



Статья

Оценка микробного воздействия на производительность Бентонитовая глина при различных термогидрогеохимических Условия

Юлия Митцшерлинг 1,*¹, Аня М. Шляйхер 2,*², Штеффи Гендерьян 3, Мари Бониц 4 и Дирк Вагнер 1,5

1 Немецкий исследовательский центр геонаук GFZ, секция геомикробиологии, 14473 Потсдам, Германия; dirk.wagner@gfz-potsdam.de 2

Немецкий исследовательский центр геологических наук, неорганической и изотопной геохимии GFZ, 14473 Потсдам, Германия

3 Открытое научное бюро имени Гельмгольца, 14473 Потсдам, Германия; steffi.genderjahn@os.helmholtz.de

4 GFZ Немецкий исследовательский центр геолого-геофизических исследований, моделирование гидросистем, 14473 Потсдам, Германия;

marie.bonitz@gfz-potsdam.de 5 Институт геологических наук, Потсдамский университет,

14476 Потсдам, Германия * Адрес для переписки: julia.mitzscherling@gfz-potsdam.de (JM); anja.schleicher@gfz-potsdam.de (AMS); Тел.: +49-331-6264-28886 (JM); +49-331-6264-1426 (AMC)

Аннотация: Благодаря своей способности к набуханию уплотненная бентонитовая глина является подходящим буферным материалом в глубоких геологических хранилищах высокоактивных ядерных отходов. Однако это применимо только в том случае, если способность к набуханию сохраняется. Соответственно, бентониты должны быть устойчивы к изменению температуры, влажности, проникающих жидкостей или микробной активности. В периодических экспериментах мы исследовали совокупное микробное и термогидрогеохимическое воздействие на способность к набуханию неуплотненного бентонита MX-80. Бентонит подвергался воздействию жидкостей различной ионной силы и бактерии *Stenotrophomonas bentonitica*. За ростом бактерий следили путем подсчета колониеобразующих единиц, а способность набухания бентонита оценивали с помощью рентгеноструктурного анализа *in situ* при различных температурах и влажности. Присутствие бентонита продлило выживаемость *S. bentonitica*. Однако электронная микроскопия, рентгеноструктурный анализ и анализ ICP-OES не выявили ни взаимодействия *S. bentonitica* с бентонитом, ни существенных изменений в способности к набуханию или элементном составе. Однако способность к набуханию и интенсивность дифракционного пика сильно снижались из-за ионной силы жидкости и времени воздействия. В исследовании подчеркивается, что бентонит в разной степени подвержен влиянию термо-гидро-геохимических и микробных процессов и что в целях безопасности важно учитывать сложность различных сопутствующих факторов в потенциальных оценки.

Ключевые слова: бентонит; припухлость; MX-80; термогидрохимическое поведение; *Стенотрофомонас бентонитика*; инженерный барьер; глубокое геологическое хранилище; ядерные отходы

Цитирование: Митцшерлинг,

Дж.; Шлейхер, АМ; Гендерьян, С.;

Бониц, М.; Вагнер, Д. Оценка микробного воздействия на

характеристики бентонитовой глины в различных

термогидрогеохимических условиях. Прил.

Микробиол. 2024, 4, 1091–1109.

<https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4030074>

Академический редактор: Ян Коннертон

Поступила: 4 июня 2024 г.

Пересмотрено: 15 июля 2024 г.

Принято: 16 июля 2024 г.

Опубликовано: 20 июля 2024 г.



Копирайт: © 2024 авторов.

Лицензиат MDPI, Базель, Швейцария.

Эта статья находится в открытом доступе. распространяется на условиях и

условия Creative Commons

Лицензия с указанием авторства (CC BY)

(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

s/by/4.0/).

1. Введение

Как часть многобарьерной системы, глина является важным материалом во многих проектах глубоких геологических хранилищ (ГГХ) для высокоактивных ядерных отходов (ВАО) [1,2]. Помимо того, что высокоуплотненная глина на основе бентонита считается вмещающей породой, она является основным кандидатом на роль буферного материала из-за высокой сорбционной способности радионуклидов [3,4], благоприятной способности к набуханию, которая обеспечивает герметизацию при высоком давлении набухания [5], и низкая активность воды, которая, как было показано, подавляет рост микробов. Тем не менее, бентониты являются подходящим материалом для изготовления геотехнических барьеров только в том случае, если способность к набуханию поддерживается в ожидаемых условиях. Соответственно, бентониты должны быть стабильными по отношению к изменению температуры и влажности, а также к возможному воздействию проникающих жидкостей и/или микроорганизмов.

Влияние температуры на гидромеханическую реакцию бентонитовых инженерных барьеров является одним из важных аспектов DGR после помещения высокоактивных ядерных отходов в хранилище. В зависимости от концепции ДГР пиковые температуры на границе раздела канистра-бентонит могут достигать 80–160 °C [7,8]. Такой нагрев уменьшает набухание и адсорбционную способность бентонитовой глины за счет нейтрализации постоянных зарядов. Основным глинистым минералом в бентоните является монтмориллонит (сметит), который характеризуется слоистой структурой тетраэдрических и октаэдрических пластинок и отрицательным зарядом. Нагревание может привести к миграции малых катионов через тетраэдрический лист в октаэдрические вакансии слоя 2:1 [9–11] — механизм, который может привести к деградации сметита.

Свойства обменных катионов в бентоните, такие как заряд, энергия гидратации и размер, существенно влияют на способность адсорбции и поглощения воды [12]. Соленость пропитывающих растворов, возможно, также может влиять на структуру бентонита вследствие реакций катионного обмена, растворения и осаждения или процессов рекристаллизации (например, [13–18]). Например, поровые воды портландцемента из технического барьера богаты Ca^{2+} и являются щелочными [19], тогда как в пластовых водах в глинистых или кристаллических вмещающих породах часто преобладает NaCl при умеренном pH [20,21]. В частности, наличие катионов с более высокой валентностью, т. е. более высокой плотностью заряда в прослойке, снижает способность бентонита к набуханию [22]. В некоторых исследованиях при реакции с растворами NaCl сообщается об изменении свойств бентонита, таких как растворение сметита и образование других минералов [14], снижение катионообменной емкости [15,16,18,23], уменьшение набухания и уширение отражения XRD (рентгеновской дифракции) с увеличением времени [24] или асимметрия и смещение отражения в сторону более низких значений d из-за гидратных неоднородностей [25]. Однако Кауфхольд и др. [26] наблюдали только катионный обмен, но не наблюдали структурных изменений в растворах NaCl с умеренным pH вплоть до 60 °C.

Микроорганизмы были обнаружены в природных бентонитовых горизонтах [27], несмотря на негостеприимные условия в глинистых пластах, такие как низкая пористость [28], низкая доступность воды [29] и отсутствие легкодоступных и легко разлагаемых источников энергии [30,31]. Физико-химические изменения, вызванные строительством и эксплуатацией ДГР, могли стимулировать развитие местных микроорганизмов. Кроме того, занос чужеродных микроорганизмов возможен при проникновении воды по трещинам или при строительстве РГР. По прогнозам, микробная активность будет происходить в менее плотно упакованных межфазных средах и в областях нарушений, таких как трещины и разломы, где бентонитовый барьер разрушается, по крайней мере временно [6]. В таких средах не всегда соблюдаются физические условия, необходимые для подавления микробной активности. Микробиологическая активность в непосредственной близости от контейнеров для отходов или в ближнем поле (включая инженерные барьеры и части вмещающей породы, контактирующие с инженерными барьерами) может привести к коррозии контейнеров, выделению микробного газа, растворению глины, минералов или выщелачивание определенных элементов из этих минералов. С другой стороны, микроорганизмы могут адсорбировать радионуклиды или способствовать снижению давления газа, уменьшая его объем [32]. Производство микробного газа может снизить эффективность барьеров на основе бентонита и/или естественных барьеров. Микробная адсорбция радионуклидов может приводить как к их иммобилизации в биопленках, так и к усилению их миграции через трещины микробами, действующими как коллоиды. Однако, помимо обмена межслоевых катионов, выщелачивание и растворение глинистых минералов под действием микробов также может различными способами замедлять разрушение минералов или способствовать росту минералов [33–36]. Способствуют ли микроорганизмы минеральному изменению или защищают минералы, зависит от системы [37].

Сложное взаимодействие минералов, растворов и бактерий привлекает все большее внимание, поскольку любая реакция, которая приводит к уменьшению способности сметита к набуханию и, следовательно, к потере безопасности контейнера для отходов, имеет значение. В настоящее время недостаточно понятно, как различные микроорганизмы могут воздействовать на глинистый минерал сметит при контакте с различными водными растворами. В многочисленных исследованиях изучалось набухание бентонитовых глин при контакте с различными солевыми или щелочными растворами простого состава (например, [19,26,38–40]). Однако набухание в смешанных солевых растворах, как

обнаруженный в подземных водах окружающих вмещающих пород, смешанных с различными химическими компонентами, изучен слабо [22].

Целью настоящего исследования было изучение комбинированного микробного и термогидрогеохимического воздействия на способность к набуханию неуплотненного бентонита MX-80 при воздействии жидкостей с различной ионной силой и обитающей в бентоните бактерии *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7T.

2. Материалы и методы

2.1. MX-80 Вайоминг Бентонит

Бентонит, использованный в этом исследовании, представляет собой бентонит Вайоминга MX-80 (Намонтмориллонит), полученный от American Colloid Company (Volclay MX-80, глина Вайоминг, номер партии 17912; рисунок 1а, Hoffman Estates, IL, США). Бентонит MX-80 состоит из ~76% монтмориллонита (сметита) и акцессорных минералов слюды (2,8–3,8%), полевого шпата (4,5%), кварц (5–6%), кальцит (0,3–0,4%) и пирит (0,5%) [41,42].

Бентонит стерилизовали облучением электронным пучком (10 мЭВ, 30 кГр) на аппарате STERIS Herotron E-Beam Service GmBH (Биттерфельд-Вольфен, Германия). Стерилизация немного увеличила интенсивность пика (001) монтмориллонита (рис. S1). Стерилизованный MX-80 хранили в контейнерах, стерилизованных автоклавом, и на протяжении всех экспериментов с ним обращались асептически.

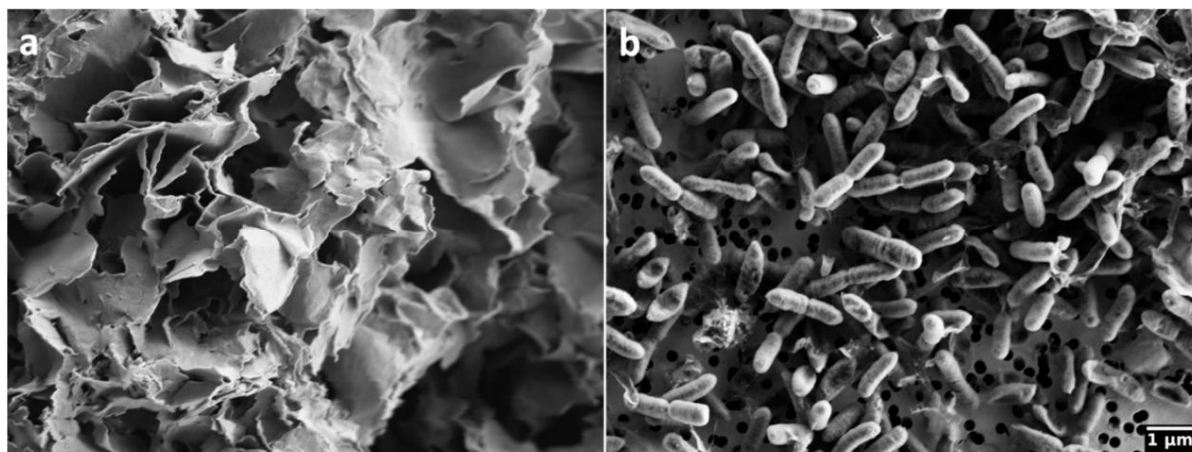


Рисунок 1. Изображения сканирующей электронной микроскопии (а) бентонита Вайоминга MX80; (б) Грамотрицательная факультативно-анаэробная бактерия *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7T.

