DOI: 10.25283/2587-9707-2025-2-86-101 УДК 621.039.75 620.193.81, 552.523

СПОСОБЫ ПОДАВЛЕНИЯ МИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ В БЕНТОНИТАХ БУФЕРНОГО СЛОЯ ПРИ ЗАХОРОНЕНИИ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ

В. С. Чепцов[1], И. И. Толпешта[1], Ю. Г. Изосимова[1], Е. С. Абрамова[2], А. В. Сафонов[2], А. В. Закусина[3], Т. А. Королева[3], Л. А. Поздняков[1], В. В. Крупская[3, 4]

[1]Факультет почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва

[2]Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН, Москва

[3]Институт геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии РАН, Москва

[4]Геологический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва

Статья поступила в редакцию 29 ноября 2024 г.

Микробная активность в условиях глубинного геологического захоронения может приводить к образованию газа, что, в свою очередь, может повлиять на безопасность изоляции радиоактивных отходов. В работе проведена оценка снижения микробной активности в бентонитовых глинах месторождений «Таганское» и «10-й Хутор» вследствие их уплотнения и введения биоцидных добавок. Установлено, что из обоих исследованных бентонитов наиболее интенсивно углекислый газ выделяется при плотности скелета 1,2 г/см^3. При плотности скелета 1,45 г/см^3 в первый месяц проведения эксперимента он интенсивнее выделялся из образца бентонита месторождения «10-й Хутор» (10Х-98) по сравнению с образцом месторождения «Таганское» (Т-103). При плотности скелета 1,7 г/см^3 различия в микробной активности и газогенерации между бентонитами из разных месторождений отсутствовали. Исследования по применению биоцидных добавок для снижения микробной активности показали, что наиболее перспективным для исследованных глинистых материалов является полиметиленгуанидин (ПГМГ) концентрацией 0,5 мас.%, позволяющий снизить микробную активность более чем в 10 раз и не приводящий к изменению их фильтрационных свойств.

Ключевые слова: *ПГЗРО, буферный слой, уплотненные бентонитовые материалы, микробная активность, биоцидные добавки, радиоактивные отходы.*

Введение

Глубинное захоронение радиоактивных отходов (РАО) в геологических формациях считается наиболее надежным. Безопасность обеспечивается наличием в конструкции пункта глубинного захоронения РАО (ПГЗРО) инженерных (глины, материалы контейнеров и строительных конструкций) и естественных барьеров безопасности (геолого-гидрогеологические и природно-климатические условия участка размещения ПГЗРО), которые обеспечивают надежную изоляцию радионуклидов и затрудняют их распространение в окружающей среде [1], [2]. Исследование эффективности барьеров является ключевым вопросом при определении долгосрочной безопасности и важным этапом работ при проектировании ПГЗРО. Помимо исследования диффузионных, фильтрационных, сорбционных, прочностных и других свойств глинистых материалов инженерных барьеров безопасности (ИББ) необходимо проводить оценку влияния микробных процессов на функционирование всей системы барьеров [3]—[6].

Активное изучение их роли началось в 1980-х годах и в настоящее время является обязательной частью научных программ подземных исследовательских лабораторий (URL) Финляндии (OLKILUOTO и ONKALO) [7], Бельгии (HADES) [8], Швеции (Äspö Hard) [9] и Швейцарии (Mont-Terri) [10]. В последние годы подобные изыскания проводятся на площадке «Енисейский» в Красноярском крае, рассматриваемой в качестве перспективной для размещения ПГЗРО [11], [12]. На основании результатов первичных исследований в проекте MIND (Microbiology in Nuclear Waste Disposal) [13] приведен перечень наиболее важных рисков, среди которых биогенное газообразование, коррозия металлов контейнеров, деструкция бетона и преобразование глинистых материалов, приводящих к ухудшению показателей изолирующих свойств. Важно отметить, что протекание микробных процессов в материалах ИББ может происходить за счет образования радиолитических газов (H_2, CH_4, CO и др.), выщелачивания биогенных элементов (натрия и фосфора) из алюмофосфатных стеклянных матриц, железа из стальных емкостей и металлотехнических барьеров безопасности (МСБ), а также калия, натрия, кальция и органических веществ из глинистых материалов. Источником микроорганизмов в ИББ и ближней зоне ПГЗРО могут быть как сами материалы, в первую очередь, глины [14], так и подземные воды. Первичные исследования состава микробных сообществ глин и подземных вод приведены авторами в работах [14]—[16]. Высокая активность микроорганизмов на значительных глубинах в экстремальных условиях объясняется наличием у них разнообразных типов метаболизма (возможность дыхания с использованием различных окислителей (акцепторов электронов): нитратов, трехвалентного железа, сульфатов, селенатов, арсенатов и т. д.; возможность потребления в качестве доноров электронов в процессе дыхания двухвалентного железа, метана, водорода, угарного газа и других газов). Кроме того, со снижением дозовой нагрузки от контейнеров с РАО с течением времени и при поступлении подземных вод интенсивность микробных процессов будет только возрастать. По этой причине для обеспечения долговременной безопасности ПГЗРО необходимо принять меры для снижения интенсивности данных процессов. В данном случае можно рассмотреть два направления: увеличение плотности бентонита до величин, значительно снижающих развитие микроорганизмов, и использование биоцидных добавок.

Известно, что при повышении уплотненности бентонита количество доступной для микроорганизмов воды и размер пор снижаются, что создает неблагоприятные условия для них. Доступность воды для микроорганизмов зависит от ее активности (a_w), которая определяется как отношение давлений водяного пара над данным материалом и над чистой водой при той же температуре: $a_w = p/p_0$, где p — давление пара раствора, а p_0 — давление пара чистой воды. Данный показатель может варьировать от 0 до 1: чем он ближе к 1, тем более доступна вода в данном материале или растворе. Микроорганизмы могут расти в широком диапазоне активности воды (a_w от 0,585 до 0,999), но наиболее предпочтительны для них значения от 0,98 или выше [17]. Исследования показали, что в чистом бентоните, уплотненном до плотности скелета порядка 1,6 г/см^3 со значением влажности ~ 26 %, a_w составляет 0,96, что достаточно для ингибирования активности подавляющего большинства бактерий. Кроме того, уплотнение бентонита приводит к уменьшению размера пор. Так, при плотности скелета 1,6—1,65 г/см^3 размеры пор варьируют от 0,005 до 0,1 мкм, что намного меньше, чем диапазоны средних размеров микробных клеток. Для метаболической активности бактериям требуются взаимосвязанные поровые отверстия диаметром более 0,2 мкм, хотя жизнеспособные бактерии могут сохраняться и при таких малых величинах. Было установлено, что активное восстановление сульфатов в образцах уплотненного бентонита прекращается при их плотности выше 1,5 г/см^3 и влажности от 6,4 до 7,8 мас. % (т. е. при плотности скелета бентонита 1,3 и 1,6 г/см^3) [18]. Введение биоцидных добавок в глинистые материалы рассматривается как альтернативный способ подавления микробной активности. Наиболее предпочтительными для применения при захоронении РАО могут рассматриваться неокислительные биоциды. Их главное достоинство заключается в неагрессивном действии по отношению к материалам ИББ (стали, цементу, глине) [19]. К неокислительным биоцидам относятся: четвертичные аммонийные соединения (ЧАС), полигуанидины, изотиазолин, органобромиды и другие. Их механизм действия основан на увеличении проницаемости клеточной мембраны и последующем лизисе клеток, который обусловлен взаимодействием гидрофобных частей с фосфолинидами клеточной мембраны [20]. Биоцидные добавки в барьерные материалы должны иметь следующие параметры: быть активными в широком диапазоне температур (контейнеры с РАО могут нагреваться до 120 °C), иметь низкую поглощаемость глинистым материалом, а также оказывать

долговременное воздействие на микроорганизмы. На основании многолетних исследований цементных матриц для отверждения жидких РАО на МосНПО «Радон» был выбран биоцидный состав на основе полигексаметилгуанидина (ПГМГ) [21], использование которого повышает устойчивость цементного компаунда к биоразложению в течение срока эксплуатации хранилища. Применение биоцидных добавок должно также рассматриваться в контексте влияния их на фильтрационные свойства бентонитов.

Целью данной работы являлась оценка снижения микробной активности за счет уплотнения бентопорошков месторождений «Таганское» и «10-й Хутор» в буферном слое, а также благодаря введению в них биоцидных добавок.

Материалы и методы

Объектами исследования послужили бентопорошки из месторождений «Таганское» (Т-103) (Казахстан) и «10-й Хутор» (10Х-98) (респ. Хакасия, Россия).

Минеральный состав бентонитов в основном представлен смектитом (73%), в качестве примесей присутствуют кварц, иллит, плагиоклаз, анатаз и кальцит. В бентоните Таганского месторождения также присутствует небольшая примесь пирита [22]. Самые высокие значения pH суспензии бентонитов, приготовленной путем перемешивания 0,45 г глины и 45 мл дистиллированной воды, наблюдались в бентоните месторождения «10-й Хутор» и составили 9,25 единиц, а самые низкие — в образце Таганского месторождения (pH 7,7). Наиболее доступные микроорганизмам формы Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+} и K^{+} экстрагируются из глинистых материалов водой и в наибольших концентрациях обнаружены в водной вытяжке из бентонитов месторождения «10-й Хутор». Наименьшие количества катионов обнаружены в водной вытяжке из бентонита Таганского месторождения. В ней содержится мало Ca^{2+}, а концентрации Mg^{2+} и K^{+} не превышают 1 ммоль/л. Наибольшими величинами емкости катионного обмена среди изученных образцов обладает бентонит из Таганского месторождения (около 100 ммоль (+) на 100 г) [23].

