

分置

PNC ZJ1150 98-004

限定資料

人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 (V)  
(動力炉・核燃料開発事業団 研究概要)

1998年3月

石川島播磨重工業株式会社

この資料は、動燃事業団の開発業務を進めるため、限られた関係者だけに配布するものです。従って、その取扱いには十分注意を払って下さい。なお、この資料の供覧、複製、転載、引用には事業団の承認が必要です。また今回の配布目的以外のことには使用しないよう注意して下さい。

This document is not intended for publication. No public reference nor disclosure to the third party should be made without prior written consent of Power Reactor and Nuclear Fuel Development Corporation.

本資料についての問合せは下記に願います。

〒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

限定資料

PNC ZJ1150 98-004

1998年3月

## 人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 (V)

石川島播磨重工業株式会社

### 要旨

耐アルカリ性メタン生成細菌の高pHに対する耐性調査の結果、純粋菌であるDSM3457及び消化汚泥の双方において、pHが上昇するにつれて活性が低下したが、pH11においても活性が観測された。これにより、高アルカリ条件でも微生物の生育の可能性があることが分かった。また、脱窒細菌は、pH7程度の場合、処分場のようなEhの低い条件において、活性が抑制されないことが分かった。

微生物のベントナイト中移行挙動評価の結果、圧密密度 $1.2\text{g/cm}^3$ 及び $1.8\text{g/cm}^3$ 共にケイ砂を50wt.%混合した条件が、微生物透過の境界条件になる可能性があることが分かった。

硫酸塩還元細菌とPuとの相互作用を調査する試験の結果、強い還元性環境( $E_h = -500\text{mV}$ )における硫酸塩還元細菌に対するPuの分配係数( $K_d$ )は、 $E_h = -85\text{mV}$ の条件と異なり、微生物の滅菌、非滅菌処理の挙動に影響をほとんど受けないことが分かった。しかし、分配係数は、 $E_h = -85\text{mV}$ の条件と同程度の値を示した。

---

本報告書は、石川島播磨重工業株式会社が動力炉・核燃料開発事業団の委託により実施した研究の成果である。

契約番号 : 090D0172

事業団担当部課室および担当者 : 東海事業所 環境技術開発部 処分システム解析室  
(石黒 勝彦)

Commercial Proprietary  
PNC ZJ1150 98-004  
March, 1998

Study on Microbial Effects on Engineering Barrier  
for Geological Disposal of Radioactive Wastes(V)

Ishikawajima-Harima  
Heavy Industries Co., Ltd.

Abstract

Study on biological activities of methane-producing bacteria resistant to highly alkaline condition showed that DSM3457 as pure culture and bacteria in digested sludge can growth under alkaline condition on pH 11. Activities of denitrifying bacteria in pH 7 was not restricted by low Eh condition as disposal area.

Migration test of bacteria through compacted and saturated bentonite was performed. The results shows that silica sand containment ratio of 50wt.% will become boundary value of bacteria migration through compacted and saturated bentonite.

On the investigation of the interactions between sulfate reducing anaerobic bacteria and plutonium (Pu-239), the results show that distribution coefficients (Kd) of plutonium on the low Eh condition (Eh=-500mV) have few relation to treatment of bacteria were sterilized or not. This results are not same as on Eh=-85mV condition. But, Distribution coefficients (Kd) on Eh=-500mV condition of plutonium are showed similar values of Eh=-85mV condition.

---

Work performed by Ishikawajima-Harima Heavy Industries Co., Ltd. under contract with Power Reactor and Nuclear Fuel Development Corporation.

Contract No. : 090D0172

PNC Liaison : Geological Isolation Technology Section,  
Tokai Works  
(Katuhiko Ishiguro)

	項
1. まえがき	1
2. 試験	2
2.1 微生物の耐性領域調査	2
2.1.1 メタン生成細菌	2
2.1.2 脱窒細菌	11
2.1.3 微生物のガス発生調査	22
2.2 微生物の圧縮ベントナイト中移行性の検討	26
3. 硫酸塩還元菌の作用による Pu,Np の酸化還元状態の検討	36
3.1 研究目的と範囲	36
3.2 純粋硫酸塩還元菌の実験室での大量培養増殖法と増殖菌の利用	36
3.3 純粋硫酸塩還元菌と Pu,Np の相互作用実験調査に用いた Pu,Np の分析法	36
3.3.1 プルトニウムならびにネプツニウムと純粋硫酸塩還元菌との相互作用 評価実験方法	36
3.4 純粋硫酸塩還元菌とプルトニウムとネプツニウムの相互作用実験結果	37
3.4.1 プルトニウムの挙動	37
3.4.2 ネプツニウムの挙動	37
3.5 純粋硫酸塩還元菌と Pu,Np の相互作用実験結果と平成 7.8 年度におこなわれた嫌気 性菌(硫酸塩還元菌含む)との相互作用実験結果との比較	40
3.5.1 プルトニウムのデータの比較	40
3.5.2 ネプツニウムのデータの比較	40
3.5.3 弱い還元性環境(Eh=-85mV)でのプルトニウムとネプツニウム のデータの比較	41
3.5.4 強い還元性環境(Eh=-500mV)でのプルトニウムとネプツニウム のデータの比較	42

4. ベントナイトへの Pu,Np の吸着に及ぼす硫酸塩還元菌等の影響試験調査	49
4.1 研究の目的及び範囲	49
4.2 強い還元性環境下でのベントナイトとプルトニウムとの相互作用実験結果	49
4.3 純粋硫酸塩還元菌が棲息するベントナイトとプルトニウム、ネプツニウム と相互作用実験結果	49
4.4 強弱還元性環境(Eh=-500mV と-85mV)でベントナイトとプルトニウム またはネプチニウムとの相互作用実験結果と平成 7.8 年度におこなわ れた嫌気性菌(硫酸塩還元菌含む)との相互作用実験結果との比較	52
4.4.1 プルトニウムのデータの比較	52
4.4.2 プルトニウムとネプツニウムのデータの比較	52
4.5 強弱還元性環境(Eh=-500mV と-85mV)で純粋硫酸塩還元菌とベント ナイトの混合物とプルトニウムまたはネプチニウムとの相互作用実験 結果と平成 7.8 年度におこなわれた嫌気性菌(硫酸塩還元菌含む)との 相互作用実験結果との比較	55
4.5.1 プルトニウムの比較データ	55
4.4.2 プルトニウムとネプツニウムのデータの比較	55
5. まとめ	60
5.1 微生物の耐性領域調査	60
5.2 微生物の圧縮ベントナイト中移行性の検討	60
5.3 硫酸塩還元菌の作用による Pu,Np の酸化還元状態の検討	61
5.4 ベントナイトへの Pu,Np の吸着に及ぼす硫酸塩還元菌等の影響試験調査	61
参考文献	62

## 1. まえがき

これまで地層処分場における微生物の活動を評価するため、メタン生成細菌(MPB)、硫酸塩還元細菌(SRB)等の耐性領域図を作成してきた。メタン生成菌については、平成8年度に高いアルカリ性条件で生息するメタン生成菌及び細菌の入手の可能性について調査を行った。脱窒細菌については平成6年度に文献調査を行い、平成7年度においては、この脱窒細菌の耐性領域図を作成するために必要となる活性の測定方法について検討を行った。平成8年度は、pHとの関係について調査し、本年度は、Ehとの関係を調査した。

地層処分場の微生物活動を評価するにあたって、重要な項目の一つとして、処分場の外側にいる微生物が人工バリア材として使用する可能性が高いベントナイトを通過して廃棄体に到達し、悪影響を及ぼさないかどうか、もしくは元から処分場内にいる微生物が核種の移行媒体となり、ベントナイトを通過して核種の移行を促進するかどうか問題になる。つまり、廃棄体の周りに設置されるベントナイト層中を微生物が移行することができるかどうかということである。これに関する試験として、ベントナイト中の微生物移行試験を平成8年度に引き続き本年度も試験パラメータを変えて実施した。微生物と放射性核種との相互作用に関する試験は、平成8年度と同様の試験方法であるが、Eh条件の変化による影響を調査するため、平成8年度の-85mVよりもさらに低い、Eh=-485mVの条件にて試験を実施した。また、平成8年度は、SRBを含む消化汚泥を用いて試験を実施したが、本年度は、純粋なSRBを用いて試験を実施した。

## 2. 試験

### 2.1 微生物の耐性領域調査

#### 2.1.1 メタン生成細菌

高アルカリ性環境にて生息する可能性があるメタン生成細菌の純粋培養菌及び消化汚泥について、高アルカリ性 (pH=10~13) 条件を中心に pH をパラメータとした耐性領域を調査する。

##### (1) 試験条件

###### ① 培地

試験に用いる培地を表 2.1-1 に示す。

###### ② メタン生成細菌

微生物保存機関であるDSMより入手したMethanobacterium alkaliphilm DSM 3457及び多様なメタン生成細菌を含む消化汚泥として、十種類のメタン発酵汚泥の中で最もメタン生成活性が大きかった部類に属する焼酎蒸留排水のメタン発酵リアクタから採取した汚泥を用いた。

###### ③ 試験パラメータ

試験パラメータを表 2.1-2 に示す。

##### (2) 試験方法

全体の操作手順を図 2.1-1 に示す。

##### (3) 試験結果および考察

試験結果を表 2.1-3a,3b,3c および図 2.1-2a,2b,2c に示す。表 2.1-3 に示すように培養 pH (開始時 pH) とガス測定時 pH の間の差が小さく、pH の耐性領域調査のため試験結果として精度の良い結果が得られた。

表2.1-3aから各pHにおける最大のメタン生成速度を求めると表2.1-4のようになる。pH8-11の間でメタン生成は認められたが、生成速度はpH上昇につれて大きく低下した。この菌が処分場に存在してメタンを生成する場合の速度は表2.1-4の値以下と予想される。



表 2.1-1 基本培地の組成

組成	培地 No.	培地1	培地2	培地3	培地4
	基質	H <sub>2</sub> 資化性	酢酸資化性	H <sub>2</sub> 資化性	酢酸資化性
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0.15 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g
MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O		0.05 g	0.05 g	0.05 g	0.05 g
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O		0.04 g	0.04 g	0.04 g	0.04 g
NaCl		0.30 g	0.30 g	0.30 g	0.30 g
NH <sub>4</sub> Cl		0.50 g	0.50 g	0.50 g	0.50 g
CH <sub>3</sub> COONa 3H <sub>2</sub> O			5.40 g		5.40 g
KHCO <sub>3</sub>	80g/l solution	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
Na resazurin	0.1g/l solution	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Trace elements *		5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Vitamin solution **		5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
L-Cysteine HCl H <sub>2</sub> O 50g/l solution ***		5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Na <sub>2</sub> S 9H <sub>2</sub> O	50g/l solution ***	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Distilled water		455 ml	455 ml	455 ml	455 ml
Cement suspension		-	-	+	+
NaOH		+	+	+	+
pH		8.0	8.0	12.0	12.0

\* Trace metal solution

NTA	12.8 g	MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.10 g	CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.024 g
FeCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	1.35 g	ZnCl <sub>2</sub>	0.10 g	CuCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.025 g
NaCl	1.0 g	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.01 g	Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub> O <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.024 g
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.10 g	NiCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.12 g	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.026 g
Distilled water	1000ml	(First dissolve NTA in 200ml water and bring the pH 6.5 with KOH)			

\*\* Vitamin solution

Pyridoxine HCl	10.0 mg	Nicotinic acid	5.0 mg
p-Aminobenzoic acid	5.0 mg	Lipoic acid	5.0 mg
DL-calcium pantothenate	5.0 mg	Folic acid	2.0 mg
Thiamine HCl	5.0 mg	Biotin	2.0 mg
Riboflavin	5.0 mg	Vitamin B <sub>12</sub>	0.1 mg
Distilled water 1000ml			

\*\*\* 還元剤

表 2.1-2 メタン生成細菌の耐性領域図 試験パラメータ

菌種	培地	pH	ヘッドスペース
DSM菌	培地1+培地3	8, 10, 11, 12, 12.6	H <sub>2</sub>
消化汚泥	培地1+培地3	8, 10, 11, 12, 12.6	H <sub>2</sub>
消化汚泥	培地2+培地4	8, 10, 11, 12, 12.6	N <sub>2</sub>

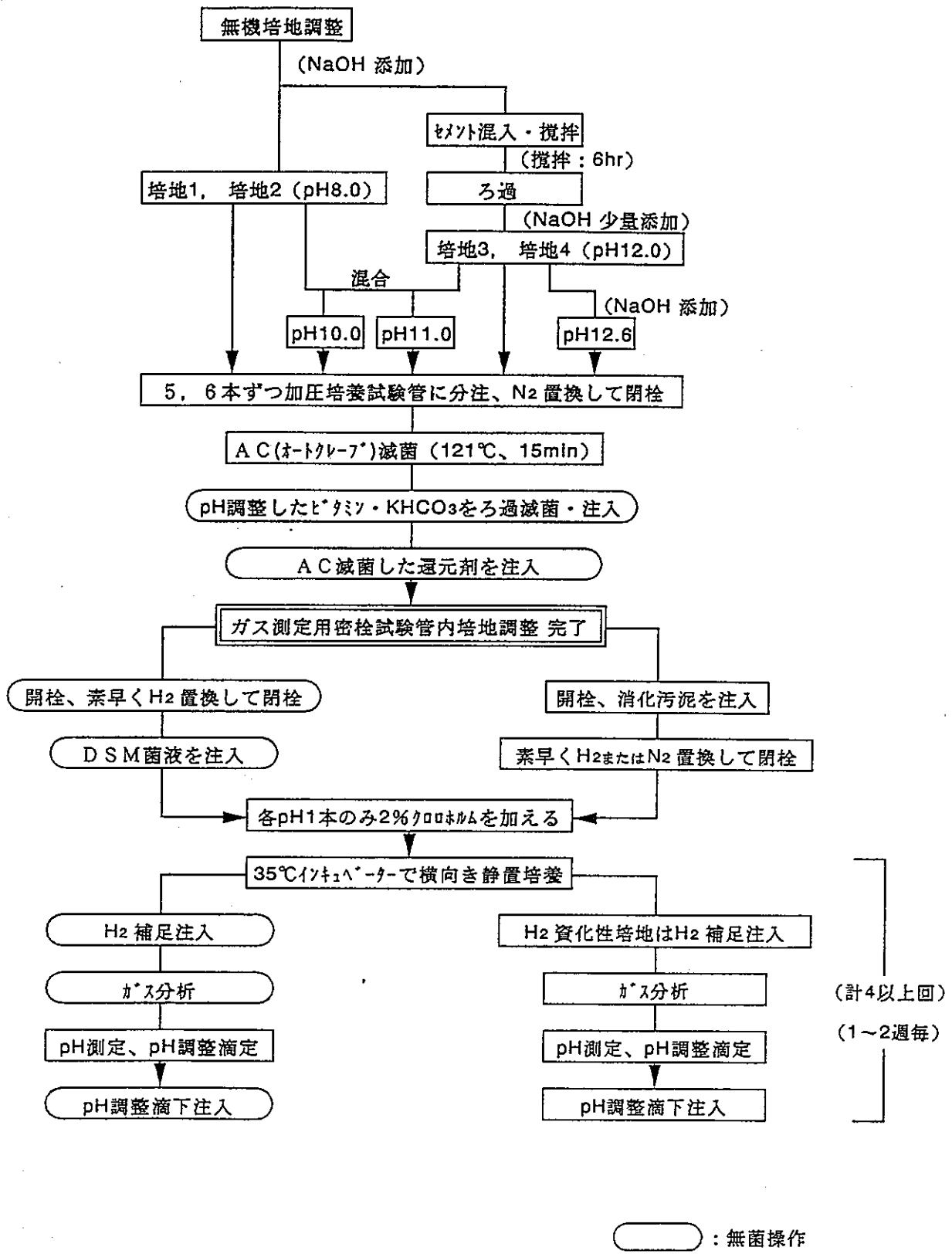


図 2.1-1 高アルカリメタン生成菌の耐性調査試験 試験手順フローチャート

表 2.1-3-a

## DSM菌 水素資化性培地 におけるpHの推移とガス発生

( DSM3457菌液 0.1ml使用 )

( 培地1+培地3 19.9ml使用 )

開始時pH	培養条件			計測ガス組成 (v/v%)		ガス 測定時 pH	ガス発生量 ( $\mu$ l発生ガス/ml菌液)	
	クロホルム	培養日数 (day)	ヘッドスペース 容量(ml)	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>		CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>
8.0	+	14	9.00	1.9220	< 0.005		1730	< 4.500
	-	14	10.00	0.5976	24.2260	8.55	597.6	24230
	-	29	9.91	0.2377	38.831	8.58	239.5	38480
	-	42	9.83	0.2131		8.62	209.5	50310
	-	56	9.75	0.2392	72.783	8.53	233.2	70960
10.0	+	14	8.90	0.0262	< 0.005		23.32	< 4.450
	-	14	9.90	0.0232	1.3063	9.48	22.97	1293
	-	29	9.75	< 0.005	13.835	9.93	< 4.875	13490
	-	42	9.53	< 0.005	14.004	10.80	< 4.765	13350
	-	56	9.43	0.0062	19.148	10.22	5.847	18060
11.0	+	14	9.00	0.0113	< 0.005		10.17	< 4.500
	-	14	10.00	< 0.005	< 0.005	10.05	< 5.000	< 5.000
	-	29	9.83	< 0.005	0.0089	10.71	< 4.915	8.749
	-	42	9.79	< 0.005	0.0122	10.60	< 4.895	11.94
	-	56	9.73	< 0.005	0.0053	10.65	< 4.865	5.157
12.0	+	56	9.00	< 0.005	< 0.005		< 4.500	< 4.500
	-	14	10.00	< 0.005	< 0.005	12.01	< 5.000	< 5.000
	-	29	10.00	< 0.005	< 0.005	11.93	< 5.000	< 5.000
	-	42	9.92	< 0.005	< 0.005	11.93	< 4.960	< 4.960
	-	56	9.92	0.0079	< 0.005	11.93	7.837	< 4.960
12.6	+	56	9.00	< 0.005	< 0.005		< 4.500	< 4.500
	-	14	10.00	< 0.005	< 0.005	12.63	< 5.000	< 5.000
	-	29	10.00	< 0.005	< 0.005	12.59	< 5.000	< 5.000
	-	42	10.00	< 0.005	< 0.005	12.59	< 5.000	< 5.000
	-	56	10.00	< 0.005	< 0.005	12.59	< 5.000	< 5.000

+:クロホルム添加

-:クロホルム無し

ガスクロマトグラフ検出限界 : 0.005(v/v%)

表 2.1-3-b

## 消化汚泥 水素資化性培地 におけるpHの推移とガス発生

( 消化汚泥 0.2ml使用 )  
 ( 培地1+培地3 19.8ml使用 )

開始時pH	培養条件			ガス発生量 (v/v%)		ガス 測定時 pH	ガス発生量 ( $\mu$ l発生ガス/ml菌液)	
	クロホルム	培養日数 (day)	ヘッドスペース 容量(ml)	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>		CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>
8.0	+	7	9.90	1.1730	0.0115		580.6	5.693
	-	7	9.97	1.2275	10.3170	8.58	611.9	5143
	-	14	9.88	0.2684	63.5453	8.73	132.6	31390
	-	21	9.75	0.1913	74.0081	8.77	93.26	36080
	-	27	9.62	4.8683	59.0931	8.01	2342	28420
	-	34	9.62	5.1239	89.1754	8.44	2465	42890
10.0	+	7	9.90	< 0.005	< 0.005		< 2.475	< 2.475
	-	7	9.95	0.0113	1.9429	9.82	5.622	966.6
	-	14	9.89	< 0.005	2.4858	10.01	< 2.473	1229
	-	21	9.89	0.0059	2.1352	9.86	2.918	1056
	-	27	9.82	0.0107	1.4905	10.21	5.254	731.8
	-	34	9.75	< 0.005	2.5976	10.05	< 2.438	1266
11.0	+	7	9.90	< 0.005	< 0.005		< 2.475	< 2.475
	-	7	9.95	< 0.005	0.0351	10.73	< 2.488	17.460
	-	14	9.90	< 0.005	0.0108	11.07	< 2.475	5.346
	-	21	9.90	< 0.005	0.0063	11.13	< 2.475	3.119
	-	27	9.87	0.0231	0.0062	11.20	11.40	3.060
	-	34	9.83	< 0.005	0.0118	10.88	< 2.458	5.800
12.0	+	34	9.90	< 0.005	< 0.005		< 2.475	< 2.475
	-	7	9.89	< 0.005	< 0.005	11.88	< 2.473	< 2.473
	-	14	9.76	< 0.005	< 0.005	12.13	< 2.440	< 2.440
	-	21	9.69	< 0.005	< 0.005	11.86	< 2.423	< 2.423
	-	27	9.53	0.0079	< 0.005	12.22	3.764	< 2.383
	-	34	9.33	< 0.005	< 0.005	12.07	< 2.333	< 2.333
12.6	+	34	9.90	< 0.005	< 0.005		< 2.475	< 2.475
	-	7	10.00	< 0.005	< 0.005	12.57	< 2.500	< 2.500
	-	14	10.00	< 0.005	< 0.005	12.65	< 2.500	< 2.500
	-	21	10.00	< 0.005	< 0.005	12.54	< 2.500	< 2.500
	-	27	10.00	< 0.005	< 0.005	12.57	< 2.500	< 2.500
	-	34	10.00	< 0.005	< 0.005	12.63	< 2.500	< 2.500

+:クロホルム添加  
 -:クロホルム無し

ガスクロマトグラフ検出限界 : 0.005(v/v%)

表 2.1-3-c

## 消化汚泥 酢酸資化性培地 におけるpHの推移とガス発生

( 消化汚泥 0.2ml使用 )  
 ( 培地2+培地4 19.8ml使用 )

開始時pH	培養条件			ガス発生量 (v/v%)		ガス 測定時 pH	ガス発生量 ( $\mu$ l発生ガス/ml菌液)	
	クロホルム	培養日数 (day)	ヘッドスペース 容量(ml)	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>		CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>
8.0	+	7	9.90	0.1483	< 0.005		73.41	< 2.475
	-	7	9.67	0.0969	0.6309	8.93	46.85	305.0
	-	14	9.47	3.0348	0.9202	8.21	1437	435.7
	-	27	9.45	4.0963	1.0233	8.23	1936	483.5
	-	32	9.41	4.4908	3.5231	8.21	2113	1658
	-	60	9.39	4.0545	5.2602	8.25	1904	2470
10.0	+	60	9.90	0.0089	< 0.005		4.406	< 2.475
	-	7	9.93	0.1448	< 0.005	10.01	71.89	< 2.483
	-	14	9.93	0.0085	< 0.005	10.14	4.220	< 2.483
	-	27	9.89	0.0270	< 0.005	9.79	13.35	< 2.473
	-	32	9.82	< 0.005	< 0.005	9.78	< 2.455	< 2.455
	-	60	9.75	< 0.005	< 0.005	10.25	< 2.438	< 2.438
11.0	+	60	9.90	< 0.005	< 0.005		< 2.475	< 2.475
	-	7	9.94	< 0.005	< 0.005	11.25	< 2.485	< 2.485
	-	14	9.90	0.0172	< 0.005	10.73	8.514	< 2.475
	-	27	9.86	0.0117	< 0.005	10.92	5.768	< 2.465
	-	32	9.84	< 0.005	< 0.005	11.10	< 2.460	< 2.460
	-	60	9.83	< 0.005	< 0.005	10.55	< 2.458	< 2.458
12.0	+	60	9.90	< 0.005	< 0.005		< 2.475	< 2.475
	-	7	9.91	0.0584	< 0.005	11.82	28.94	< 2.478
	-	14	9.72	< 0.005	< 0.005	12.08	< 2.430	< 2.430
	-	27	9.67	< 0.005	< 0.005	12.11	< 2.418	< 2.418
	-	32	9.60	< 0.005	< 0.005	11.87	< 2.400	< 2.400
	-	60	9.47	< 0.005	< 0.005	12.01	< 2.368	< 2.368
12.6	+	60	9.90	< 0.005	< 0.005		< 2.475	< 2.475
	-	7	10.00	< 0.005	< 0.005	12.58	< 2.500	< 2.500
	-	14	10.00	< 0.005	< 0.005	12.67	< 2.500	< 2.500
	-	27	10.00	< 0.005	< 0.005	12.67	< 2.500	< 2.500
	-	32	10.00	< 0.005	< 0.005	12.57	< 2.500	< 2.500
	-	60	10.00	< 0.005	< 0.005	12.58	< 2.500	< 2.500

+:クロホルム添加  
 -:クロホルム無し

ガスクロマトグラフ検出限界 : 0.005(v/v%)

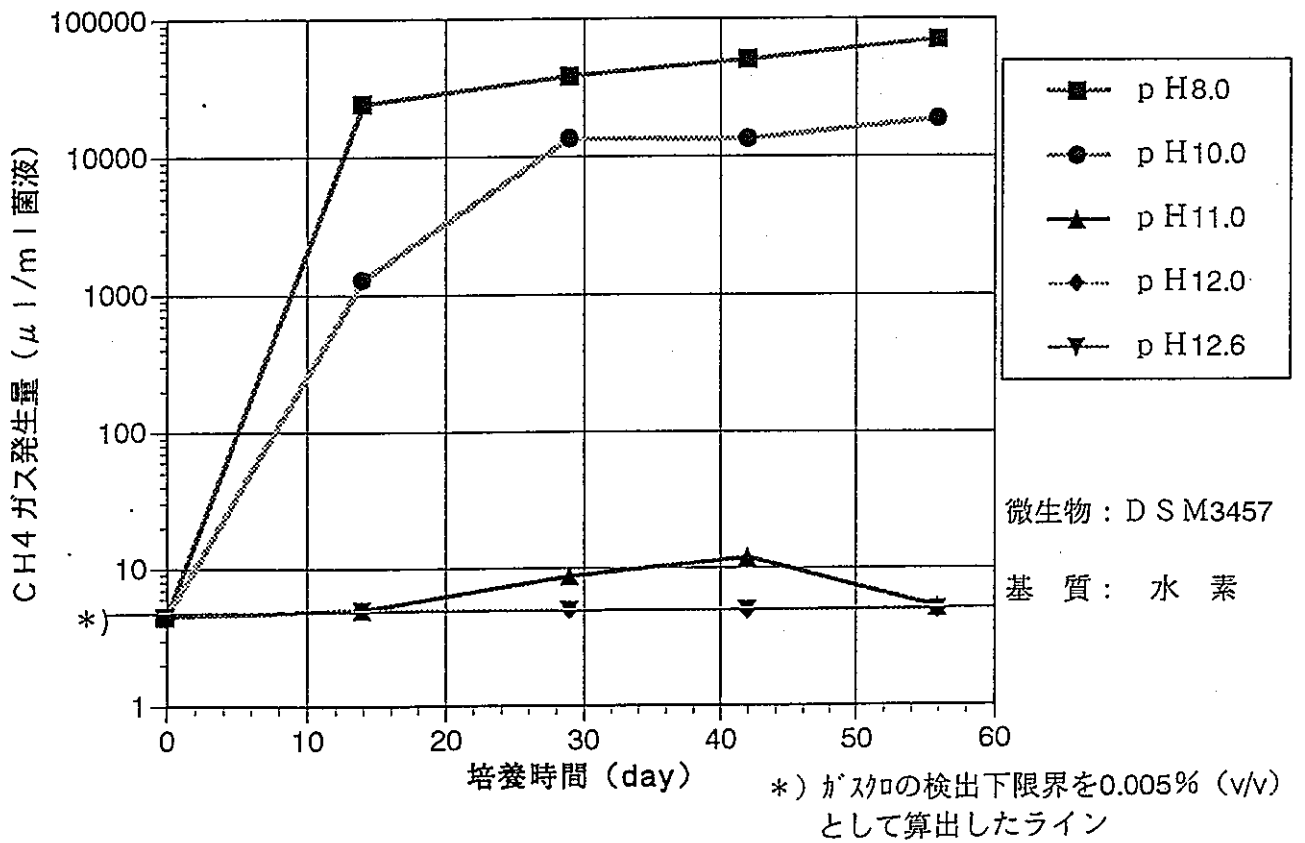
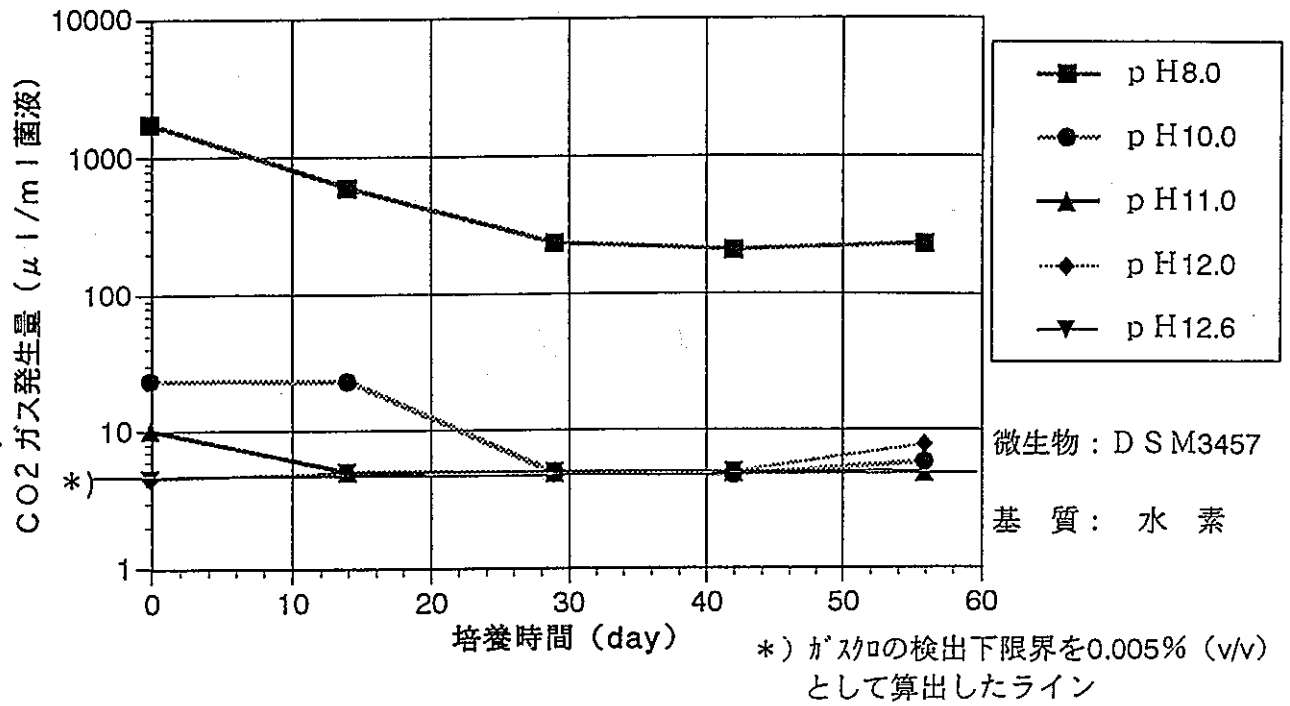


