

行政院原子能委員會
委託研究計畫研究報告

高完整性混凝土處置容器之長期抗菌性研究

**Investigation of the Anti-Microbial Effects on High Integrity Container for
Storage Disposal of Radioactive Waste**

計畫編號：1042001INER038

受委託機關(構)：國立清華大學原科中心

計畫主持人：周鳳英

核研所參與人員：張清土、陳鈺沛

聯絡電話：03-5742884

E-mail address：fichou@mx.nthu.edu.tw

報告日期：104年12月15日

目 錄

目 錄.....	I
中文摘要.....	1
ABSTRACT.....	1
壹、計畫緣起與目的.....	3
貳、研究方法與過程.....	7
一、高完整性混凝土處置容器製備.....	7
二、微生物培養.....	7
三、菌株培養與計數.....	8
四、高完整性混凝土處置容器對真菌及細菌之抗菌性測試.....	9
(一) 以 ASTM G21-09 規範測試高完整性混凝土處置容器對真菌之抗 菌性：.....	9
(二) 以 ASTM G22-76 測試高完整性混凝土處置容器樣品對細菌之抗 菌性：.....	11
五、高完整性混凝土處置容器重量損失之腐蝕係數估算.....	12
六、抗壓強度試驗—核研所進行.....	12
七、菌株於含高完整性混凝土處置容器樣品的水溶液中對放射性核種 之吸附能力測試.....	13
參、主要發現與結論.....	15
一、高完整性混凝土處置容器經 ASTM-G21 及 G22 抗菌性測試結果..	15

二、 以 ASTM-G21、ASTM-G22 測試處理前、後之 HPC 及 RPC 試體 之抗壓強度變化	26
三、 菌株於含高完整性混凝土處置容器材料的水溶液中對放射性核種 之吸附能力測試	28
肆、 參考文獻.....	33

中文摘要

高完整性容器 (high integrity container, HIC) 為處置放射性固體廢棄物所使用的容器之一，具穩定性及耐久性，可作為難以固化或固化效率低之放射性廢棄物的直接處理，亦可作為已固化樣品之外層包裝。微生物為接觸放射性廢棄物之第一線生物，台灣高溫多濕海島環境下，微生物對放射性廢棄物處置之影響在長期處置安全上需列入評估之因素。

本計畫為進行核研所研製之高完整性混凝土處置容器 (分為高結構完整性混凝土處置容器 (HPC) 及活性粉混凝土 (RPC)) 之耐生物劣化研究，內容包括第一部份是依 ASTM G21、G22 測試方法進行上漆的 HPC 及 RPC 試體之抗菌性測試，並以增高施菌量進行微生物對 HPC 及 RPC 試體加速劣化測試，以瞭解微生物造成 HPC 及 RPC 材料抗壓強度之影響。第二部份為評估在 HPC 及 RPC 試樣存在的環境中，鈣離子及鐵離子對菌株吸附 Co-60 及 Cs-137 放射性核種能力之影響。結果顯示上述之 HPC 及 RPC 試體以 ASTM G21、G22 測試，及以 10 倍菌量的加速測試，其於第 1 個月、3 個月及 6 個月後，僅有少量菌絲生長於試體上，對試體抗壓強度、重量變化均無顯著影響。在 HPC 及 RPC 試樣存在下 100 ppm 鈣離子濃度對菌株吸附 Co-60 及 Cs-137 有明顯抑低的情形，而 10 ppm 鈣離子或鐵離子對菌株吸附核種則無明顯的影響。本研究提供高完整性容器應用於低放射性最終處置場安全評估之數據。

關鍵詞：高完整性容器、微生物腐蝕、抗菌性

Abstract

High integrity container (HIC) is an alternative option for the containers

used for the disposition of radioactive waste materials, has a very outstanding durability and can be used for the direct treatment for those radioactive waste materials that are either difficult to be solidified or have low solidification efficiencies. Also, it can be used as external packing materials for those solidified samples. Microorganism is the first one to contact with radioactive waste. As the island's hot and humid climate in Taiwan, microbial effect on the HIC need to be concerned in the safety of the long-term disposal.

This project is to investigate the biodegradation resistance of High Performance Container (HPC) and Reactive Powder Concrete (RPC) produced by INER, and carried out in two parts. The first part is the anti-microbial tests of HPC and RPC, in accordance with U.S. ASTM G21 and G22 standard test methods, and a high concentration of microbes added to accelerate the corrosion testing for evaluation of the microbial impacts on the compression strength of HPC and RPC. As well as following the ASTM G21 and G22 specification tests and a high concentration of microbes tests, the results showed that some of fungal mycelium grown on the surface of HPC and RPC specimens was observed after 1, 3 and 6 months of microbial treatment, but it didn't obviously affect the compression strength of tested specimens. The second part was to evaluate the effects of calcium and iron ions on microbial adsorption of Co-60 and Cs-137 under the presence of HPC and RPC. Results showed adding 100 ppm calcium ions was significantly reduced the adsorption capacities of the tested strains for Co-60 and Cs-137 under the presence of HPC and RPC. However, the microbial adsorption of Co-60 and Cs-137 was not significantly affected by the adding of 10 ppm calcium or iron ions.

Results of this study will provide sound data for the safety evaluation parameters over the disposal of radioactive waste materials with HIC.

Key words: high integrity container, microbial corrosion, anti-microbial tests

壹、計畫緣起與目的

隨著核能使用、放射性廢棄物的大量產生及環保意識之抬頭，放射性廢棄物之處置成為全球關注的焦點。將放射性核種與人類的生活圈隔離是放射性廢棄物管理中最重要的工作及最終目標，自1958年來國際上運轉中或曾經運轉過的LLRW處置場已超過100座，運轉中的LLRW處置場至102年底共77座（原能會，http://www.aec.gov.tw/webpage/control/waste/files/saf6_sub-1.pdf）。美國LLRW處置之體積由1999至2003年間大幅增加200% (GAO, 2004)。台灣歷年來各核能電廠及蘭嶼貯存場之低放射性固化廢棄物產量，至2013年總計容量達204,290桶，近年來各電廠對放射性廢棄物積極減容（下圖1），其產量有明顯抑低，但仍呈緩慢增加的狀態，放射性廢棄物之處理與貯存安全性評估更趨重要。

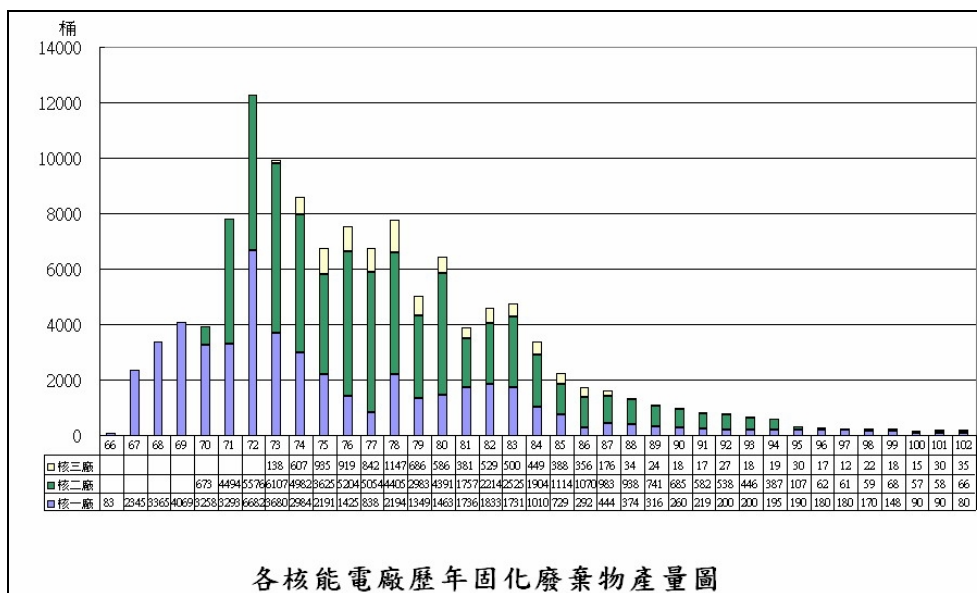


圖1、台灣現有低放射性廢棄物貯存桶量（至2013年底，資料來源

http://gamma1.aec.gov.tw/fcma/national_quantity.asp)

國內濕性低放射性廢棄物於貯存前多先以水泥、柏油或高分子聚合物等將其安定化（固化）後，再將其裝入可提供穩定性之容器或障壁結構體中，目前是以油漆之鍍鋅鋼板所製之圓桶盛裝固化廢棄物後進行貯存。然金屬桶材於自然界長時間貯存，易受環境中之水分、微生物、鹽分、酸鹼度等影響而產生腐蝕，且隨時間增長腐蝕破壞之嚴重性也隨之提升。高完整性容器（high integrity container, HIC）為處置放射性固體廢棄物所使用的容器之一，法國原子能委員會對HIC提出建議測試標準，以確保其具高強度、防水（火）性、抗化學性、可抵抗地震等破壞、使用年限達300年以上（李騰芳，2000）。廢樹脂、脫水污泥、過濾器材等若能滿足美國B級與C級的固體放射性廢棄物之定義者，皆可以此類容器盛裝後處置之。美國、日本及法國均已成功開發新HIC，且獲得美國核能管制委員會（Nuclear Regulatory Commission, NRC）之執照，並於部分國家中使用。HIC具耐久性並可應用於長半衰期高活度廢棄物之最終處置，可作為難以固化或固化效率低之放射性廢棄物的直接處理，亦可作為已固化樣品之外層包裝，增加其工程障壁之安全、穩定性。目前製造HIC之材料主要有：特殊合金、強化混凝土、鋼纖維強化混凝土等（劉志添，2005）。

國際間對廢棄物固化體的穩定性探討，最初只根據固化體對物理與化學條件的承受能力進行評估，並沒有考慮固化體承受微生物降解之能力，可能是認為微生物不可能在高強度之輻射環境中生長。然微生物為接觸放射性廢棄物之第一線生物，過去20年來包含高活度及中低階活度放射性廢棄物處置場的放射性廢棄物微生物學被廣泛探討，文獻報導各國放射性廢棄物之地下處置場岩層中之微生物相，顯示多處環境中微生物量高於 10^5 CFU/mL（West and McKinley, 2002），Farkas等人分析匈牙利