Для оценки возможности жизнедеятельности микроорганизмов в уплотненных бентонитах провели эксперименты по инкубированию бентонитов, компактированных с модельной пластовой водой. Состав такого раствора подземных вод участка «Енисейский» согласно [24], [25] (10^{-4}, моль/л): K^{+} — 1,15, Mg^{2+} — 4,95, Ca^{2+} — 12,2, Cl^{-} — 25,6, SO_4^{2-} — 4,95, HCO_3^{-} — 8,87, pH 6,1. Для данного раствора pH доводили до значений 7 с помощью 0,5 М NaOH. Перед уплотнением образцы были увлажнены модельным раствором до значений полной влагоемкости (в диапазоне от 19,09% до 33,56%), подобранной для каждой плотности скелета. Для изучения субстрат-индуцированного дыхания в некоторые образцы добавляли ацетат натрия и глюкозу в количестве 1 г/л.

Их уплотнение осуществлялось на прессе ПСН-0.16.10М (ПрогрессГео, Россия) в стальной пресс-форме. Компактированные бентонитовые материалы по форме представляли собой цилиндры высотой 1 см, диаметром 2,5 см, общим объемом около 4,9 $см^3$. Далее спрессованные до плотностей скелета 1,20, 1,45 и 1,70 $г/см^3$ образцы были помещены в шприцы объемом 50 мл. Эксперименты проводились в шести повторностях (36 проб), а с добавлением ацетата натрия и глюкозы — в 3 повторностях (6 проб) при плотности скелета 1,45 $г/см^3$. Шприцы соединялись с помощью иглы с герметично закрытыми пенициллиновыми флаконами объемом 15 мл, их поршень фиксировался, а затем они помещались в штатив (рис. 1).

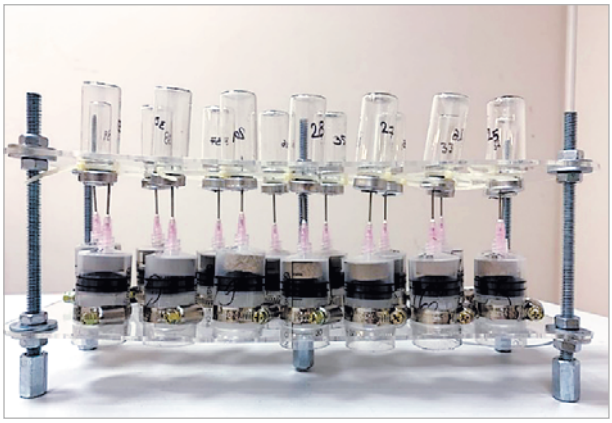

Рис. 1. Установка для проведения эксперимента по инкубированию бентонитов с модельной пластовой водой

Вся установка помещалась в термостат при температуре 60 °С. Инкубация образцов с добавлением органического вещества длилась один месяц, остальных — три. В течение эксперимента каждый месяц проводилась оценка количества выделившихся газов с помощью газовой хроматографии. По окончании инкубации были исследованы изменения порового пространства, выполнен рентгенодифракционный анализ и определена численность культивируемых аэробных гетеротрофных бактерий.

Определение численности культивируемых аэробных гетеротрофных бактерий проводили с помощью посева на плотные питательные среды. Для этого навеску каждого образца массой 0,1 г заливали 0,9 мл фосфатно-солевого

буферного раствора (PBS) и перемешивали при 2000 об/мин в течение 15 мин для десорбции клеток микроорганизмов с поверхности минеральных частиц [26]. Из полученной суспензии готовили серию десятикратных разведений в PBS. Далее проводили посев на плотную питательную среду LB (триптон — 10 г/л, дрожжевой экстракт — 5 г/л, NaCl — 10 г/л, агар-агар — 15 г/л) [27] в трехкратной повторности. Посевы инкубировали в течение двух недель при +25 °C и +45 °C, затем подсчитывали количество колоний на чашках. Численность культивируемых аэробных гетеротрофных бактерий в образцах рассчитывали по формуле (1):

$$N = \frac{n \times d}{V}, \quad (1)$$

где N — численность культивируемых аэробных гетеротрофных бактерий, КОЕ/г (КОЕ — колониеобразующая единица); n — количество бактериальных колоний на чашке Петри; d — показатель разведения; V — объем аликвоты разведения, нанесенной на чашку, мл.

Статистическую достоверность различий в численности культивируемых аэробных гетеротрофных бактерий определяли с помощью t-критерия.

Отбор газовой фазы производился из герметично закрытых пенициллиновых флаконов шприцем объемом 0,5 мл. Анализ концентрации углекислого газа, метана и этилена проводился методом газовой хроматографии на приборе Кристалл 5000.2 (Хроматэк, Россия) согласно технологии, описанной в работе [28]. Расчет скорости газогенерации выполнялся по следующей формуле (2):

$$C = \frac{\left(C_{\text{ppm}} - 1022{,}8\right) \times M_{\text{C}} \times V \times \dfrac{16{,}04 \times P}{T \times 1000}}{m \times t}, \quad (2)$$

где C_{ppm} — это содержание CO_2 в исследуемом образце, ppm; 1022,8 — содержание CO_2 в воздухе, ppm; M_C — молярная масса углерода, 12 г/моль; V — объем емкости, из которой была отобрана проба мл; P — давление, равное 760 мм рт. ст.; T — температура, 293 К; 1000 — коэффициент пересчета на нмоль/мл; m — масса исследуемого образца, г; t — время инкубации, ч. Для статистической обработки данных по газогенерации использовали тесты Вилкоксона и Тьюки.

Минеральный анализ бентонитов до и после инкубирования проводили на рентгеновском дифрактометре Miniflex 600 (Rigaku, Япония) с использованием CuKα-излучения, фильтрованного Ni, током на трубке 15 мА и напряжением 30 кВ с применением D/teX Ultra силиконового детектора в ориентированных препаратах в воздушно-сухом состоянии, после насыщения этиленгликолем и прокаливания при 550 °C в течение 2 часов.

Анализ структуры порового пространства при разных плотностях компактирования осуществлялся методом рентгеновской компьютерной томографии с помощью микротомографа SkyScan 1172 p [29].

Культивирование микробных сообществ для экспериментов по биообрастанию бентонитов проводили в закрытых стерильных пенициллиновых флаконах объемом 100 мл, соотношение твердого к жидкому 1 : 20, при температуре 20 °C в течение 28 дней. В качестве жидкой фазы также был использован модельный раствор.

Для предотвращения микробной активности на образцах глинистых материалов было подобрано 11 биоцидных добавок в концентрации 0,1, 0,5 и 1,0 мас.% от сухого бентонита, водосоотношение 1 : 10. Длительность инкубирования — 28 суток. Биоциды, использованные в данной работе, представлены в табл. 1.

Таблица 1. Используемые в экспериментах биоцидные добавки

Название	Производитель	Сокращение
«Ранцид»	ТОО «РауанНалко», Казахстан	–
«Аманат»	НП ОАО «Синтез ПАВ», Россия	–
Бензалкония хлорид	ООО «НОВА», Россия	БАХ
Дидецилдиметиламмония хлорид	«Альфахимсинтез», Россия	ДМА
Тетраметилендиэтилентетрамин	ООО «Технолог», Россия	ТМДЭТА
Бензилдиметиламмоний хлорид	ООО «НОВА», Россия	БДА
Анилид салициловой кислоты	«РусХим», Россия	АСК
Тетраборат натрия		–
2,2-дибром-3-нитрилопропионамид	ООО «НОВА», Россия	ДБНПА
Полигексаметилгуанидин	ООО «Альтерхим-Про», Россия	ПГМГ
Тиомочевина	«РусХим», Россия	–

Оценку метаболической активности микробного сообщества образцов глинистых материалов проводили с помощью МТТ-теста, который основан на восстановлении красителя 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид до пурпурного формазана за счет выделения восстановительных эквивалентов НАДФ-Н в ходе бактериального метаболизма [30].

Для оценки влияния биоцидных добавок на фильтрационные свойства глин были подготовлены четыре смеси бентонитов месторождений «10-й Хутор» и «Таганское» с соединениями, подавляющими микробную активность, в количестве 0,5 %: тетраборат натрия, анилид салициловой кислоты, тетраметилендиэтилентетрамин (ЧАС) и тиомочевина.

В качестве приближенной оценки гидроизоляционной способности различных глинистых материалов был использован метод фильтрации по стандарту [31], [32]. Для определения показателя статической фильтрации подготавливали 400 мл 6 %-й глинистой суспензии, выдерживали 24 часа, после чего 350 мл заливали в камеру пресс-фильтра, в которой суспензию очищали при заданной температуре (20 °C) и давлении (7 атм) за определенный промежуток времени (30 мин).

Измерение показателя фильтрации (водоотдачи) является экспресс-методом определения фильтрационных свойств материала и часто используется при оценке его качества на производстве, в том числе включено в СТО ГК «Росатом» «Инженерные барьеры безопасности пунктов хранения и захоронения радиоактивных отходов на основе глинистых материалов. Контроль качества».