図2.1-2-a DSM菌 水素資化性培地におけるガス発生の推移

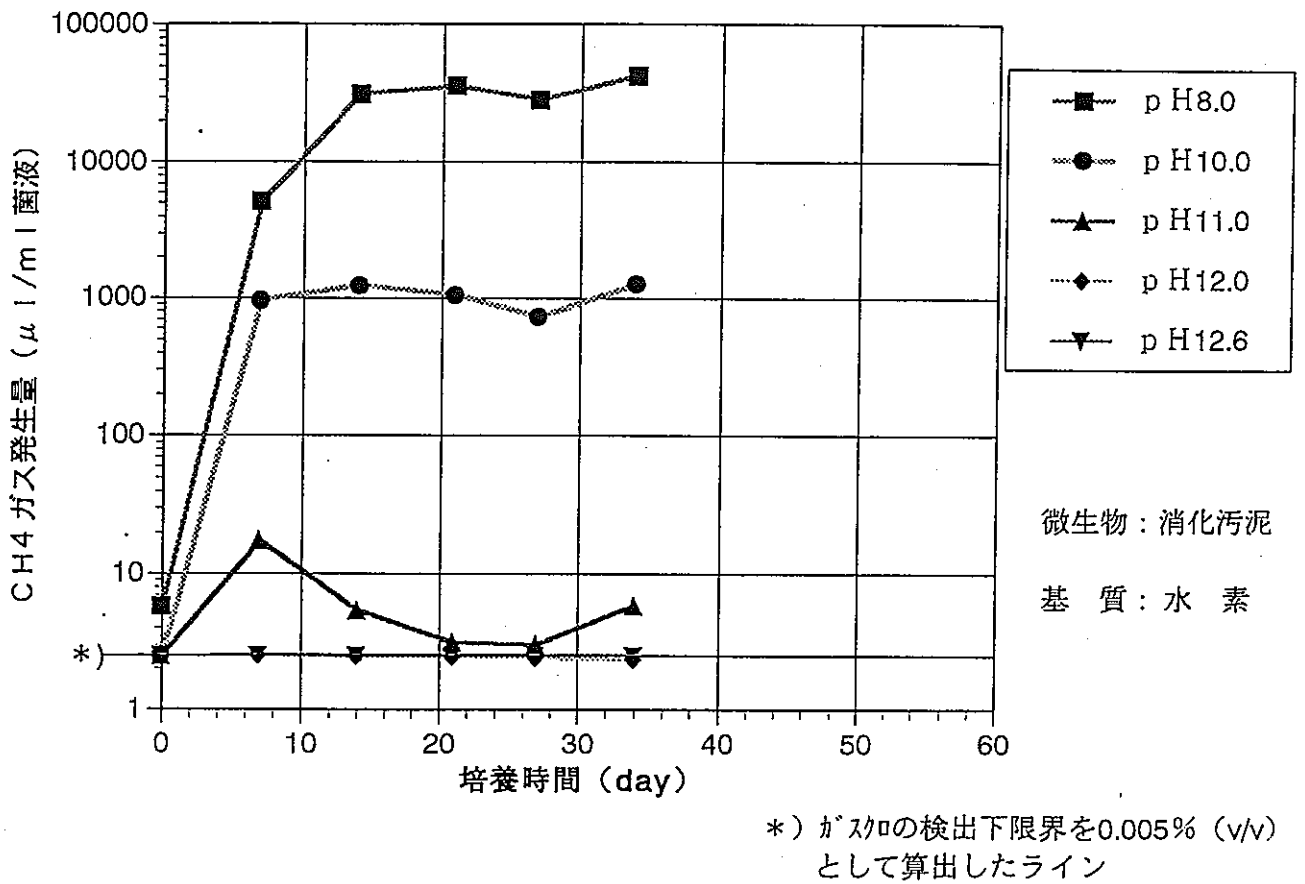
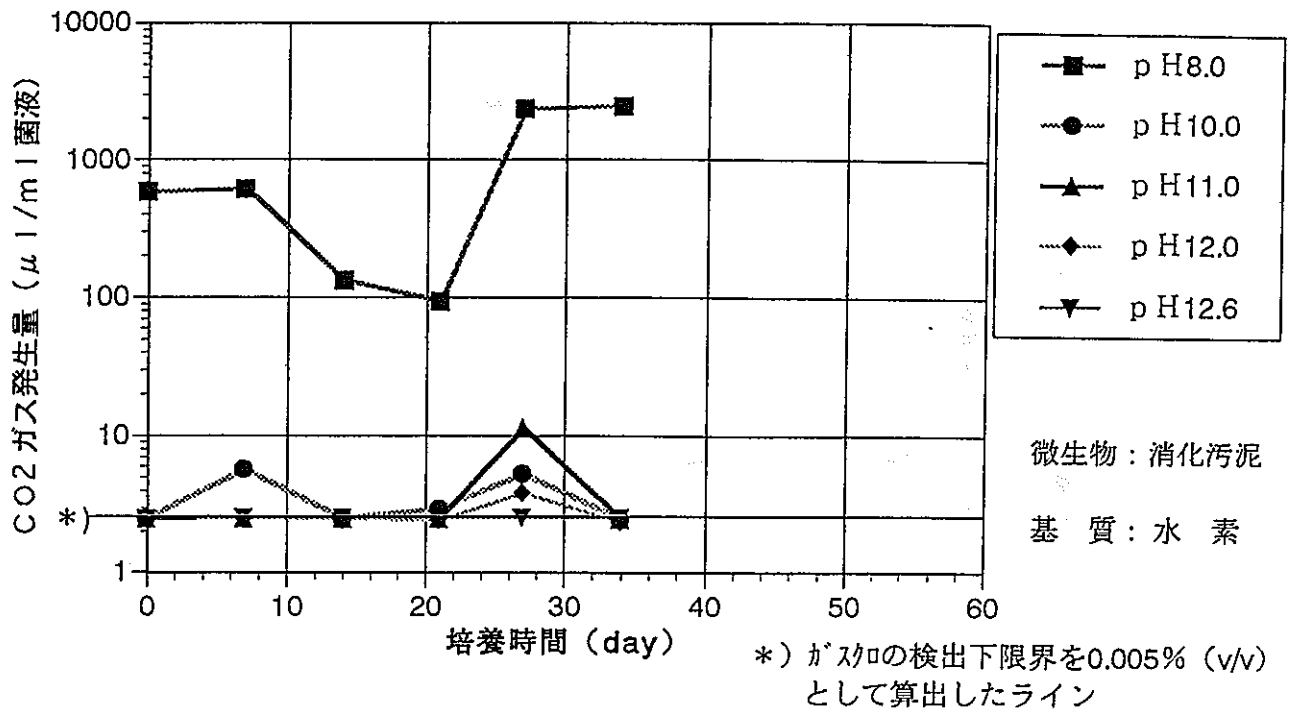


図2.1-2-b 消化汚泥 水素資化性培地におけるガス発生の推移

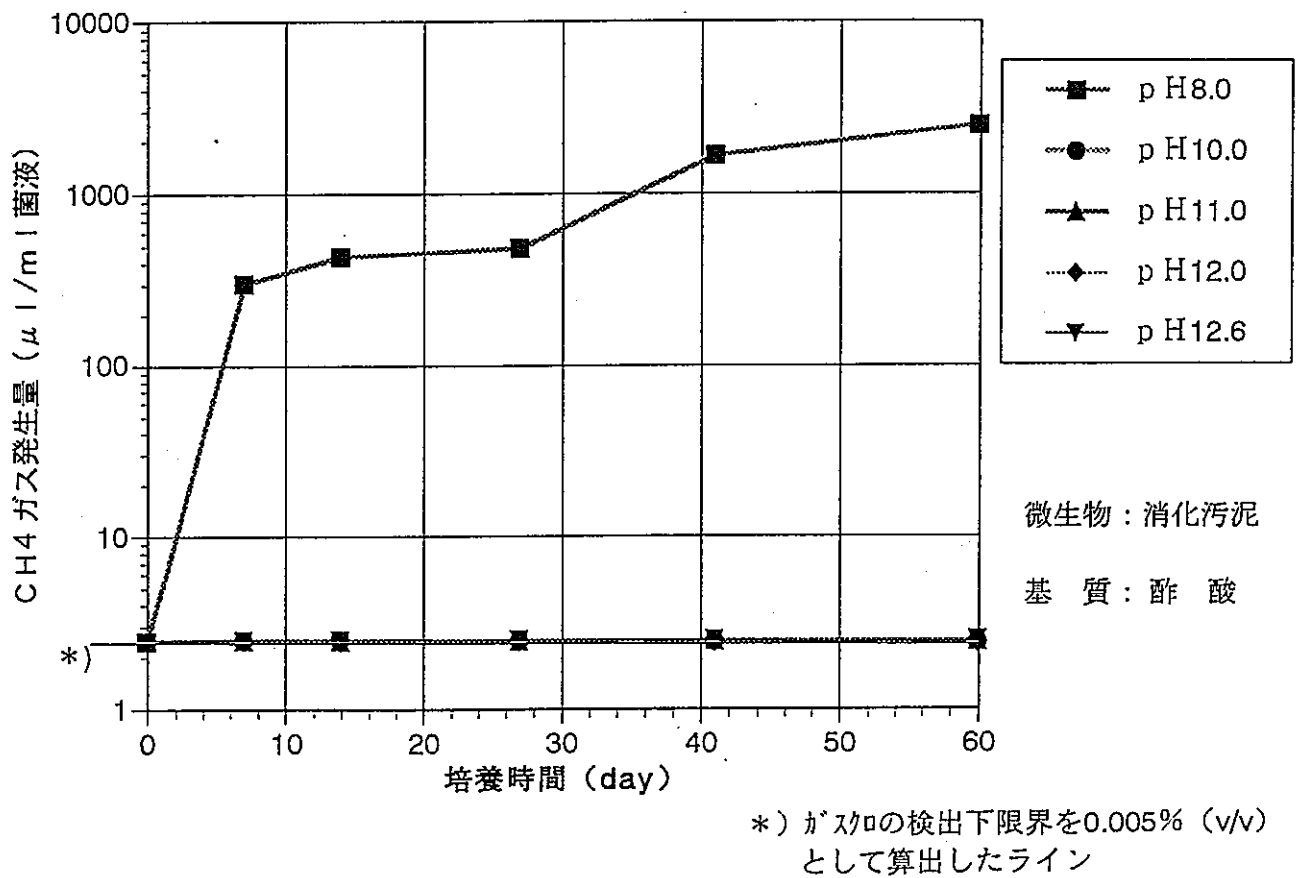
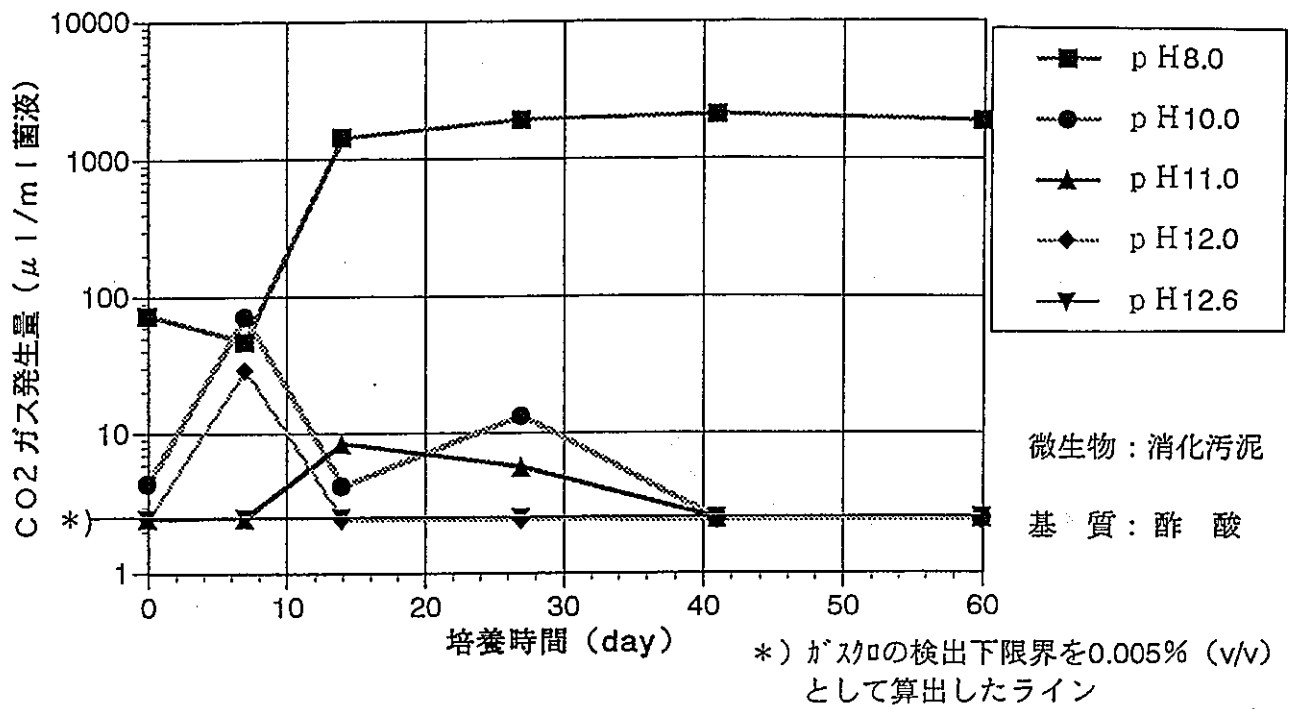


図2.1-2-c 消化汚泥 酢酸資化性培地におけるガス発生の変移



表 2.1-4 DSM菌の水素資化性培地におけるメタン生成速度とpHの関係

pH		測定期間 (培養日数)	メタン生成速度(mL/L/d)	
培養開始時	ガス測定時		接種菌液あたり	培養液あたり
8.0	8.55	0-14	1730	8.65
10.0	9.93	0-29	465	2.33
11.0	10.71	0-29	0.3	0.0015
12.0	11.93	0-56	<0.1	<0.0005

### 2.1.2 脱窒細菌

平成8年度までにpHをパラメータとした耐性領域調査を行ってきた<sup>2)3)</sup>が、本年度はEhをパラメータとした試験を行う。

#### (1) 試験条件

##### ① 培地

表 2.1-5 に培養槽で用いる培地の組成を、表 2.1-6 に脱窒活性槽で用いる培地の組成を示す。これらはすべて殺菌のため121℃、15分間オートクレーブ処理を行って用いた。

##### ② 脱窒細菌

菌株保存機関（財団法人発酵研究所、大阪）から購入し、前年度までのpH耐性領域調査で用いていた Pseudomonas denitrificans IFO 13302 を用いた。

##### ③ 試験パラメータ

pHを脱窒細菌が最も確実に増殖する7付近に設定し、Ehを表2.1-5の培地で自然に到達するEh、還元剤を加えて強制的に下げたEh、空気でエアレーションして強制的に上げたEhと数段階に変動させた。

#### (2) 試験方法

培養槽は図 2.1-3 に示す容量 500 ml のものを、脱窒活性槽は容量 12.5 ml のバイアル瓶タイプのものを用いた。操作手順は次のとおりとした。

①培養槽に脱窒菌用培地（表 2.1-5）を入れ、滅菌し、脱窒細菌を接種して、pHを制

御しながら培養する。Eh については、チオグリコール酸、L-システイン、アスコルビン酸の単独または組み合わせで下げる制御と、エアレーションで上げる制御とを組み合わせた。

- ②培養槽から増殖期と定常期の脱窒菌培養液を抜き出し、濁度測定後、遠心分離で菌体を回収して再懸濁させ、濁度とタンパク含量を測定して脱窒活性サンプル液とする（図 2.1-4）。
- ③脱窒活性測定液（表 2.1-6）を脱気し、バイアル瓶に分注、アルゴン置換したのちアセチレンを加えたものに、上記の脱窒活性サンプル液を注入する（図 2.1-4）。
- ④ 30℃で振とう培養し、一定時間間隔でヘッドスペースのガス分析をして、亜酸化窒素の発生速度を、脱窒活性サンプル液のタンパク量あたりで表わし、脱窒比活性とする。
- ⑤耐性領域図作成のためのデータ解析は、次の考えで行った。即ち、培養槽に接種された菌は増殖期、定常期、死滅期に入るまでの一連の過程を経るが、Eh との関係を見る上で定常期の脱窒活性が、その Eh 条件での特性を最も正しく表わすとする。また増殖量が変動するので、タンパク量あたりの脱窒活性である「脱窒比活性」と、液量あたりの脱窒活性である「脱窒能力」との両方で評価する。

表 2.1-5 脱窒菌用培地

有機混合培地		ヘッドスペース; He 置換 (一部air通気)	
ビーフエキス	3.0 g		
ペプトン	5.0 g		
KNO <sub>3</sub>	2.5 g	※ リン酸緩衝液	
NH <sub>4</sub> Cl	0.5 g	M/5 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	17ml
NaCl	5.0 g	M/5 K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	33ml
グルコース	0.9 g	pH7.1	50ml
乳酸ナトリウム	0.9 g (1.0ml)	※※ 微量元素	
クエン酸	0.42 g	MnSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.8 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2 g	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.78 g
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.2 g	FeCl·6H <sub>2</sub> O	0.83 g
リン酸緩衝液※	50ml	NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.5 g
微量元素※※	1滴	脱塩水	100ml
脱塩水	1000ml	pH7.1	
pH7.1			

表 2.1-6 脱窒活性測定液

脱窒活性測定液		脱窒活性測定槽 体積配分	
ビーフエキス	3.0 g	脱窒活性測定液	4.7ml
ペプトン	5.0 g	脱窒活性サンプル液	
KNO <sub>3</sub>	2.5 g	(図 2.1-4 参照)	0.3ml
KNO <sub>2</sub>	5.0 g	ヘッドスペース※※※	7.5ml
NaCl	5.0 g	12.5ml	
グルコース	0.9 g	※※※ ヘッドスペース	
乳酸ナトリウム	0.9 g (1.0ml)	He (吸引脱気の後置換)	
クエン酸	0.42 g	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	0.1 atm
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2 g	7.5ml	
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.2 g	※※ 微量元素	
リン酸緩衝液※	50ml	MnSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.8 g
微量元素※※	1滴	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.78 g
脱塩水	1000ml	FeCl·6H <sub>2</sub> O	0.83 g
pH7.1		NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.5 g
※ リン酸緩衝液		脱塩水	100ml
M/5 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	17ml	pH7.1	
M/5 K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	33ml		
pH7.1	50ml		

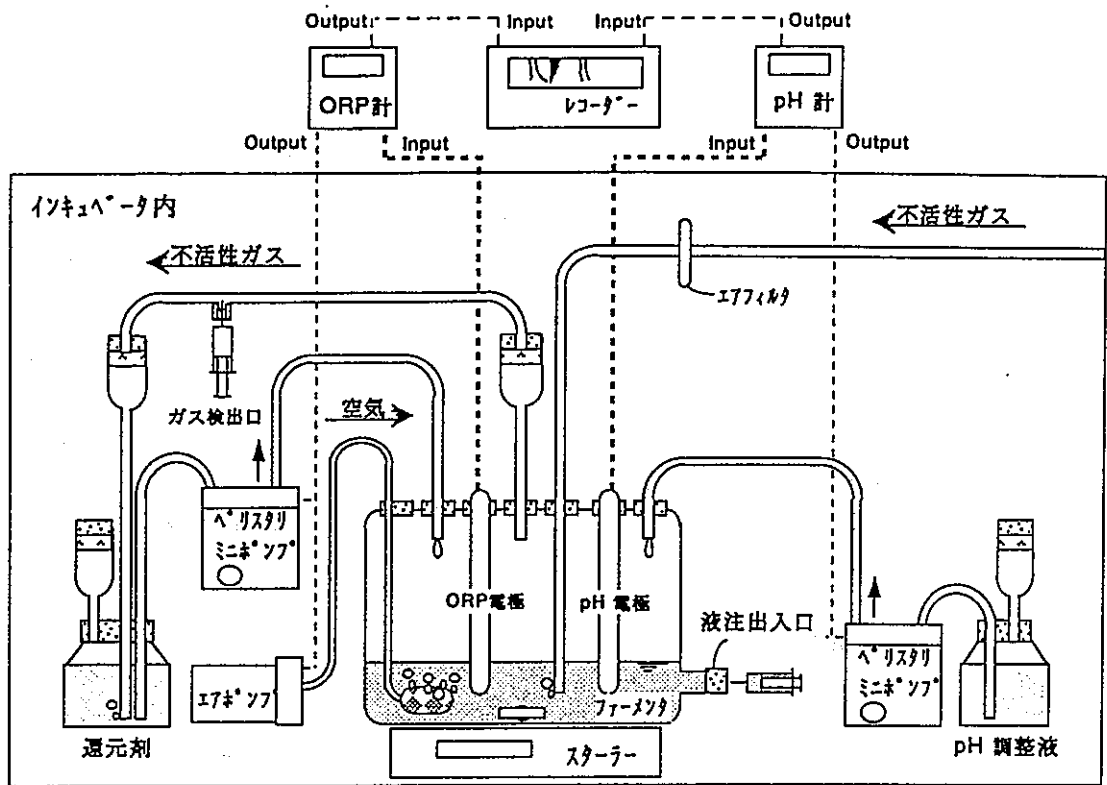


図 2.1-3 培養装置

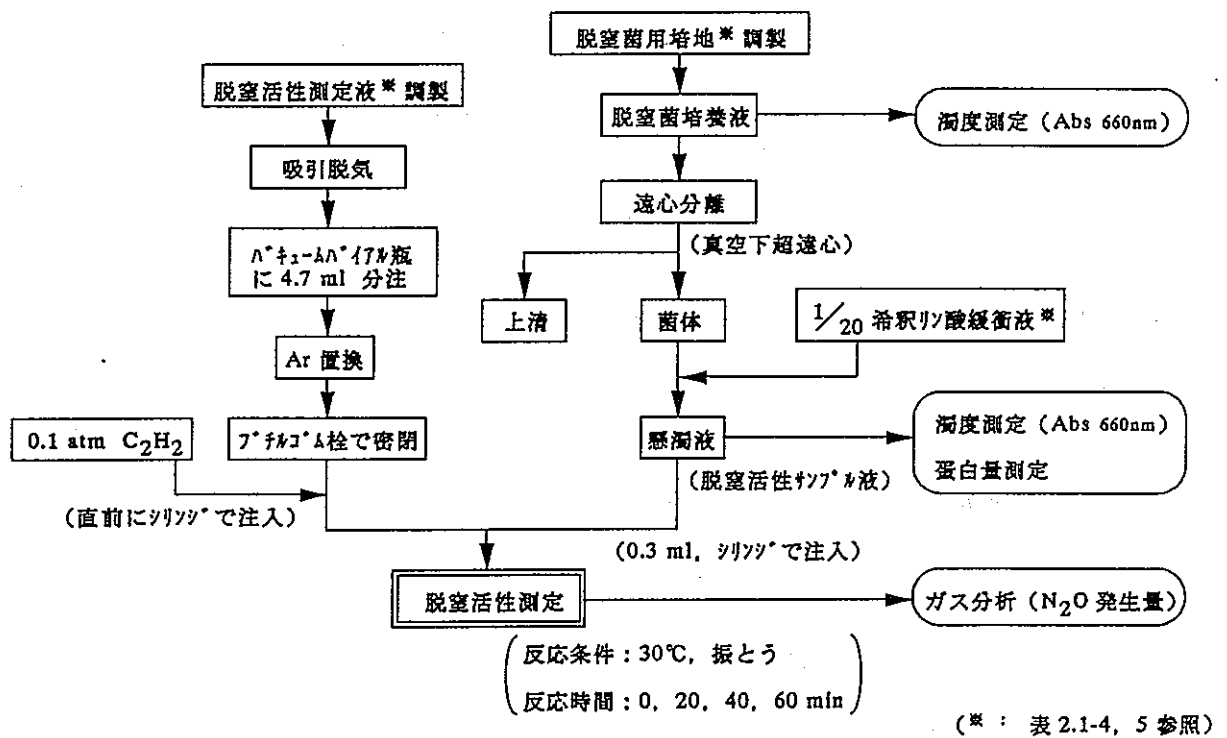


図 2.1-4 脱窒活性測定 操作手順

#### (4) 試験結果および考察

##### ① 培養槽の状況

Eh を制御した試験は合計 5 回行った。各々につき、660nm 吸光度 (Abs660) で表した菌体量 (菌体濁度)、pH、および Eh の経時変化を、1995 年度の結果 (文献<sup>3)</sup>p.21 図 1-10) と併せて、図 2.1-5 に示した。図中、培養液を脱窒活性測定槽に抜き出して活性を測定したポイント (各条件 2 回) を表示したが、一つは増殖期 (Abs660 の増加時)、もう一つは定常期 (Abs660 が一定) である。図 2.1-6 は各々の増殖曲線の比較図である。

##### ② 脱窒活性測定槽の状況

脱窒活性測定結果を表 2.1-7 に示す。この結果を見ると、1995 年度に Eh 制御なしの条件 (※) で測定した比活性がもっとも高く、次いで Eh=0~-70mV の条件(c)での値が高かった。また、比活性は低 Eh (-100~-150mV) で低下する傾向が見られたが、同じ Eh 領域でも用いる還元剤によって比活性に違いが生じることが、条件(d)と条件(e)の比較でわかる。

