

微生物によるガス発生挙動に関する実験的研究

(試験報告)

2000年7月

核燃料サイクル開発機構
東海事業所

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番地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
4-49 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)
2000

微生物によるガス発生挙動に関する実験的研究
(試験報告)

嶺 達也* 三原 守弘* 大井 貴夫*

要旨

放射性廃棄物を地層処分する場合、地下水、緩衝材、放射性廃棄物などに含まれる多種多様の有機物が、地下深部に存在する微生物及び処分施設建設時に地表付近から処分施設に持ち込まれる微生物の炭素源となることが考えられる。微生物が有機物を炭素源として利用した場合、二酸化炭素などのガスを発生させる。このガス発生は、地層処分システムの安全性に影響を与える一つの要因と考えられる。

本研究では、ガス発生の観点から、メタン生成細菌の活動に着目し、微生物の活動にともなうガス発生に対する有機物の違いによる影響を調査するため、地下水に比較的多く含まれるフミン酸、ペントナイトに含まれる酢酸などの有機物を対象に微生物の有機物分解にともなって発生するメタン及び二酸化炭素の量を測定することとした。試験は嫌気条件で実施し、培養温度は35℃とした。有機物濃度は培養液に対して100mg/lとなるように調製した。また、pHがガス発生量に与える影響を調査するため、pHをパラメータとすることとした。

その結果、フミン酸はメタン生成細菌の炭素源になりにくいこと、また、酢酸などを使用した試験結果から、pHが高くなれば、メタン生成細菌の活動にともなって発生するメタンの量が減少することが示された。なお、二酸化炭素の発生量がpHの上昇にともなって減少することは確認できなかった。

* 東海事業所 環境保全・研究開発センター 処分研究部 システム解析G r.

Experimental study of gas generation by microorganism

Tatsuya Mine* Morihiro Mihara* Takao Ooi*

Abstract

In the geological disposal system of the radioactive wastes, gas generation by microorganism could be significant for the assessment of this system, because organic material included in groundwater, buffer material and wastes might serve as carbon sources for microorganisms.

In this study, gas generation tests using microorganisms were carried out under anaerobic condition. The amount of methane and carbon dioxide that were generated by activity of Methane Producing Bacteria (MPB) were measured with humic acid, acetic acid and cellulose as carbon sources. The results showed that methane was not generated from humic acid by activity of MPB. However, in the case of using acetic acid and cellulose, methane was generated, but at high pH condition (pH=10), the amount of generated methane was lower than at low pH (pH=7). It was not clear whether the pH would affect the amount of generated carbon dioxide.

* Repository System Analysis Group, Waste Isolation Research Division, Waste Management and Fuel Cycle Research Center, Tokai Works

目次

1 はじめに	1
2 試験の概要	2
2. 1 試験条件	2
2. 1. 1 使用した有機物	2
2. 1. 2 使用した微生物	3
2. 1. 3 使用した培養液	3
2. 1. 4 培養液の pH	4
2. 1. 5 その他の試験条件	4
2. 1. 6 有機物の微生物分解にともなって発生するガスの種類	4
2. 2 試験手順	5
3 試験結果及び考察	6
3. 1 有機物の種類がガス発生挙動に与える影響	6
3. 2 pHがガス発生挙動に与える影響	7
3. 3 メタン発生速度の試算	8
4 おわりに	9
謝辞	10
参考文献	11

図目次

図 1 フミン酸の構造式	1 3
図 2 試験フロー	1 4
図 3 累積メタン発生量	1 5

表目次

表 1 微生物細胞の構成元素	1 6
表 2 主要元素の一般的な機能	1 7
表 3 培養液の目標組成	1 8
表 4 試験条件	1 9
表 5 ヘッドスペースでのガス発生累積値の測定結果	2 0
表 6 ガス発生速度の試算結果	2 1

1 はじめに

現在、使用済核燃料の再処理工程において発生する放射能濃度の高い放射性廃棄物（高レベル放射性廃棄物：HLW）及び再処理工場や燃料加工工場から発生する、原子番号がウランより大きく、半減期の長い放射性核種を含む廃棄物の一部（TRU廃棄物）についての処分方策が検討されている。前者については、ガラス固化した後にオーバーパックと呼ばれる金属製（炭素鋼）の容器に封入し、地下水の浸入、核種の溶出・移行などを抑制するために周囲を緩衝材で充填して地下数百mの地層に処分する方策（地層処分）が検討されている（動燃事業団、1992）。後者は、燃料棒の材料である金属や再処理工程から発生した樹脂、硝酸塩を含む低レベル濃縮廃液及びアスファルトなどの有機物を含むなど、廃棄体の種類、性状及び核種濃度が多岐に亘っているため、廃棄物の性状や含有する放射性核種の種類及び濃度を考慮して、地表から50～100m程度の地下に処分する方策や地層処分が検討されている（サイクル機構他、2000）。これらの放射性廃棄物を地層処分する場合、地下水、緩衝材、放射性廃棄物などに含まれる多種多様の有機物が地下深部に存在する微生物及び処分施設建設時に地表付近から処分施設に持ち込まれる微生物の炭素源となることが考えられる。微生物は有機物を炭素源として利用する場合、二酸化炭素などのガスを発生させる。このため、地層処分システムの安全性に影響を与える要因の一つとして、微生物の活動によるガス発生が挙げられている（McCabe, 1990；West et al., 1984）。

処分施設周辺に存在する多種多様の有機物が微生物の炭素源となった場合、発生するガスの種類としては、二酸化炭素、メタン、硫化水素、水素及び窒素が挙げられている（Stroes-Gascoyne et al., 1994；Pedersen et al., 1995）。微生物活動によってこのようなガスが発生した場合、地層処分システムに与える影響として、人工バリアの破壊や人工バリア中の汚染水の押し出しといった物理的な影響のほか、発生するガスが二酸化炭素の場合はセメント系材料（TRU廃棄物処分における人工バリアの候補材料の一つ）中での炭酸カルシウムの沈殿生成によるセメント系材料の吸着能力の低下、セメント系材料の中性化にともなうセメント系材料の耐久性の低下といった化学的な影響が指摘されている（去来川ら、1996；日本コンクリート工学協会、1996）。

