



Article

Évaluation de l'impact microbien sur les performances de Argile bentonite à différents niveaux thermo-hydro-géochimiques Conditions

Julia Mitzscherling 1,* , Anja M. Schleicher 2,* , Steffi Genderjahn 3, Marie Bonitz 4 et Dirk Wagner 1,5

1 GFZ Centre allemand de recherche en géosciences, Section Géomicrobiologie, 14473 Potsdam, Allemagne ;

dirk.wagner@gfz-potsdam.de 2

GFZ Centre de recherche allemand pour les géosciences, la géochimie inorganique et isotopique, 14473 Potsdam, Allemagne

3 Bureau de science ouverte Helmholtz, 14473 Potsdam, Allemagne ; steffi.genderjahn@os.helmholtz.de 4

GFZ Centre allemand de recherche en géosciences, modélisation des systèmes fluides, 14473 Potsdam, Allemagne ;

marie.bonitz@gfz-potsdam.de 5

Institut des géosciences, Université de Potsdam, 14476 Potsdam, Allemagne *

Correspondance : julia.mitzscherling@gfz-potsdam.de (JM) ; anja.schleicher@gfz-potsdam.de (AMS) ;

Tél. : +49-331-6264-28886 (JM) ; +49-331-6264-1426 (AMS)

Résumé : En raison de sa capacité de gonflement, l'argile bentonite compactée constitue un matériau tampon approprié dans les dépôts géologiques profonds pour les déchets nucléaires de haute activité. Toutefois, cela ne s'applique que si la capacité de gonflement est maintenue. En conséquence, les bentonites doivent être stables aux changements de température, d'humidité, de fluides infiltrants ou d'activité microbienne. Dans des expériences par lots, nous avons étudié les effets combinés microbiens et thermo-hydro-géochimiques sur la capacité de gonflement de la bentonite MX-80 non compactée. La bentonite a été exposée à des fluides de force ionique différente et à la bactérie *Stenotrophomonas bentonitica*. La croissance bactérienne a été surveillée en comptant les unités formant des colonies tandis que la capacité de gonflement de la bentonite a été évaluée par DRX in situ à des températures et une humidité variées. La présence de bentonite a prolongé la survie de *S. bentonitica*. Cependant, les analyses en microscopie électronique, DRX et ICP-OES n'ont montré ni une interaction de *S. bentonitica* avec la bentonite, ni des changements significatifs dans la capacité de gonflement ou la composition des éléments. La capacité de gonflement et l'intensité du pic de diffraction étaient cependant fortement réduites par la force ionique du fluide et le temps d'exposition. L'étude souligne que la bentonite est affectée par des processus thermo-hydrogéochimiques et microbiens à différents degrés et qu'il est important de prendre en compte la complexité des différents facteurs concomitants dans les dépôts potentiels de déchets nucléaires. évaluations.

Mots clés : bentonite; gonflement; MX-80 ; comportement thermo-hydro-chimique ; *Stenotrophomonas bentonitica*; barrière ouvragée ; dépôt géologique profond; déchets nucléaires

Citation : Mitzscherling, J. ; Schleicher, AM; Genderjahn, S. ; Bonitz, M. ; Wagner, D. Évaluation de l'impact microbien sur les performances de l'argile bentonite dans différentes conditions thermo-hydro-géochimiques. Appl. Microbiol. 2024, 4, 1091-1109. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4030074>

Rédacteur académique : Ian Connerton

Reçu : 4 juin 2024

Révisé : 15 juillet 2024

Accepté : 16 juillet 2024

Publié : 20 juillet 2024



Copyright : © 2024 par les auteurs.

Licencié MDPI, Bâle, Suisse.

Cet article est un article en libre accès distribué selon les termes et

conditions des Creative Commons

Licence d'attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Dans le cadre d'un système multibarrières, l'argile est un matériau important dans de nombreuses conceptions de dépôts géologiques en profondeur (DGR) pour déchets nucléaires de haute activité (DHA) [1,2]. En plus d'être considérée comme roche hôte, l'argile à base de bentonite hautement compactée est le principal candidat comme matériau tampon en raison d'une capacité de sorption élevée pour les radionucléides [3,4], d'une capacité de gonflement favorable qui permet une étanchéité grâce à une pression de gonflement élevée [5], et une faible activité de l'eau dont il a été démontré qu'elle supprime la croissance microbienne. Néanmoins, les bentonites ne conviennent pour la réalisation de barrières géotechniques que si la capacité de gonflement est maintenue aux conditions attendues. En conséquence, les bentonites doivent être stables face aux changements de température et d'humidité, ainsi qu'à l'impact possible des fluides infiltrants et/ou des micro-organismes.

L'effet de la température sur la réponse hydromécanique des barrières ouvragées en bentonite est un aspect important dans un DGR après le placement des déchets nucléaires de haute activité dans le stockage. Selon le concept DGR, les températures maximales à l'interface cartouche-bentonite peuvent atteindre 80 à 160 °C [7,8]. Un tel chauffage réduit la capacité de gonflement et d'adsorption de l'argile bentonite en neutralisant les charges permanentes. Le principal minéral argileux de la bentonite est la montmorillonite (une smectite), qui se caractérise par une structure en couches de feuilles tétraédriques et octaédriques et une charge négative. Le chauffage peut provoquer la migration de petits cations à travers la feuille tétraédrique vers les lacunes octaédriques de la couche 2:1 [9-11] — un mécanisme qui peut conduire à la dégradation de la smectite.

Les propriétés des cations échangeables dans la bentonite, telles que la charge, l'énergie d'hydratation et la taille, affectent de manière significative la capacité d'adsorption et d'atténuation de l'eau [12]. La salinité des solutions infiltrantes peut également avoir un impact sur la structure de la bentonite en raison de réactions d'échange de cations, de dissolution et de précipitation, ou de processus de recristallisation (par exemple, [13–18]). Les eaux interstitielles du ciment Portland provenant de la barrière technique, par exemple, sont riches en Ca^{2+} et alcalines [19], tandis que les eaux de formation dans les roches hôtes argileuses ou cristallines sont souvent dominées par NaCl à pH modéré [20,21]. En particulier, la présence de cations avec des valences plus élevées, c'est-à-dire une densité de charge plus élevée dans la couche intermédiaire, diminue la capacité de gonflement de la bentonite [22]. Lors de la réaction avec des solutions de NaCl, certaines études rapportent des modifications des propriétés de la bentonite telles que la dissolution de la smectite et la formation d'autres minéraux [14], une diminution de la capacité d'échange cationique [15,16,18,23], une réduction de la gonflement et la réflexion XRD (diffraction des rayons X) s'élargissent avec l'augmentation du temps [24], ou l'asymétrie et la réflexion se déplacent vers des valeurs d inférieures en raison des hétérogénéités d'hydratation [25]. Cependant, Kaufhold et al. [26] n'ont observé que des échanges cationiques mais aucun changement structural dans les solutions de NaCl de pH modéré jusqu'à 60 °C.

Des micro-organismes ont été détectés dans des horizons bentonites naturels [27], malgré les conditions inhospitalières des formations argileuses telles qu'une faible porosité [28], une faible disponibilité en eau [29] et un manque de sources d'énergie facilement accessibles et facilement dégradables [30,31]. Les changements physico-chimiques provoqués par la construction et l'exploitation du DGR pourraient stimuler ces micro-organismes indigènes. De plus, des micro-organismes étrangers peuvent être introduits par l'intrusion d'eau le long des fractures ou lors de la construction du DGR. L'activité microbienne devrait se produire dans des environnements interfaciaux moins densément peuplés et dans des zones de perturbation, telles que des fractures et des failles, où la barrière bentonite est perturbée, au moins temporairement [6]. Dans ces environnements, les conditions physiques nécessaires pour supprimer l'activité microbienne ne sont pas toujours réunies. L'activité microbienne à proximité immédiate des conteneurs de déchets ou en champ proche (y compris les barrières ouvragées et les parties de la roche hôte en contact avec les barrières ouvragées) peut entraîner la corrosion des conteneurs, la production de gaz microbiens, la dissolution de l'argile, minéraux ou lixiviation d'éléments spécifiques de ces minéraux. D'un autre côté, les micro-organismes peuvent adsorber les radionucléides ou contribuer à la réduction de l'accumulation de pression du gaz, réduisant ainsi le volume de gaz [32]. La production de gaz microbiens peut réduire l'efficacité des barrières à base de bentonite et/ou des barrières naturelles. L'adsorption microbienne des radionucléides peut se traduire soit par leur immobilisation dans des biofilms, soit par leur migration accrue par fractures par des microbes agissant comme des colloïdes. Cependant, outre l'échange de cations entre les couches, la lixiviation et la dissolution des minéraux argileux par l'activité microbienne peuvent également retarder l'attaque des minéraux de diverses manières ou favoriser leur croissance [33-36]. Le fait que les micro-organismes favorisent l'altération des minéraux ou protègent les minéraux dépend du système [37].

L'interaction complexe des minéraux, des solutions et des bactéries fait l'objet d'une attention croissante, car toute réaction conduisant à une réduction de la capacité de gonflement de la smectite et donc à une perte de sécurité du conteneur à déchets est importante. À l'heure actuelle, on ne comprend pas bien comment différents micro-organismes peuvent affecter la smectite minérale argileuse lorsqu'ils sont en contact avec différentes solutions aqueuses. De nombreuses études ont étudié le comportement de gonflement des argiles bentonites au contact de différentes solutions salines ou alcalines de composition simple (par exemple, [19, 26, 38–40]). Cependant, le gonflement dans les solutions salines mélangées, comme cela peut être le cas

trouvés dans les eaux souterraines des roches encaissantes environnantes, qui sont mélangées à une variété de composants chimiques, sont peu étudiés [22].

La présente étude visait à étudier les effets microbiens et thermohydrogéochimiques combinés sur la capacité de gonflement de la bentonite MX-80 non compactée lorsqu'elle est exposée à des fluides de force ionique différente et à la bactérie *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7T vivant dans la bentonite.

2. Matériels et méthodes

2.1. Bentonite du Wyoming MX-80

La bentonite utilisée dans cette étude est une bentonite MX-80 du Wyoming (Na-montmorillonite), obtenue auprès de l'American Colloid Company (Volclay MX-80, argile du Wyoming, numéro de lot 17912 ; figure 1a, Hoffman Estates, IL, USA). La bentonite MX-80 est composée d'environ 76 % de montmorillonite (smectite) et de minéraux accessoires, le mica (2,8 – 3,8 %), feldspath (4,5 %), quartz (5 à 6 %), calcite (0,3 à 0,4 %) et pyrite (0,5 %) [41,42].

La bentonite a été stérilisée par irradiation par faisceau d'électrons (10 mEV, 30 kGy) à l'aide du STERIS Herotron E-Beam Service GmbH (Bitterfeld-Wolfen, Allemagne). La stérilisation a légèrement augmenté l'intensité du pic de montmorillonite (001) (Figure S1). Le MX-80 stérilisé a été stocké dans des conteneurs stérilisés en autoclave et manipulé de manière aseptique tout au long de toutes les expériences.

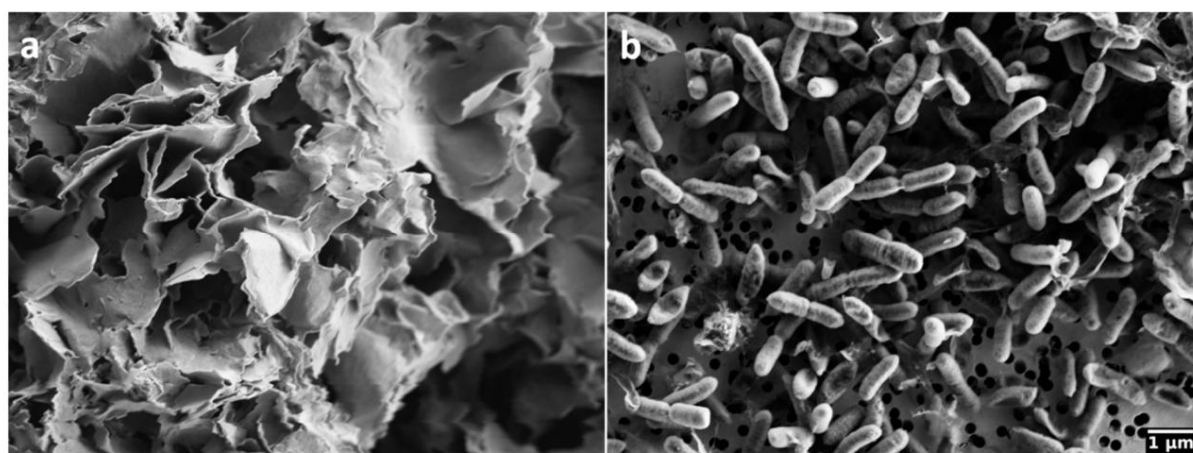


Figure 1. Images de microscopie électronique à balayage de (a) bentonite MX80 du Wyoming ; (b) Bactérie anaérobie facultative à Gram négatif *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7T.

