

アクチノイドの挙動への微生物の影響解明研究の現状

大貫敏彦* 尾崎卓郎* 吉田崇宏*

様々な微生物が地下環境中に生息することが分かってきた。これら微生物はアクチノイドの挙動に影響を及ぼすであろうか。日本原子力研究所では、微生物とアクチノイドなどの重元素との相互作用の機構を解明する研究に着手し、吸着機構、還元機構などを解明する研究を進めている。本報告では、これまで行われてきた研究を紹介し、上記の疑問について考察した。

Keywords: 高レベル廃棄物処分, 微生物, アクチノイド, 吸着, 還元

Various microorganisms have been observed in deep geologic formation. The effects of such microorganisms on the performance of HLW disposal are still unknown. The research group for heavy elements microbiology in JAERI is conducting basic research on microbial interactions with heavy elements including actinides. This paper introduces the activities of our group and discusses implication to environmental migration of actinides.

Keyword: HLW disposal, bacteria, actinides, migration, sorption, reduction

1 緒言

アクチノイドの挙動解明は、環境中における移行モデルの開発、処分の安全評価モデルの精緻化などの観点から重要な課題である。著者は、微生物の地層処分への影響についてこれまでの研究を総括して報告した[1]。その中で、微生物のエネルギー獲得法や地層中で生息する微生物等について、生態・活動に関する基本的事項から、処分環境など高温、高放射線場、活量の低い水の存在下での生育の可能性についての研究例、処分施設への影響及びアクチノイドなどの放射性核種の移行への影響について国内外の研究を紹介した。

原研では、先端基礎研究センターにおいて重元素と微生物との相互作用の素過程を解明する研究に着手し、希土類元素、アクチノイドの微生物への吸着機構の解明研究[2-3]、アクチノイドの微生物による鉱物化機構（投稿準備中）、アクチノイド-有機酸錯体の微生物との相互作用[4-5]、及び陰イオン化学種の移行への影響解明[6]などを行っている。本報告では、原研で得られた成果を中心に、アクチノイドの移行への微生物の影響について検討する。

2 希土類元素、アクチノイドの微生物への吸着機構の解明研究

微生物膜表面に吸着した Eu(III)の配位環境をレーザー誘起蛍光分光法(TRLFS)により経験的に予測する方法を開発した[2-3]。Eu(III)の内圏に配位した水の数(N_{H_2O})と配位子場の強度($R_{E/M}$)を様々な配位環境を有するキレート剤などに配位した Eu(III)について TRLFS により蛍光寿命及

びスペクトルの 592 と 615nm の相対強度から評価した。励起状態における Eu(III)の蛍光寿命は内圏の水分子の数に依存している[7]。一方、 5D_0 から 7F_2 への遷移（電気双極子）による蛍光強度と 5D_0 から 7F_2 への遷移（磁気双極

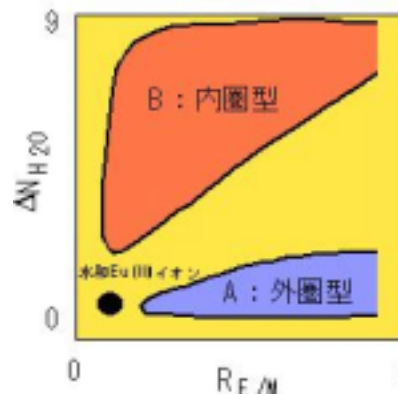


Fig.1 Coordination environment plot of Eu characterized by Time Resolved Laser Fluorescence Spectrometry. For the symbols and details, see section 2

子)による蛍光強度の比($R_{E/M}$)は Eu(III)の配位子場強度の指標となることが提案されている[8]。 N_{H_2O} と $R_{E/M}$ との関係キレート剤などに配位した既知の配位環境にある Eu(III)についてプロットすると幾つかのグループに分けられことから、 N_{H_2O} と $R_{E/M}$ との関係は Eu(III)の配位環境を反映していると考えられる(Fig. 1)。

