

1D01

バイオミネラリゼーションによる海洋中の放射性ストロンチウムの除去

○堀池巧¹、土津田雄馬¹、中野友里子²、宇都宮聡²、香西直文³、大貫敏彦^{3,4}、山下光雄¹

(¹ 芝浦工業大学、² 九州大学、³ 日本原子力開発研究機構、⁴ 東京工業大学)

福島第一原子力発電所において港湾内や地下水中に漏出した放射性核種を含む汚染水は、速やかに浄化し環境への影響を最小限に抑えなくてはならない。特に、強い毒性を示す ^{90}Sr は半減期が長く、化学的性質が Ca と似ていることから海洋をはじめとする自然環境において生態系への長期間の悪影響が懸念される。しかし、海水や濃縮汚染水など塩濃度が高い水溶液 (塩濃度 $>3\%$) からの放射線核種の浄化には有効な手段がないことから、新たな手法の開発が必要である。地下水や土壌中の ^{90}Sr の浄化を対象に尿素分解微生物が生成する炭酸カルシウムなどのバイオ鉱物を用いた研究が進められているが、海水など高塩濃度条件における研究は進んでいない。そこで本研究では海洋由来の尿素分解微生物を探索し、高塩濃度下における Sr 除去能を調べた。

基本培地には模擬海水培地 (Marine broth 2216、3.75 g/L; NaCl 、30 g/L; 尿素、20 g/L; pH7.6) を用いた。尿素分解微生物の探索には模擬海水培地に Phenol red (12 mg/L) を添加した 1.5%寒天平板培地を用いた。 Sr 除去試験は SrCl_2 溶液 (Sr 終濃度 1.0 mM) を添加した模擬海水培地を用い、培養温度 30 度、120 rpm の回転振とうで行った。溶存 Sr 濃度の定量には ICP-AES を用い、培養沈殿物の観察には SEM、TEM、XAFS を用いた。

尿素分解微生物の探索により 7 種類の候補株を海洋環境試料から分離し、そのうち 5 株が 7 日間の培養で溶存 Sr 除去能を示した。特に KW3b2 株は培養 1 日で溶存 Sr を初発濃度 1.0 mM から 0.02 mM にまで減少した。塩濃度の影響を調べたところ、KW3b2 株は 0.3-5.0% NaCl 下で、99%以上の溶存 Sr を除去した。培養物沈殿物を SEM で観察したところ、10-20 μm ほどの円盤状で Ca と Sr を均一に含んでいた。TEM 観察により、培養沈殿物は針状結晶の集合体であり、さらに SAED パターンから aragonite 構造を持つバイオ鉱物であることが分かった。XANES 解析により、バイオ鉱物中の Sr は Sr イオン及び SrCO_3 の化学状態であり、培養時間の経過とともに SrCO_3 として存在する割合が高くなったことから、時間の経過とともに CaCO_3 に取り込まれていく可能性が示唆された。以上の結果から、分離株が溶存 Sr をバイオ炭酸鉱物として固化除去することを明らかにした。すなわち、バイオミネラリゼーションが海洋など高塩濃度下における放射性 Sr 浄化の新たな手段として有効であると示した。

Bioremediation of radioactive strontium contaminated sea water by biomineralization

*T. Horiike¹, Y. Dotsuta¹, M. Yamashita¹, Y. Nakano², S. Utsunomiya², N. Kozai³, T. Ohnuki^{3,4},
(¹Shibaura Inst. Tech., ²Kyushu Univ., ³JAEA, ⁴Tokyo Tech.)

微生物細胞外放出物による希土類リン酸塩ナノ結晶
プロセスの解明○市吉健太¹、落合朝須美¹、宇都宮聡¹(¹九州大学大学院理)

希土類元素(REE)は三価アクチノイドの代替元素として用いられるため、その地下圏での地球化学的挙動の解明は放射性核種移行挙動の予測に重要な知見を与える。地下水帯には微生物が普遍的に存在し、元素移行を支配するプロセスの一つと考えられている。これまでの研究では微生物を Ce 溶液と反応させると細胞内部から放出されるリン酸と微生物表面に吸着した Ce^{3+} が結合して CePO_4 ナノ結晶を生成することが分かっている^[1]。この反応は微生物の表面官能基、代謝、EPS が関与しているが、各プロセスを詳細に解明した研究は少ない。本研究では EPS のみの反応性に注目し、EPS によるナノ結晶化プロセスの解明を目的とした。