2.2. *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7T

La souche type utilisée dans cette étude était *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7T (DSM 103927). Il a été obtenu auprès de la Collection allemande de micro-organismes et de cultures cellulaires GmbH (DSMZ, Braunschweig, Allemagne). La pureté de la souche a été vérifiée par séquençage du gène de l'ARNr 16S.

Stenotrophomonas bentonitica BII-R7T (Figure 1b) a été initialement isolé de formations de bentonite du sud de l'Espagne (Cabo de Gata, Almeria, Espagne) [43]. C'est une bactérie anaérobie facultative capable de se développer à des températures comprises entre 15 et 37 °C, avec un optimum de croissance à 28 °C et un pH optimal de 7. Elle est également capable de se développer sur des concentrations de NaCl allant jusqu'à 5 %.

Cette espèce particulière a été choisie comme organisme modèle pour la présente étude sur la bentonite MX-80, car elle est présente dans les formations naturelles de bentonite, qui constituent un matériau de référence excellent et approprié pour les barrières ouvragées dans les DGR destinés au stockage des déchets nucléaires. Outre la respiration aérobie, *S. bentonitica* est capable de réduire les nitrates en nitrites, ce qui indique que la croissance anaérobie est également possible [44]. Sur la base de son origine et de son mode de vie, nous supposons que *S. bentonitica* a la capacité de se développer activement dans et sur les argiles bentonites. De plus, il a été démontré que *S. bentonitica* BII-R7T influence la spéciation chimique et la mobilité des

des radionucléides tels que le sélénite (SeIV) et l'uranium (UVI) [43,45] ainsi que l'euporium (EuIII) et le curium (CmIII) [46].

2.3. Solutions expérimentales et milieux de croissance

Avant l'expérimentation, *S. bentonitica* a été incubée dans du bouillon nutritif standard I, tandis que le test de comptage sur plaque a été effectué sur une gélose nutritive standard I (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Allemagne).

Des expériences par lots ont été réalisées dans trois solutions aqueuses de composition différente couvrant une gamme de salinités (forces ioniques de 0 à 0,38 M) : (i) de l'eau MilliQ (H₂O), qui a été utilisée comme solution témoin et entraîne la formation d'eau interstitielle de bentonite, (ii) une solution de NaCl à 0,9 % (ci-après NaCl), qui est une solution saline physiologique et imite les eaux de formation dans l'argile ou les roches cristallines, (iii) l'eau interstitielle artificielle de l'argile à Opalinus (ci-après OPW), qui est la composition de l'eau interstitielle de la formation argileuse. Argile Opalinus au Mont Terri Rock Laboratory en Suisse (composée de 212 mM de NaCl, 26 mM de CaCl₂, 14 mM de Na₂SO₄, 1,6 mM de KCl, 17 mM de MgCl₂, 0,51 mM de SrCl₂ et 0,47 mM de NaHCO₃) [47,48]. Toutes les solutions ont été préparées dans de l'eau MilliQ stérilisée en autoclave et ont finalement été stérilisées sur filtre (0,2 µm, filtre à membrane Whatman, GE Healthcare Life Sciences, Chicago, Illinois, États-Unis). En raison d'une contamination, les résultats obtenus avec H₂O ont été exclus de l'étude. Ceux-ci (résultat S1, S2) et d'autres chiffres supplémentaires peuvent être examinés dans les documents supplémentaires, et les données brutes sont disponibles dans la publication de données GFZ [49].

Chacune des solutions a été modifiée avec de l'acétate comme source de carbone. Nous avons utilisé une concentration d'acétate de 200 µM selon la concentration dans l'eau interstitielle d'Opalinus Clay trouvée au laboratoire rocheux du Mont Terri [50]. Afin de fournir une source d'azote, nous avons ajouté du NH₄Cl à une concentration finale de 2 g L⁻¹ à un ensemble de cultures discontinues avant l'inoculation. La solution mère de NH₄Cl a été préparée séparément et stérilisée sur filtre.

2.3.1. Expériences en solutions

discontinues Avant d'inoculer les mésocosmes, *S. bentonitica* a été cultivée dans un bouillon nutritif standard I pendant 24 h. Les cellules ont été récoltées en phase de croissance exponentielle et lavées dans la solution respective utilisée pour l'expérience (3 lavages par centrifugation à 8 000 × g pendant 10 minutes). La densité cellulaire a été déterminée avec une chambre Neubauer (profondeur 0,005 mm) avec un grossissement de 40. La microscopie a été réalisée avec un microscope Leica DM2000 (Leica Camera AG, Wetzlar, Allemagne).

Pour chaque condition, nous avons préparé un mésocosme avec 3 g de MX-80 stérilisé qui a été distribué dans 100 ml de solution aqueuse dans des flacons de culture Erlenmeyer de 300 ml. Les suspensions ont été inoculées avec les cultures bactériennes lavées à une densité cellulaire initiale de 105 cellules mL⁻¹. Les contrôles négatifs n'ont pas été inoculés de cellules bactériennes et les contrôles positifs contenaient des cellules bactériennes mais pas de bentonite MX-80. Les mésocosmes ont été incubés pendant au moins 61 jours à 28 °C sous agitation continue à 50 tr/min.

2.3.2. Test de comptage sur

plaque La densité cellulaire dans les cultures en lots a été surveillée au cours de l'expérience à l'aide d'un test de comptage sur plaque. Elle a été exprimée en unités formant colonies (UFC) par ml. Selon la procédure de Miles et al. [51], nous avons dilué des échantillons de suspension en utilisant une dilution en série (1: 101-1: 108) et appliqué un volume de 20 µL de chaque dilution en triple sur des plaques de gélose. Avant l'échantillonnage, la bentonite sédimentée a été remise en suspension sous agitation vigoureuse afin d'obtenir une suspension homogène.

La pureté de *S. bentonitica* dans les mésocosmes a été évaluée régulièrement à l'aide d'un contrôle visuel de la morphologie des colonies sur des plaques de gélose lors des tests de comptage sur plaque. Ainsi, des résultats importants sur les propriétés minéralogiques du NaCl et de l'OPW ont été obtenus avec des cultures pures de *S. bentonitica*.

2.3.3. Analyse par diffraction des rayons X in situ

Après 2, 5, 15, 35 et 61 jours d'incubation, nous avons échantillonné les mésocosmes pour l'analyse par diffraction des rayons X (DRX) de la bentonite. Un volume de 150 μL de la suspension expérimentale a été appliqué sur une lame de verre et séché à l'air à température ambiante dans une boîte à flux laminaire pendant une nuit. La lame de verre a été montée dans une chambre humide fixée à un dispositif de diffraction des rayons X PANalytical Empyrean avec rayonnement $\text{CuK}\alpha$, fentes divergentes et anti-diffusion automatiques et un détecteur PIXel3D. Les données ont été enregistrées de 2 à 50 $^{\circ}2\theta$ via un balayage continu avec un pas de 0,00131 $^{\circ}2\theta$ et un temps de balayage de 120 s par pas pour des réglages de générateur de 40 kV et 40 mA.

Pour évaluer les effets de l'humidité et de la température sur le comportement de gonflement de la bentonite après interaction avec des bactéries et des solutions, nous avons utilisé une chambre humide à rinçage au gaz (chambre Cryo & Humidity « CHC plus », Anton Paar GmbH, Tokyo, Japon) attachée à l'instrument XRD. La chambre de réaction était équipée d'une unité de contrôle de température « TCU 110 », conçue pour contrôler la température directement au niveau du porte-échantillon. Un débit de gaz contrôlé et une humidité régulée ont été obtenus à l'aide d'un capteur de température/humidité placé à l'intérieur de la chambre. Les analyses XRD ont été effectuées à différentes températures (27 $^{\circ}\text{C}$, 55 $^{\circ}\text{C}$, 80 $^{\circ}\text{C}$) et humidité relative (HR = 0, 50, 80 %).

Lorsque le porte-échantillon a été monté sur la platine, la chambre a été fermée et rincée avec du gaz sec à une certaine température, jusqu'à ce que l'humidité relative soit maintenue à des valeurs constantes d'environ 2 ($\pm 0,5$) % d'humidité relative. Toutes les mesures XRD ont été effectuées dans ces conditions.

2.3.4. Lavage de Bentonite

Afin de tester si l'élimination des solutions salées entraîne la restauration de la capacité de gonflement, la bentonite MX-80 a été traitée comme suit : 2 mL des cultures discontinues avec et sans bactéries dans NaCl et OPW ont été centrifugées à 10 300 $\times g$ pendant 5 minutes. Le surnageant a été jeté et 2 mL de MilliQ ont été ajoutés. Le culot d'argile a été remis en suspension sous agitation vigoureuse pendant 5 à 10 minutes et centrifugé à nouveau. La procédure a été répétée trois fois. Enfin, 150 μL d'échantillons d'argile remis en suspension ont été montés sur une lame de verre et analysés par XRD.

2.3.5. Analyse par chromatographie ionique (concentration en acétate)

La concentration d'acétate dans tous les mésocosmes par rapport à la concentration initiale a été déterminée après 29 jours d'incubation. Une aliquote de 2 mL a été sédimentée à 17 000 $\times g$ pendant 5 min. Le surnageant a été filtré sur des filtres pour seringues Minisart® (polyéther sulfone 0,22 μm , Sartorius, Göttingen, Allemagne) et la concentration en acétate a été déterminée par chromatographie ionique (système de chromatographie ionique ICS 3000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), en utilisant un Cartouche Dionex™ OnGuard™ II AG/H (EMD Millipore, Billerica, MA, USA) pour éliminer le chlorure, une colonne As11-HC (précolonne Ag11-HC) et un détecteur de conductivité. L'éluant était un gradient de solution de KOH. Le débit a été fixé à 0,38 mL min⁻¹. La température du four à colonne était de 15 $^{\circ}\text{C}$ et 10 μL de l'échantillon ont été injectés dans le flux d'éluant.

2.3.6. Analyse par microscopie électronique

L'imagerie SEM a été réalisée avec un microscope électronique à balayage à émission de champ Zeiss Merlin VP Compact (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Allemagne) à l'UFZ Leipzig. Afin d'être suffisamment sensible à la surface et d'obtenir en même temps une résolution latérale meilleure que 5 nm, la tension d'accélération des électrons a été réglée à 2 kV et à une ouverture de 30 μm . Le courant de faisceau résultant s'élevait à environ 250 pA. Les images ont été acquises en mode de détection d'électrons secondaires à l'aide d'un détecteur de type Everhard – Thornley. Afin d'améliorer le rapport signal/bruit 10 fois, une moyenne de ligne a été utilisée pour l'acquisition.

2.3.7. Analyse Chimique ICP-OES Afin d'analyser

la composition élémentaire de l'argile ainsi que des fluides, après 7, 15, 35 et 61 jours d'incubation, une aliquote de 5 mL de chaque solution expérimentale contenant de la bentonite a été centrifugée à 20 000× g pendant 15 min. Le surnageant a été filtré sur des filtres pour seringues Minisart® (0,22 µm, filtre en polyéther sulfone, Sartorius, Göttingen, Allemagne) pour obtenir 2 à 3 mL de solution. Le pellet de bentonite a été séché à 50 °C pendant plusieurs jours. La composition élémentaire majeure a été analysée par spectrométrie d'émission optique-plasma à couplage inductif (ICP-OES) à l'aide d'un instrument Agilent 5110 ICP-OES (Santa Clara, Californie, États-Unis). La précision analytique et la reproductibilité sont généralement meilleures que 2 %, régulièrement testées à l'aide de matériaux de référence certifiés et d'étalons internes.

Le pH des fluides a été analysé en double ou en triple avec l'appareil de poche LAQUAtwin pH-11 (Horiba scientific, Piscataway, NJ, USA).