2.2. Стенотрофомонас Бентонитика БИИ-Р7Т

Типовым штаммом, использованным в этом исследовании, был *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7T (DSM 103927). Он был получен из Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур GmbH (DSMZ, Брауншвейг, Германия). Чистоту штамма проверяли с помощью секвенирования гена 16S рНК.

Stenotrophomonas bentonitica BII-R7T (рис. 1b) первоначально была выделена из бентонитовых формаций на юге Испании (Кабо-де-Гата, Альмерия, Испания) [43]. Это факультативная анаэробная бактерия, которая способна расти при температуре от 15 до 37 °C, с оптимумом роста при 28 °C и оптимальным pH 7. Она также способна расти при концентрации NaCl до 5% [44].

Этот конкретный вид был выбран в качестве модельного организма для настоящего исследования бентонита MX-80, поскольку он встречается в природных бентонитовых образованиях, которые являются отличным и подходящим эталонным материалом для инженерных барьеров в DGR для хранения ядерных отходов. Помимо аэробного дыхания, *S. bentonitica* способна восстанавливать нитраты до нитритов, что указывает на возможность анаэробного роста [44]. Исходя из происхождения и образа жизни, мы предполагаем, что *S. bentonitica* обладает способностью активно расти в бентонитовых глинах и на них. Кроме того, было показано, что *S. bentonitica* BII-R7T влияет на химическое образование и подвижность

радионуклиды, такие как селенит (SeIV) и уран (UVI) [43,45], а также европий (EuIII) и кюрий (CmIII) [46].

2.3. Экспериментальные решения и среды роста

Перед экспериментами *S. bentonitica* инкубировали в стандартном питательном бульоне I, тогда как анализ чашечного подсчета проводили на стандартном питательном агаре I (Carl Roth GmbH, Карлсруэ, Германия).

Периодические эксперименты проводились в трех водных растворах различного состава, охватывающих диапазон солености (ионная сила 0–0,38 M): (i) вода MilliQ (H₂O), которая использовалась в качестве контрольного раствора и приводила к образованию поровой воды бентонита; (ii) 0,9% раствор NaCl (далее NaCl), который представляет собой физиологический раствор соли и имитирует пластовые воды в глинах или кристаллических породах, (iii) искусственную поровую воду опалиновой глины (далее OPW), которая представляет собой состав поровой воды глинистого пласта. Опалиновая глина в лаборатории Mont Terri Rock в Швейцарии (состоит из 212 mM NaCl, 26 mM CaCl₂, 14 mM Na₂SO₄, 1,6 mM KCl, 17 mM MgCl₂, 0,51 mM SrCl₂ и 0,47 mM NaHCO₃) [47,48]. Все растворы готовили в воде MilliQ, стерилизованной в автоклаве, и затем стерилизовали фильтрованием (0,2 мкм, мембранный фильтр Whatman, GE Healthcare Life Sciences, Чикаго, Иллинойс, США). Из-за загрязнения результаты, полученные с H₂O, были исключены из исследования. Эти (Результаты S1, S2) и другие дополнительные цифры можно изучить в дополнительных материалах, а исходные данные доступны в публикации данных GFZ [49].

В каждый из растворов добавляли ацетат в качестве источника углерода. Мы использовали концентрация ацетата 200 мкМ соответствует концентрации в поровой воде опалиновой глины, обнаруженной в горной лаборатории Монт-Терри [50]. Чтобы обеспечить источник азота, мы добавили NH₄Cl в конечной концентрации 2 г /л к набору периодических культур перед инокуляцией. Исходный раствор NH₄Cl готовили отдельно и стерилизовали фильтрованием.

2.3.1. Эксперименты с периодическим

раствором. Перед инокуляцией мезокосмов *S. bentonitica* выращивали в стандартном питательном бульоне I в течение 24 часов. Клетки собирали в фазе экспоненциального роста и промывали соответствующим раствором, использованным для эксперимента (3 промывки с использованием центрифугирования при 8000× g) за 10 мин). Плотность клеток определяли с помощью камеры Нойбауэра (глубина 0,005 мм) при увеличении 40. Микроскопию проводили с помощью микроскопа Leica DM2000 (Leica Camera AG, Вецлар, Германия).

Для каждого условия мы готовили один мезокосм с 3 г стерилизованного MX-80, который распределяли в водном растворе объемом 100 мл в культуральные колбы Эрленмейера емкостью 300 мл. Суспензии инокулировали промытыми бактериальными культурами при исходной плотности клеток 10⁵ клеток /мл. Отрицательные контроли не были инокулированы бактериальными клетками, а положительные контроли содержали бактериальные клетки, но не содержали бентонита MX-80. Мезокосмы инкубировались не менее 61 день при 28°C при непрерывном перемешивании со скоростью 50 об/мин.

2.3.2. Подсчет количества

чашек. Плотность клеток в периодических культурах контролировали в ходе эксперимента с помощью подсчета чашек. Ее выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на мл. По методике Miles et al. [51] мы разбавляли образцы суспензии с помощью серийных разведений (1:101–1:108) и наносили объем 20 мкл каждого разведения в трех экземплярах на чашки с агаром. Перед отбором проб осажденный бентонит ресуспендировали энергичным встряхиванием для получения гомогенной суспензии.

Чистоту *S. bentonitica* в мезокосмах регулярно оценивали с помощью визуального контроля морфологии колоний на чашках с агаром во время подсчета чашек. Таким образом, важные результаты по минералогическим свойствам в NaCl и OPW были получены на чистых культурах *S. bentonitica*.

2.3.3. Рентгеноструктурный анализ in situ

Через 2, 5, 15, 35 и 61 сутки инкубации отбирали образцы мезокосмов для рентгеноструктурного анализа (РФА) бентонита. Объем 150 мкл экспериментальной суспензии наносили на предметное стекло и сушили на воздухе при комнатной температуре в камере с ламинарным потоком в течение ночи. Предметное стекло устанавливали во влажной камере, прикрепленной к рентгеновскому дифракционному устройству PANalytical Empyrean с CuK α -излучением, автоматическими расходящимися и противорассеивающими щелями и детектором PIXe3D. Данные записывались от 2 до 50 °2тета посредством непрерывного сканирования с размером шага 0,00131 °2тета и временем сканирования 120 с на шаг для настроек генератора 40 кВ и 40 мА.

Чтобы оценить влияние влажности и температуры на набухание бентонита после взаимодействия с бактериями и растворами, мы использовали продуваемую газом камеру влажности («CHC plus» Cryo & Humidity camera, Anton Paar GmbH, Токио, Япония), прикрепленную к рентгеновский прибор. Реакционная камера была оборудована терморегулятором «ТЦУ 110», предназначенным для регулирования температуры непосредственно на держателе проб. Контролируемый расход газа и регулируемая влажность достигались с помощью датчика температуры/влажности, размещенного внутри камеры. Рентгеноструктурный анализ проводился при различных температурах (27°C, 55°C, 80°C) и относительной влажности (относительная влажность = 0, 50, 80%).

Когда держатель образца устанавливался на столик, камеру закрывали и продували сухим газом при определенной температуре до тех пор, пока относительная влажность не поддерживалась на постоянном уровне около 2 ($\pm 0,5$) % относительной влажности. Все рентгеновские измерения проводились в этих условиях.

2.3.4. Промывка бентонита

Чтобы проверить, приводит ли удаление соленых растворов к восстановлению способности к набуханию, бентонит MX-80 обрабатывали следующим образом: 2 мл периодических культур с бактериями и без них в NaCl и OPW центрифугировали при 10300 $\times$ g в течение 5 мин. Супернатант отбрасывали и добавляли 2 мл MilliQ. Глинистый осадок ресуспендировали при энергичном встряхивании в течение 5–10 минут и снова центрифугировали. Процедуру повторили трижды. Наконец, 150 мкл ресуспендированных образцов глины помещали на предметное стекло и анализировали с помощью XRD.

2.3.5. Ионно-хроматографический анализ (концентрация ацетата)

Концентрацию ацетата во всех мезокосмах по сравнению с исходной концентрацией определяли через 29 дней инкубации. Аликвоту объемом 2 мл осаждали при 17000 $\times$ g в течение 5 мин. Супернатант фильтровали через шприцевые фильтры Minisart® (0,22 мкм полиэфирсульфон, Sartorius, Геттинген, Германия) и концентрацию ацетата определяли с помощью ионной хроматографии (ICS 3000 Ion Chromatography System, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США), используя Картридж Dionex™ OnGuard™ II AG/H (EMD Millipore, Биллерика, Массачусетс, США) для удаления хлоридов, колонка As11-HC (предколонка Ag11-HC) и детектор проводимости. Элюент представлял собой градиентный раствор KOH. Скорость потока была установлена на уровне 0,38 мл /мин. Температура термостата колонки составляла 15 °C, и в поток элюента вводили 10 мкл образца.

2.3.6. Электронно-микроскопический

анализ. СЭМ-изображения выполняли с помощью автоэмиссионного сканирующего электронного микроскопа Zeiss Merlin VP Compact (Carl Zeiss Micrography, Оберкохен, Германия) в UFZ Leipzig. Чтобы обеспечить достаточную поверхностную чувствительность и в то же время достичь латерального разрешения лучше 5 нм, напряжение ускорения электронов было установлено равным 2 кВ и апертуре 30 мкм. Результирующий ток пучка составил около 250 пА. Изображения были получены в режиме регистрации вторичных электронов с помощью детектора типа Эверхарда-Торнли. Чтобы улучшить соотношение сигнал/шум в 10 раз, для сбора данных использовалось усреднение линий.

2.3.7. Химический анализ ICP-OES. Чтобы

проанализировать элементный состав глины, а также жидкостей, после 7, 15, 35 и 61 дня инкубации аликвоту по 5 мл каждого экспериментального раствора, содержащего бентонит, центрифугировали при 20 000×. г в течение 15 мин. Супернатант фильтровали через шприцевые фильтры Minisart® (0,22 мкм, полиэфирсульфоновый фильтр, Sartorius, Геттинген, Германия) для получения 2–3 мл раствора. Бентонитовую таблетку сушили при температуре 50°C в течение нескольких дней. Основной элементный состав анализировали с помощью оптико-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-OES) на приборе Agilent 5110 ICP-OES (Санта-Клара, Калифорния, США). Аналитическая точность и воспроизводимость обычно превышают 2 % и регулярно проверяются с использованием сертифицированных эталонных материалов и внутренних стандартов.

pH жидкостей анализировали в двух или трех повторях с помощью карманного счетчика LAQUAtwin pH-11 (Horiba Scientific, Пискатауэй, Нью-Джерси, США).

2.4. Статистика

Для статистического анализа рентгенограмм мы использовали измеренные значения интенсивности при значениях d в диапазоне от 0 до $11^\circ 2\theta$, охватывающих диапазон пика монтмориллонита в 001. Анализы проводили с помощью программного обеспечения Past 4.01 [52]. Анализ канонического соответствия (ССА) использовали для оценки изменений пиковой интенсивности и значений d , вызванных временем инкубации, ионной силой раствора, относительной влажностью и температурой. Эти факторы, а также количество бактерий были включены в график ординации. Триплоты, показанные в ССА, имели тип масштабирования 0,5. Факторы, способствующие изменению интенсивности и местоположения пика, определяли с помощью тестов Мантеля. Перед тестированием факторы были стандартизированы с использованием преобразования z -показателя. Влияние бактерий на способность к набуханию, т.е. интенсивность пика смектита и расстояние между d , оценивали с использованием пермутационного подхода многомерного дисперсионного анализа (PerMANOVA).

