本研究では、上記 ~ における調査の網羅性を高め、より完成度の高いFEP 辞書とPID
を作成することを目的とする。

1.2.2 ベントナイト中の微生物の移行評価

(1) 平成 11 年度までの試験の概要

平成 11 年度までの試験結果を表 1.2-1 に示す。試験期間は全て 3 週間である。

表 1.2-1 過去におけるベントナイト中の微生物の移行試験結果まとめ

乾燥密度	1.8(g/cm ³)			1.6(g/cm ³)				1.2(g/cm ³)					
	Na			Ca				Na		Na			
ケイ砂混合率(wt%)	0	50	80	0	0 ^{*1}	30	50	0	50	0	30	50	80
ベントナイト層底面 25mm	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
I 20mm													
II 15mm													
III 10mm													
IV 5mm													
最上層部 V 0mm													

:透過が認められたもの

:透過が認められなかったもの

:一部に透過が認められたもの

- :壁面回り込み菌検出の懸念のため測定中止

*1 :pH調整有り(pH=10)

上表から、Ca 型化ベントナイトは同条件の Na 型ベントナイトより微生物が透過しやすいことが示された。また、Na 型ベントナイトと Ca 型化ベントナイトの乾燥密度 1.6g/cm³、ケイ砂混合率 0wt%の条件における透過試験[5]では、いずれにおいても微生物の透過が認められなかった。

(2) 本試験の目的

本年度は、これまでに微生物の透過の有無が明確にされていなかった Na 型ベントナイトの乾燥密度 1.6g/cm^3 、ケイ砂混合率 30wt%の条件、また、この条件において地下水環境が微生物の透過におよぼす影響を把握することを目的とした海水を含む地層での微生物の移動を模擬した条件での試験を行うこととした。さらに、3 週間後に 15mm の微生物の移動が検知された乾燥密度 1.6g/m^3 の Ca 型化ベントナイトにおけるケイ砂混合率 30wt%[9]の条件について、透過処理の期間を長くし試験を行うこととした。

以上をまとめると、本年度実施した試験の条件は下表 1.2-2 の 3 条件となる。

表 1.2-2 ベントナイト中の微生物の移行評価に関する試験条件

ベントナイト種類	供試体寸法	試験期間	地下水環境	測定件数
Na 型ベントナイト	50mm × 25mm H	3 週間	海水系	3 件
Na 型ベントナイト	50mm × 25mm H	3 週間	降水系	3 件
Ca 型化ベントナイト	50mm × 25mm H	9 週間	降水系	3 件

1.2.3 超長期のベントナイト中の微生物移行の推測及び生息状況調査

ベントナイトには、外部からの微生物侵入に対するフィルトレーション効果が期待されているが、数年ないし数十年のオーダーでの効果は未確認である。超長期的な期間の微生物移行を予測において、外界との接触面から鉱床内部にかけての微生物分布を調べることにより、外界の微生物がどの程度移行（侵入）していったかが推測できると考えた。

しかし、ベントナイト鉱床の微生物調査は、ベントナイト鉱床中の微生物移行と生息の総合的な結果を表すにすぎないという限界もある。

本研究は、そういう限界を理解した上で、ベントナイト鉱床の外界接触面から内部に向けての微生物分布を調査し、ベントナイト中の超長期的な微生物移行と生息の予測のための参考データを得ることを目的とした。

1.2.4 微生物と核種の相互作用評価

(1) 平成 11 年度までの試験の概要

本研究の位置付けは、地層処分の埋め戻し緩衝材中に微生物が発生するシナリオを想定し、これがアクチノイド元素と相互作用する現象を解明することにある。

平成 7 年度から始まった微生物と核種の相互作用評価[6]の実施状況は、表 1.2-3 に示す通りである。平成 11 年度までの研究[5] [6][7] [8] [9] の成果を一言で総括すると、「プルトニウムとネプツニウムの地層処分場周辺での挙動は、その環境で棲息する微生物に大きく影響される場合があることを実験的に証明した」ことである。

表 1.2-3 微生物と核種の相互作用評価実施状況

微生物との相互作用

	弱い還元性環境 (Eh=-85mV)	強い還元性環境 (Eh=-500mV)
プルトニウム	平成 7, 8 年度	平成 9 年度
ネプツニウム	平成 7, 8 年度	平成 9 年度

微生物とベントナイトの混合物との相互作用

	弱い還元性環境 (Eh=-85mV)	強い還元性環境 (Eh=-500mV)
プルトニウム	平成 7, 8 年度	平成 9 年度
ネプツニウム	平成 7, 8 年度	平成 9 年度

ベントナイトとの相互作用

	弱い還元性環境 (Eh=-85mV)	強い還元性環境 (Eh=-500mV)
プルトニウム	平成 7, 8 年度	平成 11 年度
ネプツニウム	平成 7, 8 年度	平成 11 年度

微生物の還元性 (Eh) とアクチノイド元素との相互作用

	弱い還元性環境 (Eh=-85mV)	強い還元性環境 (Eh=-135mV)
ネプツニウム	平成 13 年度 / SRB (硫酸還元菌) 強い還元性環境を好む微生物	平成 12 年度 / 消化汚泥 弱い還元性環境を好む微生物
プルトニウム	弱い還元性環境	強い還元性環境
微生物種	平成 15 年度 / SRB (硫酸還元菌) 強い還元性環境を好む微生物	平成 14 年度 / 消化汚泥 弱い還元性環境を好む微生物

(2) 本年度の試験の目的

還元性 (E h) の程度 (- 85mV および - 500mV) が、微生物とアクチノイド元素との相互作用にどの程度影響を与えるのか。また、微生物の種類そのものの影響は大きいのかどうかを明らかにするため、本年度は硫酸還元菌を用い、酸化還元電位を - 85mV に設定し研究を実施することとした。

1.3 研究開発方法の概要・特徴・特記事項

1.3.1 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価

上記 1.2.1 項に示した 4 つの課題のうち 、 、 については、英国 British Geological Survey の Dr. Julia M. West (以下、Dr. West とする) の助言を得ながら実施した。 については INIS、JICST などの文献検索を主体に実施した。Dr. West は地層処分における微生物影響評価の研究を 15 年ほど実施してきており、この分野の論文も多く、第一人者である。とくに重要度については、文献 (2 章[2]参照) に記載された評価を依頼した。

1.3.2 ベントナイト中の微生物の移行評価

ベントナイト中の微生物の移行評価の試験方法は、JNC と IHI が独自に開発したもの[6]で、7 年間にわたり同じ方法で透過試験を実施している。圧縮成型した緩衝材をステンレス容器に入れ、サイドリークを防ぎつつ上部から菌液を浸透させ、一定期間後に緩衝材を層別に無菌的に切り出して微生物数を培養法で計数する。色素で水の浸透を確認している点、無酸素条件でも生存する大腸菌を用いている点、アンピシリン耐性株を用いて外部からの微生物汚染の無いことを確認している点、ベントナイト粒子と微生物コロニーとの識別のためベントナイト粒子除去操作を入れている点など、多くのノウハウがある。

1.3.3 超長期のベントナイト中の微生物移行の推測及び生息状況調査

ベントナイト鉱床の調査方法は、次のように進めた。

掘削後長期間経過している条件の異なるいくつかのベントナイト鉱床の選定

その地点で外界接触面から鉱床内部に向けてのボーリング

外界接触面の水または汚泥、および採取したコア試料の物理化学的性状分析

得られたコアの内部 (ボーリングの際の汚染が最小と考えられる部分) の切出しを含む

微生物分析用試料の採取

従来の培養法による同試料の微生物数計測

新しい染色法による同試料の微生物数計測、および一部の微生物について遺伝子工学的手法による系統解析

1.3.4 微生物と核種の相互作用評価

日本での取り扱い方法、取扱量、使用可能な施設が厳しく制限されている Pu や Np と微生物を用いた試験をカナダの CABER に委託し実施している。

1.4 参考文献

- [1] West, J.M. & I.G. McKinkey ; The geomicrobiology of nuclear waste disposal. ” Sci. Basis Nucl. Waste Mgt. pp.487-494 . (1984)
- [2]福永他 ; “ PNC 地層処分における微生物の影響に関する調査 .”PNC TN8410 92-013 . (1992)
- [3] 福永 栄、中山 衛、神徳 敬、菅野 毅、工藤 章, “ 微生物影響評価における課題の調査と分配係数の取得 .” JNC TJ8400 2001-030. (2001)
- [4] SKI SITE-94 Deep Repository Performance Assessment Project. SKI-R-96-36. (1996)
- [5] 福永 栄、横山 英一、荒井 和浩、千手 隆史、工藤 章, “ 人工バリア材料における微生物の透過性及び核種の吸着性の評価 .” JNC TJ8400 2000-30. (2000)
- [6] 福永 栄他, “ 人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 () .” JNC TJ1150 95-006 . (1996)
- [7] 福永 栄他, “ 人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 ()” ,PNC TJ1150 97-004 . (1997)
- [8]] 福永 栄他, “ 人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 ()” ,PNC TJ1150 98-003 . (1998)
- [9] 福永 栄、横山 英一、荒井 和浩、朝野 英一、千手 隆史、工藤 章 , “ 人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 ()” ,JNC TL8400 99-025 . (1999)

2 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価

2.1 研究開発の方法

前章(1.2.1)で述べた4つの課題のうち、
、
については、JNCの研究[1]で作成したFEP辞書を英訳し、Dr. Westに送付し、内容および重要度の評価について助言を得、これをもとに検討を実施した。具体的には、JNCの研究[1]で作成したFEP辞書について、Dr. Westに次の作業を依頼し、コメントを受け取った。

- ・ FEPのインフルエンスシートの評価と修正
- ・ 記述が修正された箇所に関する修正理由および関連文献
- ・ 各々の重要度に関する意見と関連文献

また、
についてはINIS、JICSTなどの文献検索を主体に実施した。

2.2 研究開発の結果

2.2.1 FEP辞書の網羅性、内容、重要度評価レベルの向上

(1) 重要度の検討

重要度の定義として、あるFEPの起こりうる可能性、あるFEPの因果関係の確実性、あるFEPが起こった場合の処分場性能評価の信頼性へ影響の大きさなど、技術者によって意見が異なることが考えられる。FEP及びその辞書を検討・作成した既存の報告書[2]では重要度として表2.2-1の定義を用いている。Dr. Westも、この定義に基づいて重要度を評価している。一方、昨年までの日本でのFEPの調査[1]では、微生物影響の分野では全般に、上記の分類が出来るほど定量的な知見が蓄積されていないという見解に基づき、表2.2-2に示したような定義を用いていた。

表 2.2-1 文献[2]で述べられている重要度の定義

H(High) :	そのリンクが除外または考慮されていない場合、性能評価の信頼性は著しく失われる。
M(Medium) :	そのリンクは含めるほうが良いが、性能評価の信頼性への影響は大きくはない。
L(Low) :	そのリンクを含めることは興味深いかもしれないが、除外しても性能評価の信頼性は失われない。

表 2.2-2 文献[1]で述べられている重要度の定義

H(High) :	原因側の FEP に記載された条件の変化により、影響を受ける FEP が確実に変化すると考えられるもの。
M(Medium) :	原因側の FEP に記載された条件の変化により、影響を受ける FEP が変化する報告が文献にあるもの。
L(Low) :	原因側の FEP に記載された条件の変化により、影響を受ける FEP が変化するという報告が無いもの。

ここでは、Dr.West の助言を得ながら、改めて表 2.2-1 の定義に基づいて重要度を評価することとした。

(2) 今までの FEP 調査結果[1]の見直し

Dr.West の助言および文献[3]～[10]を反映させて文献[1]の FEP 調査結果を改定した。以下、主要な改正点とその根拠を示す。

(i) 廃棄体における微生物活動

(a) 微生物活動に対するインフルエンス

廃棄体での微生物活動(FW63)は、水化学(高pH)によって強く抑えられるが、長期的にpHが低下したとき微生物活動が起こりうること(重要度H)、その場合、温度、核種の崩壊と蓄積、有機物(廃棄物)の劣化、ピチューメンマトリックスの特性変化、および緩衝材の特性(外部からの微生物侵入)のFEPにも配慮しなければならない(重要度M)というのが、文献[1]の結論であった。本検討の結論も基本的に同じであるが、pH低下後における核種の崩壊と蓄積(FW05)からのインフルエンスはそれほど重要でない(重要度L)というように変更した。廃棄体での水化学(FW41)からのインフルエンスは高pHにより安全性を高める影響であるので重要度を低くみるべきという意見もあったが、ここでは、高pH耐性の微生物が出現したり、HLWの場合低アルカリコンクリートが使用されたり、TRU廃棄物であっても予想のように高pHが維持されなかつたりする可能性を考え、重要度Hのままとし

た。FEP 辞書の内容に関しては、pH 低下後に微生物活動が起こりうるには適度の栄養塩とエネルギー源の存在が前提となること、微生物活動が水化学に及ぼす影響として細胞外ポリマーの生成があること、微生物自身がコロイドとして作用することなどを追記した。

(b) 微生物活動から出発するインフルエンス

廃棄体での微生物活動は起こりにくい、もし起きた場合比較的重要な影響を受ける事象(重要度 M)は、金属(廃棄物)の劣化、有機物(廃棄物)の劣化、およびガス発生であるというのが文献[1]の結論であった。本検討では、金属(廃棄物)の劣化(FW53)とピチューメンマトリックスの特性変化(FW57)が初期の好気的環境下で起こりうることを追記した。有機物(廃棄物)の劣化(FW54)およびガス発生(FW11)は HLW の場合重要度が低いという意見もあったが、ここでは TRU 廃棄物に配慮して M のままとした。

(ii) 充填材における微生物活動

(a) 微生物活動に対するインフルエンス

充填材での微生物活動(FM63)は、水化学(高pH)によって強く抑えられるが、長期的にpHが低下したとき微生物活動が起こりうること(重要度 H) その場合、温度および緩衝材の特性(外部からの微生物侵入)のFEPにも配慮しなければならない(重要度 M)というのが、文献[1]の結論であった。本検討の結論も基本的に同じである。充填材での水化学(FM41)からのインフルエンスは(i)と同じ判断でHのままとした。

(b) 微生物活動から出発するインフルエンス

充填材での微生物活動は起こりにくく、もし起きた場合でも重要な影響を受ける事象は無い(重要度 L)というのが文献[1]の結論であった。本検討では、コンクリートに有機物が添加された場合も想定して、ガス発生(FM11)と水化学(FM41)に対するインフルエンスの重要度をL-Mと高めた。FEP辞書の内容に関しては、微生物が裂け目や割れ目の表面にバイオフィームとして増殖し、充填材の特性を変化させることを追記した。

(iii) 構造躯体における微生物活動

(a) 微生物活動に対するインフルエンス

構造躯体での微生物活動 (FS63) は、水化学 (高 pH) によって強く抑えられるが、長期的に pH が低下したとき微生物活動が起こりうること (重要度 H)、その場合、温度および緩衝材の特性 (外部からの微生物侵入) の FEP にも配慮しなければならない (重要度 M) というのが、文献[1]の結論であった。本検討の結論も基本的に同じであるが、微生物活動に及ぼす構造躯体での温度 (FS61) の影響は廃棄体や充填材ほど重要でないとして重要度 L-M とした。また、構造躯体の特性 (FS51) (例えば中性化) が影響する可能性があるとして重要度を L-M とした。構造躯体での水化学 (FS41) からのインフルエンスは (i) と同じ判断で H のままとした。