2.4. Statistiques

Pour les analyses statistiques des diagrammes de diffraction des rayons X, nous avons utilisé les valeurs d'intensité mesurées à des valeurs d allant de 0 à 11 ° 2θ couvrant la plage du pic de la Montmorillonite à 001. Les analyses ont été effectuées avec le logiciel Past 4.01 [52].

L'analyse des correspondances canoniques (ACC) a été utilisée pour évaluer la variation de l'intensité maximale et des valeurs d provoquée par le temps d'incubation, la force ionique de la solution, l'humidité relative et la température. Ces facteurs, ainsi que le nombre de bactéries, ont été intégrés dans le graphique d'ordination. Les triplots présentés dans le CCA avaient un type d'échelle de 0,5. Les facteurs contribuant aux changements dans l'intensité et l'emplacement des pics ont été déterminés à l'aide de tests Mantel. Avant les tests, les facteurs ont été standardisés à l'aide de la transformation du score z. L'influence des bactéries sur la capacité de gonflement, c'est-à-dire l'intensité du pic de smectite et l'espacement d , a été évaluée en utilisant une approche permutationnelle d'une analyse de variance multivariée (PerMANOVA).

La force ionique de chaque solution expérimentale a été calculée en fonction de la composition et de la concentration des amendements avant mise en contact avec la bentonite. Nous avons quantifié la force ionique molaire I, qui est fonction de la concentration de tous les ions présents dans une solution, en appliquant la formule suivante [53] :

$$= \frac{1}{2}$$

où ci est la concentration molaire de l'ion i (en M, mol/L) et zi est la charge de cet ion.

3. Résultats

3.1. Croissance bactérienne avec la bentonite

L'abondance cellulaire de *S. bentonitica* dans les mésocosmes a été déterminée sur une période de 63 jours. Dans une solution de NaCl avec de la bentonite MX-80, le nombre d'UFC a diminué lentement mais régulièrement de 8×10^4 mL⁻¹ à 1 en 55 jours (Figure 2a). En revanche, le nombre d'UFC dans NaCl sans bentonite MX-80 a rapidement diminué, passant de près de 10^4 UFC mL⁻¹ après inoculation à 0 après 2 jours d'incubation.

Semblable à NaCl, le nombre d'UFC dans l'OPW contenant de la bentonite MX-80 a diminué régulièrement, passant de 105 à 0 en 55 jours (Figure 2b). Contrairement aux mésocosmes de NaCl sans MX-80, les CFU dans OPW sans MX-80 ont initialement diminué en 5 jours jusqu'à moins de 10^3 CFU mL⁻¹, mais ont de nouveau augmenté jusqu'à 10^4 mL⁻¹ après 9 jours. L'abondance des UFC est restée plus ou moins stable à 10^4 mL⁻¹ jusqu'à 26 jours d'incubation. Cela a été suivi d'une diminution jusqu'à 0 après 54 jours, similaire à OPW avec MX-80.

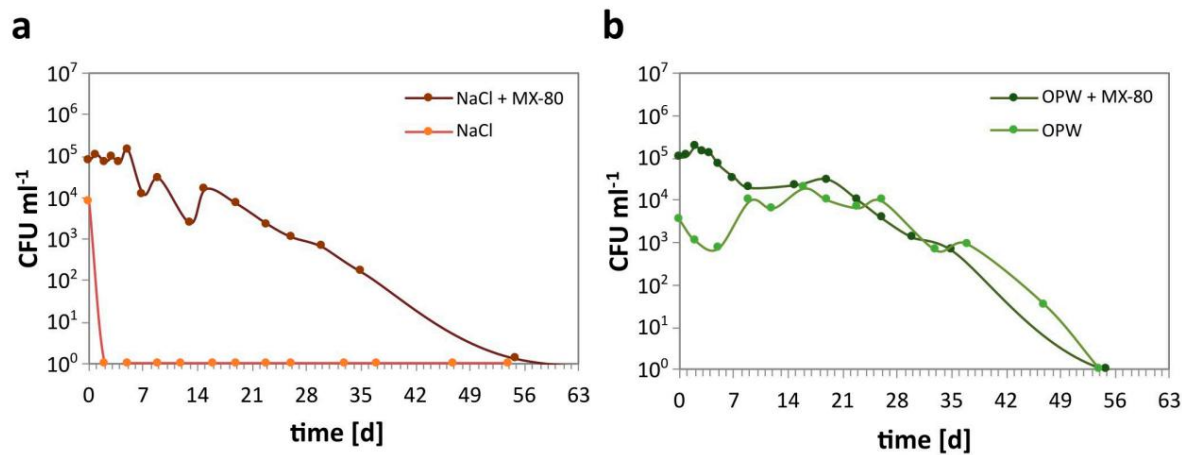


Figure 2. Croissance de *S. bentonitica* déterminée en CFU mL⁻¹ dans des solutions de composition différente avec MX-80 (+MX-80) et sans ajout de bentonite MX-80. (a) abondance d'UFC dans NaCl, et (b) Abondance de CFU dans OPW.

3.1.1. Capacité de gonflement de la bentonite MX-80 avec/sans *S. bentonitica*

Afin de déterminer si la présence de *S. bentonitica* affecte la capacité de gonflement de la bentonite MX-80, le matériau dispersé dans les solutions aqueuses a été analysé avec la chambre humidité/température connectée au XRD. Malgré la présence de *S. bentonitica* pendant 54 jours dans NaCl et OPW, aucune différence significative dans les positions des pics dues à l'apport de solution aqueuse dans les feuilles intercalaires n'a été observée (Figure 3). En fait, avec et sans apparition de bactéries, les valeurs *d* des pics de montmorillonite d001 étaient bien corrélées, et à toutes les températures et humidités étudiées, les positions des pics d001 ont montré un changement similaire en présence de *S. bentonitica* par rapport aux zones exemptes de bentonite (tableau S1). L'apparition de *S. bentonitica* n'a pas influencé de manière significative le comportement de gonflement à toutes les températures et humidités différentes après 61 jours dans toutes les solutions, comme le confirme une MANOVA permutation par paire (tableau S2).

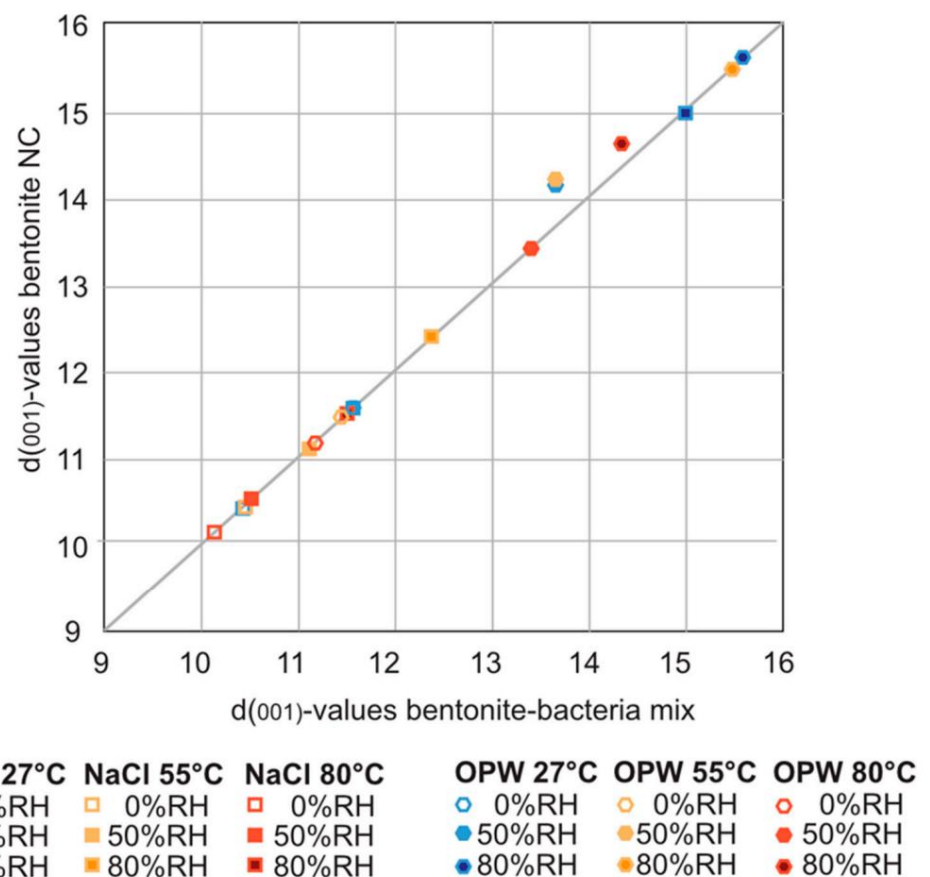


Figure 3. Courbe de corrélation des valeurs d (001) de la montmorillonite avec (axe des x) et sans bactéries (axe des y) dans des solutions de NaCl et d'OPW à différentes températures et humidités (voir également le tableau S1).

3.1.2. Modifications in situ de la température, de l'humidité et de la salinité en présence de *S. bentonitica*

Afin de confiner la plage de température et d'humidité d'un stockage de DHA, nous nous sommes concentrés sur la capacité de gonflement de la bentonite MX-80 à 0, 50 et 80 % HR, et à 27 °C, 55 °C et 80 °C (Figure 4). Ceci est important car à des températures de 80 °C et plus, des transformations minérales peuvent se produire, entraînant une perte de la capacité de gonflement et de sorption [54-57]. En fonction du concept et de la simulation du DGR, 80 °C se situe dans la plage inférieure des températures maximales attendues à proximité du conteneur de combustible usé [7,8,58].

L'impact de la salinité sur la capacité de gonflement de la bentonite a été évalué en dispersant la bentonite MX-80 dans des solutions de force ionique différente. La force ionique calculée I des solutions était inférieure dans la solution de NaCl ($I = 0,1542$) et supérieure dans l'OPW ($I = 0,3868$, tableau S3). Les changements dans l'espace d de la montmorillonite dans la bentonite ont été étudiés après 2, 35 et 61 jours d'exposition à la solution respective. Lors de l'incubation de la bentonite avec *S. bentonitica* dans NaCl (Figure 4a – d) et OPW (Figure 4e – h) pendant 61 jours, l'intensité du pic 001 a considérablement diminué dans les solutions salées au fil du temps (Figure S2 et, donc, le pic Les déplacements étaient difficiles à évaluer. Alors que le pic de montmorillonite 001 était absent dans la solution OPW, dans NaCl, l'intensité était réduite après 2 jours et elle diminuait encore avec le temps d'incubation dans NaCl (Figure S2; Figure 4a, b, e, f). Par conséquent, afin d'analyser la capacité de gonflement après contact avec des solutions salées, la bentonite a été rincée à l'eau et analysée à nouveau (Figure 4c, d, g, h).

Les échantillons saturés de NaCl à 27 °C ont montré un déplacement de la valeur d_{001} de 10,2 Å ($8,7^\circ 2\theta$) à 0% HR à 15,0 Å ($5,9^\circ 2\theta$) à 80% HR (environ 15% en poids d'eau; Figure 4c). À 80 °C, un passage de 10 Å ($8,8^\circ 2\theta$) à 0% d'humidité relative à 12,0 Å ($7,35^\circ 2\theta$) à 80% d'humidité relative (environ 7% en poids d'eau; figure 4d) a été reconnu. Cela reflète une perte d'eau intercalaire jusqu'à un minimum de 9 % en poids. Après 61 jours d'incubation de bentonite dans OPW, l'apport d'eau dans la smectite

les couches intermédiaires ont été réduites par rapport au NaCl (Figure 4 g, h). À 27 ° C, la valeur d001 est passée de 10,2 Å (8,7 ° 2theta) à 0% HR à 13,2 Å (6,7 ° 2theta) à 80% HR (environ 10% en poids d'eau; figure 4g). À 80 ° C, le décalage de la valeur d variait de d001 à 10,0 Å à 0% d'humidité relative et à 12,4 Å (7,25 ° 2theta) à 80% d'humidité relative (environ 8,7% en poids d'eau; figure 4h).