Ионную силу каждого экспериментального раствора рассчитывали в зависимости от состава и концентрации добавок до контакта с бентонитом. Мы количественно оценили молярную ионную силу I , которая является функцией концентрации всех ионов, присутствующих в растворе, применив следующую формулу [53]:

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2$$

где c_i — молярная концентрация иона i (в М, моль/л), а z_i — заряд этого иона.

3. Результаты

3.1. Рост бактерий с помощью бентонита

Численность клеток *S. bentonificans* в мезокосмах определяли в течение 63 дней. В растворе NaCl с бентонитом MX-80 количество КОЕ медленно, но неуклонно снижалось с 8×10^4 мл⁻¹ до 1 в течение 55 дней (рис. 2а). Напротив, количество КОЕ в NaCl без бентонита MX-80 быстро уменьшалось с почти 104 КОЕ / мл после инокуляции до 0 через 2 дня инкубации.

Как и в случае с NaCl, количество КОЕ в ОПВ с бентонитом MX-80 стабильно снижалось со 105 до 0 в течение 55 дней (рис. 2б). В отличие от мезокосмов NaCl без MX-80, КОЕ в ОПВ без MX-80 первоначально снижалось в течение 5 дней до уровня ниже 103 КОЕ мл⁻¹, но снова увеличивалось до 104 мл⁻¹ через 9 дней. Численность КОЕ оставалась более или менее стабильной на уровне 104 мл⁻¹ до 26 дней инкубации. За этим последовало снижение до 0 через 54 дня, аналогично ОПВ с MX-80.

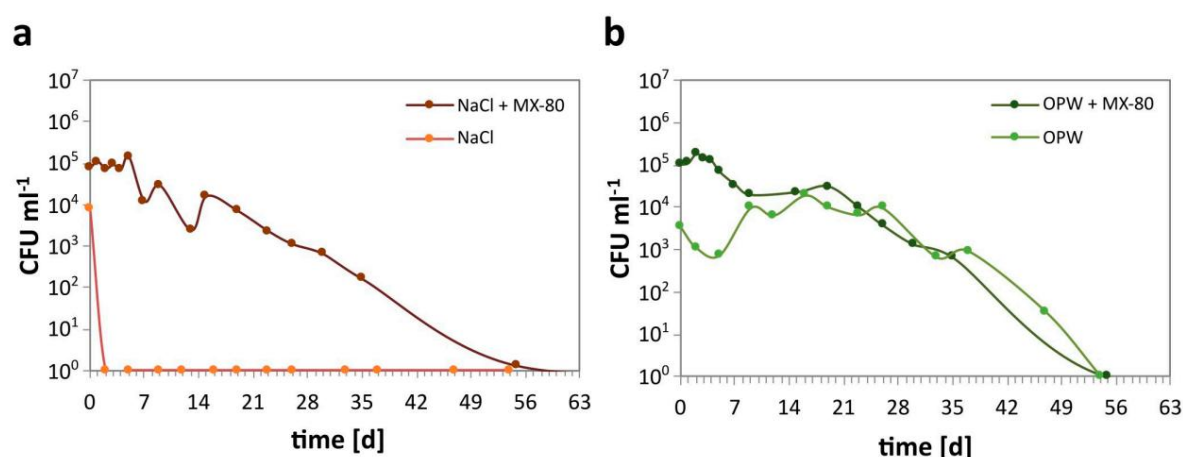


Рисунок 2. Рост *S. bentonitica*, определенный в КОЕ мл⁻¹, в растворах различного состава с MX-80 (+MX-80) и без добавления бентонита MX-80. (а) содержание КОЕ в NaCl; (б) Численность КОЕ в OPW.

3.1.1. Способность бентонита MX-80 к набуханию с/без *S. bentonitica*

Чтобы выяснить, влияет ли присутствие *S. bentonitica* на способность к набуханию бентонита MX-80, материал, диспергированный в водных растворах, анализировали с помощью камеры влажности/температуры, подключенной к XRD. Несмотря на присутствие *S. bentonitica* в течение 54 дней в NaCl и OPW существенных различий в положении пиков, обусловленных поступлением водного раствора в межслоевые листы, не наблюдалось (рис. 3). Фактически, с наличием бактерий и без него значения d пиков монтмориллонита d_{001} хорошо коррелировали, и при всех исследованных температурах и влажности положения пиков d_{001} показали аналогичный сдвиг в присутствии *S. bentonitica* по сравнению с отсутствием бактерий. бентонит (таблица S1). Появление *S. bentonitica* не оказало существенного влияния на поведение набухания при всех различных температурах и влажности через 61 день во всех растворах, что подтверждается парной перестановкой MANOVA (таб

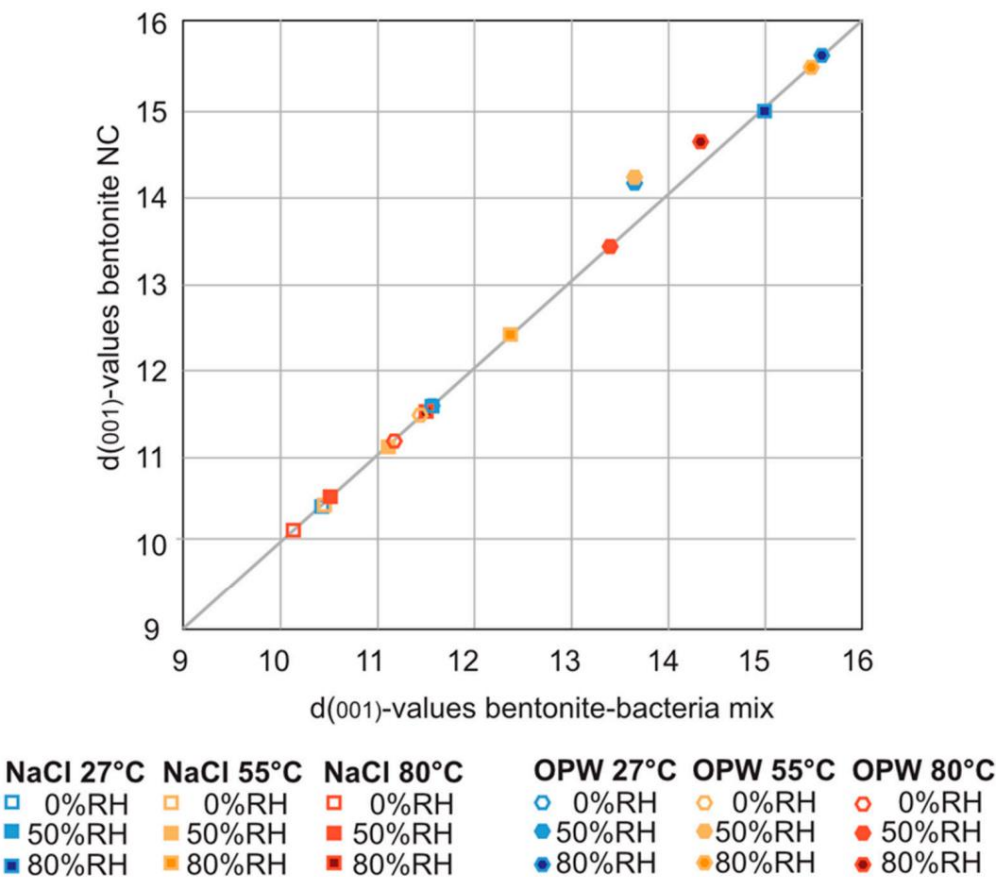


Рисунок 3. Кривая корреляции значений d(001) монтмориллонита с (ось x) и без бактерий (ось y) в растворах NaCl и OPW при различных температурах и влажности (см. также Таблицу S1).

3.1.2. Изменение температуры, влажности и солености in situ в присутствии *S. bentonitica*

Чтобы ограничить диапазон температур и влажности хранилища ВАО, мы сосредоточили внимание на способности бентонита MX-80 к набуханию при относительной влажности 0, 50 и 80%, а также при 27 °C, 55 °C и 80 °C (рис. 4).). Это важно, поскольку при температуре 80 °C и выше могут происходить минеральные превращения, приводящие к потере набухающей и сорбционной способности [54–57]. В зависимости от концепции DGR и моделирования, 80 °C находится в нижнем диапазоне максимальных температур, которые можно ожидать вблизи контейнера с отработавшим топливом [7,8,58].

Влияние солености на способность бентонита к набуханию оценивали путем диспергирования бентонита MX-80 в растворах различной ионной силы. Рассчитанная ионная сила растворов I была ниже в растворе NaCl (I = 0,1542) и выше в OPW (I = 0,3868, таблица S3). Изменения d-расстояния монтмориллонита в бентоните исследовали после 2, 35 и 61 дня воздействия соответствующего раствора. При инкубации бентонита с *S. bentonitica* в NaCl (рис. 4a–d) и OPW (рис. 4e–h) в течение 61 дня интенсивность пика 001 резко снижалась в соленых растворах с течением времени (рис. S2 и, следовательно, пик сдвига было трудно оценить. Хотя пик монтмориллонита 001 отсутствовал в растворе OPW, в NaCl интенсивность снижалась через 2 дня и далее уменьшалась со временем инкубации в NaCl (рис. S2; рис. 4a,b,e,f). Поэтому, чтобы проанализировать способность к набуханию после контакта с солеными растворами, бентонит промывали водой и анализировали снова (рис. 4c,d,g,h).

Образцы, насыщенные NaCl, при 27 °C показали сдвиг значения d001 от 10,2 Å (8,7 °2тета) при относительной влажности 0% до 15,0 Å (5,9 °2тета) при относительной влажности 80% (около 15 мас.% воды; рисунок 4с).). При 80 °C был обнаружен сдвиг от 10 Å (8,8 °2тета) при относительной влажности 0% до 12,0 Å (7,35 °2тета) при относительной влажности 80% (около 7 мас.% воды; рисунок 4d). Это отражает потерю межслоевой воды минимум до 9% масс. После инкубации бентонита в ОПВ в течение 61 дня поступление воды в смектит

прослойка было меньше по сравнению с NaCl (рис. 4 ж, з). При 27 °C значение d001 изменилось с 10,2 Å (8,7 °2тета) при относительной влажности 0% до 13,2 Å (6,7 °2тета) при относительной влажности 80% (около 10 мас.% воды; рисунок 4г). При 80 °C сдвиг значения d варьировался от d001 10,0 Å при относительной влажности 0% до 12,4 Å (7,25 °2тета) при 80% относительной влажности (около 8,7 мас.% воды; рисунок 4и).