(b) 微生物活動から出発するインフルエンス

構造躯体での微生物活動は起こりにくく、もし起きた場合でも重要な影響を受ける事象は無い (重要度 L) というのが文献[1]の結論であった。しかし本検討では、文献データが非常に少なく、影響はおそらく小さいとはいえ重要度を確定するには研究が必要という観点から、各インフルエンスの重要度を L-M と評価した。FEP 辞書の内容に関しては、充填材と同様の追記がある。

(iv) 緩衝材における微生物活動

(a) 微生物活動に対するインフルエンス

緩衝材での微生物活動 (FB63) は、水化学 (高 pH) によって一定期間強く抑えられるが、長期的に pH が低下して微生物活動が起きる可能性は、廃棄体、充填材、構造躯体におけるより大きいこと (重要度 H)、その場合、温度および緩衝材の特性 (外部からの微生物侵入) の FEP にも配慮しなければならない (重要度 M、H) というのが、文献[1]の結論であった。本検討の結論も基本的に同じであるが、緩衝材での温度 (FB61) の影響は構造躯体よりも更に小さく重要度 L とした。緩衝材の特性 (FB51) は重要度 H とするほどでないとは判断し、構造躯体の微生物活動 (FS63) などへの影響と同じく M とした。緩衝材での水化学 (FB41) からのインフルエンスは (i) の判断と同じく H のままとした。FEP 辞書の内容に関しては、緩衝材の特

性からのインフルエンスの評価に緩衝材のひび割れ(cracking)が起こりうることを追記した。

(b) 微生物活動から出発するインフルエンス

緩衝材での微生物活動は廃棄体、充填材、構造躯体より起こりやすく、緩衝材での吸着、ガス発生、水化学、特性に重要な影響を及ぼす可能性があるというのが文献[1]の結論であった。しかし本検討では、緩衝材での放射性核種の吸着 (FB03) や緩衝材の特性 (FB51) に及ぼす微生物影響のデータが少ないのに、やや重要度を高く評価しすぎていたと判断し、重要度評価を若干低下させた。FEP 辞書の内容には、ファーフールドへのガス拡散、水化学、緩衝材のき裂状態に微生物が及ぼす影響を実際に近いモデルで検証する実験の提案などを追記した。

(v) ニアフィールド母岩における微生物活動

(a) 微生物活動に対するインフルエンス

ニアフィールド母岩での微生物活動 (FN63) は、ニアフィールド母岩での水化学や特性の影響を受けつつ (重要度 H、M) 進行するというのが文献[1]の結論であったが、あまり詳しい記載はされていない。本検討では、Dr.West からの情報などをもとに、処分施設の構造が、環境変化、栄養塩・エネルギー源供給、外界の微生物の持込などを介してニアフィールド母岩の微生物活動に影響を及ぼすこと、微生物は地質により強く影響を受けること、地下水が微生物に及ぼす影響評価の必要性などを FEP 辞書に追記した。ニアフィールド母岩の特性(FN51) 微生物活動(FN63)の重要度は H へと高めた。

(b) 微生物活動から出発するインフルエンス

ニアフィールド母岩での微生物活動は廃棄体、充填材、構造躯体より起こりやすく、ニアフィールド母岩での水化学、特性、ガス発生に重要な影響を及ぼす可能性があるというのが文献[1]の結論であったが、詳しい記載はされていない。本検討では、Dr.West からの情報などをもとに、バイオフィルムが水の流れと吸着特性を変えること、微生物による無機物生成も水の流れに影響すること、微生物とバイオフィルム中の細胞外ポリマーが核種を吸着することなどを FEP 辞書に追記した。さらに

微生物が水化学、水の流れ、吸着特性、無機物生成に及ぼす影響をサイトに適合した形で実験・評価することが重要と提案した。重要度評価の面では、微生物活動(FN63)がニアフィールド母岩での水化学(FN41)および特性(FN51)に及ぼす影響をHと高めた。ガス発生(FN11)に及ぼす影響は、有機物が無ければガス発生への影響は小さいとの意見もあったが、廃棄体からの有機物拡散の可能性も考えMのままとした。吸着(FN03)に及ぼす影響は安全性が高くなる方向なので重要度は低いという意見もあったが、微生物が本来の吸着サイトのマスキングとなって汚染物質の吸着量を減らすという報告もあるので、重要度Mとした。コロイドの発生と移行(FN64)に及ぼす影響については、未知の部分が多いので重要度をL-Mと若干高めた。

(3) 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価の再検討

当年度、Dr.Westとともに実施した検討により、文献[1]と比較し、FEP辞書の内容にいくつかの新しい情報、判断が加わった。その結果、インフルエンスのいくつかでは重要度が文献[1]から変化した。その概要を表2.2-3に示す。

表 2.2-3 FEP リストの重要度一覧表

FW63 廃棄体での微生物活動				重要度		備考
原因 / 結果	インフルエンスID	FEP ID	FEP名称	文献[1]	本検討	
From	W023	FW61	廃棄体の温度	M	M	
From	W024	FW05	廃棄体での核種の崩壊と蓄積	M	L	
From	W038	FW53	金属(廃棄物)の劣化	L	L	
From	W048	FW54	有機物(廃棄物)の劣化	M	M	
From	W061	FW55	無機物(廃棄物)の劣化	L	L	
From	W067	FW56	セメントマトリックスの特性変化	L	L	
From	W079	FW57	ビチューメンマトリックスの特性変化	M	M	
From	C019	FW41	廃棄体での水化学	H	H	異論もあり。
From	C035	FW52	容器の特性の変化	L	L	
From	なし	FB51	緩衝材の特性	M	M	
To	W037	FW53	金属(廃棄物)の劣化	M	M	追加情報あり。
To	W049	FW54	有機物(廃棄物)の劣化	M	M	TRU廃棄物の場合、重要。
To	W060	FW55	無機物(廃棄物)の劣化	L	L	
To	W068	FW56	セメントマトリックスの特性変化	L	L	
To	W080	FW57	ビチューメンマトリックスの特性変化	L	L	追加情報あり。
To	C020	FW41	廃棄体での水化学	L	L	
To	C021	FW64	廃棄体でのコロイドの発生と移行	L	L	
To	C031	FW03	廃棄体での吸着	L	L	
To	C034	FW52	容器の特性の変化	L	L	
To	C050	FM63	充填材での微生物活動	L	L	
To	C054	FW11	廃棄体でのガス発生	M	M	TRU廃棄物の場合、重要。

FM63 充填材での微生物活動				重要度		備考
原因 / 結果	インフルエンスID	FEP ID	FEP名称	文献[1]	本検討	
From	M014	FM41	充填材での水化学	H	H	異論もあり。
From	M093	FM61	充填材の温度	M	M	
From	M095	FM51	充填材の特性	L	L	
From	C050	FW63	廃棄体での微生物活動	L	L	
From	なし	FB51	緩衝材の特性	M	M	
To	M009	FM11	充填材でのガス発生	L	L~M	コンクリートへの有機物添加時に重要。
To	M016	FM41	充填材での水化学	L	L~M	コンクリートへの有機物添加時に重要。
To	M048	FM64	充填材でのコロイドの発生と移行	L	L	
To	M055	FM03	充填材での吸着	L	L	
To	M073	FM51	充填材の特性	L	L	
To	M090	FM53	充填材での鉄筋の劣化	L	L	

FS63 構造躯体での微生物活動				重要度		備考
原因 / 結果	インフルエンスID	FEP ID	FEP名称	文献[1]	本検討	
From	S014	FS41	構造躯体での水化学	H	H	異論もあり。
From	S093	FS61	構造躯体での温度	M	L~M	温度の影響は廃棄体近傍ほどでない。
From	S095	FS51	構造躯体の特性	L	L~M	未知の部分が多い。
From	なし	FB51	緩衝材の特性	M	M	
To	S009	FS11	構造躯体でのガス発生	L	L~M	未知の部分が多い。
To	S015	FS41	構造躯体での水化学	L	L~M	未知の部分が多い。
To	S048	FS64	構造躯体でのコロイドの発生と移行	L	L~M	未知の部分が多い。
To	S055	FS03	構造躯体での吸着	L	L~M	未知の部分が多い。
To	S073	FS51	構造躯体の特性	L	L~M	未知の部分が多い。
To	S090	FS53	構造躯体での鉄筋の劣化	L	L~M	未知の部分が多い。

FB63 緩衝材での微生物活動				重要度		備考
原因 / 結果	インフルエンスID	FEP ID	FEP名称	文献[1]	本検討	
From	B014	FB41	緩衝材での水化学	H	H	異論もあり。
From	B093	FB61	緩衝材での温度	M	L	温度の影響は廃棄体近傍ほどでない。
From	B095	FB51	緩衝材の特性	H	M	Hとするほどでない。
From	なし	FN63	ニアフィールド母岩での微生物活動	L	L	
To	B055	FB03	緩衝材での吸着	H	M	未知の部分が多い。
To	B009	FB11	緩衝材でのガス発生	M	M	
To	B016	FB41	緩衝材での水化学	M	M	
To	B073	FB51	緩衝材の特性	M	L~M	未知の部分が多い。
To	B048	FB64	緩衝材でのコロイドの発生と移行	L	L	

FN63 ニアフィールド母岩での微生物活動				重要度		備考
原因 / 結果	インフルエンスID	FEP ID	FEP名称	文献[1]	本検討	
From	N001	FN41	ニアフィールド母岩での水化学	H	H	FN63関係は追加情報あり。
From	N089	FN61	ニアフィールド母岩での温度	L	L	
From	なし	FN51	ニアフィールド母岩の特性	M	H	地質が微生物に影響する。
To	N002	FN41	ニアフィールド母岩での水化学	M	H	重要度が大きい(未発表データ)。
To	N074	FN51	ニアフィールド母岩の特性	M	H	微生物が水の流れを変える
To	N004	FN11	ニアフィールド母岩でのガス発生	M	M	TRU廃棄物で重要。
To	N009	FN03	ニアフィールド母岩での吸着	H	M	安全性向上の重要度は低い。
To	N045	FN64	ニアフィールド母岩でのコロイドの発生と移行	L	L~M	未知の部分が多い。

廃棄体などの FEP にも変更はあったが、とくに大きく変更したのはニアフィールド母岩の FEP であり、重要度が上昇した。その、変更後のプロセスインフルエンスダイアグラムを図 2.2-1 に示す。

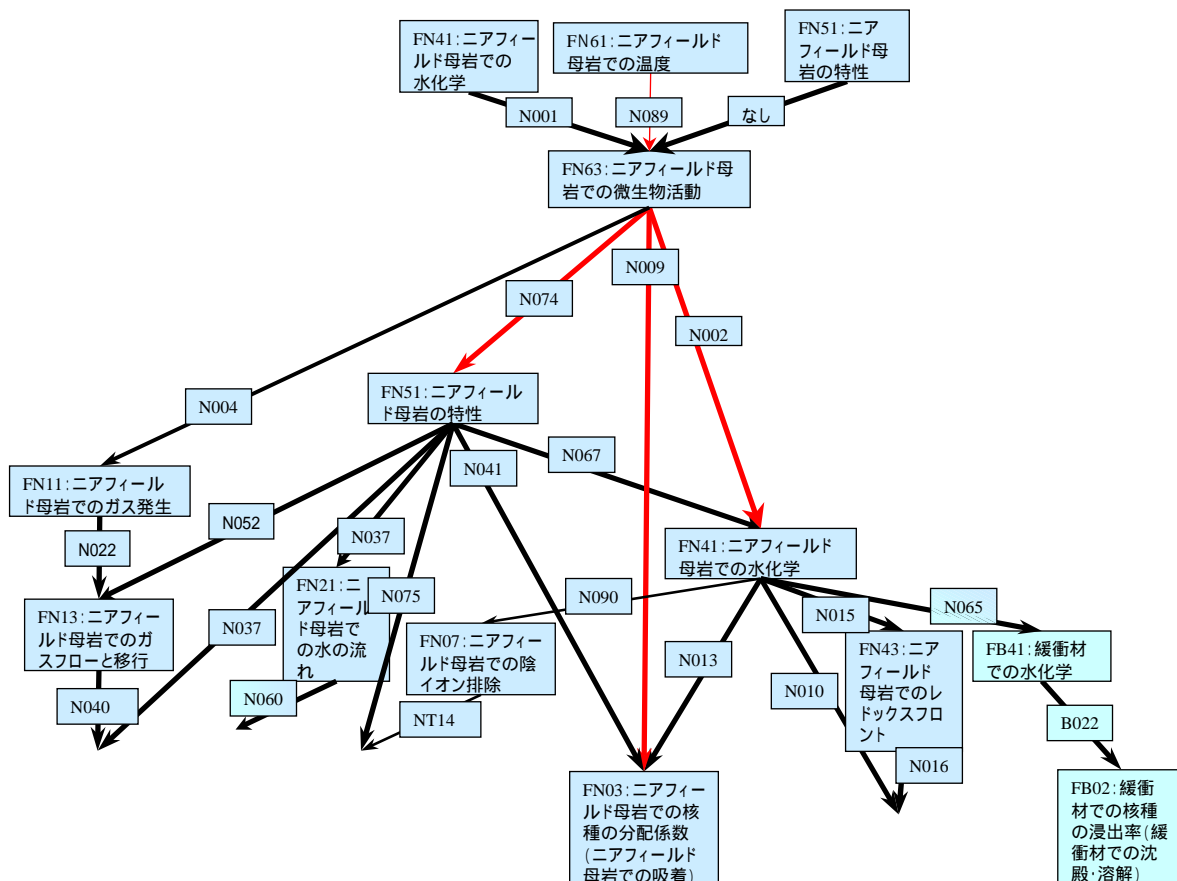


図 2.2-1 プロセスインフルエンスダイアグラム

文献[1]に対し見解の相違があったのは、廃棄体及びニアフィールド母岩であったため、「廃棄体における核種の浸出率」、「岩石に対する核種の分配係数」、「岩石中の核種の実効拡散係数」、「天然環境での核種の溶解度」、「岩石の透水係数」について再検討を実施し、追記事項をアンダーラインで表記した。

(i) 廃棄体における核種の浸出率 (廃棄体での核種の浸出率)

(a) 検討結果

処分場開設時及び pH が 12 を下回ってから、廃棄体における微生物活動が、核種の浸出率に及ぼす影響を次の 2 つの研究より求める必要がある。

- ・微生物存在下における腐食速度への微生物影響検討
- ・処分場模擬条件での水化学の変化等を調べるニアフィールドモデル試験

(ii) 岩石に対する核種の分配係数

(a) 検討結果

結晶質岩及び堆積石の分配係数に与える微生物の影響を評価した結果は見あたらない。しかし、微生物が Pu、Np、I の収着に何らかの形で影響を及ぼしていることが考えられる。現状の溶液中及びベントナイト懸濁液中での試験結果より、微生物の存在により分配係数が大きくなることはあるが、小さくなる結果は出ていない。

よって、ニアフィールド母岩への吸着に及ぼす微生物影響を適切に評価するためには、微生物と核種の吸着性の検討を充実させる必要がある。とくに、微生物による核種吸着効果が全体シナリオで意味を持つようになる場合には、重要な検討項目となる。

(iii) 岩石中の核種の実効拡散係数

(a) 検討結果

岩石中の核種の実効拡散係数の値が、微生物影響でリファレンス値より高くなるか低くなるかについて明確に述べたデータは見あたらない。また微生物による水質変化及びニアフィールド水理への影響が考えられるため、ニアフィールドモデル試験を実施して確認する必要がある。

(iv) 天然環境での核種の溶解度

(a) 検討結果

微生物による天然環境中で核種の溶解度の増加・減少についての問題点を解決するためには、天然環境中の実態を提案する調査として地下微生物による活性量の調査、地下環境における鉄還元細菌の調査が必要となる。(追記は特にない。)