Измерение осуществлялось, в соответствии с ГОСТ Р 70090-2022 «Материалы геосинтетические бентонитовые рулонные для гидроизоляции» [33], на фильтр-прессе низкого давления с ручным насосом модели ZNS-5A. Для проведения испытания подготавливали 6 %-ю глинистую суспензию, перемешивали в миксере 20 минут и выдерживали в течение суток. После этого нужный объем суспензии заливался в камеру пресс-фильтра и очищался, при давлении 7 атмосфер (100 ± 5 psi), за определенный промежуток времени. Значение коэффициента водоотдачи определялось как объем полученной после фильтрации жидкости ($см^3$). Дополнительно измеряли толщину фильтрационной корки при помощи штангенциркуля с точностью до 1—2 мм.

Изменение в пористости образцов компактированных бентонитов до и после экспериментов проводили методами компьютерной микротомографии на рентгеновском томографе Yamato TDM1000 (Yamato Scientific, Токио, Япония). Сканирование проводилось при напряжении 75 кВ и токе 0,053 мА с размером вокселя 20 мкм. Построение и обработка трехмерных моделей образцов выполняли с помощью программы VGStudio MAX 2.2.

Результаты

Разнообразие метаболических возможностей микроорганизмов проб глинистых материалов

Биоинформатический анализ микробного разнообразия проб глинистых материалов из месторождений «Таганское» и «10-й Хутор» (подробные данные приведены в работах [14], [16]) показал наличие в обоих образцах групп микроорганизмов, которые способны осуществлять процессы восстановления/окисления железа (бактерии цикла железа), сульфатредукции (бактерии цикла серы) и газообразования (выделение газообразных продуктов жизнедеятельности — метана и углекислого газа) (рис. 2). Выбранные процессы являются нежелательными для материалов ИББ (стекло, сталь, глинистый материал, цемент) в концепции глубинного захоронения РАО.

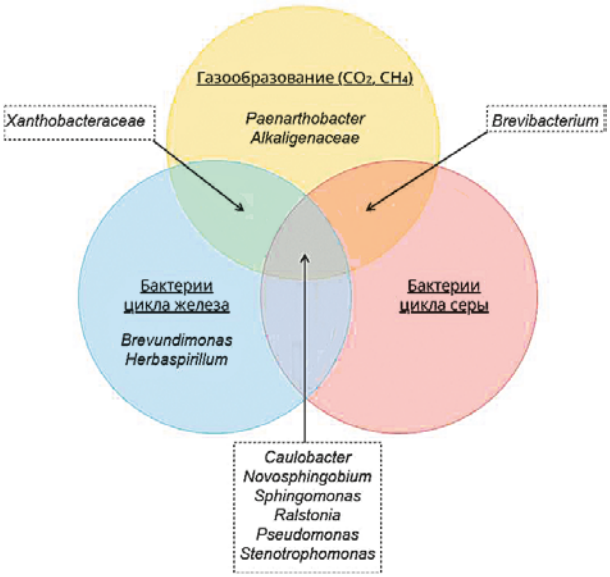

Рис. 2. Диаграмма Венна метаболических возможностей образцов Т-103 и 10Х-98

Наибольшая группа из 6 таксонов (родов *Caulobacter, Novosphingobium, Sphingomonas, Ralstonia, Pseudomonas, Stenotrophomonas*) сочетает в своем метаболизме все рассмотренные процессы. Биогенное и биогенно-опосредованное воздействие выражается в ускоренной коррозии и разрушении стальных контейнеров, выходе катионно-обменных элементов и преобразовании минералов. Также стоит отметить, что данные микроорганизмы относятся к аборигенным и типичным для подземных сообществ. Не менее опасными являются виды, сочетающие в метаболизме процессы газообразования за счет брожения и метаногенерации, а также сульфатредукции. К этой группе относятся бактерии

рода *Brevibacterium*, а *Xanthobacteraceae* приводят к коррозии металлов и газообразованию.

Оценка микробной активности в компактированных бентонитах

Численность культивируемых бактерий

Численность аэробных гетеротрофных бактерий, культивируемых при +25 °С, в исследованных образцах после инкубации при различной плотности их скелета варьировала от 50 до 450 КОЕ/г, а при +45 °С, составляла от 50 до $1{,}7 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В бентоните месторождения «10-й Хутор» при плотностях скелета 1,2 и 1,7 г/см^3 после инкубации количество бактерий, культивируемых как при +25 °С, так и при +45 °С, снизилось на порядок по сравнению с исходными (не инкубированными) образцами (рис. 3А). После этого при плотности скелета 1,45 г/см^3 концентрация бактерий, способных к росту при +45 °С, выросла.

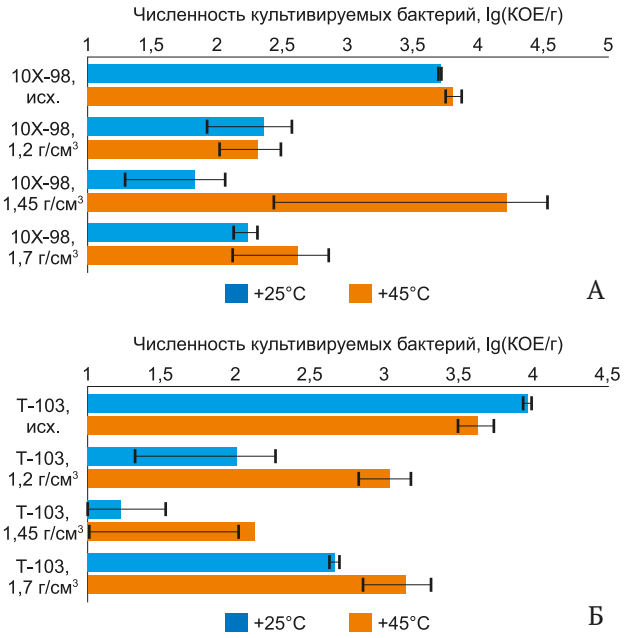

Рис. 3. Численность культивируемых аэробных гетеротрофных бактерий в бентонитах после инкубации при различной плотности скелета: А – 10Х-98, Б – Т-103. Планки погрешностей обозначают стандартную ошибку среднего

В бентоните месторождения «Таганское» при всех плотностях скелета после инкубации наблюдалось снижение численности бактерий, культивируемых при обеих температурах, на 1—2 порядка (рис. 3Б). Их наименьшее среднее количество было характерно для образцов, инкубированных при плотности скелета 1,45 г/см^3, однако статистически оно не отличалось от показателей, полученных для проб с другими плотностями. При этом следует отметить, что численность бактерий, способных к росту при +45 °С, после инкубации была выше, чем количество мезофильных бактерий, что объясняется их преимущественной гибелью при повышенных температурах (+60 °С). В исходных же образцах обилие таких микроорганизмов было выше, чем термотолерантных.

Зависимости между плотностью скелета образца и численностью культивируемых бактерий выявлено не было. Литературные данные свидетельствуют о снижении содержания жизнеспособных микроорганизмов при увеличении плотности скелета бентонитов [34]. Отсутствие подобной зависимости может быть обусловлено тем, что даже при минимальной плотности, используемой в данной работе, наступают условия, приводящие к гибели вегетативных клеток. Жизнеспособные микроорганизмы, вероятно, остались в виде спор, и увеличение плотности не повлияло на их сохранность. Известно, что споры прокариот могут переживать воздействие множества неблагоприятных факторов и затем прорастать при наступлении благоприятных условий [35].

После помещения образцов в ячейки раствор не поступал и давление набухания не развивалось. В дальнейшем планируется разработать специализированные ячейки с возможностью подачи раствора в ходе эксперимента для того, чтобы проанализировать влияние создаваемого давления набухания на численность бактерий.

Эмиссия газов из компактированных бентонитов

В течение 1-го месяца эксперимента наблюдалась эмиссия углекислого газа из компактированных бентонитов, которая составляла от 0,0025 до 0,0120 мкгС-CO_2/(г·ч). В течение 2-го и 3-го месяцев регистрировалась отрицательная динамика CO_2 у образцов с плотностью скелета 1,45 и 1,7 г/см^3 (рис. 4 и 5). В этот период сорбция газа в целом оставалась на одном уровне, в некоторых случаях немного уменьшалась, что может быть связано с постепенным заполнением адсорбционных центров [36]. У бентонитов с плотностью скелета 1,2 г/см^3 в 1-й и 2-й месяцы инкубации концентрация CO_2 повышалась, а в 3-й месяц происходила его сорбция — от 0,0015 до 0,0026 мкгС-CO_2/(г·ч).

В первые два месяца эксперимента выделение CO_2 из компактированных бентонитов было максимальным при наименьшей плотности скелета (1,2 г/см^3) (табл. 2). При этом эмиссия была выше в образце месторождения «10-й Хутор» по сравнению с бентонитом Таганского месторождения. Возможно, это обеспечивается высоким содержанием водорастворимых Ca^{+2}, Mg^{+2} и K^+.