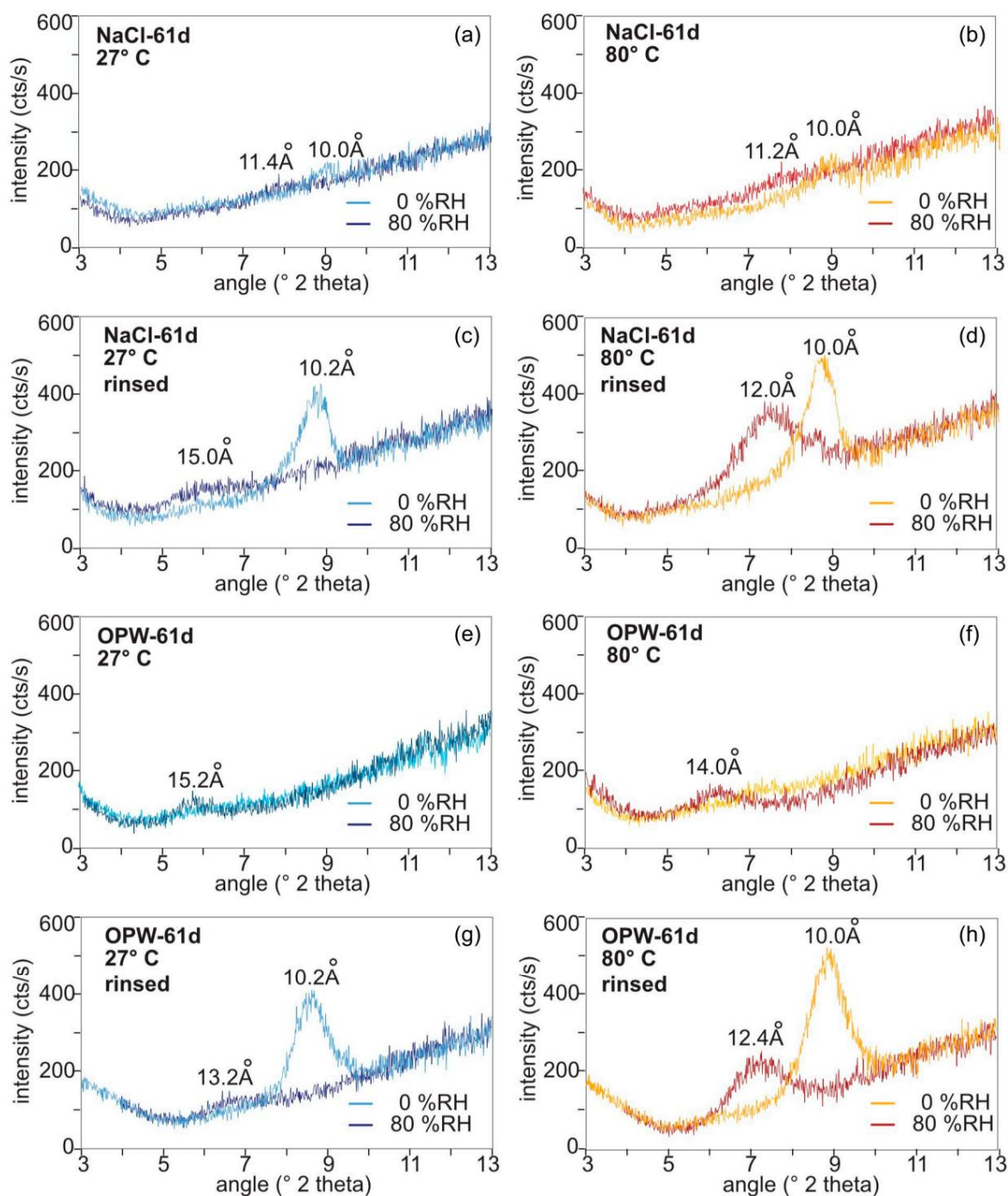


Figure 4. Spectres XRD du MX-80 après 61 jours d'exposition à *S. bentonitica* dans NaCl et OPW déterminés à 27 °C (panneau de gauche) et 80 °C (panneau de droite) à 0 % et 80 % d'humidité relative. (a, b), dans NaCl, (c, d) après lavage de la solution de NaCl, (e, f) dans OPW, (g, h) après lavage de la solution OPW.

Afin d'analyser l'effet multidimensionnel de la force ionique (salinité), du temps, de l'humidité et de la température sur le comportement de gonflement du MX-80, les diffractogrammes ont été

visualisé dans une ordination CCA (Figure 5). Ensemble, les deux axes du CCA expliquaient plus de 88 % de la variance des points d'échantillonnage, représentant des diffractogrammes uniques (valeurs d allant de 2 à 11° 2 θ). La longueur des vecteurs indique que le temps et la température ont eu la plus grande influence sur la variance le long de l'axe des x, et donc le plus grand impact en général, puisque l'axe des x expliquait > 62 % de la variation. La force ionique et l'humidité expliquaient >25 % de la variance le long de l'axe y.

La force ionique était responsable de la séparation des échantillons de NaCl et d'OPW le long de l'axe y, tandis que l'humidité provoquait la variance au sein de chaque groupe d'échantillons. Les grappes d'échantillons de NaCl présentant la force ionique la plus faible étaient situées en bas à gauche du tracé, tandis que les grappes d'échantillons OPW présentant une force ionique élevée étaient placées en haut à droite du tracé. Les grappes d'échantillons séparées dans le temps le long de l'axe des x et l'augmentation du temps ont entraîné un déplacement des grappes d'échantillons vers le côté droit du graphique. La température a provoqué la variance des échantillons au sein de chaque grappe d'échantillons le long de l'axe des x.

Conformément à l'augmentation de la force ionique et du temps pendant lequel le MX-80 restait dans la solution respective, la variance au sein d'un groupe le long de l'axe y diminuait à mesure que l'intensité des pics de montmorillonite diminuait.

Selon un test Mantel, les facteurs de force ionique, de temps, de température et d'humidité étaient significativement corrélés aux diffractogrammes ($p = 0,0001$, $R = 0,48$).

Les tests Mantel des facteurs uniques ont révélé que le temps ($p = 0,0001$), la force ionique ($p = 0,0015$) et la température ($p = 0,0130$) étaient en corrélation significative, le temps ayant le plus grand impact ($R = 0,65$) sur les diffractogrammes du MX-80. bentonite, y compris le déplacement des pics et la hauteur (tableau S4). Selon les diffractogrammes (Figure S2), la variance décroissante des amas le long de l'axe y observée dans le CCA pourrait s'expliquer par des intensités généralement plus faibles et des déplacements plus faibles du pic de montmorillonite. La diminution des intensités de pic et des espacements d était due au temps pendant lequel la bentonite restait dans une solution. Au sein de grappes individuelles, la variance, c'est-à-dire la capacité de gonflement à un certain moment, était principalement expliquée par la température sur l'axe des x et par l'humidité le long de l'axe des y, bien que l'humidité n'ait pas d'impact significatif sur les diffractogrammes au niveau global.

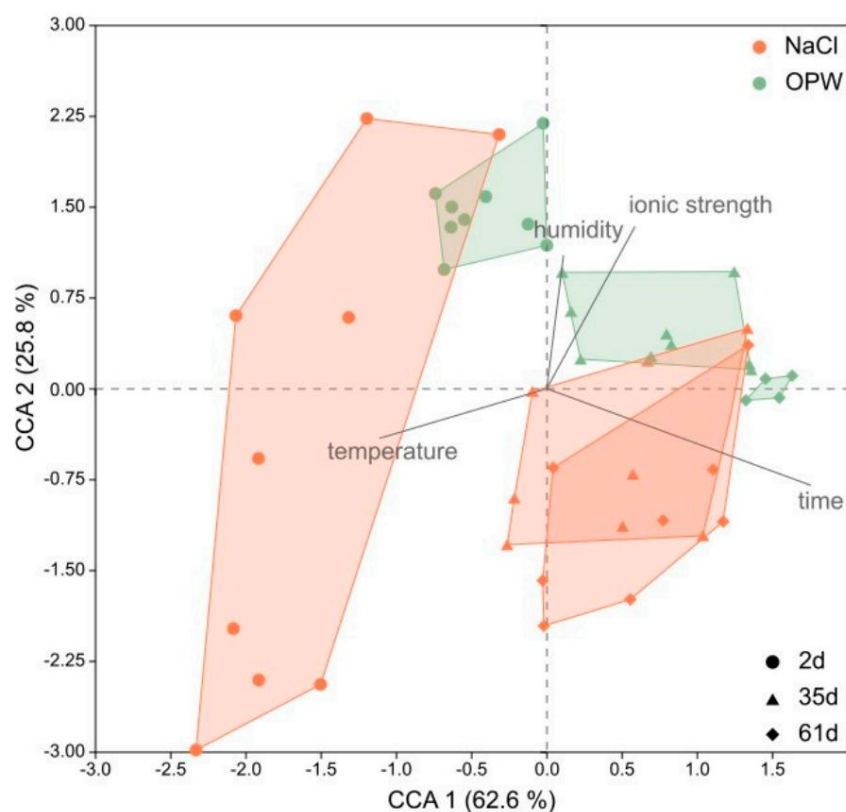


Figure 5. Analyse de correspondance canonique (ACC) des spectres XRD de la bentonite MX-80. Chaque grappe représente un échantillon analysé à différentes températures (27, 55, 80 °C) et humidité relative (0, 50, 80 %). Les points représentent les échantillons après 2 jours, les triangles après 35 jours et les losanges après 61 jours d'incubation dans chaque solution (marron = NaCl, vert = OPW).

4. Discussion

La présente étude visait à étudier les effets microbiens ainsi que thermo-hydro-géochimiques sur la capacité de gonflement de la bentonite MX-80 et, par conséquent, sur l'intégrité de la bentonite en tant que matériau tampon dans un DGR.

4.1. Influence de la bentonite et de la composition de la solution sur la croissance de *S. bentonitica*

Dans cette étude, *S. bentonitica* a été utilisée comme organisme modèle de la population microbienne de bentonite. Il a été cultivé à la température optimale de croissance de 28 °C dans des mésocosmes aérés contenant de la bentonite MX-80 et des fluides de force ionique (salinité) différente, mais avec des concentrations de NaCl bien inférieures au maximum auquel cet organisme est capable de se développer. En fait, l'espèce unique n'était pas capable de survivre dans les conditions témoins sans MX-80 dans des solutions de NaCl. La diminution lente du nombre de cellules dans NaCl et OPW en présence de MX-80 ainsi que dans OPW sans MX-80 indique que *S. bentonitica* pourrait avoir bénéficié de nutriments ou de cations métalliques fournis par les minéraux du MX-80 et les composants de la solution. de l'OPW. Les nutriments et cations métalliques pouvant être fournis par la bentonite MX-80 comprennent Si, Al, Ti, Fe, Mg, Ca, Na, K, P et S [41, 42], tandis que les ions métalliques fournis par OPW comprenaient Na, Ca, K, Mg et Sr. Étant donné que *S. bentonitica*

est immédiatement mort dans une solution de NaCl, Na n'est pas supposé avoir d'effet bénéfique, laissant Ca, K et/ou Mg comme nutriment métallique qui aurait pu aider *S. bentonitica* dans l'OPW et sur le MX-80. Ca, K et Mg appartiennent aux cations intercalaires des minéraux argileux qui peuvent être libérés le plus facilement par échange de cations [37]. Bien que seuls Na et Ca soient les cations intermédiaires typiques de la bentonite MX-80, K et Mg étaient également présents dans chacune des solutions avec des concentrations croissantes au cours de l'expérience (Figure S3). Certains cations tels que Zn et Mg sont universellement essentiels à la vie et indispensables à presque tous les aspects du métabolisme [59,60]. Ainsi, le manque de Mg dans NaCl sans MX-80 aurait provoqué la mort immédiate de *S. bentonitica*, alors que sa présence dans OPW et avec MX-80 aurait pu faciliter la survie de *S. bentonitica*.

Cependant, *S. bentonitica* n'a pas pu se développer sur des périodes prolongées dans du NaCl ou de l'OPW avec du MX-80. Le manque de macronutriments tels que l'azote (N) dans cette expérience pourrait avoir été un facteur limitant la croissance. N est l'un des éléments de base essentiels à la production d'acides aminés et nucléiques [61]. Alors que le N sous forme de nitrate peut être utilisé comme accepteur d'électrons facultatif si l'oxygène n'est pas disponible, l'ammoniac/ammonium est une source essentielle de nutriments et d'énergie [62]. Dans un DGR, l'introduction de composés azotés pendant la construction pourrait avoir des implications significatives pour la sécurité à long terme des déchets nucléaires stockés, car l'ammonium ou le nitrate peuvent augmenter l'activité microbienne. Certains minéraux comme l'illite peuvent fournir du N sous forme d'ammonium [63]. Cependant, l'illite n'est pas un minéral majeur dans la bentonite MX-80 [41,42] et le manque de N aurait donc pu être la raison de la mort finale de *S. bentonitica* dans cette expérience. L'ajout de NH₄Cl aux mésocosmes n'a cependant eu aucun effet bénéfique (Figure S5).