(v) 岩石の透水係数

(a) 検討結果

前記のルートを評価する試験として、ガス発生試験及びモデル試験の対象をニア

フィールド母岩にまで広げる必要が出てくる可能性がある。

現在の知見では、微生物の影響により、ニアフィールド母岩中で核種の透水係数は上がるかどうか不明である。(追記は特でない。)

2.2.2 硝酸イオンの化学形態変遷調査

(1) 概要

地球上の窒素循環において、硝酸塩(NO_3)は亜硝酸塩(NO_2)に還元される流れがあり、さらに窒素ガス(N_2)にまで還元される流れがある。前者の反応を硝酸還元といい、硝酸塩または亜硝酸塩を窒素ガスに還元する反応を脱窒といい、どちらも微生物(細菌など原核生物)により進行させられる[11]。一部の細菌(大腸菌など)は、亜硝酸塩までの還元で反応が停止するが、硝酸還元する多くの細菌は脱窒まで行うことができる。亜硝酸塩から窒素ガスへは一酸化窒素(NO)、一酸化二窒素(N_2O)を経て変換される。脱窒を行う微生物(脱窒細菌)は、硝酸塩または亜硝酸塩に、有機物や水素から電子を移してエネルギーを得ている[12]が、通常、環境中に酸素が存在する場合は酸素を消費し、それを消費しつくした場合の脱窒反応を行う[4]。

(2) 硝酸塩の化学形態変遷が進行する条件

以上より硝酸塩が存在するとき硝酸還元や脱窒が起きる基本的条件は、次の3点と考えられる。

- ・ 無酸素であること
- ・ 電子供与体となる有機物または水素などが存在すること
- ・ 脱窒細菌が生存し活動できる環境条件であること

電子供与体となる物質としては酢酸などの有機酸、アミノ酸、アルコール類、糖類[13]、メタノール[14]、水素[12]、単体硫黄、チオ硫酸、亜硫酸、硫化物(還元型硫黄)[15]などである。脱窒細菌が活動できる環境条件として、最も活動が活発になるpH条件は中性または弱アルカリ性とされる[16]が、pH4.5で硝酸還元が起こる[17]とか、pH10で脱窒活性が見られた[16]という報告もある。Knowles[12]は脱窒はpH11で起こるかもしれないと述べている。

pHおよび酸化還元電位が脱窒に及ぼす影響は、動力炉・核燃料開発事業団(PNC)[18][19]でも調べられた。脱窒細菌の*Pseudomonas denitrificans* IFO 13302でpH 6.5

~ 11 の範囲、Eh-150 ~ +300mV の範囲で試験したところ、脱窒活性は pH 7.5 ~ 8.5 で最も高く pH9.5 以上ではこの菌株の場合増殖も認められなかった。また Eh については -50mV 付近で最も活性が高く、Eh+250mV 以上では脱窒活性が認められなかった [18][19]。

温度の影響は、土壌において 60 ~ 67 °C で最も窒素ガスが発生したという報告 [20] もあるが、これは試験中に好熱性脱窒細菌が繁殖した可能性がある。一方、低温側では 5 °C での脱窒が低速ながら確認されている [13]。常識的には 30 ~ 35 °C 前後で微生物活動が活発になると考えるのが妥当であろう。

放射線照射の影響として 2.5Mrad のガンマ線照射は pH 中性付近で硝酸還元をむしろ促進したという報告 [21] がある。

塩分の影響として、米国 New Mexico 州 Carlsbad の岩塩地帯の TRU 廃棄物処分施設から単離された好塩性細菌 *Halomonas* sp.(WIPP1A) が、岩塩 (Halite) 200g/L の培地で硝酸ウラニルからウランの沈殿を生成させることが示された [22]。

硝酸還元は、carbon rich (電子供与体が多い) で electron-acceptor poor (硝酸イオンが少ない) の場合に活発になる傾向があり、反芻動物のルーメン (第 1 胃) や消化汚泥では大きな役割を占める [32]。

硝酸塩の微生物による取り込みは、大部分の嫌気的環境ではアンモニアや有機性窒素の方が豊富なので、抑制される [33]。

(3) 処分施設環境または TRU 廃棄物を想定した検討

ネバダ DOE サイトの掘削岩体の微生物が調査され、硝酸塩還元微生物と鉄還元微生物とが検出されたとの報告がある [23]。また、カナダの地下 500 ~ 1000m の花崗岩質の貯蔵施設周辺の地下水の細菌数は硝酸イオンにより数桁増えたとの報告がある [24]。このように地層処分施設周辺には硝酸塩還元細菌が存在し、そこに硝酸塩が供給されると活動する可能性はある。しかし、報告例が少なく、定量的なことは言いにくい。

前述のとおり硝酸塩還元あるいは脱窒を行う微生物は、電子供与体の存在によって反応速度が増加することが考えられる。TRU 廃棄物から硝酸塩とともに有機物が供給された場合、有機物供給の無い環境よりも硝酸塩還元および脱窒が起こりやすいことは想定できる。

石油系炭化水素の脱窒細菌による分解については、ベンゼン環、ヒドロキシ安息香酸、

フェノールなどについて報告がある[25][26]。また、Brownらは高速道路のアスファルトに生息する微生物が二酸化炭素、水素、メタン、一酸化二窒素、窒素、硫化水素などを生成することを示した[27]。一酸化二窒素および窒素ガスの生成は脱窒の進行を示す。またピチューメンからのCO₂発生量は、硝酸塩などの電子供与体を添加すると無添加に比べて増加し最大50mLCO₂/0.8m²/2カ月に達した[28]。

こういう脱窒細菌を積極的に使って核施設からの硝酸塩含有排水を処理しようという試みもある。米国New Mexico州LANL Radioactive Liquid Waste Treatment Facilityで微生物バリアによる硝酸塩の除去が検討されている[29]。また、エタノール、メタノール、酢酸塩、クエン酸塩などを加えることになるのであるが、装置(流動床)の空塔容積あたり80gNO₃-N/L/dの脱窒速度が得られた[30]。

わが国では、硝酸塩を含むピチューメン模擬固化体(BWP)に微生物を接種し好気および嫌気性条件下でのガス発生を測定した例がある。それによれば、BWP1gあたり最大0.4mLの一酸化二窒素(N₂O)の発生が確認され、硝酸塩からの脱窒が確認された[31]。

2.3 結果の考察・検討

FEP 辞書の網羅性、内容、重要度評価レベルの向上では、JNC の調査結果[1]を英国 BGS の専門家(Dr.J.M. West)のレビューを受けるという手法を主体にして Brush up を図った。その結果は下記のようにまとめられる。

- ・ FEP の形式について、重要度の評価基準は全体シナリオにおけるリンクの重要性で見る元来の基準[2]が良いというのが Dr.West の見解である。
- ・ 廃棄体、充填材、構造躯体、緩衝材に関する Dr. West の見解は、JNC の調査結果[1]と基本的に同じであるが、一部については Dr. West から情報不足の補足や表現の修正コメントをもらった。また、重要度は JNC の判断[1]に比べて低めであった。これは、JNC の重要度判断[1]が微生物に対する影響または微生物の影響の確実さによっているのに対し、Dr.West は、このリンクの全体シナリオにおける重要性で判断されたためかもしれないが、全体的に廃棄体近傍での微生物の重要度を JNC[1]より低めに見ている。
- ・ ニアフィールド母岩については、もともと JNC の情報[1]が不足していたこともあったが、2.2.1 で述べたような多数の補足があった。また、ニアフィールド母岩における微生物の重要度を JNC[1]より高めに見ている。

微生物による硝酸塩の化学形態変遷の調査は、JICST など文献検索を主体に実施したが、その結果は次のようにまとめられる。

- ・ 硝酸塩が有機物など電子供与体との共存下で窒素ガスに変換するのは微生物の普遍的な反応（脱窒）で、地球の物質循環の中でも重要な役割を果たしている。
- ・ 地層処分施設周辺環境に脱窒を行う微生物が存在することを示す文献は少ないが、硝酸塩と電子供与体が供給され続ける限り、繁殖の可能性は高い。
- ・ 脱窒の電子供与体として、低分子の有機化合物は微生物に利用されやすい。ピチュメンが利用されるという文献は少しであるが存在する。
- ・ 低分子有機化合物を添加することにより、脱窒を行う微生物を積極的に利用して、核施設排水の硝酸塩を除去する試みがある。
- ・ 定量的な研究は少ない。

以上より、廃棄物近傍以外の部分を含めた処分施設全域の微生物影響に関して本調査から付け加えるべきことは、

- ・ ニアフィールド母岩での微生物の重要性

・ 硝酸塩と電子供与体が共存した場合の脱窒を行う微生物の重要性
の2点であろう。例えば、TRU 廃棄物中の硝酸塩およびビチューメンが拡散しニアフィールド母岩での微生物活動で脱窒により一酸化二窒素および窒素ガスを発生する場合が一つのモデルとなるが、その影響が全体シナリオの中でどの程度か定量的な評価が必要と考える。後者については検討の結果、例えば、ニアフィールド母岩での微生物活動 (N004) ニアフィールド母岩でのガス発生 (FN11) のリンク (N004) を M から H に上げる可能性も生じる。

2.4 参考文献

- [1] 福永 栄、中山 衛、神徳 敬、菅野 毅、工藤 章、“人工バリア材料における微生物の透過性及び核種の吸着性の評価。” JNC TJ8400 2000-30 . (2000)
- [2] 電力共通研究「TRU 廃棄物処分における安全評価手法に関する研究(最終報告書)(1998)」
- [3] West, J. M., McKinley, I.G. and Stroes-Gascoyne, S. “ Microbial effects on waste repository materials. ” In: Interactions of microorganisms with radionuclides. Keith-Loach, M.J. and Livens, F. R. (Editors). Elsevier Science Ltd p255-277 (in press) . (2002)
- [4] West, J. M and McKinley, I. G. “ The geomicrobiology of radioactive waste disposal. ” In: Encyclopaedia of Environmental Microbiology Bitton, G. (Editor) John Wiley and Sons (in press) (2002)
- [5] 福永他,“地層処分における微生物の影響に関する調査.”PNC TN8410 92-013 .(1992)
- [6] 福永他,“人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究.” PNC TJ1150 95-006. (1996)
- [7] Motamedi, M. et al, “ Survival of sulfate reducing bacteria at different water activities in compacted bentonite. ” FEMS Microbiology Letters, Vol.4, pp.83-87. (1996)
- [8] Stroes-Gascoyne, S. & J.M. West. “ An overview of microbial research related to high-level nuclear waste disposal with emphasis on the Canadian concept for the disposal of nuclear fuel waste. ” Can.J.Microbiol., Vol.42, pp.349-366. (1996)
- [9] 福永 栄、横山 英一、荒井 和浩、千手 隆史、工藤 章,“人工バリア材料におけ

- る微生物の透過性及び核種の吸着性の評価。” JNC TJ8400 2000-029. ,(2000)
- [10] Valentine, N.L. et al, Bioaccumulation of radionuclides by a subsurface bacterium, ISSM-93, Bath, UK, C-11. .(1993)
- [11] Stanier, R.Y. et al. (高橋甫ほか訳) 微生物学[上][下]、培風館。(1986)
- [12] Knowles, R. Denitrification. Microbiological Reviews, Vol.46, pp.43-70. (1982)
- [13] Gamble, T.N. et al. “ Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. Appl. Environ. ” Microbiol., Vol.33, pp.926-939. (1977)
- [14] Sperl, G.T. “ Denitrification with methanol: a selective enrichment for *Hyphomicrobium* species. ” J. Bacteriol. Vol.108, pp.733-736. (1971)
- [15] Sawhney, V. & Nicholas, D.J.D. “ Sulphite- and NADH-dependent nitrate reductase from *Thiobacillus denitrificans*. ” J. gen. Microbiol., Vol.100, pp.49-58. (1977)
- [16] Timmermans, P. and van Haute, A. “ Denitrification with methanol. ” Water Research Vol.17, pp.1249-1255. (1983)
- [17] Gilliam, J.W. and Gambrell, R.P. “ Temperature and pH limiting factors in loss of nitrate from saturated atlantic coastal plain soils. ” J. Environ. Qual., Vol.7, pp.526-532. (1978)
- [18] 福永 栄 ,他“ 人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究() .” PNC TJ1150 97-004. (1997)
- [19] 福永 栄 ,他“ 人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究() .” PNC TJ1150 98-003. (1998)
- [20] Keeney, D.R. et al. “ Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a silt loam soil. ” Soil Sci. Soc. Am. J., Vol.43, pp.1124-1128. (1979)
- [21] van Kleemput, O. and Patrick, W.H.Jr. “ Nitrate and nitrite reduction in flooded gamma-irradiated soil under controlled pH and redox potential conditions. ” Soil Biol. Biochem. Vol.6, pp.85-88. (1974)
- [22] Francis, A.J. “ Biotransformation of Uranium compounds in high ionic strength brine by a halophilic bacterium under denitrifying conditions. Environ. ” Sci. Technol. Vol.34 pp.2311-2317. (2000)
- [23] Tiedje, J.M. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to

- ammonium. In Zehnder, A. J. B. (ed.) "Biology in Anaerobic Microorganisms" pp.179-244. (1988)
- [24] Stroes-Gascoyne, S. and M. Gascoyne, " The introduction of microbial nutrients into a nuclear waste disposal vault during excavation and operation. " Environ. Sci. Technol. Vol.32 pp.317-326. (1998)
- [25] Evans, W.C. " Biochemistry of bacterial catabolism of aromatic compounds in anaerobic environments. " Nature Vol.270 No.3 pp.17-22. (1977)
- [26] Atlas, R.M. " Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. " Microbiological Reviews. Vol.45 pp.180-209. (1981)
- [27] Brown, L.R. and T.R. Darnell, Factors affecting the microbial deterioration of asphalt overlays. PB report, 86-185709, NTIS, USA. (1986)
- [28] Wolf, M. and Bachofen, R. " Microbial degradation of bitumen. " Experientia Vol.47 pp.542-548. (1991)
- [29] Strietelmeier, B.A. Remediation of nitrate-contaminated groundwater using a biobarrier. WM'01 Conference, Tucson, AZ. (2001)
- [30] Pitt, W.W. et al. " Biological reduction of nitrates in wastewaters from nuclear processing using a fluidized-bed bioreactor. " Nuclear and Chemical Waste Management Vol.2 pp.57-70. (1981)
- [31] (財)原子力環境整備センター平成 10 年度 放射性廃棄物処分高度化システム確証試験. (1999)
- [32] Tiedje, J.M. "Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium." In Zehnder, A.J.B.(ed) Biology in Anaerobic Microorganisms pp.179-244.(1988)

3 ベントナイト中の微生物の移行評価

既往の研究において、圧縮ベントナイト中の微生物の移行について降水系地下水に近い培地（やや塩分濃度は高い）を基本として実験的な研究を実施してきた。以下に、試験の概要を述べる。

3.1 研究開発の方法

3.1.1 試験材料

(1) 透過試験用微生物及び培地

透過試験用微生物には、これまでの試験と同様に、LB 培地（表 3.1-1、ニッスイ製薬製）で増殖したアンピシリン耐性大腸菌を使用した。大腸菌は好気条件、嫌気条件のいずれでも生育可能であり、大きさは $(0.5 \sim 0.7) \times 1.0 \sim 3.0 \mu\text{m}$ 程度で桿菌に分類される（写真 3.1-1）。

透過試験用培地には、EMB 培地（表 3.1-2）を用いた。海水系の試験には、EMB 培地の成分を、金属腐食試験用の海水成分調整水（表 3.1-3、八洲薬品製、商品名：アクアマリン®）を用いて調整したものを用いた。