利Upper Permian Siltstone處置場之地下微生物含量，包含空氣、地下水、岩石及樣品表層等67個取樣，共分離出277株微生物，測得地下水樣之微生物活度可達 10^6 CFU/mL，粉砂岩樣品的菌數為 $10^2 \sim 10^6$ CFU/g，含好氧、厭氧、產孢、抗輻射等各類微生物，顯示微生物可於處置場中生存良好，且硫酸鹽還原菌等所產生之酸及代謝後之複雜產物是造成地下貯存槽中核種遷移之重要因素(Farkas et al., 2000)。Nazina等人指出由俄羅斯西伯利亞化工總廠（Siberian Chemical Complex, SCC, Russia）之低及中階放射性廢棄物處置之滲漏水中好氧微生物活度高達 10^8 cells/mL (Nazina et al., 2010)。微生物是造成物質腐蝕的重要因子，文獻所載，於一般情況下約20%之物質腐蝕是由微生物造成 (Telegdi et al., 2005)。微生物對金屬及水泥等之腐蝕最早於1940年中期即開始被注意，但在1980年前之研究多著重於微生物對金屬及水泥等用於建築材料時所發生腐蝕之考量及評估。在Yucca Mountain Nuclear Repository之微生物影響腐蝕 (Microbially Influenced Corrosion) 評估數據中，顯示在多濕情況下微生物的存在可增加金屬5-6倍之腐蝕速率(Horn et al., 1998)。近20年來就放射性廢棄物之管制考量，已就微生物之影響作不同層面之探討。美國核能管制委員會 (NRC) 將微生物列入影響放射性廢棄物穩定之因素，依NRC之第10號報告 (10 CFR 61.56 Waste characteristics) 中將微生物對各類放射性廢棄物處置之影響已列為基本處置之影響已列為基本之評估項目，10 CFR 61.56 (b)(1)中明確規定：廢棄物產生者與廢棄物處置業主必須列出微生物活動對廢棄物固化體完整性的影響。依NRC之規定放射性廢棄物處置場所之建置，除需以ASTM G21、G22測試微生物對LLRW之生物降解影響外，在微生物對水泥固化體之穩定性測試亦有詳細探討，並對測試方法有持續改進之研究 (Rogers et al., 1994; 1996)。

低放射性廢棄物盛裝容器審查導則研究中，列出我國盛裝容器試驗主要測試項目分成兩部份，一為基本物理試驗，另一為環境曝露後的物理特性試驗。基本物理試驗包括拉伸試驗、壓縮試驗、撓曲試驗、潛變特性、熱膨脹試驗、硬度試驗等。而環境曝露後的物理特性試驗包括：熱循環試驗、伽馬射線和紫外線照射試驗、真菌和細菌降解試驗以及外部與內部化學物質曝露試驗（周鼎，101）。核研所研製之高完整性混凝土處置容器分為高結構完整性混凝土處置容器（HPC）及活性粉混凝土（RPC），本實驗室之前的研究對 HPC 及 RPC 試體進行 ASTM-G21、G22 標準菌株測試，結果顯示 HPC 及 RPC 試體之周圍均無抑菌圈形成，菌株皆可靠近試體生長，可觀察到部分黴菌菌株可於 HPC 及 RPC 樣品上生長，但未見明顯之細菌菌落生長；樣品處理後各樣品之抗壓強度均超過 1000 kgf/cm²，顯示微生物生長對受測之 HPC 及 RPC 樣品抗壓強度無明顯影響。但上述之 ASTM-G21、G22 真菌和細菌降解試驗其測試時間均低於 1 個月，較無法看出環境微生物對試體長期的影響。

自然環境中之細菌、真菌及酵母菌多具有吸附重金屬離子及放射性核種之能力(Li et al., 2015；Volesky and Holan, 1995)，不同之微生物因結構與生理代謝不同可能對不同之金屬等元素具有特殊之濃縮效果，如 *Pseudomonas fluorescens* 對鉛具濃縮效果、*Micrococcus luteus* 對鋁具吸附效果，而 *Pseudomonas aeruginosa* 及 *Saccharomyces cerevisiae* 皆對鈾具濃縮效果 (Roy et al.,2008；Tišáková et al., 2013)。微生物對金屬與核種之吸附能力及速度受菌株種類、生物質量濃度、有無生物活性、pH 值、溫度、其他金屬存在及陰、陽離子濃度等環境因子之影響 (Ledin et al., 1997; Pal et al., 2006；Ngwenya and Chirwa, 2010)。微生物為接觸放射性廢

棄物之第一線生物，在高完整性容器材料環境中，微生物對放射性核種吸附之影響程度值得探討。

台電公司依據「放射性廢棄物處理貯存及其設施安全管理規則」第九條之規定，於 101 年 12 月 24 日檢具「低放射性廢棄物混凝土盛裝容器」使用申請書，向行政院原子能委員會放射性物料管理局申請核准使用許可。該容器於設計、製造及試驗均符合相關法規之要求，在 50 年使用年限內具有防阻內部放射性物質外洩之功能，於 102 年 11 月 12 日以物二字第 1020002923 號函同意核備「低放射性廢棄物混凝土盛裝容器使用申請書」。國內目前耐 100 年需或更長期限之結構完整容器設計，需待更多研究數據齊備後，再申請更長期之使用年限。台灣本島及鄰近島嶼之環境高溫多雨、土壤富含有機質適宜微生物生長，本研究探討微生物對高完整性混凝土處置容器之貯存安全性的影響評估，可提供未來放射性廢棄物長期處置之重要參考依據。

貳、研究方法與過程

一、高完整性混凝土處置容器製備

本研究中使用之高完整性混凝土處置容器分為 HPC 及 RPC，由核研所製備提供，受測之高完整性混凝土處置容器樣品表面係塗佈台電所使用之 55 加侖鍍鋅鋼桶使用塗料，塗料資訊為：底漆為滲透型處理劑，面漆為壓克力矽烷面漆或氟素樹脂面漆。

二、微生物培養

微生物用培養基及磷酸緩衝液之配製所使用之培養基包括 Tryptic soy broth (TSB)、Tryptic soy agar (TSA)、Potato dextrose agar

(PDA)、Potato dextrose broth (PDB)、Nutrient agar (NA)，其配製方法如下：

TSB 之配製係取 17 g TSB 粉末 (Difco, Detroit, USA) 溶於 1.0 L 二次過濾水中，均勻溶解後定量分裝至玻璃試管中，進行高溫滅菌後冷卻備用；TSA 之配製係取 40 g TSA 粉末 (Difco, Detroit, USA) 溶於 1.0 L 二次過濾水中，混合均勻後進行高溫滅菌，待溫度降至約 45 °C 倒至平面培養盤上，每一盤約 15 mL 冷卻凝固後冷藏備用。PDB 之配製係取 24 g PDB 粉末 (Difco, Detroit, USA) 溶於 1.0 L 二次過濾水中，均勻溶解後定量分裝至玻璃試管中，進行高溫滅菌後冷卻備用；PDA 之配製係取 39 g PDA 粉末 (Difco, Detroit, USA) 溶於 1.0 L 二次過濾水中，混合均勻後進行高溫滅菌，待溫度降至約 45 °C 倒至平面培養盤上，每一盤約 15 mL 冷卻凝固後冷藏備用。

Nutrient Agar 之配製係取 23 g NA 粉末 (Difco, Detroit, USA) 溶於 1.0 L 二次過濾水中，混合均勻後進行高溫滅菌，待溫度降至約 45 °C 倒至平面培養盤上，每一盤約 15 mL 冷卻凝固後冷藏備用。

磷酸緩衝液之製備：取 4.54 g KH_2PO_4 及 5.43 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，先溶於適量水中，再將體積加至 1.0 L (pH 值為 7.2)。加入磁石攪拌均勻分裝至玻璃試管中，每管 9 mL，加蓋後經高壓滅菌，降至室溫後置於冰箱冷藏備用。

三、菌株培養與計數

第一部份抗菌性測試研究所選用之菌株為 ASTM G21 及 G22 所建議之標準菌株：*Aspergillus niger* (ATCC 9642)、*Penicillium pinophilum* (ATCC 11797)、*Chaetomium globosum* (ATCC 6205)、

Gliocladium virens (ATCC 9645) 、*Aureobasidium pullulans* (ATCC 15223) 真菌與 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 13388) 細菌。以上真菌菌株以 PDA 培養、細菌以 NA 培養。

第二部分核種吸附測試研究所使用之菌株包括本實驗室之前研究中由蘭嶼貯存場分離之酵母菌菌株 *Candida guilliermondii* (簡稱 CG) (Li et al., 2015) , 及文獻所述對核種具吸附能力之酵母菌菌株 *Saccharomyces cerevisiae* (簡稱 SC , ATCC 9763) 及細菌菌株 *Micrococcus luteus* (簡稱 ML , ATCC 4698) , 文獻中的菌株購自新竹食品工業發展研究所之菌種中心。以上酵母菌以 PDA、PDB 培養之, 細菌菌株則以 TSB、TSA 培養之。

菌株計算係以表面平板計數法得知, 利用已知體積之無菌磷酸緩衝液做為稀釋劑, 將菌液連續稀釋後, 再以塗抹法將稀釋之細菌懸浮液塗佈於適當之營養培養基上, 經培養過夜, 計數菌落數目, 再乘以稀釋倍數, 便可得到總菌數 (CFU/mL) 。每一稀釋度應進行三重複, 每一個平板上最適合計數之菌落數不宜少於 30 個或大於 300 個。

四、高完整性混凝土處置容器對真菌及細菌之抗菌性測試

依我國低放射性廢棄物最終處置及其設施安全管理規則所列之低放射性廢棄物均勻固化體測試項目、方法及標準, 耐菌性測試係以樣品經 ASTM G21, G22 測試後, 分析其抗壓強度的變化。因此研究中取高完整性混凝土處置容器樣品進行 ASTM G21, G22 測試, 瞭解樣品本身之抗菌性, 及樣品經微生物特定時間處理後對抗壓強度之影響。

(一)以 ASTM G21-09 規範測試高完整性混凝土處置容器對真菌之抗

菌性：

將菌培養於 carbon-free 之培養基中測試該菌株是否能利用測試樣品為營養源而生長，carbon-free 培養液係於為 1L 之二次過濾水中加入下列表 1 中之 nutrient-salts，於 121°C 下高溫滅菌 20 分鐘，以 0.01N NaOH 調整 pH 值在 6.0 至 6.5 間，此為 nutrient-salts 溶液。而 nutrient-salts agar 為上述 1 L 溶液中再加入 15g agar 溶解後高溫滅菌，待其冷卻至 45°C 時，將培養液倒至培養皿中冷卻成固體培養基備用。取上述 ASTM G21 之五種標準菌株，分別培養於 PDA 培養基，將菌於 30°C 下培養 7~20 天待其生成孢子態，以 0.05 g/L SDS 無菌水溶液將孢子洗下，將菌液置入裝有磁石及玻璃珠之錐形瓶中，以磁石劇烈攪拌使孢子與菌絲分離後，以無菌玻璃棉過濾，將孢子過濾液以無菌水清洗並離心三次，再以 nutrient-salts 溶液稀釋成 $2 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ CFU/mL，五種菌之孢子懸浮液各取等體積混合成最終試驗用孢子懸浮液，此孢子懸浮液可每天新鮮製備或於冷藏保存下 4 天內使用。

