

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 14 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22760681

研究課題名（和文） 硝酸還元菌による放射性核種の新規移行遅延効果の解明

研究課題名（英文） Retardation of the migration of radionuclides by nitrate-reducing microorganisms

研究代表者

田中 万也 (TANAKA KAZUYA)

広島大学・サステナブル・ディベロップメント実践研究センター・特任講師

研究者番号：60377992

研究成果の概要（和文）：

生物性 Mn 酸化物への Co 及びアクチノイド(Th(IV), Np(V), U(VI))の吸着挙動について研究を行った。人工的に合成した Mn 酸化物(δ -MnO₂)と比較すると、生物性 Mn 酸化物は特異的な吸着挙動を示した。このような吸着挙動の違いは、生物性と人工合成 Mn 酸化物の構造の違いや微生物が排出する有機配位子と重元素の錯生成が影響していると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

In this study, adsorption behavior of Co and actinides (Th(IV), Np(V), U(VI)) on biogenic Mn oxide was examined. Compared with abiotically synthesized Mn oxide of δ -MnO₂, biogenic Mn oxide showed rather contrasting adsorption behavior. The specific adsorption behavior of the biogenic Mn oxide was possibly attributed to the structural difference between biogenic Mn oxide and δ -MnO₂, and organic ligands released from microorganisms.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：地球化学（希土類元素、アクチノイド）

科研費の分科・細目：総合工学・原子力学

キーワード：バックエンド、硝酸還元菌、Mn 酸化物、移行遅延、放射性核種

1. 研究開始当初の背景

放射性廃棄物の地層処分では、環境中へ放射性核種が漏えいした場合のそれらの移行挙動予測が懸念事項となっている。再処理工場、MOX 燃料加工工場などから発生する超ウラン元素を含む放射性廃棄物（以下、TRU 廃棄物）については、高レベル放射性廃棄物との併置処分により行う予定である。TRU 廃棄物の特徴としては硝酸塩濃度が高いことで

ある。こうした硝酸イオンは溶解度が小さく移動性が低いと考えられている U(IV)、Np(IV)や Pu(IV)を移動性の高い U(VI)、Np(V)や Pu(VI)に酸化する可能性がある。このことから、TRU 廃棄物などの硝酸塩を含む廃棄物処分では、放射性核種の移行促進が懸念されている。しかし、地下水に溶解した硝酸イオンの放射性核種の移行挙動への影響は未だ解明されていない。一方、硝酸イオンは

微生物の呼吸における電子受容体、すなわち有機物の分解や酸化数の小さなイオンを酸化することにより得た電子を供与する対象となる。そのため、幌延や東濃などの地下水中に存在する硝酸を還元することが可能な微生物(硝酸還元菌)や、硝酸還元酵素を同定する生物学的な研究が行われている。

2. 研究の目的

4 価の Mn は溶解度が低いので 2 価の Mn が酸化されることで Mn 酸化物が形成する。Mn 酸化物は重金属を強く吸着及び酸化することから、環境中での放射性核種の移行遅延効果があると期待される。特に、環境中に産出する Mn 酸化物はその多くが微生物起源であると考えられていることから、微生物が形成する Mn 酸化物への放射性核種の吸着挙動を調べる必要があった。

先に述べたように、硝酸塩は TRU 廃棄物処分において放射性核種の移行を促進することなどが懸念されている。本研究計画では、硝酸塩を還元する微生物の活動が放射性核種の移行遅延に与える効果について明らかにすることを最終目的とした。具体的には、硝酸還元モデル微生物として Mn(II) 酸化菌を用いて微生物起源の Mn(IV) 鉱物による放射性核種の不動化過程を実験的に検証し、その機構を明らかにする。

3. 研究の方法

コバルトには放射性同位体である ^{60}Co がある。また、Th(IV), Np(V), U(VI) はそれぞれ Pu(IV), Pu(V), Pu(VI) のアナログとして重要である。そして、これらは放射性廃棄物に含まれる重要な放射性元素である。そのため、本研究では主に Co 及び Th(IV), Np(V), U(VI) を研究対象とした。