(2) ベントナイト成型体

Na 型ベントナイトとしてクニゲル V1 を、Ca 型化ベントナイトとしてクニゲル V1 に化学処理を施して Ca 型化したもの（核燃料サイクル開発機構支給品）を用いた。いずれも 30 wt%のケイ砂を混合し、ガラスシャーレに入れて振とう装置で攪拌しながら 1 時間紫外線ランプを照射した後、105℃ で 2 時間の乾熱滅菌処理を施してから成型した。

3.1.2 試験の手順

試験は、ベントナイトの成型、加水膨潤処理、微生物透過処理（図 3.1-1）および透過菌数測定（図 3.1-2）の各工程で実施した。

(1) ベントナイトの成型

成型には、ケイ砂と混合したベントナイト 78.5g を内径 50 mm の円筒状の鉄型に詰め、2 分間圧縮した。これにより、直径 50 mm、高さ 25 mm の円柱状に成型した。なお、鉄型は成型前に消毒用アルコールを十分噴霧して殺菌してから用いた。

(2) 試験装置

試験装置の概要を図 3.1-3 に示す。透過試験用培地は、試験容器の 50cm 上方に設置された容器から滴下管を通してベントナイト成型体上部の中空フィルターに連続的に供給される。試験装置は 30 ℃ に温度調節されたインキュベータ内に置かれた(写真 3.1-2)。

(3) 加水膨潤処理

ベントナイト成型体の加水膨潤処理は、従来と同様に 3 週間実施した。ステンレス製の試験容器に設置したベントナイト成型体の上面に膨潤液のろ過を目的としたアルミナフィルターを設置し、加圧蒸気滅菌 (121 ℃、20min × 2 回) を行った後、滴下管から滅菌脱塩水を供給した。海水系の試験においては、加圧蒸気滅菌 (121 ℃、15min) を行った上述の海水成分調整水を用いて膨潤処理を施した。

(4) 微生物透過処理

ベントナイト成型体を膨潤処理後、アルミナフィルターを滅菌済みの中空フィルターに交換し、LB 培地で約 1 日間前培養した大腸菌を含む菌液を上蓋投入口から供給した。

試験容器から取り出した後の成型体は、試験培養液に含ませた色素 (エオシンイエロー : テトラブromフルオレセインナトリウム : $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5 = 691.86$) の移動沈着により、全ての条件で底部まで液が浸透しているのを確認した。

全ての試験は、条件毎に 3 個の試験容器を用いて行った。

(5) 透過菌数測定

透過菌数測定は、ベントナイト成型体中の 5 箇所について菌移動距離の異なる切片 (0.2g) を切り出し、10ml の生理食塩水に懸濁の後、20 μm ナイロンメッシュ布をもちいて微小粒子の除去し、10 倍、100 倍および 1000 倍に生理食塩水で希釈し、それぞれ 1 ml を LB 寒天培地および標準寒天培地の 2 種類に混釈して、30 ℃ で 2 ~ 5 日の培養した。

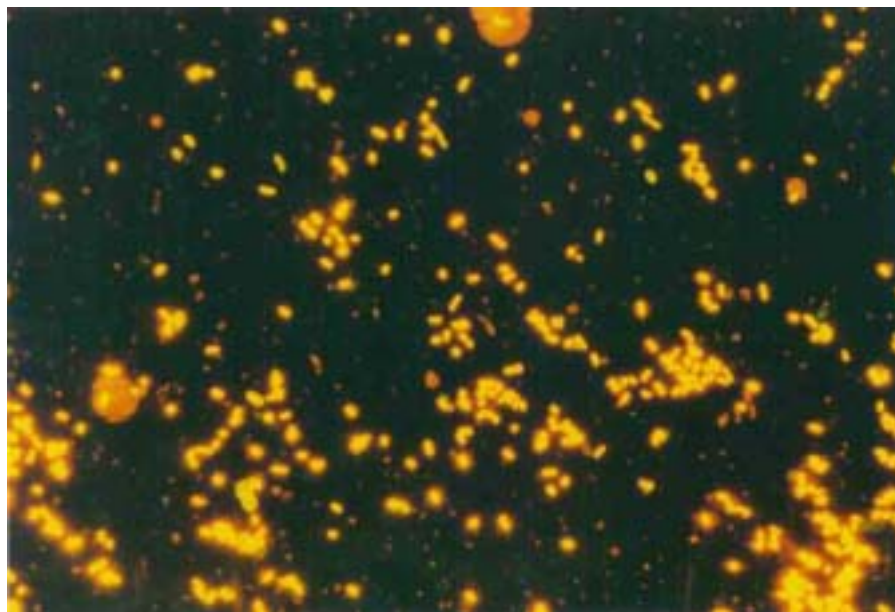


写真 3.1-1 大腸菌（アンピシリン耐性菌：発光部）の顕微鏡写真



写真 3.1-2 透過試験状況

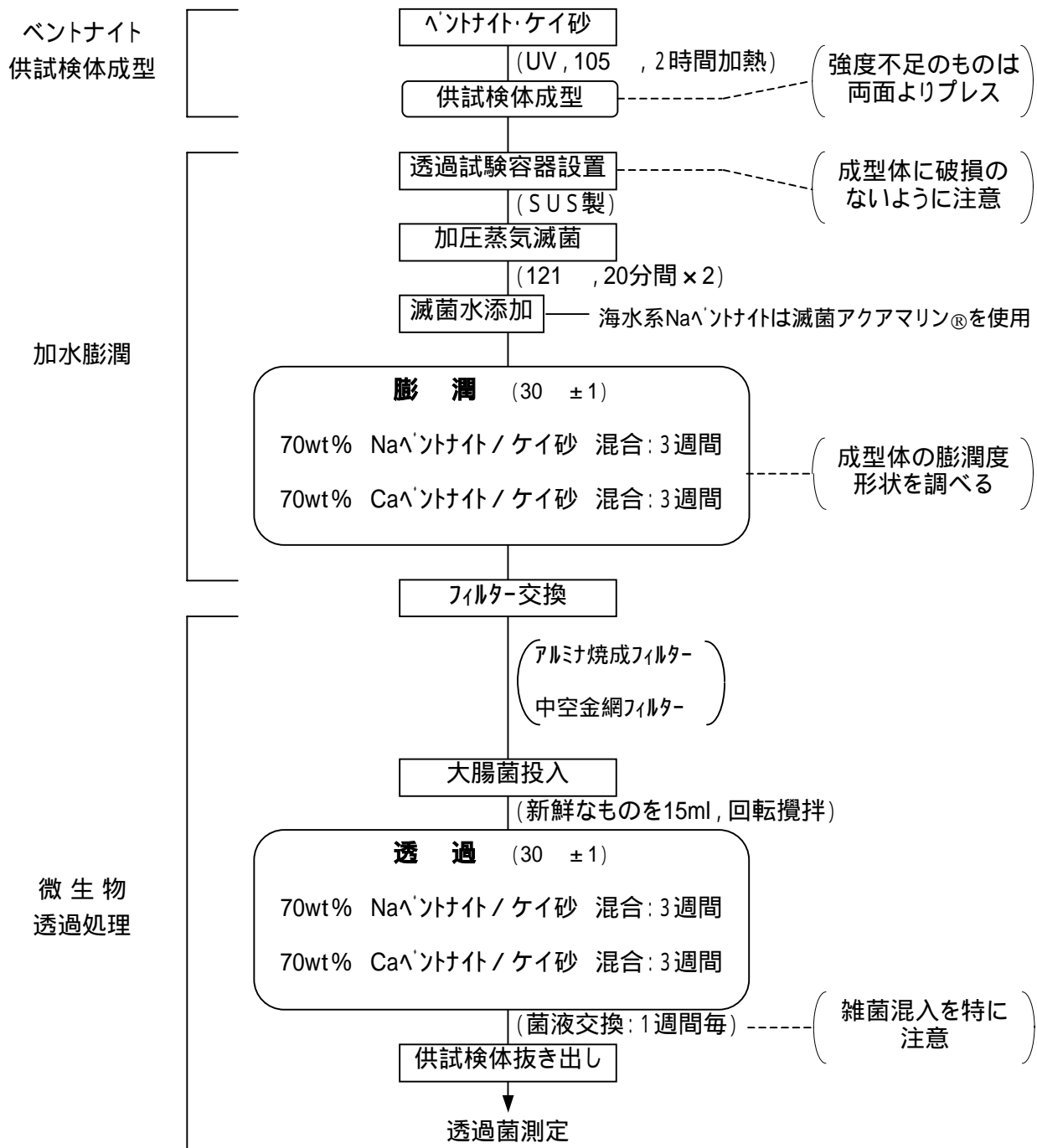


図 3.1-1 ベントナイト成型、加水膨潤および微生物透過処理のフロー

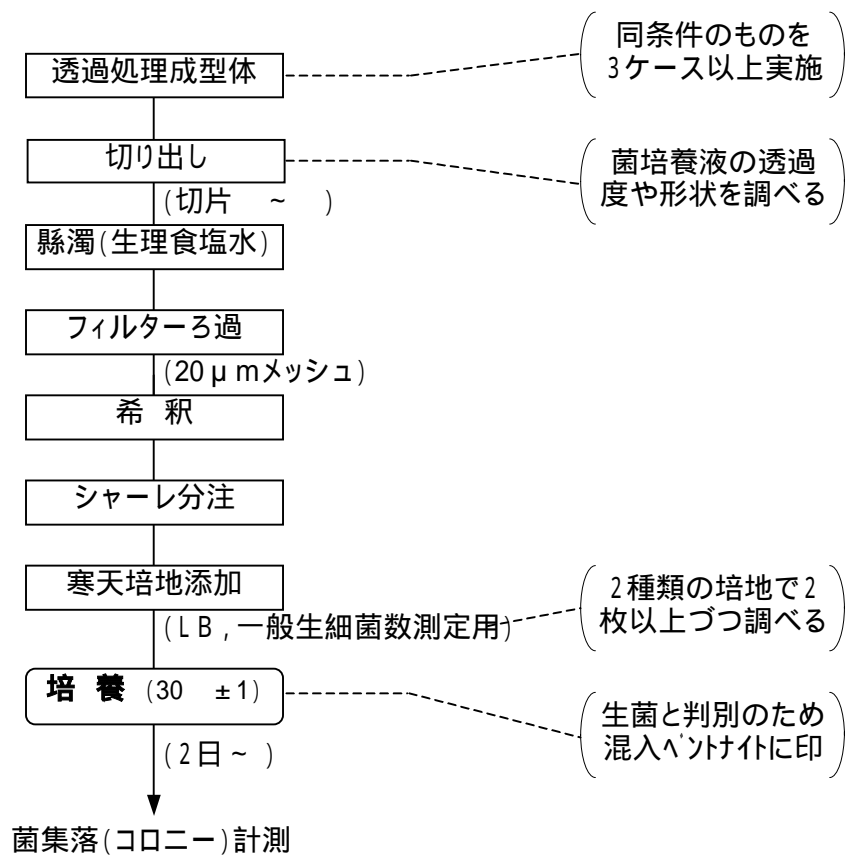


図 3.1-2 透過菌数測定フロー

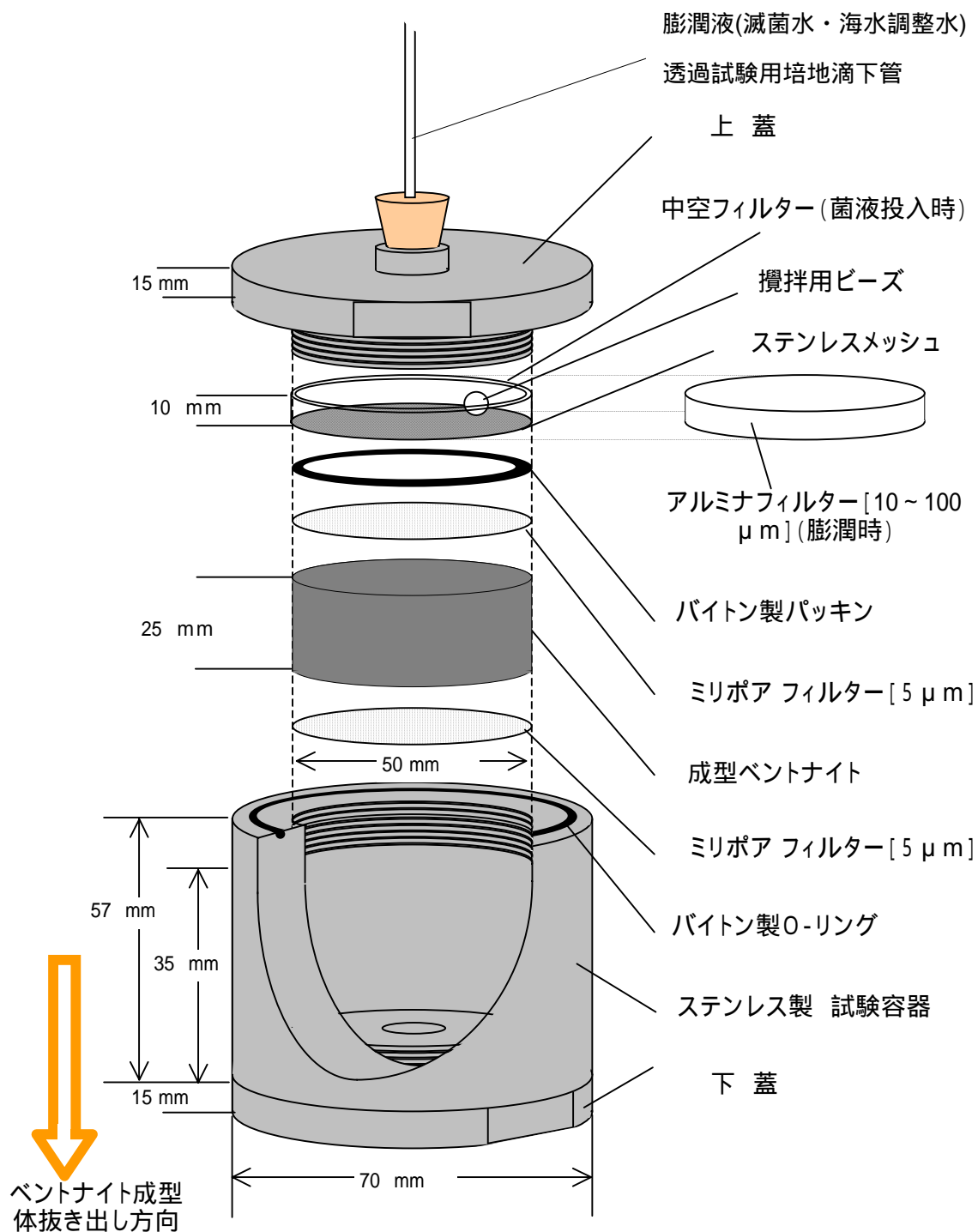


図 3.1-3 ベントナイト透過試験装置の概要

表 3.1-1 LB 培地組成

肉エキス	3.0 g
乳糖	5.0 g
ペプトン	10.0 g
BTB	0.024g
脱塩水	1000ml
pH7.0	

表 3.1-2 EMB 培地

サッカロース	10.0g
コハク酸ナトリウム	5.0g
NaCl	1.0g
MgSO ₄	1.0g
K ₂ HPO ₄	2.0g
(NH ₄) ₂ SO ₄	5.0g
エオシンイエロー	0.4g
脱塩水	1000ml
pH6.8	

表 3.1-3 海水成分調整水組成

MgCl ₂ ·6H ₂ O	222.23g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	30.70g
SrCl ₂ ·6H ₂ O	0.85g
KCl	13.89g
NaHCO ₃	4.02g
KBr	2.01g
H ₃ BO ₃	0.54g
NaF	0.06g
NaCl	490.68g
Na ₂ SO ₄	81.88g
脱塩水	20L
pH8.2	