表 1、配製 1L carbon-free 之培養基所需之 nutrient-salts 成分。

KH_2PO_4	0.7g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.7g
NH_4NO_3	1.0g
NaCl	0.005g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.002g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.002g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.001g
K_2HPO_4	0.7g

測試時先於滅菌後之大型培養皿中倒入約 1 公分之 nutrient-salts agar，待其凝固後放上經滅菌後之高完整性混凝土處置容器試體，於試體上均勻噴上上述之孢子液，置於室溫下靜置觀察。於特定時間觀察孢子萌發或真菌生長狀況，生長型態可區分為不生長、稀少(<10%)、輕度生長(10-30%)、中度生長(30-60%)、大量生長(60-100%)等 5 種。觀察記錄後將樣品取出先浸泡於 0.1% mercuric chloride 中 5 分鐘，再以二次過濾水洗淨，於室溫下風乾後進行樣品微生物試驗前、後之抗壓強度測試。

(二)以 ASTM G22-76 測試高完整性混凝土處置容器樣品對細菌之抗菌性：

測試對細菌之耐受性，係取 *Pseudomonas aeruginosa* 培養於 NA 斜面培養基上，於 35-37 °C、相對濕度大於 85% 下培養，再以無菌接種環由斜面培養基接種菌株至 NB 培養液中，培養 24hr 後再進行繼代培養。試驗前先離心收集菌體，以無菌 0.8% NaCl 水溶液清洗後再離心，最後將菌懸浮於無菌之 NaCl 水溶液中，計數其菌數。測試分成兩部分，第一部份將上述高溫滅菌後之 nutrient-salts agar 於冷卻至 45 °C 時，加入定量之菌液倒入培養皿中冷卻，使其菌濃度約為 5×10^4 cells/mL agar，待其固化後將測試樣品置於培養基上；第二部分為依照第一部份之步驟，於測試樣品上再覆以相同菌濃度之第二層培養基，使測試樣品完全包埋於 nutrient-salts agar 中。置於 35-37°C、相對濕度大於 85% 下培養 21 天，及較長時間的測試評估，觀察並記錄菌株是否生長。之後，如前述 ASTM G21 之方法將樣品洗淨、風乾後測試其微生物培養前後之抗壓強度的變化。

加速測試：依上述 ASTM G21、G22 之測試步驟，將受測菌株

於 HPC 及 RPC 試體上添加 10 倍標準濃度之菌量，進行微生物之抗菌性測試，並與標準方法之結果進行比對。

五、高完整性混凝土處置容器重量損失之腐蝕係數估算

參考 ASTM G1 之標準方法 (ASTM G1-09, 2009)，接菌處理前將上漆之高完整性混凝土處置容器試體以二次過濾水於超音波震盪清洗 15 分鐘後取出，於室溫中自然乾燥 16 小時後以電子天平量測其重量。試體經接菌後培養不同時間後，取出拍照紀錄樣品表面之腐蝕狀況，再以超音波震盪清洗 15 分鐘去除微生物及培養基，於室溫中自然乾燥 16 小時後以電子天平量測其重量，由處理前、後重量差計算其重量變化。腐蝕速率依下述公式計算之：

$$\text{Corrosion rate} = (K \times W) / (A \times T \times D)$$

$$K = 3,450,000 \text{ (constant, mil per year)}$$

$$W = \text{損失重量 (g)}$$

$$A = \text{表面積 (cm}^2\text{)}$$

$$T = \text{處理時間 (h)}$$

$$D = \text{試片密度 (g/cm}^3\text{)}$$

六、抗壓強度試驗—核研所進行

參照 ASTM C39 標準方法測試試體之抗壓強度，取未經微生物處理及分別經上述微生物處理不同時間點後之高完整性混凝土處置容器樣品，以萬能材料試驗機 (Universal testing instrument, Instron) 進行壓縮強度測試，固定應變速率為 0.5 mm/mins，將測量所得到的長度變化除以原始試片的高度即工程應變 (Engineering strain)，將量測所施加的荷重除以試片的原始截面積即工程應力 (Engineering stress)，探

討微生物培養後對高完整性混凝土處置容器樣品其抗壓強度變化之影響。

七、 菌株於含高完整性混凝土處置容器樣品的水溶液中對放射性核種之吸附能力測試

測試核種吸附能力所用菌株為 *C. guilliermondii* (簡稱 CG)、*S. cerevisiae* (簡稱 SC) 酵母菌及 *M. luteus* (簡稱 ML) 細菌菌株。酵母菌菌株係以 PDB 培養液培養，細菌則以 TSB 培養液培養之，將 100 mL 之培養液裝入 250 mL 三角瓶中，分別加入 1 mL 濃度為 1×10^6 CFU/mL 之菌液，於 26°C 下 100 rpm 震盪培養 2 天，使菌株生長至穩定期，以離心方式去除培養液，再以 40 mL 之 PB 洗去表面培養液，再次離心收集菌體，各菌株並準備一組依上述收集菌體後進行乾燥後秤重記錄。

將核研所製備之經上漆塗佈的容器材料 HPC、RPC 試片(尺寸為 1 cm x 1 cm x 0.2 cm)，經二次水清洗、風乾後，於清大鈷六十照射熱室照射 20 kGy 滅菌後備用。高完整性混凝土處置容器存在下菌株對 Co-60 及 Cs-137 放射性核種之吸附能力測試：係以單純水，及分別添加不同濃度之鐵與鈣離子之水溶液，添加 Co-60 及 Cs-137 核種。再分別取定量含核種之水溶液，加入前述滅菌後之試片，進行鐵與鈣離子存在下，菌株對放射性核種吸附能力測試。

菌株對核種之吸附活度分析，係將已裝入定量菌體之離心管加入 30 mL 上述製備之含放射性核種的水溶液，以 120 rpm 在室溫下振盪培養，於適當時間取出，在 6000 rpm 下離心 10 分鐘後，取上清液 3 mL 至容積為 5 mL 之試管中，並取未經菌體吸附處理之原液為對照組，以自動碘化鈉偵檢器 (WIZARD 2470, Perkin Elmer Instruments) 計數

其溶液中之核種活度。核種吸附之分析，係以達吸附平衡的初始溶液與吸附後溶液之計測值，計算其吸附百分率(N)，試驗皆為三重複。

$$N = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\%$$

式中， C_0 為初始溶液核種之濃度計測值(counts/mL)， C 為吸附平衡後溶液核種濃度(counts/mL)，比較不同菌株對核種吸附能力之差異。

參、主要發現與結論

一、高完整性混凝土處置容器經 ASTM-G21 及 G22 抗菌性測試結果

上漆之高完整性混凝土處置容器尺寸為直徑 5 cm、高 10 cm 之 HPC 及 RPC 試體，分別以 ASTM-G21 規範及其 10 倍菌量進行抗黴菌之測試，接種培養 28 天、3 個月及 6 個月後，鏡檢觀察試體表面。圖 2 與圖 3 係為以 ASTM-G21 規範標準之 5 株黴菌菌株之混合孢子液噴灑於 HPC 及 RPC 試體表面，經培養 28 天後之菌絲生長圖。可見 HPC 及 RPC 試體上並無大量菌株生長，僅試體與培養基接觸之介面有較少許的菌絲生長，而底部的培養基上則有較明顯的菌株生長。綜合觀察所有接菌處理之 HPC 及 RPC 試體，其有菌絲生長之範圍小於 10% 試體總面積，屬於 ASTM-G21 測試標準中所定義之菌絲生長程度的第一級-為稀少者。

延長試體 ASTM-G21 測試時間至 3 個月，圖 4 為以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及以 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 HPC 及 RPC 試體，培養 3 個月之菌株生長情形，顯示所有試體表面亦無明顯菌株之生長情況，僅其培養皿底部培養基上有少量菌株生長。

延長試體 ASTM-G21 測試時間至 6 個月，圖 5 為以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及以 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 HPC 試體，培養 6 個月之菌株生長情形，顯示受測試體表面亦僅有少許菌株生長，而培養皿底部之固體培養基上有較多菌株生長，標準菌量(1X)處理者與 10 倍 (10X) 菌量處理者其培養基上生長的菌落數並無明顯差異。圖 6、為以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及以 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 RPC 試體，培養 6 個月之菌株生長情形，可見試體表面均無明顯菌株生長之情況，僅側邊底部及固體培養基有少量

菌株生長。因 HPC 及 RPC 試體之製備均有添加鋼纖維，上漆後有少數試體之表面有鋼纖維露出，圖 7 為 HPC 及 RPC 樣品以 ASTM-G21 測試 6 個月後，於解剖顯微鏡下觀察之結果，上圖為標準菌量(1X)噴灑之 HPC 試體，可見試體邊緣之鋼絲突起處有菌株生長其上。而下圖為 10 倍 (10X) 菌量測試，可見 HPC 試體凹洞處有菌株之菌絲生長。而 RPC 試體未見到此情況。

HPC 及 RPC 試體以 ASTM-G22 規範進行抗細菌性之測試，將 *Pseudomonas aeruginosa* 菌株於 HPC 及 RPC 試體表面分別接種培養 21 天、3 個月及 6 個月後，鏡檢觀察試體表面。圖 8 與圖 9 分別為以 ASTM-G22 標準菌株及 10 倍菌量淋於 HPC 與 RPC 試體表面培養 21 天，可見標準菌量及 10 倍菌量處理之試體及底部培養基上均未見 *P. aeruginosa* 菌株生長。延長測試時間至 3 個月與 6 個月，觀察各試體依舊無菌株生長的情形。僅於 6 個月時觀察到一個以 ASTM-G22 標準菌株測試之 HPC 試體上，其試體底部有一凹洞，有發生生物膜生長的情形 (圖 10)。

綜合以上結果，顯示高完整性混凝土處置容器試體以 ASTM-G21 及 ASTM-G22 測試、添加 10 倍菌量及延長處理時間，均可見微生物於試體上無明顯生長，僅於部分破裂或凹洞、或鋼纖維裸露處有少許微生物生長。