本研究では Mn(II) 酸化細菌である *Pseudomonas* sp. NGY-1 株及び Mn(II) 酸化真菌 *Acremonium* sp. KR21-2 株を用いて研究を進めた。これらの Mn(II) 酸化菌の培養には Tani et al. (2004) による培養法を用いた。Mn(II) 酸化菌により形成させた Mn 酸化物の構造は透過型電子顕微鏡(TEM)、粉末 X 線回折法(XRD)及び X 線吸収微細構造(XAFS)法を用いて調べた。XAFS は X 線吸収端構造(XANES)と広域 X 線吸収微細構造(EXAFS)の二つのエネルギー領域に分けられ、XANES からは元素の酸化状態、EXAFS からは原子間距離や配位数すなわち局所構造を調べることができる。

生物性 Mn 酸化物の構造を調べた後、生物性 Mn 酸化物への Co 及びアクチノイド吸着実験を行った。10 mM NaCl 水溶液に生物性 Mn 酸化物と Co(II) (ここでは安定同位体である ^{59}Co を用いた)、またはアクチノイド(Th(IV), Np(V), U(VI)) を添加した後 pH を調整した。ここで Mn 酸化物と微生物細胞は分離せず実

験系に加えた。25°C で振とうさせながら水溶液中の Co またはアクチノイドを吸着させた。吸着後の水溶液試料を孔径 0.2 μm のフィルターでろ過回収した後、水溶液中に残った Co またはアクチノイドの濃度を ICP-MS を用いて定量した。ICP-MS の測定結果から、生物性 Mn 酸化物への吸着量を計算した。コバルト及びアクチノイドの初期濃度はそれぞれ 4 μM , 1 μM とした。また、比較として人工合成した Mn 酸化物($\delta\text{-MnO}_2$)を用いて同様の実験を行った。

アクチノイドを用いた実験はすべて原子力研究開発機構原子力科学研究所(東海村)で行った。生物性 Mn 酸化物の構造及び生物性 Mn 酸化物への吸着後の Co の酸化状態はそれぞれ EXAFS 及び XANES により決定した。XAF スペクトル測定は高エネルギー加速器研究機構の Photon Factory にあるビームライン BL12C にて行った。

4. 研究成果

生物性 Mn 酸化物の XRD パターンには明瞭なピークが認められず、結晶性の低い構造をしていることが示唆された。TEM 観察により生物性 Mn 酸化物はナノスケールサイズの粒子の凝集体であることがわかり、XRD パターンには明瞭なピーク認められない結果と調和的であった。Mn-K 吸収端 EXAFS スペクトルの測定結果を Fig. 1 に示した。人工合成した Mn 酸化物や天然に産出する Mn 酸化物とのスペクトルの比較から、生物性マンガン酸化物はシート状構造である birnessite 様の構造を持つ天然 Mn 酸化物と類似した構造を持つことが明らかとなった。

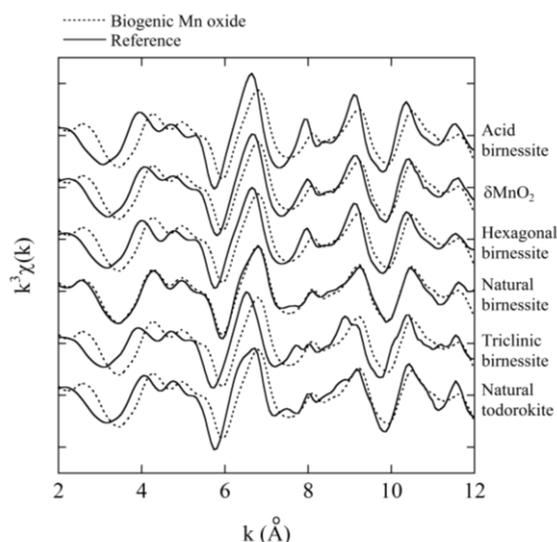


Fig. 1. Mn-K 吸収端 EXAFS スペクトル。点線は生物性 Mn 酸化物を示しており、実線は人工的に合成した Mn 酸化物や天然 Mn 酸化物との比較をした。