微生物活動によるガス発生について調査するために、Libertら（Libert et al., 1993）、Jacquotら（Jacquot et al., 1997）、Wolfら（Wolf et al., 1991）は、アスファルト固化体の地層処分を考慮して、微生物によるアスファルト劣化試験を実施し、微生物がアスファルトを炭素源として利用した場合の二酸化炭素の発生量あるいは発生速度を測定している。Libertらは好気条件での試験（微生物として*Pseudomonas aeruginosa*及

び *Saccharomyces lipolytica* を使用。) を実施し、Jacquot ら及び Wolf らは好気条件及び嫌気条件での試験 (Jacquot らは土壌で採取した微生物を使用。Wolf らは *Pseudomonas* 種を使用。) を実施している。Libert らの結果では、二酸化炭素の発生量は微生物の種類によって異なるが、試験時間に比例して増加していることを報告している。Jacquot ら及び Wolf らの結果では、嫌気条件での二酸化炭素の発生量あるいは発生速度は好気条件と比較して小さくなり、Jacquot らは発生量が 1/30 程度、Wolf らは発生速度が 1/100 程度となることを報告している。また、Holtom ら (Holtom et al., 1994) は、セメント固化した低レベル放射性廃棄物の地層処分を考慮して、嫌気条件下 pH をパラメータとして微生物（土壌で採取した微生物）による模擬廃棄物（紙片、木片、ポリ塩化ビニル、ポリエチレン、ラテックス、ネオプレンを含む）の劣化試験を実施し、メタンの発生速度を算出している。その結果、メタンの発生速度は中性の液性で $10 \mu\text{mol}/\text{d}$ (模擬廃棄物 1gあたり) となり、pH が大きくなるにつれ、発生速度が低下することを報告している。

このように様々な微生物によるアスファルト劣化あるいは模擬廃棄物劣化にともなうガスの発生量などが測定されているが、地下水に含まれる有機物及び緩衝材に含まれる有機物の違いに着目し、微生物の有機物分解にともなって発生するガスを測定した報告はない。

そこで、本研究では、地下水に比較的多く含まれる有機物の一つであるフミン酸（菅野、1995）及び緩衝材としての使用が想定されているベントナイトから検出された有機物の一つである酢酸（吉川ら、1995）が微生物の炭素源となる可能性があることを考慮して、嫌気条件で微生物のガス発生挙動に関する実験的研究を実施することとした。また、TRU 廃棄物に含まれる代表的な有機物であるセルロースも対象とした。着目した微生物はメタン生成細菌である。なお、セメント系材料の使用により地球化学環境が高アルカリとなること (Atkinson et al., 1988) を考慮して、pH をパラメータとすることとした。以上の考えに基づき、微生物の有機物分解にともなって発生するメタン及び二酸化炭素の量を測定し、微生物のガス発生挙動に対する有機物の種類及び pH の影響について調査した。

2 試験の概要

2. 1 試験条件

2. 1. 1 使用した有機物

微生物の炭素源となる有機物の種類が微生物のガス発生挙動に与える影響について調

査するため、3種類の有機物を使用して試験を実施した。以下にそれらの有機物とその選定根拠及び試料の準備方法を示す。

フミン酸：地下水中に比較的多く存在する有機物で核種移行に影響を及ぼす可能性があるもの（菅野、1995）。石炭化度の低い泥炭中のアルカリ可溶成分から製造したもので、分子量は1000～100000であり、炭素、水素及び酸素の含有量はそれぞれ50～60wt%、4～5wt%及び30～35wt%である（和光純薬製）。

酢酸：地層処分システムにおいて緩衝材としての使用が想定されているベントナイトから検出された有機物（吉川ら、1995）。冰酢酸試薬（昭和化学製、特級）を使用した。

セルロース：廃棄物に含有されている場合、その劣化生成物が核種移行に影響を与える有機物（Greenfield, 1992）。東洋ろ紙製セルロースパウダーC／300メッシュ以上を使用した。

なお、これらの有機物は培養液に対して100mg/lとなるように添加した。

2. 1. 2 使用した微生物

本研究では、微生物が地上から処分施設に持ち込まれることを想定して、河床から微生物を分離して試験に使用した。試験に使用した微生物の採取場所は東京都と神奈川県の境界にある多摩川大師橋付近であり、その底泥を微生物混入試料として使用した。一般的に河床などにはメタン生成細菌が存在していることが知られているため（扇元、1994）、本研究では採取した底泥中にメタン生成細菌が生息していると仮定し、その存在については、メタンの発生によって確認することとした。

2. 1. 3 使用した培養液

培養液は溶媒及び培地を混合して調製した。

溶媒には処分環境を考慮して降水系高pH型（動燃事業団、1992）を参考にした模擬地下水を使用した。

培地については、以下に示す知見を基に、微生物細胞の構成元素及び微生物の生育に必要な無機陽イオンを考慮して調製した。

①水は細胞全重量の80～90wt%を占めており、定量的に言えば、第一に必要な物質であると言える。細胞の固形物に関しては表1に示すように、炭素、酸素、窒素、水素、リン、硫黄などが含まれており、これら6元素は細胞の乾燥重量のうち約95wt%を占めている。これらの元素を含めた他の元素の既知の機能を表2に示す（Stanier et al., 1989）。

②微生物の生育に係るすべての金属イオンは、無機の陽イオンの形態で栄養素となる。カリウム、マグネシウム、カルシウム及び鉄は比較的多量に必要であり、培地には必ず添加する必要がある。微量栄養素と呼ばれるマンガン、コバルト、銅、ニッケル、モリブデン及び亜鉛などの要求量は非常に少ないが、必須元素である。また、非金属元素であるリンはリン酸塩という無機塩の形態で微生物にとって必要な栄養素となる (Stanier et al., 1989 ; 扇元, 1994)。