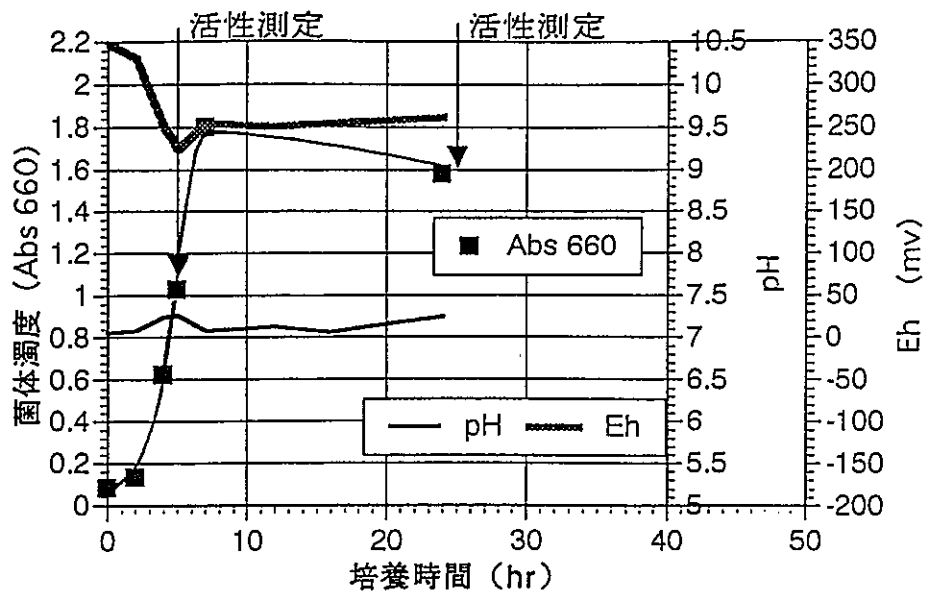
##### ③ Eh をパラメータとした耐性領域図

脱窒活性をタンパク量あたりの比活性で表したものを図 2.1-7 に、液量あたりの脱窒能力で表したものを図 2.1-9(計算過程は表 2.1-9)に示す。図 2.1-9 は、Eh が増殖量に影響を及ぼしている (図 2.1-8) ので、図 2.1-7 とは傾向が異なっている。しかしながら、いずれの図で見ても、Eh+250mV 以上で活性が無く、-50mV 付近で最も活性が高くなる傾向であった。脱窒細菌の活動は pH など他の阻害的条件が無ければ、酸素、硝酸イオンおよび有機物によって規制される。Eh によって規制されることは考えにくい。脱窒細菌の活動が高 pH により抑えられる可能性はある。標準的な脱窒細菌である *Pseudomonas denitrificans* IFO 13302 は pH 9 では増殖も脱窒活性も確認されたが、pH 9.5 ではどちらも見られなかった。脱窒反応が可能な pH 上限値が好アルカリ性脱窒細菌の場合どこまで高まるかが問題であるが、そのデータは十分でない。文献では、pH10 で脱窒活性ありとの報告があるが、脱窒が停止する pH までは記述されていない<sup>4)20)</sup>。

増殖カーブ (a)

Eh 調整 : 350 ~ 200 (mv)

酸化剤 : Air通気

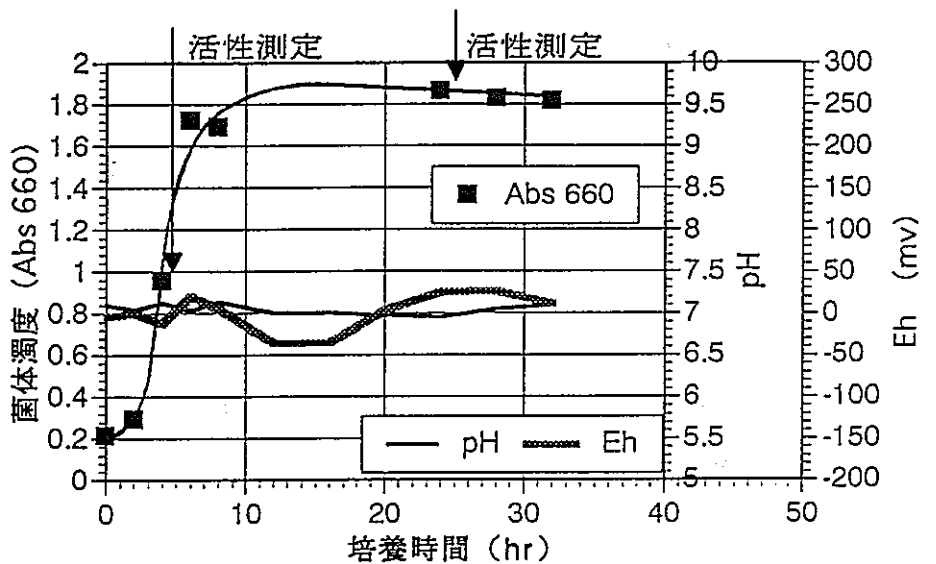


増殖カーブ (b)

Eh 調整 : 30 ~ -40 (mv)

還元剤 : 珪酸リチウム

酸化剤 : Air通気



95年度データによる  
増殖カーブ

Eh 調整なし  
140 ~ -60 (mv)

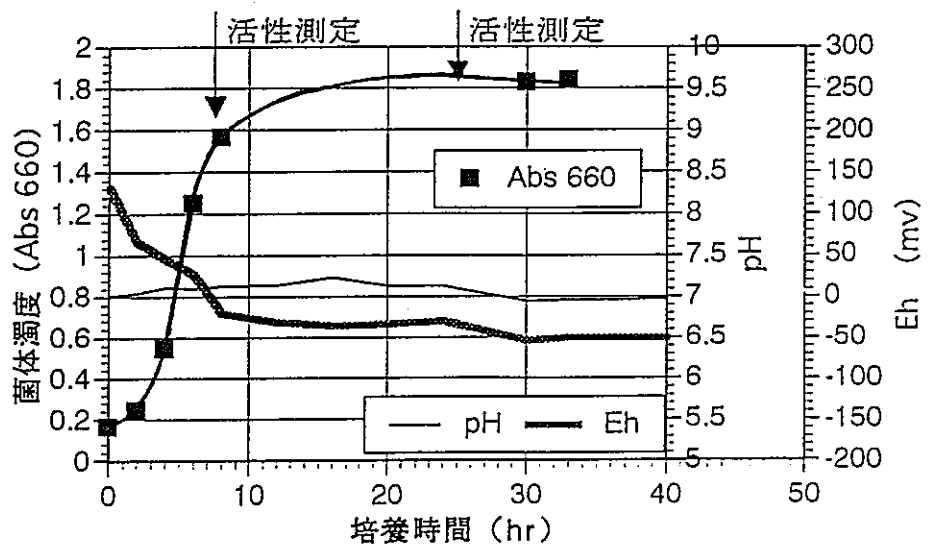
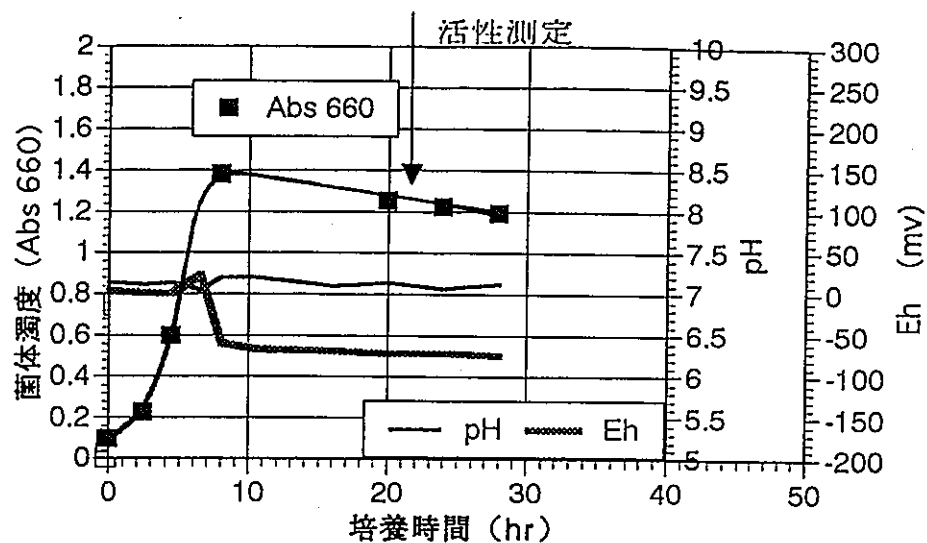
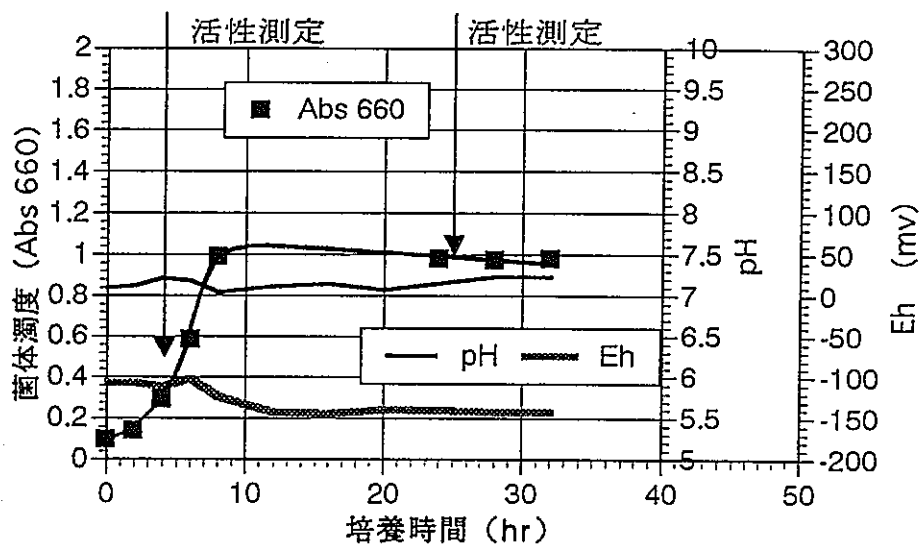


図 2.1-5-a pH, Eh制御による菌の増殖の変化 (1)

増殖カーブ (c)  
 Eh 調整 : 0 ~ -70 (mv)  
 還元剤 : アスコルビン酸  
 フラグリコール酸



増殖カーブ (d)  
 Eh 調整 : -100 ~ -150 (mv)  
 還元剤 : フラグリコール酸  
 L-システイン塩酸塩 (少量)



増殖カーブ (e)  
 Eh 調整 : -100 ~ -150 (mv)  
 還元剤 : L-システイン塩酸塩

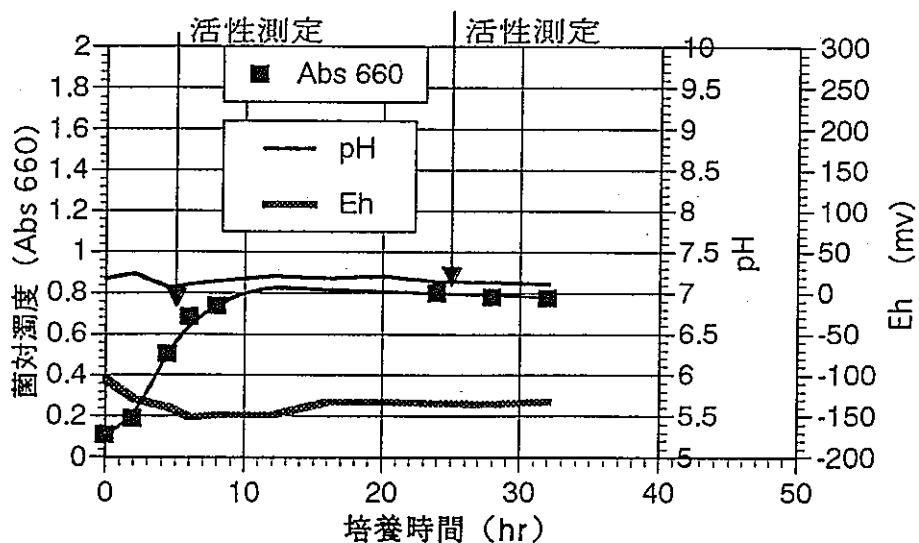
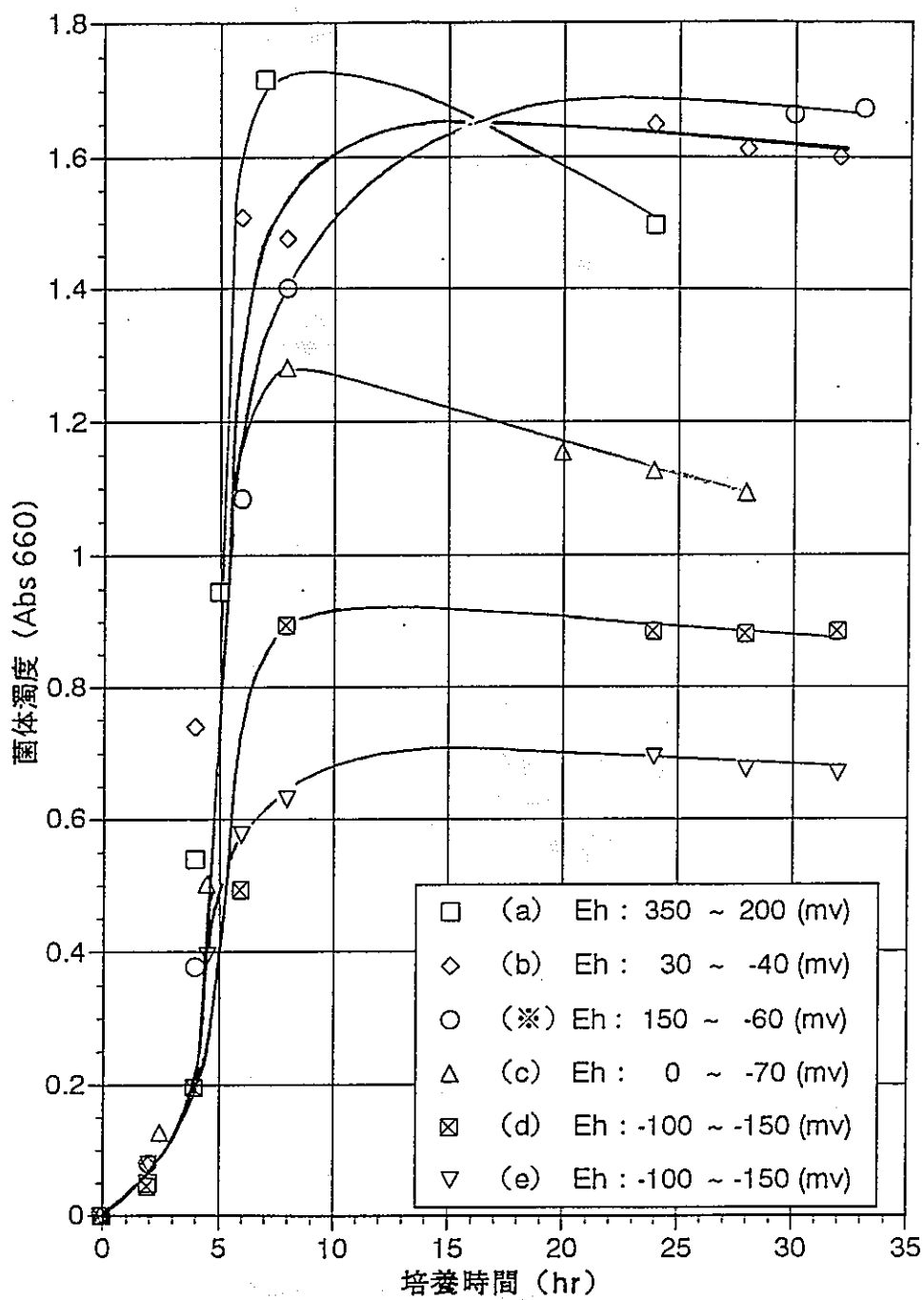


図 2.1-5-b pH, Eh制御による菌の増殖の変化 (2)



(\*) 95年度データによる増殖カーブ  
(Eh調整なし)

図 2.1-6 各Eh条件における菌体の増殖カーブ



表 2.1-7 各Ehによる脱窒活性（培養、活性測定はpH7.1で一定）

培養 pH	増殖期比活性 μl/hr・mg タンパク	Eh mv	採取時間 hr	定常期比活性 μl/hr・mg タンパク	Eh mv	採取時間 hr
7.1(a)	3	237	4			
	6	225	5	<0.5	262	24
7.1(b)	41	12	6	13	-25	24
7.1※	83	12	8	60	-36	24
7.1(c)				45	-71	22
7.1(d)	49	-102	4	42	-140	24
7.1(e)	25	-151	6	13	-134	24

※：95年度データを使用（Eh調整なし）——— 報告書<sup>3)</sup>

- (a): Eh 350~200(mv)      酸化剤：air通気
- (b): Eh 30~-40(mv)      還元剤：チオグリコール酸・酸化剤：air通気
- (c): Eh 0~-70(mv)      還元剤：アスコルビン酸・チオグリコール酸
- (d): Eh -100~-150(mv)    還元剤：チオグリコール酸・L-システイン塩酸塩 少量
- (e): Eh -100~-150(mv)    還元剤：L-システイン塩酸塩

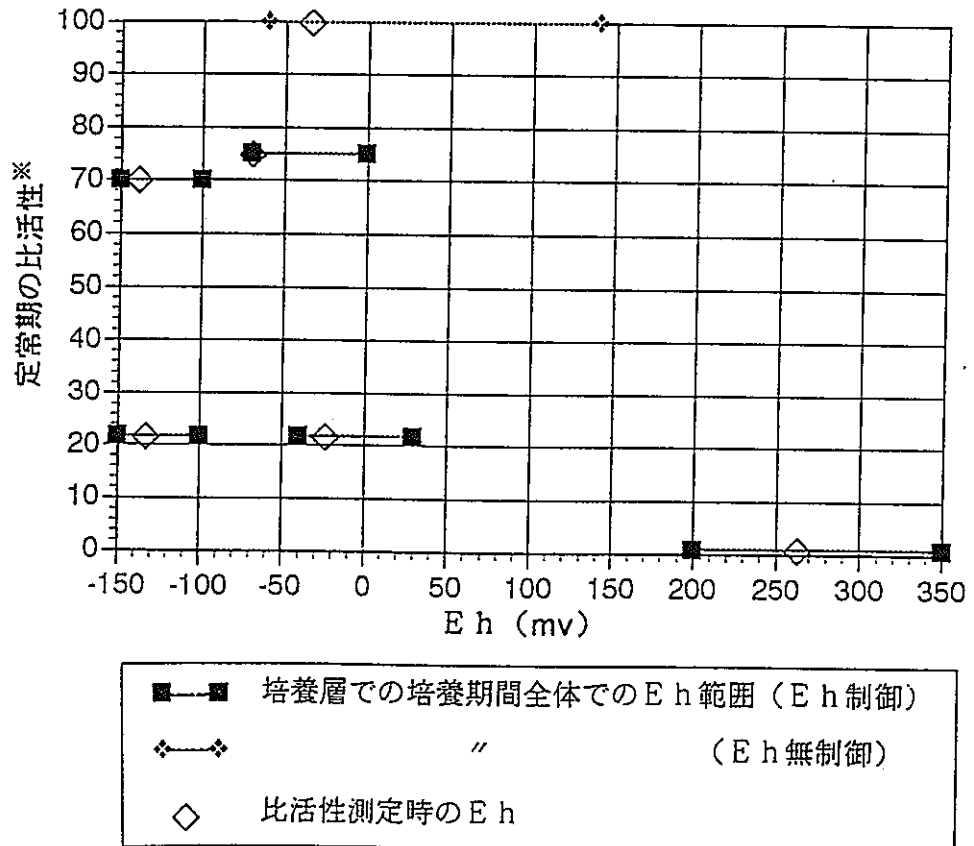


図 2.1-7 脱窒菌の定常期の比活性を指標とする Eh耐性領域図

\*定常期の比活性：単位時間・単位タンパク量当たりのN<sub>2</sub>Oガスの発生能力が最大のものを100として示した値

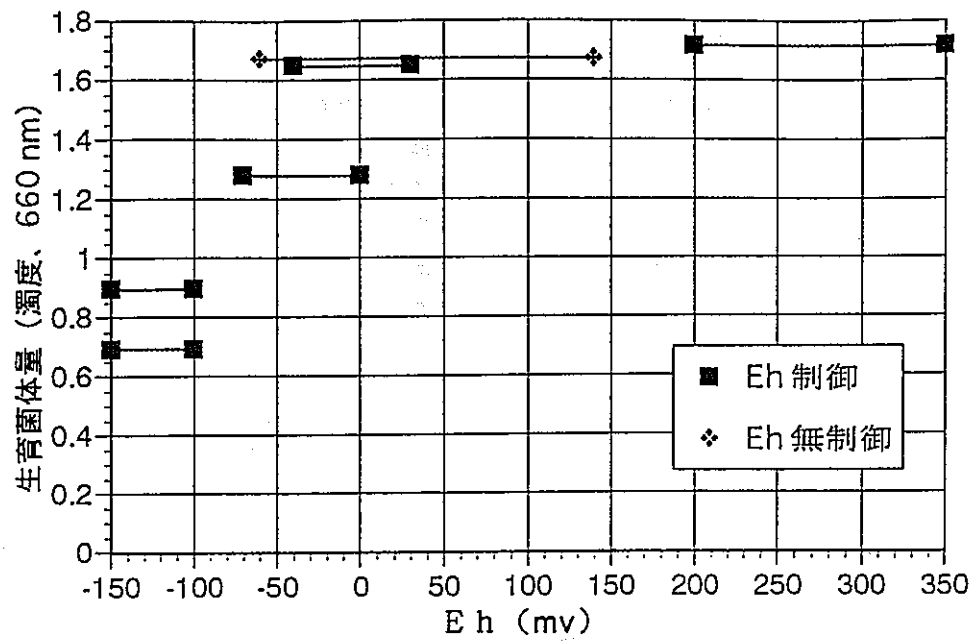


図 2.1-8 脱窒菌のpH7.1での増殖量に及ぼすE hの影響

表 2.1-8 各Ehによる脱窒能力（培養、活性測定はpH7.1で一定）

培養条件	最大菌体濁度		最大タンパク含有濃度	定常期比活性	最大脱窒活性能	脱窒活性能の相対比
	Abs 660	g菌体乾燥重量/ml菌	mgタンパク/ml菌液	$\mu\text{l/hr} \cdot \text{mg タンパク}$	$\mu\text{l/hr} \cdot \text{ml 菌液}$	%
7.1(a)	1.716	1.8464	0.5502	0.5	0.275	0.8552
7.1(b)	1.649	1.7743	0.5287	13	6.874	21.37
7.1※	1.672	1.7994	0.5362	60	32.17	100.0
7.1(c)	1.281	1.3784	0.4108	45	18.48	57.46
7.1(d)	0.895	0.9630	0.2870	42	12.05	37.47
7.1(e)	0.692	0.7446	0.2219	13	2.885	8.967
算出式	a	$x=1.076a$	$Y=0.298x$	b	$A=b \cdot Y$	$P=0.3217A$

※：95年度データを使用（Eh調整なし）——— 報告書<sup>3)</sup>

- (a): Eh 350~200(mv)      酸化剤：air通気
- (b): Eh 30~-40(mv)      還元剤：チオグリコール酸・酸化剤：air通気
- (c): Eh 0~-70(mv)      還元剤：アスコルビン酸・チオグリコール酸
- (d): Eh -100~-150(mv)    還元剤：チオグリコール酸・L-システイン塩酸塩 少量
- (e): Eh -100~-150(mv)    還元剤：L-システイン塩酸塩

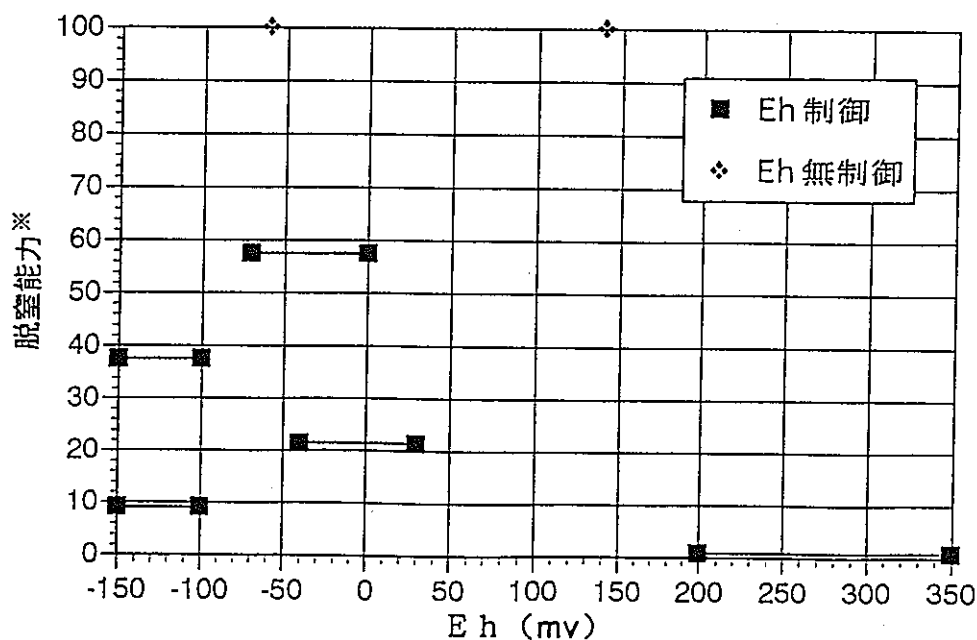


図 2.1-9 脱窒菌の脱窒能力を指標とする Eh 耐性領域図

※ 脱窒能力：単位時間・単位培養菌液当たりの $\text{N}_2\text{O}$ ガスの発生能力が最大のものを100として示した値

(単位無し)

### 2.1.3 微生物のガス発生調査

1996年度に、メタン生成細菌および脱窒細菌の生長に伴うガス発生量の測定と題して、比較的低濃度（100 mg/L）の異なる3種類の有機物からの、pH7および10におけるガス発生試験を開始した。本年度は、この試験系を更に継続して培養し、期間をおいて2度ガス分析（CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>）をして、その後、ガスがどの程度発生しているか確認することを目的とする。

#### (1) 試験条件

##### ① 培地

平成3年度「高レベル放射性廃棄物地層処分研究開発の技術報告」PNC PN1410 92-081 天然地下水成分「降水系高pH型」の成分表に微生物の増殖に必要な微量元素、窒素源、および有機物を加え、pH調整したもの（1996年度研究委託報告書<sup>2)</sup>、p.23、表 2.2-3）。有機物としては、地下水に最も存在する可能性が高いものとしてフミン酸を、一般に環境中に比較的蓄積しやすいものとして酢酸を、廃棄物分解試験でよく用いられるセルロースの3種を選んだ。

##### ② 微生物

多摩川の大師橋付近の底泥（図 2.1-10）

##### ③ 試験パラメータ

- ・ 窒素源：KNO<sub>3</sub> または NH<sub>4</sub>Cl、
- ・ 有機物：フミン酸、セルロース、または酢酸
- ・ pH：7 または 10

#### (2) 試験結果および考察

本年度の結果を表 2.1-9 および図 2.1-11 に示す。メタンガスは、pH7の酢酸ならびにセルロース、pH10のセルロース・NH<sub>4</sub>Clで発生した。CO<sub>2</sub>は、pH7では、すべての有機物で検出された。添加有機物の重量あたりのメタンガス発生量は、酢酸、セルロースでほぼ同量であったが、CO<sub>2</sub>ガスでは、pH7の条件下ではセルロースが酢酸やフミン酸の5～6倍と最も多かった。培地pHのガス発生に及ぼす影響としては、セルロース・NH<sub>4</sub>Cl・pH7および10のメタンガス発生でみるかぎり、本混合培養系ではpH10でも微生物活性があることが示された。