配位環境プロット法を用いて、Eu(III)のクロレラとセルロースへの吸着について検討した。その結果、クロレラへの吸着は細胞表面のセルロースへの吸着が主であること、及び配位環境プロットから分配係数が大きいにもかかわらず“弱い”吸着形態であることが分かった。さらに、吸着の経時変化を調べた結果、吸着の最大値には数分-数十分程度で達した。その後、吸着の割合は減少した。クロレラからは溢泌物が排出されていたことから、Eu(III)の一部が溢泌物と錯生成したために、細胞表面への吸着が阻害されたと考えられる。

Microbial effects on actinides migration -Research review - by Toshihiko Ohnuki (ohnuki@sparc.tokai.jaeri.go.jp) Takuo Ozaki, Takahiro Yoshida
本稿は日本原子力学会バックエンド部会第20回「バックエンド夏期セミナー」における講演内容に加筆したものである。

* 日本原子力研究所、先端基礎研究センター、重元素マイクロバイオロジー研究グループ Advanced Science Research Center, Japan Atomic Energy Research Institute,
〒319-1195 茨城県那珂郡東海村白方2-4

3 アクチノイドの微生物による鉱物化機構

鉱物化としてはU(VI)の硫酸還元菌による UO_2 の生成が広く知られている。一方、微生物の必須元素のPを細胞内に濃集する菌も存在する。酵母(実験室酵母)もその一種である。著者らは、実験室酵母とU(VI)との相互作用を検討した。 4×10^{-4} MのU(VI)溶液を酵母と96時間接触させたところ、細胞表面にH-autuniteが生成した。まだ、機構は明らかになっていないが、接触初期にはH-autuniteの生成は確認されないことから、初期段階では細胞表面への吸着が支配的であると考えられる。その後、細胞内に蓄積されたPが細胞外に排出され、細胞表面に吸着したUと反応しH-autuniteが生成したものと考えている(Fig. 2)。

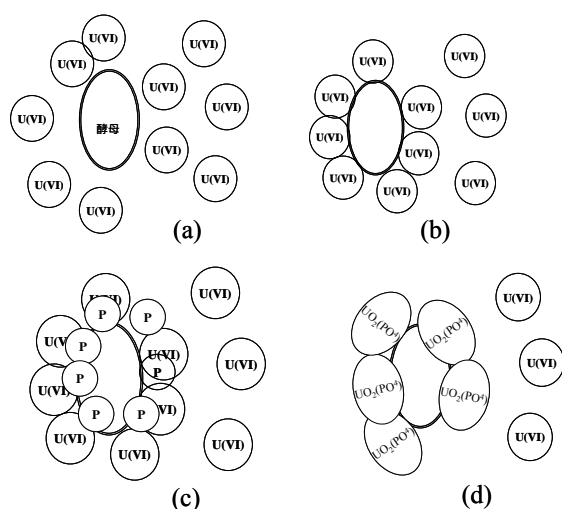


Fig.2 Uranium mineralization mechanism occurred on yeast cells.

- (a): Initial stage,
- (b): U is sorbed on the cell,
- (c): Sorbed U stimulate cell causing P release,
- (d) : Formation of uranyl-phosphate mineral.

4 アクチノイド - 有機酸錯体と微生物との相互作用

一般にアクチノイドは中性溶液中では溶解度が低いため、移動性が低いと考えられている。天然には腐植物質などの有機物が存在し、アクチノイドと錯体を生成する。アクチノイド - 有機物錯体の溶解度は水和イオンに比較して高いため、移動性を高める可能性がある。

微生物が排出する有機酸は種類が多く、微生物種によって異なる。しかしながら、Fe(III)を可溶化するシデロフォアは多くの微生物が生産することが知られている。そこで、シデロフォアとIII価アクチノイド(代替としてEu(III)), IV価アクチノイド(代替としてHf(IV))との錯体と蛍光菌との相互作用について検討した[4-5]。