Таблица 2. Скорость эмиссии CO_2 в 1, 2 и 3 месяцы эксперимента

Образец	Плотность скелета, г/см^3	1-й месяц		2-й месяц		3-й месяц	
		Среднее, мкг С-CO_2/(г·ч) (среднее)	Доверит. интервал	Среднее, мкг С-CO_2/(г·ч) (среднее)	Доверит. интервал	Среднее, мкг С-CO_2/(г·ч) (среднее)	Доверит. интервал
Т-103	1,7	0,0025	±0,0002	–0,0017	±0,0001	–0,0017	±0,0002
	1,45	0,0030	±0,0005	–0,0022	±0,0004	–0,0015	±0,0015
		0,0030*	±0,0003*	–	–	–	–
	1,2	0,0059	±0,0009	0,0064	±0,0014	–0,0022	±0,0031
10Х-98	1,7	0,0036	±0,0030	–0,0019	±0,0024	–0,0021	±0,0004
	1,45	0,0105	±0,0019	–0,0052	±0,0018	–0,0020	±0,0029
		0,0079*	±0,0031*	–	–	–	–
	1,2	0,0120	±0,0030	0,0123	±0,0029	–0,0026	±0,0027

*с добавлением глюкозы и ацетата натрия

При плотности скелета 1,45 г/см^3 углекислый газ значительно интенсивнее выделялся из образца 10Х-98, по сравнению с Т-103, в первый месяц проведения эксперимента. При плотности скелета 1,7 г/см^3 различия между бентонитами из разных месторождений отсутствовали.

При добавлении глюкозы и ацетата натрия после месяца инкубации скорость эмиссии углекислого газа в образце Т-103 была меньше, чем в 10Х-98 (табл. 2). При этом интенсивность выделения CO_2 статистически не отличалась от показателей соответствующих образцов, инкубированных без добавления органического вещества.

Таким образом, интенсивность потока углекислого газа зависела от величины плотности скелета. При ее увеличении интенсивность потока снижалась для всех образцов. Добавление органического вещества не оказало влияния на выделение углекислого газа. Из образцов бентонита месторождения «10-й Хутор» при плотностях 1,2 и 1,45 г/см^3 наблюдалась большая эмиссия газа по сравнению с бентонитом Таганского месторождения.

Во всех образцах на всех сроках инкубации наблюдалось выделение метана и этилена, однако оно не превышало $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ мкгС/(г·ч), что на два-три порядка ниже скорости эмиссии углекислого газа и является пренебрежимо малым значением.

Вероятно, поглощение газов началось в первый месяц инкубации, а затем продолжалось и далее. Его интенсивность не была связана с удельной площадью поверхности образцов, наименьшей из которых обладает бентонит 10Х-98 (26 м^2/г), а наибольшей — Т-103 (65 м^2/г) [22]. Сокращение потока CO_2 при увеличении плотности скелета может быть связано с уменьшением как коэффициента диффузии газов, так и порового пространства, в котором потенциально могут присутствовать микроорганизмы, а также с падением активности воды. При увеличении плотности скелета находящаяся в образцах вода переходит в пленочную, что сопровождается снижением парциального давления над ней, приводящего к уменьшению ее доступности [37]. С течением времени эмиссия газа сокращается, что может свидетельствовать о том, что температура инкубации 60 °С оказывается неблагоприятной для большинства присутствующих бактерий, которые либо погибают, либо переходят в метаболически неактивное состояние (например, образуют споры или цисты). Также это может свидетельствовать об уменьшении количества доступных питательных веществ, которые в процессе жизнедеятельности потребляются микроорганизмами, что приводит к уменьшению их активности.

Влияние микробной активности на конфигурацию порового пространства бентонитов

Существенных трансформационных изменений с глинистыми минералами, растворение и образование новых минеральных фаз за время проведения экспериментов обнаружено не было. После трех месяцев инкубации происходит увеличение размера макропор во всех образцах, за исключением бентонита месторождения «Таганское» с плотностью скелета 1,45 г/см^3 (табл. 3), измеренных методом компьютерной микрофотогорафии (рис. 4). Компактированные бентониты месторождения «10-й Хутор» при всех плотностях скелета имеют больший объем макропор и их долю в общем объеме образца по сравнению с бентонитами Таганского месторождения. В результате трехмесячного инкубирования при 60 °С в образце месторождения «10-й Хутор» с наименьшей плотностью

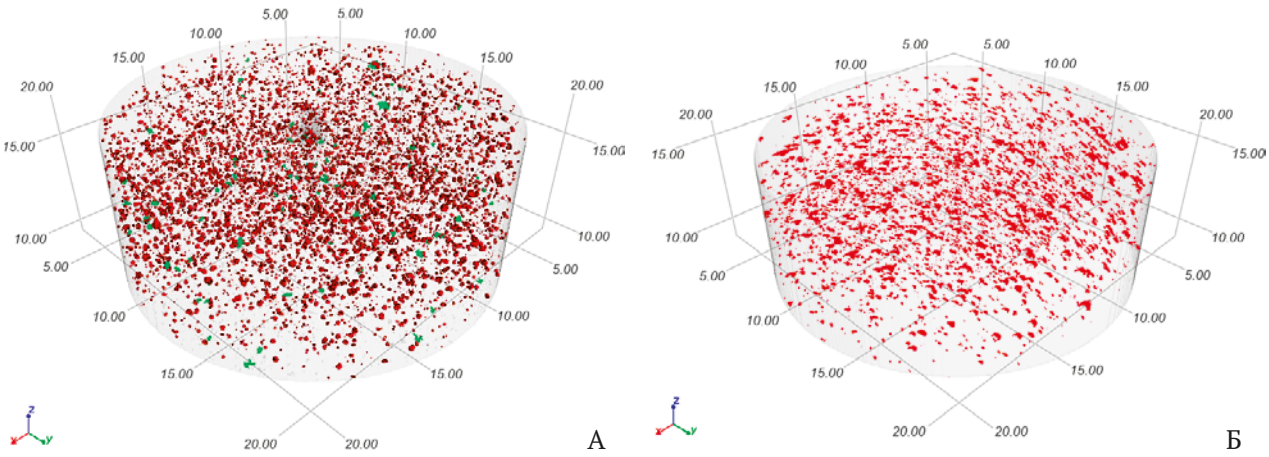

Рис. 4. Трехмерная реконструкция распределения плотных включений образцов бентонитов «10-й Хутор» (А) и «Таганское» (Б), красным цветом выделены наиболее плотные включения, зеленым — поры

скелета (1,2 г/см^3) образовались трещины, которые заняли 1,11 % от его объема.

Полученные результаты хорошо согласуются с динамикой газообразования. Наибольшие потоки CO_2 были отмечены для бентонита месторождения «10-й Хутор» при самой низкой плотности скелета, которые, вероятно, и привели к образованию в нем трещин (табл. 3).

Таблица 3. Сравнение содержания структурных элементов образцов после инкубации в течение 3 месяцев, измеренных методом компьютерной микротомографии

Образец	Плотность скелета, г/см^3	Объем пор, мм^3	Макропоры, %	Объем трещин, мм^3	Трещины, %
Т-103	1,20	10,58	0,46	–	–
10Х-98		17,04	0,75	25,14	1,11
Т-103	1,45	–	–	–	–
10Х-98		0,57	0,03	–	–
Т-103	1,70	1,14	0,05	–	–
10Х-98		2,17	0,10	–	–

Результаты влияния биоцидных добавок на микробную активность и фильтрационные свойства

На рис. 5 приведены результаты скрининга биоцидных добавок для глинистых материалов 10Х-98 и Т-103 на основе дыхательной активности микробного сообщества на 28 сутки инкубирования при температуре 20 °С. Установлено, что биоциды на основе четвертичных аммонийных соединений БАХ, ДМА, ТМДЭТА и БДА в концентрации 0,1, 0,5, 1,0 мас.% снижали микробную активность на 60—70 %, оказывая при этом биостатическое действие (не приводя к гибели микроорганизмов, но снижая их деление). Для проявления биоцидного действия требуется проводить эксперименты на более высоких концентрациях. Показатели у «Ранцида», «Аманата», а также тиомочевины вызывают падение активности микроорганизмов в среднем на 20 %; борсодержашие биоциды (тетраборат натрия) — примерно на 10 %. Анилид салициловой кислоты (АСК) приводил к снижению метаболической активности в 2,5—3 раза в зависимости от глины. Возможно, невысокий биоцидный эффект ряда добавок наблюдался за счет блокирования их функциональных групп при химическом взаимодействии с глинистыми минералами.

Важно отметить, что ПГМГ в составе барьерных материалов обладает рядом перспективных свойств. Во-первых, он проявляет антикоррозионные свойства для металлических конструкций [38], что может положительно влиять на поведение стали на границе «сталь — бентонит». Во-вторых, введение ПГМГ приводит к иммобилизации редокс-чувствительных анионов, например технеция [39].