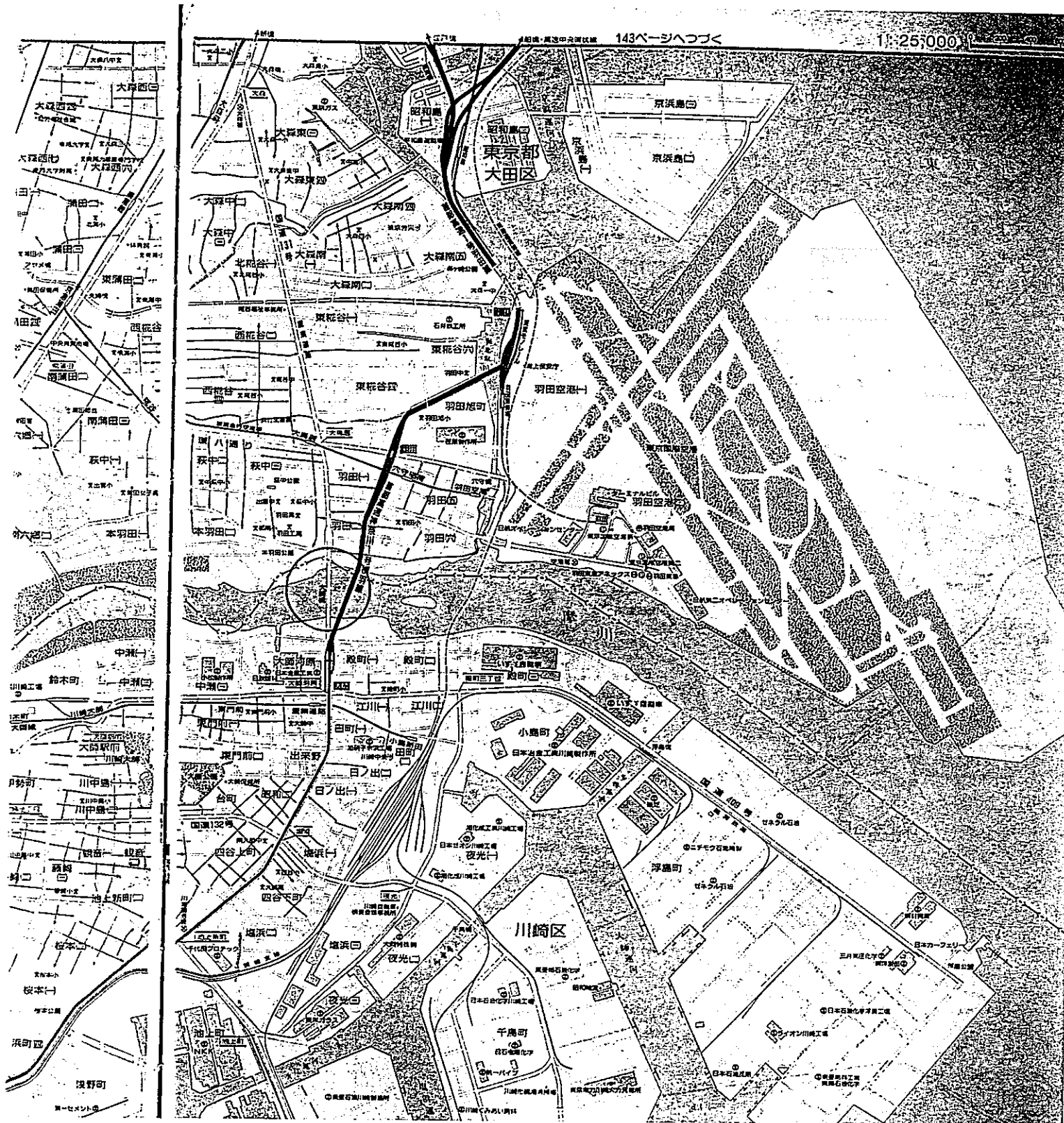


図2.1-10 微生物のガス発生調査で用いた微生物の採取場所

表2. 1-9 地下微生物の集積培養にともなうガス発生の測定結果

1996年12月27日 多摩川 底泥の嫌気培養開始

1997年3月5日 測定

		酢酸	フミン酸	セルロース
KNO3 pH7.0	CH4:	nd	nd	<u>0.253</u>
	CO2:	0.117	0.341	1.465
	O2:	0.042	nd	0.071
KNO3 pH10.0	CH4:	nd	nd	nd
	CO2:	0.009	0.008	0.010
	O2:	nd	0.122	0.074
NH4Cl pH7.0	CH4:	<u>3.825</u>	nd	<u>8.787</u>
	CO2:	0.296	0.353	1.938
	O2:	nd	0.065	nd
NH4Cl pH10.0	CH4:	nd	nd	<u>1.773</u>
	CO2:	0.007	0.011	0.023
	O2:	0.061	0.054	0.026

単位 : [ V/V% ]      nd < 0.005 [V/V%]

1997年7月3日 測定

		酢酸	フミン酸	セルロース
KNO3 pH7.0	CH4:	<u>7.780</u>	nd	<u>5.238</u>
	CO2:	0.173	0.283	1.382
	O2:	nd	nd	nd
KNO3 pH10.0	CH4:	nd	nd	nd
	CO2:	0.007	0.009	0.017
	O2:	nd	nd	0.163
NH4Cl pH7.0	CH4:	<u>11.391</u>	nd	<u>9.667</u>
	CO2:	0.190	0.283	1.683
	O2:	nd	nd	0.040
NH4Cl pH10.0	CH4:	nd	nd	<u>2.138</u>
	CO2:	0.007	0.010	0.034
	O2:	nd	nd	nd

単位 : [ V/V% ]      nd < 0.005 [V/V%]

1997年12月25日 測定

		酢酸	フミン酸	セルロース
KNO3 pH7.0	CH4:	<u>7.411</u>	nd	<u>4.888</u>
	CO2:	0.118	0.272	1.120
	O2:	nd	nd	0.080
KNO3 pH10.0	CH4:	nd	nd	nd
	CO2:	0.009	0.010	nd
	O2:	0.024	0.030	0.064
NH4Cl pH7.0	CH4:	<u>11.401</u>	nd	<u>10.241</u>
	CO2:	0.213	0.261	1.512
	O2:	0.024	0.035	0.025
NH4Cl pH10.0	CH4:	nd	nd	<u>2.941</u>
	CO2:	0.006	0.008	0.039
	O2:	0.031	0.028	0.030

単位 : [ V/V% ]      nd < 0.005 [V/V%]

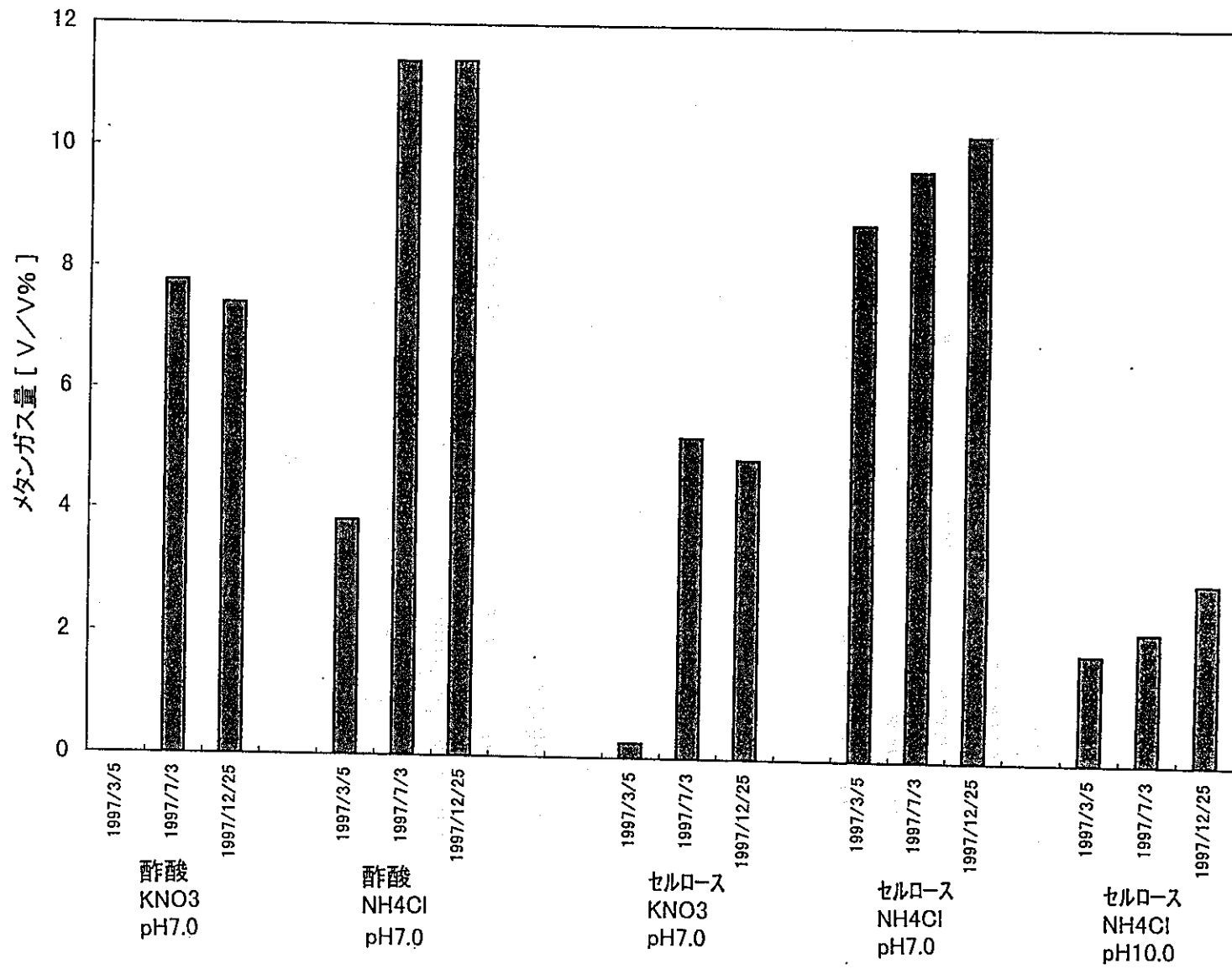


図2. 1-11 地下微生物の集積培養にともなうメタンガス発生

## 2.2 微生物の圧縮ベントナイト中移行性の検討

本年度は、乾燥密度  $1.2\text{g/cm}^3$  でケイ砂混合率 0 wt%及び 30 wt%のベントナイト成型体と、乾燥密度  $1.8\text{g/cm}^3$  でケイ砂混合率 50 wt%のベントナイト成型体の合計3点の試験を実施した。

### (1) 試験条件

#### ① 透過試験用微生物及び培地

透過試験用微生物には、アンピシリン耐性大腸菌を選択した。培地はEMB培地又はLB培地（ニッスイ製薬）を用いた（表2.2-2）。

#### ② 成型体製作条件

本試験に用いる圧縮ベントナイト成型体の製作条件を表2.2-3に示す。

### (2) 試験方法

#### ① ベントナイト透過試験装置の改良（図2.2-1）

透過試験装置は、これまでミリポアフィルターとアルミナ、中空フィルターの間、シリコンゴム製のパッキンを用いてきたが、オートクレーブによる加熱で歪みが生じる傾向にあったので、Oリングと同じ材質のバイトン製にし、パッキンの幅を広くすることで、より密閉性の信頼度を高くした。

#### ② 膨潤化処理工程（図2.2-2）

本年度では全ての条件で、膨潤及び菌透過処理工程を3週間実施した。

#### ③ 菌透過処理工程（図2.2-2）

抜き出し後の成型体では、試験培養液に含まれる色素（紅色）の沈着が見られ、全ての条件で底部までの液の浸透が確認できた。

#### ④ 透過菌数測定工程（図2.2-3）

切り出しは図2.2-4に示すように、5切片の取り出しを行う方法で実施した。菌数測定はこれまでと同様に、寒天平板培養で行い、 $30^\circ\text{C}$ 恒温条件で2~5日の培養を実施した。また、 $20\mu\text{m}$ のナイロンメッシュ布による懸濁液のろ過による微少粒子の除去及び、寒天培地作成後の、混入微少粒子のマーキングも併せて実施した。

#### ⑤ 透過検出微生物の同定



試験体切片より微生物が検知された場合には、その微生物を採取して単離培養を行い、その菌の形態、生理学的特性（アンピシリン耐性）等の分析を行い、供給菌と同種のものであることを確認する試験を行った。

### (3) 試験結果と考察

#### ① ケイ砂混合率 0 wt% ベントナイト成型体 (乾燥密度 $1.2\text{g/cm}^3$ )

表2.2-4に試験結果を示す。本試験期間の結果では、成型体層の中には菌の浸透は見られなかった。菌の培養液に接している最上層部に菌が検知されたが、それより深い層には菌は見られなかった。

#### ② ケイ砂混合率30 wt% ベントナイト成型体 (乾燥密度 $1.2\text{g/cm}^3$ )

表2.2-5に試験結果を示す。本試験期間の結果では、成型体層の中には菌の浸透は見られなかった。菌の培養液に接している最上層部に菌が検知されたが、それより深い層には菌は見られなかった。

#### ③ ケイ砂混合率50 wt% ベントナイト成型体 (乾燥密度 $1.8\text{g/cm}^3$ )

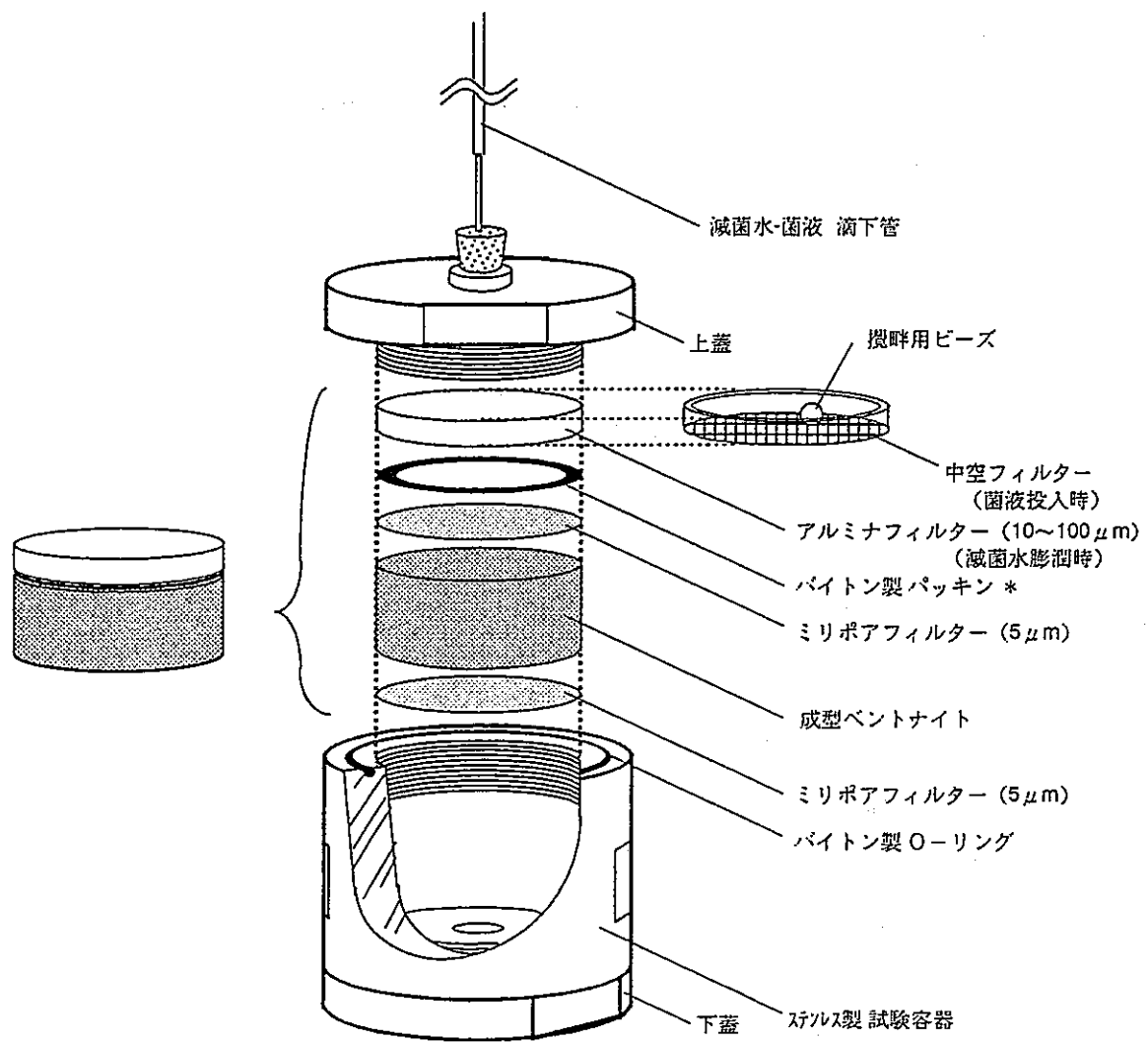
表2.2-6に試験結果を示す。3例中1例で最上部以外の上部から5mmの深層(IV)でごく少数の菌を検知し、(2)⑤で記したように供給菌と同種のものであることを確認した。他の2例については最上部以外には検知できなかった。

#### ④ 透過検出微生物の同定

表2.2-5で透過した菌は、接種した大腸菌と同じくアンピシリン耐性があり、また形態も同じであった。供給微生物と同一種と判定された。

#### ⑤ 透過の可能性についての考察

1995年度から実施してきた試験結果を表2.2-7に示す。試験期間が限られたものであるが、はっきり菌の透過が示されたものは、乾燥圧密 $1.2\text{g/cm}^3$ 及び $1.8\text{g/cm}^3$ のケイ砂混合率80 wt% ベントナイト成型体であった。ケイ砂混合率50 wt% ベントナイト成型体では双方の圧密で菌の透過には微妙な領域であるということが推測され、その理由は主に(3)③で記したものが考えられる。表2.2-7上では現れてこなかったが、ケイ砂混合率50 wt% ベントナイト成型体の試験において、乾燥圧密 $1.2\text{g/cm}^3$ より $1.8\text{g/cm}^3$ の方が透過期間が長かったにも関わらず、同じ層で菌が検出された等の例もあり、圧密の変化も菌の透過に対し何らかの影響を与えている可能性も考えられる。



\* : 改良点

図 2.2-1 ベントナイト透過試験装置の構成概要

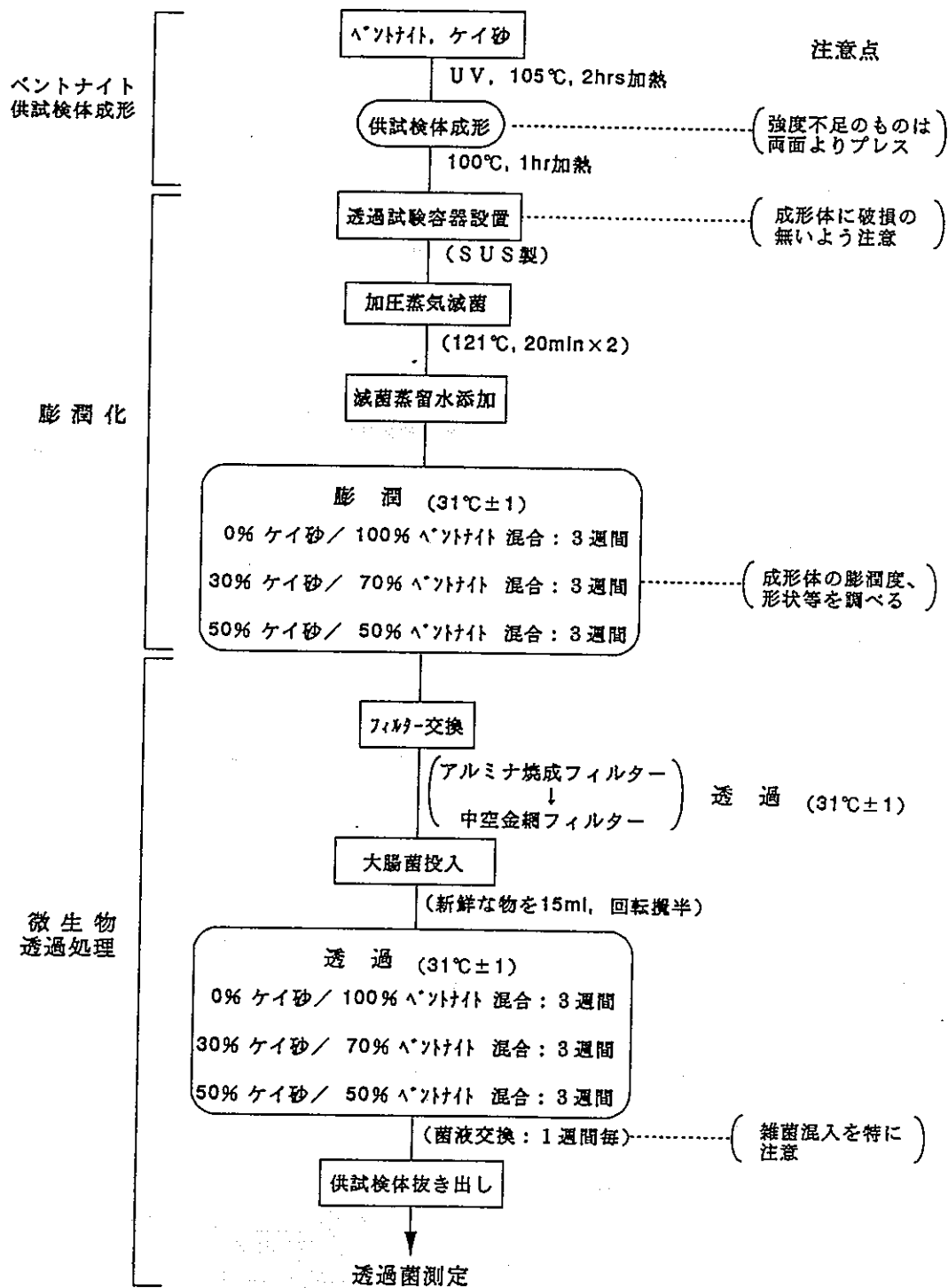


図 2.2-2 菌透過処理操作工程

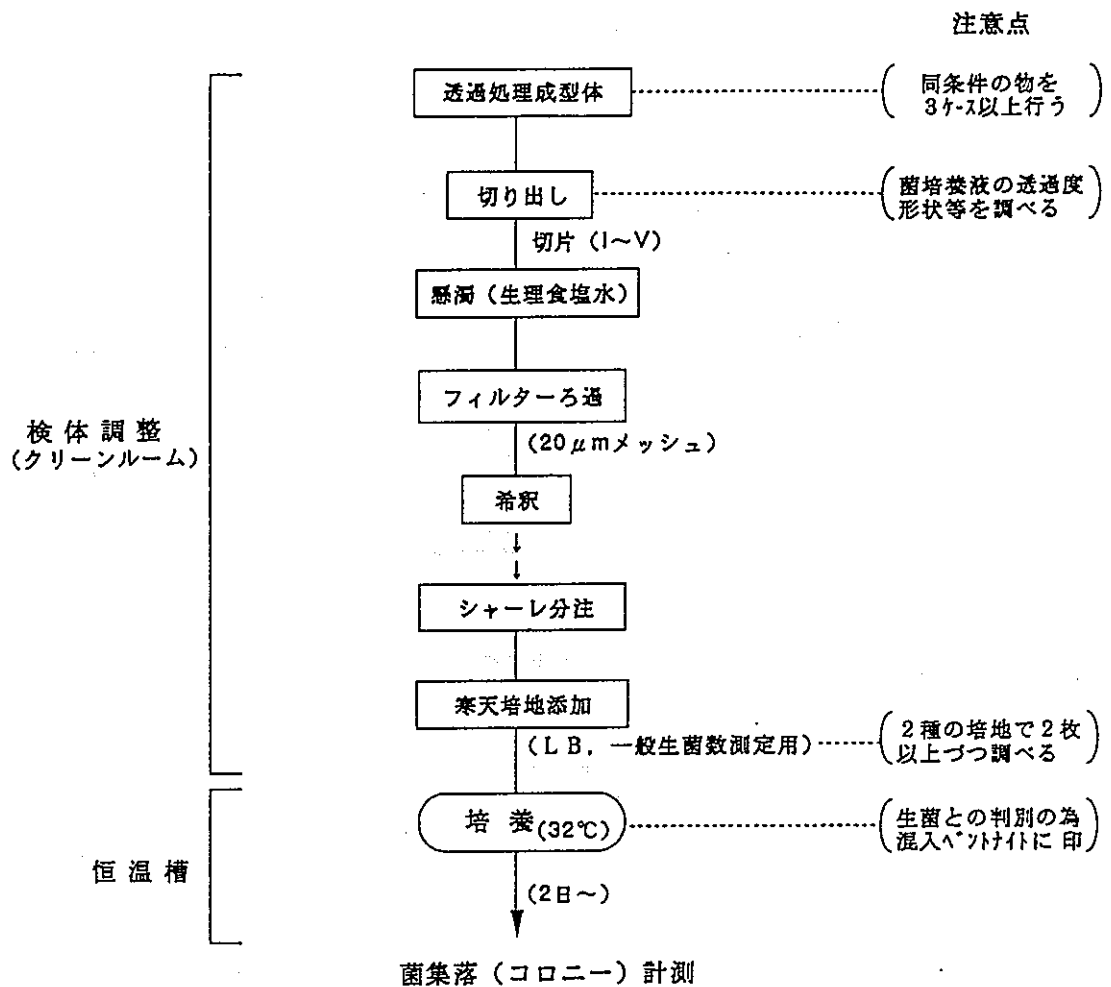


図 2.2-3 透過菌数測定操作工程

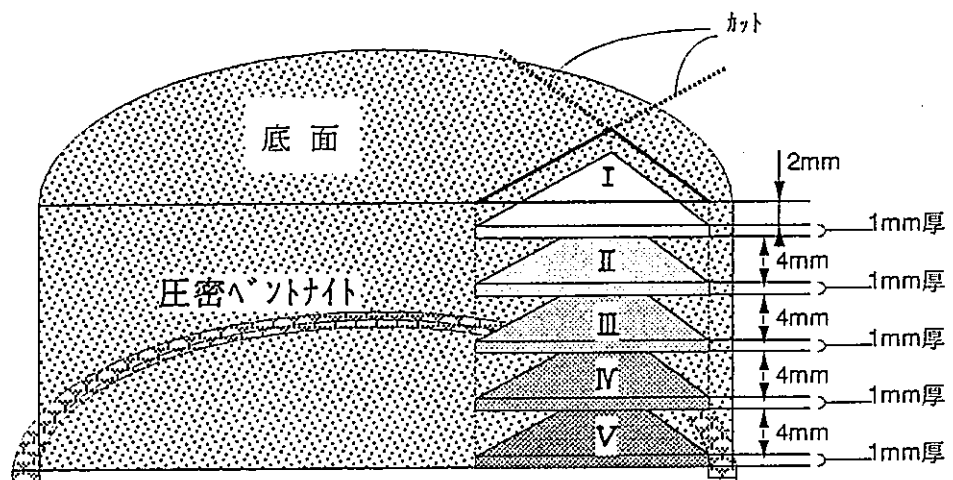
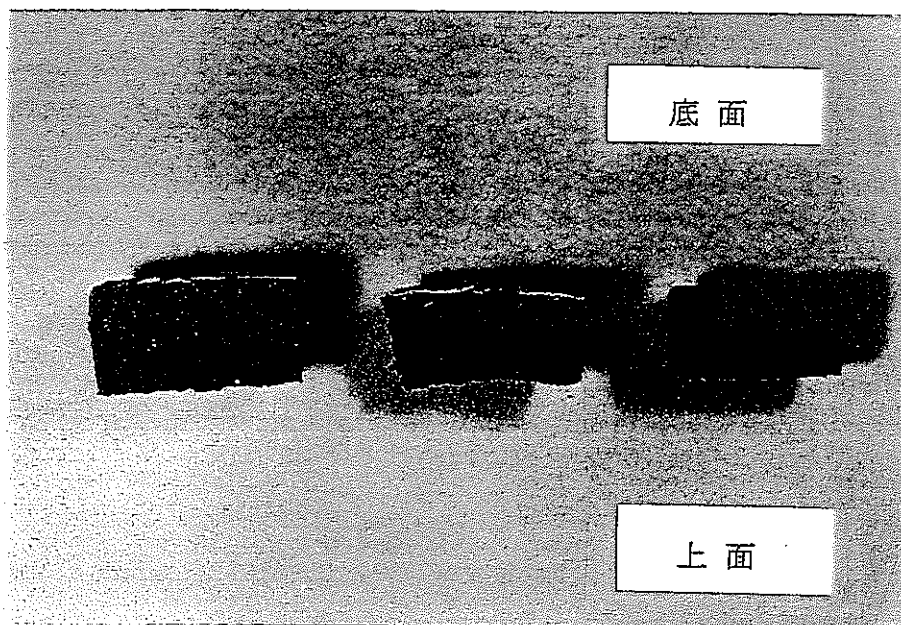