上記知見に基づいて設定した培養液（溶媒+培地）の目標組成を表3に示す。ただし、窒素源については、メタン生成細菌の多くがアンモニウム形態の窒素を資化し、その他の脱窒細菌などの微生物は嫌気条件では硝酸塩を電子受容体とすることが知られている (Stanier et al., 1989)。しかし、使用した微生物がアンモニウム形態の窒素を好むのか、硝酸塩形態の窒素を好むのかを判断できなかったため、アンモニウム形態の窒素と硝酸塩形態の窒素をそれぞれ準備することとした。

2. 1. 4 培養液のpH

培養液のpHが微生物のガス発生挙動に与える影響について調査するため、培養液のpHを7及び10になるように塩酸または水酸化ナトリウムで調整した。

2. 1. 5 その他の試験条件

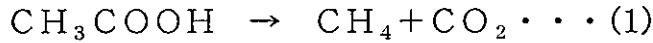
培養温度については、ほとんどの微生物が増殖可能である35°Cとした (Stanier et al., 1989)。

試験期間については、2、6、12ヶ月とした。

2. 1. 6 有機物の微生物分解とともに発生するガスの種類

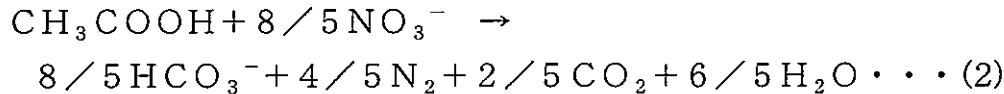
メタン生成細菌による酢酸からのガス発生の化学量論的関係は以下の式で表すことができる。

メタン生成細菌による酢酸の分解 (Stanier et al., 1989 ; Swayer et al, 1967)



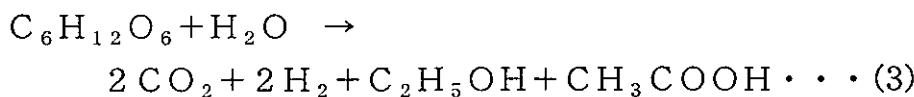
メタン生成細菌以外で土壤中に生息している微生物の一つとして脱窒細菌が挙げられる。脱窒細菌による酢酸からのガス発生の化学量論的関係は以下の式で表すことができる。

脱窒細菌による酢酸の分解 (Swayer et al, 1967)



他の微生物のセルロースからのガス発生の化学量論的関係については、以下の式のように報告されている。

微生物によるセルロースの分解 (Agg et al, 1990)



(3) 式よりセルロースは二酸化炭素、水素の発生をともなって酢酸に分解される。発生した酢酸は(1)式及び(2)式に示すようにメタン生成細菌及び脱窒細菌の活動により分解され、最終的にはこれらの微生物の活動によりメタン、二酸化炭素、窒素が発生すると考えられる。

微生物によるフミン酸からのガス発生に関する化学量論的な知見は得られていないが、フミン酸は図1に示す構造式から分かるように、カルボキシル基 ($-\text{COOH}$) を含んでいるため、微生物によって酢酸まで分解する可能性がある。フミン酸が酢酸まで分解した場合には、(1)あるいは(2)式と同等の反応により、メタンなどが発生すると考えられる。

このように、微生物の有機物分解にともなって発生するガスは、メタン、二酸化炭素、窒素、水素と多様にわたっている。

本研究では、メタン生成細菌の活動に着目し、メタン及び二酸化炭素を測定することとした。なお、ガスをサンプリングするときには大気が混入する可能性も否定できないため、酸素の分析も実施した。

以上の試験条件を表4にまとめて示す。

2. 2 試験手順

試験手順を以下に示す(図2参照)。なお、メタン生成細菌は典型的な嫌気性微生物であるため(Stanier et al., 1989)、試験雰囲気が嫌気条件となるように培養液の溶存酸素をできるだけ除去することとした。

- ①表3の組成となるように調製した培養液に3種類の有機物をそれぞれ添加し、pHが7及び10になるように塩酸または水酸化ナトリウムで調整した。
- ②上記試料500mlを600mlのバイアル瓶に封入し、嫌気条件となるように窒素で溶存ガス(酸素、二酸化炭素など)をバージした。
- ③バイアル瓶に多摩川大師橋付近で採取した底泥10gを添加し、再度、窒素で溶存ガス(酸素、二酸化炭素など)をバージし、バイアル瓶ヘッドスペースにある窒素ごと封入した。
- ④バイアル瓶を35°Cのインキュベータに設置して、最大12ヶ月間静置し、嫌気培養した。
- ⑤所定期間経過後、バイアル瓶ヘッドスペースからシリンジによりガスを0.25~10ml

程度サンプリングし、そのサンプル中のメタン及び二酸化炭素の濃度をガスクロマトグラフにて測定した。なお、ガス分析値はバイアル瓶ヘッドスペース 100ml あたりのメタン、二酸化炭素及び酸素の量 (ml) で表されている。

3 試験結果及び考察

表 5 に所定期間ごとのバイアル瓶のヘッドスペースでのガス発生量累積値の測定結果を示す。窒素源としては硝酸塩形態の KNO_3 及びアンモニウム形態の NH_4Cl を使用した。ケース名については、(試験期間) - (pH) - (窒素源の形態) を示している。また、図 3 に各ケースでのメタンの累積発生量を示す。なお、後述するが、フミン酸からのメタンの発生量はすべてのケースにおいて定量下限値未満であったため、図 3 ではフミン酸からのメタンの累積発生量を記載していない。なお、表 5 の酸素の測定結果から、同条件で試験を実施したにもかかわらず、酸素発生量が不規則な変化を示すケースがあった（例えば、酢酸を使用した pH7-KNO₃ のケースについて、試験期間 2 ヶ月及び 12 ヶ月では酸素が確認されているが、試験期間 6 ヶ月では酸素は定量下限値未満となっている）。この原因については、サンプリング時に大気が混入したためであると考えられる。