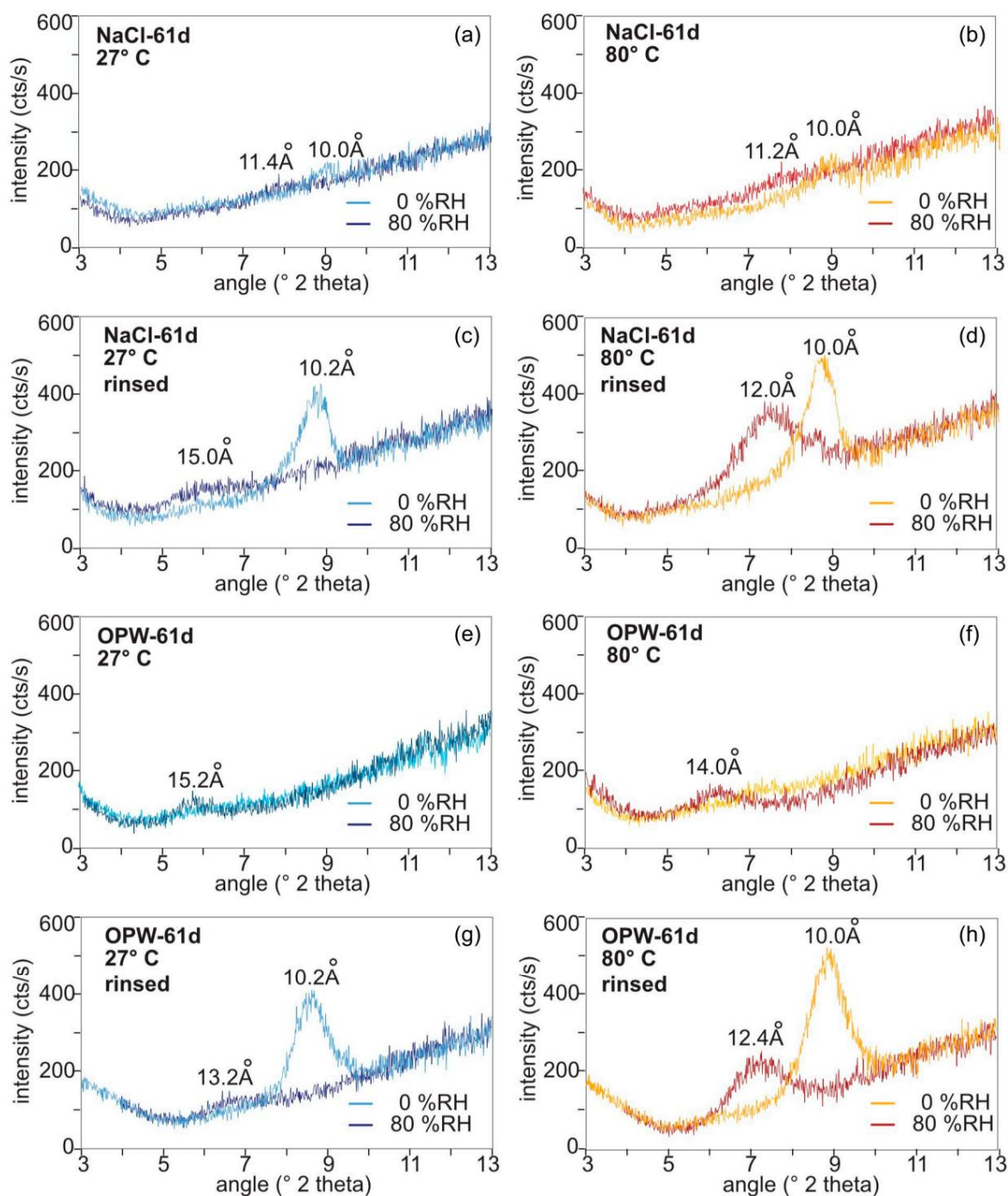


Рисунок 4. Рентгеновские спектры MX-80 после 61 дня воздействия *S. bentonifica* в NaCl и OPW, определенные при 27 °C (левая панель) и 80 °C (правая панель) при относительной влажности 0% и 80%. (а, б) в NaCl, (в, г) после смыва раствора NaCl, (д, е) в OPW, (ж, з) после смыва раствора OPW.

Чтобы проанализировать многомерное влияние ионной силы (солености), времени, влажности и температуры на поведение набухания MX-80, были получены дифрактограммы.

визуализируется в рукоположении ОСА (рис. 5). Вместе обе оси ССА объяснили более 88% дисперсии точек выборки, представляющих собой отдельные дифрактограммы (значения d в диапазоне от 2 до $11^{\circ} 2$ тета). Длина векторов указывает на то, что время и температура оказали наибольшее влияние на дисперсию по оси X и, следовательно, наибольшее влияние в целом, поскольку ось X объясняет >62% вариаций. Ионная сила и влажность объясняют >25% отклонений по оси у.

Ионная сила была ответственна за разделение образцов NaCl и OPW вдоль оси у, тогда как влажность вызвала различия внутри каждого кластера образцов. Кластеры образцов NaCl с более низкой ионной силой были расположены в левом нижнем углу графика, а кластеры образцов OPW с повышенной ионной силой были расположены в верхней правой части графика. Разделенные по времени кластеры выборок вдоль оси X и увеличение времени привели к смещению кластеров выборок в правую часть графика. Температура вызвала дисперсию образцов внутри каждого кластера образцов вдоль оси х.

В соответствии с увеличением ионной силы и времени пребывания MX-80 в соответствующем растворе дисперсия внутри кластера вдоль оси у уменьшалась по мере уменьшения интенсивности пиков монтмориллонита.

По данным теста Мантеля, факторы ионной силы, времени, температуры и влажности в целом достоверно коррелировали с дифрактограммами ($p = 0,0001$, $R = 0,48$). Тесты Мантеля с отдельными факторами показали, что время ($p = 0,0001$), ионная сила ($p = 0,0015$) и температура ($p = 0,0130$) значительно коррелируют, при этом время оказывает наибольшее влияние ($R = 0,65$) на дифрактограммы MX-80. бентонита, включая сдвиг и высоту пика (таблица S4). Согласно дифрактограммам (рис. S2), уменьшение дисперсии кластеров вдоль оси у, наблюдаемое в ССА, можно объяснить, как правило, более низкой интенсивностью и меньшими сдвигами пика монтмориллонита. Уменьшение интенсивности пиков и d -расстояний было вызвано временем нахождения бентонита в растворе. Внутри отдельных кластеров дисперсия, т. е. способность к набуханию в определенный момент времени, в основном объяснялась температурой по оси х и влажностью по оси у, хотя в целом влажность не оказывала существенного влияния на дифрактограммы.

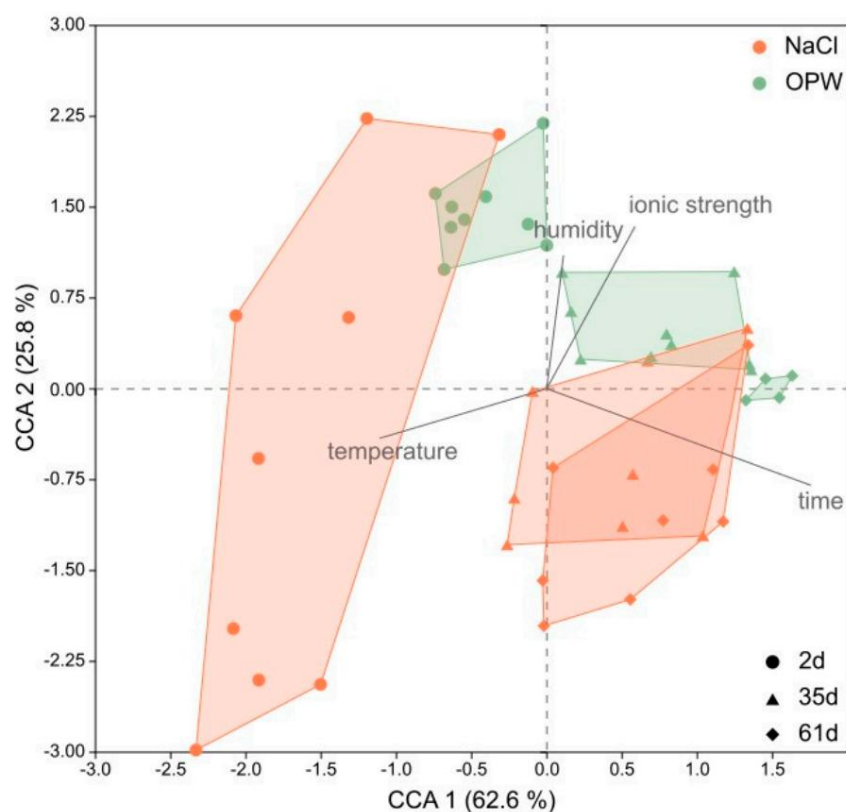


Рисунок 5. Анализ канонического соответствия (CCA) рентгеновских спектров бентонита MX-80. Каждый кластер представляет собой один образец, проанализированный при различных температурах (27, 55, 80 °C) и относительной влажности (0, 50, 80%). Точки представляют образцы через 2 дня, треугольники — через 35 дней и ромбы — через 61 день инкубации в каждом растворе (коричневый = NaCl, зеленый = OPW).

4. Дискуссия

Настоящее исследование направлено на изучение микробного, а также термогидрогеохимического воздействия на способность к набуханию бентонита MX-80 и, следовательно, на целостность бентонита как буферного материала в DGR.

4.1. Влияние бентонита и состава раствора на рост *S. bentonitica*

В этом исследовании *S. bentonitica* использовалась в качестве модельного организма бентонитовой микробной популяции. Его выращивали при оптимальной температуре роста 28 °C в азрированных мезокосмах, содержащих бентонит MX-80 и жидкости различной ионной силы (солености), но с концентрацией NaCl значительно ниже максимальной, при которой этот организм способен расти [44]. . Фактически, ни один вид не смог выжить в контрольных условиях без MX-80 в растворах NaCl. Медленное снижение количества клеток в NaCl и OPW в присутствии MX-80, а также в OPW без MX-80 указывает на то, что *S. bentonitica*, возможно, получала пользу от питательных веществ металлов или катионов, которые обеспечивались минералами MX-80 и компонентами раствора. ОПВ. Металлические питательные вещества и катионы, которые может содержать бентонит MX-80, включают Si, Al, Ti, Fe, Mg, Ca, Na, K, P и S [41,42], в то время как ионы металлов, которые обеспечивает OPW, включают Na, Ca, K, Mg и Sr. Учитывая, что *S. bentonitica* сразу погиб в растворе NaCl, предполагается, что Na не оказывает положительного эффекта, оставляя Ca, K и/или Mg в качестве питательных веществ (металлов), которые могли помочь *S. bentonitica* в OPW и на MX-80. Ca, K и Mg относятся к межслоевым катионам глинистых минералов, которые легче всего высвобождаются путем катионного обмена [37]. Хотя только Na и Ca являются типичными межслоевыми катионами бентонита MX-80, K и Mg также присутствовали в каждом из растворов с увеличением концентрации в ходе эксперимента (рисунок S3). Некоторые катионы, такие как Zn и Mg, универсально необходимы для жизни и незаменимы почти для всех аспектов метаболизма [59,60]. Таким образом, недостаток Mg в NaCl без MX-80 предположительно вызывал немедленную гибель *S. bentonitica*, тогда как его присутствие в OPW и с MX-80 могло способствовать выживанию *S. bentonitica*.

Однако *S. bentonitica* не могла расти в течение длительных периодов времени в NaCl или OPW с MX-80. Недостаток макроэлементов, таких как азот (N), в этом эксперименте мог быть фактором, ограничивающим рост. N является одним из основных элементов, необходимых для производства аминокислот и нуклеиновых кислот [61]. Хотя N в форме нитрата можно использовать в качестве дополнительного акцептора электронов, если кислород недоступен, аммиак/аммоний является важным питательным веществом и источником энергии [62]. В DGR введение соединений N во время строительства может иметь серьезные последствия для долгосрочной безопасности хранящихся ядерных отходов, поскольку аммоний или нитрат могут увеличить микробную активность. Некоторые минералы, такие как иллит, могут обеспечивать азот в форме аммония [63]. Однако иллит не является основным минералом в бентоните MX-80 [41,42], и, таким образом, недостаток N мог быть причиной окончательной гибели *S. bentonitica* в этом эксперименте. Однако добавление NH₄Cl в мезокосмы не дало никакого положительного эффекта (рис. S5).