YPD 培地で *S. cerevisiae* X-2180 を 24 時間培養し、培地を除去した後 1mM NaCl 溶液中で 72 時間 EPS を放出させた。EPS 放出開始時の pH を 3 か 5 とし、その後の EPS による pH 変化はそのままとした(pH3, pH5)。初期 pH3 の溶液は Ce イオンを加える前に pH3 に再調整した条件も作成した(pH3→3)。EPS を微生物から分離した後、それに Ce^{3+} 溶液を加えて 72 時間攪拌させながら反応させ、0.10 μm メンブレンフィルターでろ過した。この時 $[\text{P}]/[\text{Ce}^{3+}] > 1$ と $[\text{P}]/[\text{Ce}^{3+}] < 1$ の 2 通りを用意した。回収した EPS、上澄み液は誘導結合プラズマ発光分光分析(ICP-AES)で測定した。固体は X 線回折(XRD)、透過型電子顕微鏡(TEM)、フーリエ変換赤外分光光度(FTIR)で分析した。また、同様の実験を RNA、ATP を用いて行った。

EPS 中のリン酸基と Ce^{3+} によって CePO_4 が形成された。溶液中の全リンのうち約 80% がオルトリン酸で残りは有機リンであり、反応後は pH5(P/Ce<1, P/Ce>1)でリン濃度が〜0 となったため、有機リンも沈殿形成に関与したことが分かる。ナノ結晶は針状のラブドフェン構造で結晶子サイズが pH3 は 3~12 nm, pH3→3 は 3~25 nm, pH5 は 2~5 nm であった。リン酸塩の結晶子サイズ依存性は無機的なものと同様であった。また、FT-IR によってアミド結合中の N-H 結合(変角振動)、C-N 結合(伸縮振動)に由来する 1541~1576 cm^{-1} の範囲のピーク、核酸由来のホスホジエステル骨格に由来する 1200 cm^{-1} 周辺のピークが検出され、ラブドフェンが結晶化するときタンパク質、核酸が取り込まれることが示唆された。pH5, $[\text{P}]/[\text{Ce}^{3+}] > 1$ 条件では希土類炭酸塩のランタナイトが析出したことから、EPS 中の CO_2 の存在も示唆された。また RNA と Ce^{3+} による沈殿形成も確認され、ホスホジエステル結合中のリンも反応性を有することが分かった。この時、ナノ結晶は針状ではなく球状であった。また、ATP と Ce^{3+} による沈殿形成も確認された。本研究の結果として EPS のみでも希土類と反応し、希土類リン酸塩ナノ結晶を形成することが分かった。

参考文献:[1]M. Jiang, T. Ohnuki, N. Kozai, Y. Suzuki, F. Sakamoto, E. Kamiishi, S. Utsunomiya *Chem. Geol.* 277(2010), 61-69

Interaction of extracellular polymeric substances from *Saccharomyces cerevisiae* and rare earth elements

*K. Ichiyoshi¹, A. Ochiai¹, S. Utsunomiya¹ (¹Kyushu Univ.)

○中野友里子¹、宇都宮聡¹(¹九州大学院理)

地下水中において放射性核種などの有害元素はナノ粒子のコロイドに吸着することで移行が促進される^[1]。コロイドの移行速度はその粒径に依存し、粒径は凝集によって変化するため地下水の組成に依存する。凝集挙動に関与する因子の一つとして地下水中に多量に存在している微生物が放出する細胞外放出物(EPS)の影響は大きいと考えられる。EPSにはさまざまな成分が含まれているが、そのうちリン酸と多糖、タンパク質などがCeO₂ナノ粒子(CeNPs)に吸着し、これにより粒子の ζ 電位がゼロになること、またそれにもかかわらず粒子の凝集が抑制されることが確認されている^[2]。しかし吸着したEPS成分が粒子の ζ 電位や凝集挙動にどのように関与しているかは未解明である。そこで本研究ではEPSの吸着による凝集抑制効果のメカニズムの理解につなげるためにリン酸と糖、アミノ酸の吸着によるナノ粒子の凝集挙動への影響を実験的に明らかにすることを目的とした。