3. 1 有機物の種類がガス発生挙動に与える影響

本研究では、微生物の炭素源となる有機物の種類が微生物のガス発生挙動に与える影響について調査するため、有機物としてフミン酸、酢酸及びセルロースを使用して試験を実施した。

表 5 より、酢酸及びセルロースを使用したケースでは、条件によって、メタンの発生が観察できた。また、フミン酸、酢酸及びセルロースを使用したケースでは、メタンが発生していないにもかかわらず、二酸化炭素の発生が観察できたケースがあった。このことから、今回の試験では、(1) 式、(2) 式及び(3) 式の反応、または、フミン酸が分解して二酸化炭素を発生させる反応のいずれかが起こっていることが推定される。また、このことはメタン及び二酸化炭素以外に窒素、水素が発生していた可能性があることを示している。

フミン酸からのメタン発生量はすべてのケースにおいて定量下限値 (0.005ml) 未満であったが、二酸化炭素の発生は観察できた。フミン酸に対する化学量論的な知見は得られていないため、どのような種類の微生物によってフミン酸が分解し、二酸化炭素が発生したかについては不明である。フミン酸からのメタン発生については、試験開始前に、フミン酸はカルボキシル基を含んでいるため、微生物によって酢酸まで分解し、メ

タン生成細菌による(1)式の反応により、メタンが発生すると推測していた。しかし、フミン酸からのメタン発生量が定量下限値未満となった。このことから、フミン酸は二酸化炭素の発生をともなって微生物分解されているが、メタン生成細菌の炭素源となる酢酸までには分解していないと考えられる。

図3及び表5より、メタン発生量が最も大きくなっているケースは、酢酸を使用した12month-pH7-NH₄Clのケースであり、メタン発生量は約11.4ml(バイアル瓶ヘッドスペース100mlあたりのメタン発生量)であった。試験期間ごとのメタン発生量を見ると、試験期間6ヶ月から12ヶ月の間では、試験期間2ヶ月から6ヶ月の間に見られたような急激なメタン発生は観察されていないため、試験期間12ヶ月でのメタン発生量はほぼ定常に達していると考えられる。セルロースを使用したケースでメタン発生量が最も大きくなったケースは12month-pH7-NH₄Clのケースであり、メタン発生量は約10.2mlであった。試験期間ごとのメタン発生量を見ると、試験期間2ヶ月から12ヶ月の間では、試験開始直後から試験期間2ヶ月の間に見られたような急激なメタン発生は観察されていないため、試験期間12ヶ月でのメタン発生量はほぼ定常に達していると考えられる。いずれのケースでもアンモニウム形態の窒素源を使用した場合の方がメタン発生量が最大となっている。この結果は、メタン生成細菌がアンモニウム形態の窒素源を好むこと(Stanier et al., 1989)を裏付けている。なお、二酸化炭素については、すべてのケースで定量されていた。

以上より、酢酸あるいはセルロースよりフミン酸の方がメタン生成細菌の炭素源になりにくいと考えられる。

3. 2 pHがガス発生挙動に与える影響

本研究では、pHが微生物のガス発生挙動に与える影響について調査するため、培養液のpHを7及び10となるように調整し、試験を実施した。二酸化炭素についてはpHが高ければ水に溶けやすくなるため(Day et al., 1980)、pH=10の場合、二酸化炭素の発生量を正確に測定できていない可能性がある。このため、pHが二酸化炭素の発生量に与える影響については調査しなかった。ここでは、酢酸及びセルロースを使用した場合のメタンの発生量のみを対象として、pHの違いによってガス発生量が異なるか否かを調査することとした(図3参照)。

図3より、pH=7のとき、試験期間12ヶ月では、すべてのケースにおいてメタンの発生が観察された。これに対して、pH=10の場合には、セルロースを使用し、アンモニウム形態の窒素源を添加したケースを除くすべてのケースにおいて、メタンの発生量が定量下限値未満となった。セルロースを使用し、アンモニウム形態の窒素源を添加し

たケースでは、試験期間ごとのメタンの発生量は経時変化しているが、pH=7 と pH=10 でのメタン発生量を比較すると、いずれの試験期間においても pH=10 でのメタン発生量の方が小さくなっていた。

ここで、Holtom ら (Holtom et al., 1994) は、様々な有機物を含む模擬廃棄物を使用して土壤に生息する微生物による劣化試験を実施し、メタン発生速度を算出している。その結果、pH が高くなるにつれ、メタン発生速度が低下することを報告している。また、吉川ら(吉川ら、1995)は、メタン生成細菌である *Methanosarcina barkeri* DSM804 株を対象に、酸化還元電位及び pH に対する耐性の調査を行っている。その結果、pH が高くなるにつれ、メタン生成細菌の活性が小さくなり、活性を示す酸化還元電位が狭められることを報告している。これらの結果は、本研究で得られた、培養液の pH が高くなるにつれ、メタンの発生量が低下するという結果を裏付けている。

3. 3 メタン発生速度の試算

微生物の活動によって発生するガスが地層処分システムの安全性にどの程度影響を与えるかを評価するためには、処分システムでの微生物に起因するガスの発生速度を把握する必要がある。そこで、本研究で得られたメタン発生量をもとに単位時間あたりのメタン発生量、すなわちメタン発生速度を算出すると、表 6 のように試算できる。

表 6 より、メタン発生速度はセルロースを使用した 2month-pH7-NH4Cl のケースで最大となり、その値は $1.46 \times 10^{-1} \text{ ml/d}$ (バイアル瓶ヘッドスペース 100ml あたりのメタン発生速度) であった。ただし、この値は微生物を含む河床の底泥 10g を使用し、培養液中のセルロース濃度を 100mg/l としたときの値である。

現状では、処分システムに存在する微生物数、有機物濃度といった環境条件が不明であるため、本研究で試算したメタン発生速度を使用して処分システムの安全性を評価することはできない。

4 おわりに

本研究は、微生物が地上から処分施設に持ち込まれることを想定し、メタン生成細菌の活動に着目して、有機物の種類（フミン酸、酢酸、セルロース）及び pH (7, 10) をパラメータとしたときの微生物による有機物分解にともなうガス発生量の測定を行った。