図 2.2-4 バントナイト検体の切り出し概要



写真 2.2-1 試験に用いた微生物(大腸菌)



左側： ケイ砂 50% (ベントナイト 50%) 圧密  $1.8\text{g}/\text{cm}^3$   
 中央： ケイ砂 30% (ベントナイト 70%) 圧密  $1.2\text{g}/\text{cm}^3$   
 右側： ケイ砂 0% (ベントナイト 100%) 圧密  $1.2\text{g}/\text{cm}^3$

写真 2.2-2 各 ケイ砂混合率及び各圧密 試験条件における  
乾燥後の色調及び形状

表 2.2-1 各 wt%ベントナイト及び各圧密 試験条件における  
各層での菌の検出結果 (1995, 96年度まで)

圧密(g/cm <sup>3</sup> )	1.8				1.2			
	100	70	50	20	100	70	50	20
ベントナイト層								
底層部 I	○			●			○	●
II	○			●			○	●
III	○			●			○	●
IV	○			●			▲	●
V	—			●			—	●
上層部 VI	●			●			●	●

- : 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

表 2.2-2 透過試験用培地成分

1) EMB培地組成

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

pH6.8

2) 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

pH7.2

表 2.2-3 各 wt%ヘントナイト及び各圧密 試験条件における  
圧縮ヘントナイト成型体の製作条件

ケイ砂/ヘントナイト混合比	成型圧力	処理時間
100wt%ヘントナイト (乾燥密度1.2g/cm <sup>3</sup> )	12 kg/cm <sup>2</sup>	両面から1分ずつ
70wt%ヘントナイト (乾燥密度1.2g/cm <sup>3</sup> )	12 kg/cm <sup>2</sup>	両面から3分ずつ
50wt%ヘントナイト (乾燥密度1.8g/cm <sup>3</sup> )	100 kg/cm <sup>2</sup>	両面から1分ずつ

表 2.2-4 100wt%ヘントナイト(圧密1.2g/cm<sup>3</sup>)試験体の  
各層の切片(0.2g)における 菌数測定結果

試験No. 寒天培地	ヘントナイト検体中の検出菌数(CFU), × 10 <sup>2</sup>					
	1		2		3	
	a	b	a	b	a	b
ヘントナイト層						
底層部						
I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	0	0
最上層部						
V	300	230	115	113	706	136

培地a: 一般生菌数用寒天培地

b: LB 寒天培地

表 2.2-5 70wt%ベントナイト(圧密1.2g/cm<sup>3</sup>)試験体の各層の切片(0.2g)における菌数測定結果

試験No. 寒天培地	ベントナイト検体中の検出菌数(CFU), × 10 <sup>2</sup>					
	1		2		3	
	a	b	a	b	a	b
ベントナイト層						
低層部 I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	0	0
最上層部 V	200	105	95	20	509	636

培地a: 一般生菌数用寒天培地

b: LB 寒天培地

表 2.2-6 50wt%ベントナイト(圧密1.8g/cm<sup>3</sup>)試験体の各層の切片(0.2g)における菌数測定結果

試験No. 寒天培地	ベントナイト検体中の検出菌数(CFU), × 10 <sup>2</sup>					
	1		2		3	
	a	b	a	b	a	b
ベントナイト層						
低層部 I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0
IV	1	1	0	0	0	0
最上層部 V	2597	2565	26	59	426	251

培地a: 一般生菌数用寒天培地

b: LB 寒天培地



表 2.2-7 各 wt.%ベントナイト及び各圧密 試験条件における  
各層での菌の検出結果

圧密(g/cm <sup>3</sup> )	1.8				1.2			
ベントナイト(wt.%)	100	70	50	20	100	70	50	20
ベントナイト層								
底層部 I	○		○	●	○	○	○	●
II	○		○	●	○	○	○	●
III	○		○	●	○	○	○	●
IV	○		▲	●	○	○	▲	●
V	—		—	●	—	—	—	●
上層部 VI	●		●	●	●	●	●	●

- : 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

### 3. 硫酸塩還元菌の作用によるPu, Npの酸化還元状態の検討

#### 3.1 研究目的と範囲

本年度の研究では、地下深層環境が極端に嫌気性の強い場所 (Eh=-500mV) と想定し、この環境条件で繁殖する硫酸塩還元菌の純粋菌 (Desulfovibrio desulfuricans atcc7757) とプルトニウムならびにネプチウムとの相互作用を実験的に研究調査した。

#### 3.2 純粋硫酸塩還元菌の実験室での大量培養増殖方法と増殖菌の利用

極端に嫌気性の強い環境 (Eh=-500mV) で繁殖する純粋硫酸塩還元菌 (Desulfovibrio desulfuricans ATCC7757) は米国のNIST (標準・技術局) から購入し、培養液を使って8ヶ月かかって必要とする量を確保した。

表 3-2-1 純粋硫酸塩還元菌培養液の成分

	成分	
溶液 A	純水	985ml
	NH <sub>4</sub> Cl	1.0g
	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0g
	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.1mg
	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	4mg
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2g
	Na lactate 50% solution	4.9g
溶液 B	純水	100ml
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5.0g
	NaOH	少々
溶液 C	純水	10ml
	Na thioglycolate	0.45g

溶液の混合方法：614mlの溶液Aを6.2mlの溶液Bと最初に混合する。水素ガスでこの混合溶液の酸化還元電位 (Eh) を低下させた後、溶液Cを4.0ml加える。

#### 3.3 純粋硫酸塩還元菌とPu, Npの相互作用実験調査に用いたPu, Npのと分析法

##### 3.3.1 プルトニウムならびにネプチウムと純粋硫酸塩還元菌との相互作用評価実験方法

純粋硫酸塩還元菌の乾燥重量0.1%の溶液 (培養溶液) 3 mlに希釈した酸又はアルカリを添加して求めるpHとその容量を調整する。容器ごとオートクレーブの滅菌を行なった。この溶液にプルトニウム-239又はネプチウム-237を既知量添加し、振とうする。反応後、メンブレンフィルターで濾過する。濾紙と濾紙に付着した純粋硫酸塩還元菌を取り出し、

これをエーレンマイヤーフラスコに入れる。エーレンマイヤーフラスコに、プルトニウム分析の場合は内部標準（トレーサー）溶液として、プルトニウム-236 を既知量スパイクする。二重トレーサーを入れたプルトニウムの分析は、下記の方法で化学分離し、 $\alpha$ エネルギースペクトルメーターで、一方、ネプチウムの分析は、低 $\gamma$ 線エネルギースペクトルメーターで計測する。

### 3.4 純粋硫酸塩還元菌とプルトニウムとネプチウムの相互作用実験結果

#### 3.4.1 プルトニウムの挙動（相互作用）

純粋硫酸塩還元菌が棲息する強い還元性環境（ $E_h = -500\text{mV}$ ）と弱い還元性環境（ $E_h = -85\text{mV}$ ）とでは、プルトニウムの挙動は全く異なる（図 3-4-1 及び図 3-5-3）。強い還元性環境では、プルトニウムと純粋硫酸塩還元菌との相互作用を示す分配係数（ $K_d$ ）は、pH に大きく依存する。また、強い還元性環境では、分配係数（ $K_d$ ）に滅菌と生菌との間で違いがほとんどないことが分かった（図 3-4-1）。

#### 3.4.2 ネプチウムの挙動（相互作用）

ネプチウムと純粋硫酸塩還元菌との強い還元性環境（ $E_h = -500\text{mV}$ ）での相互反応では、その生物学的影響が、分配係数（ $K_d$ ）に強く現れている（図 3-4-2）。生きた純粋硫酸塩還元菌に対するネプチウムの分配係数（ $K_d$ ）は、酸性から中性領域までの間は、大体一定で 4000~6000 の値を示した。これに対して、中性からアルカリ性領域では、ネプチウムの分配係数（ $K_d$ ）は、大きく揺れ、pH10.5 では 1000 前後（繰り返し試験結果）、そして pH13 では、10000 へと上昇する（図 3-4-2）。一方、滅菌された純粋硫酸塩還元菌とネプチウムの強い還元性環境（ $E_h = -500\text{mV}$ ）での相互反応では、その分配係数（ $K_d$ ）は、生きた純粋硫酸塩還元菌の約 10% でしかないことが判明した（図 3-4-2）。

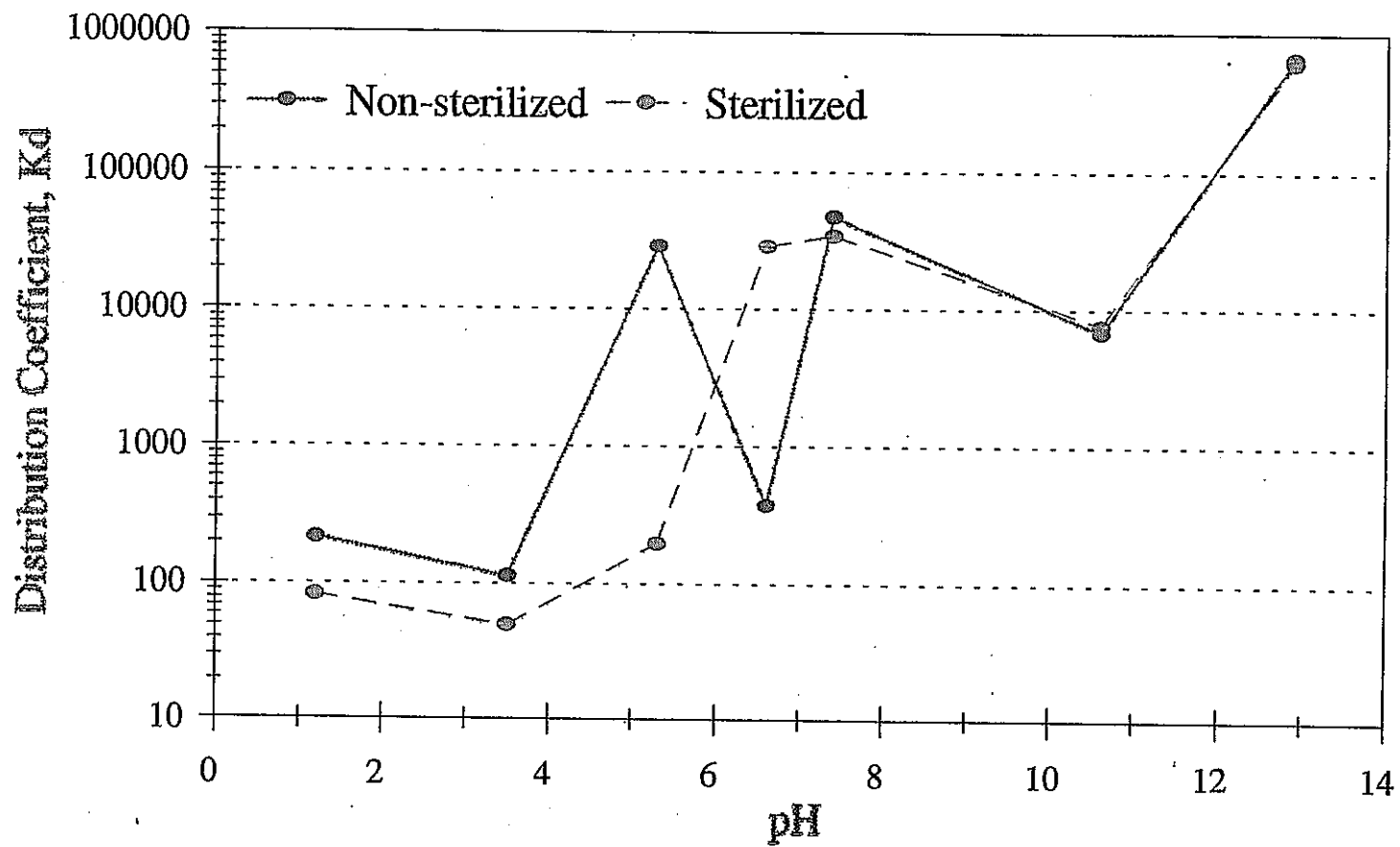


図 3-4-1 純粋硫酸塩還元菌とプルトニウムとの相互作用実験結果

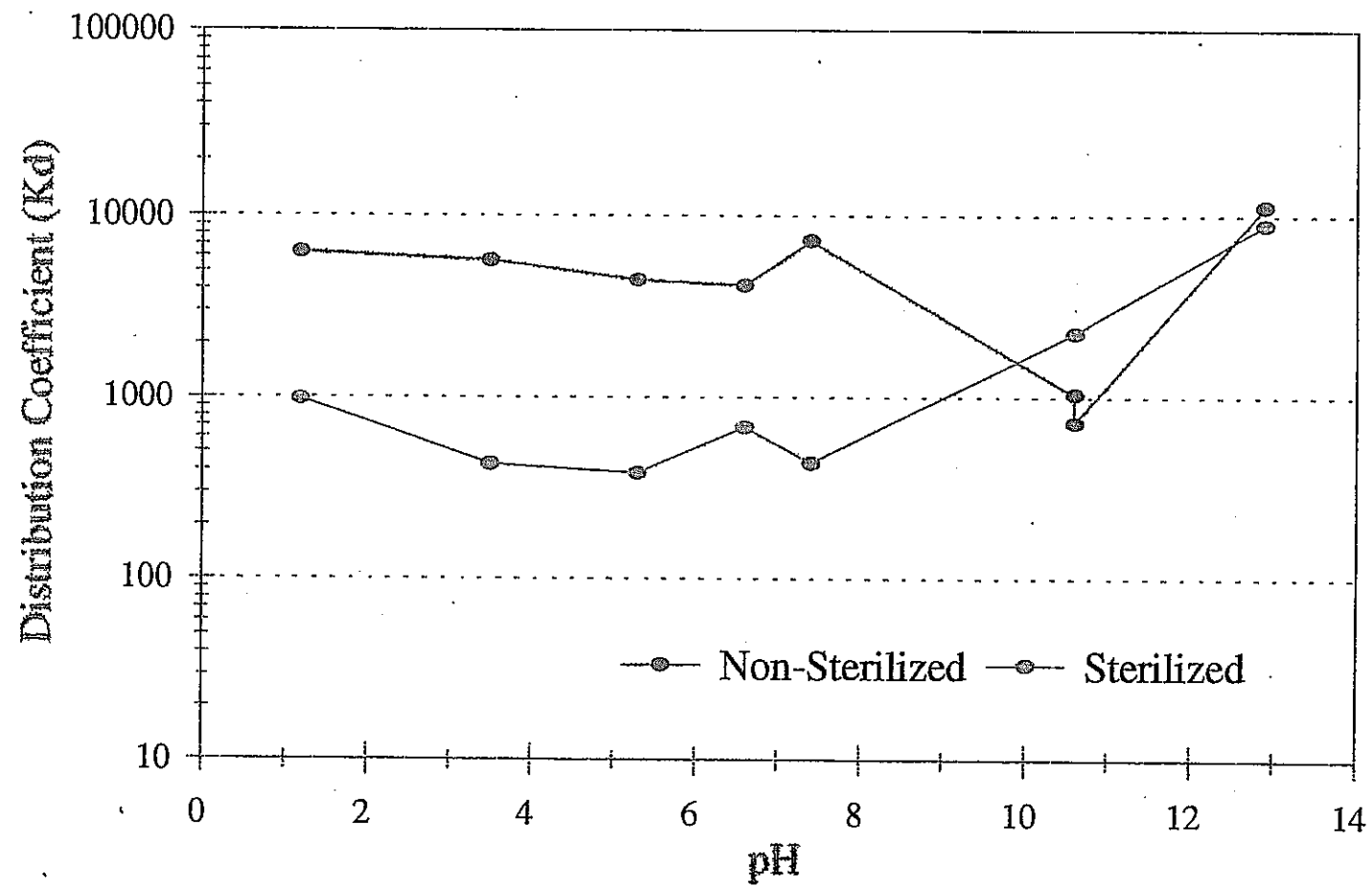


図 3-4-2 純粋硫酸塩還元菌とのネプチニウムの相互作用実験結果

### 3.5 純粋硫酸塩還元菌と Pu, Np の相互作用実験結果（平成 9 年度）と平成 7,8 年度に行なわれた嫌気性菌（硫酸塩還元菌を含む）との相互作用実験結果の比較と考察

#### 3.5.1 プルトニウムのデータの比較

プルトニウムの二つの環境下での相互作用について、分配係数 (Kd) をその指標として、図 3-5-3 に実験結果が示されている。この図から、まず第一に言えることは、弱い還元性環境 (Eh=-85mV) でのプルトニウムと微生物との相互作用は、微生物の活性（生きてるかそれとも滅菌されているか）によって、大きく変化することである。これに反して、強い還元性環境 (Eh=-500mV) では、微生物の活性（生死）の影響は、全く表れていない。プルトニウムの分配係数 (Kd) が、強い還元性環境 (Eh=-500mV) で酸性側からアルカリ側へ一貫して上昇している理由は、プルトニウムの酸化・還元-pH ダイアグラム (図 3-5-1) で説明できる。即ち、プルトニウムが、 $\text{Pu}^{4+}$  から  $\text{Pu}(\text{OH})^{3+}$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_2^{2+}$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_3^+$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_4$  と pH が酸性からアルカリへの変化に伴い化学形態が水酸化物へと変化し、微生物（滅菌されたものにも）に収着されやすくなっているとしている。これは、水酸化物が、微生物の凹凸のある表面で水酸化物の溶解度が低下し収着すると考えられている<sup>19)</sup>。さらに  $\text{Pu}^{4+}$  が存在していることの証明の一つとして、プルトニウムの分配係数 (Kd) が pH3.5 の 100 以下から、pH1.0 の 100 以上へと僅かに酸性側へ行くに従い上昇すると言う逆の傾向を示していることが、挙げられる。この事実は、プルトニウムとベントナイトとの相互作用で、顕著に現れてくる（後述）。

#### 3.5.2 ネプチウムのデータの比較

ネプチウムは、珍しい元素で水系環境中では、4 価 ( $\text{Np}^{4+}$ )、5 価 ( $\text{NpO}_2^+$ )、6 価 ( $\text{NpO}_2^{2+}$ ) の陽イオンの形態で共存混在する<sup>40)</sup>。ただ、与えられた環境条件では、それらのイオンの混在比率は当然のこととして一定になる。この中で 5 価の  $\text{NpO}_2^+$  が、電荷が一つと小さいため、最も安定した状態で存在することになる。もっとも前述したように、水系環境中では、ただこのネプチウムの化学形態一種だけが、存在するのではなく、他の化学形態も当然のこととして存在する。

図 3-5-4 では、弱い還元性環境 (Eh=-85mV) と強い還元性環境 (Eh=-500mV) でのネプチウムと微生物との相互作用が示されている。ここでは、①微生物の影響と②ネプチウムの物理・化学的要素、さらに③実験系に混在する物質の要素、と三つの理由が複雑に重

なり、実験データの考察を複雑にしているものと考えられる。

まず、弱い還元性環境 ( $E_h=-85\text{mV}$ ) と強い還元性環境 ( $E_h=-500\text{mV}$ ) でのネプチウムと微生物との相互作用では、その分配係数 ( $K_d$ ) が、強い還元性環境では、弱い還元性環境に較べて、酸性から中性領域で大きく (10 倍以上) 異なる。しかし、pH が 10 以上になると、その分配係数 ( $K_d$ ) は、同じ値 (1000~10000 以下) となる。この面白い現象は、上記②と③の理由によるものと考えられるが、その詳細は、現時点では、解明されていない。①の微生物の影響は、顕著に現れている。酸性側から中性側までは、ネプチウムの分配係数 ( $K_d$ ) は、生きた微生物の方が、滅菌した微生物と反応したそれより常に大きい。これは生きた微生物が滅菌した微生物より、生化学的理由で、ネプチウムの収着量が大きいことを示している。しかも、その大きさの差は、強い還元性環境 ( $E_h=-500\text{mV}$ ) の方では、滅菌した微生物より 10 倍以上大きい。これに対して、弱い還元性環境 ( $E_h=-85\text{mV}$ ) での分配係数 ( $K_d$ ) の大きさの差は、2~8 倍程度に過ぎない。

ネプチウムと微生物との相互作用でさらに驚くべきことは、ネプチウムの分配係数 ( $K_d$ ) は、アルカリ領域の pH が 10 以上の所で、滅菌した微生物の方が、生きている微生物のそれより逆に大きくなることである (図 4-5-4)。言い換えると、ネプチウムでは、①の微生物の影響が大きい酸性-中性領域と②③の影響が大きいアルカリ性領域の二つが存在することになる。

### 3.5.3 弱い還元性環境 ( $E_h=-85\text{mV}$ ) でのプルトニウムとネプチニウムのデータの比較

図 3-5-5 に、弱い還元性環境 ( $E_h=-85\text{mV}$ ) 下で、プルトニウムまたはネプチニウムが、硫酸塩還元菌と相互作用した実験結果の比較を示す。この図で、プルトニウムとネプチニウムの違いは、両者とも微生物の影響はあるが、プルトニウムでは、強酸または強アルカリでは、その影響は現れていない。これは、このような極端な環境下では、中性領域で培養された微生物は死滅し、その影響が現れなかったと考えられる。もし、これらの微生物が、酸性環境または、アルカリ環境で培養されていれば、当然のこととして、これら極端な環境下でも、微生物の影響は、現れるものと考えられる。プルトニウムとネプチニウムの分配係数は、プルトニウムの数千から 10 万に対して、ネプチニウムのそれは、10 分の 1 以下 (100 から数千) である。この違いは、プルトニウムとネプチニウムの化学形態の違い及びこれらの核種の添加濃度に起因するものと考えられる。

#### 3.5.4 強い還元性環境 (Eh=-500mV) でのプルトニウムとネプチニウムのデータの比較

図 3-5-6 では、強い還元性環境 (Eh=-500mV) 下で、プルトニウムまたはネプチニウムが、硫酸塩還元菌と相互作用した実験結果の比較がなされている。この図で、前述したように、プルトニウムとネプチニウムの違いは、いくつかの面で顕著に表れている。

プルトニウムには微生物の影響はないが、ネプチニウムには、弱い還元性環境 (Eh=-85mV) 下と同じような、微生物の影響がある。ネプチニウムの分配係数は、弱い還元性環境 (Eh=-85mV) 下のそれより、10 倍以上大きい。これらの面白い現象の理由ならびに原因については、今後の解明が待たれる。