Известно, что глинистые минералы адсорбируют органические вещества посредством различных взаимодействий, что может снизить их доступность для микроорганизмов [37,64,65]. Однако низкомолекулярные соединения, такие как ацетат, добавленный в мезокосм в качестве источника углерода, возможно, не были подвержены адсорбции, поскольку адсорбируются преимущественно органические вещества с высокой молекулярной массой [66]. Поскольку содержание ацетата в мезокосмах определялось во флюидной фазе, он предположительно был доступен для микробного распада. Тем не менее, поскольку адсорбция связана с ионной силой окружающего раствора и pH [67–69], низкий pH в NaCl и OPW (7,5–8,5; рисунок S8) мог препятствовать доступности ацетата в этих растворах. В целом, определенные значения pH находятся в диапазоне pH, в котором *S. bentonitica* способна расти [44], и поэтому не считаются

ограничивающие факторы. Более низкие значения pH NaCl и OPW весьма благоприятны для *S. bentonitica*, поскольку нейтральный pH оптимален для его роста [44].

В целом отсутствие роста только *S. bentonitica* указывало на то, что условия инкубации были неблагоприятными. Хотя *S. bentonitica* способна расти аэробно в условиях, богатых питательными веществами, перемешивание и аэрация мезокосмов, по-видимому, невыгодны в условиях ограниченности питательных веществ. Для сравнения, в предварительных культурах, которые использовались для инокуляции мезокосмов, ацетат истощался через 4 недели (рис. S6), а *S. bentonitica* росла со 108 или 109 клеток /мл до примерно 1011 клеток /мл в течение 8 недель (Рисунок S7). Предварительные культуры хранились без перемешивания, и образцы отбирались через большие интервалы, чем из мезокосмов, создавая микроаэрофильные условия. *S. bentonitica* способна к анаэробному дыханию за счет восстановления нитратов [44]. Денитрифицирующие бактерии преимущественно гетеротрофны и часто факультативно анаэробны со способностью переключаться между кислородным и нитратным дыханием в зависимости от условий окружающей среды [70]. Более того, способность близкородственных видов, таких как *S. ravanii* и *S. maltophilia*, фиксировать азот [71,72] предполагает, что *S. bentonitica* может обладать такой же способностью.

Таким образом, результаты показывают, что, несмотря на наличие источника углерода и азота и даже несмотря на то, что MX-80 поддерживает выживание микроорганизмов, потенциально обеспечивая металлические питательные вещества, *S. bentonitica* сама по себе и в аэрированных условиях не способна расти на MX-80 бентонит в умеренно солевых растворах.

4.2. Влияние *S. bentonitica* на набухание MX-80. Как следствие,

сходные рентгенограммы бентонита, инкубированного с *S. bentonitica* и без него (рис. 3), убедительно указывают на то, что эта бактерия не изменяет монтмориллонит и не влияет на способность бентонита к набуханию. Это подчеркивается отсутствием существенных изменений в элементном составе глины и флюида (рисунки S3 и S4). Подобно нашему наблюдению, Perdrial et al. [42] наблюдали снижение роста бактерий *S. putrefaciens* и отсутствие химических изменений в бентоните MX-80 и связывали это с избытком одновалентного катиона Na⁺ в Na-монтмориллоните. Хотя двухвалентные катионы, такие как Ca²⁺, могут

облегчать адгезию бактерий и улучшают доступ к питательным веществам на поверхности минерала, моновалентные катионы уменьшают мостиковый эффект между отрицательно заряженными частицами глины и отрицательно заряженными бактериями [73]. Это подтверждается тем фактом, что мы не смогли наблюдать прикрепление или взаимодействие клеток *S. bentonitica* с бентонитом MX-80 с помощью электронной микроскопии (рис. 1). Хотя *S. bentonitica* известна способностью образовывать биопленки [46,74], в данном исследовании мы не обнаружили доказательств существования биопленок на поверхности бентонита MX-80 в данных условиях. Помимо избытка Na⁺, доступ бактерий к минеральным частицам может быть ограничен за счет осмотического набухания Na-монтмориллонита. Свободное перемещение и выживание бактерий может быть существенно ингибировано гидратацией Na и образованием диффузного двойного слоя, что приводит к образованию геля [73,75,76]. Такой гель мы наблюдали преимущественно в мезокосме NaCl с бентонитом MX-80.

Хотя нам не удалось наблюдать влияние *S. bentonitica* на характеристики бентонитовой глины MX-80, этот вид микробов как часть сложного сообщества или в различных условиях естественной среды может вести себя иначе, чем отдельный вид в лабораторных условиях [77]. Недавние исследования показали, что глины населены разнообразными микробными сообществами [27,78,79]. Истощение кислорода через несколько недель после закрытия ДГР неизбежно изменит обменные и дыхательные процессы этого организма.

Таким образом, нельзя исключить, что *S. bentonitica* способна влиять на способность к набуханию бентонита MX-80 в условиях, отличных от протестированных в данной работе.

4.3. Влияние гидрогеохимических параметров на набухание бентонита MX-80 4.3.1.

Способность бентонита к набуханию

Помимо возможного микробного воздействия на способность к набуханию бентонита MX-80, мы исследовали влияние изменения термогидрогеохимических условий.

например, повышение температуры и влажности после контакта с различными растворами. Известно, что способность бентонита к набуханию снижается с увеличением ионной силы окружающих растворов [22,80–87]. Такие солевые растворы вызывают увеличение концентрации электролита внутри поровой жидкости и вблизи поверхности частиц глины, уменьшая толщину двойного слоя и потенциал набухания [82]. После контакта с растворами различной ионной силы мы обнаружили, что повышенная ионная сила, например, в растворах NaCl и OPW, ухудшает способность бентонита набухать. Это выразилось в уменьшении смещения пика монтмориллонита с увеличением влажности, а также в уменьшении дисперсии кластеров образцов вдоль оси u OCA (рис. 5). Поскольку перед рентгенографическим анализом испарялась только вода из соответствующих растворов, химические компоненты все еще присутствовали и определенно влияли на поведение набухания. Как следствие, предполагается, что контакт бентонита с солеными поровыми водами, такими как поровая вода опалиновой глины, в DGR с опалиновой глиной в качестве вмещающей породы все еще ухудшает набухание монтмориллонита, даже если раствор, возможно, уже испарился.

Чем дольше бентонит находился в контакте с избыточными объемами раствора, тем сильнее было уменьшение набухания (рис. 5, рис. S2). Увеличение концентрации преимущественно Na, Ca и Mg с течением времени во всех трех растворах (рис. S3) указывает на то, что эти типичные межслоевые катионы [88] были выщелочены из монтмориллонита. Однако они также могут возникать в результате растворения других акцессорных минералов, таких как Ca из кальцита или K из полевых шпатов. Увеличение концентрации элементов в растворах может привести к увеличению концентрации электролита вокруг частиц глины и тем самым к уменьшению толщины двойных слоев. Это соответствует исследованию Herbert et al. [22], которые показали, что обменный Na, сумма обменных катионов и общая катионообменная емкость (ЕКО) уменьшаются со временем реакции в растворе. Более высокие концентрации противоионов между квазикристаллами уменьшают объем агрегатов и, следовательно, способность к набуханию монтмориллонита.

Способность монтмориллонита включать в прослойку (КЭК) различные катионы обусловлена изоморфным замещением катионов в октаэдрических листах [89]. Это приводит к развитию суммарного отрицательного заряда силикатных слоев. Сметиты известны своим нерегулярным изоморфным замещением катионов как в октаэдрических, так и в тетраэдрических листах. Последующая большая изменчивость зарядов отрицательного слоя является произвольной и уравнивается межслоевыми катионами, доступными из окружающей среды [15].

Замещения в тетра- и октаэдрических листах катионами меньшей валентности увеличивают заряд слоя, который преимущественно уравнивается межслоевыми катионами с более высокой валентностью. В случае катионов одинаковой валентности предпочтение отдается катионам с более высоким атомным номером [76]. Включение двухвалентных катионов, таких как Ca^{2+} , приводит к более низкому потенциалу набухания вследствие ион-ионных корреляций [90,91]. Считается, что среди всех других катионов особую роль в контакте со сметитами играет K^+ . Считается, что даже следы ионов K^+ , которые можно наблюдать при концентрациях ~20 и ~100 мг / л в NaCl и OPW (рис. S3) соответственно, вызывают минеральную трансформацию, которая может вызвать коллапс межслоевого пространства (например, [11,92,93] и ухудшают характеристики бентонита. Кауфхольд и Дорманн (2010) [38] сообщили, что потеря набухания и поглощения воды из-за K^+ связана не с иллитизацией, а скорее с ненабухающим разрушением K^+ сметита. Несмотря на то, что соленость (ионная сила) раствора влияет на набухание (давление) больше, чем тип основного катиона в обмене [22], как ионная сила раствора, так и состав раствора являются факторами, контролирующими способность к набуханию. Таким образом, помимо нескольких более высокой ионной силы OPW по сравнению с раствором NaCl, наличие K^+ .

и/или присутствие двухвалентных катионов, таких как Ca^{2+} и Mg^{2+} , может быть причиной более сильного снижения способности MX-80 к набуханию в OPW, чем в растворе NaCl. Это подтверждается исследованием Герберта (2008) [22], который обнаружил, что давление набухания бентонита уменьшается с увеличением солености раствора. Они описали небольшое снижение давления набухания в поровой воде опалиновой глины с минимумом после одного или двух лет пребывания в растворе.

4.3.2. Сниженная пиковая интенсивность

Сильно сниженная интенсивность дифракционного пика, наблюдаемая в образцах OPW, затрудняла оценку смещения пиков и, следовательно, способности набухания монтмориллонита в OPW. Пиковая интенсивность была снижена не только в OPW, но и в NaCl в конце эксперимента (рисунок S2). Снижение коррелировало как со временем, в течение которого бентонит оставался в растворе, так и с ионной силой раствора. Степень влияния обоих факторов на снижение пиковой интенсивности была сделана на основе ССА (рис. 5). Сдвиги кластеров образца, отражающие уменьшение интенсивности пика, коррелируют в основном со временем и в меньшей степени с ионной силой.

Интенсивность дифракционного пика определяется множеством факторов. Оно может зависеть от распределения атомов в кристаллической структуре и, следовательно, связано как с кристаллической структурой, так и с атомным составом. Однако Хофманн (2003) [15] не обнаружил признаков изменений кристаллической структуры глин, вызванных заменами центральных катионов в тетраэдрических или октаэдрических слоях в солевых растворах (NaCl, KCl, Q-раствор).

Следовательно, мы предполагаем, что это также не является причиной снижения интенсивности пика MX-80 в растворах NaCl и OPW. Скорее всего, при изменении состава растворов происходил обмен только слабосвязанных межслоевых катионов. Помимо нескольких других факторов, таких как поляризация, коэффициент кратности, фактор Лоренца и коэффициент поглощения, кристаллическая природа может влиять на интенсивность рассеянного луча. Если кристаллическая природа (количество плоскостей, ориентированных в определенном направлении) увеличивается, интенсивность увеличивается.

Следовательно, наблюдаемое снижение интенсивности рентгеноструктурного анализа может быть связано с изменением валентности катионов в растворе, а также заряд слоя смектитов могут влиять на образование агрегатов. Двухвалентные катионы в растворе могут соединять отрицательно заряженные слои и края, образуя так называемую структуру «ступенька-карточный домик» [94].