本研究では、四種類の糖 D-glucose、D-maltose、stachyose、 α -cyclodextrin、及び二種類のアミノ酸 L-glutamic acid、L-histidine を用いた吸着、凝集実験を室温、pH 6.0、イオン強度 1-1000 mM NaCl の条件で行った。有機物もリン酸も含まない系(control)、糖のみの系(type S)、アミノ酸のみの系(type A)、リン酸と糖の混合系(type S+P)、リン酸とアミノ酸の混合系(type A+P)、リン酸のみの系(type P)に CeNPs を加えて反応させた。各系に関して UV-Vis を用いた濁度の経時変化及び凝集速度の解析、溶液組成分析に基づくリン酸及び有機物の CeNPs への吸着量の定量、粒子の ζ 電位測定を行った。

濁度の経時変化及び凝集速度測定からリン酸を含む系では凝集が抑制され、リン酸吸着による静電斥力の効果を示唆した。glucose とリン酸の混合系では凝集速度が他の系より小さくなっていた。液相分析から有機物とリン酸の混合系におけるリン酸の吸着量はリン酸のみの系の吸着量の 1-1.5 倍になることが分かった。 ζ 電位測定からリン酸の吸着量が増加しているにもかかわらず type S+P は type P と同じ結果となった。これは糖の吸着により粒子のすべり面の面積が大きくなりすべり面における電荷密度がリン酸のみが吸着した場合の電荷密度と同程度になったためと考えられる。また pH 7-9 で type A は control よりも、pH 3-6 で type A+P は type P よりもそれぞれ ζ 電位の絶対値が小さくなっていた。これはアミノ酸が両性イオンであるため電気二重層の厚みが小さくなったためと考えられる。以上のことから EPS 中の糖の吸着はリン酸の吸着を促進し、アミノ酸の吸着は ζ 電位を変化させる効果が示唆された。ESP の吸着による凝集抑制効果は主にリン酸の静電反発によることが分かった。

[1] A.P. Novikov *et al.*, 2006, *Science* 314 (5799) 638-641 [2] S. Masaki *et al.*, submitted

Effects of organic molecules on the aggregation of CeO₂ nanoparticles

*Y. Nakano¹ and S. Utsunomiya¹ (¹ Kyushu Univ.)

地下環境中には多種の微生物、ナノコロイドが普遍的に存在し、放射性核種コロイドが微生物と相互作用を理解する必要がある。本研究では(i)ナノ粒子(NPs)が微生物に与える影響、(ii)微生物がナノ粒子に与える影響について双方向から研究を行い、元素移行に対するナノ粒子－微生物間相互作用の影響を評価することを目的とした。

実験(i)ではCeO₂NPs(CeNPs)を100 ppm 添加した培地を用いて培養した酵母を分離回収し、pH=2-7に調整した1 mM NaCl 水溶液中に入れた。溶出した細胞外放出物(EPS)は誘導結合プラズマ質量分析装置、イオンクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、全有機炭素計を用いて分析した。CeNPs による酵母に対する毒性はメチレンブルー染色法によって定量し、CeNPs による酵母のタンパク質変異については二次元電気泳動を行った後に Peptide Mass Fingerprinting (PMF)分析を行った。実験(ii)ではYPD 培地にて培養した酵母を分離回収し、pH 3 に調整した1 mM NaCl 水溶液中に添加した。72 時間後 酵母を除去して EPS 溶液を得た。pH 6 に調整した EPS 溶液中での CeNPs の凝集過程について動的光散乱装置及び紫外可視分光光度計を用いて測定し、 ζ 電位も測定した。比較として1 mM NaCl (control)、0.16 mM H₃PO₄においても同様の測定を行った。EPS を1 時間吸着させた CeNPs に対して、全反射測定法によるフーリエ変換赤外分光分析と X 線光電子分光分析を用いることで吸着化学種を特定した。

(i)HPLC の結果から CeNPs に暴露させた酵母は、CeNPs 非存在下と比較して放出された有機物種の相対的量に変化がみられ認められた。これらの相違は CeNPs が酵母の生育段階を変化させたことを示唆している。培養中に CeNPs を暴露させた酵母に対してタンパク質の PMF 分析を行ったところ、解糖系に関わる酵素である Eno2p の過剰発現が見られ、CeNPs が酵母の代謝活動に影響を与えていることが示唆された。