その結果、フミン酸の微生物分解にともなって発生するメタンの量は、定量下限値未満であるため、フミン酸はメタン生成細菌の炭素源になりにくいことを明らかにした。また、酢酸及びセルロースを使用した試験結果から培養液の pH が 7 から 10 と大きくなるにつれ、メタンの発生量が少なくなる、つまり、pH が高くなれば、メタン生成細菌の活性が低下することを明らかにした。

したがって、処分施設においてセメント系材料の使用を想定した場合には、地球化学環境が pH=12.5 程度の高アルカリとなると考えられているため (Atkinson et al., 1988)、処分施設内部の地球化学環境が長期にわたって高アルカリに維持されれば、処分施設内部に持ち込まれたメタン生成細菌の活動にともなうメタン発生量はさらに少なくなると考えられる。

本研究では、メタンだけではなく、二酸化炭素の発生も確認されているが、二酸化炭素の発生量が pH の上昇にともなって減少することは確認できなかった。しかしながら、メタン生成細菌の活動にともなって発生する二酸化炭素の量については、メタンの発生量と同様に pH の上昇にともなって減少すると考えられる。

今後は、二酸化炭素の発生をともなう脱窒細菌などの微生物あるいは高アルカリに対して耐性を有する微生物を対象に pH がその活性（窒素の発生量など）に与える影響について調査していく必要がある。また、本研究では培養液を使用して微生物の活性を維持できる条件で試験を実施したが、地下深部で微生物が活性を維持できるかについては明らかではない。このため、地上の微生物あるいは地下深部の微生物を使用して地下深部の環境を模擬した、微生物の活性に関する研究を実施することにより、地下深部の環境条件が微生物の活性に与える影響を調査する必要がある。さらに、処分システムの微生物数、有機物濃度といった環境条件が設定された場合にガス発生速度を試算できるように、これらの条件をパラメータとした試験を実施する必要がある。

謝辞

最後に、本研究はサイクル機構の委託研究により石川島播磨重工業（株）にて実施されたものを基にしている。種々の試験においてご助力を頂きました石川島播磨重工業（株）福永栄氏、本谷益良氏、横山英一氏、荒井和浩氏、並びに石川島検査計測（株）千手隆史氏に心から謝意を表します。

参考文献

去来川汎人、伊藤勝、他：T R U 廃棄物処分に係る研究開発の現状調査(1)、PNC TN1420
96-014 (1996)

扇元敬司：微生物学、1版、(株) 講談社 (1994)

菅野卓治：フミン物質の性質と核種移行への影響、放射性廃棄物研究、vol.1、No.2、
P131 (1995)

核燃料サイクル開発機構、電気事業連合会：TRU 廃棄物処分概念検討書、JNC TY1400
2000-001 (2000)

動力炉・核燃料開発事業団：高レベル放射性廃棄物 地層処分研究開発の技術報告書、
PNC TN1410 92-081 (1992)

日本コンクリート工学協会編：コンクリート便覧 (1996)

吉川英樹、福永栄、油井三和、三原守弘、朝野栄一：地層処分システムにおける微生物
の影響について、放射性廃棄物研究、vol.1、No.2、P199 (1995)

Agg, P. J., et al. : Modelling of gas generation in radioactive waste repositories,
NEA Workshop (1990)

Atkinson, A., Everitt, N. et al. : Evolution of pH in a rad-waste repository -
Internal reactions between concrete constituents-, UKAEA Report AERE-R12939
(1988)

Day, Jr, R. A., Underwood, A. L. : Quantitative analysis-4th Edition(1980)

Holtom, G. J., O' Kelly, N. et al. : The microbial ecology of cemented low and
intermediate level radioactive waste, 2nd Int Symp Environ Biotechnol, P158
(1994)

Libert, M. F., Sellier, R. et al.: Effects of microorganisms growth on the long-term stability of cement and bitumen, Mat.Res.Soc.Symp.Proc., vol.294, P267 (1993)

McCabe,A. : The Potential Significance of Microbial Activity in Radioactive Waste Disposal, Experientia, vol.46, No.8, P779 (1990)

Pedersen, K. and Karlsson. F. : Investigation of Subterranean Microorganisms - Their Importance for Performance Assessment of Radioactive Waste Disposal-, SKB TECHNICAL REPORT 95-10 (1995)

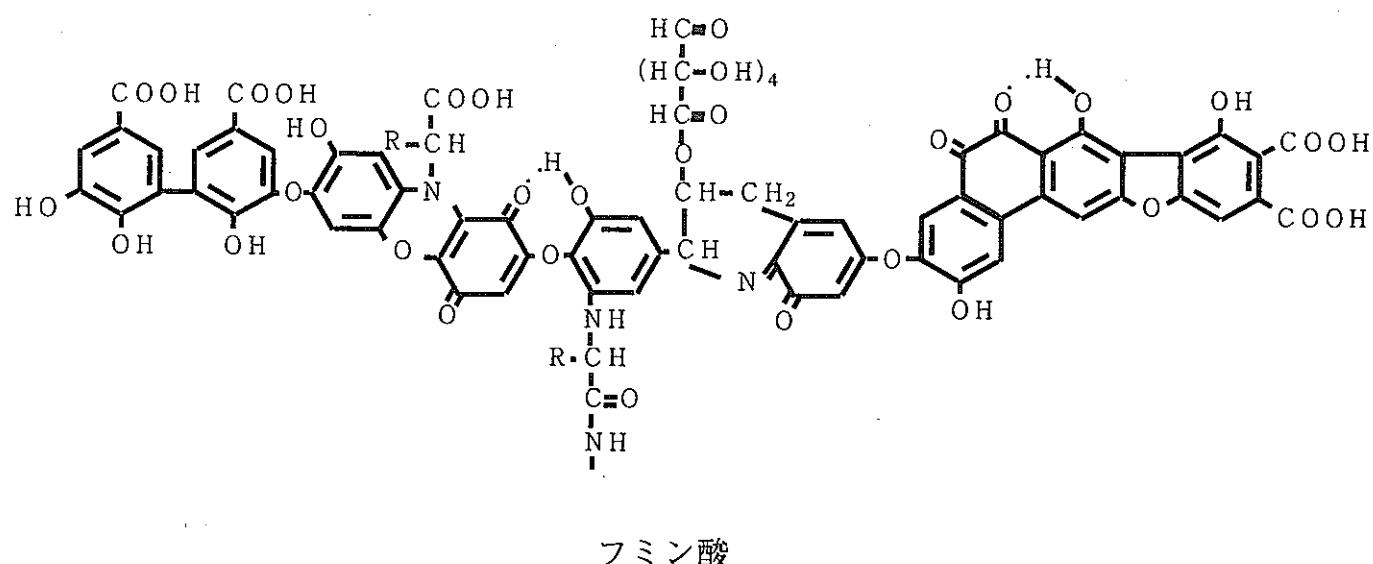
Stanier, R. Y., Ingraham, J. L. et al. : THE MICROBIAL WORLD、第5版、培風館 (1989)