Бауэр и др. [24] связывают уменьшение интенсивности пика смектита Сеса (почти чистого монтмориллонита) в кислых солевых растворах (NaCl и KCl) с увеличением блочной морфологии. Они предположили, что плоские хлопья смектита не могут образовывать на предметном стекле псевдокристалл с высококогерентной дифрагирующей областью. Был сделан вывод, что возрастающий беспорядок в расположении частиц является причиной уменьшения интенсивности XRD в зависимости от времени. Кроме того, Bauer и Velde (1999) [13] наблюдали изменение размера дифрагирующей области смектита при контакте с раствором KOH, которое уменьшалось со временем. Они связали это наблюдение с изменением формы кристалла. Таким образом, набухание чувствительно не только к количеству ненабухающих разрушенных слоев K⁺ смектита или наличию двухвалентных катионов, но и к расположению слоев смектита. Это подтверждается нашим наблюдением увеличения интенсивности пика после промывки образцов чистой водой. Это позволяет предположить, что изменения морфологии могут быть восстановлены после удаления катионов.

Как следствие, уменьшенное набухание бентонита и изменения в морфологии могут снизить целостность бентонита как технического барьера в DGR и могут облегчить микроорганизмам лучший доступ к минеральным частицам, а также сделать возможным изменение или миграцию минералов. Это применимо, по крайней мере, к неуплотненному бентониту, обнаруженному в менее плотно упакованных межфазных средах и областях нарушений, таких как трещины и разломы. Именно здесь и может произойти проникновение жидкости.

4.3.3. Влияние температуры

Помимо ионной силы раствора и времени пребывания бентонита в этом растворе, можно показать, что температура немного снижает способность к набуханию (рис. 4). Однако время эксперимента было ограничено. Возможно, что влияние высокой температуры (>80 °C) окажет более существенное влияние на снижение способности к набуханию при более длительном времени воздействия. Со времени первых публикаций Хофмана и Клемена [9], Грина-Келли [10] и Вайса и Коха [11] было общепризнано, что при высоких температурах небольшие катионы, такие как Li⁺, могут мигрировать через тетраэдрический слой в октаэдрический слой, где они могут нейтрализовать заряд слоя. Этот процесс приводит к

снижению ЦИК, а следовательно, и к уменьшению катионов, которые могут гидратироваться и вызывать набухание. Дегидратация прослойки начинается при температурах 70–109 °C [95], а полная потеря межкристаллитного набухания происходит при температурах выше 105–125 °C [9]. Однако до температуры 80 °C обычно сохраняются такие свойства, как низкая проницаемость, способность удерживать воду и способность к самовосстановлению [96].

5. Выводы

Безопасность системы DGR хорошо изучена с геологической, химической и физической точки зрения, но очень немногие исследования изучали совокупное влияние изменения термо-гидро-геохимических условий и микробных процессов на безопасность этого варианта захоронения. Междисциплинарный подход этого исследования был направлен на оценку риска трансформации и изменения минералов бентонитовой глины, связанного с микробной активностью, изменением состава поровой жидкости и повышением температуры.

В исследовании отмечено, что бентонит в разной степени подвержен влиянию термогидрогеохимических и микробных процессов. Мы показываем, что ионная сила проникающего раствора и состав раствора являются факторами, контролирующими набухание бентонита MX-80. Набухание неуплотненной бентонитовой глины резко снижается после воздействия умеренно соленых поровых растворов, и этот эффект увеличивается с увеличением времени воздействия. В частности, зоны нарушения, где встречается неуплотненный бентонит и вероятно проникновение воды, представляют собой угрозу безопасности для целостности окончательного хранилища. Кроме того, мы показываем, что активность модельного организма *S. bentonitica* в тестируемых условиях не влияет существенно на способность к набуханию и не изменяет глинистые минералы.

Необходима дальнейшая работа, чтобы выяснить, применимо ли это также к уплотненному бентониту и могут ли другие виды микробов или более сложные сообщества в условиях хранилища потенциально изменять глинистые минералы и влиять на набухание.

Дополнительные материалы: Следующую вспомогательную информацию можно скачать по адресу: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/applmicrobiol4030074/s1>, Результат S1: Рост бактерий с бентонитом в H₂O; Результат S2: Набухание бентонита в H₂O; Рисунок S1: Рентгеновские спектры бентонита MX-80 до и после стерилизации электронным лучом; Рисунок S2: Рентгеновские спектры MX-80 после 2, 35 и 61 дня инкубации в растворах H₂O, NaCl или OPW и после промывки сверхчистой водой; Рисунок S3: Элементный состав растворов H₂O, NaCl и OPW, определенный после 7, 35 и 61 дня контакта с бентонитом MX-80; Рисунок S4: Элементный состав бентонита MX-80 через 7, 35 и 61 день в H₂O, NaCl и OPW; Рисунок S5: Рост *S. bentonitica*

определяют как КОЕ мл⁻¹ в различных растворах с добавкой бентонита MX-80 и без нее.

Во все культуры добавляли NH₄Cl в качестве дополнительного источника азота; Рисунок S6: Концентрации ацетата H₂O, NaCl и OPW, определенные через 4 недели в исходных растворах, использованных для периодических экспериментов, в контроле, содержащем MX-80, но без *S. bentonitica* (+MX-80), в использованных предварительных культурах, для инокуляции мезокосмов (+Sb) и экспериментальных мезокосмов, содержащих *S. bentonitica* и бентонит MX-80 (+Sb + MX-80); Рисунок S7: Рост *S. bentonitica*, определенный как КОЕ мл⁻¹, в различных растворах без бентонита MX-80, инкубированных при комнатной температуре, без перемешивания и аэрации; Рисунок S8: pH стерильных отфильтрованных исходных растворов, использованных для мезокосмов, предварительных культур, которые не перемешивались, мезокосмов, содержащих MX-80, и мезокосмов, содержащих *S. bentonitica* и MX-80, через 69 дней; Таблица S1: значения d001 монтмориллонита после воздействия растворов NaCl и OPW в присутствии или в отсутствие бактерий, определенные при различных температурах и относительной влажности. Таблица S2: Попарный PerMANOVA, используемый для анализа разницы в рентгеновских спектрах MX-80, инкубированных с (Вас) и без (NC) бактериями в H₂O, NaCl и OPW, Таблицы S3: Расчет молярной ионной силы I растворов H₂O, NaCl и OPW; Таблица S4: Тест Мантеля различных факторов, контролирующих положение пика и интенсивность бентонита MX80 в растворах с различной ионной силой.

Вклад авторов: концептуализация, JM, AMS и DW; методология JM, SG и MB; формальный анализ, JM и AMS; исследование, JM и AMS; визуализация, JM и AMS; курирование данных, AMS и JM; письмо — подготовка первоначального черновика, JM; написание — рецензирование и редактирование, AMS, DW и SG; администрация проекта, AMS и DW. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Федерального министерства образования и исследований Германии (BMBF, грант 02NUK053) и Ассоциации Гельмгольца (грант SO-093).

Заявление о доступности данных. Все данные, использованные в этом исследовании, находятся в свободном доступе по лицензии открытого доступа Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) в службах данных GFZ (Schleicher et al. (2024) [URL].

Благодарности: Мы хотели бы поблагодарить междисциплинарную команду исследовательского проекта BMBF «iCross: целостность систем захоронения ядерных отходов — межмасштабное понимание и анализ систем», особенно Михаэля Куна (GFZ), за логистическую поддержку и координацию, а также BMBF за щедрую поддержку. Авторы выражают благодарность Матиасу Шмидту (UFZ) и за использование сканирующего электронного микроскопа в Центре химической микроскопии (ProVIS) в UFZ Лейпциге, который поддерживается Европейскими фондами регионального развития (EFRE-Europefonds Saxony) и Ассоциация Гельмгольца. Мы также хотели бы поблагодарить Кристин Гюнтер и Андреа Вит-Хиллебрандт за определение концентрации ацетата.

Конфликты интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Рекомендации

1. Ким, Дж.С.; Кwon, СК; Санчес, М.; Чо, Г.К. Геологическое хранилище высокоактивных ядерных отходов. *KSCE J. Civ.* англ. 2011, 15, 721–737. <https://doi.org/10.1007/s12205-011-0012-8>.
2. Грамбов, Б. Геологическое захоронение радиоактивных отходов в Клэе. *Элементы* 2016, <https://doi.org/10.2113/gselements.12.4.239>. 12, 239–245.
3. Борс Дж.; Дульц, С.; Риббе, Б. Удержание радионуклидов органофильным бентонитом. *англ. геол.* 1999, 54, 195–206.
4. Козаи Н. Сорбционные характеристики америция на буферном материале. Отчет о ходе исследования безопасности радиоактивных отходов Управление за период с апреля 1996 г. по март 1998 г.; Онуки Т., Мураока С., Банба Т., ред.; Японский научно-исследовательский институт атомной энергии: Ибараки, Япония, 1998 г.; стр. 21–25.
5. Кето П. Природные глины как материалы для засыпки в различных концепциях засыпки; Posiva Oy: Эурайоки, Финляндия, 2004 г.
6. Строев-Гаскойн, С.; Хамон, С.; Маак, П.; Рассел, С. Влияние физических свойств сильно уплотненной смектитовой глины (бентонита) на культивируемость местных микроорганизмов. *Прил. Клей Науч.* 2010, 47, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2008.06.010>.
7. Рутквист Дж.; Чжэн, Л.; Чен, Ф.; Лю, Х.Х.; Биркхольцер, Дж. Моделирование связанных термогидромеханических процессов со связью с геохимией, связанных с туннелями хранилищ, засыпанными бентонитом, в глинистых формациях. *Рок Мех. Рок англ.* 2014, 47, 167–186. <https://doi.org/10.1007/s00603-013-0375-x>.
8. Делаж, П.; Кюи, Ю.Дж.; Тан А. Глины при захоронении радиоактивных отходов. Глины при захоронении радиоактивных отходов. Дж. Рок Мех. Геотех. англ. 2010, 2, 111–123. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1235.2010.00111>.
9. Хофманн, У.; Клемен, Р. Верлюст дер Austauschfähigkeit von Lithiumionen an Bentonit durch Erhitzung. *З. Анорг. хим.* 1950, 262, 95–99.
10. Грин-Келли, К. Необратимая дегидратация в монтмориллоните, часть II. Клэй Майнер. *Бык.* 1953, 2, 52–56.
11. Вайс А.; Кох, Г. Über einen Zusammenhang zwischen dem Verlust des Internalkristallinen Quellungsvermögens beim Erhitzen und dem Schichtaufbau bei glimmerartigen Schichtsilikaten. *З. Naturforschung B* 1961, 16, 68–69.
12. Гейтс, В.П.; Буацца, А.; Джок Черчман, Г. Бентонитовая глина предотвращает попадание загрязняющих веществ. *Элементы* 2009, 5, 105–110. <https://doi.org/10.2113/gselements.5.2.105>.
13. Бауэр А.; Вельде, Б. Преобразование смектита в высокомолярных растворах КОН. Клэй Майнер. 1999, 32, 259–273.
14. Герберт, Х.-Дж.; Касбом, Дж.; Муг, ХК; Хеннинг, К.Х. Долгосрочное поведение бентонита Вайоминга MX-80 в условиях высокой концентрации соли решения. *Прил. Клей Науч.* 2004, 26, 275–291. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2003.12.028>.
15. Хофманн, Х. 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. Кандидат наук. Диссертация, Гейдельбергский университет, Гейдельберг, Германия, 2003 г.
16. Хофманн, Х.; Бауэр, А.; Уорр, Л.Н. Поведение смектита в крепких солевых рассолах в условиях, связанных с захоронением ядерных отходов низкого и среднего качества. *Глиняный шахтер.* 2004, 52, 14–24. <https://doi.org/10.1346/CCMN.2004.0520102>.
17. Касбом Дж.; Пуш, Р.; Хеннинг, К.-Х. Кратковременные эксперименты с различными бентонитами в солевых растворах. В Берихте дер ДТГ; Нюеш Р., Эммерих К., ред.; Карлсруэ 1432-7007; Deutsche Ton- und Tonmineralgruppe eV, Карлсруэ, Германия. 2004 г.; п. 47.
18. Сузуки, С.; Сазараши, М.; Акимото, Т.; Хагинума, М.; Судзуки, К. Исследование минералогических изменений бентонита в соляном растворе. вода. *Прил. Клей Науч.* 2008, 41, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2007.11.003>.
19. Кауфхольд, С.; Дорманн Р. Устойчивость бентонитов в растворах солей III — гидроксид кальция. *Прил. Клей Науч.* 2011, 51, 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.12.004>.
20. Стобер И.; Бухер, К. Происхождение минерализации глубоких подземных вод в кристаллических породах. *Терра*, ноябрь 2002 г., 11, 181–185.