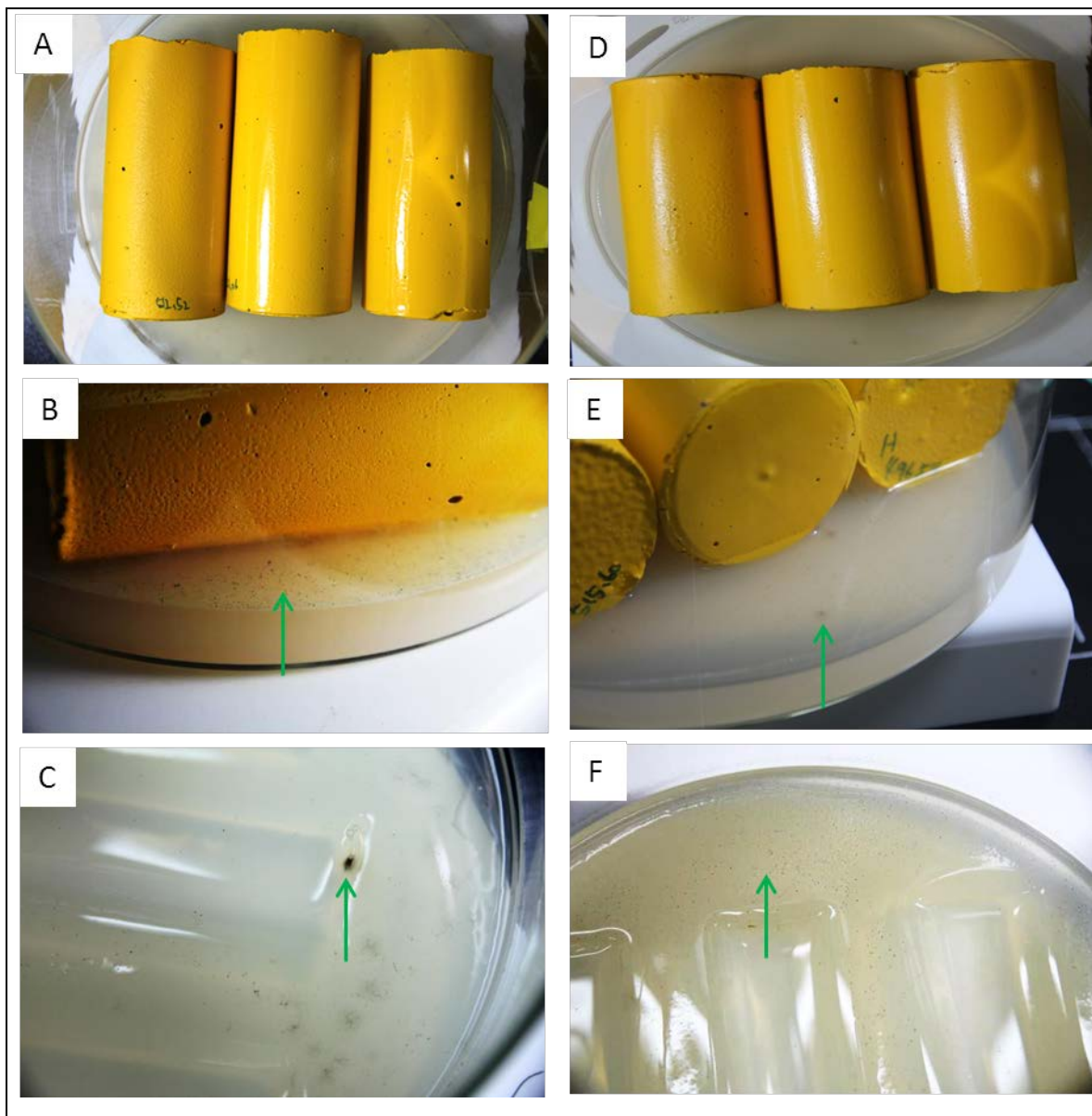


圖2、以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及以 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 HPC 試體，培養 28 天之菌株生長圖，A、B、C 為標準菌量噴灑之試體上菌絲生長之情況；D、E、F 為以 10 倍菌量噴灑之試體上菌絲生長情況。圖 A、D 由上方俯視試體表面均未見菌株生長，僅於側邊底部及試體周圍培養基表面(圖 B、E)有少量菌株生長(箭頭所示)，圖 C、F 為取出試體後之底部培養基，可見有菌株生長於培養基上。

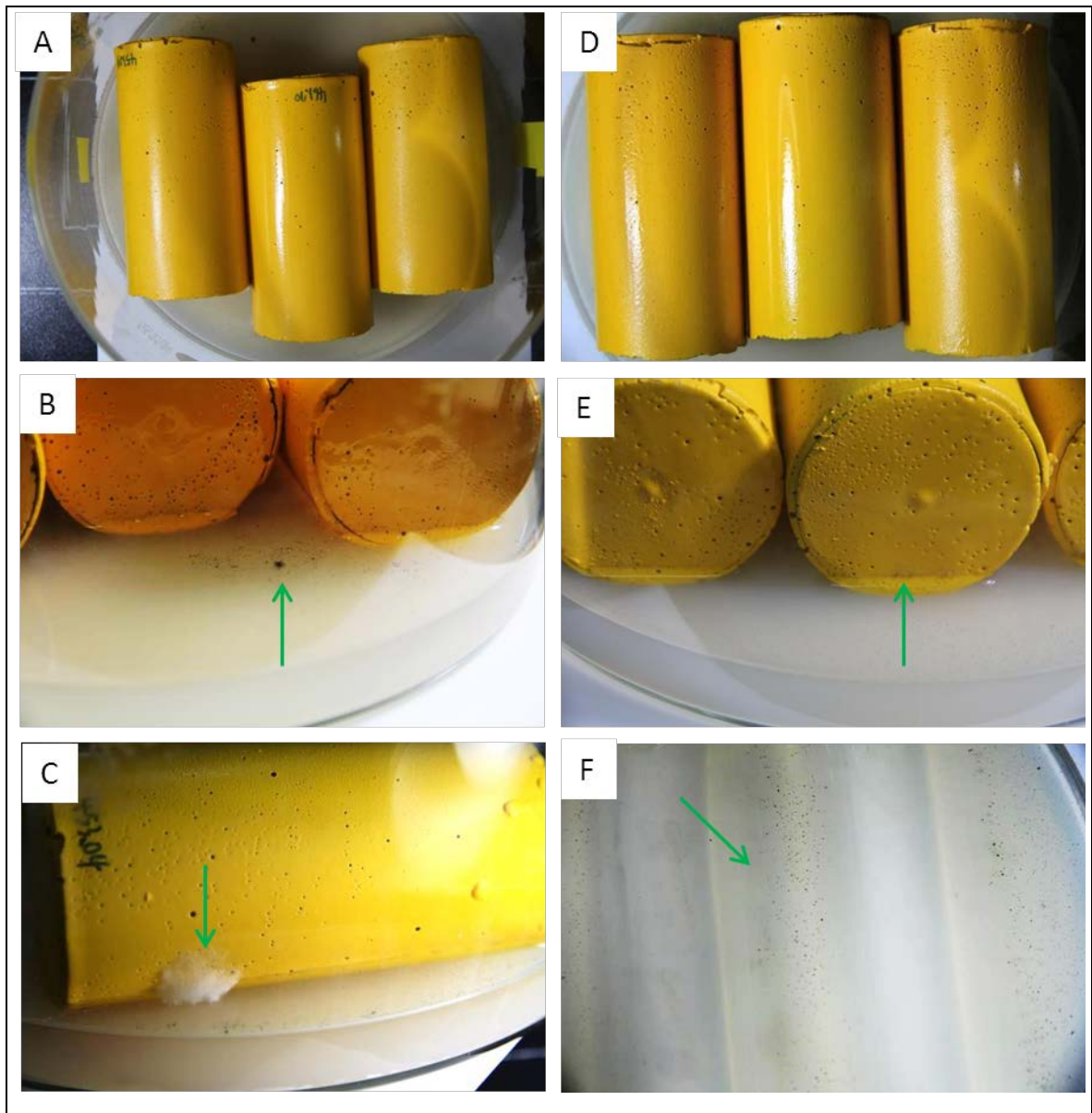


圖3、以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及以 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 RPC 試體，培養 28 天之菌絲生長圖，A、B、C 為標準菌量噴灑之試體上菌絲生長之情況；D、E、F 為以 10 倍菌量噴灑之試體上菌絲生長之情況。圖 A、D 俯視試體表面均未見菌株生長，圖 B、C、E、F 可見試體周圍及取出試體後其培養基表面有少數菌株生長（箭頭所示）。

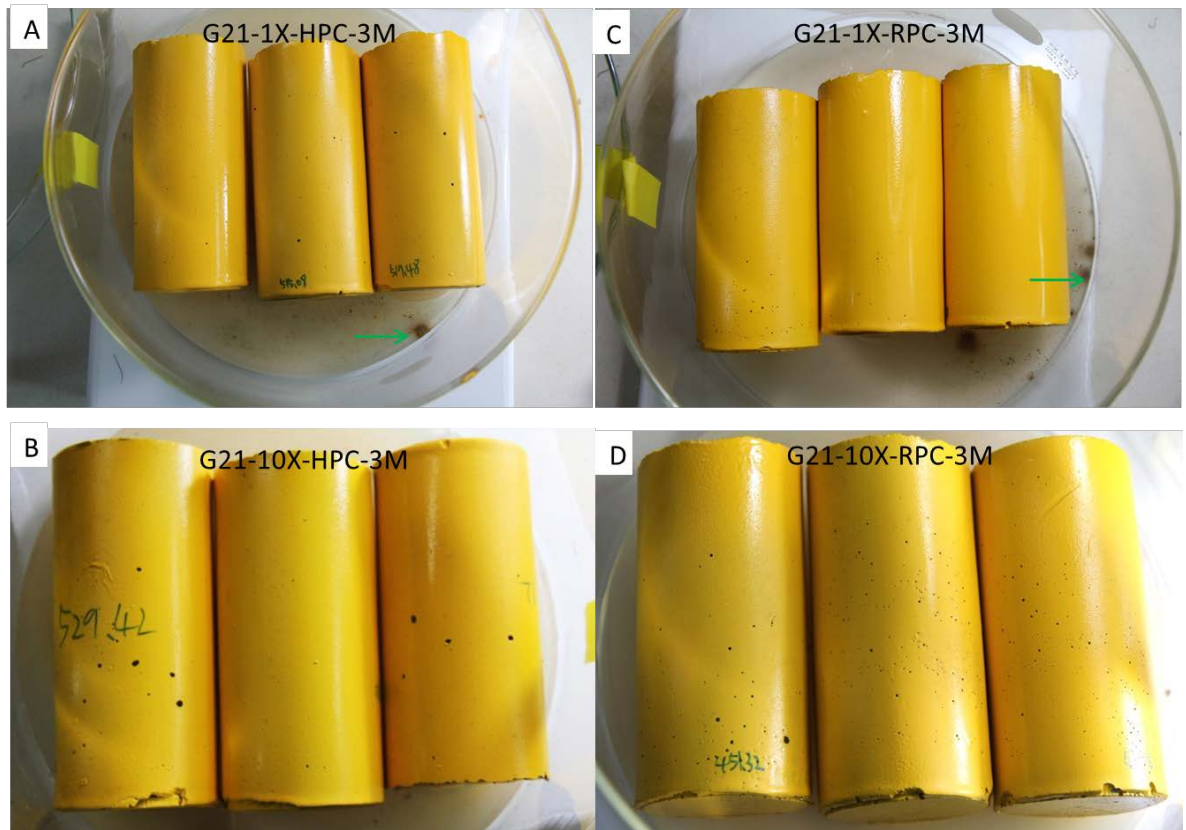


圖4、以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 HPC 及 RPC 試體，培養 3 個月之菌株生長情形，圖 A 與 C 分別為標準菌量(1X)噴灑之 HPC 及 RPC 試體，圖 B 與 D 為 10 倍(10X)菌量測試之 HPC 及 RPC 試體，顯示所有試體表面均無明顯菌株生長，僅圖 A、C 可見底部周圍培養基上有少量菌株生長（箭頭所示）。