生物性 Mn 酸化物への Co 吸着実験の結果を Fig. 2 に示した。比較として人工合成 Mn 酸化物を用いた実験結果もプロットした。生物性 Mn 酸化物への Co 吸着量は時間とともに増加し、24 時間でおおよそその吸着平衡に達した (Fig. 2a)。人工合成 Mn 酸化物への Co 吸着は生物性 Mn 酸化物に比べて早く数時間のうちに吸着平衡に達した。48 時間後の Co 吸着量を pH に対してプロットすると、生物性 Mn 酸化物への Co 吸着量は pH が増加するにつれて増加するのに対して、人工合成 Mn 酸化物はすべての pH においてほぼすべての Co を吸着した (Fig. 2b)。これらの吸着実験から生物性 Mn 酸化物は人工合成 Mn 酸化物に比べて Co の吸着速度が遅く、吸着量が少ないことが明らかとなった。これらの違いは生物性 Mn 酸化物と人工合成した Mn 酸化物の構造の違い (Fig. 1)、または微生物細胞との共存や微生物が排出する有機物の影響等が考えられる。例えば、研究代表者はこれまでに、Ce が

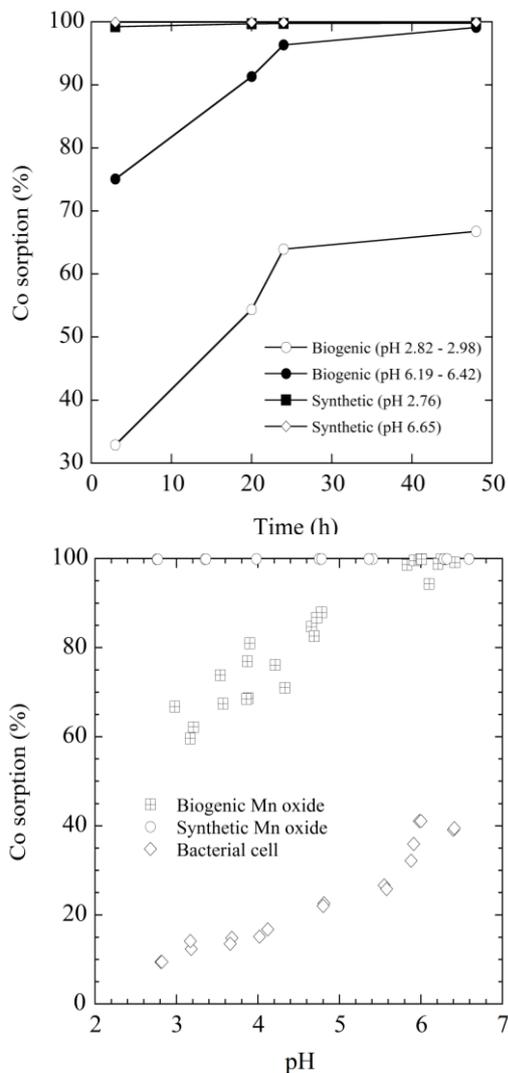


Fig. 2. Mn 酸化物への Co 吸着量. (a) 時間に対する吸着量変化. (b) pH に対する吸着量変化.

生物性 Mn 酸化物上で Ce (IV) に酸化された後、微生物由来の有機配位子と強く結合することで水溶液中において安定し、その結果 Ce 吸着量が他の希土類元素に比べて減少することを明らかにした (Tanaka et al., 2010)。そこで同様のことを考え水溶液中での Co と微生物由来の有機配位子との錯生成の可能性をサイズ排除型カラム HPLC-ICP-MS 分析を用いて検討した。しかし、水溶液中での Co と微生物由来の有機配位子の錯生成を示す明確な結果は得られなかった。したがって、生物性 Mn 酸化物と人工合成 Mn 酸化物の間の Co 吸着量の違いはそれらの構造の違い、あるいは微生物細胞が共存することによる吸着における競合など何らかの影響を与えているものと考えられる。