表 3.1-4 標準寒天培地組成

酵母エキス	2.5g
ペプトン	5.0g
ブドウ糖	1.0g
寒天	15.0g
脱塩水	1000ml
pH7.0	

3.2 研究開発の結果

3.2.1 海水系培地による微生物の培養確認

海水系 Na 型ベントナイト（海水成分調整水を含む EMB 培地を供給されている Na 型ベントナイト）で試験したところ、降水系 Na 型ベントナイト（海水成分調整水を含まない EMB 培地を供給されている Na 型ベントナイト）より最上層での菌の生育数が少なかったものの、菌数的には十分に検出されたので試験に支障が出る範囲ではないと判断した。

3.2.2 ケイ砂混合率 30wt%：乾燥密度 1.6g/cm³：

Na 型ベントナイト成型体における微生物透過試験

3 試験体とも大腸菌は導入部以外には検知されず、菌の移動は検知されなかった。

3.2.3 ケイ砂混合率 30wt%：乾燥密度 1.6g/cm³：

海水系 Na 型ベントナイト成型体における微生物透過試験

3 試験体とも大腸菌は導入部以外には検知されず、菌の移動は検知されなかった。

3.2.4 ケイ砂混合率 30wt%：乾燥密度 1.6g/cm³：

9 週間 Ca 型化ベントナイト成型体における微生物透過試験

3 試験体中 2 試験体ですべての層で菌が検知され、最下層（20mm）まで菌の移動がみられたが 1 試験体では最上層のみに菌が検知され、移動が見られなかった。

3.3 結果の考察・検討

以上の結果を、過去に実施されたベントナイト系緩衝材の微生物移行試験結果（表 1.2-1）に加えてまとめたものを、表 3.3-1 に示す。これらの試験条件での菌の透過傾向を見ると、ケイ砂混合率が菌の透過に影響が大きいことがうかがえる。

Ca 型化ベントナイト成型体は、同条件の Na 型ベントナイトより微生物が透過しやすいことがうかがえる。この理由としては、成型体中にケイ砂などが存在すると微細な間隙が残しやすいことが考えられる。また、Ca 型化ベントナイトによる今回の 9 週間の試験では 3 回試験のうち 2 回で 20mm の最下層まで菌の移動が見られ、1 回は菌の移動はみられなかった。ただ、Ca 型化ベントナイトの飽和状態の確認が十分でなかったため、その影響を受けている可能性もある。

以上の試験結果から、試験開始後 3 週間目における微生物（大腸菌）のベントナイト中の透過を抑えられる条件は、ケイ砂の混合率 30wt% 以下であった。ただし、ベントナイトが劣化し Ca 型化した場合を想定すると、試験開始後 3 週間目における微生物（大腸菌）のベントナイト中の透過を確実に抑えられる条件は、ケイ砂の混合率 0wt% であった。

今回の海水系 Na ベントナイトによる試験は乾燥密度 1.6g/cm³、ケイ砂混合率 30wt% の条件で試験を実施した。海水系 Na 型ベントナイト成型体はやや Ca 型化ベントナイト成型体に似た性状が見受けられたが、菌の移動は見られなかった。

表 3.3-1 微生物透過試験結果のまとめ（平成 7 ～ 13 年度）

乾燥密度		1.8 (g/cm ³)			1.6 (g/cm ³)					1.6 (g/cm ³)				1.2 (g/cm ³)			
ベントナイトの種類		Na			Ca					Na				Na			
ケイ砂混合率(wt%)		0	50	80	0	0 ^{*1}	30	30 ^{*2}	50	0	30	30 ^{*3}	50	0	30	50	80
ベントナイト層	底面 25mm	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	I 20mm																
	II 15mm																
	III 10mm																
	IV 5mm																
最上層部	V 0mm																

○ : 透過が認められたもの

□ : 透過が認められなかったもの

◐ : 一部に透過が認められたもの

- : 壁面回り込み菌検出の懸念のため測定中止

*1 : pH調整有り(pH=10)

*2 : 長期透過(9週間)

*3 : 海水系培地を用いた試験

3.4 参考文献

- [1] 福永 栄、横山 英一、荒井 和浩、朝野 英一、千手 隆史、工藤 章，“人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究（ ）”，1999. JNC TL8400 99-025. (1999)
- [2] Stroes-Gascoyne, S. et al. Migration of bacteria in compacted clay-based material. Proc. 11th Int. Clay Conf.. Ottawa, Canada, pp.117-122. (1999)

4 超長期のベントナイト中の微生物移行の推測及び生息状況調査

4.1 研究開発の方法

4.1.1 ベントナイト鉱床の選定

調査目的に合致する条件として、次の3項目を設定した。

掘削・採掘が行われ、外界とベントナイト鉱床とが接触するようになった状態で一定期間放置されていること

ベントナイト鉱床と外界との接触面には、外界の微生物が繁殖しやすい状態となっていること、かつ可能であれば水の流れが形成されていること

ベントナイト鉱床は複数箇所調査対象とし、交換性陽イオンとしてNaイオンに富む鉱床、およびCaイオンに富む鉱床を含むこと

これに沿って調査地点として下記4箇所を決定した。その概要を表4.1-1に示す。

表 4.1-1 調査地点概要

Point	位置	採掘方法	ベントナイト性状	外界接触面	放置期間
A	宮城県、川崎鉱山内	露天掘り	Ca型	沈殿池の底泥	6年
B	宮城県、川崎鉱山内	露天掘り	Ca型	湧水	2年
C	山形県、月布鉱山内	坑内掘り	Na型	空気、湿潤	5年
D	山形県、月布鉱山内	坑内掘り	Na型	空気、湿潤	約30年

4.1.2 ボーリング作業

Point A、Bは2001年11月26日に実施した。Point C、Dは2001年12月17日に実施した。

(1) Point A

ボーリングには東邦地下工機(株)製D1-B型を用いた。コア表面は外因によって汚染されるため、微生物分析のための試料採取はコア内部を使用することとした。

(2) Point B

ボーリングには(株)利根製エコプローブを用いた。コアはビニールのコアパック内に収められ、コアチューブからコアを抜き出すことが容易にできる。

(3) Point C

ボーリングには東邦地下工機(株)製 D1-B 型を用いた。接地点のベントナイトは、たれ落ちる地下水によりゲル状に近い状態になっていた。

(4) Point D

ボーリングには東邦地下工機(株)製 D1-B 型を用いた。接地点は Point C と同じようにゲル状となっている。

4.1.3 試料採取と物理化学的性状分析

(1) 試料採取

分析用試料は、外界接触面の外界側の試料として、Point A では沈殿池の底泥、Point B ではベントナイト表面を流れている湧水、Point C では近傍の坑道天井からの落下水(および予備的にやや離れた位置の坑内湧出水、Point D では近傍の坑内湧出水を採取した。これらの試料は 0~4 の冷蔵状態で分析場所まで運搬した。

ベントナイト鉋床の試料としては、ボーリングで採取したコアの表面 0~5cm 程度、表面から 20~30cm 程度の深さのコア、表面から 40~50cm 程度の深さのコア、および表面から 90~100cm 程度のコアの 4 検体を採取した。

(2) 現場分析

現場では、外界側の試料の分析として、水温、pH、導電率、酸化還元電位を測定した。

(3) 水質分析

外界側試料の水質分析は、CODCr、NO₂⁻、TOC、BOD、SS、SO₄²⁻、NH₄⁺、NO₃⁻、全鉄および鉄イオンを分析した。

(4) コア分析

コア分析として、(i) 含水比、含水率 (ii) モンモリロナイト含有量(メチレンブルー吸着量測定法) (iii) 湿潤密度、乾燥密度(簡易測定)などを測定した。

4.1.4 微生物分析用の試料採取

作業は、ボーリング現場近くの室内に簡易型の無菌操作装置を設置し、切出し作業を実施した。切り出した試料は容積 50mL のプラスチック製滅菌遠沈管に入れ、0~4 の冷蔵状態で保管し、微生物分析に供した。

外界側の試料は、物理化学的性状分析用試料と同じように採取し、0~4 の冷蔵状態で保管・運搬し、微生物分析に供した。

4.1.5 培養法による微生物数計測

前処理した微生物分析用試料を 10 倍、100 倍および 1000 倍に生理食塩水で希釈し、それぞれ 1 ml を LB 寒天培地(表 3.1-1)および R2A 寒天培地[1]に混釈した。試料混釈後、20 で 7 日間の好気条件下の培養・コロニーカウントを行う一方、20 で 7 日間の嫌気条件下の培養・コロニーカウントも実施した。

4.1.6 新しい手法による微生物数計測および遺伝子工学的手法による系統解析

この方法は、通常の培養法では検出できないが現場で生きている微生物を染色 - 蛍光顕微鏡観察の技術で検出しようというものである。染色用の試料は、染色後、メンブレンフィルター上に捕集し、蛍光顕微鏡 (Zeiss 製 AXIOVERT135) 下で、次の三つの方法で微生物数を計測した。なお、外界側試料のうち水サンプルは、メンブレンフィルターでろ過・濃縮後、同様の操作を実施した。

(1) SYBR Green による全細胞数の計測

SYBR Green は核酸を染色する色素であるが、死細胞も含めて染色される。全微生物を計測する方法である。

(2) CFDA-AM 法による生細胞数の計測

CFDA-AM (Carboxyfluorescein diacetate acetoxymethyl ester) は生細胞のみ染色す

る色素である。光合成微生物以外の細胞は薄い緑色に染色される。その数を計測することにより、非光合成の生きている微生物数を計測できる。

(3) CFDA-AM 法による光合成細胞数の計測

上記と同じく CFDA-AM 液で染色するが、クロロフィルを持つ細胞が B 励起の蛍光下でクリーム色に染色される点に着目し、光合成微生物数を計測する。

一方、このように検出された生きている細胞を、分子遺伝学的に系統解析し、従来の培養法では得られなかったような微生物の探索や分布の調査に着手した。

4.2 研究開発の結果

4.2.1 選定したベントナイト鉱床の状況

(a) Point A :

採取したコアの上面は水深 2m 以上の沈殿池となっており、黒変したヘドロ状の底泥が溜まっている。このヘドロはベントナイトが主体である可能性がある。十分な日照を受けている。水には藻類の繁茂を示す兆候は無いが岸辺には水生植物が見られる。

(b) Point B :

採取したコアの上面は、周囲のベントナイト鉱床から湧出した水が水深数 cm 以下の流れを作っている。十分な日照を受けている。そこには藻類の繁殖が観察され、流れの底は部分的に緑色となっている。緑色の層の下方は厚さ 1cm 以下の黒色の層がある。

(c) Point C :

坑道内で通常、暗黒の状態である。採取したコア（坑道壁面から横方向のボーリング）の表面は、空気に接しているが、地下水が滴り落ちており、表面は湿っている。肉眼では生物の繁殖を示すものは見当たらない。坑道の温度は 20 以上はあると思われる。

(d) Point D :

坑道内であるが、常時、電灯の照明はある。採取したコア（坑道壁面から横方向のボーリング）の表面は、空気に接しているが、地下水が滴り落ちており、表面は湿っている。肉眼では生物の繁殖を示すものは見当たらない。坑道内には氷が見られる。

4.2.2 ボーリング作業

選定した4箇所の地点にてボーリング作業を実施した結果得られたコアの写真を写真4.2-1～写真4.2-4に示す。

<p>写真 4.2-1 コア Point A</p>	<p>写真 4.2-2 コア Point B</p>
	
<p>写真 4.2-3 コア Point C</p>	<p>写真 4.2-4 コア Point D (下3列)</p>
	

4.2.3 試料採取と物理化学的性状分析

コアの試料の切り出しは、前述のとおり、外界との接触面から鉛直方向に0～90cm程度の距離で4部位とし、試料名に各々-1、-2、-3、-4の記号を付した。外界側の試料の水質分析結果を表4.2-1に、コア試料の分析結果を表4.2-2～表4.2-5に示す。

表 4.2-1 外界側試料の水質分析結果

Point	環境条件				電子供与体		電子受容体			
	水温 ()	pH	導電率 (mS/cm)	ORP (mV)	CODCr (mg/L)	BOD (mg/L)	SO ₄ (mg/L)	NO ₃ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	T-Fe (mg/L)
A-0-U	6.3	9.45	0.78	+235	10	4	414			0.69
A-0	11.7	7.92		-181						
B-0	12.6	9.33	0.21	38	7	2	65	<4	0.01	0.22
C-0-S	11.4	8.30	0.76	75	9					0.85
C-0	8.7	9.36	0.77	33	6	0.7	192	<4	0.05	0.58
D-0	2.4	3.85	0.39	383	5		268	<4	<0.01	0.28

Point A-0：底泥、B-0 湧水、C-0-S 天井落水、C-0 および D-0：坑内湧出水

A-0-U：2002年2月22日に追加作業として採取した沈殿池上層の試料(ORPは輸送後測定したものであるため参考データ)

ORP：酸化還元電位、CODCr：二クロム酸塩による化学的酸素要求量、BOD：生物化学的酸素要求量、T-Fe：全鉄。

Point	その他有機物				ガス	栄養塩		
	SS (mg/L)	TS (g/kg)	VTS (g/kg)	TOC (mg/L)	IC (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)	S-Fe (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)
A-0-U				7.6	38	<4		0.016
A-0		164.9	9.68					
B-0	5			2.9	10	<4	0.15	0.039
C-0-S								
C-0	22			3.3	91	<4		0.147
D-0				4.0	0	<4		0.026

SS: Suspended solids, TS: Total solids, VTS: Volatile total solids, TOC: Total organic carbon, IC: Inorganic carbon, S-Fe: Soluble iron.