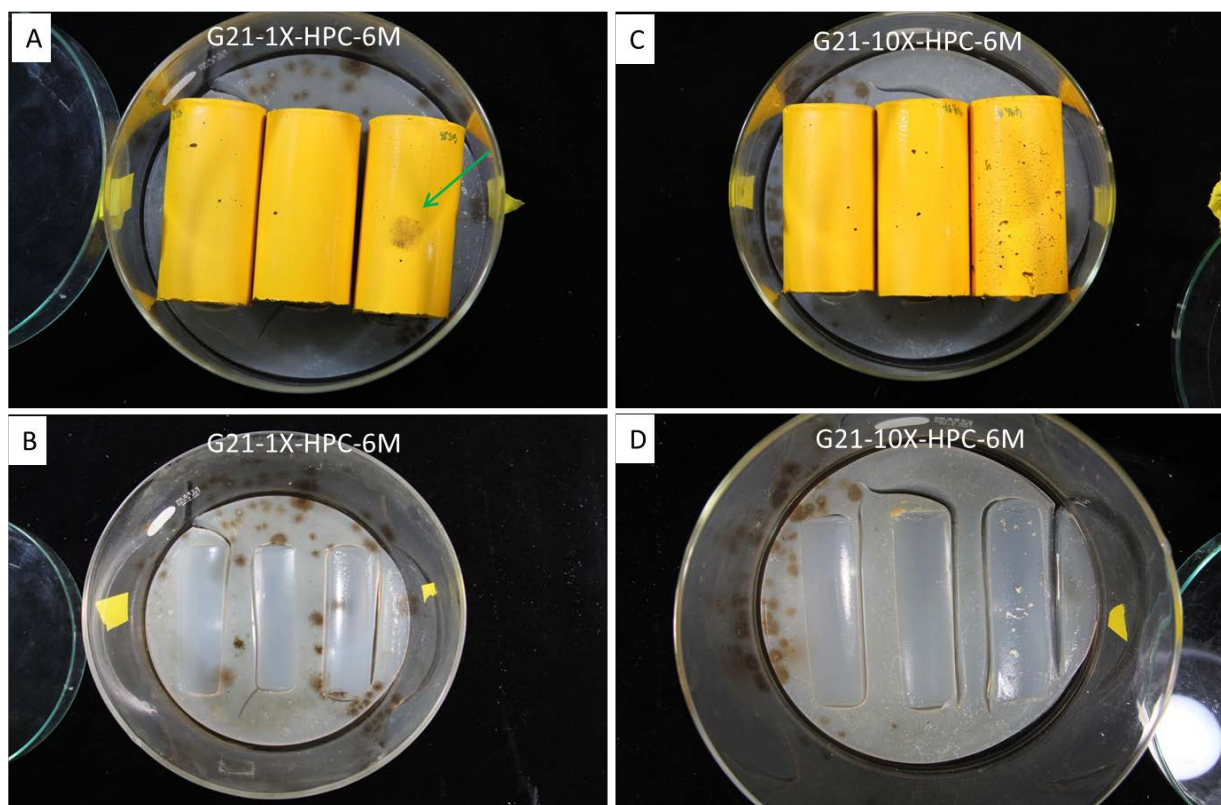


圖5、以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及以 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 HPC 試體，培養 6 個月之菌株生長情形，圖 A、B 為標準菌量 (1X) 噴灑之試體，圖 C、D 為 10 倍 (10X) 菌量測試。可見圖 A 中試體表面有少許菌株生長 (箭頭所示)，而取出試體後之培養皿底部的固體培養基上有較多菌株生長 (圖 B、D)。

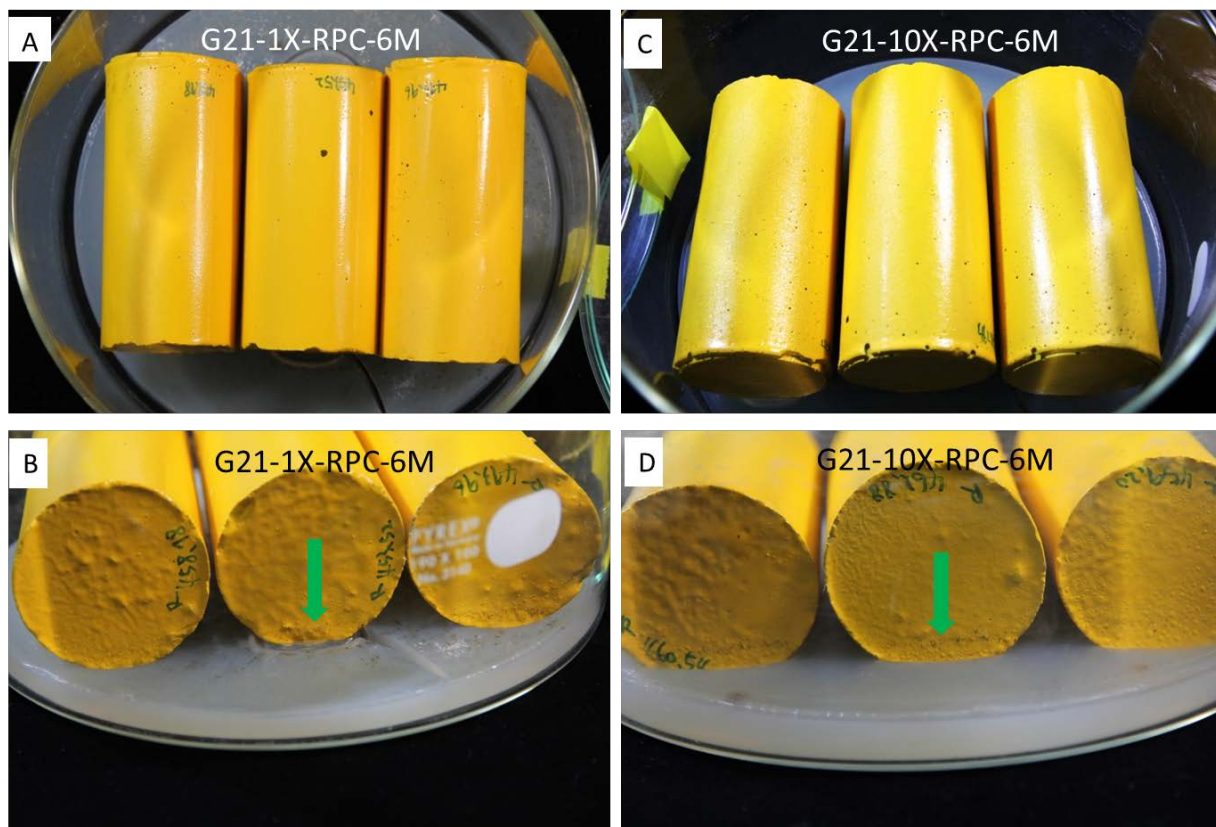


圖6、以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 RPC 試體，培養 6 個月之菌株生長情形，圖 A、B 為標準菌量(1X) 噴灑之試體，圖 C、D 為 10 倍 (10X) 菌量測試之試體，顯示試體表面無明顯菌株生長之情況，僅試體側邊之靠培養基處及固體培養基上有少量菌株生長（圖 B、D，箭頭所示）。

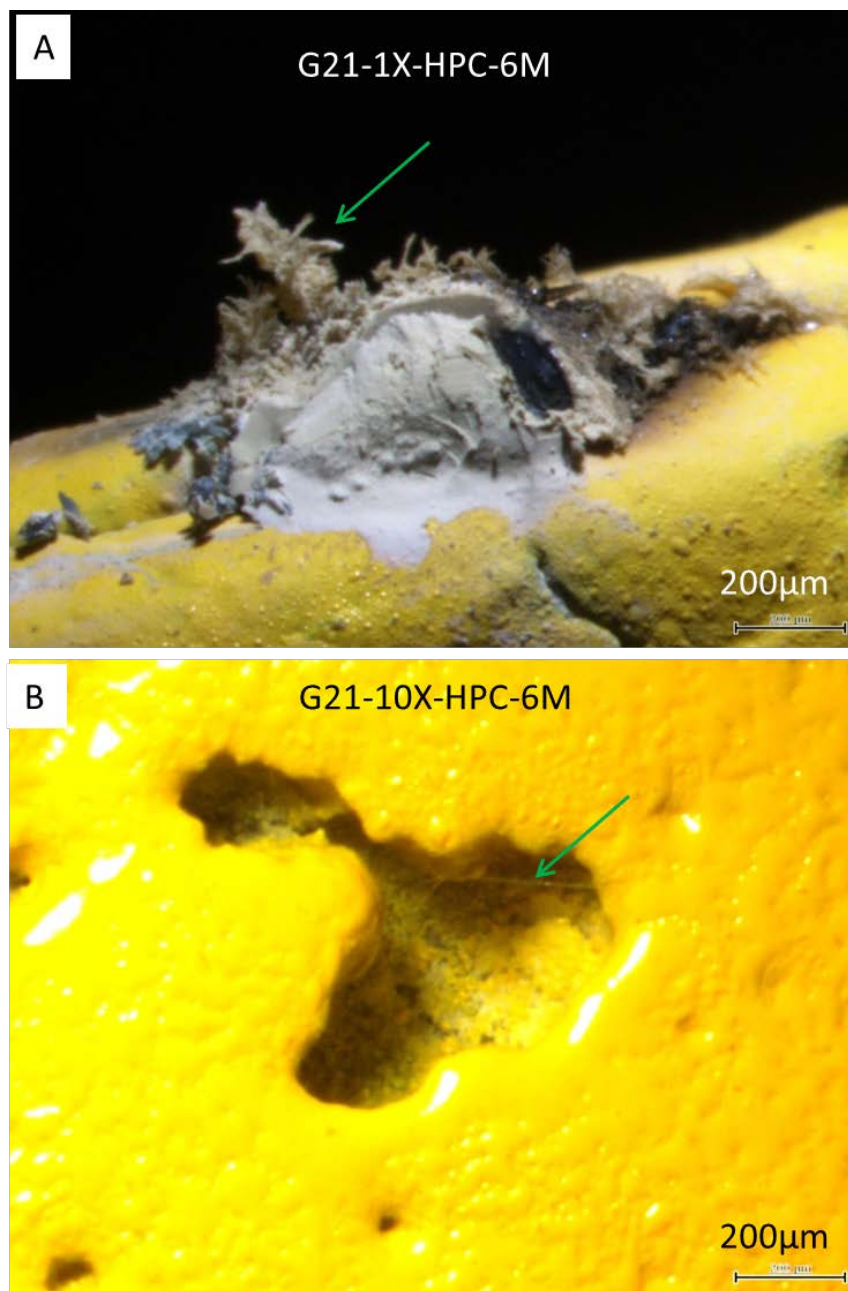


圖7、以 ASTM-G21 標準菌株孢子液及 10 倍菌量孢子液噴灑於上漆的 HPC 試體培養 6 個月，於解剖顯微鏡下觀察其之菌株生長情形，圖 A 為標準菌量 (1X) 噴灑之試體，其試體邊緣鋼絲突起處可見菌株生長其上。圖 B 為以 10 倍 (10X) 菌量測試之試體。可見試體凹洞處有菌株之菌絲生長。