21. Пирсон, Ф.Дж.; Аркос, Д.; Бат, А.; Буассон, Ж; Фернандес, АМ; Гэблер, НЕ; Гоше, Э.; Гаучи, А.; Гриффо, Л.; Эрнан, П.; и другие. Проект Монт-Терри — геохимия воды в формации глины Опалинус в Лаборатории горных пород Монт-Терри; Федеральное управление водных ресурсов и геологии: Берн, Швейцария, 2003 г.
22. Герберт, НЖ; Касбом, Дж.; Шпренгер, Х.; Фернандес, АМ; Райхельт, К. Давление набухания бентонита МХ-80 в растворах разная ионная сила. Физ. хим. Земля 2008, 33, S327–S342. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2008.10.005>.
23. Адамцова Дж.; Ханусова И.; Понавич, М.; Прикрыл Р. Процессы изменения в бентонитах. В сборнике тезисов 18-й конференции по глине. в Чехии; Стастный, М., Ред.; Чешская национальная группа глины: Прага, Чехия, 2008 г.; п. 19.
24. Бауэр А.; Шафер, Т.; Дорманн, Р.; Хоффманн, Х.; Ким, Дж.И. Устойчивость смектита в кислых солевых растворах и судьба Eu, Th и Ty в растворе. Клей Майнер. 2001, 36, 93–103.
25. Ферраже, Э.; Лансон, Б.; Сахаров, Б.А.; Дриц В.А. Исследование гидратационных свойств смектита методом моделирования экспериментальных рентгенограмм: Часть I. Гидратационные свойства монтмориллонита. Являюсь. Минеральная. 2005, 90, 1358–1374. <https://doi.org/10.2138/am.2005.1776>.
26. Кауфхольд, С.; Дорманн, Р. Устойчивость бентонитов в солевых растворах | хлорид натрия. Прил. Клей Науч. 2009, 45, 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2009.04.011>.
27. Лопес-Фернандес, М.; Черкук, А.; Вилчес-Варгас, Р.; Хореги, Р.; Пипер, Д.; Бун, Н.; Санчес-Кастро, И.; Меррун, МЛ Бактериальное разнообразие в бентонитах, инженерный барьер для глубокого геологического захоронения радиоактивных отходов. Микроб. Экол. 2015, 70, 922–935. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0630-7>.
28. Шапель, Ф. Х. Микробиология и геохимия подземных вод; Джон Уайли и сыновья: Хобокен, Нью-Джерси, США, 1993.
29. Браун А.Д. Микробная физиология водного стресса. Принципы и перспективы; Джон Уайли и сыновья: Хобокен, Нью-Джерси, США, 1990.
30. Курдуан-Мец, А. Природа и реакционная способность растворенных органических веществ в глинистых формациях, оцененных для хранения радиоактивных отходов. Кандидат наук. Диссертация, Швейцарский федеральный технологический институт в Цюрихе, Цюрих, Швейцария, 2008 г.
31. Курдуан, А.; Кристл, И.; Версин, П.; Кречмар, Р. Природа и реакционная способность растворенного органического вещества в опалиновой глине и каллово-оксфордской формации. В материалах о глинах в естественных и инженерных барьерах для локализации радиоактивных отходов, Лилль, Франция, 17–20 сентября 2007 г.
32. Лейпин, Оксана; Бернье-Латмани, Р.; Банию, А.; Мавр, Х.; Лейс, Н.; Вуутерс, К.; Строев-Гаскойн, С. Пятнадцать лет микробиологических исследований опалиновой глины в горной лаборатории Монт-Терри (Швейцария). Швейцарец Дж. Геоши. 2017, 110, 343–354. <https://doi.org/10.1007/s00015-016-0255-y>.
33. Эрлих Х. Л. Микробы как геологические агенты: их роль в минералообразовании. Геомикробиол. Дж. 1999, 16, 135–153. <https://doi.org/10.1080/014904599270659>.
34. Горшков А.И.; Дриц, В.А.; Дубинина Г.А.; Богданова О.А.; Сивцов А.В. Роль бактериальной деятельности в формировании гидротермальных Fe-Mn-образований в северной части бассейна Лау (юго-западная часть Тихого океана). Изв. Акад. Наук Серия Геол. 1992, 9, 84–93.
35. Кавано, М.; Томита, К. Микробная биоминерализация в выветрившихся отложениях вулканического пепла и образование биогенных минералов путем экспериментальной инкубации. Являюсь. Минеральная. 2001, 86, 400–410.
36. Колер, Б.; Зингер, А.; Стофферс, П. Биогенный нонтронит из дымоходов морских белых курильщиков. Глиняный шахтер. 1994, 42, 689–701.
37. Куадрос Дж. Взаимодействие глинистых минералов с микроорганизмами: обзор. Клей Майнер. 2017, 52, 235–261. <https://doi.org/10.1180/claymin.2017.052.2.05>.
38. Кауфхольд, С.; Дорманн Р. Устойчивость бентонитов в солевых растворах II. Раствор хлорида калия — начальный этап иллитизации? Прил. Клей Науч. 2010, 49, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.04.009>.
39. Он, Ю.; Да, ВМ; Чен, Ю.Г.; Cui, YJ Влияние растворов K + на набухание уплотненного бентонита GMZ. англ. геол. 2019, 249, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2018.12.020>.
40. Сян, Г.; Йе, В.; Сюй, Ю.; Джалал Ф.Э. Набухающая деформация Na-бентонита в растворах, содержащих различные катионы. англ. геол. 2020, 277, 105757. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2020.105757>.
41. Соззат, Э.; Вильерас, ТФ; Франсуа, М.; Пеллетье, М.; Баррес, О.; Ивон, Дж.; Гийом, Д.; Дуббесси, Дж.; Пфайферт, К.; Рак, Р.; и другие. Минералогические, кристаллохимические и текстурные свойства глины МХ-80. АНДРА Тех. Отчет 2001 г. 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. Пердриал, Дж. Н.; Уорр, Л.Н.; Пердриал, Н.; Летт, МС; Эльзасс, Ф. Взаимодействие между смектитом и бактериями: значение бентонита в качестве засыпного материала при утилизации ядерных отходов. хим. геол. 2009, 34, 281–294. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2009.03.012>.
43. Лопес-Фернандес, М.; Фернандес-СанФранциско, О.; Морено-Гарсия, А.; Мартин-Санчес, И.; Санчес-Кастро, И.; Меррун, МЛ Микробные сообщества в бентонитовых образованиях и их взаимодействие с ураном. Прил. Геохим. 2014, 49, 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.06.022>.
44. Санчес-Кастро, И.; Руис-Фреснеда, Массачусетс; Баккали, М.; Кемпфер, П.; Глезер, СП; Буссе, НЖ; Лопес-Фернандес, М.; Мартинес-Родригес, П.; Мерроун, М.Л. *Stenotrophomonas bentonitica* sp. nov., выделен из бентонитовых формаций. Межд. Дж. Сист. Эвол. Микробиол. 2017, 67, 2779–2786. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002016>.
45. Руис Фреснеда, Массачусетс; Дельгадо Мартин, Дж.; Гомес Боливар, Дж.; Фернандес Кантос, МВ; Бош-Эстевес, Г.; Мартинес Морено, МФ; Меррун, М.Л. Грин-синтез и биотрансформация аморфных наносфер Se в тригональные одномерные наноструктуры Se: влияние на подвижность Se в рамках концепции захоронения радиоактивных отходов. Окружающая среда. наук. Нано 2018, 5, 2103–2116. <https://doi.org/10.1039/c8en00221e>.