Les minéraux argileux sont connus pour adsorber la matière organique via différentes interactions qui peuvent réduire sa disponibilité pour les micro-organismes [37,64,65]. Cependant, les composés de faible poids moléculaire tels que l'acétate, qui a été ajouté au mésocosme comme source de carbone, peuvent ne pas être sensibles à l'adsorption, car les matières organiques de poids moléculaire élevé sont préférentiellement adsorbées (66). Comme la teneur en acétate des mésocosmes était déterminée dans la phase fluide, elle était censée être disponible pour la dégradation microbienne.

Néanmoins, comme l'adsorption est liée à la force ionique de la solution environnante et au pH [67-69], le faible pH du NaCl et de l'OPW (7,5-8,5 ; figure S8) peut avoir entravé l'accessibilité de l'acétate dans ces solutions. En général, les valeurs de pH déterminées se situent dans la plage de pH dans laquelle *S. bentonitica* est capable de se développer [44] et ne sont donc pas considérées comme telles.

des facteurs limitants. Les valeurs de pH plus faibles du NaCl et de l'OPW sont plutôt favorables à *S. bentonitica* car un pH neutre est optimal pour sa croissance [44].

En général, le manque de croissance de *S. bentonitica* indique à lui seul que les conditions d'incubation n'étaient pas favorables. Bien que *S. bentonitica* soit capable de se développer de manière aérobie dans des conditions riches en nutriments, l'agitation et l'aération des mésocosmes semblent désavantageuses dans des conditions limitées en nutriments. En comparaison, dans les précultures utilisées pour inoculer les mésocosmes, l'acétate était épuisé au bout de 4 semaines (Figure S6) et *S. bentonitica* est passé de 108 ou 109 cellules mL⁻¹ à environ 1 011 cellules mL⁻¹ en 8 semaines (Figure S7). Les précultures ont été stockées sans agitation et ont été échantillonnées à des intervalles plus grands que les mésocosmes, créant ainsi des conditions microaérophiles. *S. bentonitica* est capable de respiration anaérobie via la réduction des nitrates (44). Les bactéries dénitrifiantes sont pour la plupart hétérotrophes et souvent anaérobies facultatives avec la capacité de basculer entre la respiration de l'oxygène et celle des nitrates en fonction des conditions environnementales (70). De plus, la capacité d'espèces étroitement apparentées telles que *S. pavanii* et *S. maltophilia* à fixer l'azote [71,72] suggère que *S. bentonitica* pourrait avoir la même capacité.

En résumé, les résultats indiquent que malgré la présence d'une source de carbone et d'azote, et même si le MX-80 favorise la survie des micro-organismes en fournissant potentiellement des nutriments métalliques, *S. bentonitica* seul et dans des conditions aérées n'est pas capable de se développer sur le MX-80. 80 bentonite dans des solutions salines modérées.

4.2. Influence de *S. bentonitica* sur le gonflement du MX-80 En

conséquence, des modèles DRX similaires de bentonite incubés avec et sans *S. bentonitica* (Figure 3) indiquent fortement que cette bactérie n'a pas modifié la montmorillonite et n'a pas affecté la capacité de gonflement de la bentonite. Ceci est souligné par l'absence de changements significatifs dans la composition élémentaire de l'argile et dans le fluide (figures S3 et S4). Semblable à notre observation, Perdrial et al. [42] ont observé une croissance réduite de la bactérie *S. putrefaciens* et aucune altération chimique de la bentonite MX-80, et ont attribué cela à un excès du cation monovalent Na⁺ de la Na-montmorillonite. Alors que les cations divalents comme Ca²⁺ peuvent

faciliter l'adhésion bactérienne et améliorent l'accès aux nutriments à la surface minérale, les cations monovalents réduisent l'effet de pont entre les particules d'argile chargées négativement et les bactéries chargées négativement [73]. Ceci est étayé par le fait que nous n'avons pas pu observer d'attachement ou d'interaction de cellules de *S. bentonitica* avec la bentonite MX-80 en utilisant la microscopie électronique (Figure 1). Bien que *S. bentonitica* soit connue pour la formation de biofilms [46,74], nous n'avons trouvé aucune preuve de biofilms à la surface de la bentonite MX-80 dans les conditions données dans cette étude. Outre l'excès de Na⁺, l'accès des bactéries aux particules minérales peut être restreint en raison du gonflement osmotique de la Na-montmorillonite. La libre circulation et la survie des bactéries peuvent être significativement inhibées par l'hydratation du Na et la formation d'une double couche diffuse, conduisant à la formation d'un gel [73,75,76]. Nous avons observé un tel gel principalement dans le mésocosme NaCl avec la bentonite MX-80.

Bien que nous n'ayons pas pu observer d'impact de *S. bentonitica* sur les performances de l'argile bentonite MX-80, cette espèce microbienne, faisant partie d'une communauté complexe ou dans des conditions différentes dans un environnement naturel, peut se comporter différemment de l'espèce unique dans des conditions de laboratoire [77]. Des études récentes ont montré que les argiles sont habitées par diverses communautés microbiennes [27,78,79]. L'épuisement de l'oxygène plusieurs semaines après la fermeture d'un DGR va inévitablement modifier les processus métaboliques et respiratoires de cet organisme. Ainsi, nous ne pouvons exclure que *S. bentonitica* soit capable d'affecter la capacité de gonflement de la bentonite MX-80 dans des conditions différentes de celles testées dans cette étude.

4.3. Influence des paramètres hydro-géochimiques sur le gonflement de la bentonite MX-80

4.3.1. Capacité de gonflement de la bentonite

En plus de l'impact microbien possible sur la capacité de gonflement de la bentonite MX-80, nous avons étudié l'effet du changement des conditions thermo-hydro-géochimiques.

tels que l'augmentation de la température et de l'humidité après contact avec différentes solutions. On sait que la capacité de gonflement de la bentonite diminue avec l'augmentation de la force ionique des solutions environnantes [22,80–87]. De telles solutions salines provoquent une augmentation de la concentration d'électrolytes à l'intérieur du fluide interstitiel et à proximité des surfaces des particules d'argile, diminuant l'épaisseur de la double couche et le potentiel de gonflement [82]. Après avoir été en contact avec des solutions de force ionique différente, nous avons constaté qu'une force ionique accrue, comme dans les solutions de NaCl et d'OPW, altère la capacité de gonflement de la bentonite. Cela s'est exprimé par des déplacements réduits du pic de montmorillonite avec l'augmentation de l'humidité, ainsi que par une variance décroissante des grappes d'échantillons le long de l'axe y d'un CCA (Figure 5). Comme seule l'eau des solutions respectives était évaporée avant la DRX, les composants chimiques étaient toujours présents et affectaient définitivement le comportement de gonflement. En conséquence, le contact de la bentonite avec des eaux interstitielles salines telles que l'eau interstitielle de l'argile à Opalinus dans un DGR avec de l'argile à Opalinus comme roche hôte est supposé altérer encore le gonflement de la montmorillonite même si la solution a déjà été évaporée.

Plus la bentonite était en contact avec des volumes excédentaires de solution, plus la diminution du gonflement était forte (Figure 5, Figure S2). Des concentrations croissantes principalement de Na, Ca et Mg au fil du temps dans les trois solutions (Figure S3) indiquent que ces cations intercalaires typiques [88] ont été lessivés de la montmorillonite. Cependant, ils peuvent également avoir leur origine dans la dissolution d'autres minéraux accessoires, comme le Ca de la calcite ou le K des feldspaths. L'augmentation des concentrations d'éléments dans les solutions pourrait entraîner des concentrations d'électrolytes plus élevées autour des particules d'argile et ainsi diminuer l'épaisseur des doubles couches. Ceci est conforme à l'étude de Herbert et al. [22] qui ont montré que le Na échangeable, la somme des cations échangeables et la capacité totale d'échange de cations (CEC) diminuaient avec le temps de réaction dans une solution. Des concentrations plus élevées de contre-ions entre quasi-cristaux réduisent le volume des agrégats et donc la capacité de gonflement de la montmorillonite.

La capacité de la montmorillonite à incorporer divers cations dans la couche intermédiaire (CEC) est due à une substitution isomorphe des cations dans les feuillets octaédriques (89). Cela conduit au développement d'une charge négative nette des couches de silicate. Les smectites sont connues pour leur substitution isomorphe irrégulière de cations, à la fois dans les feuillets octaédriques et tétraédriques. La grande variabilité qui en résulte pour les charges négatives des couches est arbitraire, équilibrée par les cations intercouches disponibles dans l'environnement [15].

Les substitutions dans les feuillets tétra et octaédriques par des cations de valence inférieure augmentent la charge de couche, qui est préférentiellement équilibrée par des cations intercouches avec des valences plus élevées. Dans le cas de cations de même valence, ceux ayant le numéro atomique le plus élevé sont préférés [76]. L'incorporation de cations divalents comme Ca^{2+} conduit à un potentiel de gonflement plus faible en raison des corrélations ion-ion [90,91]. Parmi tous les autres cations, K^{+} jouerait un rôle particulier au contact des smectites. Même des traces d'ions K^{+} , comme on peut l'observer à des concentrations d'environ 20 et ~ 100 mg L^{-1} dans NaCl et OPW (Figure S3), respectivement, provoqueraient une transformation minérale pouvant provoquer un effondrement de l'espace intercalaire (par exemple, [11,92,93] et dégradent les performances de la bentonite. Kaufhold et Dohrmann (2010) [38] ont rapporté qu'une perte de gonflement et d'absorption d'eau due au K^{+} n'était pas liée à l'illitisation, mais plutôt à l'effondrement de la smectite K^{+} sans gonflement. Même si la salinité (force ionique) d'une solution affecte davantage le gonflement (pression) que le type de cation principal dans l'échange [22], la force ionique de la solution et la composition de la solution sont des facteurs contrôlant la capacité de gonflement. Ainsi, outre la force ionique légèrement supérieure de l'OPW par rapport à la solution de NaCl, la présence de K^{+} .

et/ou la présence de cations divalents tels que Ca^{2+} et Mg^{2+} peuvent être à l'origine de la plus forte réduction de la capacité de gonflement du MX-80 dans l'OPW que dans une solution de NaCl. Ceci est corroboré par une étude de Herbert (2008) [22], qui a constaté que la pression de gonflement de la bentonite diminuait avec l'augmentation de la salinité d'une solution. Ils ont décrit une légère diminution de la pression de gonflement dans l'eau interstitielle de l'Argile Opalinus avec un minimum après un ou deux ans dans la solution.

4.3.2. Intensité maximale réduite

L'intensité des pics de diffraction fortement réduite observée dans les échantillons OPW a rendu difficile l'évaluation des déplacements des pics et donc de la capacité de gonflement de la montmorillonite dans l'OPW. L'intensité maximale était réduite non seulement dans OPW mais également dans NaCl à la fin de l'expérience (Figure S2). La réduction était à la fois corrélée à la durée pendant laquelle la bentonite restait dans la solution et à la force ionique de la solution. L'ampleur des deux facteurs influençant la diminution de l'intensité maximale a été déduite du CCA (Figure 5). Les déplacements des grappes d'échantillons, qui reflètent la diminution de l'intensité maximale, sont principalement corrélés au temps et, dans une moindre mesure, à la force ionique.

L'intensité d'un pic de diffraction est déterminée par divers facteurs. Cela peut dépendre de la répartition des atomes dans la structure cristalline et est donc lié à la fois à la structure cristalline et à la composition atomique. Cependant, Hofmann (2003) [15] n'a trouvé aucune indication de changements dans la structure cristalline de l'argile provoqués par des substitutions de cations centraux dans les couches tétraédriques ou octaédriques des solutions salines (NaCl, KCl, Q-solution).

Par conséquent, nous supposons que ce n'est pas non plus la raison de la diminution de l'intensité maximale du MX-80 dans les solutions de NaCl et d'OPW. Très probablement, seuls les cations intercalaires faiblement liés ont été échangés avec la composition changeante des solutions. Outre plusieurs autres facteurs comme la polarisation, le facteur de multiplicité, le facteur de Lorentz et le facteur d'absorption, la nature cristalline peut influencer l'intensité du faisceau diffusé. Si la nature cristalline (nombre de plans orientés dans une direction particulière) augmente, l'intensité augmente. Par conséquent, la diminution observée de l'intensité de la DRX pourrait être due à un changement dans la morphologie des cristaux.