Co-K 吸収端の XANES スペクトルを Fig. 3 に示した。2 価の標準物質である CoCl_2 水溶液と 3 価の標準物質である CoOOH のスペクトルを比較すると、3 価 Co の吸収端ピークの方がより高エネルギー側にシフトしていることがわかる。したがって、ピークの位置から Co の酸化状態を知ることができる。生物性 Mn 酸化物と $\delta\text{-MnO}_2$ に吸着した Co のピーク位置は CoOOH と同じであり、添加した水溶液中の 2 価 Co が Mn 酸化物表面上で 3 価に酸化されたことがわかる。しかしながら、Mn 酸化物と CoOOH のスペクトルを比較すると、Mn 酸化物のピークトップの方がわずかに低く、2 価のピークトップの位置にわずかに膨らみが認められる。このことは一部の Co はされずに 2 価のまま吸着していることを示している。2 価の割合は pH が低い方が多く、中性の方が Co の酸化がより進むことを示している。

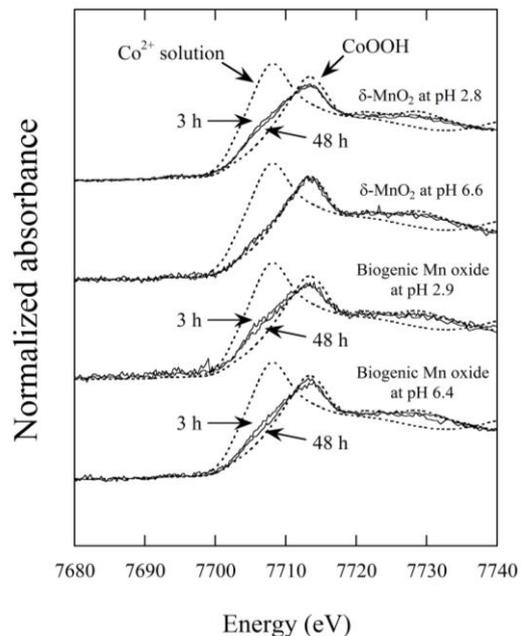


Fig. 3. Co-K 吸収端 XANES スペクトル.

Mn 酸化物へのアクチノイド(Th(IV), Np(V), U(VI))吸着実験の結果を Fig. 4 に示した。添加したすべての Th(IV) と U(VI) が 1 時間以内に δ -MnO₂ へ吸着した(Fig. 4a)。これに比べて Np(V) の吸着速度は遅いものの、2 日ほどで吸着平衡に達した。生物性 Mn 酸化物へのアクチノイド吸着挙動は δ -MnO₂ とはまったく異なるものであった(Fig. 4b)。Np(V) は生物性 Mn 酸化物へ殆ど吸着しなかった。U(VI) は吸着平衡に達するまでに一週間かかった。さらに、Th(IV) は一旦生物性 Mn 酸化物に強く吸着するものの時間とともに次第に脱着していくこともわかった。

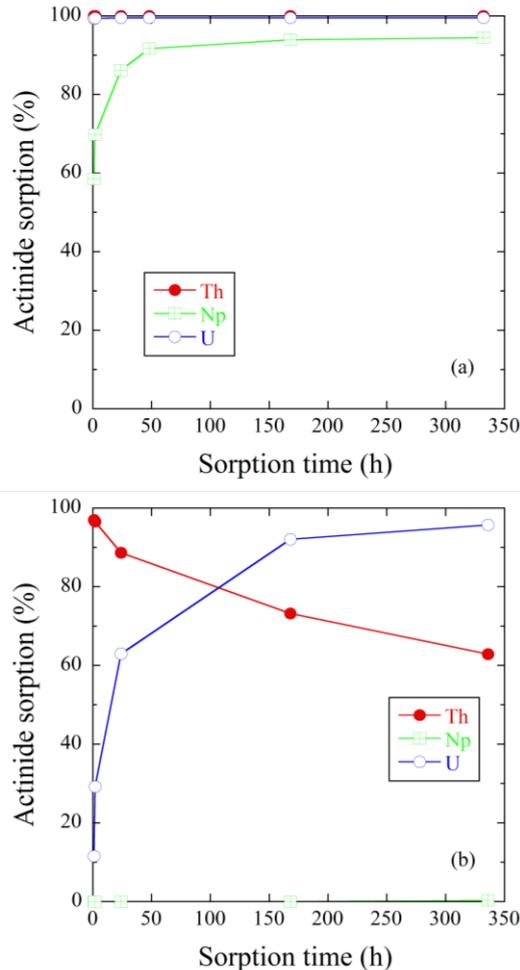


Fig. 4. Mn 酸化物へのアクチノイド吸着量時間変化. (a) pH6.1 における δ -MnO₂ への吸着量. (b) pH5.9 での生物性 Mn 酸化物への吸着量.