蛍光菌はFe(III)シデロフォア錯体を分解しなかった。吸着挙動をpH7のDFO錯体溶液を用いて調べた結果、Hf(IV)はほとんど吸着しなかった。一方、Eu(III)は吸着し

た。比較のため、Fe(III)を用いて吸着実験を行ったところ、Fe(III)はほとんど吸着しなかった。これらの結果から、吸着は金属イオンの酸化数に依存しているのではなく、錯体安定度に依存していることが分かった。さらに、Eu(III)-シデロフォア錯体の吸着実験で溶液中のシデロフォア濃度を測定したところ、シデロフォア濃度は変化しなかった。微生物細胞表面にはカルボキシル基、リン酸基などの官能基が存在することから、吸着は配位子交換によるものと結論された。

5 陰イオン化学種の移行への影響

陰イオン化学種として存在する元素は地層を構成する鉱物に吸着され難いため、地下水中での移行速度が陽イオン化学種に比べて速いと考えられている。⁷⁹Seは核分裂生成核種の一つで半減期が十万年以上である。Seは酸化雰囲気においては2種類のセレン酸イオン種として存在する。Seと類似の挙動を呈すると考えられるのが、Asである。Asも酸化雰囲気ではヒ酸と亜ヒ酸の2種類のオキソ酸化学種として存在する。そこで、As鉱山跡地周辺において、Asの挙動への微生物の影響について調査した[6]。

As鉱山跡地の鉱廃水流出地点付近には底部にオレンジ色の沈殿物が観察された。鉱廃水の下流になるに従い、As及びFeの濃度が減少した。溶液中のAs及びFeの酸化数はそれぞれV価及びII価であり、溶液のpHは4.7であった。沈殿物を採取し、原研の加速器施設(TIARA)において粒子誘起X線放射解析(PIXE)により元素の2次元分布を測定した結果、Asが存在する領域にはFeが存在した。高エネルギー加速器研究機構(KEK)、放射光施設(PF)においてXANESにより沈殿物中のAs及びFeの酸化数を測定した結果、それぞれV価及びIII価であった。XRD、TEM及びSAED分析の結果、Feを含む沈殿物はシュベルトマナイトと同定された。

水中の微生物種を変性剤濃度勾配電気泳動法(DGGE)解析により分析した結果、数種類の微生物種の存在が示唆された。16SrRNAのPCR増幅とデータベースとの比較からガリオネラ様の微生物の存在が明らかとなった。流出した鉱廃水を採取し、17日間室温において静置した結果、

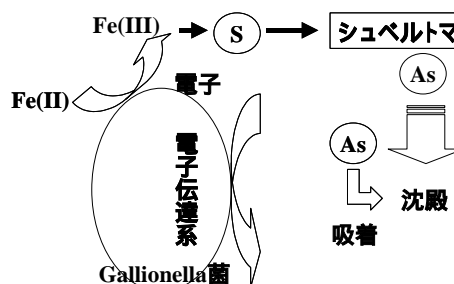


Fig.3 Mechanism of As accumulation to the biomat of Fe(III) precipitates occurred by the activity of Fe-oxidizing bacteria, *Gallionella* sp.

溶液中の Fe, As 濃度が減少し, 含 Fe 沈殿物が観察された。一方, 0.20 μm のフィルター滅菌した溶液では, Fe 濃度は変化しなかった。ガリオネラは鉄酸化細菌であることから, 沈殿物生成は, ガリオネラが関与する Fe(II) Fe(III)反応によるものと考えられる。

以上の結果から, AsO_4^{3-} はガリオネラによる Fe(II) Fe(III)反応により生成したシュベルトマナイトとの共沈および吸着により水溶液中から固相中に取り込まれたものと結論付けた(Fig. 3)。