Stroes-Gascoyne, S. and West, J. M. : Microbial Issues Pertaining to the Canadian Concept for the Disposal of Nuclear Fuel Waste, AECL-10808 (1994)

Swayer, C. N., McCarty, P. L. : Chemistry for Sanitary Engineers, McGraw-Hill Book Company(1967)

West, J. M. and McKinley, I. G. : The Geomicrobiology of Nuclear Waste Disposal, Mat.Res.Soc.Symp.Proc., vol.26, P487 (1984)

Wolf, M. and Bachofen, R. : Microbial Degradation of Bitumen Matrix Used in Nuclear Waste Repositories, Naturwissenschaften 78, P414 (1991)



フミン酸

図1 フミン酸の構造式

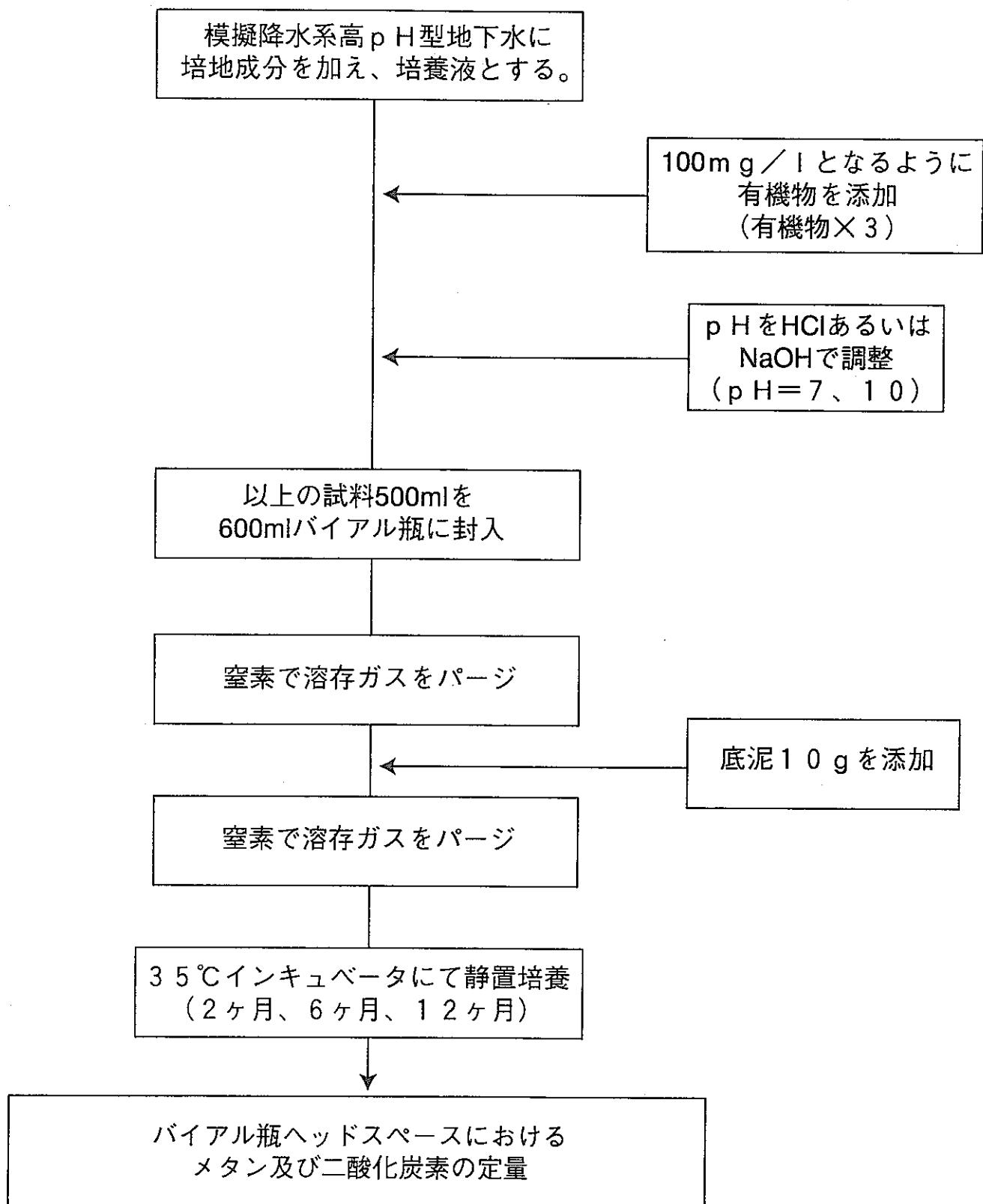


図2 試験フロー

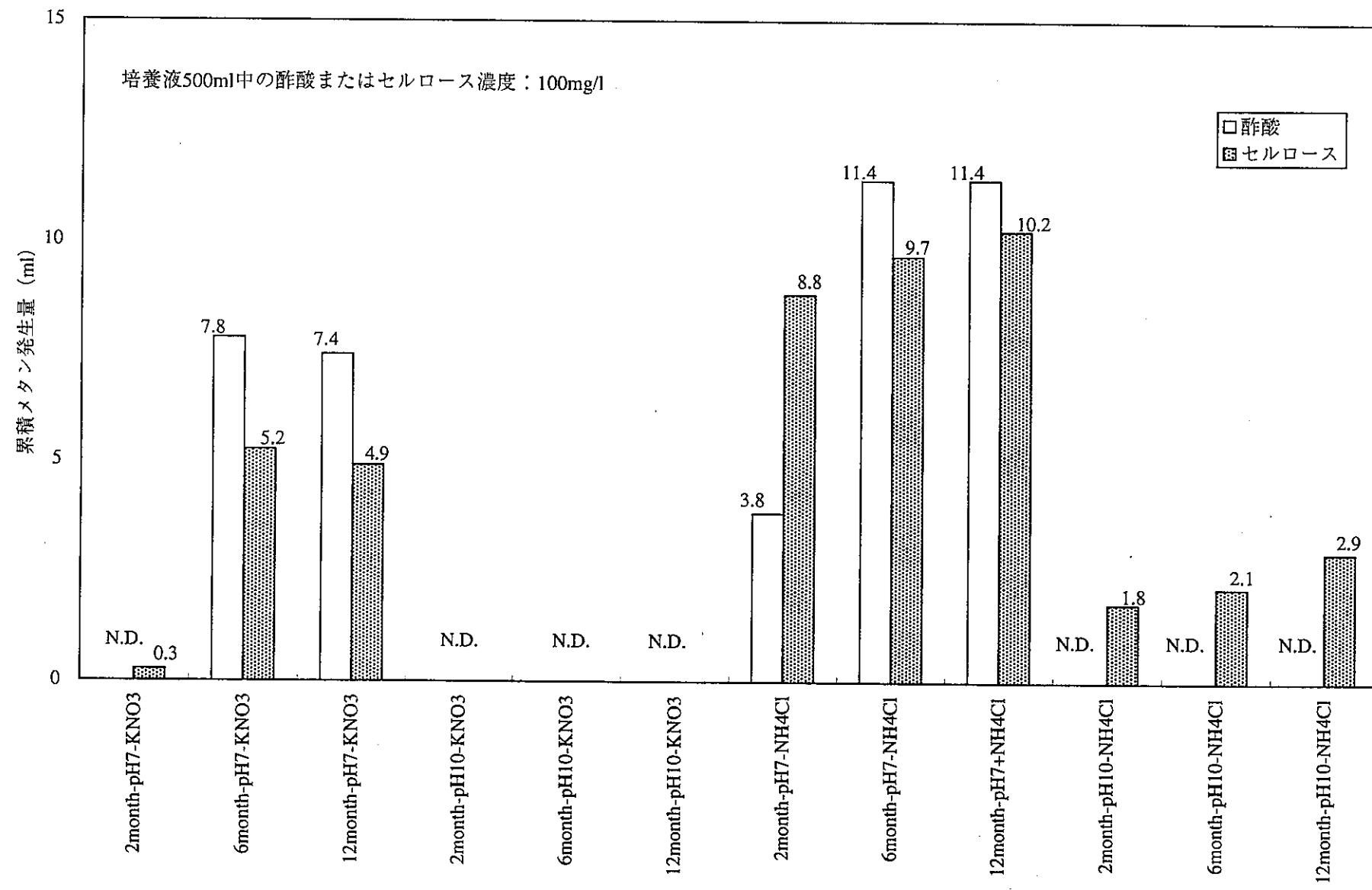


図3 累積メタン発生量

表1 微生物細胞の構成元素

元素	固形物中のwt%	元素	固形物中のwt%
炭素	50	ナトリウム	1
酸素	20	カルシウム	0.5
窒素	14	マグネシウム	0.5
水素	8	塩素	0.5
リン	3	鉄	0.2
硫黄	1	その他	~0.3
カリウム	1		

表2 主要元素の一般的な機能

元素	機能
水素	細胞水、有機細胞物質の構成成分
酸素	細胞水、有機細胞物質の構成成分、O ₂ として好気性生物の呼吸における電子受容体
炭素	有機細胞物質の構成成分
窒素	タンパク質、核酸、補酵素の構成成分
硫黄	タンパク質の構成成分（アミノ酸であるシステイン及びメチオニンとして）、一部の補酵素の構成成分
リン	核酸、リン脂質、補酵素の構成成分
カリウム	細胞中における主要な無機陽イオン、一部の酵素の補助因子
マグネシウム	細胞中の重要な陽イオン、ATPが関与する多くの酵素反応の無機補助因子、酵素と基質の結合における役割、クロロフィルの構成成分
マンガン	一部酵素の無機補助因子、ときにマグネシウムの代用となる
カルシウム	細胞中の重要な陽イオン、一部酵素の補助因子
鉄	シトクロム、他のヘム及び非ヘムタンパク質の構成成分、多くの酵素の補助因子
コバルト	ビタミンB12及びその補酵素誘導体の構成成分
銅、亜鉛、ニッケル、モリブデン	特殊な酵素の無機構成成分

表3 培養液の目標組成

溶媒（模擬地下水）組成		
SO_4^{2-}	1. 3×10^{-4}	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ を添加
HCO_3^-	6. 6×10^{-3}	NaHCO_3 を添加
CO_3^{2-}	2. 3×10^{-4}	NaHCO_3 を添加
Ca^{2+}	3. 8×10^{-5}	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を添加
SiO_2	1. 8×10^{-4}	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ を添加
Na^+	7. 2×10^{-3}	NaHCO_3 、 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ を添加
培地組成		
NO_3^- または NH_4^+	窒素換算で 10 ppm	KNO_3 を添加
PO_4^{3-}	窒素換算で 10 ppm リン換算で 2 ppm	NH_4Cl を添加 K_2HPO_4 を添加
Fe^{2+}	2. 3×10^{-6}	$\text{FeCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を添加
H_3BO_3	1. 0×10^{-5}	
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2. 0×10^{-5}	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2. 0×10^{-7}	
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_24 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1. 4×10^{-8}	
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1. 2×10^{-7}	
$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2. 0×10^{-8}	
KBr	2. 0×10^{-7}	
KI	1. 0×10^{-7}	
$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1. 0×10^{-7}	
$\text{NiSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1. 0×10^{-7}	
$\text{VOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2. 0×10^{-8}	
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$	1. 0×10^{-8}	