Оптимальной концентрацией является 0,5 мас.% добавки на образец. При ее повышении до 1,0 мас.% существенного снижения микробной активности не наблюдалось. Исследованные биоцидные добавки являются водорастворимыми, кроме АСК (анилида салициловой кислоты), поэтому при их введении увеличения гидрофобности глин не происходит, даже в случае АСК. В лабораторном эксперименте биоциды были добавлены в виде растворов, АСК был перетерт в корундовой ступке и внесен в виде порошка. Для введения биоцидов в промышленные глины наиболее оптимальным является метод распыления, что позволит добиться усреднения по составу промышленной смеси. Таким

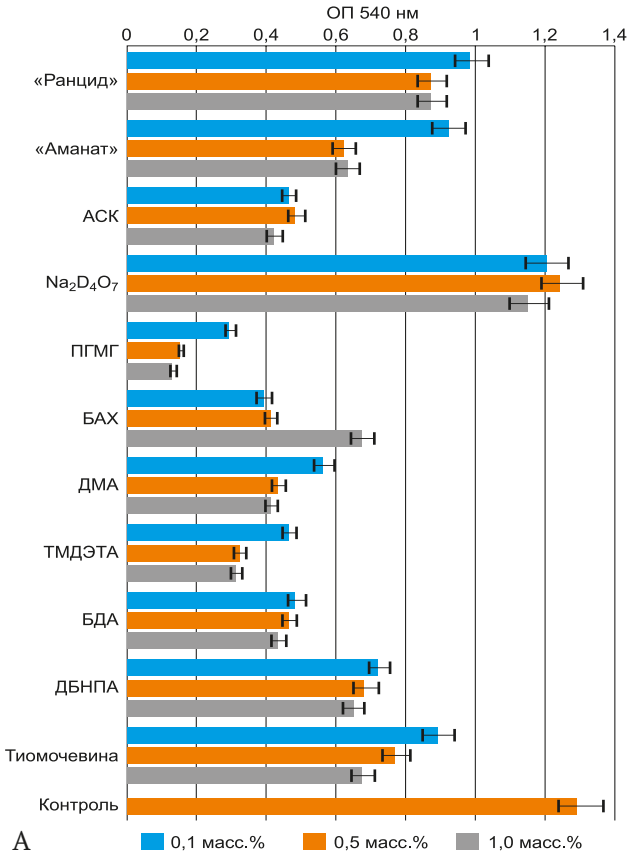

Рис. 5. Метаболическая активность микроорганизмов в образцах бентонитов в присутствии биоцидных добавок в концентрации 0,1, 0,5 и 1,0 мас.% на 28 сутки эксперимента: А – 10Х-98, Б – Т-103

образом, значимых изменений физико-химических свойств глинистых материалов при введении 0,5 мас.% биоцидных добавок не произойдет. Высокая активность препаратов в бентонитах показывает, что химических взаимодействий наиболее важных функциональных групп соединений с глинистыми минералами не происходит.

Однако в общем случае биоцидные добавки незначительно повысили показатель фильтрации (рис. 6). Их влияние на величину водородного показателя незначительно, однако ЧАС увеличивает щелочность равновесного раствора всех образцов. В целом рассмотренные бентониты в контакте с дистиллированной водой формируют щелочную, слабощелочную среду с pH 8,7—9,9. Использование биоцидных добавок оказывает различное действие на глинистые материалы, что приводит к разрушению структуры двойного электрического слоя. За счет пептизации глинистых частиц при применении тетрабората натрия происходит увеличение фильтрационных свойств, а другие добавки приводят к коагуляции частиц и повышению пористости

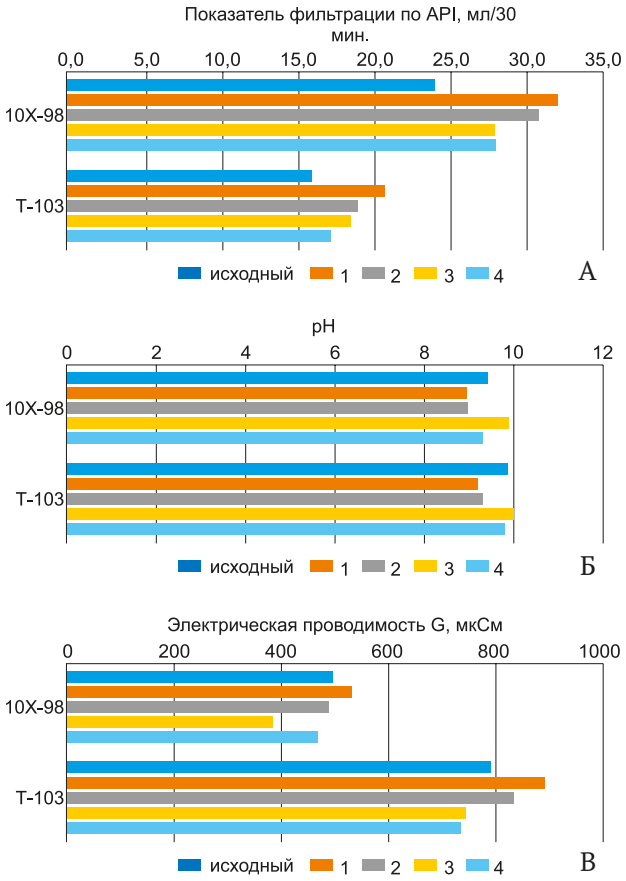

Рис. 6. Величины: показателя фильтрации – А; pH равновесного раствора – Б; электрической проводимости равновесного раствора бентонитов с биоцидными добавками – В; 1 – тетраборат натрия, 2 – анилид салициловой кислоты, 3 – четвертичное аммонийное соединение, 4 – тиомочевина

материала. Таким образом, при рассмотрении вопросов использования биоцидных добавок следует проводить комплексные исследования, которые должны включать их влияние как на микробную активность, так и на изоляционные свойства глинистых материалов ИББ.

Заключение

Анализ микробного разнообразия проб глинистых материалов из месторождений «Таганское» и «10-й Хутор» показал наличие в обоих образцах микроорганизмов, которые способны осуществлять процессы восстановления/окисления железа (бактерии цикла железа), сульфатредукции (бактерии цикла серы) и газообразования (выделение газообразных продуктов жизнедеятельности — метана и углекислого газа), потенциально опасных для всех материалов ИББ. При этом наши исследования показывают снижение микробной активности при увеличении плотности скелета компактированных бентонитов.

При исследовании газогенерации в компактированных бентонитах наблюдается наиболее интенсивная эмиссия CO_2 в образцах с наименьшей плотностью скелета — 1,2 г/см^3. При плотности скелета 1,45 г/см^3 углекислый газ существенно активнее выделяется из образца 10Х-98, по сравнению с Т-103, в первый месяц проведения эксперимента. При плотности скелета 1,7 г/см^3 отсутствуют различия в интенсивности газовыделения между бентонитами из разных месторождений.

Важно отметить, что в компактированных бентонитах, инкубированных с модельной пластовой водой, в течение трех месяцев существенных изменений в строении смектитов и в минеральном составе бентонитов (растворении или синтеза новых фаз) не выявлено.

Наиболее перспективной биоцидной добавкой для исследованных глинистых материалов является ПГМГ концентрацией 0,5 мас.%, которая также способствует иммобилизации редокс-активных радионуклидов и может замедлять коррозию стали. Тем не менее при обосновании требований к барьерным материалам ПГЗРО рекомендуется учитывать влияние различных факторов на формирование функциональных свойств, в частности, использования биоцидных добавок на изоляционные свойства, а также продолжительность их действия.

Благодарности

Работа реализуется в рамках «Комплексной программы исследований в обоснование долговременной безопасности захоронения РАО и оптимизации эксплуатационных параметров (Стратегического мастер-плана исследований в обоснование безопасности сооружения, эксплуатации и закрытия ПГЗРО в Нижнеканском массиве (Красноярский край))», утвержденной Госкорпорацией «Росатом» с горизонтом планирования до 2030 г.

Изучение минерального состава проводилось при частичной поддержке Российского научного фонда, проект № 22-17-00252. Определение минерального состава илистой фракции проведено на дифрактометре MiniFlex 600 Rigaku, приобретенном МГУ имени М. В. Ломоносова в рамках федерального проекта «Развитие передовой инфраструктуры для проведения исследований и разработок в Российской Федерации» национального проекта «Наука».

Авторы также выражают благодарность за организацию исследования компьютерной томографией к. г.-м. н. с. н. с. Чернову М. С. и инж. Ермолинскому А. Б. (МГУ им. М. В. Ломоносова), а также руководству ГК «Бентонит» за предоставленные образцы бентонитовых глин.

Экспериментальные исследования частично проводились с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития МГУ.

Литература

1. *Ericsson L. O.* Geoscientific R&D for high-level radioactive waste disposal in Sweden — current status and future plans // Engineering Geology. 1999. Vol. 52. No. 3—4. Pp. 305—317. DOI: 10.1016/S0013-7952(99)00013-7.

2. *Ross B.* Scenarios for repository safety analysis // Engineering Geology. 1989. Vol. 26. No. 4. Pp. 285—299. DOI: 10.1016/0013-7952(89)90018-5.

3. *Sun H., Mašín D., Najser J., Scaringi G.* Water retention of a bentonite for deep geological radioactive waste repositories: High-temperature experiments and thermodynamic modeling // Engineering Geology. 2020. Vol. 269. P. 105549. DOI: 10.1016/j.enggeo.2020.105549.

4. *Villar M. V., García-Siñeriz J. L., Bárcena I., Lloret A.* State of the bentonite barrier after five years operation of an in situ test simulating a high level radioactive waste repository // Engineering Geology. 2005. Vol. 80. No. 3—4. Pp. 175—198. DOI: 10.1016/j.enggeo.2005.05.001.

5. *Крупская В. В., Тюпина Е. А., Закусин С. В., Ильина О. А., Савельева Е. А.* Обоснование выбора глинистых материалов для разработки инженерных барьеров безопасности при изоляции РАО в ПГЗРО на участке недр «Енисейский» //

Радиоактивные отходы. 2023. № 2 (23). С. 98—112. DOI: 10.25283/2587-9707-2023-2-98-112.

6. *Болдырев К. А., Сафонов А. В., Абрамова Е. С., Гладких Н. А., Крючков Д. В.* Исследование коррозии углеродистой стали Ст3 в присутствии микроорганизмов, выделенных из подземных вод на участке «Енисейский» // Радиоактивные отходы. 2021. № 3 (16). С. 103—113. DOI: 10.25283/2587-9707-2021-3-103-113.