(ii) 酵母由来 EPS は分子量が3000 以下のタンパク質や多糖類、リン酸、有機リン化合物を含有し、CeNPs 表面に対する多糖類とリン酸の優先的な吸着が確認された。Control、Phosphate、EPS 水溶液中における CeNPs の臨界凝集濃度は0.01、0.14、0.25 mol L⁻¹であり、リン酸と多糖類の吸着は凝集を抑制することが分かった。しかし、各溶液中での ζ 電位は+23 mV (Control)、-40 mV (Phosphate)、~0 mV (EPS)であり、凝集の抑制機構は多糖類の有無によって異なることが示唆された。リン酸のみの場合、凝集抑制は CeNPs の ζ 電位減少に伴う粒子間静電斥力の増大に起因する。一方、EPS の系では多糖類の吸着により形成された立体斥力によって凝集が抑制される。このように EPS によるナノ粒子の凝集抑制効果は共存している陰イオンの影響を受けないことが分かった。

Molecular Science for the role of microorganisms on migration of radionuclides: Interaction between microorganisms and environmental nanoparticles in subsurface

* S. Utsunomiya¹, S. Masaki¹, Y. Nakano¹, K. Ichiyoshi¹, T. Ohnuki² and Michael F. Hochella, Jr.^{3,4} (¹ Kyushu Univ., ² Tokyo Inst. Tech., ³ Virginia Tech. and ⁴ PNNL)

1D05

(Keynote)

放射性核種の地中移動を支配する ミクロスケールの化学状態変化

○大貫敏彦
(東工大)

放射性廃棄物処分の安全性を評価するためには、地層中における放射性核種の地下水中における移行挙動を明らかにする必要がある。放射性核種が地下水中を移行する際、核種は水と同じ速度で移行するわけではない。地層中には鉱物などの無機物質や微生物や腐植物質のような有機物質が存在するため、放射性核種とこれらの物質との相互作用により水流速よりも遅く（遅延）なる。遅延機構を解明するための数多くの研究がこれまでなされてきた。遅延機構を明らかにする研究では、様々な鉱物や微生物などが存在するため、数多くの組み合わせの研究を行わなければならない。そのため、遅延機構の全貌を解明するには至っていない。

遅延機構として最も期待されているのは、固相への吸着である。そのため、放射性核種の吸着に関する数多くの研究がなされてきた。一方、地球表層における長寿命放射性核種の挙動を調べると、数百万年間に数百 m のスケールで移行している現象を支配している遅延機構は、ミクロンスケールで起こっていることが分かった。その反応場は、鉱物や微生物細胞の表面である固液界面である。固液界面では吸着以外の反応が起こっている。

無機物質である鉱物の固液界面で生じる反応では、一次鉱物の溶解に伴い生成する二次鉱物の生成過程でのウランや希土類元素の鉱物化や、一次鉱物の溶解に伴いウランや希土類元素が溶解した元素と反応して鉱物相を形成する。この現象は、初期反応としてはウランや希土類元素が鉱物表面に吸着し、その後に鉱物化するポスト吸着現象である。

微生物などの固液界面で生じる反応では、ウランなどによる刺激への応答による微生物が排出する元素や有機物と細胞表面に吸着したウラン、希土類元素が反応して鉱物化や再溶解を起こす。

福島における原子力発電所事故後においては、キノコを形成する糸状菌や微生物への放射性セシウムの取り込み、取り込みの抑制剤の開発を行ってきた。その中で、子実体（キノコ）が形成される際に、放射性セシウムが菌糸内ではなくの外側を移動して子実体に取り込まれる経路があることを見出した。

Transformation of radionuclides occurred at micron meter area to govern long-term migration in groundwater

○Toshihiko Ohnuki (TITECH)

○河田陽介¹，高沢真由美¹(¹ 三菱マテリアル株式会社 地下環境システム部)

原子力規制が、原子力規制委員会と原子力規制庁という新体制に移行してから、廃棄物処分に関しても見直しが行われ、従来の規制に追加して、低レベル放射性廃棄物処分では「第二種廃棄物埋設施設の位置、構造、及び設備の基準に関する規則」が 2013 年に定められた。特筆すべきは、従来規制側の内規とされていた解釈が委員会から公式に公開されたところにある。

この解釈では、規則第十条の「廃棄物埋設地の外へ放射性物質の異常な漏えいを防止する機能を有するもの」という要件に対する「合理的に利用可能な最善の建設・施工技術によるものであること」という要求等が掲げられており、規則第九条の「廃棄物埋設地の保全に関する措置を必要としない状態に移行する見通しがあるものであること」に対する「将来起こる可能性が最も高いと予見される一連の変化を考慮し、科学的に最も可能性が高いと考えられる状態設定の下で、科学的に最も可能性が高いと考えられるパラメータを用いて評価すること」という解釈と考え合わせると、規制側は安全の説明として、事業者が採用した建設・施工技術に基づき、将来の変化を考慮したときに生じる状態を踏まえ、科学的に最も可能性が高い状況について評価し、それが基本状況に対する線量指標を満足していることを示すことを求めていると理解できる。