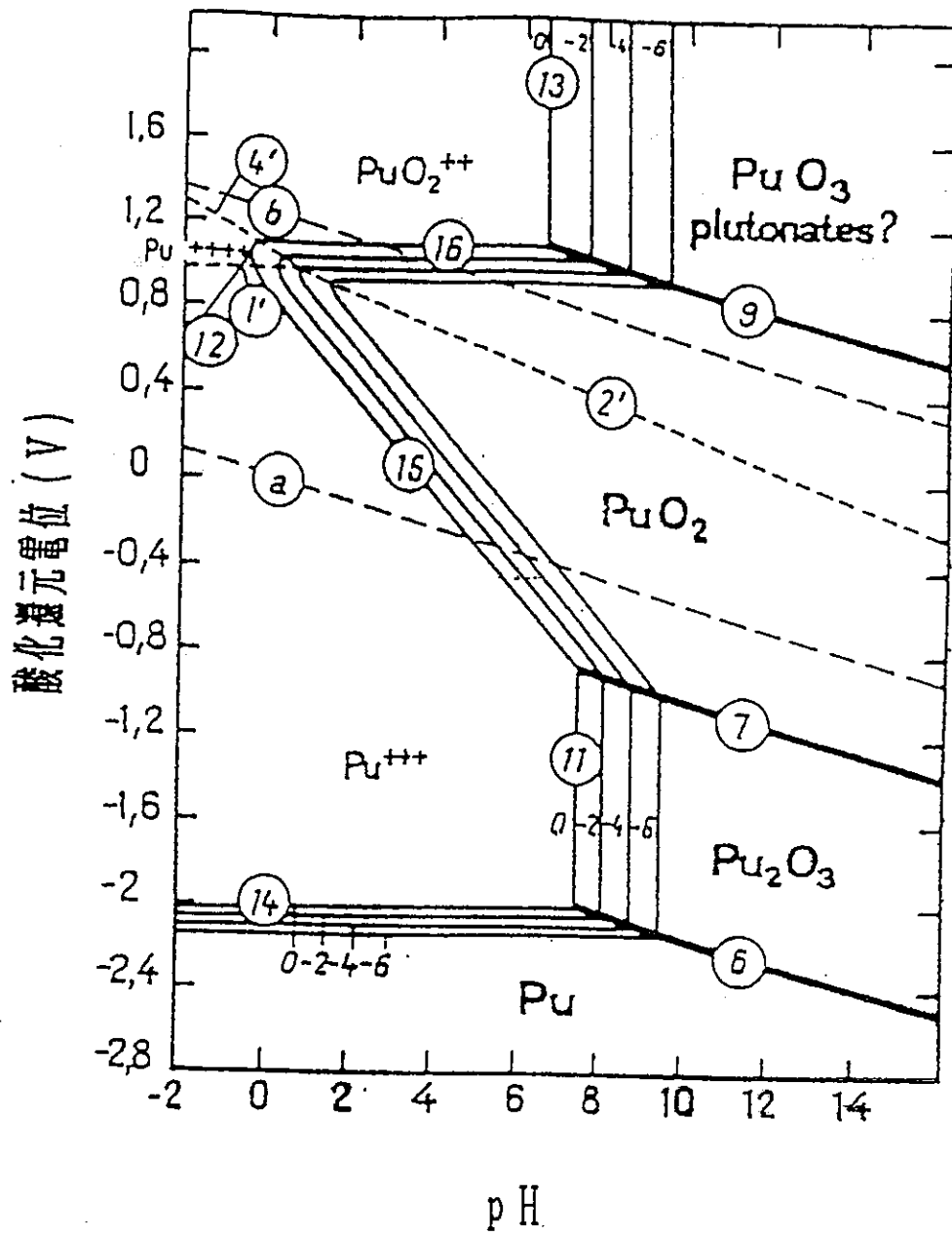


図 3-5-1 プルトニウムの pH-酸化・還元電位ダイアグラム

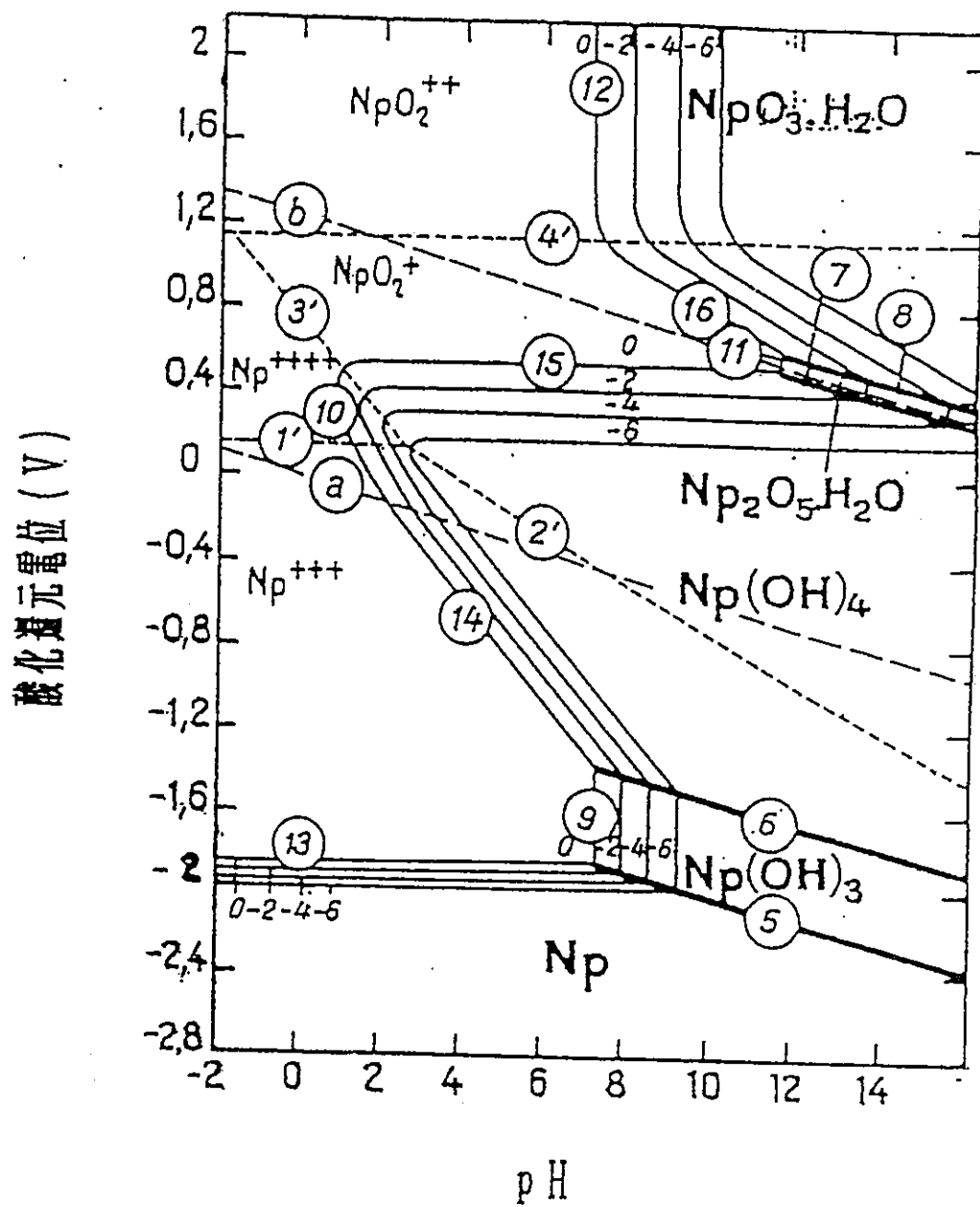


図 3-5-2 ネプチウムの pH-酸化・還元電位ダイアグラム

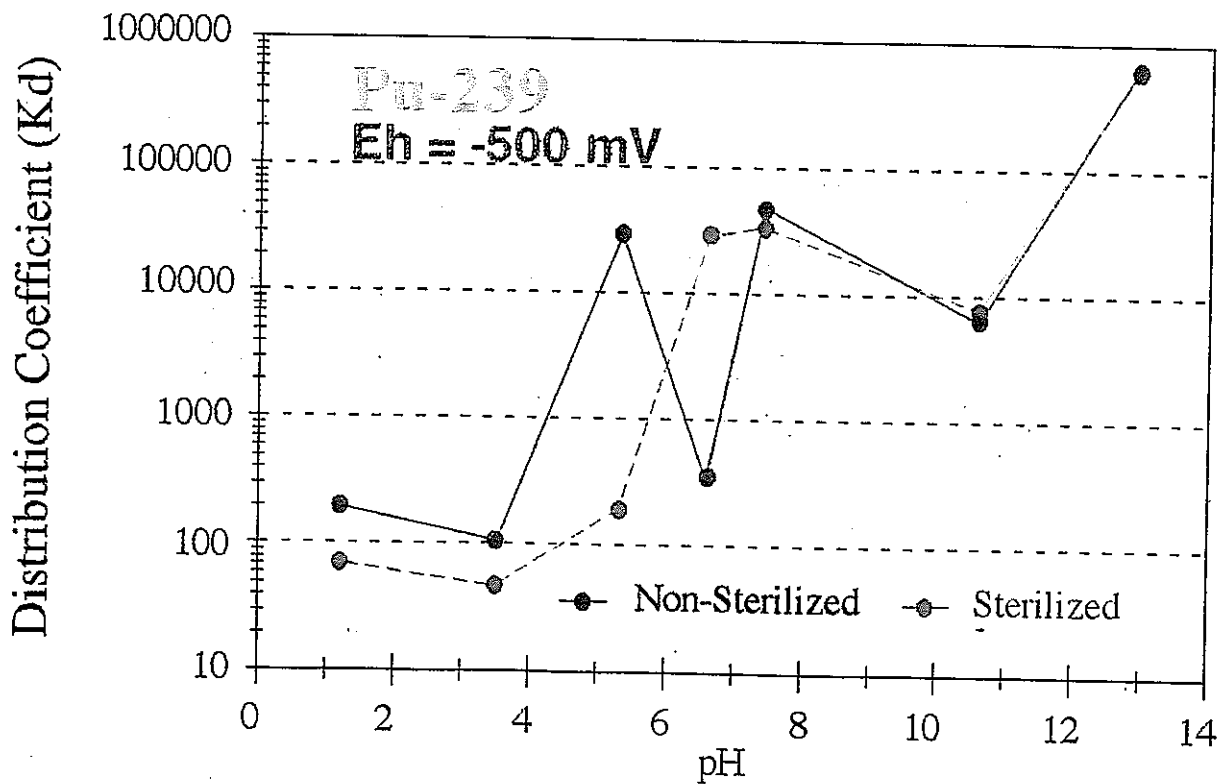
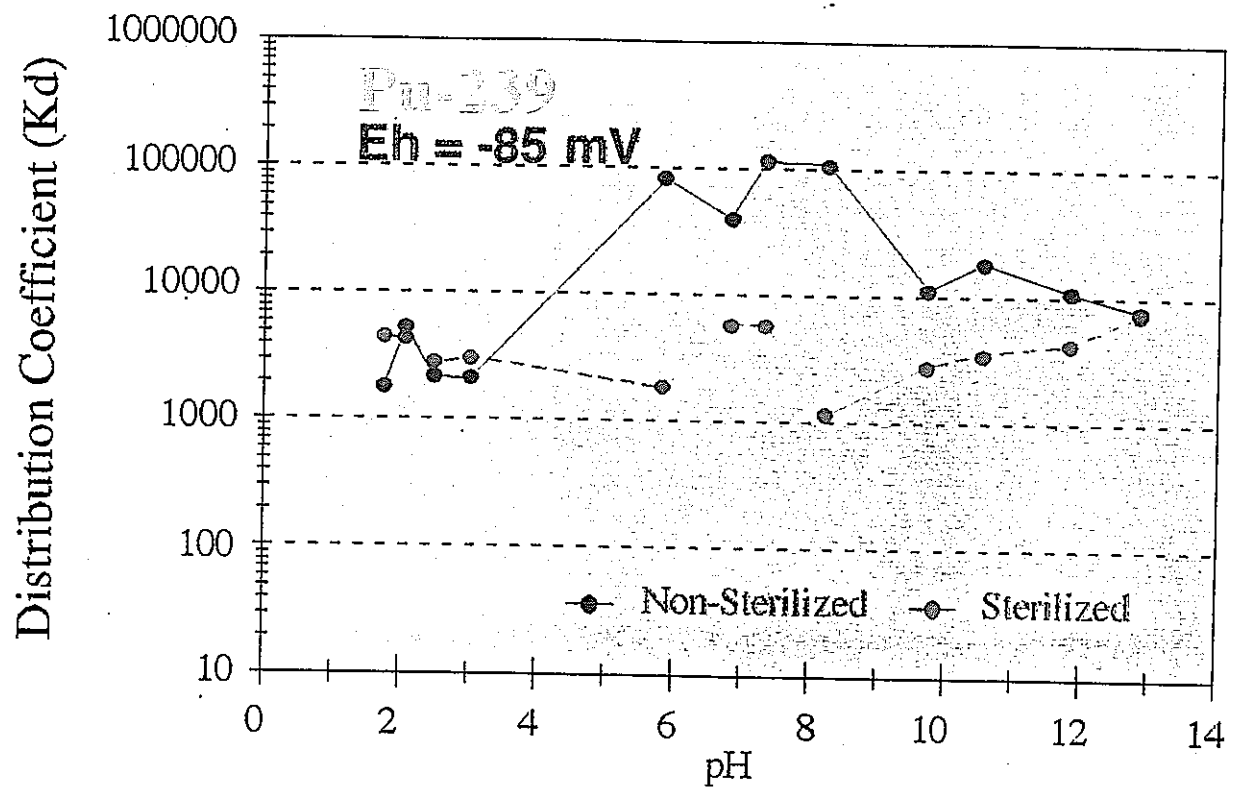


図 3-5-3 弱い還元性環境 (Eh=-85mV) と強い還元性環境 (Eh=-500mV) でのプルトニウムと微生物との相互作用

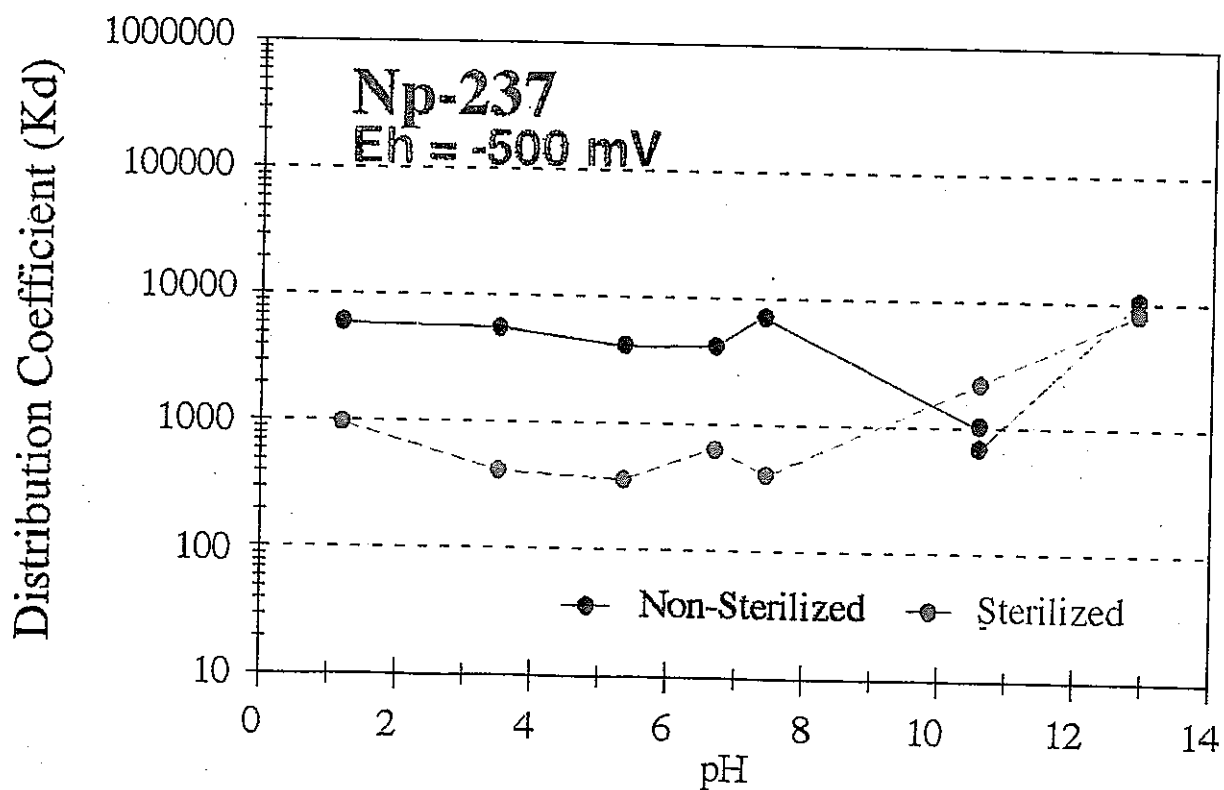
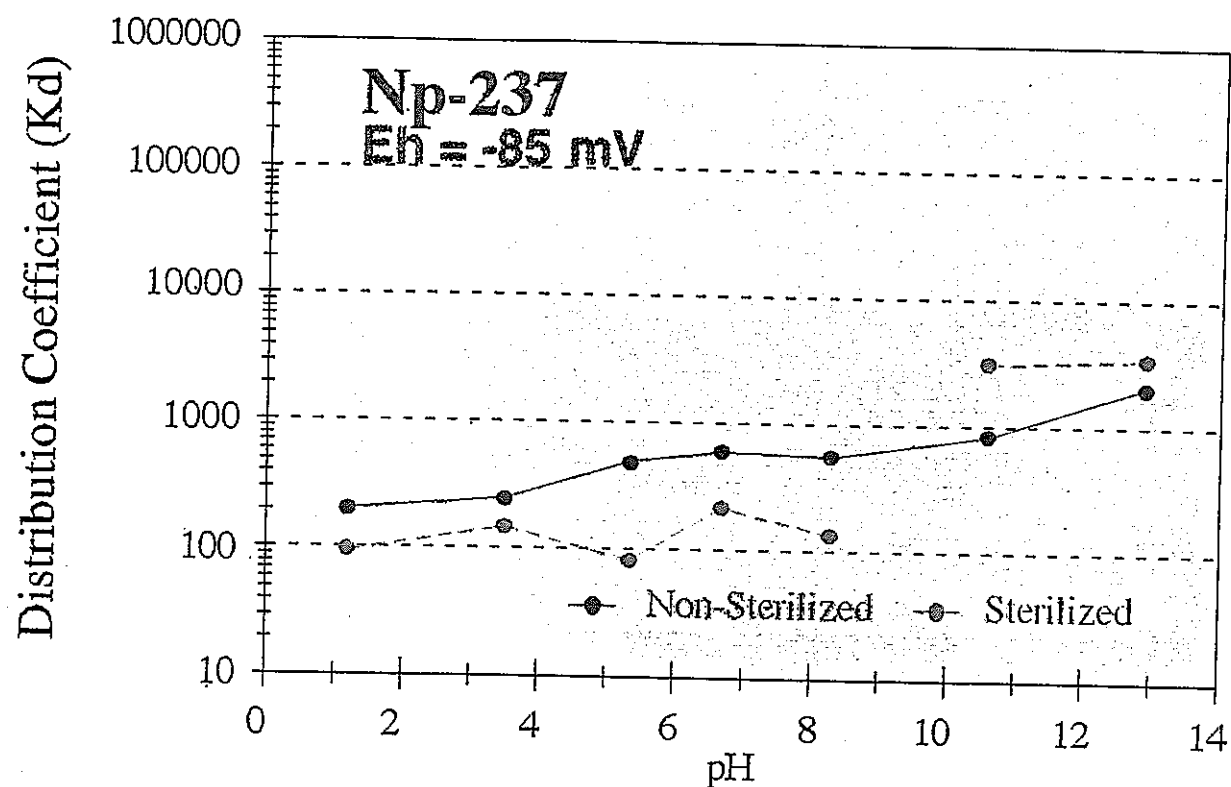


図 3-5-4 弱い還元性環境 (Eh=-85mV) と強い還元性環境 (Eh=-500mV) でのネプチニウムと微生物との相互作用

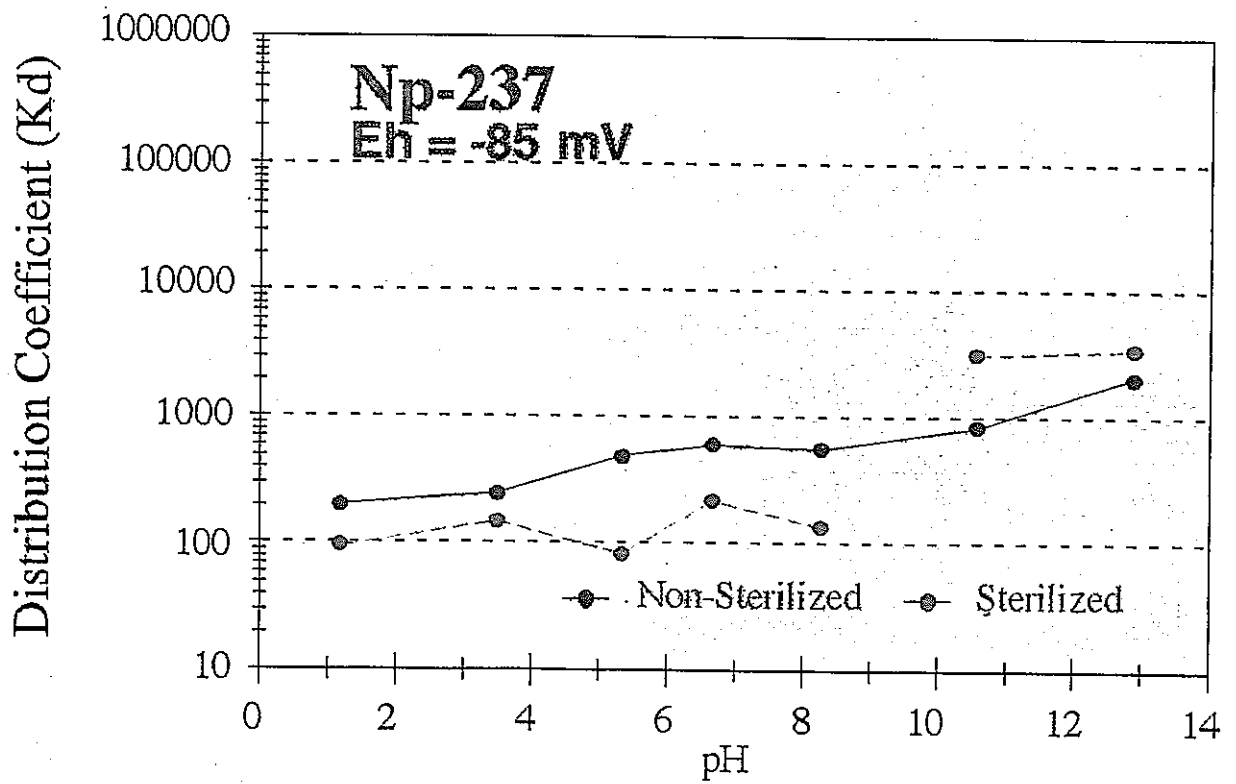
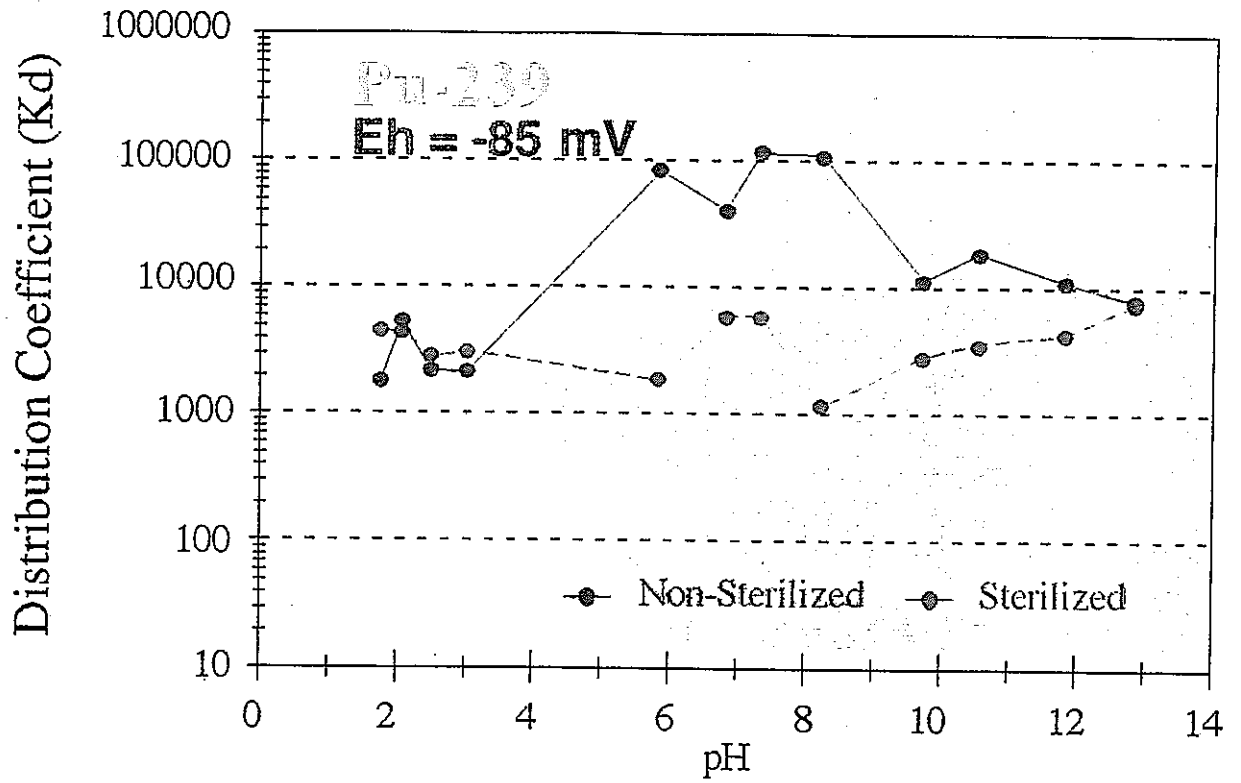


図 3-5-5 弱い還元性環境 (Eh=-85mV) でのプルトニウムとネプチニウムのデータの比較

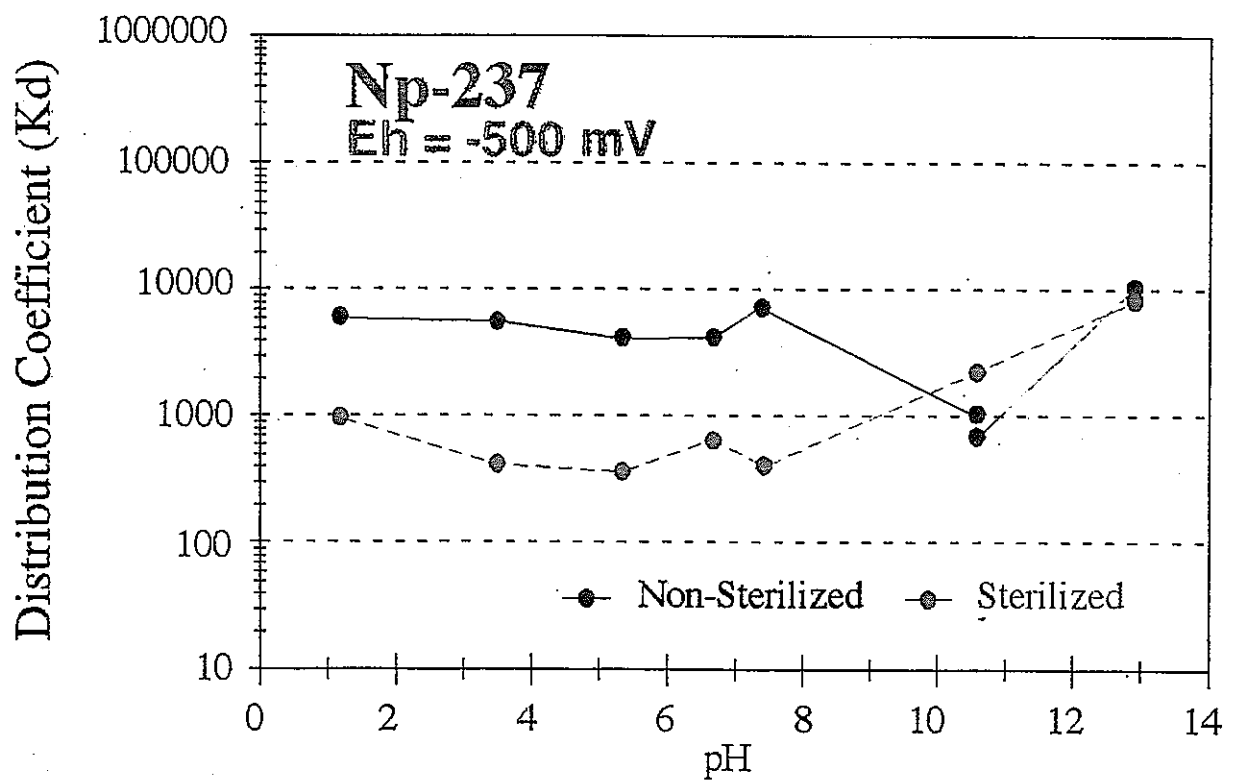
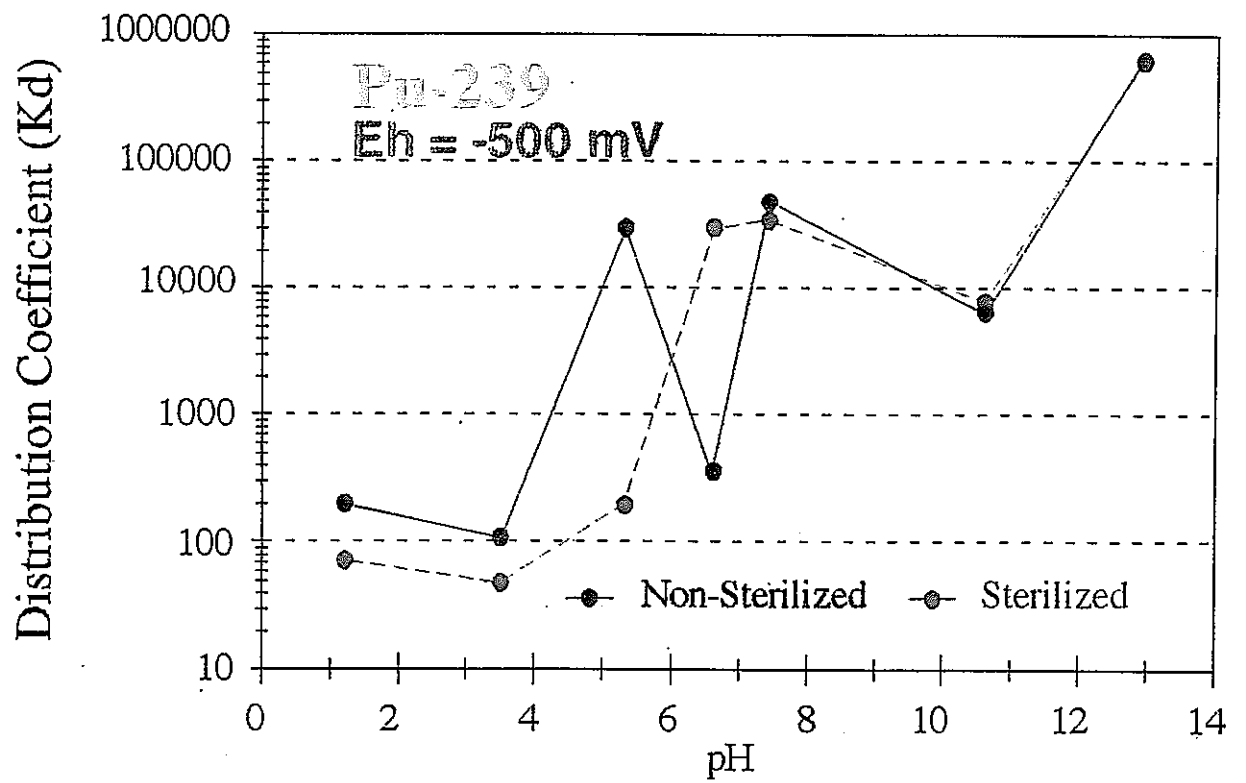