表 4.2-2 コア試料の分析結果 Point A

a. 含水率, 含水比

試料名	乾燥前重量(g)	乾燥後重量(g)	瓶重量(g)	含水率(%)		含水比
					平均値	
A-1	63.13	57.14	49.57	44.2	43.4	76.5
	68.76	61.87	52.55	42.5		
A-2	68.96	62.82	54.18	41.5	41.3	70.2
	66.15	60.30	51.87	41.0		
A-3	73.16	65.23	50.28	34.7	34.7	53.1
	72.51	65.75	53.04	34.7		
A-4	75.51	67.93	53.11	33.8	33.5	50.3
	75.83	67.95	52.02	33.1		

b. モンモリロナイト含有量

試料名	吸着量(mmol/100g)	
		平均値
A-1	104	103.5
	103	
A-2	98	97.0
	96	
A-3	108	107.0
	106	
A-4	112	111.0
	110	

c. 密度測定(簡易測定)

試料名	試料重量(g)	容積(ml=cm ³)	湿潤密度(g/cm ³)		乾燥後残重量割合	乾燥密度(g/cm ³)
				平均		
A-1	13.13	8.8	1.49	1.503	0.567	0.852
	11.69	7.6	1.54			
	12.74	8.6	1.48			
A-2	12.74	8.6	1.48	1.520	0.587	0.892
	10.3	6.8	1.51			
	18.22	11.6	1.57			
A-3	11.35	7.2	1.58	1.617	0.653	1.056
	22.53	14.0	1.61			
	8.12	4.9	1.66			
A-4	19.54	10.0	1.95	1.740	0.665	1.157
	16.48	10.1	1.63			
	13.29	8.1	1.64			

(乾燥後残重量割合)=(1-含水率)

表 4.2-3 コア試料の分析結果 Point B

a. 含水率, 含水比

試料名	乾燥前重量(g)	乾燥後重量(g)	瓶重量(g)	含水率(%)		含水比
					平均値	
B-1	84.29	71.27	51.50	39.7	40.3	67.4
	77.86	67.41	52.25	40.8		
B-2	79.99	69.58	47.71	32.2	32.0	47.1
	86.36	74.38	48.65	31.8		
B-3	78.02	69.88	48.66	27.7	27.6	38.0
	79.46	70.32	46.08	27.4		
B-4	77.52	68.4	48.59	31.5	31.3	45.5
	78.77	69.51	48.94	31.0		

b. モンモリロナイト含有量

試料名	吸着量(mmol/100g)	
		平均値
B-1	55	54.5
	54	
B-2	106	105.0
	104	
B-3	103	102.0
	101	
B-4	102	101.5
	101	

c. 密度測定(簡易測定)

試料名	試料重量(g)	容積(ml=cm ³)	湿潤密度(g/cm ³)		乾燥後残重量割合	乾燥密度(g/cm ³)
				平均		
B-1	7.57	5.0	1.51	1.510	0.597	0.901
	-	-	-			
	-	-	-			
B-2	4.87	3.1	1.57	1.575	0.680	1.071
	6.33	4.0	1.58			
	-	-	-			
B-3	8.21	5.3	1.55	1.555	0.724	1.126
	8.40	5.4	1.56			
	-	-	-			
B-4	7.81	4.7	1.66	1.675	0.687	1.151
	28.88	17.1	1.69			
	-	-	-			

サンプルの作成には、伸びの影響を受けていないと考えられる部分のみを使用したため、十分な測定点数は得られなかった。

表 4.2-4 コア試料の分析結果 Point C

a. 含水率, 含水比

試料名	乾燥前重量(g)	乾燥後重量(g)	瓶重量(g)	含水率(%)		含水比
					平均値	
C-1	71.85	63.99	53.50	42.8	42.6	74.2
	69.83	62.24	51.92	42.4		
C-2	73.68	66.96	51.32	30.1	30.7	44.3
	69.25	63.53	50.95	31.3		
C-3	73.21	68.35	50.85	21.7	23.0	29.8
	71.37	66.06	49.42	24.2		
C-4	81.22	74.26	47.70	20.8	22.5	28.9
	72.30	66.28	47.33	24.1		

b. モンモリロナイト含有量

試料名	吸着量(mmol/100g)	
		平均値
C-1	106	105.5
	105	
C-2	115	113.5
	112	
C-3	60	59.0
	58	
C-4	78	76.0
	74	

c. 密度測定(簡易測定)

試料名	試料重量(g)	容積(ml=cm ³)	湿潤密度(g/cm ³)		乾燥後残重量割合	乾燥密度(g/cm ³)
				平均		
C-1	9.10	5.6	1.63	1.620	0.574	0.930
	8.31	5.0	1.66			
	16.77	10.7	1.57			
C-2	23.22	13.7	1.69	1.683	0.693	1.166
	12.87	7.7	1.67			
	16.55	9.8	1.69			
C-3	6.43	3.8	1.69	1.780	0.77	1.371
	14.05	8.0	1.76			
	10.22	5.4	1.89			
C-4	7.03	3.7	1.90	1.930	0.776	1.498
	5.54	2.9	1.91			
	11.66	5.9	1.98			

表 4.2-5 コア試料の分析結果 Point D

a. 含水率, 含水比

試料名	乾燥前重量(g)	乾燥後重量(g)	瓶重量(g)	含水率(%)		含水比
					平均値	
D-1	61.38	52.85	48.66	67.1	72.8	267.6
	60.83	50.05	47.09	78.5		
D-2	73.15	60.19	48.64	52.9	53.0	112.5
	65.02	54.98	46.07	53.0		
D-3	73.44	66.04	48.79	30.0	26.6	36.2
	76.26	69.87	48.66	23.2		
D-4	69.54	65.63	48.58	18.7	17.4	21.0
	84.86	79.11	48.94	16.0		

b. モンモリロナイト含有量

試料名	吸着量(mmol/100g)	
		平均値
D-1	70	68.5
	67	
D-2	75	73.5
	72	
D-3	71	70.0
	69	
D-4	72	71.0
	70	

c. 密度測定(簡易測定)

試料名	試料重量(g)	容積(ml=cm ³)	湿潤密度(g/cm ³)		乾燥後残重量割合	乾燥密度(g/cm ³)
				平均		
D-1	1.41	1.1	1.28	1.177	0.272	0.320
	4.03	3.5	1.15			
	5.30	4.8	1.10			
D-2	24.51	15.6	1.57	1.567	0.471	0.738
	21.05	13.1	1.61			
	17.49	11.5	1.52			
D-3	23.76	12.6	1.89	1.887	0.734	1.385
	21.67	11.7	1.85			
	26.67	13.9	1.92			
D-4	8.96	4.7	1.91	1.870	0.827	1.546
	11.31	6.0	1.89			
	6.32	3.5	1.81			

4.2.4 微生物分析用の試料採取

本来は無菌のコアに同様の切り出し操作を実施し、採取検体が無菌であることを確認すべきであるが、B-4、C-4のように最深部では生きている微生物が不検出という結果が得られていること（後述）から、少なくとも、切り出し操作により微生物汚染が常に起きるといふ可能性は否定された。

4.2.5 培養法による微生物数計測

計測結果を表 4.2-6 に示す。

4.2.6 新しい手法による微生物数計測および遺伝子工学的手法による系統解析

CFDA-AM 液により染色された生細胞、光合成微生物の生細胞の数を計測した結果を表 4.2-6 に示す。また系統解析により *Rhodococcus* 属に高い相同性が認められた微生物が検出された。

表 4.2-6 微生物数計測結果

試料	深さ(cm)	培養法			新しい手法		
		LB 好気	R2A 好気	R2A 嫌気	CFDA	CFDA 光	SYBR-G
A-0	沈殿池底泥	4.87x10 ³	5.22x10 ⁵	4.70x10 ³	9.02x10 ⁸	9.73x10 ⁷	5.91x10 ¹⁰
A-1	20.7 ~ 23	1.92x10 ³	1.06x10 ⁷	2.94x10 ⁴	4.96x10 ⁶	ND	1.63x10 ¹⁰
A-2	33.7 ~ 36	ND	ND	ND	8.34x10 ⁵	ND	1.30x10 ¹⁰
A-3	66.7 ~ 70.5	2.09x10 ³	6.92x10 ³	3.83x10 ³	6.61x10 ⁶	ND	1.40x10 ¹⁰
A-4	94 ~ 98	1.31x10 ²	7.51x10 ²	3.27x10 ²	2.56x10 ⁵	ND	1.14x10 ¹⁰
B-0*	湧水	2.15x10 ²	2.05x10 ⁵	7.79x10 ²	2.96x10 ⁴	4.67x10 ³	2.38x10 ⁹
B-1	0 ~ 3.2	5.42x10 ⁴	4.07x10 ⁶	2.43x10 ⁵	2.12x10 ⁸	2.05x10 ⁶	5.71x10 ⁹
B-2	19.1 ~ 22.3	ND	1.05x10 ³	1.92x10 ³	2.85x10 ⁶	ND	1.35x10 ¹⁰
B-3	44.5 ~ 47.7	ND	2.98x10 ⁵	8.42x10 ⁴	1.07x10 ⁶	ND	1.04x10 ¹⁰
B-4	90 ~ 95	ND	ND	ND	ND	ND	6.34x10 ⁹
C-0-S*	天井落下水	1.10x10 ²	1.00x10 ⁴	1.60x10 ²	4.36x10 ⁴	7.25	1.11x10 ⁸
C-0*	坑内湧出水	1.30x10 ²	2.83x10 ⁴	2.17x10 ³			
C-1	0 ~ 8	4.03*10 ²	4.88x10 ⁵	2.65x10 ⁴	6.95x10 ⁶	3.49x10 ⁵	1.09x10 ¹⁰
C-2	22 ~ 28	ND	ND	ND	5.12x10 ⁵	ND	8.86x10 ⁹
C-3	54 ~ 57	ND	ND	ND	3.98x10 ⁵	3.69x10 ⁵	6.67x10 ⁹
C-4	115 ~ 120	ND	ND	ND	1.67x10 ⁵	1.13x10 ⁵	1.30x10 ¹⁰
D-0*	坑内湧出水	ND	2.80x10 ⁴	1.95x10 ⁴	1.81x10 ⁴	2.76x10 ¹⁰	1.34x10 ⁸
D-1	0 ~ 5	4.13x10 ³	4.00x10 ⁵	5.18x10 ⁴	1.52x10 ⁷	5.02x10 ⁵	1.11x10 ¹⁰
D-2	36 ~ 40	ND	1.89x10 ⁴	ND	1.19x10 ⁶	ND	1.05x10 ¹⁰
D-3	63 ~ 69	2.97x10 ²	1.38x10 ⁵	ND	1.57x10 ⁶	5.53x10 ⁵	4.58x10 ⁹
D-4	93 ~ 102	ND	ND	ND	1.28x10 ⁶	3.33x10 ⁵	5.38x10 ⁹

結果は、*を付した試料では mL あたりの微生物数、それ以外の試料では乾燥重量 g あたりの微生物数を示す。

LB 好気：LB 培地（表 3.1-1）30、1 週間培養後コロニーカウント

R2A 好気：R2A 培地（表 4.1-2）20、1 週間培養後コロニーカウント

R2A 嫌気：R2A 培地（表 4.1-2）ガスパック 20、1 週間培養後コロニーカウント

CFDA：CFDA-AM 液による非光合成微生物の生細胞数

CFDA 光：CFDA-AM 液による光合成微生物の生細胞数

SYBR-G：SYBR Green による全細胞数

4.3 結果の考察・検討

4.3.1 ベントナイト鉱床の選定

今回、交換性陽イオン組成として Ca 主体のもの 2 地点、Na 主体のもの 2 地点を選定でき、また Na 主体のものはアルカリ性 1 地点、酸性 1 地点であり、状態の異なる 4 地点を選定することができた。有意義な比較検討が可能となった。

4.3.2 ボーリング作業

得られたコアは、地点ごとに差があったが全て、掘削時の微生物汚染が無いと考えられるきれいなコアが適度に分布していたため、分析用の必要試料を異なる深さで採取することができた。

4.3.3 試料採取と物理化学的性状分析

(1) 微生物の特徴

外界側試料の分析結果および外界接触面の観察結果(4.2.1)より、各地点ベントナイト鉱床に外界から供給される微生物の特徴を考察した。

(a) Point A :

pH は中性で水温も 12 程度あった。沈殿池で繁殖した植物由来の、あるいは陸上から持ち込まれた有機物・栄養塩が供給されていることが考えられ、実際、SS 中の有機物比がベントナイトの値より高いことから、微生物が繁殖しやすい条件は揃っていると考えられる。底泥が黒変していたことから、硫酸塩還元細菌の存在も示唆される。

(b) Point B :

pH は弱アルカリ性で水温は 13 程度であった。水中の有機物濃度(CODCr、TOC)や窒素濃度は低いが、これらは観察された藻類に固定されている可能性もある。電子受容体としては SO₄ 濃度が比較的高く、薄い黒色の層も見られたことから硫酸塩還元細菌の繁殖しやすい条件であることが示唆される。

(c) Point C :

pHは弱アルカリ性で水温は8程度であった。導電率がPoint Bより高いが、このレベルでは降水系と考えられる。酸化還元電位はPoint Bと大差ない。溶存CO₂(IC)濃度が高いのが特徴である。硫酸塩濃度は高く、電子供与体があれば硫酸塩還元細菌が繁殖する可能性がある。

(d) Point D :

pHは酸性で水温は2と低い。坑道内も低温であることから、微生物の繁殖しにくい条件であることが伺える。酸化還元電位も他の地点に比べると非常に高い。硫酸塩濃度の高さが特徴的で、電子供与体があれば硫酸塩還元細菌が繁殖する可能性がある。

(2) コアの試料の分析結果

Point A、Bは、両方とも川崎鉦山のCaタイプのベントナイトで、ベントナイトの純度やその他化学的性質に大きな差異はないと考えられる。含水率と密度は、浅部ほど外部の影響を受けている傾向が読み取れる。

含水率は、Point Aの方が深部まで高水分であることがわかる。各ポイントの状態が、池であったか、少量の水が流れていただけかの違いはあるが、時間的な差によって水の進入深度に差がでていることが考えられる。

つまり、Point Aは約7年間で約1m(換算後のA-4の深度まで)の水の進入があったと考えられ、Point Bは約2年間で約20~45cm(B-2~3)までの進水があったことが考えられる。

Point CとDは、同じ月布鉦山であるが、モンモリロナイト含有量が異なることや、コアの色が違うことから、同様のベントナイトであるとは言えない。

Point Cは浅部50cmのみベントナイト、以深は泥岩質であるため、化学的、物理的なことについて単純に傾向を捉えるのは困難であった。付け加えると、Point Cのように泥岩層との境界部は、地下水の通り道になる可能性もあると思われ、接しているベントナイト層厚が1m程度であると、全層が地下水の影響を受けられる。

Point Dは、コア深度で140cm以深は含水していなかったことから、換算後の深度で約108cm以深は水の進入はなかったと考えられる。おおよそ30年で約110cmの水の進

入が起こったと思われる。

また、Point A、D においてはモンモリロナイトの交換性陽イオン組成の変化に同じ傾向が見られ、これが含水率の変化傾向と調和的であるといえる。これに Point B も加えると、水の進入によってイオン組成が変化したと考えられる。一般的に、モンモリロナイトが風化していくに従い、交換性陽イオン組成は、Na から Ca に、Ca から H に置換が起こり、酸性白土化する。これらのことから、水の進入によりモンモリロナイトの風化も起こっていると考えられる。

4.3.4 微生物分析用の試料採取

完全に無菌という保証は出来ないが微生物不検出の採取地点がいくつかあるので、操作上是基本的に問題が少ないと考える。

4.3.5 培養法による微生物数計測

微生物計測結果を深さ別に図 4 . 3-1 に図示した。これから次のことがわかる。

- ・ 大腸菌計数に用いた LB 培地は、ベントナイト鉱床の微生物培養には適しておらず、R2A 培地の方が高い菌数となった。
- ・ Ca 系ベントナイトである Point A と Point B では不規則ながら深部ほど菌が減少していった。B-4(92.5cm)では生きている菌が検出されなかった。
- ・ Na 系ベントナイトも同じ傾向で、Point C では表面を除く C-2,3,4 で、Point D では最深部の D-4 (97.5cm) で、生きている菌が検出されなかった。
- ・ 菌が不検出の部分の含水率は 17 ~ 31% であった。深さ方向の含水率分布と地山の含水率との関係により、B-4 では外部からの水分透過が無いと推定された。
- ・ 有機物比が 2% 以下の D-2,3 のサンプルでは、嫌気性細菌 (R2A 好気) の数が好気性細菌 (R2A 嫌気) の数より圧倒的に少なかったが、有機物比 4.4 ~ 5.1% の A—3,4 および B-2,3 のサンプルでは両者にあまり差がなかった。