46. Руис-Фреснеда, Массачусетс; Лопес-Фернандес, М.; Мартинес-Морено, МФ; Черкук, А.; Джу-Нам, Ю.; Охеда, Джей Джей; Молл, Х.; Мерроун, М.Л. Молекулярное связывание EuIII/CmIII *Stenotrophomonas bentonitica* и его влияние на безопасность будущего геозахоронения радиоактивных отходов. Окружающая среда. наук. Технол. 2020, 54, 15180–15190. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02418>.
47. Джозеф, К.; Шмейде, К.; Сакс, С.; Брендлер, В.; Гейпель, Г.; Бернхард, Г. Сорбция урана (VI) на опалиновой глине в отсутствие и в присутствии гуминовой кислоты в поровой воде опалиновой глины. хим. геол. 2011, 284, 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.03.001>.
48. Пирсон, Ф. Дж. Экспериментальная вода Opalinus Clay: тип A1, версия 980318; Институт Пауля Шеррера: Виллиген, Швейцария, 1998 г.
49. Шлейхер, Аня М.; Митцшерлинг, Джулия; Бониц, Мари; Гендерьян, Штеффи; Вагнер, Дирк. Набор минералогических, геохимических и микробных данных для оценки влияния *S. bentonitica* в различных растворах на характеристики бентонитовой глины при изменении термогидрохимических условий. Службы данных GFZ. 2024. <https://doi.org/10.5880/GFZ.3.1.2024.004>.
50. Курдуан А.; Кристл, И.; Мейлан, С.; Версин, П.; Кречмар, Р. Характеристика растворенного органического вещества в бескислородной породе экстракты и поровая вода in situ опалиновой глины. Прил. Геохим. 2007, 22, 2926–2939. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2007.09.001>.
51. Майлз, А.А.; Мисра, СС; Ирвин, Дж. О. Оценка бактерицидной силы крови. Дж. Хиг. 1938, 38, 732–749. <https://doi.org/10.1017/s002217240001158x>.
52. Хаммер, О.; Харпер, DAT; Райан, доктор медицинских наук. PAST: Пакет программного обеспечения для палеонтологической статистики для обучения и анализа данных. Палеонтол. Электрон. 2001, 4, 1–9.
53. Макнот, А.Д.; Уилкинсон, А. ИЮПАК. Сборник химической терминологии, 2-е изд.; Научные публикации Блэквелла: Оксфорд, Великобритания, 1997. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
54. Эберл, Д.Д.; Хауэр, Дж. Гидротермическая трансформация смектита натрия и калия в смешаннослойную глину. Глина Глина Шахтер. 1977, 25, 215–227.
55. Иноуэ А. Закрепление калия глинистыми минералами при гидротермальной обработке. Глиняный шахтер. 1983, 31, 81–91.
56. Комарени, С.; Уайт, В.Б. Гидротермальная реакция стронция и трансурановых имитаторов с глинистыми минералами, цеолитами. и сланцы. Глиняный шахтер. 1983, 31, 113–121.
57. Касбом Дж.; Венц, К.; Хеннинг, К.-Х.; Герберт, Х.-Дж. Zu Aspekten einer Lang- zeitsicherheit von Bentonit in hochsalinaren Lösungen. In Beichte der Deutschen Ton- und Tonmineralgruppe eV-Beiträge zur Jahrestagung; Стенгеле Х., Плётце М., ред.; ETH Zürich: Цюрих, Швейцария, 2000 г.; стр. 158–170.
58. Финстерле, С.; Мюллер, РА; Бальцер, Р.; Пайер, Дж.; Ректор, JW. Тепловая эволюция вблизи контейнеров с тепловыделяющими ядерными отходами. размещают в горизонтальных скважинах. Энергии 2019, 12, 596. <https://doi.org/10.3390/en12040596>.
59. Купец, СС; Хельманн, Дж. Д. Элементальная экономика. Микробные стратегии оптимизации роста в условиях ограничения питательных веществ. В достижениях микробной физиологии, 1-е изд.; Elsevier Ltd.: Амстердам, Нидерланды, 2012. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398264-3.00002-4>.
60. Перес Родригес, JL; Карретеро, Мичиган; Македа, К. Поведение сепиолита, вермикулита и монтмориллонита в качестве носителей в анаэробных варочных котлы. Прил. Клей Науч. 1989, 4, 69–82.
61. Боте, Х.; Фергюсон, С.; Ньютон, М.Е. Биология азотного цикла; Elsevier Science: Амстердам, Нидерланды, 2007.
62. Кутвонен, Х.; Раджала, П.; Карпен, Л.; Бомберг, М. Нитраты и аммиак как источники азота для глубоких недр. микроорганизмы. Передний. Микробиол. 2015, 6, 1079. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01079>.
63. Ландеверт, Р.; Хоффланд, Э.; Финли, РД; Кайпер, ТВ; ван Бримен, Н. Связь растений с камнями: эктомикоризные грибы мобилизовать питательные вещества из минералов. Тенденции Экол. Эвол. 2001, 16, 248–254.
64. Кифт, Т.Л. Размер имеет значение: карликовые клетки в почве и подземных земных средах. У некультивируемых микроорганизмов в Среда; Колвелл, Р.Р., Граймс, диджей, ред.; ASM Press: Вашингтон, округ Колумбия, США, 2000 г.; стр. 19–46.
65. Карри, К.Дж.; Беннетт, Р.Х.; Майер, Л.М.; Карри, А.; Абриль, М.; Бизиот, премьер-министр; Халберт, М.Х. Прямая визуализация следов глиняной микроткани, способствующая сохранению органических веществ в мелкозернистых осадках. Геохим. Космохим. Акта 2007, 71, 1709–1720.
66. Чоровер, Дж.; Амистади М.К. Реакция органического вещества лесной подстилки на поверхности гетита, бернессита и смектита. Геохим. Космохим. Акта 2001, 65, 95–109.
67. Мерфи, Э.М.; Захара, Дж. М.; Смит, Южная Каролина; Филлипс, Дж.Л.; Витсма Т.В. Взаимодействие гидрофобных органических соединений с минерально-связанные гуминовые вещества. Окружающая среда. наук. Технол. 1994, 28, 1291–1299.
68. Шлаутман, Массачусетс; Морган, Дж. Дж. Адсорбция водных гуминовых веществ на частицах оксида алюминия коллоидного размера: влияние химии растворов. Геохим. Космохим. Акта 1994, 58, 4293–4303.
69. Арнарсон, Т.С.; Кейл, Р.Г. Роль реакционноспособных участков поверхности и комплексообразования гуминовыми кислотами во взаимодействии глинистых минералов и частиц оксидов железа. Мар. Хим. 2000, 71, 309–320.
70. Люке-Альмагро, В.М.; Гейтс, Эй Джей; Морено-Вивиан, К.; Фергюсон, SJ; Ричардсон, диджей; Ролдан, доктор медицинских наук. Бактериальная ассимиляция нитратов: распределение и регуляция генов. Биохим. Соц. Пер. 2011, 39, 1838–1843. <https://doi.org/10.1042/BST20110688>.
71. Башанди, СР; Абд-Алла, МХ; Давуд, МИД Снижение токсичности нефтесодержащих сточных вод для растений канолы с помощью N2-фиксирующей и биоразлагающей ароматические углеводороды бактерии *Stenotrophomonas maltophilia*-SR1. Прил. Почвенная Экол. 2020, 154, 103654. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103654>.
72. Рамос, Польша; Ван Траппен, С.; Томпсон, Флорида; Роча, RCS; Барбоза, HR; де Вос, П.; Морейра-Фильо, Калифорния. Скрининг эндофитных азотфиксирующих бактерий в бразильских сортах сахарного тростника, используемых в органическом земледелии, и описание *stenotrophomonas Pavanii* sp. ноябрь Межд. Дж. Сист. Эвол. Микробиол. 2011, 61, 926–931. <https://doi.org/10.1099/jis.0.019372-0>.

73. Симони, С.Ф.; Босма, ТНП; Хармс, Х.; Цендер, Двухвалентные катионы AjV увеличивают субпопуляцию прилипших бактерий. Песчаные колонны. Окружающая среда. наук. Технол. 2000, 34, 1011–1017. <https://doi.org/10.1021/es990476m>.
74. Санчес-Кастро, И.; Баккали, М.; Мерроун, М.Л. Черновой вариант последовательности генома *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7, селенитредуцирующей бактерии, выделенной из испанских бентонитов. Анонс генома. 2017, 5, 7–9. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00719-17>.
75. Макьюэн, ДМС; Уилсон, М.Дж. Прослойки и интеркаляционные комплексы глинистых минералов. В кристаллической структуре глинистых минералов и их рентгеновская идентификация; Бриндли, Г.В., Браун, Г., ред.; Минералогическое общество: Лондон, Великобритания, 1980; стр. 197–242.
76. Лагали, Г. Реакция тонминерале. В *Tonminerale und Tone: Struktur, Eigenschaften und Einsatz in Industrie und Umwelt*; Ясмунд К., Лагали Г., ред.; Steinkopff Verlag: Дармштадт, Германия, 1993 г.; стр. 89–167.
77. Уинтермьют, Э.Х.; Сильвер, П.А. Возникающее сотрудничество в области микробного метаболизма. Мол. Сист. Биол. 2010, 6, 407. <https://doi.org/10.1038/msb.2010.66>.
78. Бойвен-Янс, В.; Руими, Р.; Бьянки, А.; Даумас, С.; Кристен, Р. Бактериальное разнообразие в глубоко подземной глинистой среде. Прил. Окружающая среда. Микробиол. 1996, 62, 3405–3412.
79. Митцшерлинг, Дж.; Гендерьян, С.; Шлейхер, АМ; Варфоломеус, А.; Калмейер, Дж.; Вагнер, Д. Микробные сообщества, связанные с глиной, и их значение для хранилища ядерных отходов в горной формации Opalinus Clay. Микробиологияоткрытие 2023, 12, e1370. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1370>.
80. Сузуки, С.; Прайонгпхан, С.; Итикава, Ю.; Че, Б.Г. Наблюдения на месте набухания агрегатов бентонита в растворе NaCl. Прил. Клей Науч. 2005, 29, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2004.11.001>.
81. Пуш, Р.; Карнланд, О.; Хёкмарк, Х. GMM-Общая микроструктурная модель для качественных и количественных исследований смектита глины; Шведская компания по управлению ядерным топливом и отходами: Стокгольм, Швеция, 1990 г.
82. Кастелланос, Э.; Вильяр, М.В.; Ромеро, Э.; Льорет, А.; Генс, А. Химическое воздействие на гидромеханическое поведение бентонита высокой плотности FEBEX. Физ. хим. Земля 2008, 33, S516–S526. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2008.10.056>.
83. Карнланд, О.; Олссон, С.; Нильссон, У. Минералогия и герметизирующие свойства различных бентонитов и глинистых материалов, богатых смектитом; TP-06-30; Шведская компания по управлению ядерным топливом и отходами: Стокгольм, Швеция, 2006 г.; стр. 3–70.
84. Комине, Х.; Ясухара, К.; Мураками С. Характеристики набухания бентонитов в искусственной морской воде. Может. Геотех. Дж. 2009, 46, 177–189. <https://doi.org/10.1139/T08-120>.
85. Сиддикуа, С.; Блатц, Дж.; Сименс, Г. Оценка влияния химического состава поровой жидкости на гидромеханическое поведение глин. на основе герметизирующих материалов. Может. Геотех. Дж. 2011, 48, 199–213. <https://doi.org/10.1139/T10-064>.
86. Ли, Джо; Лим, Дж.Г.; Канг, И.М.; Сангки, К. Давление набухания уплотненного кальций-бентонита. англ. геол. 2012, 129–130, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2012.01.005>.
87. Чун-Мин, Э.; Вэй-Мин, Ю.; Юн-Гуй, К.; Бао, К.; Ю-Джун, К. Влияние солевых растворов на давление набухания и гидравлическое давление. проводимость прессованного бентонита ГМ301. англ. геол. 2013, 166, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2013.09.001>.
88. Сато, Х. Количественное определение обменных катионов в промежуточном слое натрий-монтмориллонита Цукинуно. Матер. Рез. Соц. Симп. Учеб. 2009, 1193, 2–7. <https://doi.org/10.1557/PROC-1144-LL16-04>.
89. Дорманн, Р.; Генске, Д.; Карнланд, О.; Кауфхольд, С.; Кивиранта, Л.; Олссон, С.; Плетце, М.; Санден, Т.; Селлин, П.; Свенссон, Д.; и другие. Межлабораторное исследование ХЭП и обменных катионов бентонитовых буферных материалов: I. Cu(II)-триэтилентетраминовый метод. Глиняный шахтер. 2012, 60, 162–175. <https://doi.org/10.1346/CCMN.2012.0600206>.
90. Сегад, М.; Йонссон, Б.; Окссон, Т.; Кабане, Б. Ca/Na монтмориллонит: структура, силы и свойства набухания. Ленгмюр 2010, 26, 5782–5790. <https://doi.org/10.1021/la9036293>.
91. Лю, Л. Коллоиды и поверхности А: Физико-химические и инженерные аспекты. Прогнозирование давления набухания различных типов бентонита в разбавленных растворах. Коллоиды Прибой. Физикохим. англ. Асп. 2013, 434, 303–318. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.05.068>.
92. Пуш, Р. Справочник по буферам и обратной засыпке, часть 1 — Определения, основные взаимосвязи и лабораторные методы; Технический отчет СКБ СКБ-TP-02-20; Шведская компания по управлению ядерным топливом и отходами: Стокгольм, Швеция, 2002 г.
93. Пуш, Р. Справочник по буферам и обратной засыпке, часть 2 – Материалы и методы; Технический отчет СКБ СКБ-TP-02-12; Шведская компания по управлению ядерным топливом и отходами: Стокгольм, Швеция, 2002 г.
94. О'Брайен Ткань из хлопьев каолинита и иллита. Глиняный шахтер. 1971, 19, 353–359.
95. Шлейхер, АМ; Уорр, Л.Н.; Ван Дер Плюйм, Б.А. О происхождении смешанно-слоистых глинистых минералов из разлома Сан-Андреас на вертикальной глубине 2,5–3 км (скважина САФОД в Паркфилде, Калифорния). Вклад. Минеральная. Бензин. 2009, 157, 173–187. <https://doi.org/10.1007/s00410-008-0328-7>.
96. Вильяр, М.В.; Льорет, А. Влияние температуры на гидромеханическое поведение уплотненного бентонита. Прил. Клей Науч. 2004, 26, 337–350. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2003.12.026>.

Отказ от ответственности/Примечание издателя: Заявления, мнения и данные, содержащиеся во всех публикациях, принадлежат исключительно отдельному автору(ам) и соавторам(ам), а не MDPI и/или редактору(ам). MDPI и/или редактор(ы) не несут ответственности за любой вред людям или имуществу, возникший в результате любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в контенте.