7. *Pedersen K., Motamedi M., Karnland O., Sandén T.* Mixing and sulphate-reducing activity of bacteria in swelling, compacted bentonite clay under high-level radioactive waste repository conditions // Journal of Applied Microbiology. 2000. Vol. 89 (6). Pp. 1038—1047. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01212.x.

8. *Mijnendonckx K., Honty M., Wang L. et al.* An active microbial community in Boom Clay pore water collected from piezometers impedes validating predictive modeling of ongoing geochemical processes // Applied Geochemistry. 2019. Vol. 106. Pp. 149—160. DOI: 10.1016/j.apgeochem.2019.05.009.

9. *Pedersen K.* Subterranean microorganisms and radioactive waste disposal in Sweden // Engineering Geology. 1999. Vol. 52. No. 3—4. Pp. 163—176. DOI: 10.1016/S0013-7952(99)00004-6.

10. *Leupin O. X., Bernier-Latmani R., Bagnoud A. et al.* Fifteen years of microbiological investigation in Opalinus Clay at the Mont Terri rock laboratory (Switzerland) // Swiss Journal of Geosciences. 2017. Vol. 110. Pp. 343—354. DOI: 10.1007/s00015-016-0255-y.

11. *Linge I. I., Utkin S. S., Kulagina T. A., Trokhov N. N.* Underground research laboratory in "the Yenisei" section of the Nizhnekansky massif of the Krasnoyarsk Region // Journal of Siberian Federal University Engineering & Technologies. 2019. Vol. 12. No. 7. Pp. 830—841. DOI: 10.17516/1999494X-0183.

12. *Kamnev E. N., Morozov V. N., Tatarinov V. N., Kaftan V. I.* Geodynamics aspects of investigations in underground research laboratory (Niznekansk massif) // Eurasian mining. 2018. No. 2. Pp. 11—14. DOI: 10.17580/em.2018.02.03.

13. Final Synthesis report for MIND WP1. Microbiology in Nuclear waste Disposal (MIND) / Editor: Joe Small (NNL). 2019. 68 p.

14. *Abramova E., Popova N., Artemiev G. et al.* Characteristics and Rates of Microbial Processes in Clays of Different Mineral and Elemental Composition in Relation to Safety Prediction for ESB Clay Materials // Applied Sciences (Switzerland). 2022. Vol. 12. No. 4. P. 1843. DOI: 10.3390/app12041843.

15. *Abramova E., Popova N., Artemiev G. et al.* Biological factors affecting the evolution of safety barrier materials in the Yeniseisky deep geological repository // Engineering Geology. 2023. Vol. 312. P. 106931. DOI: 10.1016/j.enggeo.2022.106931.

16. *Кошелева Д. Д., Чепцов В. С., Степанов А. Л., Толпешта И. И., Крупская В. В.* Исследование микробного состава бентонитов двух месторождений // Почвоведение. 2023. No. 5. С. 586—593. DOI: 10.31857/S0032180X22601360.

17. *Jay J. M., Loessner M. J., Golden D. A.* Chemical, biological, and physical methods / In book: Modern Food Microbiology. 2005. Pp. 241—284.

18. *Stroes-Gascoyne S. et al.* The effects of the physical properties of highly compacted smectitic clay (bentonite) on the culturability of indigenous microorganisms // Applied Clay Science. 2010. Vol. 47. No. 1—2. Pp. 155—162. DOI: 10.1016/j.clay.2008.06.010.

19. *Рудакова Г. Я.* Обзор реагентов биоцидной обработки и области их применения // VII научно-практическая конференция «Современные технологии водоподготовки и защиты оборудования от коррозии и накипеобразования» : Сборник докладов, Москва, 25—26 октября 2017 года. — М. : Некоммерческое партнерство «РОСХИМРЕАКТИВ», 2017. С. 101—104.

20. *Kwasniewska D., Chen Y. L., Wieczorek D.* Biological Activity of Quaternary Ammonium Salts and Their Derivatives // Pathogens. 2020. Vol. 9. No. 6. P. 459. DOI: 10.3390/pathogens9060459.

21. *Горбунова О. А., Винокуров С. Е.* Кондиционирование низко- и среднерадиоактивных отходов с учетом защиты цементных компаундов от микробиологической деструкции // Известия Томского политехнического университета. 2012. Т. 320. № 1. С. 178—183.

22. *Koroleva T., Krupskaya V., Tyupina E. et al.* Impacts of Impurity Removal Chemical Pretreatment Procedures on the Composition and Adsorption Properties of Bentonites // Minerals. 2024. Vol. 14. No. 8. P. 736. DOI: 10.3390/min14080736.

23. *Izosimova Y., Gurova I., Tolpeshta I. et al.* Adsorption of Cs(I) and Sr(II) on Bentonites with Different Compositions at Different pH // Minerals. 2022. Vol. 12. No. 7. P. 862. DOI: 10.3390/min12070862.

24. *Rozov K. B., Rumynin V. G., Nikulenkov A. M., Leskova P. G.* Sorption of ^{137}Cs, ^{90}Sr, Se, ^{99}Tc, $^{152(154)}$Eu, $^{239(240)}$Pu on fractured rocks of the Yeniseysky site (Nizhne—Kansky massif, Russia) // E3S Web of Conferences, Tomsk, July 21—26, 2019. Vol. 98. — Tomsk: EDP Sciences, 2019. P. 10007. DOI: 10.1051/e3sconf/20199810007.

25. *Meleshyn A. Yu., Zakusin S. V., Krupskaya V. V.* Swelling pressure and permeability of compacted bentonite from 10th Khutor deposit (Russia) // Minerals. 2021. Vol. 11. No. 7. P. 742. DOI: 10.3390/min11070742.

26. *Cheptsov V. S., Vorobyova E. A., Osipov G. A. et al.* Microbial activity in Martian analog soils after ionizing radiation: Implications for the preservation of subsurface life on Mars // Aims

Microbiology. 2018. Vol. 4. No. 3. Pp. 541—562. DOI: 10.3934/microbiol.2018.3.541.
27. *Белов А. А., Чепцов В. С., Лысак Л. В.* Методы идентификации почвенных микроорганизмов. — М. : МАКС Пресс, 2020. 196 с.
28. *Гапешин Д. И., Поздняков Л. А., Демидов В. В.* Интенсивность микробного дыхания и денитрификации в пахотной дерново-подзолистой почве разной степени смытости // Агрохимический вестник. 2022. № 2. С. 53—57. DOI: 10.24412/1029-2551-2022-2-010.
29. *Mergelov N., Mueller C. W., Prater I. et al.* Alteration of rocks by endolithic organisms is one of the pathways for the beginning of soils on Earth // Scientific Reports. 2018. Vol. 8. No. 1. P. 3367. DOI: 10.1038/s41598-018-21682-6.
30. *Cory A. H., Owen T. C., Barltrop J. A., Cory J. G.* Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture // Cancer Commun. 1991. Vol. 3. No. 7. Pp. 207—212. DOI: 10.3727/095535491820873191.
31. API RP 13B-1 : 2019. Field Testing Water-based Drilling Fluids. P. 132.
32. ГОСТ 33213-2014. Межгосударственный стандарт. Контроль параметров буровых растворов в промысловых условиях. Растворы на водной основе.
33. *Fredrickson J. K., McKinley J. P., Bjornstad B. N. et al.* Pore-size constraints on the activity and survival of subsurface bacteria in a late cretaceous shale-sandstone sequence, northwestern New Mexico // Geomicrobiology Journal. 1997. Vol. 14. No. 3. Pp. 183—202.
34. ГОСТ Р 70090-2022. Материалы геосинтетические бентонитовые рулонные для гидроизоляции. — М. : Российский институт стандартизации, 2022. 24 с.
35. *Nicholson W. L., Munakata N., Horneck G. et al.* Resistance of Bacillus endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments // Microbiology and molecular biology reviews. 2000. Vol. 64. No. 3. Pp. 548—572.
36. *Толмачев А. М.* Адсорбция газов, паров и растворов. — М. : Издательская группа «Граница», 2012. 241 с.
37. *Stroes-Gascoyne S., Hamon C.J., Maak P., Russell S.* The effects of the physical properties of highly compacted smectitic clay (bentonite) on the culturability of indigenous microorganisms // Applied Clay Science. 2010. Vol. 47. No. 1—2. Pp. 155—162. DOI: 10.1016/j.clay.2008.06.010.
38. Способ защиты стали от коррозии : пат. 2 124 579 C1 Российская Федерация, МПК C23F11/08 / Томин В. П. и др. ; патентообладатель Акционерное общество открытого типа «Нефтехимическая Компания». — № 96120393/02 ; заявл. 03.10.1996 ; опубл. 10.01.1999.
39. *Kamorny D. A., Safonov A. V., Boldyrev K. A. et al.* Modification of the Cement Matrix with Organic Additives for Stabilizing Pertechnetate Ions // Journal of Nuclear Materials. 2021. Vol. 557. No. 7. P. 153295. DOI: 10.1016/j.jnucmat.2021.153295.

Информация об авторах

Чепцов Владимир Сергеевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник, факультет почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова (119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12), e-mail: cheptcov.vladimir@gmail.com.

Толпешта Инна Игоревна, доктор биологических наук, заведующий кафедрой, факультет почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова (119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12), e-mail: itolp@soil.msu.ru.