La valence des cations en solution ainsi que la charge des couches des smectites peuvent influencer la formation d'agrégats. Les cations bivalents dans la solution peuvent relier des couches et des bords chargés négativement, ce qui donne lieu à ce que l'on appelle la structure en escalier et en château de cartes [94].

Bauer et coll. [24] ont consacré une intensité maximale décroissante de smectite Ceca (une montmorillonite presque pure) dans des solutions salines acides (NaCl et KCl) à une morphologie en blocs croissante. Ils ont suggéré que les flocons plats de smectite ne peuvent pas être empilés pour former un pseudo-cristal sur la lame d'échantillon en verre avec un domaine diffractant hautement cohérent. Il a été conclu que le désordre croissant dans la disposition des particules était responsable de la diminution de l'intensité de la DRX en fonction du temps. De plus, Bauer et Velde (1999) [13] ont observé un changement dans la taille du domaine diffractant de la smectite en contact avec une solution de KOH, qui diminuait avec le temps. Ils ont attribué cette observation à un changement dans la forme du cristal. Ainsi, le gonflement est non seulement sensible à la quantité de couches de smectite K⁺ effondrées non gonflantes ou à la présence de cations divalents, mais également à la disposition des couches de smectite. Ceci est corroboré par notre observation d'une intensité maximale croissante après rinçage des échantillons avec de l'eau pure. Cela suggère que les changements morphologiques peuvent être restaurés après l'élimination des cations.

En conséquence, un gonflement réduit de la bentonite et des changements dans la morphologie réduiraient l'intégrité de la bentonite en tant que barrière technique dans un DGR et pourraient faciliter un meilleur accès des micro-organismes aux particules minérales ainsi que permettre une altération ou une migration des minéraux. Cela s'appliquerait au moins à la bentonite non compactée trouvée dans des environnements interfaciaux moins densément peuplés et dans des zones perturbées, telles que des fractures et des failles.

C'est exactement là que l'intrusion de fluide est susceptible de se produire.

4.3.3. Influence de la température

Outre la force ionique d'une solution et la durée pendant laquelle la bentonite reste dans cette solution, il a pu être démontré que la température réduisait légèrement la capacité de gonflement (Figure 4). Cependant, la durée de l'expérimentation était limitée. Il est possible que l'influence d'une température élevée (>80 °C) ait un effet plus significatif sur la réduction de la capacité de gonflement avec des temps d'exposition plus longs. Depuis les premières publications de Hofmann et Klemen [9], Greene-Kelly [10] et Weiss et Koch [11], il est bien admis qu'à haute température, de petits cations comme Li⁺ peuvent migrer à travers le feuillet tétraédrique vers les feuillets octaédriques, où ils peuvent neutraliser la charge de couche. Ce processus conduit à un

diminution de la CEC, et donc à une réduction des cations qui peuvent s'hydrater et provoquer un gonflement. La déshydratation de la couche intermédiaire commence à des températures comprises entre 70 et 109 °C [95], tandis qu'une perte complète du gonflement intercrystallin se produit à des températures supérieures à 105-125 °C [9]. Cependant, jusqu'à une température de 80 °C, des propriétés telles qu'une faible perméabilité, une capacité de rétention d'eau et une capacité d'auto-guérison sont généralement conservées [96].

5. Conclusions

La sécurité d'un système DGR a été bien étudiée d'un point de vue géologique, chimique et physique, mais très peu d'études ont étudié l'effet combiné de l'évolution des conditions thermo-hydro-géochimiques et des processus microbiens sur la sécurité de cette option de stockage. L'approche multidisciplinaire de cette étude visait à évaluer le risque de transformation et d'altération des minéraux argileux bentonites associés à l'activité microbienne, à la modification de la composition des fluides interstitiels et à l'augmentation de la température.

L'étude souligne que la bentonite est affectée à différents degrés par des processus thermo-hydro-géochimiques et microbiens. Nous montrons que la force ionique d'une solution envahissante et la composition de la solution sont des facteurs contrôlant le comportement de gonflement de la bentonite MX-80. Le gonflement de l'argile bentonite non compactée est sévèrement réduit après exposition à des solutions interstitielles modérément salines et cet effet augmente avec la durée d'exposition.

Plus précisément, les zones de perturbation, où de la bentonite non compactée est présente et où une intrusion d'eau est probable, constituent donc un risque pour la sécurité de l'intégrité d'un dépôt final. De plus, nous montrons que l'activité de l'organisme modèle *S. bentonitica* dans les conditions testées n'affecte pas de manière significative la capacité de gonflement ni n'altère les minéraux argileux.

Des travaux supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si cela s'applique également à la bentonite compactée et si d'autres espèces microbiennes ou des communautés plus complexes, dans les conditions rencontrées dans un stockage, sont susceptibles d'altérer les minéraux argileux et d'affecter le gonflement.

Matériel supplémentaire : Les informations complémentaires suivantes peuvent être téléchargées sur : <https://www.mdpi.com/article/10.3390/applmicrobiol4030074/s1>, Résultat S1 : Croissance bactérienne avec de la bentonite dans H₂O ; Résultat S2 : Comportement au gonflement de la bentonite dans H₂O ; Figure S1 : Spectres XRD de la bentonite MX-80 avant et après stérilisation par irradiation par faisceau électronique ; Figure S2 : Spectres XRD du MX-80 après 2, 35 et 61 jours d'incubation dans des solutions H₂O, NaCl ou OPW, et après lavage à l'eau ultrapure ; Figure S3 : Composition élémentaire des solutions H₂O, NaCl et OPW déterminée après 7, 35 et 61 jours de contact avec la bentonite MX-80 ; Figure S4 : Composition élémentaire de la bentonite MX-80 après 7, 35 et 61 jours dans H₂O, NaCl et OPW ; Figure S5 : Croissance de *S. bentonitica* déterminé en CFU ml⁻¹ dans différentes solutions avec et sans ajout de bentonite MX-80.

Toutes les cultures ont été complétées par NH₄Cl comme source d'azote supplémentaire ; Figure S6 : Concentrations d'acétate de H₂O, NaCl et OPW déterminées après 4 semaines dans les solutions initiales utilisées pour les expériences par lots, dans le contrôle contenant du MX-80 mais pas de *S. bentonitica* (+MX-80), dans les pré-cultures utilisées inoculer les mésocosmes (+Sb) et dans les mésocosmes expérimentaux contenant *S. bentonitica* et la bentonite MX-80 (+Sb + MX-80) ; Figure S7 : Croissance de *S. bentonitica* déterminée en CFU ml⁻¹ dans différentes solutions sans bentonite MX-80, incubées à température ambiante, sans agitation ni aération ; Figure S8 : pH des solutions initiales filtrées stériles utilisées pour les microcosmes, les pré-cultures non agitées, les microcosmes contenant du MX-80 et les microcosmes contenant *S. bentonitica* et MX-80 après 69 jours ; Tableau S1 : valeurs d₀₀₁ de la montmorillonite après exposition à des solutions de NaCl et OPW en présence ou absence de bactéries déterminées à différentes températures et humidité relative. Tableau S2 : PerMANOVA par paire utilisé pour analyser la différence des spectres XRD du MX-80 incubé avec (Bac) et sans (NC) bactéries dans H₂O, NaCl et OPW, Tableaux S3 : Calcul de la force ionique molaire I des solutions H₂O, NaCl et OPW ; Tableau S4 : Test Mantel de différents facteurs contrôlant la position et l'intensité du pic de bentonite MX80 dans des solutions de force ionique différente.

Contributions des auteurs : Conceptualisation, JM, AMS et DW ; méthodologie JM, SG et MB ; analyse formelle, JM et AMS ; enquête, JM et AMS ; visualisation, JM et AMS ; conservation des données, AMS et JM ; rédaction – préparation du projet original, JM ; rédaction – révision et édition, AMS, DW et SG ; administration du projet, AMS et DW Tous les auteurs ont lu et accepté la version publiée du manuscrit.

Financement : Ce travail a été soutenu par le ministère fédéral allemand de l'Éducation et de la Recherche (BMBF, Grant 02NUK053) et l'Association Helmholtz (Grant SO-093).

Déclaration de disponibilité des données : toutes les données utilisées dans cette étude sont disponibles gratuitement sous la licence d'accès libre Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) sur les services de données GFZ (Schleicher et al. (2024) [URL].

Remerciements : Nous tenons à remercier l'équipe interdisciplinaire du projet de recherche BMBF « iCross : intégrité des systèmes de dépôt de déchets nucléaires – compréhension et analyse des systèmes à plusieurs échelles », en particulier Michael Kühn (GFZ), pour son soutien logistique et sa coordination, ainsi que pour le BMBF pour son généreux soutien. Les auteurs remercient Matthias Schmidt (UFZ) et pour l'utilisation du microscope électronique à balayage au Centre de microscopie chimique (ProVIS) de l'UFZ Leipzig, qui est soutenu par les Fonds européens de développement régional (Fonds EFRE-Europe de Saxe) et le Association Helmholtz. Nous tenons également à remercier Kristin Günther et Andrea Vieth-Hillebrandt pour avoir déterminé la concentration en acétate.

Conflits d'intérêts : Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Les références

- Kim, JS ; Kwon, Saskatchewan ; Sánchez, M. ; Cho, GC Stockage géologique des déchets nucléaires de haute activité. *KSCE J.Civ. Ing.* 2011, 15, 721-737. <https://doi.org/10.1007/s12205-011-0012-8>.
- Grambow, B. Élimination géologique des déchets radioactifs dans Clay. *Éléments* 2016, <https://doi.org/10.2113/gselements.12.4.239>, 12, 239-245.
- Bors, J. ; Dultz, S. ; Riebe, B. Rétention des radionucléides par la bentonite organophile. *Ing. Géol.* 1999, 54, 195-206.
- Kozai, N. Caractéristiques de sorption de l'américium sur un matériau tampon. Rapport en cours sur la recherche sur la sûreté des déchets radioactifs Gestion pour la période d'avril 1996 à mars 1998 ; Ohnuki, T., Muraoka, S., Banba, T., éd. ; Institut japonais de recherche sur l'énergie atomique : Ibaraki, Japon, 1998 ; p. 21-25.
- Keto, P. Argiles naturelles comme matériaux de remblayage dans différents concepts de remblayage ; Posiva Oy : Eurajoki, Finlande, 2004.
- Stroes-Gascoyne, S. ; Hamon, CJ ; Maak, P. ; Russell, S. Les effets des propriétés physiques de l'argile smectitique hautement compactée (bentonite) sur la culture des micro-organismes indigènes. *Appl. Argile Sci.* 2010, 47, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2008.06.010>.
- Rutqvist, J. ; Zheng, L. ; Chen, F. ; Liu, HH ; Birkholzer, J. Modélisation de processus thermo-hydro-mécaniques couplés avec des liens avec la géochimie associés aux tunnels de stockage remblayés par la bentonite dans des formations argileuses. *Mécanique de roche. Rock Ing.* 2014, 47, 167–186. <https://doi.org/10.1007/s00603-013-0375-x>.
- Delage, P. ; Cui, YJ ; Tang, A. Argiles dans l'élimination des déchets radioactifs Argiles dans l'élimination des déchets radioactifs. *J. Rock Mech. Géotechnologie. Ing.* 2010, 2, 111-123. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1235.2010.00111>.
- Hofmann, U. ; Klemen, R. Verlust der Austauschfähigkeit von Lithiumionen an Bentonit durch Erhitzung. *Z.Anorg. Chimique.* 1950, 262, 95-99.
- Greene-Kelly, K. Déshydratation irréversible dans la montmorillonite, partie II. Mineur d'argile. *Taureau.* 1953, 2, 52-56.
- Weiss, A. ; Koch, G. Über einen Zusammenhang zwischen dem Verlust des innerkristallinen Quellungsvermögens beim Erhitzen et dem Schichtaufbau bei glimmerartigen Schichtsilikaten. *Z. Naturforschung B* 1961, 16, 68-69.
- Portes, WP ; Bouazza, A. ; Jock Churchman, G. L'argile bentonite éloigne les polluants. *Éléments* 2009, 5, 105-110. <https://doi.org/10.2113/gselements.5.2.105>.
- Bauer, A. ; Velde, B. Transformation de la smectite dans des solutions de KOH à haute molaire. Mineur d'argile. 1999, 32, 259-273.
- Herbert, H.-J. ; Kasbohm, J. ; Moog, Caroline du Sud ; Henning, KH Comportement à long terme de la bentonite MX-80 du Wyoming dans des conditions salines élevées solutions. *Appl. Argile Sci.* 2004, 26, 275-291. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2003.12.028>.
- Hofmann, H. Einfluss Konzentrierter Salzlösungen auf die Physiko-Chemischen Eigenschaften Quellfähiger Tonminerale: Konsequenzen für den Einsatz von Bentonit als Versatzmaterial in Einem Endlager für Schwach- und Mittelradioaktive Abfälle in Salzformationen. doctorat Thèse, Université de Heidelberg, Heidelberg, Allemagne, 2003.
- Hofmann, H. ; Bauer, A. ; Warr, LN Comportement de la smectite dans des saumures fortement salées dans des conditions pertinentes pour l'élimination des déchets nucléaires de faible à moyenne qualité. Mineur d'argile d'argile. 2004, 52, 14-24. <https://doi.org/10.1346/CCMN.2004.0520102>.
- Kasbohm, J. ; Pusch, R. ; Henning, K.-H. Expériences à court terme avec différentes bentonites dans des solutions salines. Dans *Berichte der DTTG ; Nüesch, R., Emmerich, K., éd. ; Karlsruhe1432-7007;Deutsche Ton- und Tonmineralgruppe eV, Karlsruhe, Allemagne.* 2004 ; p. 47.
- Suzuki, S. ; Sazarashi, M. ; Akimoto, T. ; Haginuma, M. ; Suzuki, K. Une étude de l'altération minéralogique de la bentonite dans une solution saline eau. *Appl. Argile Sci.* 2008, 41, 190-198. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2007.11.003>.
- Kaufhold, S. ; Dohrmann, R. Stabilité des bentonites dans les solutions salines III—Hydroxyde de calcium. *Appl. Argile Sci.* 2011, 51, 300-307. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.12.004>.
- Stober, I. ; Bucher, K. Origine de la salinité des eaux souterraines profondes dans les roches cristallines. *Terra* novembre 2002, 11, 181-185.