図 3-5-6 強い還元性環境 (Eh=-500mV) でのプルトニウムとネプチニウムのデータの比較

#### 4. ベントナイトへの Pu,Np の吸着に及ぼす硫酸塩還元菌等の影響試験調査。

##### 4.1 研究の目的及び範囲

本研究では、深層地下の嫌気性環境を想定した環境条件を実験的に作り、その条件下でプルトニウムとネプチウムの挙動結果を調査することを目的とする。

##### 4.2 強い還元性環境下でのベントナイトとプルトニウムとの相互作用実験結果。

図-4-3-1 に実験の結果を示す。この図からまず判ることは、pH13 の強いアルカリ性での実験結果を除いて、非滅菌系と滅菌系でのプルトニウムとベントナイトの相互作用を示す分配係数には、殆ど差がないことである。そして、その分配係数は、強酸性側 (pH1.5) では数千の値を示すが、その値は、pH3 からアルカリ側に移行するに従い、徐々に上昇する。プルトニウムの分配係数 (Kd) が、強い還元性環境 (Eh=-500mV) で強い酸性側 (pH1.5) から pH3 の酸性の間で減少する理由は、プルトニウムの酸化・還元-pH ダイアグラム (図 3-5-1) で説明できる。即ち、プルトニウムが、 $\text{Pu}^{4+}$  から  $\text{Pu}(\text{OH})^{3+}$  と pH が強酸性から酸性へ変化するに伴い化学形態が水酸化物へと変化し、微生物 (滅菌されたものにも) に吸着されやすくなっているためである。一方、プルトニウムの分配係数が、pH3 からアルカリ側へ一貫して上昇している理由は、プルトニウムが水酸化物を徐々に付着して、 $\text{Pu}(\text{OH})_2^{2+}$ 、 $\text{Pu}(\text{OH})_3^+$ 、 $\text{Pu}(\text{OH})_4$  になっていくものと説明できる。 $\text{Pu}^{4+}$  が存在していることの証明の一つとしては、前述図 3-4-1 でも観察されていることが挙げられる。

##### 4.3 純粋硫酸塩還元菌が棲息するベントナイトとプルトニウム、ネプチウムと相互作用実験結果

強い還元性環境 (Eh=-500mV) 下で純粋硫酸塩還元菌とベントナイトが混在する状態に、プルトニウムまたはネプチウムが、どのように相互作用するかの実験を行なった。この条件下でのプルトニウムの実験結果は、図 4-4-1 に、ネプチウムの実験結果は、図 4-4-2 に示されている。ネプチウムの実験では、非滅菌のデータのみが、平成9年度には得られた。この実験で、滅菌系と非滅菌系との比較実験が行なわれた目的は、純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物が深層地下環境中にある時、微生物の影響がどの程度あるかを、定量的に解明するためである。

前述したように、強い嫌気性環境下 (Eh=-500mV) での純粋硫酸塩還元菌とベントナ

イトとの混在物とプルトニウムの相互作用について、滅菌系と非滅菌系での実験結果は、図 4-4-1 に示されている。ここでは弱い還元性環境 ( $E_h=-85\text{mV}$ ) で見られた現象とは逆に、非滅菌系と滅菌系でのプルトニウムの相互作用を示す分配係数には殆ど差がない（但し、 $\text{pH}=7.5$  の非滅菌系データを除いて）。言い換えると、強い還元性環境 ( $E_h=-500\text{mV}$ ) では、プルトニウムとの相互作用では、微生物の影響は、殆ど存在しないことを示している。一方、その分配係数については、強酸性側 ( $\text{pH}2$ ) では 100 以下の低い値を示すが、その値は、アルカリ側に移行するに従い、徐々に上昇し、 $\text{pH}14$  近くの強アルカリ性になると、100000 近くの大きな値に達する。これは、前述したように、プルトニウムが、自然水系環境では、殆どの場合、4 価の化学形態を取ることに由来する。しかもその 4 価のプルトニウムは、酸化・還元-pH ダイアグラムでは、 $\text{Pu}^{4+}$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})^{3+}$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_2^{2+}$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_3^+$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_4$ , それに  $\text{Pu}(\text{CO}_3)_2(\text{OH})^{x-}$  などと幾つもの化学形態を pH の変化に応じて取る。このプルトニウムの分配係数が、酸性からアルカリ側へ一貫して上昇している理由は、プルトニウムが、水酸化物を徐々に付着して  $\text{Pu}(\text{OH})_2^{2+}$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_3^+$ ,  $\text{Pu}(\text{OH})_4$  になっているものと説明できる。この現象は、前述図 3-4-1 でも観察されている結果と同じである。一方、ネプチニウムが強い嫌気性環境下 ( $E_h=-500\text{mV}$ ) で純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物と相互作用した結果は非滅菌系での実験結果のみが、図 4-4-2 に、示されている。非滅菌系でのネプチニウムと純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物との相互作用を示す分配係数には、酸性からアルカリ性まで殆ど一定で、1000~10000 の間にある。



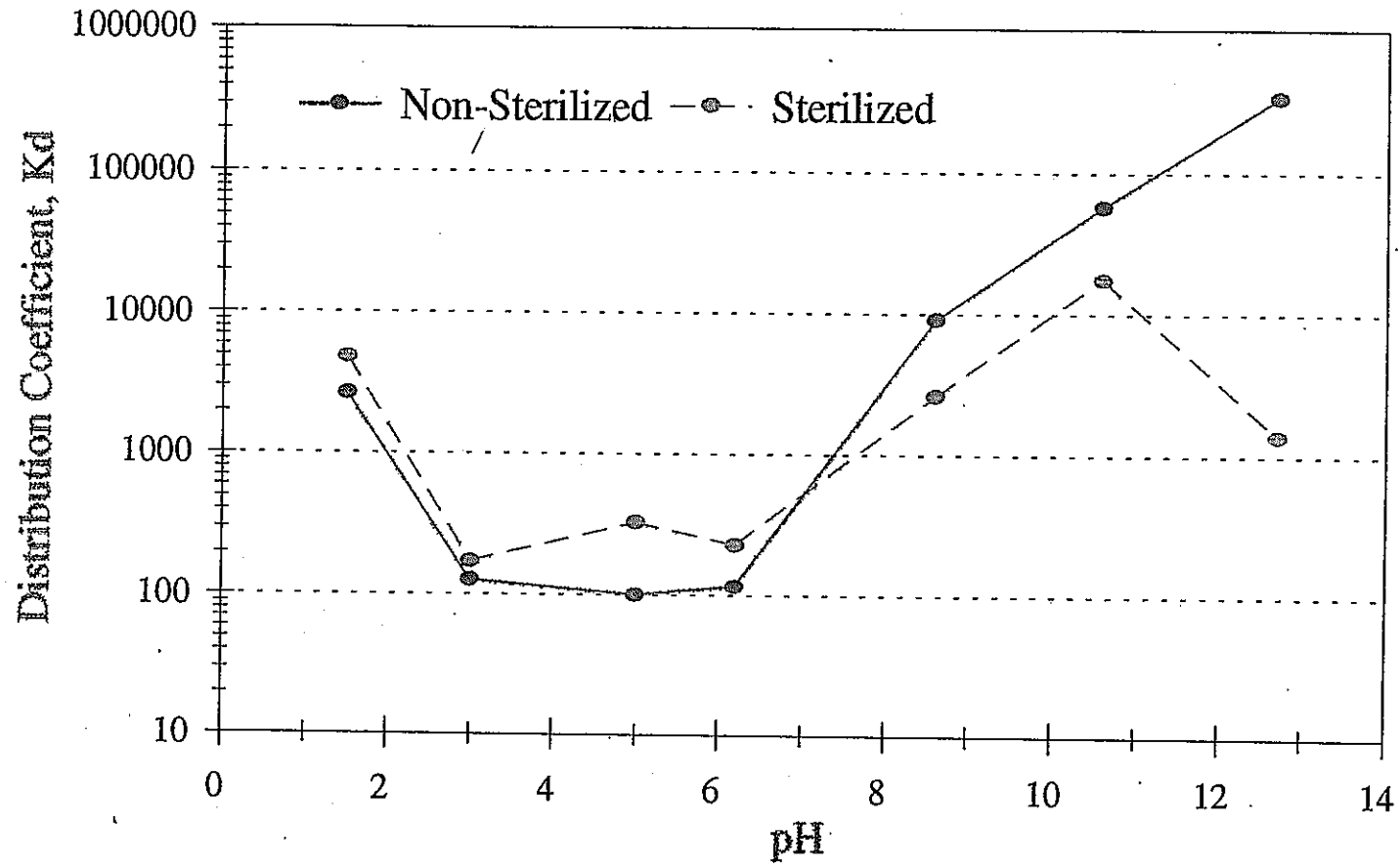


図 4-3-1 強い還元性環境 ( $E_h = -500\text{mV}$ ) でのプルトニウムとベントナイトとの相互作用 (非滅菌系、滅菌系)

4.4 強弱還元性環境 ( $E_h = -500\text{mV}$  と  $-85\text{mV}$ ) でベントナイトとプルトニウムまたはネプチニウムとの相互作用実験結果 (平成 9 年度) と平成 7,8 年度に行なわれた嫌気性菌 (硫酸塩還元菌を含む) との相互作用実験結果の比較と考察。

#### 4.4.1 プルトニウムのデータの比較

図 4-5-1 では、7,8 年度に行なわれた嫌気性菌 (硫酸塩還元菌を含む) との相互作用実験結果 {弱い還元性環境 ( $E_h = -85\text{mV}$ )} と平成 9 年度に行なわれた {強い還元性環境 ( $E_h = -500\text{mV}$  と  $-85\text{mV}$ )} ベントナイトとプルトニウムとの相互作用実験結果の二つの比較がなされている。この図 4-5-1 からまず第一に気付くことは、酸化・還元電位  $E_h$  の差 ( $-85\text{mV}$  と  $-500\text{mV}$ ) から得られる実験結果が、全く違うことである。二つの実験結果には、全く類似性がない。その理由としては、下記の二点がまず考えられる。

① プルトニウムの化学形態が、酸化・還元電位  $E_h = -85\text{mV}$  と  $-500\text{mV}$  では全く異なること。

② ベントナイト側の化学反応基が、酸化・還元電位  $E_h = -85\text{mV}$  と  $-500\text{mV}$  では全く異なること。

この二点の内、①では、プルトニウムの両環境での化学形態の変化が、プルトニウムとベントナイトとの分配係数に圧倒的に大きい影響を与えているのではないかと推測される。今後上記①②の現象について研究解明が急がれる。

#### 4.4.2 プルトニウムとネプチニウムのデータの比較

図 4-5-2 では、7,8 年度に行なわれた嫌気性菌 (硫酸塩還元菌を含む) との相互作用実験結果 {弱い還元性環境 ( $E_h = -85\text{mV}$ )} の内、プルトニウムまたはネプチニウムがベントナイトと相互作用する実験結果の比較がなされている。当然のこととして、プルトニウム (分配係数=約 10000) とネプチニウム (分配係数=100 から 500 の間) の違いが、はっきり表れている。さらに、両者の実験結果に共通している点は、非滅菌系と滅菌系には、差がないことである。言い換えると、プルトニウムまたはネプチニウムとベントナイトとの相互作用では、微生物の影響は無いと言える。

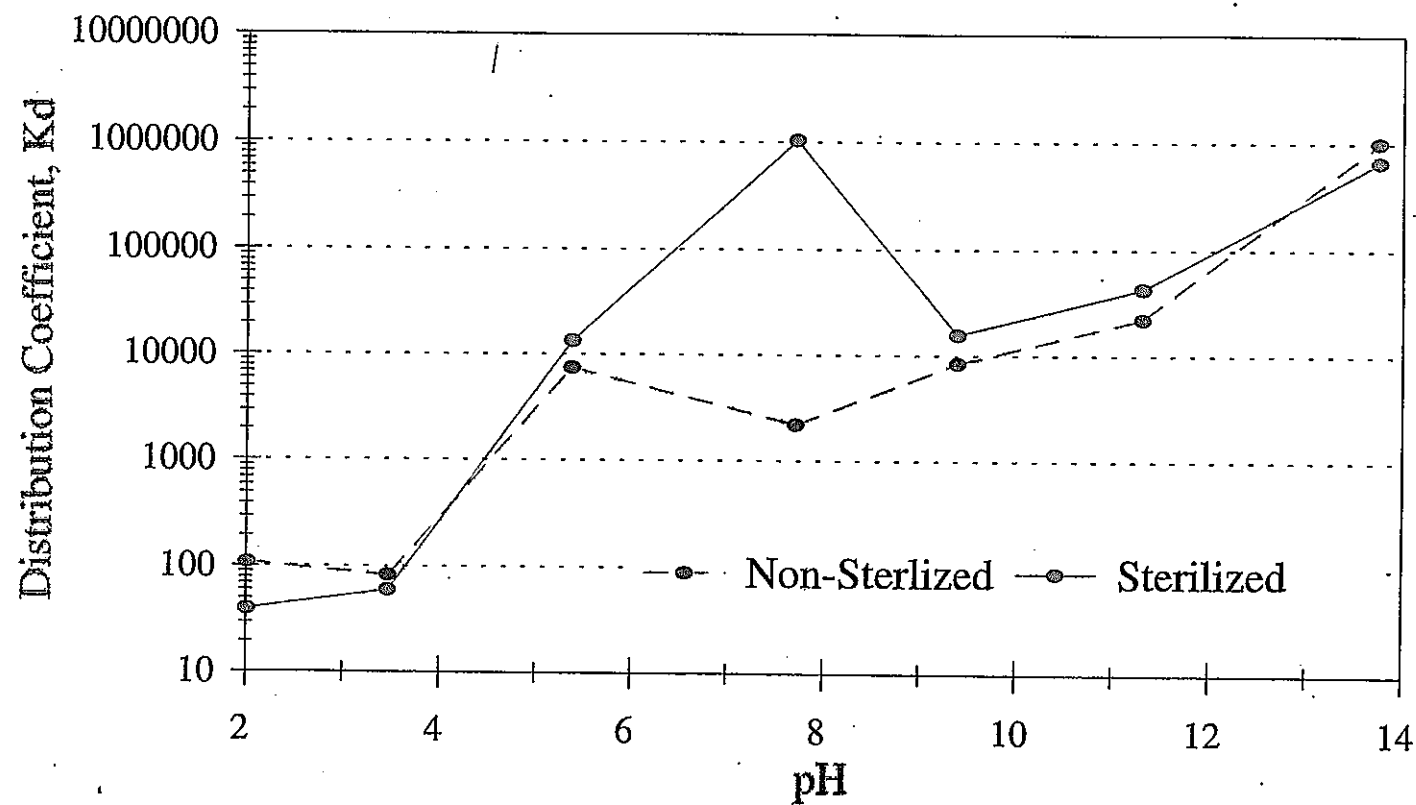


図 4-4-1 強い還元性環境 ( $E_h = -500\text{mV}$ ) でのプルトニウムと純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物との相互作用 (非滅菌系、滅菌系)

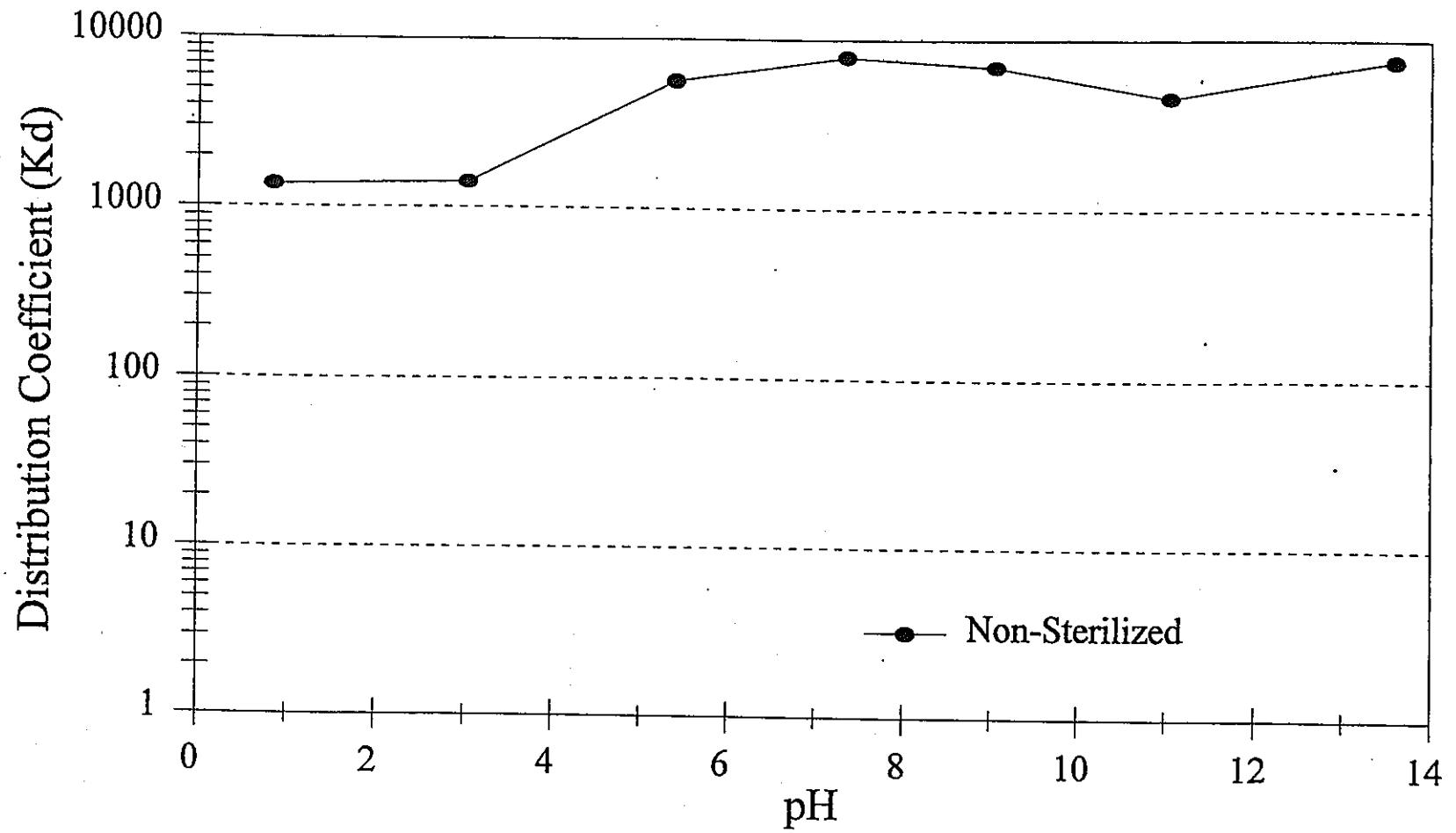


図4-4-2 強い還元性環境 ( $Eh = -500m$ ) でのネプチニウムと純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物との相互作用 (非滅菌系のみ)

4.5 強弱還元性環境 ( $E_h=-500\text{mV}$  と  $-85\text{mV}$ ) で純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物とプルトニウムまたはネプチニウムとの相互作用実験結果 (平成 9 年度) と平成 7,8 年度に行なわれた嫌気性菌 (硫酸塩還元菌を含む) との相互作用実験結果の比較と考察。

#### 4.5.1 プルトニウムの比較データ

図 4-5-3 に、プルトニウムが、弱い還元性環境 ( $E_h=-85\text{mV}$ 、平成 7,8 年度成果) と強い還元性環境 ( $E_h=-500\text{mV}$ 、平成 9 年度成果) で硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物との相互作用実験結果の比較を示す。この図 4-5-3 からまず第一に気付くことは、酸化・還元電位  $E_h$  の差 ( $-85\text{mV}$  と  $-500\text{mV}$ ) から得られる実験結果が、前述ベントナイトの場合と同様、全く違うことである。言い換えると、二つの実験結果には、全く類似性がない。その理由としては、ベントナイトの場合と同様に下記の二点がまず考えられる。

- ① プルトニウムの化学形態が、酸化・還元電位  $E_h=-85\text{mV}$  と  $-500\text{mV}$  では全く異なること
- ② ベントナイトと微生物 (硫酸塩還元菌) 側の化学反応基が、酸化・還元電位  $E_h=-85\text{mV}$  と  $-500\text{mV}$  では、全く異なること。

この二点の内、前述同様、①では、プルトニウムの両環境での化学形態の変化が、プルトニウムとベントナイトとの分配係数に、圧倒的に大きい影響を与えているのではないかと推測される。

#### 4.5.2 プルトニウムとネプチニウムのデータの比較

図 4-5-4 では、7,8 年度に行なわれた嫌気性菌 (硫酸塩還元菌を含む) との相互作用実験結果 {弱い還元性環境 ( $E_h=-85\text{mV}$ )} の内、プルトニウムまたはネプチニウムがベントナイトと微生物との混在物とで相互作用する実験結果の比較がなされている。当然のこととして、プルトニウム (分配係数=1000~10000) とネプチニウム (分配係数=100~5000 の間) の違いがはっきり表れている。さらに、両者の実験結果に共通している点は、非滅菌系と滅菌系には、その分配係数に大きな差があることである。言い換えると、プルトニウムまたはネプチニウムとベントナイトと微生物混在物との相互作用では、微生物の影響は大きいと言える。この面白い現象について、今後のこの面での研究解明が急がれる。

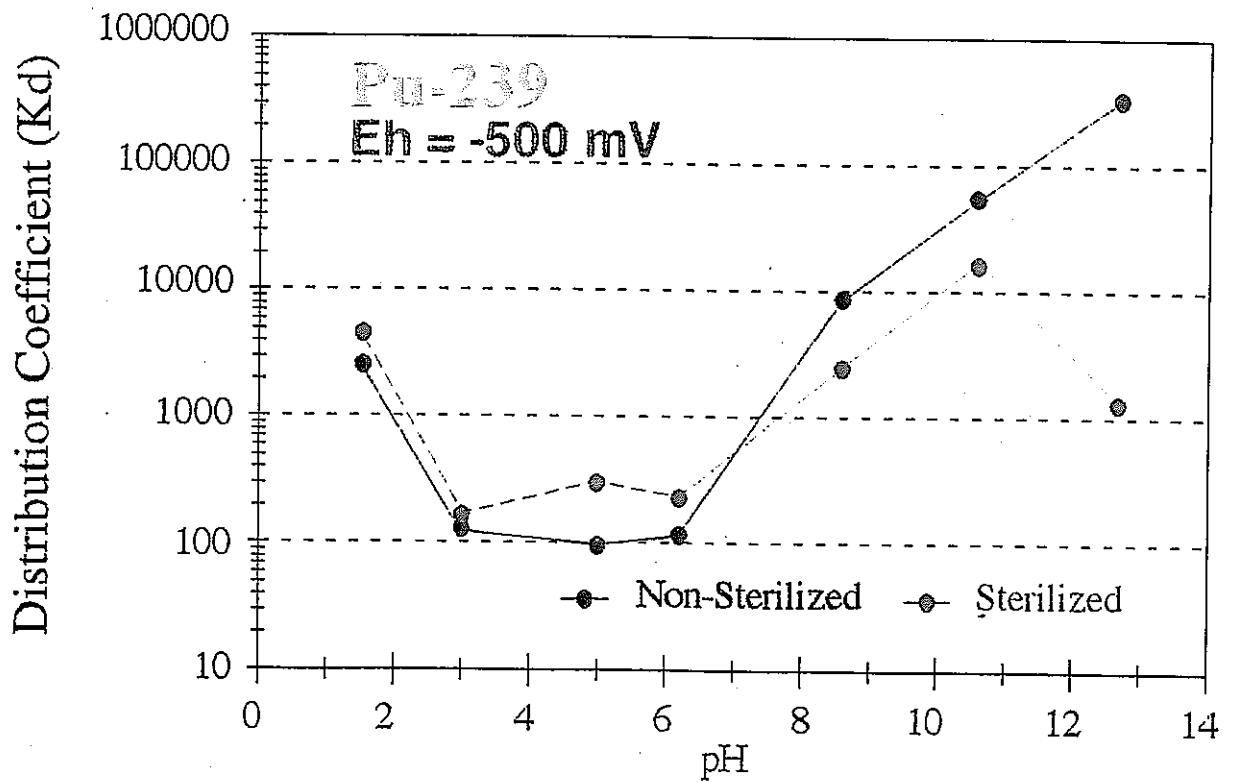
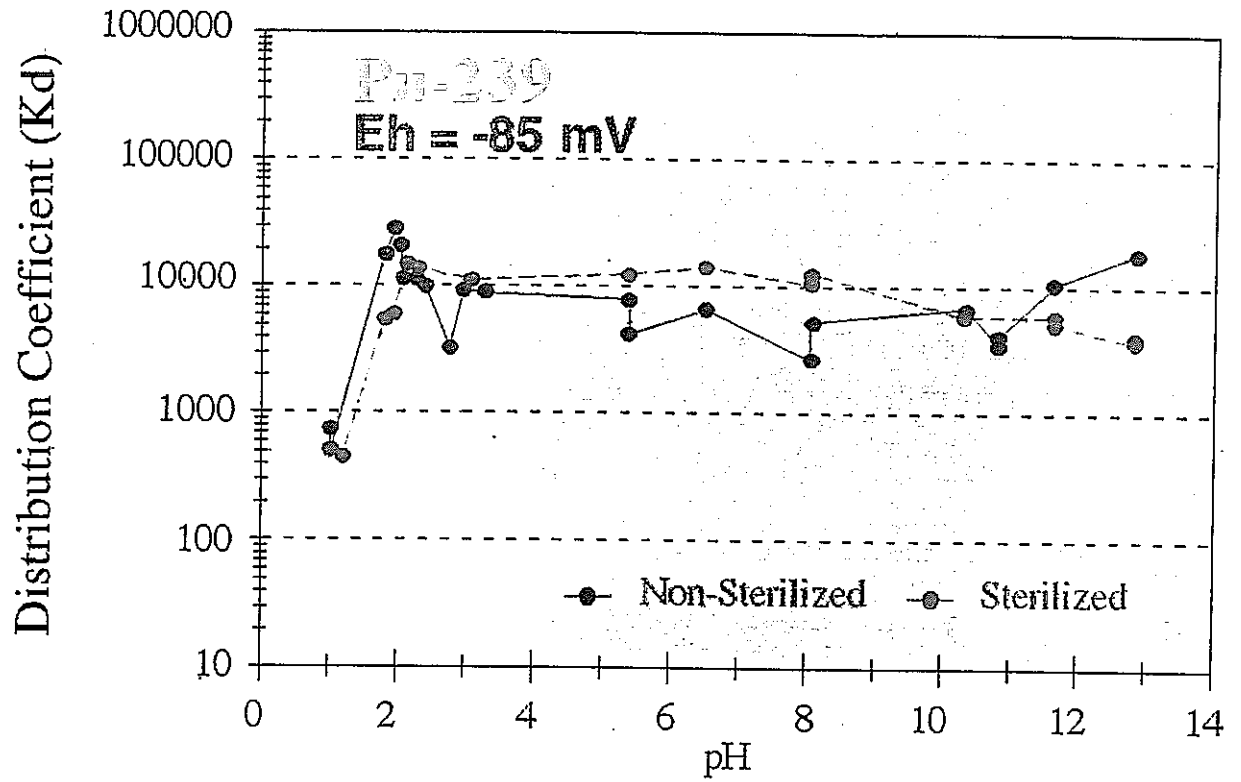


図 4-5-1 弱い還元性環境 (Eh=-85mV) 強い還元性環境 (Eh=-500mV) での  
プルトニウムとベントナイトの相互作用 (非滅菌系、滅菌系)