Изосимова Юлия Геннадьевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии почв, факультет почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова (119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12), e-mail: izosimova.julya@yandex.ru.

Абрамова Елена Сергеевна, инженер лаборатории химии технеция, Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН (119071, Москва, ул. Обручева, д. 40, стр. 1), e-mail: gorchicta246@mail.ru.

Сафонов Алексей Владимирович, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН (119071, Москва, ул. Обручева, д. 40, стр. 1), e-mail: alexeysafonof@gmail.com.

Закусина Анастасия Вячеславовна, студент 1 курса магистратуры, факультет почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова (119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12), e-mail: a.zakusina@gmail.com.

Королева Татьяна Александровна, младший научный сотрудник, Институт геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии РАН (119017, Москва, Старомонетный пер., д. 35), e-mail: tanakoro@yandex.ru.

Поздняков Лев Анатольевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии почв, факультет почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова (119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12), e-mail: pozdnyakovla@my.msu.ru.

Крупская Виктория Валерьевна, кандидат геолого-минералогических наук, ведущий научный сотрудник, Институт геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии РАН (119017, Москва, Старомонетный пер., д. 35); старший научный сотрудник, геологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1), e-mail: krupskaya@ruclay.com.

Библиографическое описание статьи

Чепцов В. С., Толпешта И. И., Изосимова Ю. Г., Абрамова Е. С., Сафонов А. В., Закусина А. В., Королева Т. А., Поздняков Л. А., Крупская В. В. Способы подавления микробной активности в бентонитах буферного слоя при захоронении радиоактивных отходов // Радиоактивные отходы. 2025. № 2 (31). С. 86—101. DOI: 10.25283/2587-9707-2025-2-86-101.

METHODS PROVIDING MICROBIAL SUPPRESSION IN BUFFER LAYER BENTONITES UNDER RADIOACTIVE WASTE DISPOSAL CONDITIONS

Cheptsov V. S.[1], Tolpeshta I. I.[1], Izosimova Yu. G.[1], Abramova E. S.[2], Safonov A. V.[2], Zakusina A. V.[3], Koroleva T. A.[3], Pozdnyakov L. A.[1], Krupskaya V. V.[3, 4]

[1]Faculty of Soil Science of M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

[2]Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[3]Institute of Geology of Ore Deposits, Petrography, Mineralogy, and Geochemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[4]Faculty of Geology of M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Article received on November 29, 2024

The paper evaluates the reduction of microbial activity in bentonite materials from Taganskoe and 10th Khutor deposits via their compaction and introduction of biocidal additives. The study shows that CO_2 is most intensively released at clay compaction density of up to 1.2 g/cm^3 for both of the studied bentonites. At a matrix density of 1.45 g/cm^3, carbon dioxide was releasing much more intensively from sample 10Kh-98 compared to T-103 in the first month of the experiment. At a matrix density of 1.7 g/cm^3, no differences were observed between bentonites from different deposits. The study shows that the most promising biocidal additive for the studied clay materials is PHMG at a concentration of 0.5 wt.% reducing the microbial activity by more than 10 times and affecting in no way the filtration-diffusion properties of the materials.

Keywords: *deep geological repository, buffer layer, compacted bentonite materials, microbial activity, biocidal additives, radioactive waste.*

Acknowledgments

The research has been implemented under the Comprehensive Research Program Supporting the Long-Term Safety Demonstration of Radioactive Waste Disposal and Optimization of Operational Parameters (Strategic Master Plan for Research Supporting the Safety Assessment of DGR Construction, Operation and Closure in the Nizhnekanskiy massif (Krasnoyarsk Krai)) approved by the State Corporation Rosatom with a planning horizon until 2030.

The study focused on the mineral composition was partially sponsored by the Russian Science

Foundation, project No. 22-17-00252. The mineral composition of the silt fraction was evaluated based on a MiniFlex 600 Rigaku diffractometer purchased by the Lomonosov Moscow State University under the federal project Development of Advanced R&D Infrastructure in the Russian Federation run under the national project Science.

The authors also express their gratitude to the management teams of OOO Bentonit and OOO Bentonit Khakassia for the provided bentonite clay samples.

References

1. Ericsson L. O. Geoscientific R&D for high-level radioactive waste disposal in Sweden — current status and future plans. *Engineering Geology,* 1999, vol. 52, no. 3—4, pp. 305—317. DOI: 10.1016/S0013-7952(99)00013-7.

2. Ross B. Scenarios for repository safety analysis. *Engineering Geology,* 1989, vol. 26, no. 4, pp. 285—299. DOI: 10.1016/0013-7952(89)90018-5.

3. Sun H., Mašín D., Najser J., Scaringi G. Water retention of a bentonite for deep geological radioactive waste repositories: High-temperature experiments and thermodynamic modeling. *Engineering Geology,* 2020, vol. 269, p. 105549. DOI: 10.1016/j.enggeo.2020.105549.

4. Villar M. V., García-Siñeriz J. L., Bárcena I., Lloret A. State of the bentonite barrier after five years operation of an in situ test simulating a high level radioactive waste repository. *Engineering Geology,* 2005, vol. 80, no. 3—4, pp.175—198. DOI: 10.1016/j.enggeo.2005.05.001.

5. Krupskaya V. V., Tyupina E. A., Zakusin S. V., Ilina O. A., Saveleva E. A. Obosnovaniye vybora glinistykh materialov dlya razrabotki inzhenernykh bar'yerov bezopasnosti pri izolyatsii RAO v PGZRO na uchastke nedr Yeniseyskiy [On the feasibility assessment of clay material application in the development of engineered safety barrier designs for deep geological RW disposal at the Yeniseiskiy site]. *Radioaktivnye otkhody — Radioactive Waste,* 2023, no. 2 (23), pp. 98—112. DOI: 10.25283/2587-9707-2023-2-98-112.

6. Boldyrev K. A., Safonov A. V., Abramova E. S., Gladkikh N. A., Kryuchkov D. V. Issledovanie korrozii uglerodistoj stali St3 v prisutstvii mikroorganizmov, vydelennyh iz podzemnyh vod na uchastke Enisejskij [Research on the St3 Carbon Steel Corrosion in the Presence of Microorganisms Isolated from the Groundwater at the Yeniseyskiy Site]. *Radioaktivnye otkhody — Radioactive Waste,* 2021, no. 3 (16), pp. 103—113. DOI: 10.25283/2587-9707-2021-3-103-113.

7. Pedersen K., Motamedi M., Karnland O., Sandén T. Mixing and sulphate-reducing activity of bacteria in swelling, compacted bentonite clay under high-level radioactive waste repository conditions. *Journal of Applied Microbiology,* 2000, vol. 89, no. 6, pp. 1038—1047. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01212.x.

8. Mijnendonckx K., Honty M., Wang L. et al. An active microbial community in Boom Clay pore water collected from piezometers impedes validating predictive modeling of ongoing geochemical processes. *Applied Geochemistry,* 2019, vol. 106, pp. 149—160. DOI: 10.1016/j.apgeochem.2019.05.009.

9. Pedersen K. Subterranean microorganisms and radioactive waste disposal in Sweden. *Engineering Geology,* 1999, vol. 52, no. 3—4, pp. 163—176. DOI: 10.1016/S0013-7952(99)00004-6.

10. Leupin O. X., Bernier-Latmani R., Bagnoud A. et al. Fifteen years of microbiological investigation in Opalinus Clay at the Mont Terri rock laboratory (Switzerland). *Swiss Journal of Geosciences,* 2017, vol. 110, pp. 343—354. DOI: 10.1007/s00015-016-0255-y.

11. Linge I. I., Utkin S. S., Kulagina T. A., Trokhov N. N. Underground research laboratory in "the Yenisei" section of the Nizhnekansky massif of the Krasnoyarsk Region. *Journal of Siberian Federal University Engineering & Technologies,* 2019, vol. 12, no. 7, pp. 830—841. DOI: 10.17516/1999494X-0183.

12. Kamnev E. N., Morozov V. N., Tatarinov V. N., Kaftan V. I. Geodynamics aspects of investigations in underground research laboratory (Niznekansk massif). *Eurasian mining,* 2018, no. 2, pp. 11—14. DOI: 10.17580/em.2018.02.03.

13. *Final Synthesis report for MIND WP1*. Microbiology in Nuclear waste Disposal (MIND) / Editor: Joe Small (NNL). 2019. 68 p.

14. Abramova E., Popova N., Artemiev G. et al. Characteristics and Rates of Microbial Processes in Clays of Different Mineral and Elemental Composition in Relation to Safety Prediction for ESB Clay Materials. *Applied Sciences (Switzerland),* 2022, vol. 12, no. 4, p. 1843. DOI: 10.3390/app12041843.

15. Abramova E., Popova N., Artemiev G. et al. Biological factors affecting the evolution of safety barrier materials in the Yeniseisky deep geological repository. *Engineering Geology,* 2023, vol. 312, p. 106931. DOI: 10.1016/j.enggeo.2022.106931.

16. Kosheleva D. D., Cheptsov V. S., Stepanov A. L., Tolpeshta I. I., Krupskaya V. V. Issledovaniye mikrobnogo sostava bentonitov dvukh mestorozhdeniy [Investigation of the Microbial Communities of Bentonites from Two Different Repositories Under Different Temperature of Incubation]. *Pochvovedeniye — Eurasian Soil Science,* 2023, no. 5, pp. 586—593. DOI: 10.31857/S0032180X22601360.