表4 試験条件

使用した有機物	フミン酸 酢酸 (培養液に対して100mg/l) セルロース
使用した微生物	河床底泥10g (メタン生成細菌が生息していると仮定)
使用した培養液	表3参照
培養液のpH	pH=7及び10
培養温度	35℃
試験期間	2、6、12ヶ月
測定項目	任意の試験期間経過後のメタン及び二酸化炭素発生量

表5 ヘッドスペースでのガス発生累積値の測定結果

試験期間 2ヶ月

ケース名	分析項目	酢酸	フミン酸	セルロース
		ガス発生量 (ml)	ガス発生量 (ml)	ガス発生量 (ml)
2month-pH7-KNO ₃	C H ₄	N.D.	N.D.	0.253
	C O ₂	0.117	0.341	1.465
	O ₂	0.042	N.D.	0.071
2month-pH10-KNO ₃	C H ₄	N.D.	N.D.	N.D.
	C O ₂	0.009	0.008	0.010
	O ₂	N.D.	0.122	0.074
2month-pH7-NH ₄ Cl	C H ₄	3.825	N.D.	8.787
	C O ₂	0.296	0.353	1.938
	O ₂	N.D.	0.065	N.D.
2month-pH10-NH ₄ Cl	C H ₄	N.D.	N.D.	1.773
	C O ₂	0.007	0.011	0.023
	O ₂	0.061	0.054	0.026

試験期間 6ヶ月

ケース名	分析項目	酢酸	フミン酸	セルロース
		ガス発生量 (ml)	ガス発生量 (ml)	ガス発生量 (ml)
6month-pH7-KNO ₃	C H ₄	7.780	N.D.	5.238
	C O ₂	0.173	0.283	1.382
	O ₂	N.D.	N.D.	N.D.
6month-pH10-KNO ₃	C H ₄	N.D.	N.D.	N.D.
	C O ₂	0.007	0.009	0.017
	O ₂	N.D.	N.D.	0.163
6month-pH7-NH ₄ Cl	C H ₄	11.391	N.D.	9.667
	C O ₂	0.190	0.283	1.683
	O ₂	N.D.	N.D.	0.040
6month-pH10-NH ₄ Cl	C H ₄	N.D.	N.D.	2.138
	C O ₂	0.007	0.010	0.034
	O ₂	N.D.	N.D.	N.D.

試験期間 12ヶ月

ケース名	分析項目	酢酸	フミン酸	セルロース
		ガス発生量 (ml)	ガス発生量 (ml)	ガス発生量 (ml)
12month-pH7-KNO ₃	C H ₄	7.411	N.D.	4.888
	C O ₂	0.118	0.272	1.120
	O ₂	N.D.	N.D.	0.080
12month-pH10-KNO ₃	C H ₄	N.D.	N.D.	N.D.
	C O ₂	0.009	0.010	N.D.
	O ₂	0.024	0.030	0.064
12month-pH7-NH ₄ Cl	C H ₄	11.401	N.D.	10.241
	C O ₂	0.213	0.261	1.512
	O ₂	0.024	0.035	0.025
12month-pH10-NH ₄ Cl	C H ₄	N.D.	N.D.	2.941
	C O ₂	0.006	0.008	0.039
	O ₂	0.031	0.028	0.030

N.D. (定量下限値) : <0.005 (ml)

表6 ガス発生速度の試算結果

試験期間 2ヶ月

ケース名	酢酸からの メタン発生量 (ml)	酢酸からの メタン発生速度 (ml/d)	セルロースからの メタン発生量 (ml)	セルロースからの メタン発生速度 (ml/d)
2month-pH7-KNO ₃	N.D.	-	0.253	4.22E-03
2month-pH10-KNO ₃	N.D.	-	N.D.	-
2month-pH7-NH ₄ Cl	3.825	6.38E-02	8.787	1.46E-01
2month-pH10-NH ₄ Cl	N.D.	-	1.773	2.96E-02

試験期間 6ヶ月

ケース名	酢酸からの メタン発生量 (ml)	酢酸からの メタン発生速度 (ml/d)	セルロースからの メタン発生量 (ml)	セルロースからの メタン発生速度 (ml/d)
6month-pH7-KNO ₃	7.780	4.32E-02	5.238	2.77E-02
6month-pH10-KNO ₃	N.D.	-	N.D.	-
6month-pH7-NH ₄ Cl	11.391	4.20E-02	9.667	4.89E-03
6month-pH10-NH ₄ Cl	N.D.	-	2.138	2.03E-03

試験期間 12ヶ月

ケース名	酢酸からの メタン発生量 (ml)	酢酸からの メタン発生速度 (ml/d)	セルロースからの メタン発生量 (ml)	セルロースからの メタン発生速度 (ml/d)
12month-pH7-KNO ₃	7.411	*1	4.888	*1
12month-pH10-KNO ₃	N.D.	-	N.D.	-
12month-pH7-NH ₄ Cl	11.401	5.56E-05	10.241	3.19E-03
12month-pH10-NH ₄ Cl	N.D.	-	2.941	4.46E-03

試験期間2ヶ月の場合：

ガス発生速度 (ml/d) = (ガス発生量) / (60日)

試験期間6ヶ月及び12ヶ月の場合：

ガス発生速度 (ml/d) = (試験期間6ヶ月または12ヶ月でのガス発生量 - 試験期間2ヶ月または6ヶ月でのガス発生量) / (60日または365日)

*1: 発生速度が負の値となったもの

N.D. (定量下限値) : <0.005 (ml)