吸着実験開始から 2 週間後のアクチノイド吸着量を pH に対してプロットした(Fig. 5)。 δ -MnO₂ へ吸着への Th(IV) は非常に強く pH3~6 ではほぼすべてが吸着した(Fig. 5a)。Np(V) と U(VI) は pH が増加するにつれて吸着量が増加した。一方、生物性 Mn へは Np(V) がほとんど吸着せず、pH が中性付近で少し吸着した(Fig. 5b)。Th(IV) の吸着量は pH の増加とともに減少した。

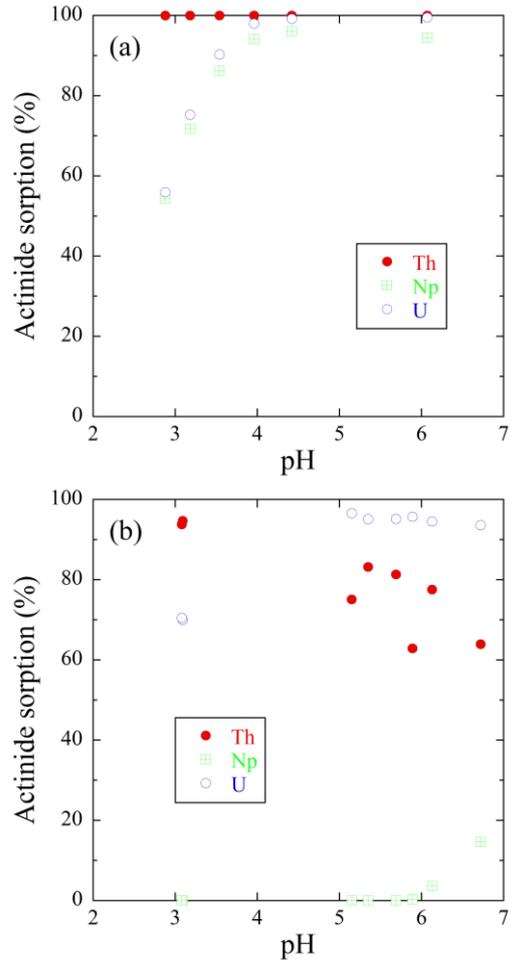


Fig. 5. Mn 酸化物へのアクチノイド吸着量. (a) δ -MnO₂. (b) 生物性 Mn 酸化物.

生物性 Mn 酸化物への Th(IV) 吸着量が時間や pH の変化とともに減少していくことは微生物から排出された有機配位子が関与していることを示唆している(Figs. 4b and 5b)。すなわち、Th(IV) が Mn 酸化物上に一旦吸着した後、微生物由来の有機配位子と強く結合することにより溶液中で安定化し次第に脱着していくものと解釈できる。時間とともに Th(IV) が脱着して吸着量が減少していくことは微生物細胞から徐々に有機配位子が排出されていくことと調和的である。Ce(IV) と微生物由来の有機配位子の錯生成は pH が高いほど強くなることから(Tanaka et al., 2010)、pH の増加とともに Th(IV) 吸着量が減少することは水溶液中で Th(IV) が有機配位子と錯生成して安定化したことを示している。

Np(V) は有機配位子と強い錯体を形成しないことから、 δ -MnO₂ と生物性 Mn 酸化物への吸着量の違いは人工合成と生物性 Mn 酸化物の構造の違いによるものと考えられるが現時点でははっきりとした原因は分かっていない(Fig. 1)。また、微生物細胞の共存による影響の可能性も考えられる。