17. Jay J. M., Loessner M. J., Golden D. A. Chemical, biological, and physical methods / In book: Modern Food Microbiology. 2005. Pp. 241—284.

18. Stroes-Gascoyne S. et al. The effects of the physical properties of highly compacted smectitic clay (bentonite) on the culturability of indigenous microorganisms. *Applied Clay Science,* 2010, vol. 47, no. 1—2, pp. 155—162. DOI: 10.1016/j.clay.2008.06.010.
19. Rudakova G. Ya. *Obzor reagentov biotsidnoy obrabotki i oblasti ikh primeneniya* [Overview of biocidal treatment reagents and areas of their application]. VII scientific and practical conference Modern Methods for Water Treatment and Protection of Equipment from Corrosion and Scale Buildup. Collection of reports, Moscow, October 25—26, 2017. Moscow, Non-Profit Partnership "ROSHIMREAKTIV" Publ., 2017. Pp. 101—104.
20. Kwasniewska D., Chen Y. L., Wieczorek D. Biological Activity of Quaternary Ammonium Salts and Their Derivatives. *Pathogens,* 2020, vol. 9, no. 6, p. 459. DOI: 10.3390/pathogens9060459.
21. Gorbunova O. A., Vinokurov S. E. Konditsionirovaniye nizko- i sredneradioaktivnykh otkhodov s uchetom zashchity tsementnykh kompaundov ot mikrobiologicheskoy destruktsii [Conditioning of low- and intermediate-level waste considering the protection of cement compounds from microbiological degradation]. *Izvestiya Tomskogo politekhnicheskogo universiteta — Bulletin of the Tomsk Polytechnic University,* 2012, vol. 320, no. 1, pp. 178—183.
22. Koroleva T., Krupskaya V., Tyupina E. et al. Impacts of Impurity Removal Chemical Pretreatment Procedures on the Composition and Adsorption Properties of Bentonites. *Minerals,* 2024, vol. 14, no. 8, p. 736. DOI: 10.3390/min14080736.
23. Izosimova Y., Gurova I., Tolpeshta I. et al. Adsorption of Cs(I) and Sr(II) on Bentonites with Different Compositions at Different pH. 2022, vol. 12, no. 7, p. 862. DOI: 10.3390/min12070862.
24. Rozov K. B., Rumynin V. G., Nikulenkov A. M., Leskova P. G. Sorption of ^{137}Cs, ^{90}Sr, Se, ^{99}Tc, $^{152(154)}$Eu, $^{239(240)}$Pu on fractured rocks of the Yeniseysky site (Nizhne—Kansky massif, Russia). *E3S Web of Conferences,* Tomsk, July 21—26, 2019. Vol. 98. Tomsk, EDP Sciences Publ., 2019. P. 10007. DOI: 10.1051/e3sconf/20199810007.
25. Meleshyn A. Yu., Zakusin S. V., Krupskaya V. V. Swelling pressure and permeability of compacted bentonite from 10th Khutor deposit (Russia). *Minerals,* 2021, vol. 11, no. 7, p. 742. DOI: 10.3390/min11070742.
26. Cheptsov V. S., Vorobyova E. A., Osipov G. A. et al. Microbial activity in Martian analog soils after ionizing radiation: Implications for the preservation of subsurface life on Mars. *Aims Microbiology,* 2018, vol. 4, no. 3, pp. 541—562. DOI: 10.3934/microbiol.2018.3.541.
27. Belov A. A., Cheptsov V. S., Lysak L. V. *Metody identifikatsii pochvennykh mikroorganizmov* [Identification methods for soil microbiota]. Moscow, MAKS Press Publ., 2020. 196 p.
28. Gapeshin D. I., Pozdnyakov L. A., Demidov V. V. Intensivnost' mikrobnogo dykhaniya i denitrifikatsii v pakhotnoy dernovo-podzolistoy pochve raznoy stepeni smytosti [Intensity of Microbial Respiration and Denitrificationin Arable Soddy-Podzolic Soil Different Degrees of Washout]. *Agrokhimicheskiy vestnik — Agrochemical Herald,* 2022, no. 2, pp. 53—57. DOI: 10.24412/1029-2551-2022-2-010.
29. Mergelov N., Mueller C. W., Prater I. et al. Alteration of rocks by endolithic organisms is one of the pathways for the beginning of soils on Earth. *Scientific Reports,* 2018, vol. 8, no. 1, p. 3367. DOI: 10.1038/s41598-018-21682-6.
30. Cory A. H., Owen T. C., Barltrop J. A., Cory J. G. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture. *Cancer Commun.,* 1991, vol. 3, no. 7, pp. 207—212. DOI: 10.3727/095535491820873191.
31. API RP 13B-1 : 2019. Field Testing Water-based Drilling Fluids. P. 132.
32. GOST 33213-2014. *Mezhgosudarstvennyy standart. Kontrol' parametrov burovykh rastvorov v promyslovykh usloviyakh. Rastvory na vodnoy osnove* [Interstate standard. In-situ monitoring of drilling fluid parameters. Water-based solutions].
33. Fredrickson J. K., McKinley J. P., Bjornstad B. N. et al. Pore-size constraints on the activity and survival of subsurface bacteria in a late cretaceous shale-sandstone sequence, northwestern New Mexico. *Geomicrobiology Journal,* 1997, vol. 14, no. 3, pp. 183—202.
34. GOST R 70090-2022. *Materialy geosinteticheskiye bentonitovyye rulonnyye dlya gidroizolyatsii* [Bentonite roll geosynthetic waterproofing materials]. Moscow, Rossiyskiy institut standartizatsii Publ., 2022. 24 p.
35. Nicholson W. L., Munakata N., Horneck G. et al. Resistance of Bacillus endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and molecular biology reviews,* 2000, vol. 64, no. 3, pp. 548—572.
36. Tolmachev A. M. *Adsorbtsiya gazov, parov i rastvorov* [Adsorption of gases, vapors and solutions]. Moscow, Publishing group Granitsa, 2012. 241 p.
37. Stroes-Gascoyne S., Hamon C. J., Maak P., Russell S. The effects of the physical properties of highly compacted smectitic clay (bentonite) on the culturability of indigenous microorganisms. *Applied Clay Science,* 2010, vol. 47, no. 1—2, pp. 155—162. DOI: 10.1016/j.clay.2008.06.010.
38. *Sposob zashchity stali ot korrozii* [Method of protecting steel against corrosion]. Pat. RU

No. 2124579C1 Russian Federation, IPC C23F11/08. Tomin V. P. et al. Patentee Open Joint-Stock Company "Petrochemical Company", no. 96120393/02 ; application date 03.10.1996 ; publication date 10.01.1999.

39. Kamorny D. A., Safonov A. V., Boldyrev K. A. et al. Modification of the Cement Matrix with Organic Additives for Stabilizing Pertechnetate Ionsю *Journal of Nuclear Materials,* 2021, vol. 557, no. 7, p. 153295. DOI: 10.1016/j.jnucmat.2021.153295.

Information about the authors

Cheptsov Vladimir Sergeevich, PhD in Biological Sciences, research associate, Faculty of Soil Science of M. V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia), e-mail: cheptcov.vladimir@gmail.com.

Tolpeshta Inna Igorevna, Doctor of Biological Sciences, Head of the department, Faculty of Soil Science of M. V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia), e-mail: itolp@soil.msu.ru.

Izosimova Yuliya Gennadievna, PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Soil Chemistry, Faculty of Soil Science of M. V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia), e-mail: izosimova.julya@yandex.ru.

Abramova Elena Sergeevna, engineer of the Technetium Chemistry Laboratory, Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences (40/1, Obrucheva st., Moscow, 119071, Russia), e-mail: gorchicta246@mail.ru.

Safonov Alexey Vladimirovich, Doctor of Chemical Sciences, leading researcher, Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences (40/1, Obrucheva st., Moscow, 119071, Russia), e-mail: alexeysafonof@gmail.com.

Zakusina Anastasiya Vyacheslavovna, first-year graduate student, Faculty of Soil Science of M.-V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia), e-mail: a.zakusina@gmail.com.

Koroleva Tatyana Alexandrovna, junior researcher, Institute of Geology of Ore Deposits, Petrography, Mineralogy, and Geochemistry of the Russian Academy of Sciences (35, Staromonetny per., Moscow, 119017, Russia), e-mail: tanakoro@yandex.ru.

Pozdnyakov Lev Anatolievch, PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Soil Biology, Faculty of Soil Science of M. V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia), e-mail: pozdnyakovla@my.msu.ru.

Krupskaya Victoria Valerievna, PhD in Geological and Mineralogical Sciences, leading researcher, Institute of Geology of Ore Deposits, Petrography, Mineralogy and Geochemistry of the Russian Academy of Sciences (35, Staromonetniy per., Moscow, 119017, Russia); senior researcher, Faculty of Geology of M. V. Lomonosov Moscow State University (1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia), e-mail: krupskaya@ruclay.com.

Bibliographic description

Cheptsov V. S., Tolpeshta I. I., Izosimova Yu. G., Abramova E. S., Safonov A. V., Zakusina A. V., Koroleva T. A., Pozdnyakov L. A., Krupskaya V. V. Methods Providing Microbial Suppression in Buffer Layer Bentonites under Radioactive Waste Disposal Conditions. *Radioactive Waste,* 2025, no. 2 (31), pp. 86—101. DOI: 10.25283/2587-9707-2025-2-86-101. (In Russian).