事業者が設計・施工した工学的に適切で堅牢な人工物が自然環境で受ける変化は主に化学的なものである。例えば、セメント構造物の空隙に含まれている NaOH などの水溶性アルカリやわずかながらも水に溶ける $\text{Ca}(\text{OH})_2$ などのセメント成分は遮水材として使用されている粘土の主成分であるモンモリロナイトなどを変質させる。また、構造材のひび割れにカルサイトが析出して閉塞する可能性や、BWR 濃縮廃液の主成分である硫酸塩によってエトリンガイトが生成して構造材が組織破壊することなどが考えられる。このような化学的变化と同時に、地圧バランスなどの物理的環境も変化し、施設は最終的には一定の均衡状態に至ると考えられる。処分に係る安全・安心の説明は、このような構造物の変遷予測の上に、予測の時間枠も考え合わせて構築すべきと思われる。

また、原子力規制委員会は、炉内等廃棄物の中深度埋設に係る規制の検討も進めており、自然事象への対策や人為事象への制度的な対策、長寿命核種に起因する十万年を超える潜在被ばくの制限などが議論されている。

講演では、このような考え方に基づく地球化学的変遷評価と廃棄物処分の安全評価の関連について、事例等を交え、私案を紹介する。

Present status of the new regulation and geochemical analysis in Low Level Waste disposal

*Y. Kawata¹, M. Takazawa¹ (¹ Radioactive Waste Management Dept., Mitsubishi Materials Co.)

球状炭酸塩コンクリーションの成因とその応用 - 地下シーリング技術への展開について -

○吉田英一¹、大江俊昭²、山本鋼志¹

(¹名古屋大学、²東海大学)

海成堆積岩には、非常に緻密で風化にも強く、またその内部から保存良好の化石を産する球状の炭酸塩コンクリーション (CaCO_3) が普遍的に産出する。これまでその成因は、海洋堆積物中でのメタン発酵や、無機炭素あるいは有機物の拡散・濃集によるとされ、その形成速度は非常に遅いものと考えられてきた。しかしながら、富山県八尾地域の海成層（約 20Ma）から産出したツノガイ（*Fissidentalium* spp.）を核とするコンクリーションについて、内部組織、鉱物組成、同位体を含む化学成分等の調査・解析を行った結果、ツノガイ軟体部の腐敗によって生じる脂肪酸の浸出（拡散）と、海水中のカルシウムイオンとの急速な反応によって、死後、数週間から数ヶ月程度でコンクリーションの形成されたことが明らかとなった（Yoshida et al., 2015）。その「クワイ」のような特徴的な産状とコンクリーション内部の CaCO_3 プロファイルから、脂肪酸が口側から選択的に浸出しつつ Ca^{2+} と HCO_3^- がコンクリーションの縁（反応縁）において急速に反応・沈殿しつつ成長していったことが示された。また、この反応縁の幅 (L cm) と、堆積物中の拡散係数 (D cm^2/s) 及び反応速度 (V cm/s) との関係 ($D = LV$) から、海成堆積岩中に見られる球状炭酸塩コンクリーションの成長速度及び形成条件を汎用的に表すことのできる「拡散成長速度ダイアグラム」を表した（下図参照）。

このダイアグラムから、球状炭酸塩コンクリーションの形成は基本非常に早く、岩石／地層中での Ca^{2+} と HCO_3^- の拡散係数と過飽和状態で律速されることが示される。この状態は、地層処分場のコンクリートで覆われた岩盤内部側でも十分に起こりうる反応である。また、このような濃度勾配で生じる元素移動は、地下の高間隙水圧環境下においても、その影響を受けずに微小空隙にまで浸透し、沈殿／シーリングを生じさせることが可能であることを示唆する。本報告では、このような元素濃集プロセス

の、大規模地下環境利用に伴う工学的シーリング技術への応用展開の可能性について報告する。

引用文献

Yoshida, H. et al. Early post-mortem formation of carbonate concretions around tusk-shells over week-month timescales. *Scientific Reports* 5: 14123 (2015) doi:10.1038/srep14123

Formation of spherical carbonate concretions and its application to the usage for underground sealing technology

*H. Yoshida¹, T. Ohe², K. Yamamoto¹ (¹Nagoya Univ., ²Tokai Univ.)