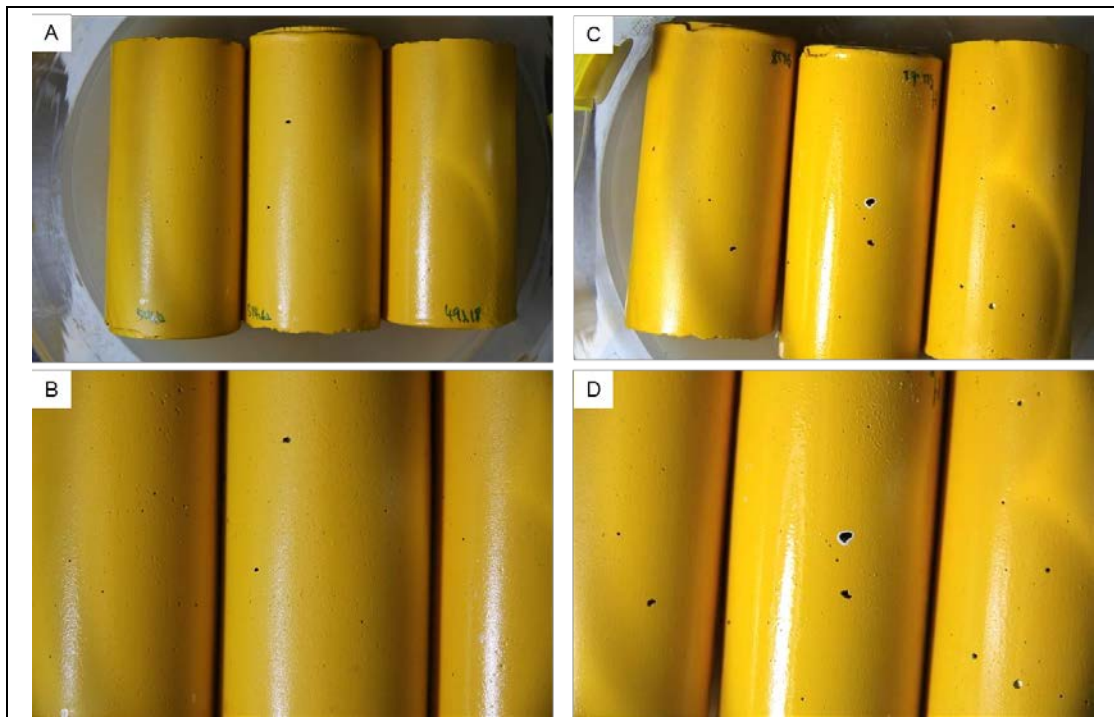


圖8、以 ASTM-G22 標準菌株及以 10 倍菌量淋於 HPC 試體表面培養 21 天，A、B 為標準菌量噴灑之試體；C、D 為 10 倍標準菌量之試體，試體表面及底部培養基上均未見菌株生長。

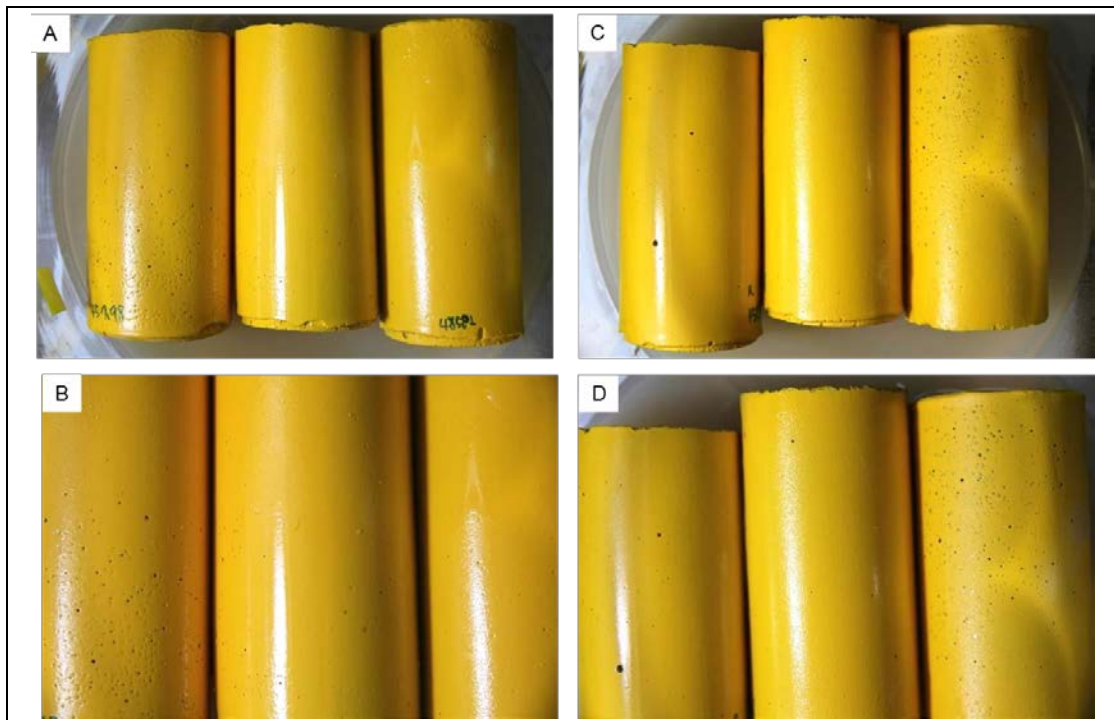


圖9、以 ASTM-G22 標準菌株及以 10 倍菌量淋於 RPC 樣品表面培養 21 天，A、B 為標準菌量噴灑之試體；C、D 為 10 倍標準菌量處理之試體，試體表面及底部培養基上均未見菌株生長。

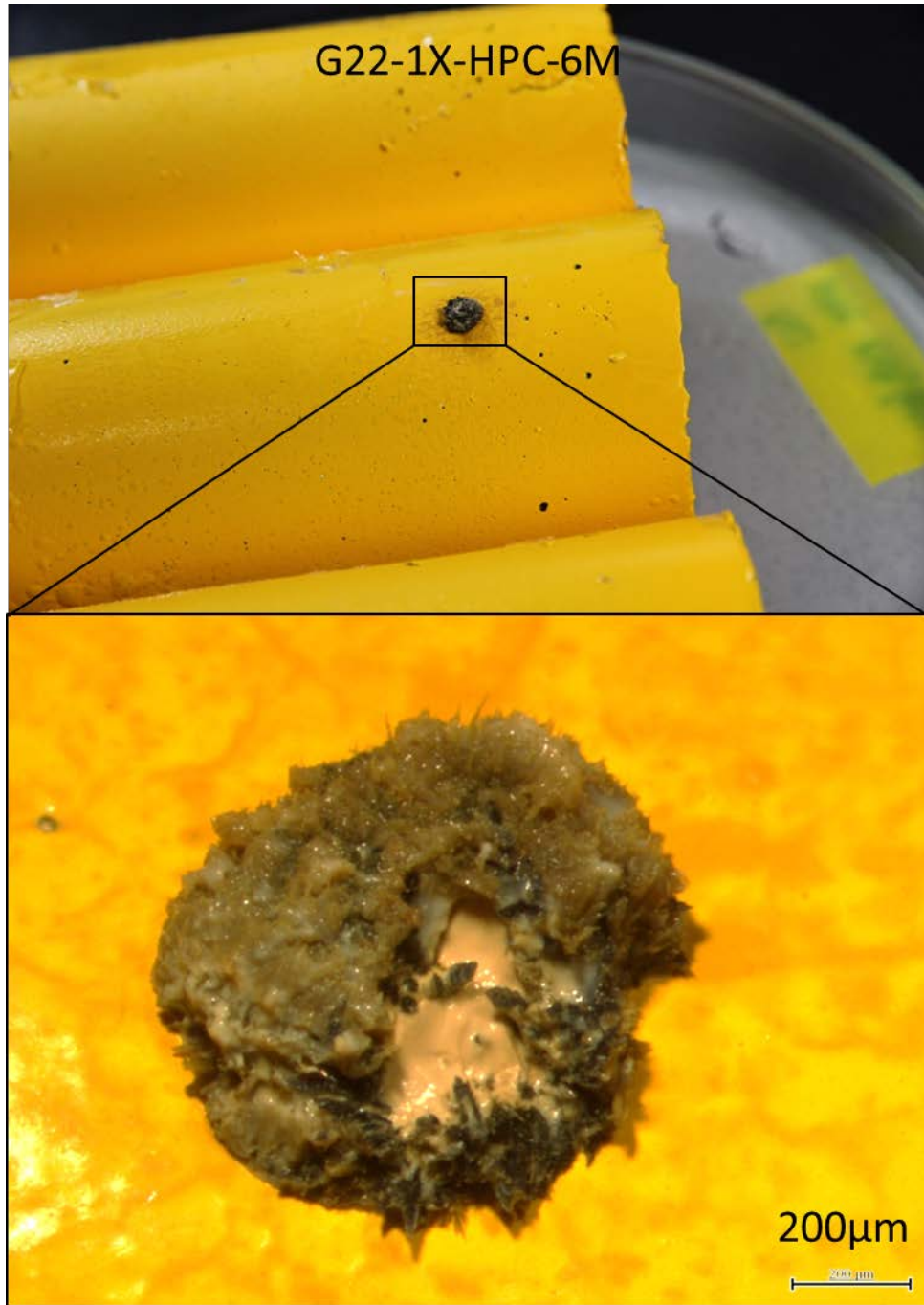


圖10、以 ASTM-G22 標準菌株測試 HPC 試體培養 6 個月，其試體底部之凹洞產生生物膜生長的情形。

二、以 ASTM-G21、ASTM-G22 測試處理前、後之 HPC 及 RPC 試體之抗壓強度變化

表 2 為上漆的 HPC 及 RPC 樣品依 ASTM-G21、G22 測試方法及添加 10 倍菌量之加速測試，培養不同時間後測得之抗壓強度，結果顯示經 ASTM-G21 耐黴菌測試 28 天與 ASTM-G22 耐細菌測試 21 天之 HPC 及 RPC 樣品，其抗壓強度並無明顯差異，RPC 之抗壓強度範圍為 1236.21 ± 20.41 至 1315.44 ± 132.64 kgf/cm²，HPC 之抗壓強度範圍為 1147.56 ± 61.25 至 1242.38 ± 16.68 kgf/cm²。與添加 10 倍菌量培養相比，其抗壓強度無明顯差異。