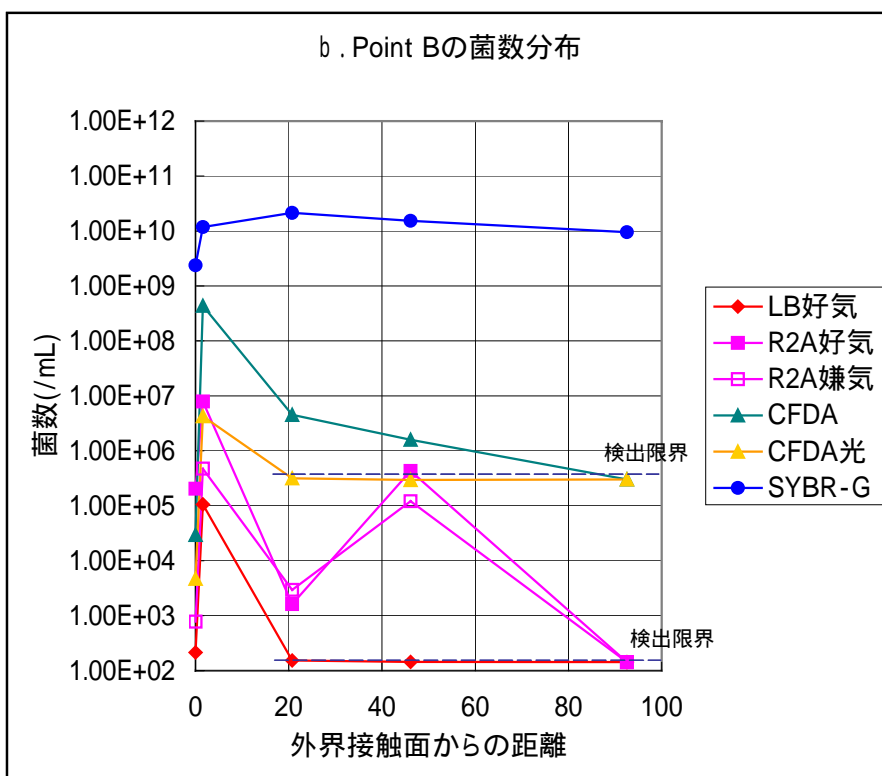
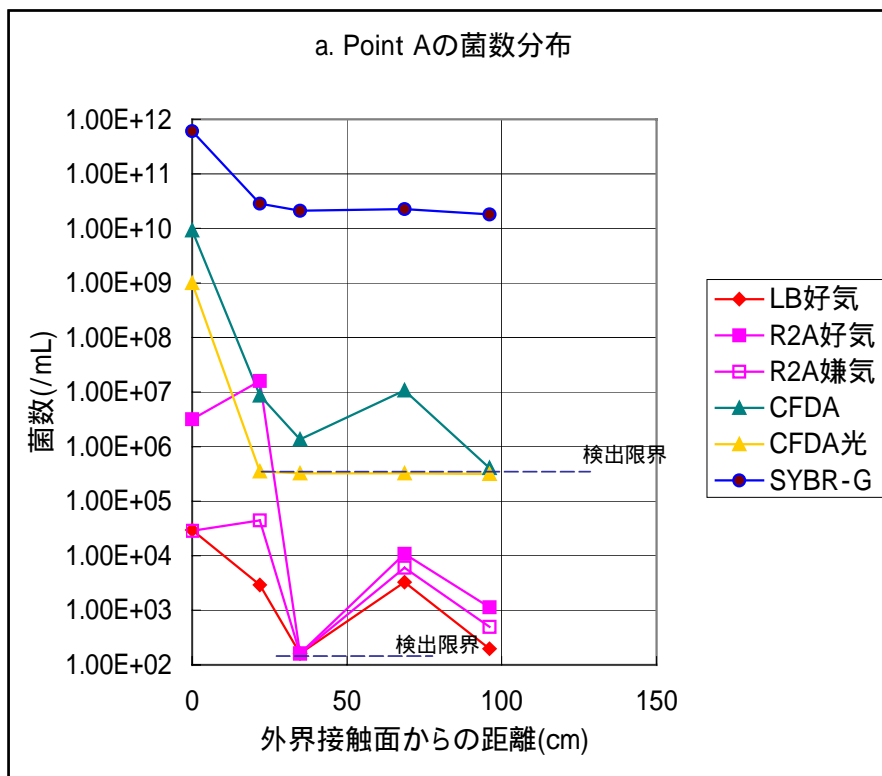


図 4.3-1 深さ方向の微生物数の分布

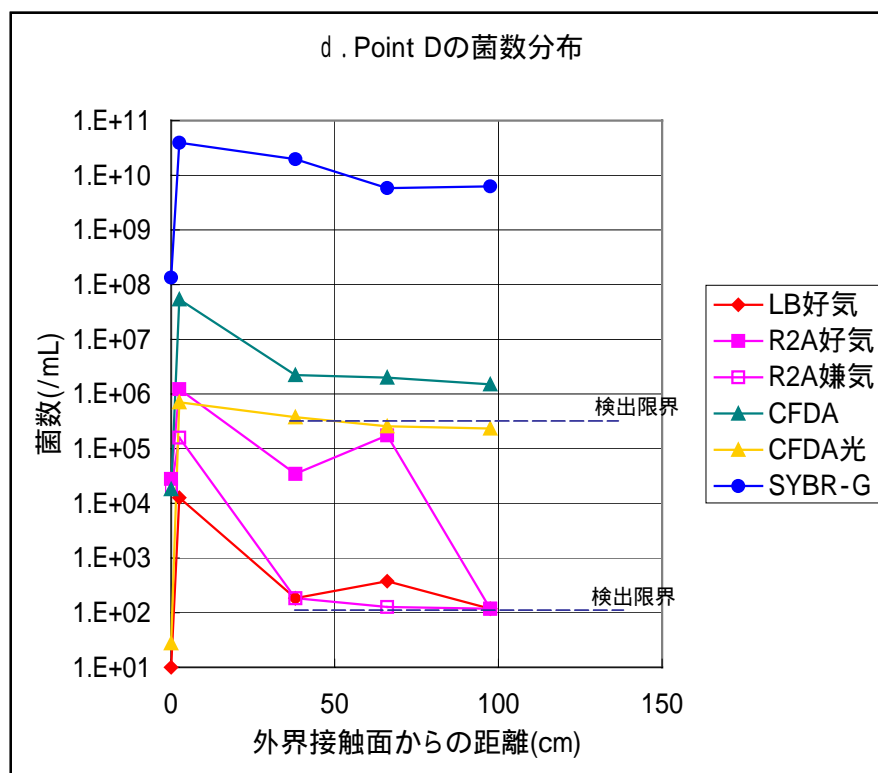
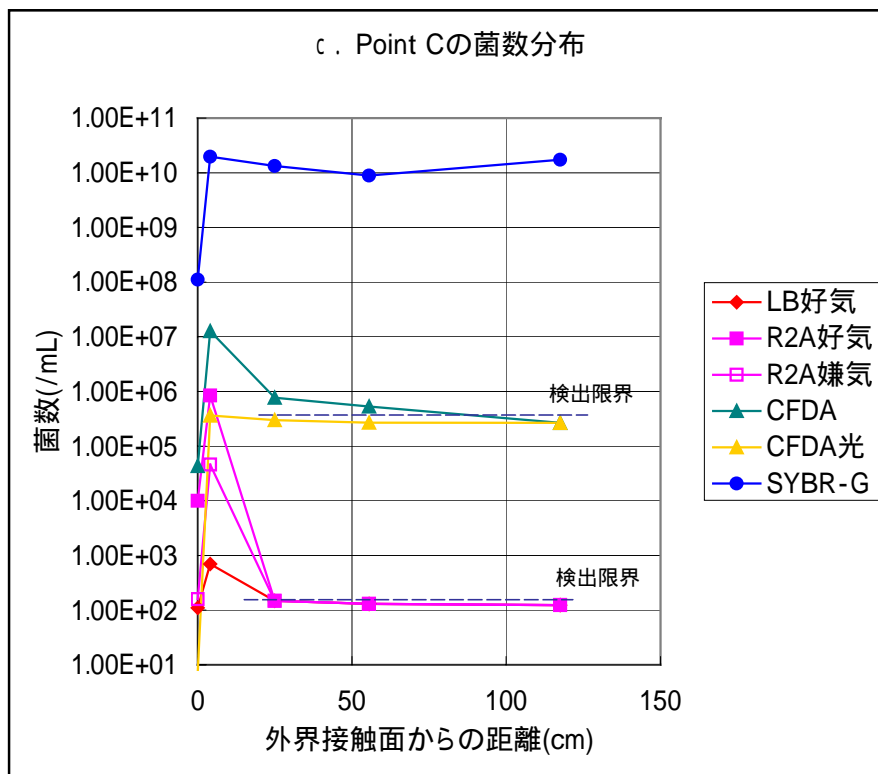


図 4.3-1 深さ方向の微生物数の分布 (つづき)

4.3.6 新しい手法による微生物数計測および遺伝子工学的手法による系統解析

CFDA-AM 法による微生物数(CFDA)は培養法(R2A 好気)と比べて同等か最大 3 桁程度高い数値となった。また従来の培養法では菌が不検出だった A-2, C-2,3, D-4 の地点でもこの方法で微生物数(CFDA)が検出され、培養法では検出されない微生物の存在が示唆される。

光合成微生物も A 地点や B 地点の表面で検出された。これらは A および B 地点のベントナイト層内部では検出されず、光合成微生物が移行してベントナイト層で生存している可能性は少ないと判断された。傾向としては、外界接触面から内部に向けて微生物数は減少している。

分子遺伝学的解析では *Rhodococcus* 属に高い相同性を持つ微生物が複数の試料から見つかった。一般に *Rhodococcus* 属は、ベントナイト層のような微生物が利用できる有機物濃度が極めて低い場でも十分に生息できると考えられる。また、*Rhodococcus* 属は強い好気性でアルカリ性の環境を好むと考えられる[2]ので、ベントナイト層の内部の酸素濃度は意外に低くない可能性もあるとも考えられる。

4.4 参考文献

[1] Reasoner, D.J. and Geldreich, E.E. “ A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. ” Appl. Environ. Microbiol. Vol.49, pp.1-7. (1985)

[2] 日本放線菌学会編.放線菌の分類と同定、p.187-188 日本学会事務センター. (2000)

5 微生物と核種の相互作用評価

5.1 研究開発の方法

5.1.1 試験方法

(1) 微生物の確認作業

微生物を利用する実験は、その微生物の生存・存在確認作業から始まり、顕微鏡によりその作業が実施された。次に、微生物集団の生理的状态の確認が行われた。

本実験では、深層の地層処分場を想定した栄養源の少ない環境で生息する微生物の状态にするため、色々な工夫がなされた。

(2) 微生物環境

硫酸還元菌（以下 SRB と記す）の棲息条件は $Eh=-500mV$ であるため、今回の試験条件である $Eh=-85mV$ は、空気の混入量を調整し達成した。

(3) pH の選定

既存の試験データと比較しやすいこと、セメント系材料の使用を前提としている TRU 廃棄物処分の環境条件を考慮し、アルカリ性側のデータを中心に 2.0、5.0、7.0、8.5、11.1、12.5、13.2 の 7 点のデータを取得することとした。

(4) 微生物の滅菌処理

対象微生物をそのまま培養（生かし続けて）してその影響を確認する調査、対象微生物をオートクレーブで滅菌してその滅菌された微生物の影響を確認する調査を実施し、両者の影響の差を比較することとした。

(5) 試料の調製・攪拌

ネプツニウムの混合溶液（pH と Eh を調整後）の総量を 3.00ml、また、嫌気性微生物（または微生物とベントナイトの混合溶液）の濃度は乾燥重量で 0.1% に設定した。

調製した試料は、攪拌恒温機にて 35 度、4 時間攪拌した。

(6) 物理的分離

上記の混合溶液から、嫌気性微生物（または微生物とベントナイト）とネプツニウム

を物理的に分離しネプツニウムの分配係数 (Kd) 値を得るため、微生物 (または微生物とベントナイトの混合溶液) を、0.22 μm のメンブレンフィルターで濾過した。このとき用いられた 0.22 μm のメンブレンフィルターは、滅菌された使い捨てのフィルターで、プラスチック容器内に密封されている。

0.22 μm のメンブレンフィルターで濾過された嫌気性微生物 (または微生物とベントナイト) の固形物は、その密封プラスチック容器を機械的に開封して、取り出さなければならない。密封プラスチック容器の周辺を削り取る方法が採用され、メンブレンフィルターの密封を開放した状態から、固形物である嫌気性微生物 (または微生物とベントナイト) を取り出した。

5.1.2 データの解析方法

(1) 分配係数 (Kd) 値の取得方法

上記のように嫌気性微生物 (または微生物とベントナイト) の固形物とネプツニウムを物理的に分離した後、固液両相に含まれるネプツニウムの量を計測し、単位重量・容積あたりのネプツニウム量を算出することで、ネプツニウムの分配係数 (Kd) 値を得ることができる。その分配係数 (Kd) の値の算出は、下記の式で示されている。

$$Kd = \frac{\text{固相において単位重量あたりに吸着した濃度}}{\text{液相において単位容積あたりに吸着した濃度}}$$

この分配係数 (Kd) を得るためには、ネプツニウムの量を実測する必要がある。ネプツニウムの量を計測するために、ネプツニウム 237 から放出されるガンマー線 (92keV) を、高分解能 (しかも低バックグランド) のガンマー線スペクトロメーターで計測した。

5.2 研究開発の結果

5.2.1 実験結果

(1) Eh=-85mV に酸化した場合の硫酸還元菌とネプツニウムとの分配係数

滅菌していない硫酸還元菌嫌気性微生物とネプツニウムの分配係数 (Kd) は、337 (pH=11.1) から 35538 (pH=12.5) と、100 倍程度の違いがあった (図 5.2-1)。

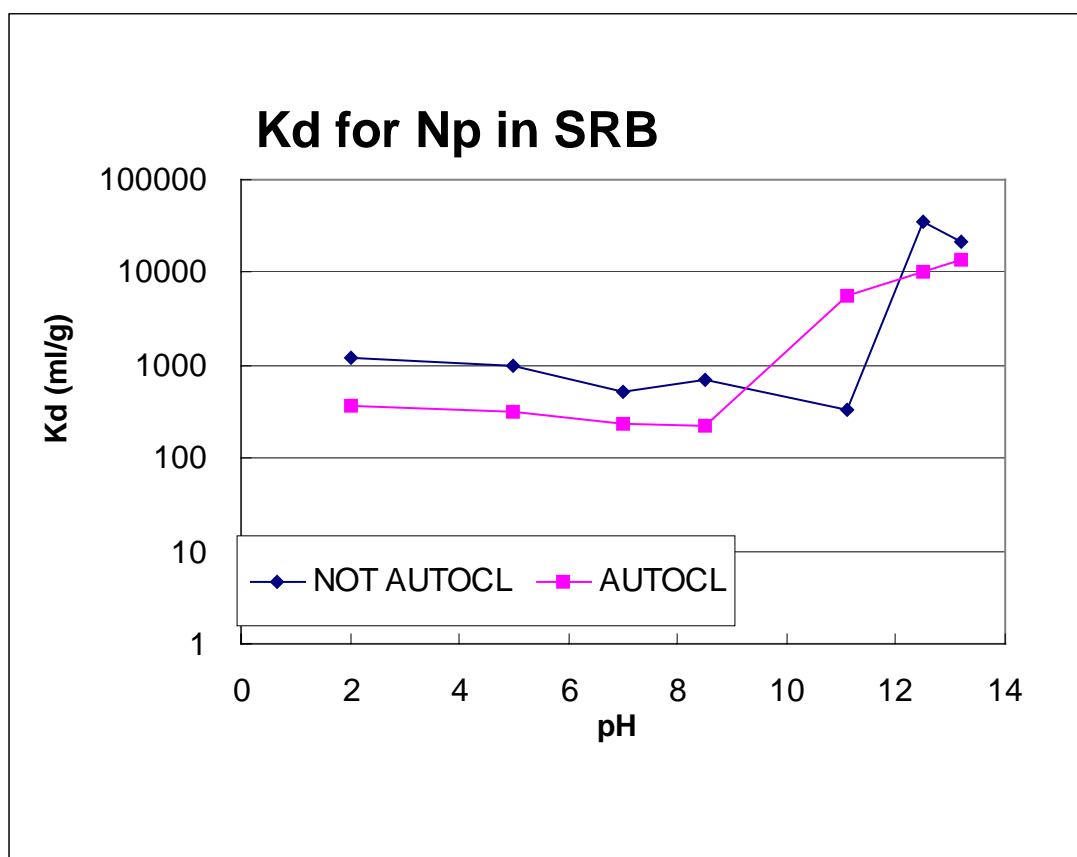


図 5.2-1 硫酸還元菌とネプツニウムの分配係数 (K d) 実験結果

しかし、この結果をよく見ると、酸性 (pH=2.0) から中性 (pH=8.5) までの領域では、ネプツニウムの分配係数 (Kd) は 1000 前後で (1000 以下) 一定であり、アルカリ領域で、急激に 100 倍程度上昇していることが判る。