6 アクチノイドの挙動への影響

これまで地層処分に関連して進められてきたアクチノイドなどの移行挙動では, 無機構成物質を対象とした研究が主であった。そこで, 微生物によるアクチノイドの移行挙動への影響を無機物質の遅延機構との比較からまとめてみる。無機物質による遅延としては吸着及び酸化・還元によるアクチノイドの不溶化がある。吸着に関与するのは鉱物構成元素の同型置換による負荷電(永久荷電)と表面のシラノール基やアルミノール基の解離による荷電(変異荷電)である。一方, 微生物表面にはカルボキシル基やリン酸基が存在し, それらは溶液の pH により解離し, 正あるいは負に帯電する。鉱物も微生物も表面は pH が低い領域では正に帯電し, 高く(アルカリ)なるに従い, 0 から負になる。ここで, 注意が必要なのは総電荷が負であっても, 全ての官能基が負に解離しているわけではなく, 中には正に帯電しているものもある。アクチノイドでは, 微生物と鉱物との官能基に依存した吸着形態の違いが考えられ, 今後, 研究が必要である。著者らが行った予備検討では, 微生物細胞表面官能基が鉱物のそれよりもアクチノイドを強く吸着する結果が得られている。微生物の持つ高いバリア性能を示す結果である。

酸化・還元機構としては, Fe, Mn あるいは S を含む鉱物の酸化・還元に伴うアクチノイドの還元・酸化がある。特に鉄鉱物に関しては, 多くの研究がなされている。微生物の場合には, 菌の種類により Fe, Mn などの酸化・還元を呼吸に利用しているものがある(酸化菌・還元菌)。U(VI) を直接還元する菌も報告されている。ただし, 微生物の有する還元能については, 還元電位など不明な点も多く, 今後の研究課題であろう。微生物の呼吸については, 好気性菌(酸素を呼吸に使っている菌)について, 培養試験を行った場合に, 培地中の酸化還元電位が負になった。このことは, 処分施設を閉鎖した後の還元環境を形成するのは微生物活動によることを示唆している。処分環境への微生物の寄与については今後進めるべき課題と考える。

参考文献

- 現状と今後の課題—: 原子力バックエンド研究, **9**, 35-42(2003).
- [2] Ozaki T., Arisaka M., Kimura T., Francis A.J., & Yoshida Z.: Empirical method for prediction of the coordination environment of Eu(III) by time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **374**, 1101-1104 (2002).
- [3] Ozaki T., Kimura T., Ohnuki T., Yoshida Z., & Francis A. J.: Association mechanisms of europium(III) and curium(III) with *Chlorella vulgaris*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **22**, 2800-2805 (2003).
- [4] Yoshida, T. Ozaki, T. Ohnuki, T., & Francis A.J.: Interaction of trivalent and tetravalent heavy metal-siderophore complexes with *Pseudomonas fluorescens*, *Radiochim. Acta* (in press).
- [5] Yoshida, T. Ozaki, T. Ohnuki, T., & Francis A.J.: Adsorption of rare earth elements by $-\text{Al}_2\text{O}_3$ and *Pseudomonas fluorescens*, in the presence of desferrioxamine B: Implication of siderophore for the Ce anomaly, *Chem. Geol.* (in press).
- [6] Ohnuki T., Sakamoto F., Kozai N., Ozaki T., Yoshida T., Narumi I., Wakai E., Sakai T., & Francis A.J.: Mechanisms of arsenic immobilization in biomat from mine discharge water, *Chem. Geol.* (in press).
- [7] Kimura T. & Kato Y. Luminescence study on determination of the hydration number of Sm(III) and Dy(III). *Journal of Alloys and Compounds*, **225**, 284-287 (1995).
- [8] Richardson F. S.: Terbium(III) and Europium(III) ions as luminescent probes and stains for biomolecular systems. *Chemical Review*, **374**, 541-552 (1982).
- [1] 大貫敏彦: 地層処分における微生物の影響 —研究の