因 ASTM-G21、G22 所測試之時間分別為 28 天、21 天，對於需更長期安定性之低放射性固化體處置而言時間太短，另延長樣品測試之時間，可見表 2 中測試 3 個月與 6 個月之上漆的 RPC 及 HPC 試體之抗壓強度於範圍為 1141.01 ± 55.90 至 1428.18 ± 39.42 kgf/cm²，顯示測試 3 與 6 個月之 HPC 及 RPC 試體間之抗壓強度略有差異，應為樣品個體間之差異，因標準菌量及 10 倍菌量加速處理與不做任何處理的對照組之試體抗壓強度（ 1322.41 ± 89.07 至 1250.12 ± 61.78 kgf/cm²）並無明顯差異。上述結果顯示高完整性混凝土處置容器於 ASTM-G21、G22 測試與 10 倍菌量、延長時間下其試體的抗壓強度均不受影響。

量測各試樣於微生物作用前、後之重量變化，其重量損失範圍約為 0~0.5 g，多數試體無明顯之重量變化。

表 2、HPC 及 RPC 試體依 ASTM-G21、G22 測試方法及添加 10 倍菌量之
加速測試，經不同時間之抗壓強度結果

測試處理方式	測試時間	RPC 抗壓強度	HPC 抗壓強度
G21-標準	28 天	1236.21±20.41	1242.38±16.68
G21-10 倍標準		1287.25±69.51	1208.42±18.51
G21-標準	3 個月	1141.01±55.90	1428.18±39.42
G21-10 倍標準		1380.62±49.73	1377.32±57.10
G21-標準	6 個月	1377.31±104.89	1301.37±44.76
G21-10 倍標準		1399.61±86.40	1336.39±126.62
G22-標準	21 天	1315.44±132.64	1239.95±46.14
G22-10 倍標準		1276.99±80.14	1147.56±61.25
G22-標準	3 個月	1234.89±175.45	1384.32±126.47
G22-10 倍標準		1414.59±111.68	1317.43±86.08
G22-標準	6 個月	1346.00±64.15	1261.64±130.49
G22-10 倍標準		1341.67±50.67	1219.85±19.79
不做任何處理之對照組		1322.41±89.07	1250.12±61.78

註 1：測試時間之樣品皆為 3 重複之平均值；不做任何處理之對照組為 6 重複之平均值。

三、 菌株於含高完整性混凝土處置容器材料的水溶液中對放射性核種之吸附能力測試

對於含高完整性混凝土處置容器材料之水溶液中，菌株對放射性核種之吸附能力，及鐵與鈣離子可能造成之吸附影響評估，係取具生理活性之CG、SC酵母菌與ML細菌菌體分別放入HPC或RPC材料，加入添加Co-60及Cs-137核種的單純水，或分別添加不同濃度之鐵與鈣離子之水溶液。水溶液中Co-60及Cs-137核種原始活度分別為1600 Bq/mL 與 140 Bq/mL，其水溶液中鐵與鈣離子濃度分別為10、50、100 ppm 鈣離子，5、10 ppm 鐵離子，100 ppm 鈣離子加上10 ppm 鐵離子，並有一不添加鈣、鐵離子之對照組。經培養4小時後，探討不同濃度金屬離子對菌株吸附放射性核種能力之影響。鈣及鐵離子之使用濃度係參考之前研究高完整性混凝土處置容器長時間浸泡於水中的結果，其材料中的鈣及鐵離子會釋放至水中之濃度，以進行本測試。

圖11為菌株分別於含高完整性混凝土處置容器材料的水溶液中，在不同濃度之鈣及鐵離子之環境下，對Co-60之吸附能力測試結果。CG菌體在不同濃度鈣離子及鐵離子中，在HPC及RPC存在之環境中對Co-60之吸附百分率均高於99%，為受測菌株中對Co-60吸附能力最佳者。SC菌體在無添加鈣及鐵離子時對Co-60之吸附百分率大於98%，但在HPC及RPC之環境中隨著鈣離子濃度增加至100 ppm時，及鐵離子濃度增加至10 ppm時，SC菌體對Co-60之吸附百分率稍微降低，但菌體對Co-60之吸附百分率仍高於96%，於100 ppm鈣離子加上10 ppm鐵離子之環境中，SC菌體在HPC及RPC材料存在下Co-60之吸附百分率分別為 $96.47 \pm 1.91\%$ 及 $95.58 \pm 1.13\%$ 。ML細菌菌體在HPC及RPC之環境

中對Co-60之吸附百分率分別為 $80.48\pm 3.60\%$ 及 $83.80\pm 2.71\%$ ，明顯低於CG與SC酵母菌。ML菌株對核種之吸附百分比受鈣離子的影響較大，於100 ppm鈣離子濃度之環境下其吸附百分率降至 $68.08\pm 2.41\%$ 及 $68.47\pm 0.36\%$ ；於100 ppm鈣離子加上10 ppm鐵離子之環境中，其在HPC及RPC材料存在下菌株對Co-60之吸附百分率分別為 $64.70\pm 1.73\%$ 及 $55.80\pm 3.48\%$ ，明顯低於其未加金屬離子者。顯示鈣離子的濃度提高對ML細菌之Co-60吸附能力有顯著影響。

圖 12 為菌株於含高完整性混凝土處置容器材料的水溶液中，分別添加不同濃度之鈣及鐵離子的環境下對Cs-137之吸附能力。CG酵母菌菌體在HPC及RPC之環境中對Cs-137之吸附百分率分別為 $44.21\pm 2.30\%$ 及 $46.16\pm 0.11\%$ ，提高溶液中所添加之鈣離子濃度會明顯降低CG菌株對Cs-137之吸附能力。於外加100 ppm鈣離子環境下，HPC及RPC之吸附百分率分別為 $3.75\pm 0.57\%$ 及 $3.31\pm 0.08\%$ ，而在添加5及10 ppm鐵離子環境下對其吸附百分率並無明顯影響。SC菌體在HPC及RPC之環境中添加不同濃度鈣離子及鐵離子對Cs-137之吸附百分率均低於10%，而隨著鈣離子濃度增加至100 ppm，SC菌體對Cs-137之吸附百分率亦顯著降低。ML細菌菌體在HPC及RPC之環境中對Cs-137之吸附百分率分別為 $37.92\pm 1.34\%$ 及 $37.94\pm 0.48\%$ ，添加10 ppm濃度鈣離子之環境下其吸附百分率分別降低至 $23.00\pm 2.09\%$ 及 $25.68\pm 0.63\%$ ，之後隨鈣濃度增加，其吸附百分率亦漸減，添加100 ppm濃度鈣離子之環境下含HPC及RPC其吸附百分率分別為 $9.28\pm 0.86\%$ 及 $6.52\pm 0.54\%$ 。ML細菌於含鐵離子之環境中對其吸附百

分率僅稍有降低，但於外加 100 ppm 鈣離子及 10 ppm 鐵離子之環境中，ML 細菌在 HPC 及 RPC 材料存在下之吸附百分率分別為 $7.61\pm 1.02\%$ 及 $7.91\pm 0.28\%$ ，明顯低於其未加金屬離子者。上述結果顯示添加高濃度（100 ppm）之鈣離子對受測 3 株菌株吸附 Cs-137 之百分率皆有顯著抑低效應。