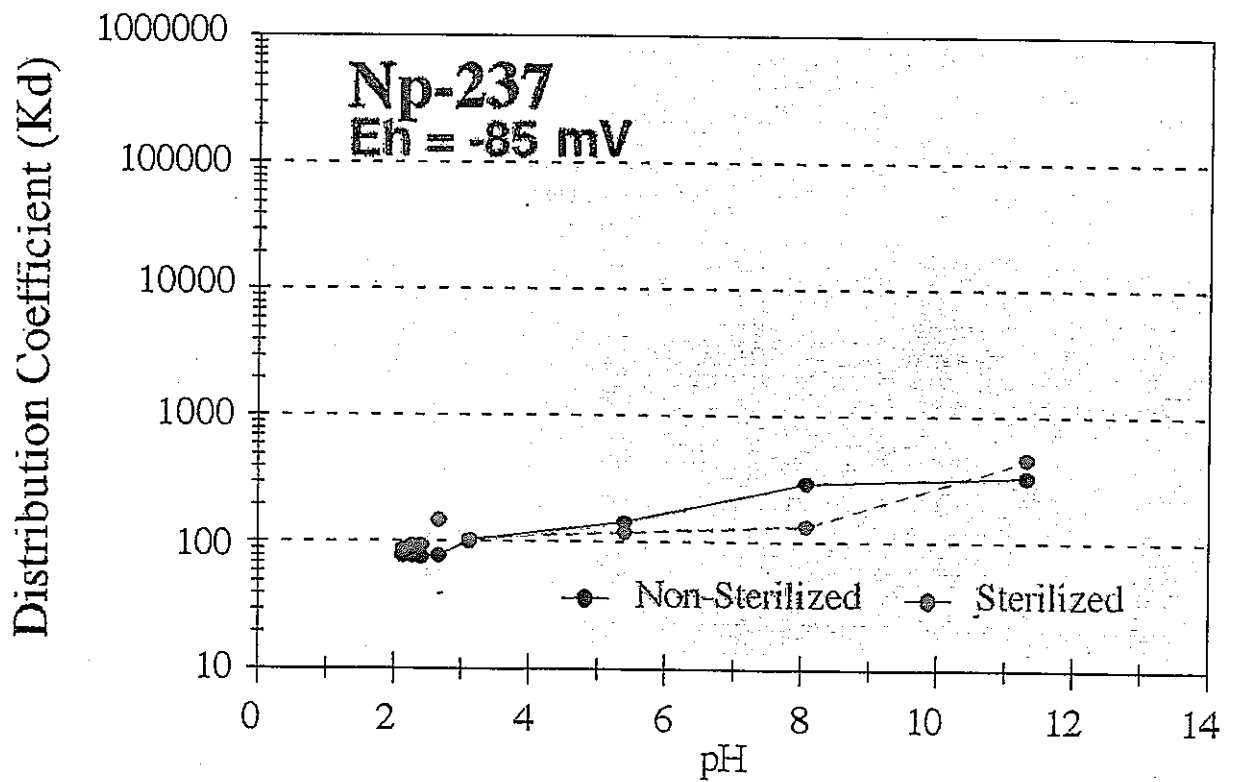
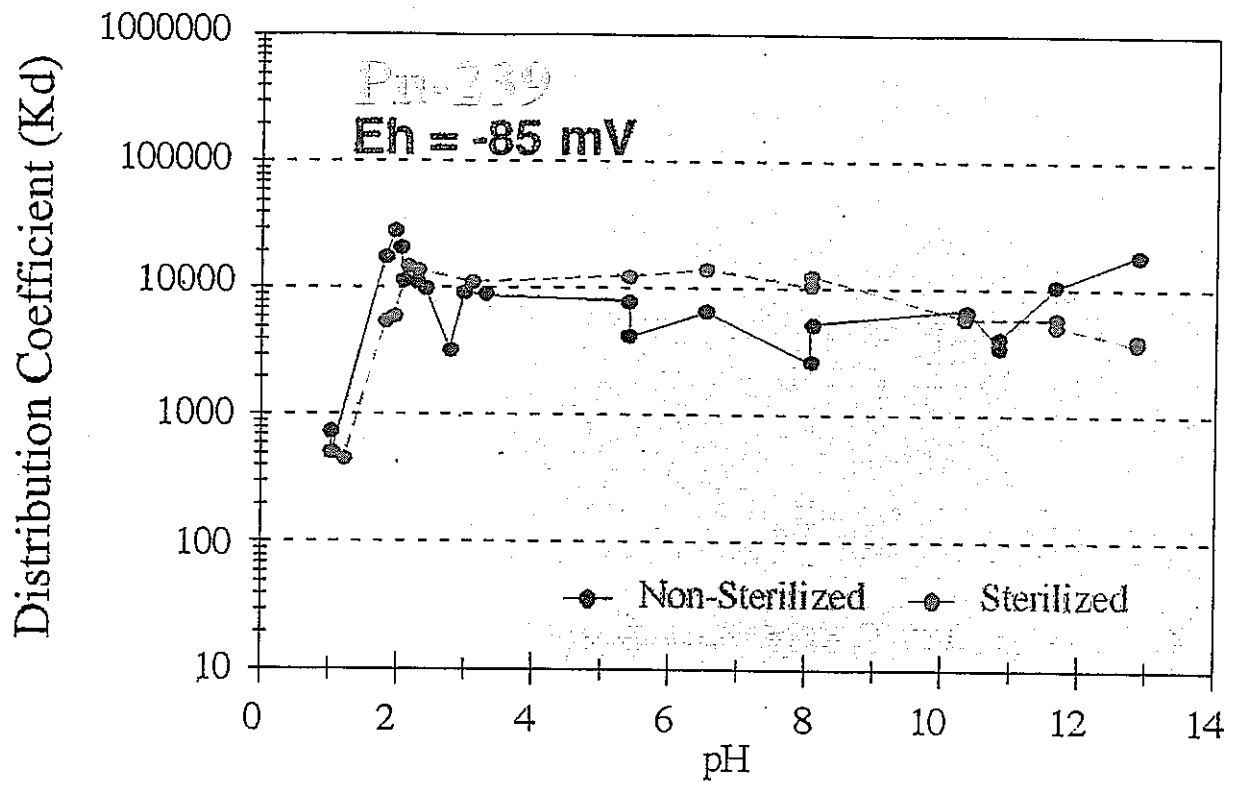


図 4-5-2 弱い還元性環境 (Eh=-85mV) でのプルトニウムとネプチニウムが  
ベントナイトと相互作用 (非滅菌系、滅菌系) した実験データの比較

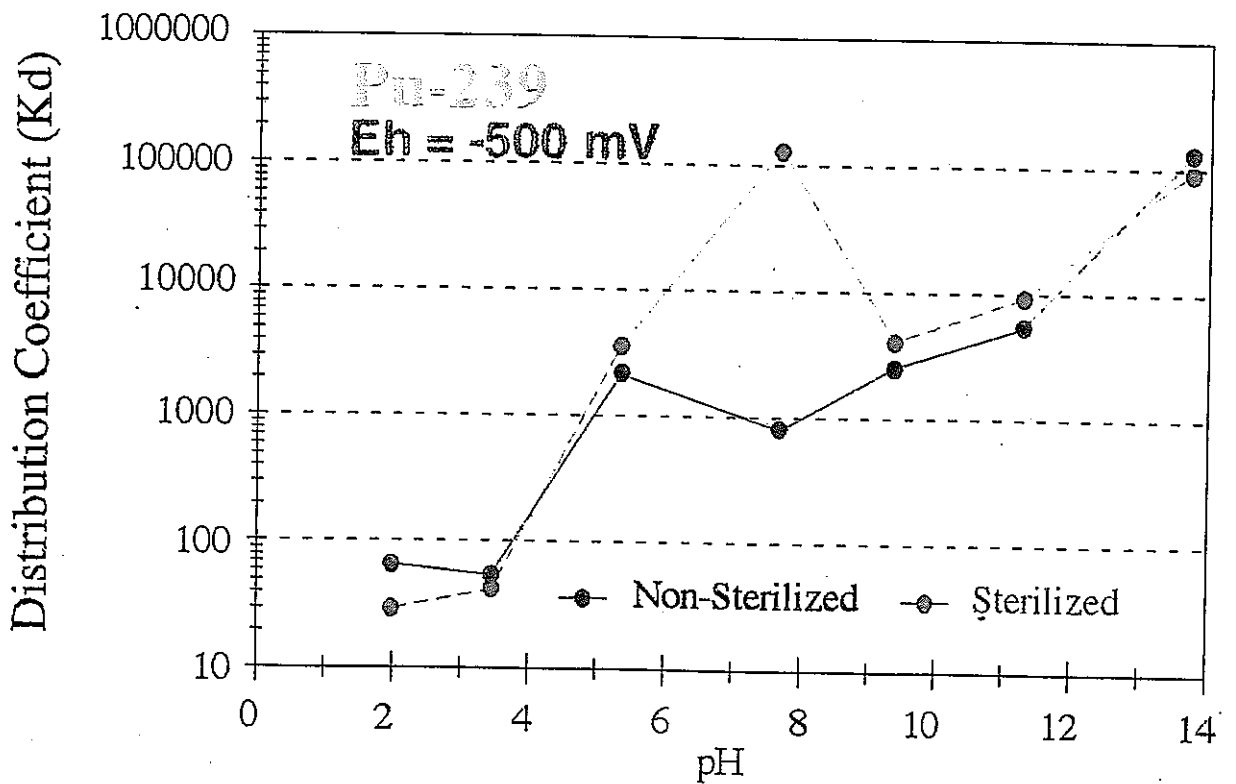
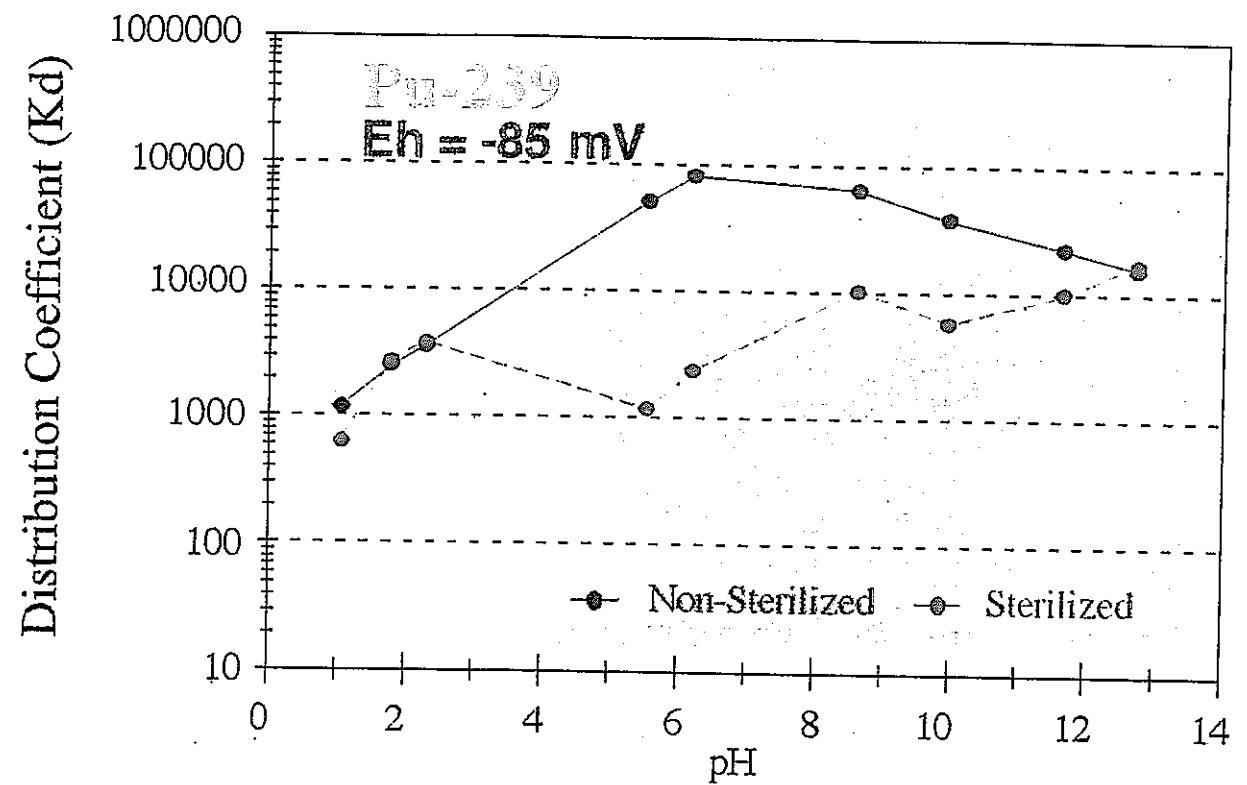


図 4-5-3 強弱還元性環境 (Eh=-85mV と Eh=-500mV) でのプルトニウムと  
 純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物と相互作用 (非滅菌系、滅菌系)  
 した実験データの比較



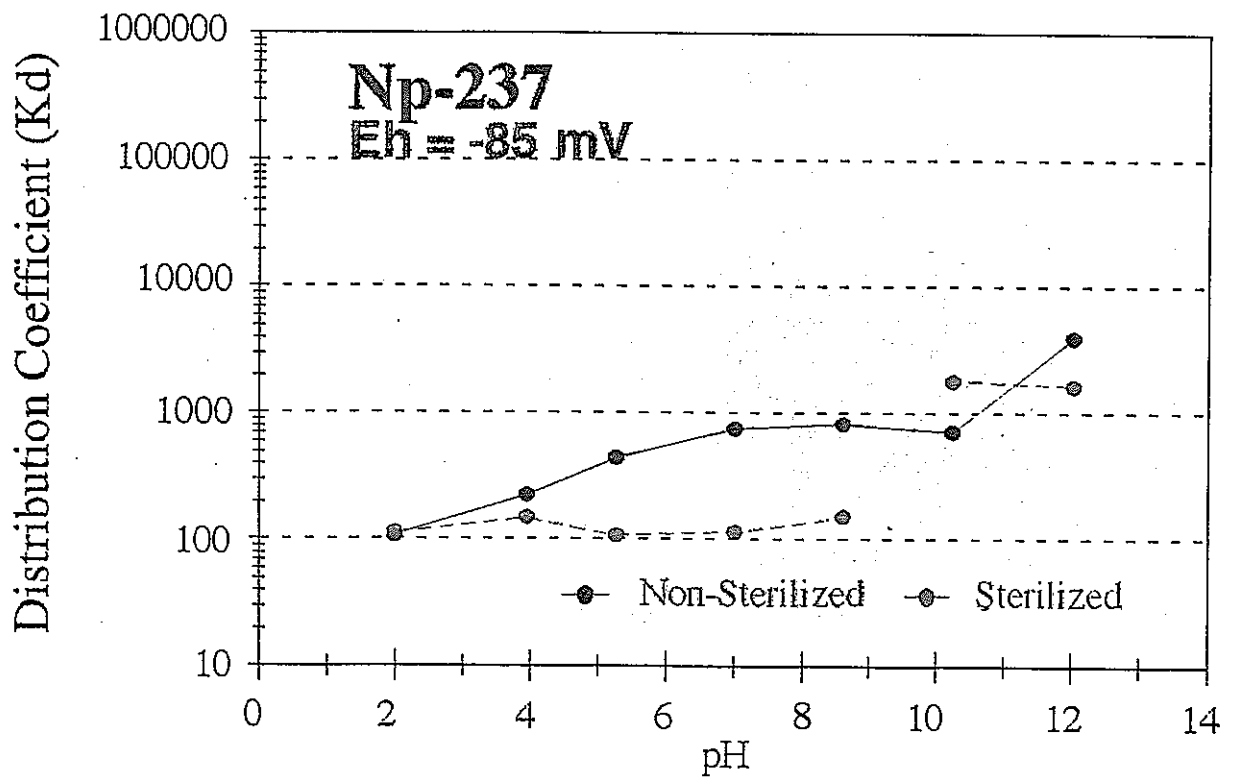
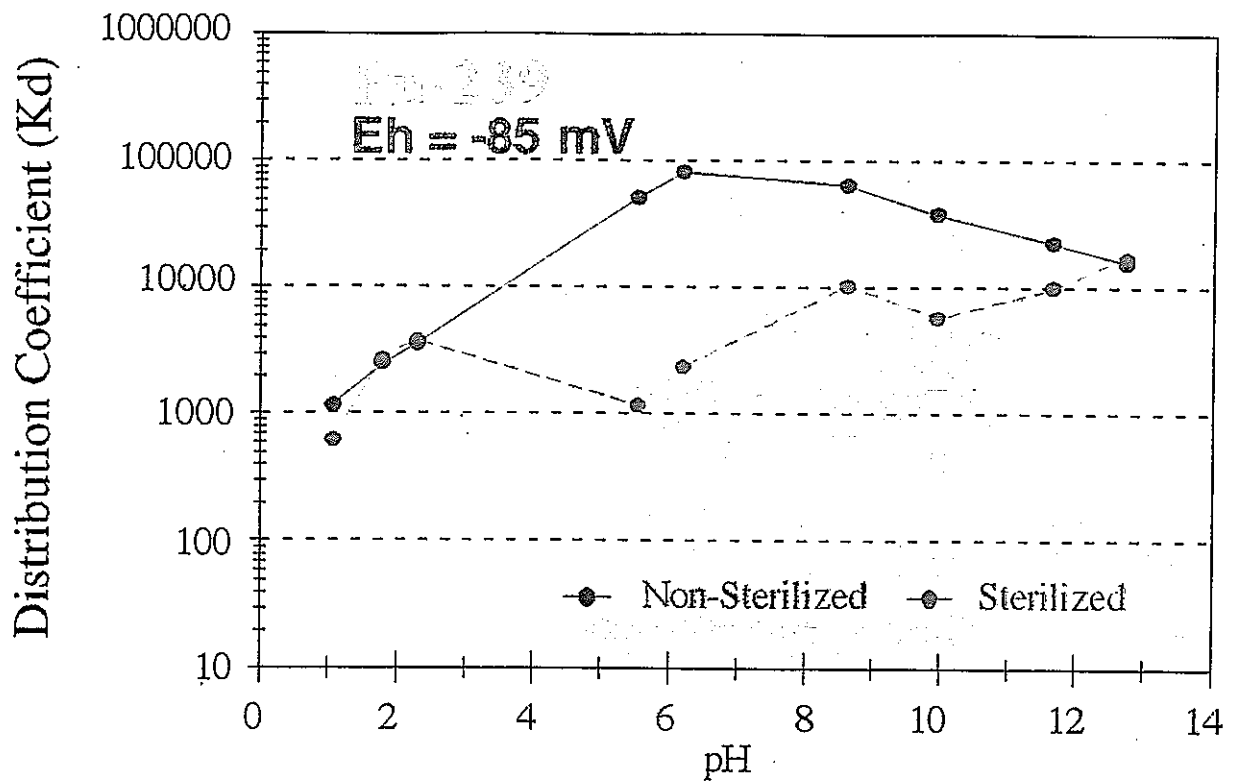


図 4-5-4 弱い還元性環境 (Eh=-85mV) でのプルトニウムとネプチニウムが  
 純粋硫酸塩還元菌とベントナイトの混在物と相互作用 (非滅菌系、滅菌系)  
 した実験結果の比較

## 5. まとめ

### 5.1 微生物の耐性領域調査

#### (1)メタン生成細菌

メタン発生が認められた概略の条件とメタン発生有無の境界に関わるデータは次のとおりである。

- ①DSM菌—水素資化性培地：pH8—11でメタン発生
- ②消化汚泥—水素資化性培地：pH8—11でメタン発生
- ③消化汚泥—酢酸資化性培地：pH8でメタン発生

#### (2)脱窒細菌

脱窒細菌の活性は、全ての条件においてEh+250mV以上で活性が無く、-50mV付近で最も活性が高くなる傾向であった。脱窒細菌の活動はEhによって規制されることは考えにくいことが分かった。

#### (3)微生物のガス発生調査

メタンガスは、pH7の酢酸ならびにセルロース、pH10のセルロース・NH<sub>4</sub>Clで発生した。CO<sub>2</sub>は、pH7では、すべての有機物で検出された。メタンガス発生量は、酢酸、セルロースでほぼ同量であったが、CO<sub>2</sub>ガスでは、pH7の条件下でセルロースが酢酸やフミン酸の5～6倍と最も多かった。培地pHのガス発生に及ぼす影響は、本混合培養系ではpH10でも微生物活性があることが示された。

### 5.2 微生物の圧縮ベントナイト中移行性の検討

これまでの試験結果において、菌の透過が示されたものは乾燥圧密1.2g/cm<sup>3</sup>及び1.8g/cm<sup>3</sup>のケイ砂混合率80 wt% ベントナイト成型体であった。ケイ砂混合率50 wt% ベントナイト成型体では双方の圧密で菌の透過には微妙な領域であるということが推測された。ケイ砂混合率50 wt% ベントナイト成型体の試験において、乾燥圧密1.2g/cm<sup>3</sup>より1.8g/cm<sup>3</sup>の方が透過期間が長かったにも関わらず、同じ層で菌が検出された等の例もあり、圧密の変化も菌の透過に対し何らかの影響を与えている可能性も考えられる。

### 5.3 硫酸塩還元菌の作用による Pu,Np の酸化還元状態の検討

弱い還元性環境 (Eh=-85mV) でのプルトニウムと微生物との相互作用は、微生物の活性 (生施) によって、大きく変化した。これに反して、強い還元性環境 (Eh=-500mV) では、微生物の活性 (生死) の影響は、全く表れない。

弱い還元性環境 (Eh=-85mV) と強い還元性環境 (Eh=-500mV) でのネプチウムと微生物との相互作用では、その分配係数 (Kd) が、強い還元性環境では、弱い還元性環境に較べて、酸性から中性領域で大きく (10 倍以上) 異なる。しかし、pH が 10 以上になると、その分配係数 (Kd) は、同じ値 (1000~10000 以下) となる。微生物の影響は、顕著に現れている。酸性側から中性側までは、ネプチウムの分配係数 (Kd) は、生きた微生物の方が、滅菌した微生物と反応したそれより常に大きい。ただし、アルカリ領域の pH が 10 以上の所で、滅菌した微生物の方が、生きている微生物のそれより逆に大きくなることがある。

### 5.4 ベントナイトへの Pu,Np の吸着に及ぼす硫酸塩還元菌等の影響試験調査

酸化・還元電位 Eh の差 (-85mV と-500mV) から得られる実験結果が、全く異なり、二つの実験結果には、全く類似性がない。その理由としては、プルトニウムの両環境での化学形態の変化が、プルトニウムとベントナイトとの分配係数に圧倒的に大きい影響を与えているためと推測される。

プルトニウムの分配係数とネプチウムの分配係数の間には、違いがはっきり表れている。さらに、両者の実験結果に共通している点は、非滅菌系と滅菌系には、その分配係数に大きな差があることである。言い換えると、プルトニウムまたはネプチウムとベントナイトと微生物混在物との相互作用では、微生物の影響は大きいと言える。

## 参考文献

- 1) PNC ZJ1150 94-003, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 (I)”, 1994.
- 2) PNC ZJ1150 97-004, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 (IV)”, 1997.
- 3) PNC ZJ1150 96-006, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 (III)”, 1996.
- 4) PNC ZJ1150 95-006, “人工バリア材料に対する微生物の影響評価研究 (II)”, 1995.
- 5) PNC TN8410 94-117, “硫酸塩還元細菌のアルカリ性および還元環境下での耐性に関する実験的研究”, 1993.
- 6) PNC ZN8410 92-013, “地層処分における微生物の影響に関する調査”, 1992
- 7) Brock, T.D., “Principles of Microbial Ecology”, Prentice-Hall Inc., 1966.
- 8) McCabe, A.M., “The Potential Significance of Microbial Activity in Radioactive Waste Disposal”, Berkeley Nuclear Lab., 1987.
- 9) McKinley, I.G., West, J.M. & Grogan, H.A., “An Analytical Overview of the Consequences of Microbial Activity in a Swiss HLW Repository”, NAGRA T/R 85-43, 1985.
- 10) 10) DSM, “Catalogue of Strains 1993”, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, 1993.
- 11) Boone, D.R., Worakit, S., Mathrani, I.M. & Mah, R.A., “Alkaliphilic Methanogens from High-pH Lake Sediments”, System. Appl. Microbiol., Vol.7, pp.230-234, 1986.
- 12) スタニエ, R.Y., イングラム, J.L., ウィーリス, M.L. & ペインター, P.R., 高橋 甫ほか訳, “微生物学[下]”, 培風館,
- 13) Suh, J.I., Fukui, M., Suwa, Y. & Yamaguchi, T., “Analysis of Substrates for Methanogenesis in Anaerobic Sludges using Specific Inhibitors”, Wat. Sci. Tech., Vol.26, No.3-4, pp.847-856, 1992.
- 14) Mah, R.A., “Isolation and Characterization of Methanococcus mazei”, Current Microbiology, Vol.3, pp.321-326, 1980.
- 15) Boone, D.R. and Mah, R.A., “Effect of Calcium, Magnesium, pH, and Extent Growth on the Morphology of Methanosarcina mazei S-6”, Appl. Env. Microbiol., Vol.53, No.7., pp.1699-1700, 1987.
- 16) Pedersen, K., “The deep subterranean biosphere”, Earth-Science Reviews,

- Vol.34,pp.243-260, 1993.
- 17) Sawyer,C.N. & McCarty, P.L., "Chemistry for Sanitary Engineers", McGraw-Hill Book Company, 1967
  - 18) 新編土壤微生物研究会、"土壤微生物実験法"、養賢堂、1992.
  - 19) Jones, J.G., "Microbial Activity in Lake Sediments with Particular Reference to Electrode Potential Gradients", J. Gen. Microbial. Vol. 115,b pp.19-26, 1979.
  - 20) Timmeremans, P. & van Haute, A., "Denitrification with Methanol", Water Res., Vol.17, No.10, pp.1249-1255, 1983.
  - 21) PNC PN1410 92-081、"高レベル放射性廃棄物地層処分研究開発の技術報告"、1992.
  - 22) Fredrickson,J.K.and Onstott,T.C., "Microbe Deep Inside the Earth", Scientific American, pp.68-73, 1996.
  - 23) Champ,C.R.and Merrit,W.F. "Particulate Transport of Cesium Groundwater", Proc.Annu.Conf. Canadian Nuclear Society,2,66-69,1981.
  - 24) West,J.M.,Mckinley,I.G. and Chapman,N.A. "The Effect of Microbial Activity on the Containment of Radioactive Waste in a Deep Geological Repository", Sci. Basis Nuclear Waste Mang.5,831-838,1982.
  - 25) West,J.M.and Mckinley,I.G."The Geomicrobiology of Nuclear Waste Disposal", Sci.Basis Nuclear Waste Manag.7,487-494,1984.
  - 26) Toste,A.P.,Kirby,L.J.and Pahl,T.R. "Role of Organics in the Subsurface Migration of Radionuclides in Groundwater" ,Am.Chem.Soc.Symp.Ser. No.246,251-270,1984.
  - 27) Fukunaga,S.,Fujiki,K.and Asano,H."Microbial Growth Enhanced When Using Bentonite as a Buffer Material for Radioactive Waste Repositories", 1993 International Symposium on Subsurface Microbiology(ISSM 93),Abstract C-04, Bath, U.K.,1993.
  - 28) Fukunaga,S.,Yoshikawa,H.,Fujiki,K.and Asano,H. "Experimental Investigation on the Active Range of Sulfate-Reducing Bacteria for Geological Disposal", Material Research Society Symposium 353,173-180,1995.
  - 29) Aoki,K.,Komuro,K.T.Seo,and Matsushima,E. "Microbiological Examination of Groundwater from the Green Tuff Region of Northern pan" 1993 International Symposium on Subsurface Microbiology(ISSM-93),Abstract C-02, Bath, U.K.,1993.

- 30) Pederson, K. and Karlson, F. "Investigations of Subterranean Microorganisms", SKB Technical Report 95-10, Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co., Stockholm, Sweden, 1995.
- 31) Stroes-Gascoyne, S. and West, J.M. "Microbial Considerations and Studies in the Canadian Nuclear Fuel Waste Management Program", Sci. Basis Nuclear Waste Mang. 18, 165-172, 1995.
- 32) Pederson, K. "Bacterial Processes in Nuclear Waste Disposal" J. of Microbiology Europe, Sept/Oct. 18-23, 1993.
- 33) Jannasch, H. W. and Taylor, C. D. "Deep-sea Microbiology", Annual Review of Microbiology, 38, 487-514, 1984.
- 34) Kudo, A., Zheng, "Behaviour of Plutonium Interacting with bentonite and Sulfate-Reducing Anaerobic Bacteria", J. Material Science Society, 465, 879-894, 1997.
- 35) Kudo, A., Zheng, J., Proceedings of 11th Pacific Basin Nuclear Conference, Banff, Canada, 1988 (in Press).
- 36) 科学技術庁編, "プルトニウムの分析法" 放射能管理シリーズ 12、(財)分析センター、千葉市、日本 1977。
- 37) Harley, J.H. "Health and Safety Laboratory Procedures Manual", Office of Scientific and Technical Information, HASL-300. US Energy Research and Development Administration, Oak Ridge, TN, USA, 1972. 17. Schuttelkopf, H. "Development of an Analytical Method for Plutonium in Fantogram Region and its Procedure for Environmental Samples (in German)", Kernforschungszentrum Karlsruhe, Germany 1981.
- 38) Schuttelkopf, H. "Development of an Analytical Method for Plutonium in Fantogram Region and its Procedure for Environmental Samples (in German)", Kernforschungszentrum Karlsruhe, Germany 1981.
- 39) Pourbaix, M. Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solution, p.210, Pergamon Press, Oxford, UK, 1966.
- 40) Santry, D. C. 山名 元, "Private Communication", 1997.