21. Pearson, FJ; Arcos, D. ; Bain, A. ; Boisson, JY; Fernández, AM; Gäbler, HE; Gaucher, E. ; Gautschi, A. ; Griffault, L. ; Hernán, P. ; et coll. *Projet Mont Terri – Géochimie de l'eau dans la formation d'argile à Opalinus au Laboratoire rocheux du Mont Terri ; Office fédéral de l'eau et de la géologie : Berne, Suisse, 2003.*
22. Herbert, HJ; Kasbohm, J. ; Sprenger, H. ; Fernández, AM; Reichelt, C. Pressions de gonflement de la bentonite MX-80 dans des solutions de force ionique différente. *Phys. Chimique. Terre* 2008, 33, S327-S342. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2008.10.005>.
23. Adamcova, J. ; Hanusova, I. ; Ponavic, M. ; Prikryl, R. Processus d'altération des bentonites. Dans le livre des résumés de la 18e conférence Clay en République tchèque ; Stastny, M., éd.; Groupe national tchèque d'argile : Prague, République tchèque, 2008 ; p. 19.
24. Bauer, A. ; Schäfer, T. ; Dohrmann, R. ; Hoffmann, H. ; Kim, JI Stabilité de la smectite dans les solutions de sels acides et devenir de Eu, Th et U en solution. *Mineur d'argile*. 2001, 36, 93-103.
25. Ferrage, E. ; Lanson, B. ; Sakharov, BA; Drits, VA Enquête sur les propriétés d'hydratation de la smectite en modélisant des diagrammes expérimentaux de diffraction des rayons X : Partie I : Propriétés d'hydratation de la montmorillonite. *Suis. Minéral*. 2005, 90, 1358-1374. <https://doi.org/10.2138/am.2005.1776>.
26. Kaufhold, S. ; Dohrmann, R. Stabilité des bentonites dans les solutions salines | chlorure de sodium. *Appl. Argile Sci*. 2009, 45, 171-177. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2009.04.011>.
27. Lopez-Fernandez, M. ; Cherkouk, A. ; Vilchez-Vargas, R. ; Jauregui, R. ; Pieper, D. ; Boon, N. ; Sánchez-Castro, I. ; Merroun, ML Diversité bactérienne dans les bentonites, barrière artificielle pour le stockage géologique en profondeur des déchets radioactifs. *Microbe. Écol*. 2015, 70, 922-935. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0630-7>.
28. Chapelle, FH Microbiologie et géochimie des eaux souterraines ; John Wiley & Sons : Hoboken, NJ, États-Unis, 1993.
29. Brown, AD Physiologie du stress hydrique microbien. Principes et perspectives ; John Wiley & Sons : Hoboken, NJ, États-Unis, 1990.
30. Courdouan-Metz, A. Nature et réactivité des matières organiques dissoutes dans les formations argileuses évaluées pour le stockage des déchets radioactifs. doctorat Thèse, École polytechnique fédérale de Zurich, Zurich, Suisse, 2008.
31. Courdouan, A. ; Christl, moi. ; Wersin, P. ; Kretzschmar, R. Nature et réactivité de la matière organique dissoute dans les formations Opalinus Clay et Callovo-Oxfordian. Dans *Proceedings of the Clays in Natural and Engineered Barriers for Radioactive Waste Confinement*, Lille, France, 17-20 septembre 2007.
32. Leupin, BŒUF ; Bernier-Latmani, R. ; Bagnoud, A. ; Maures, H. ; Leys, N. ; Wouters, K. ; Stroes-Gascoyne, S. Quinze ans d'investigation microbiologique dans l'argile à Opalinus au laboratoire rocheux du Mont Terri (Suisse). *Suisse J. Geosci*. 2017, 110, 343–354. <https://doi.org/10.1007/s00015-016-0255-y>.
33. Ehrlich, HL Microbes en tant qu'agents géologiques : leur rôle dans la formation minérale. *Géomicrobiol. J*. 1999, 16, 135-153. <https://doi.org/10.1080/014904599270659>.
34. Gorchkov, AI ; Drits, Virginie ; Dubinina, Géorgie ; Bogdanova, OA; Sivtsov, AV Le rôle de l'activité bactérienne dans la formation de formations hydrothermales de Fe – Mn dans la partie nord du bassin de Lau (partie sud-ouest de l'océan Pacifique). *Izv. Akad. Nauk Seriya Géol*. 1992, 9, 84-93.
35. Kawano, M. ; Tomita, K. Biominéralisation microbienne dans les dépôts de cendres volcaniques altérées et formation de minéraux biogéniques par incubation expérimentale. *Suis. Minéral*. 2001, 86, 400-410.
36. Kohler, B. ; Chanteur, A. ; Stoffers, P. Nontronite biogénique provenant des cheminées de fumeurs blancs marins. *Mineur d'argile d'argile*. 1994, 42, 689-701.
37. Cuadros, J. Interaction des minéraux d'argile avec des micro-organismes : une revue. *Mineur d'argile*. 2017, 52, 235-261. <https://doi.org/10.1180/claymin.2017.052.2.05>.
38. Kaufhold, S. ; Dohrmann, R. Stabilité des bentonites dans les solutions salines II. Solution de chlorure de potassium – Étape initiale de l'illitisation ? *Appl. Argile Sci*. 2010, 49, 98-107. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.04.009>.
39. Lui, Y. ; Oui, WM ; Chen, GY; Cui, YJ Effets des solutions K + sur le comportement au gonflement de la bentonite GMZ compactée. *Ing. Géol*. 2019, 249, 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2018.12.020>.
40. Xiang, G. ; Oui, W. ; Xu, Y. ; Jalal, FE Déformation par gonflement de la Na-bentonite dans des solutions contenant différents cations. *Ing. Géol*. 2020, 277, 105757. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2020.105757>.
41. Sauzéat, E. ; Villiéras, TF; François, M. ; Pelletier, M. ; Barrés, O. ; Yvon, J. ; Guillaume, D. ; Dubbessy, J. ; Pfeiffert, C. ; Ruck, R. ; et coll. Caractérisation minéralogique, cristallographique et texturale de l'argile MX-80. *ANDRA Tech. Rep*. 2001.https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Caract%C3%A9risation%20min%C3%A9ralogique%2C%20cristallographique%20et%20texturale%20de%20l%27argile%20MX-80&author=E.%20Sauzeat&publication_year=2001.
42. Perdrial, JN; Warr, LN ; Perdrial, N. ; Lett, MC; Elsass, F. Interaction entre la smectite et les bactéries : implications pour la bentonite comme matériau de remblai dans l'élimination des déchets nucléaires. *Chimique. Géol*. 2009, 34, 281-294. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2009.03.012>.
43. López-Fernández, M. ; Fernández-Sanfrancisco, O. ; Moreno-García, A. ; Martín-Sánchez, I. ; Sánchez-Castro, I. ; Merroun, ML Communautés microbiennes dans les formations bentonitiques et leurs interactions avec l'uranium. *Appl. Géochimie*. 2014, 49, 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.06.022>.
44. Sánchez-Castro, I. ; Ruiz-Fresneda, MA; Bakkali, M. ; Kämpfer, P. ; Glaeser, SP; Busse, HJ; López-Fernández, M. ; Martínez-Rodríguez, P. ; Merroun, ML *Stenotrophomonas bentonitica* sp. nov., isolé des formations bentonites. *Int. J. Syst. Évol. Microbiol*. 2017, 67, 2779-2786. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002016>.
45. Ruiz Fresneda, M.A. ; Delgado Martín, J. ; Gómez Bolívar, J. ; Fernández Cantos, MV ; Bosch-Estévez, G. ; Martínez Moreno, MF; Merroun, ML Synthèse verte et biotransformation de nanosphères de Se amorphes en nanostructures trigonales de Se 1D : impact sur la mobilité du Se dans le concept d'élimination des déchets radioactifs. *Environ. Sci. Nano* 2018, 5, 2103-2116. <https://doi.org/10.1039/c8en00221e>.