本研究の成果からこれまでほとんど指摘されてこなかった生物性 Mn 酸化物への重元素の特異的吸着挙動が明らかとなった。これまでの研究では人工合成した Mn 酸化物で研究が行われることがほとんどであったが、実際の環境中の Mn 酸化物形成には微生物が関与していることから、本研究の成果は今後の関連研究に大きなインパクトを与えるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. Tanaka, K., Takahashi, Y., Sakaguchi, A., Umeo, M., Hayakawa, S., Tanida, H., Saito, T. and Kanai, Y. Vertical Profiles of Iodine-131 and Cesium-137 in Soils in Fukushima Prefecture related to the Fukushima Daiichi Nuclear Power Station Accident. *Geochem. J.*, 査読有, 46, 2012, 73-76.
2. Doi, H., Takahara, T. and Tanaka, K. Trophic Position and Metabolic Rate Predict the Long-Term Decay Process of Radioactive Cesium in Fish: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 査読有, 7(1), 2012, e29295. doi:10.1371/journal.pone.0029295.
3. Kozai, N., Ohnuki, T., Sakamoto, F., Suzuki, Y., Tanaka, K., Iefuji, H. and Sakai, T. Accumulation of Co in Yeast Cells under Metabolically Active Condition - Implication for Role of Yeast in Migration of Radioactive Co -. *J. Nucl. Sci. Technol.*, 査読有, 48, 2011, 1206-1213.
4. Tanaka, K., Tani, Y. and Ohnuki, T. Specific Sorption Behavior of Actinoids on Biogenic Mn Oxide. *Chem. Lett.*, 査読有, 40, 2011, 806-807.
5. Jiang, M., Ohnuki, T., Kozai, N., Tanaka, K., Suzuki, Y., Sakamoto, F., Kamiishi, E. and Utsunomiya, S. Biological nano-mineralization of Ce phosphate by *Saccharomyces cerevisiae*. *Chem. Geol.*, 査読有, 277, 2010, 61-69.
6. Tanaka, K., Tani, Y., Takahashi, Y., Tanimizu, M., Suzuki, Y., Kozai, N. and Ohnuki, T. A specific Ce oxidation process during sorption of rare earth elements on biogenic Mn oxide produced by *Acremonium* sp. strain KR21-2. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 査読有, 74, 2010, 5463-5477.
7. Takahashi, Y., Yamamoto, M., Yamamoto, Y. and Tanaka, K. EXAFS study on the cause of enrichment of heavy REEs at bacterial

cell surfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 査読有, 74, 2010, 5443-5462.

8. Suzuki, Y., Tanaka, K., Kozai, N. and Ohnuki, T. Effects of citrate, NTA and EDTA on the reduction of U(VI) by *Shewanella putrefaciens*. *Geomicrobiol. J.*, 査読有, 27, 2010, 245-250.

[学会発表] (計 6 件)

1. Tanaka, K., Tani, Y. and Ohnuki, T. Sorption anomaly of Ce by biogenic Mn oxide: A specific Ce(III) oxidation to Ce(IV) by biogenic Mn oxide. Migration2011, September 19, 2011, Beijing, China.
2. 田中万也, 高橋嘉夫, 坂口綾, 齋藤隆, 福島県表層土壌コア試料中の放射性ヨウ素 (¹³¹I) 及びセシウム (¹³⁷Cs) の深度プロファイル, 2011 年度地球化学会年会 (招待講演), 2011 年 9 月 14 日, 北海道大学
3. Tanaka, K., Tani, Y. and Ohnuki, T. Specific sorption of Th(IV), Np(V) and U(VI) on biogenic Mn oxide. Goldschmidt2011, August 18, 2011, Prague, Czech Republic.
4. 田中万也, 大貫敏彦, 生物性 Mn 酸化物による Co 酸化過程, 日本原子力学会 2010 年秋の大会, 2010 年 9 月 17 日, 北海道大学
5. 田中万也, 鈴木義規, 姜明玉, 宇都宮聡, 大貫敏彦, 微生物による重元素の化学状態変化に伴う鉱物化, 2010 年度日本地球化学会年会 (招待講演), 2010 年 9 月 9 日, 立正大学
6. Tanaka, K., Suzuki, Y. and Ohnuki, T. Co oxidation by Mn oxide produced by a Mn-oxidizing bacterium. Goldschmidt Conference2010, June 15, 2010, Knoxville, USA

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 万也 (TANAKA KAZUYA)

広島大学・サステナブル・ディベロップメント実践研究センター・特任講師

研究者番号: 60377992

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号：