一方、オートクレーブで滅菌された硫酸還元菌嫌気性微生物とネプツニウムの分配係数 (Kd) は、酸性と中性領域では殆ど一定で、その最小値は、218 (pH=8.5) であった。しかし、滅菌された硫酸還元菌も、滅菌されない硫酸還元菌と同じように、アルカリ領域になるとその分配係数は急激に 50 倍近く上昇し、13 万台にもなる。ただ、滅菌されない硫酸還元菌と滅菌された硫酸還元菌嫌気性微生物の分配係数は、同じような値と傾向を示している。

(2) 嫌気性微生物とベントナイトの混合溶液とネプツニウムの分配係数 (Kd)

硫酸還元菌とベントナイトとの混合溶液 (乾燥重量 0.1%) とネプツニウムの分配係数 (Kd) は、pH の上昇に伴い、少しずつ大きくなっている (図 5.2-2)。酸性の領域 (pH=2.0)

では、分配係数が、250 であったが、それがアルカリ領域 (pH=13.2) になると 20387 と 8 倍程度増加する。この傾向は、非滅菌の場合も、オートクレーブで滅菌した場合も、同じような値と傾向を示した。

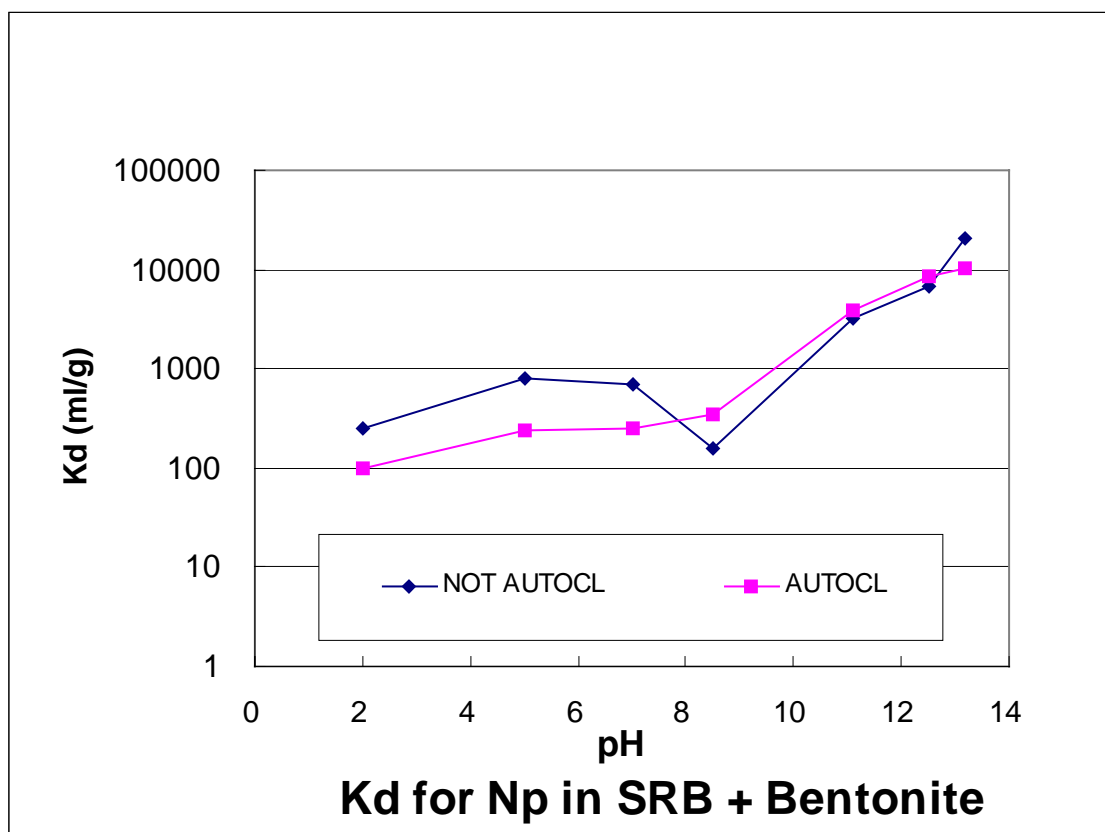


図 5.2-2 硫酸還元菌とベントナイト混合液とネプツニウムの分配係数

この硫酸還元菌とベントナイト混合溶液とのネプツニウムの分配係数値は、非滅菌の場合も、オートクレーブで滅菌した場合も、いくらかのばらつきを示した。そのばらつきの程度は、非滅菌の硫酸還元菌とネプツニウムの分配係数を得る実験結果の場合より、やや大きかった。しかし、分配係数のばらつきの程度は、(1)の場合と同様、実験誤差の範囲と考えられる。

5.3 結果の考察・検討

本研究は、微生物による地層処分の安全評価への影響の程度を分配係数をパラメータとし、試験を実施した。

その結果、平成 11 年までの実験研究[1][2][3][4][5]の成果から、微生物、または微生物が生息する特殊な還元性環境がネプツニウム、プルトニウムのアクチノイド 2 元素の分配係数に以下に示す影響を与えることを、二種類の微生物（パルプ排水の生物処理槽から採取した嫌気性細菌（以下 AnB と記す）：最適棲息 Eh=-85mV、SRB：最適棲息 Eh=-500mV）を最適棲息条件において使用し、実験的に証明した。

- ・ 地層処分の埋め戻し緩衝材（ベントナイト）とネプツニウム、プルトニウムの相互作用の挙動は、微生物が存在する時と、存在しない時とではその分配係数は、大きく（1 万倍程度まで）変化する。
- ・ その微生物の生死（オートクレーブの滅菌の可否）にはあまり関係がない。

平成 12 年度以降は、分配係数の挙動が微生物、または微生物が生息する特殊な還元性環境、すなわちアクチノイド元素の化学的特性のどちらに大きく影響されているのかを明らかにするため、最適棲息条件を還元剤もしくは酸化剤を用い変化させ試験を実施することとした。

平成 12 年度は、AnB、還元剤（チオグリコール酸ナトリウム）を用い、還元環境を Eh=-85mV から Eh=-135mV へ人工的に降下させた環境下でネプツニウムの分配係数を取得した[6]。

その分配係数を過去に実施した AnB を用いた試験（Eh=-85mV）と比較した結果、ベントナイトの有無にかかわらず、酸性～中性領域（pH2~8.5）で数倍（1~10 倍程度）増加する傾向がみられた。なお、アルカリ性領域では、差異はみられなかった。

この結果から、より還元性の環境で電荷が 5 価から 4 価になり水酸化物を作ることによる沈澱現象に分配係数が増加したというアクチノイド元素の化学的特性を指示する結果が得られた。

平成 13 年度は、SRB、酸化剤（空気吹き込み）を用い、還元環境を Eh=-500mV から Eh=-85mV へ人工的に上昇させた環境下でネプツニウムの分配係数を取得した。

その分配係数を過去に実施した SRB を用いた試験（Eh=-500mV）と比較した結果、酸性～中性領域では、ほぼ同じ値を示した。しかし、アルカリ領域では急激に上昇することが判明した。その理由として考えられることは、ネプツニウムの電荷の変化が、まず考え

られる。もし周辺環境が $Eh=-500mV$ から $Eh=-85mV$ へと酸化されると、当然の事として、ネプツニウムの電荷はプラス 5 価の方が多くなる。

ネプツニウムには、面白い化学的特異性があり、プラス 4 価の方がプラス 5 価より、水酸化物 $Np(OH)_4$ を作りやすい。このネプツニウムの特異な化学的性質と平成 13 年度の実験結果とは矛盾している。

この他、ネプツニウムと嫌気性微生物の生化学的な反応の可能性等が考えられるが、これらの解明は、アクチノイド化学の専門家と将来共同研究し、十分な解析の必要性があることを、本年度の実験データは明確に示している。

5.4 参考文献

- [1] 福永 栄、横山 英一、荒井 和浩、千手 隆史、工藤 章, “人工バリア材料における微生物の透過性及び核種の吸着性の評価.” JNC TJ8400 2000-30. (2000)
- [2] 福永 栄、横山 英一、荒井 和浩、朝野 英一、千手 隆史、工藤 章, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究()”, JNC TL8400 99-025 . (1999)
- [3] 福永 栄他, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究()”, PNC TJ1150 98-003 . (1998).
- [4] 福永 栄他, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究()”, PNC TJ1150 97-004 . (1997)
- [5] 福永 栄他, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究().” JNC TJ1150 95-006 . (1996)
- [6] 福永 栄、中山 衛、神徳 敬、菅野 毅、工藤 章, “微生物影響評価における課題の調査と分配係数の取得.” JNC TJ8400 2001-030. (2001)

6 おわりに

本研究の結果の概要と残された課題を以下に示す。

6.1 微生物影響におけるシナリオの網羅性評価

従来の FEP に下記の内容を付け加えるべきという見解を得た。

- ・ 水化学、核種吸着への影響などの面からニアフィールド母岩での微生物活動にもっと配慮すべきである。
- ・ 硝酸塩の化学形態変遷が進行する条件のうちくに重要なのは、微生物が利用できる有機物などの電子供与体の存在である。それにより硝酸塩は一酸化二窒素、次いで窒素ガスへと変換される（脱窒）。硝酸塩が TRU 廃棄物中のピチューメンとともに微生物反応（脱窒）を起こすという実験データが報告されている。
- ・ ニアフィールド母岩での微生物反応および脱窒反応（TRU 廃棄物処分重要）の大きさやその影響は、定量的な評価が今後求められる。

6.2 ベントナイト中の微生物の移行評価

Na 型ベントナイトについて、今までデータの無かった海水系での移行試験を実施し、降水系と大差ない結果を得た。

- ・ Ca 型化ベントナイトで降水系 9 週間の長期移行試験を実施したが、微生物分布のパターンが 3 週間試験と異なった。0～3 週間の微生物移行がそのまま継続するという結果ではなかった。しかし、3 週間では、不検出だった 20mm の距離の微生物の移行が 9 週間では 3 検体中 2 検体で確認された。ただ、Ca 型化ベントナイトの飽和状態の確認が十分でなかったため、その影響を受けている可能性もある。

6.3 超長期のベントナイト中の微生物移行及び生息状況調査

- ・ 今回の調査目的は、外界と接触するようになってから一定期間が経過したベントナイト鉱床において、外界との接触面から鉱床内部にかけての微生物分布を調べることにより、外界の微生物の侵入の程度、あるいはベントナイト鉱床内での微生物生息の程度の予測のためのデータを得ることにあつた。
- ・ 土壌などに比べるとはるかに少ない数であるが、ベントナイト鉱床の内部には微生物が生存していることが確認された。ベントナイト鉱床形成時の微生物が外部から

の水分、エネルギー源、栄養分などの供給を受けつつ生き残っているのか、あるいは外部から微生物が移行してきたかの二つの可能性が考えられる。

- ・ CFDA-AM 法など新しい微生物調査手法を用いた結果、ベントナイト鉱床内に広く生存している微生物の一種として *Rhodococcus* を見出すことができた。ベントナイト研究において注意すべき菌である可能性がある。
- ・ 調査地点のうち Point B は、多くの嫌気性微生物が検出され、緩衝材の natural analogue として有用と考えられた。

6.4 微生物と核種の相互作用評価

平成7年度からの実験結果と本平成13年度の実験結果から、下記の結論が得られた。

- ・ SRB とネプツニウムの分配係数は、空気を利用して $E_h = -500\text{mV}$ から $E_h = -85\text{mV}$ へと酸化されると、その分配係数は、SRB のみの場合も、SRB とベントナイトの混合の場合も、アルカリ領域で急激に上昇する。
- ・ 空気を使用して SRB を酸化すれば、 $E_h = -85\text{mV}$ の値は得られる。
- ・ SRB とネプツニウムの分配係数は $E_h = -85\text{mV}$ の場合、酸性、中性領域のみでは、 $E_h = -500\text{mV}$ の場合と同じ様な値と傾向を示す。

アクチノイド元素と SRB、AnB 等の微生物との相互作用の解明には、微生物の専門家、アクチノイド化学の専門家、そして環境全体をより把握している環境工学専門家の共同研究が、将来必要となる様なデータが、平成13年度の実験結果から得られた。

6.5 今後の課題

本研究で、影響評価研究 (FEP)、ベントナイト鉱床の調査、および緩衝材中の微生物移行試験が、H13年度に実施された。その中から次のような反省点が得られた。

微生物影響におけるシナリオの網羅性評価 (FEP 辞書のレベル向上)

英国 BGS 専門家の評価を得、また微生物による硝酸イオンの化学形態変遷の情報を付加した。しかし、現実的な評価と、例えば高 pH 耐性の新規微生物が見つかることを想定した保守的な評価とが混在した記述となっており、一層の改善が求められている。

ベントナイト中の微生物移行試験

今までの研究で用いてきたバッチ試験装置を使用し、初めて海水系試験および Ca 系で9週間の試験を実施しデータを得た。しかし、現在のバッチ試験装置は菌の測定が1回

しかできない短期試験用であり、今後予想される長期試験のニーズには応えられない。

超長期のベントナイト中の微生物移行の推測および生息状況調査

上記装置による長期試験が困難な現時点で、長期移行を推定するために実施された。ベントナイト鉱床中には数は少ないが微生物が存在すること、微生物の分布と環境条件との間の関係、ベントナイト鉱床から検出された微生物の種類の一部などがわかった。しかし、どのようにしてこの微生物分布が出来上がったか明確にできなかった。

微生物と核種の相互作用評価

比較的高めの酸化還元電位($E_h = -85\text{mV}$)における N_p の分配係数のデータを得たが、 P_u についてはデータが不十分である。

この結果を受けて、今後は以下の研究が重要と考えられる。

微生物影響におけるシナリオの網羅性評価 (FEP 辞書のレベル向上)

現実的な評価と、新規微生物が見つかることを想定した保守的な評価とを区分した FEP 辞書の作成。

ベントナイト中の微生物移行試験

菌液注入部と移行微生物サンプリング部を設けた圧縮成型ベントナイト試験装置を用いた微生物移行長期試験方法を検討する。

超長期のベントナイト中の微生物移行の推測および生息状況調査

H13 年度のデータを整理し、微生物が何故こういう分布をしたか原因を解析する。ベントナイト中の嫌気性微生物を更に調査するとすれば Point B が有望な地点である。

微生物と核種の相互作用評価

酸化還元電位($E_h = -135\text{mV}$)における P_u の分配係数のデータを得る。

6.6 おわりに

本研究では、新しい知見をいくつか付け加えることができた。とくに、海外の専門家や微生物の専門家との協力で研究を実施できたことは、より客観的な根拠で微生物影響を評価するために有意義であったと考える。

今後これらの知見をベースに処分場特性評価に必要な試験、検討に取り組んでいきたい。