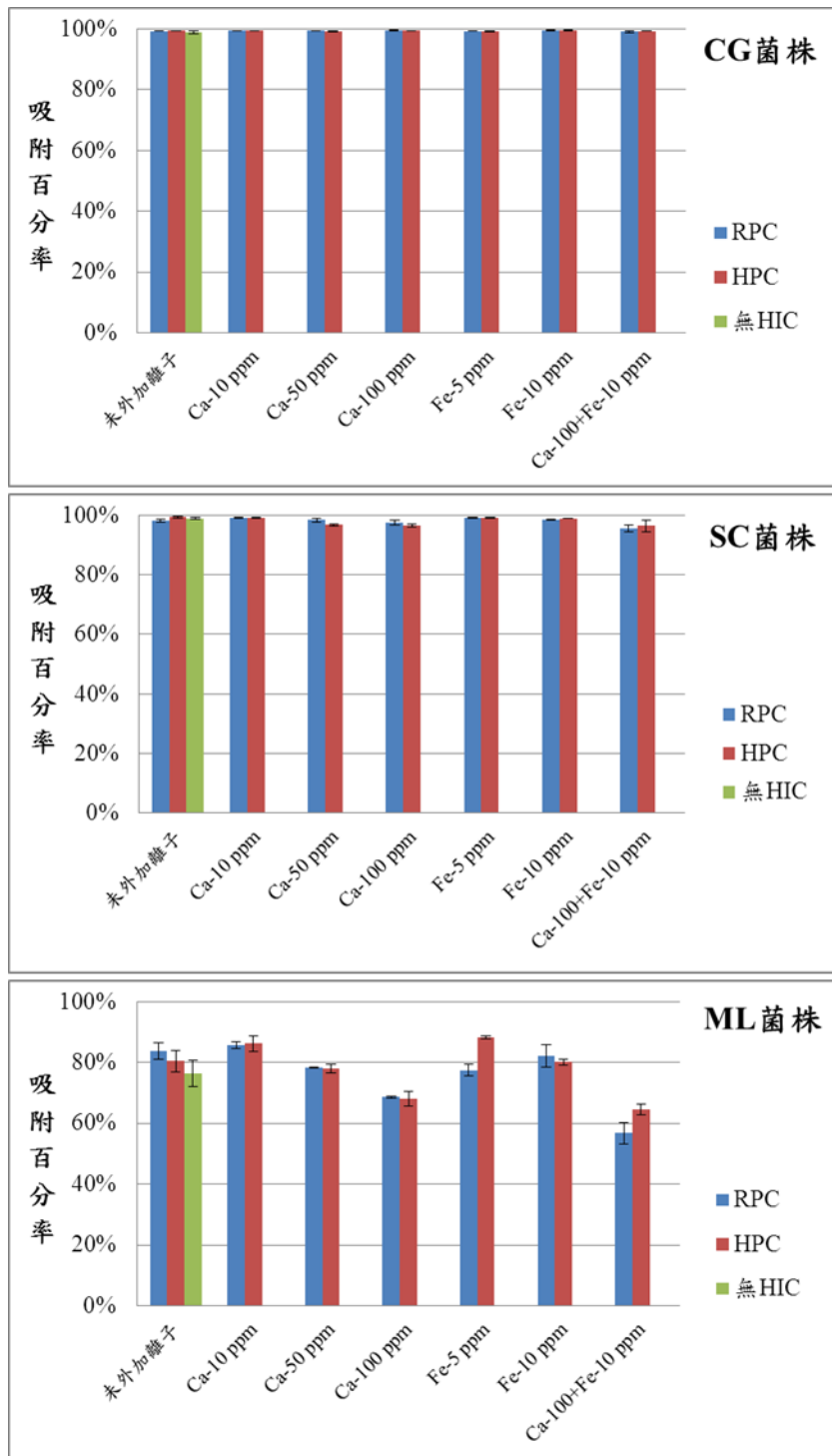


圖11、CG、SC、ML 菌株分別於含高完整性混凝土處置容器材料的水溶液中，在添加不同濃度之鈣及鐵離子之環境中對 Co-60 之吸附百分率。

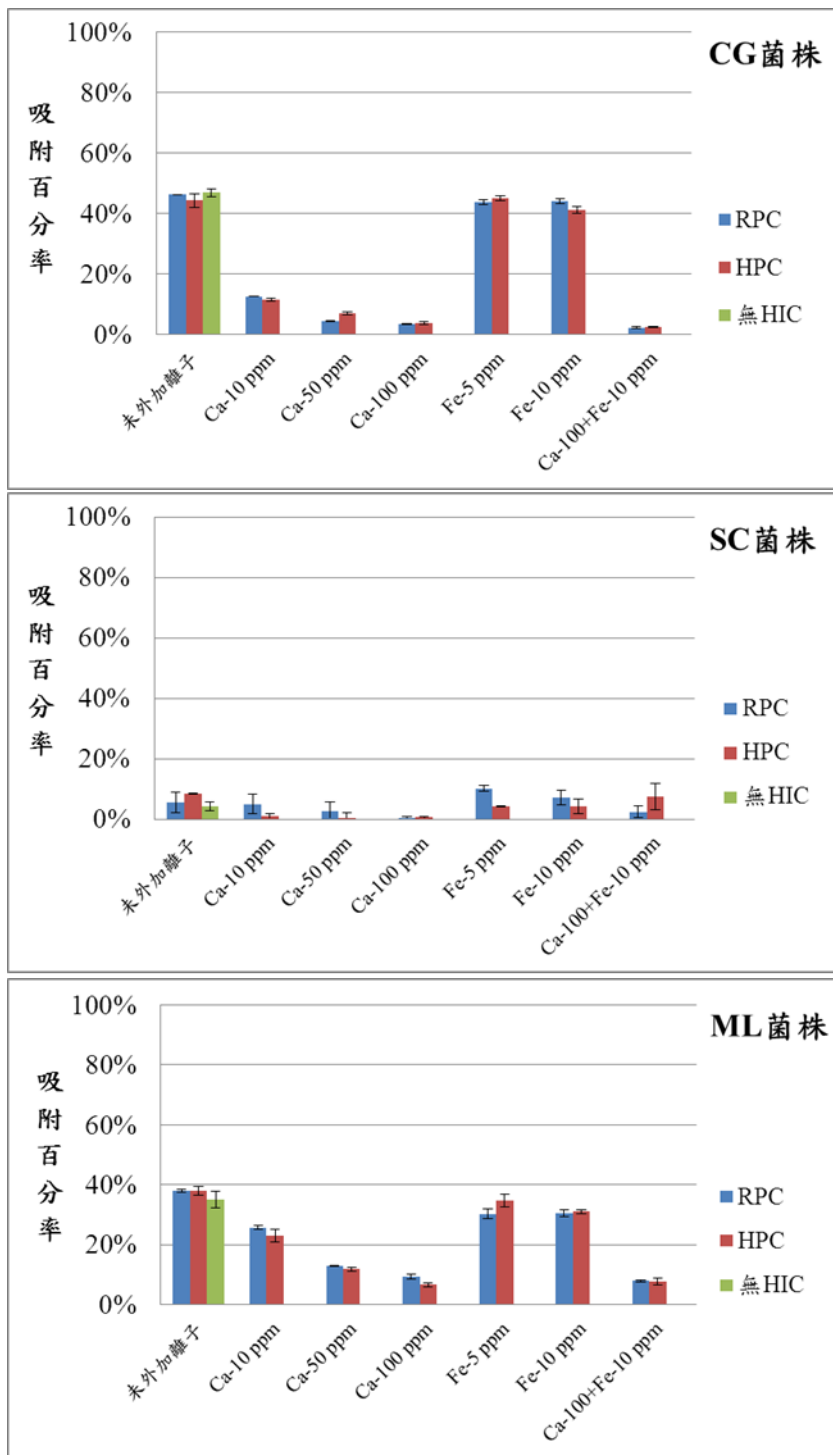


圖12、CG、SC、ML 菌株分別於含高完整性混凝土處置容器材料的水溶液中，在添加不同濃度之鈣及鐵離子之環境對 Cs-137 之吸附百分率。

肆、參考文獻

1. ASTM C39-05. 2008. Standard test method for compressive strength of cylindrical concrete specimens.
2. ASTM G1-90. 1999. Standard practice for preparing, cleaning, and evaluating corrosion test specimens. American Society for Testing and Materials.
3. ASTM G21-09. 2009. Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to fungi.
4. ASTM G22-76. 1996. Standard practice for determining resistance of plastics to bacteria (Withdrawn 2001).
5. Farkas G., Gázsó L.G., Diósi G. 2000. Characterization of subterranean bacteria in the Hungarian Upper Permian Siltstone (Aleurolite) Formation. *Canadian Journal of Microbiology*. 46: 559–564.
6. GAO-04-604. 2004. United States General Accounting Office. Report to the Chairman, Committee on Energy and Natural Resources, U.S. Senate. Disposal availability adequate in the short term, but oversight needed to identify any future shortfalls. *Low-Level Radiactive Waste*.
7. Horn J.M., Rivera A., Lian T., Jones D.A. 1998. MIC evaluation and testing for the Yucca Mountain repository. *Corrosion NACEExpo 98. Annual Conference and Exposition San Diego, CA*.
8. Ledin M., Pedersen K., Allard B., 1997. Effects of pH and ionic strength on the adsorption of Cs, Sr, Eu, Zn, Cd and Hg by *Pseudomonas putida*. *Water Air and Soil Pollution*. 93(1-4):367-381.
9. Li C.C., Chung H. P., Wen H.W., Chang C.T., Wang Y.T., Chou F.I. 2015. The radiation resistance and cobalt biosorption activity of yeast strains isolated from the Lanyu low-level radioactive waste repository in Taiwan. *Journal of Environmental Radioactivity* 146, 80-87.

10. Nazina, T.N., Luk'yanova, E.A., Zakharova, E.V., Konstantinova, L.I., Kalmykov, S.N., Poltarau, A.B., Zubkov, A.A., 2010. Microorganisms in a disposal site for liquid radioactive wastes and their influence on radionuclides. *Geomicrobiology Journal*. 27: 473-486.
11. Ngwenya N., Chirwa E.M.N., 2010. Single and binary component sorption of the fission products Sr^{2+} , Cs^+ and Co^{2+} from aqueous solutions onto sulphate reducing bacteria. *Minerals Engineering*. 23(6):463-470.
12. Pal A., Ghosh S., Paul A.K., 2006. Biosorption of cobalt by fungi from serpentine soil of Andaman. *Bioresource Technology*. 97(10): 1253-1258.
13. Rogers R.D., Hamilton M.A., Veeh R.H., McConnell Jr. J.W. 1994. Microbial degradation of low-level radioactive waste. Annual Report for FY 1994, NUREG/CR-6188. Vol. 2. U.S.Nuclear Regulatory Commission, Washington, D.C.
14. Rogers R.D., Hamilton M.A., Veeh R.H., McConnell Jr. J.W., Gilliam T.M., Wiles C.C. 1996. ASTM STP 1240. Stabilization and solidification of hazardous, radioactive and mixed wastes. American Society for Testing and Materials. Vol. 3. P. 116.
15. Roy K., Sinha P., Lahiri S. 2008. Immobilization of long-lived radionuclides $^{152, 154}\text{Eu}$ by selective bioaccumulation in *Saccharomyces cerevisiae* from a synthetic mixture of $^{152, 154}\text{Eu}$, ^{137}Cs and ^{60}Co . *Biochemical Engineering Journal*. 40(2):363-367.
16. Telegdi J., Rigó T., Beczner J., Kálmán E. 2005. Influence of Langmuir–Blodgett nanolayers on microbial adhesion. *Surface Engineering*. 21:107-112.
17. Tišáková L., Pipiška M., Godány A., Horník M., Vidová B., Augustín J., 2013. Bioaccumulation of ^{137}Cs and ^{60}Co by bacteria isolated from spent

- nuclear fuel pools. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 295(1): 737-748.
18. Videla H.A., Herrera L.K. 2005. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. *International Microbiology*. 8(3): 169-180.
 19. West J.M., McKinley J.P. 2002. The geomicrobiology of radioactive waste disposal. In: G. Bitton, Editor. *The Encyclopaedia of Environmental Microbiology*, John Wiley, New York. P. 2662–2674.
 20. 李騰芳、姚錫齡、徐力平、廖淑萍，以活性混凝土（RPC）製造低階核廢料貯藏桶包封容器之研究，*土木水利*，第 26 期，第 72-78 頁，民國 89 年 2 月。
 21. 劉志添，低放射性廢棄物最終處置-高完整性容器（HPC）應用介紹，*台電核能月刊*，第 63-67 頁，民國 94 年 2 月。
 22. 周鼎、陳智隆，低放射性廢棄物盛裝容器審查導則研究，行政院原子能委員會放射性物料管理局委託研究計畫研究報告，民國 101 年。