46. Ruiz-Fresneda, MA; Lopez-Fernandez, M. ; Martinez-Moreno, MF; Cherkouk, A. ; Ju-Nam, Y. ; Ojeda, JJ; Moll, H. ; Merroun, ML Liaison moléculaire d'Eulll/ Cmlllpar S tenotrophomonas bentonitica et son impact sur la sécurité du futur géoélimination des déchets radioactifs. Environ. Sci. Technologie. 2020, 54, 15180-15190. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02418>.
47. Joseph, C. ; Schmeide, K. ; Sachs, S. ; Brendler, V. ; Geipel, G. ; Bernhard, G. Sorption de l'uranium (VI) sur l'argile à Opalinus en l'absence et en présence d'acide humique dans l'eau interstitielle de l'argile à Opalinus. Chimique. Géol. 2011, 284, 240-250. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.03.001>.
48. Pearson, FJ Opalinus Clay Experimental Water : A1Type, version 980318 ; Institut Paul Scherrer : Villigen, Suisse, 1998.
49. Schleicher, Anja M. ; Mitzscherling, Julia ; Bonitz, Marie ; Genderjahn, Steffi; Wagner, Dirk. Ensemble de données minéralogiques, géochimiques et microbiennes pour évaluer l'impact de S. bentonitica dans différentes solutions sur les performances de l'argile bentonite dans des conditions thermo-hydrochimiques changeantes. Services de données GFZ. 2024. <https://doi.org/10.5880/GFZ.3.1.2024.004>.
50. Courdouan, A. ; Christl, moi. ; Meylan, S. ; Wersin, P. ; Kretzschmar, R. Caractérisation de la matière organique dissoute dans les roches anoxiques extraits et eau interstitielle in situ de l'argile à Opalinus. Appl. Géochimie. 2007, 22, 2926-2939. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2007.09.001>.
51. Miles, AA ; Misra, SS ; Irwin, JO L'estimation du pouvoir bactéricide du sang. J. Hyg. 1938, 38, 732-749. <https://doi.org/10.1017/s002217240001158x>.
52. Marteau, Ø. ; Harper, DAT ; Ryan, PD PAST : Progiciel de statistiques paléontologiques pour l'éducation et l'analyse des données. Paléontole. Électron. 2001, 4, 1–9.
53. McNaught, AD; Wilkinson, A. IUPAC. Compendium de terminologie chimique, 2e éd.; Publications scientifiques Blackwell : Oxford, Royaume-Uni, 1997. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
54. Eberl, DD; Hower, J. La transformation hydrothermale de la smectite de sodium et de potassium en argile à couches mélangées. Argiles Argile Mineur. 1977, 25, 215-227.
55. Inoue, A. Fixation du potassium par les minéraux argileux lors d'un traitement hydrothermal. Mineur d'argile d'argile. 1983, 31, 81-91.
56. Komareni, S. ; White, WB Réaction hydrothermale du strontium et des éléments transuraniens du simulateur avec des minéraux argileux et des zéolites et des schistes. Mineur d'argile d'argile. 1983, 31, 113-121.
57. Kasbohm, J. ; Venz, C. ; Henning, K.-H. ; Herbert, H.-J. Zu Aspekten einer Lang-zeitsicherheit von Bentonit in hochsalinaren Lösungen. In Berichte der Deutschen Ton- und Tonmineralgruppe eV-Beiträge zur Jahrestagung ; Stengele, H., Plötze, M., éd.; ETH Zürich : Zurich, Suisse, 2000 ; pp. 158-170.
58. Finsterle, S. ; Müller, RA; Baltzer, R. ; Payeur, J. ; Recteur, JW Evolution thermique à proximité des conteneurs de déchets nucléaires générateurs de chaleur disposés dans des forages horizontaux. Énergies 2019, 12, 596. <https://doi.org/10.3390/en12040596>.
59. Marchand, SS ; Helmann, JD Économie élémentaire. Stratégies microbiennes pour optimiser la croissance face à la limitation des nutriments. Dans Advances in Microbial Physiology, 1ère éd.; Elsevier Ltd. : Amsterdam, Pays-Bas, 2012. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398264-3.00002-4>.
60. Pérez Rodriguez, JL ; Carretero, Michigan ; Maqueda, C. Comportement de la sépiolite, de la vermiculite et de la montmorillonite comme supports dans digesteurs anaérobies. Appl. Argile Sci. 1989, 4, 69-82.
61. Bothe, H. ; Ferguson, S. ; Newton, WE Biologie du cycle de l'azote ; Elsevier Science : Amsterdam, Pays-Bas, 2007.
62. Kutvonen, H. ; Rajala, P. ; Carpen, L. ; Bomberg, M. Nitrate et ammoniac comme sources d'azote pour le sous-sol profond micro-organismes. Devant. Microbiol. 2015, 6, 1079. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01079>.
63. Landeweert, R. ; Hoffland, E. ; Finlay, RD; Kuyper, TW; van Breemen, N. Lier les plantes aux roches : champignons ectomycorhiziens mobiliser les nutriments des minéraux. Tendances Ecol. Évol. 2001, 16, 248-254.
64. Kieft, TL La taille compte : cellules naines dans le sol et les environnements terrestres souterrains. Chez les micro-organismes non cultivables du Environnement; Colwell, RR, Grimes, DJ, éd. ; ASM Press : Washington, DC, États-Unis, 2000 ; p. 19-46.
65. Curry, KJ ; Bennett, RH; Mayer, L.M. ; Curry, A. ; Avril, M. ; Biélot, PM ; Hulbert, MH Visualisation directe des signatures des microfabrics d'argile favorisant la préservation de la matière organique dans les sédiments à grains fins. Géochim. Cosmochim. Actes 2007, 71, 1709-1720.
66. Chorover, J. ; Amistadi, MK Réaction de la matière organique du tapis forestier aux surfaces de goethite, de birnessite et de smectite. Géochim. Cosmochim. Actes 2001, 65, 95-109.
67. Murphy, EM; Zachara, JM; Smith, Caroline du Sud ; Phillips, JL; Wietsma, TW Interaction de composés organiques hydrophobes avec substances humiques liées aux minéraux. Environ. Sci. Technologie. 1994, 28, 1291-1299.
68. Schlautman, MA; Morgan, JJ Adsorption de substances humiques aquatiques sur des particules d'oxyde d'aluminium de taille colloïdale : influence de la chimie des solutions. Géochim. Cosmochim. Acta 1994, 58, 4293-4303.
69. Arnarson, TS; Keil, RG Le rôle des sites de surface réactifs et la complexation par les acides humiques dans l'interaction des particules de minéraux argileux et d'oxyde de fer. Mars Chem. 2000, 71, 309-320.
70. Luque-Almagro, VM; Portes, AJ ; Moreno-Vivián, C. ; Ferguson, SJ; Richardson, DJ ; Roldan, MD Assimilation bactérienne du nitrate : distribution et régulation des gènes. Biochimie. Soc. Trans. 2011, 39, 1838-1843. <https://doi.org/10.1042/BST20110688>.
71. Bashandy, SR; Abd-Alla, MH ; Dawood, MFA Atténuation de la toxicité des eaux usées huileuses pour les plants de canola par la bactérie biodégradante des hydrocarbures aromatiques fixatrice de N2, Stenotrophomonas maltophilia-SR1. Appl. Ecol du sol. 2020, 154, 103654. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103654>.
72. Ramos, PL; Van Trappen, S. ; Thompson, Floride ; Rocha, RCS; Barbosa, RH ; de Vos, P. ; Moreira-Filho, CA Dépistage des bactéries endophytes fixatrices d'azote dans les variétés brésiliennes de canne à sucre utilisées en agriculture biologique et description de stenotrophomonas Pavanii sp. nov. Int. J. Syst. Évol. Microbiol. 2011, 61, 926-931. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.019372-0>.

73. Simoni, SF; Bosma, TNP ; Harms, H. ; Zehnder et les cations bivalents AJB augmentent à la fois la sous-population de bactéries adhérentes Colonnes de sable. Environ. Sci. Technologie. 2000, 34, 1011-1017. <https://doi.org/10.1021/es990476m>.
74. Sánchez-Castro, I. ; Bakkali, M. ; Merroun, ML Projet de séquence génomique de *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7, une bactérie réductrice de sélénite isolée des bentonites espagnoles. Annonce du génome. 2017, 5, 7–9. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00719-17>.
75. MacEwan, DMC; Wilson, MJ Intercalaires et complexes d'intercalation de minéraux argileux. Dans Structure cristalline des minéraux argileux et leur identification aux rayons X ; Brindley, GW, Brown, G., éd.; Société minéralogique : Londres, Royaume-Uni, 1980 ; pp. 197-242.
76. Lagaly, G. Reaktionen der Tonminerale. Dans Tonminerale und Tone : Struktur, Eigenschaften et Einsatz in Industrie und Umwelt ; Jasmund, K., Lagaly, G., éd. ; Steinkopff Verlag : Darmstadt, Allemagne, 1993 ; pp. 89-167.
77. Wintermute, EH ; Silver, PA Coopération émergente dans le métabolisme microbien. Mol. Système. Biol. 2010, 6, 407. <https://doi.org/10.1038/msb.2010.66>.
78. Boivin-Jahns, V.; Ruimy, R. ; Bianchi, A. ; Dumas, S. ; Christen, R. Diversité bactérienne dans un environnement argileux souterrain profond. Appl. Environ. Microbiol. 1996, 62, 3405-3412.
79. Mitzscherling, J. ; Genderjahn, S. ; Schleicher, AM; Bartholomäus, A. ; Kallmeyer, J. ; Wagner, D. Communautés microbiennes associées à l'argile et leur pertinence pour un dépôt de déchets nucléaires dans la formation rocheuse Opalinus Clay. Microbiologieopen 2023, 12, e1370. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1370>.
80. Suzuki, S. ; Prayongphan, S. ; Ichikawa, Y. ; Chae, BG Observations in situ du gonflement des agrégats de bentonite dans une solution de NaCl. Appl. Argile Sci. 2005, 29, 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2004.11.001>.
81. Pusch, R. ; Karnland, O. ; Hökmark, H. GMM-A modèle microstructural général pour les études qualitatives et quantitatives sur la smectite Argiles; Société suédoise de gestion des combustibles et des déchets nucléaires : Stockholm, Suède, 1990.
82. Castellanos, E. ; Villar, MV ; Romero, E. ; Lloret, A. ; Gens, A. Impact chimique sur le comportement hydromécanique de la bentonite FEBEX haute densité. Phys. Chimique. Terre 2008, 33, S516-S526. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2008.10.056>.
83. Karnland, O. ; Olsson, S. ; Nilsson, U. Minéralogie et propriétés d'étanchéité de divers matériaux d'argile riches en bentonites et en smectite ; TR-06-30 ; Société suédoise de gestion des combustibles et des déchets nucléaires : Stockholm, Suède, 2006 ; pp. 3 à 70.
84. Komine, H. ; Yasuhara, K. ; Murakami, S. Caractéristiques de gonflement des bentonites dans l'eau de mer artificielle. Peut. Géotechnologie. J. 2009, 46, 177-189. <https://doi.org/10.1139/T08-120>.
85. Siddiqua, S. ; Blatz, J. ; Siemens, G. Évaluation de l'impact de la chimie des fluides interstitiels sur le comportement hydromécanique des argiles. matériaux d'étanchéité à base. Peut. Géotechnologie. J. 2011, 48, 199-213. <https://doi.org/10.1139/T10-064>.
86. Lee, JO; Lim, JG; Kang, IM ; Sangki, K. Pressions de gonflement de la Ca-bentonite compactée. Ing. Géol. 2012, 129-130, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2012.01.005>.
87. Chun-Ming, Z. ; Wei-Min, Y. ; Yong-Gui, C. ; Bao, C. ; Yu-Jun, C. Influence des solutions salines sur la pression de gonflement et l'hydraulique conductivité de la bentonite GMZ01 compactée. Ing. Géol. 2013, 166, 74-80. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2013.09.001>.
88. Sato, H. Quantification des cations échangeables dans la couche intermédiaire de Tsukinuno Sodium-Montmorillonite. Maître. Rés. Soc. Symp. Proc. 2009, 1193, 2-7. <https://doi.org/10.1557/PROC-1144-LL16-04>.
89. Dohrmann, R. ; Genske, D. ; Karnland, O. ; Kaufhold, S. ; Kiviranta, L. ; Olsson, S. ; Plötze, M. ; Sandén, T. ; Sellin, P. ; Svensson, D. ; et coll. Étude interlaboratoire de CEC et de cations échangeables de matériaux tampons bentonites : I. Méthode Cu(II)-triéthylènetétramine. Mineur d'argile d'argile. 2012, 60, 162-175. <https://doi.org/10.1346/CCMN.2012.0600206>.
90. Segad, M. ; Jönsson, B. ; Åkesson, T. ; Cabane, B. Montmorillonite Ca/Na : Structure, forces et propriétés de gonflement. Langmuir 2010, 26, 5782-5790. <https://doi.org/10.1021/la9036293>.
91. Liu, L. Colloïdes et surfaces A : Aspects physicochimiques et techniques Prédiction des pressions de gonflement de différents types de bentonite dans des solutions diluées. Surf sur les colloïdes. Une physicochimie. Ing. Aspic. 2013, 434, 303-318. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.05.068>.
92. Push, R. The Buffer and Backfill Handbook Partie 1 — Définitions, relations de base et méthodes de laboratoire ; Rapport technique SKB SKB-TR-02-20 ; Société suédoise de gestion des combustibles et des déchets nucléaires : Stockholm, Suède, 2002.
93. Push, R. Le manuel des zones tampons et de remblai, partie 2 – Matériaux et techniques ; Rapport technique SKB SKB-TR-02-12 ; Société suédoise de gestion des combustibles et des déchets nucléaires : Stockholm, Suède, 2002.
94. O'Brien Tissu de flocons de kaolinite et d'illite. Mineur d'argile d'argile. 1971, 19, 353-359.
95. Schleicher, AM; Warr, LN ; Van Der Pluijm, BA Sur l'origine des minéraux argileux à couches mixtes de la faille de San Andreas à une profondeur verticale de 2,5 à 3 km (forage SAFOD à Parkfield, Californie). Contribuer. Minéral. Essence. 2009, 157, 173-187. <https://doi.org/10.1007/s00410-008-0328-7>.
96. Villar, MV ; Lloret, A. Influence de la température sur le comportement hydromécanique d'une bentonite compactée. Appl. Argile Sci. 2004, 26, 337-350. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2003.12.026>.

Avis de non-responsabilité/Note de l'éditeur : Les déclarations, opinions et données contenues dans toutes les publications sont uniquement celles du ou des auteurs et contributeurs individuels et non de MDPI et/ou du ou des éditeurs. MDPI et/ou le(s) éditeur(s) déclinent toute responsabilité pour tout préjudice corporel ou matériel résultant des idées, méthodes, instructions ou produits mentionnés dans le contenu.