

Введение

На Сибирском химическом комбинате (СХК) для утилизации жидких радиоактивных отходов (ЖРО) применяются глубоко залегающие пласты осадочных пород (Рыбальченко и др.,1994) на глубинах 300-400м. Установлено, что латеральная и вертикальная миграция радионуклидов и, в частности, наиболее опасных альфа-излучающих, долгоживущих актинидов в пласте-коллекторе составляет не более чем несколько десятков метров от нагнетательной скважины (Зубков и др.,2002). Причинами возникновения геохимического противомиграционного барьера могут быть сорбция на вмещающих породах, геохимическая и микробная трансформация (Lovley et al., 1991) в малорастворимые восстановленные формы.

Попадание радионуклидов в верхние водоносные горизонты происходило при использовании пульпохранилищ и хранилищ радиоактивных отходов поверхностного типа за счет инфильтрации через их стенки. На сегодняшний день поверхностные хранилища СХК подлежат консервации или законсервированы. В верхних водоносных горизонтах больше факторов, влияющих на миграцию актинидов. Это растворенное органическое вещество, концентрация которого больше, чем в глубинных горизонтах, приводящее к образованию высокорстворимых актинидных комплексов, свободный доступ кислорода, способствующий миграции актинидов в окисленной более растворимой форме.

Для верхнего и глубинного горизонта миграция радионуклидов происходит при высоком солевом фоне, основным макрокомпонентом которого являются нитраты щелочных и щелочноземельных элементов. Известно, что нитрат-ионы, создавая высокие значения редокс-потенциала препятствуют иммобилизации актинидов в низших степенях окисления [Wu et al Singh G.,et al]. Другим важным фактором миграции актинидов могут служить естественные или техногенные коллоидные частицы за счет механизма псевдоколлоидного транспорта на их поверхности (Kersting A.B. et al,1999, Novikov et al, 2006). Ранее (Новиков, 2010) при исследовании скорости вертикального и латерального распространения радионуклидов в подземных экосистемах было отмечено, актиниды могут сорбироваться и переноситься на частицах различной природы, которая значительно зависит от условий среды. В окислительных условиях это– глинистые, железистые и титановые частицы, в восстановительных – диоксид урана (Новиков и др., 2018). Однако известно, что стабильность коллоидных частиц сильно зависит от солевого фона и при высоких концентрациях нитрат-ионов вклад этого механизма в миграцию актинидов будет невелик.

Еще одним фактором, влияющим на подвижность актинидов, могут быть микробные и микробно-опосредованные процессы, стимулированные попаданием нитрат-ионов в подземных водах. Нитраты могут являться акцепторами электронов в биохимических

процессах, донорами электронов при этом могут быть молекулярный водород, органическое вещество, двухвалентное железо и другие восстановители. Удаление нитрат-ионов может сказаться на увеличении стабильности псевдоколлоидных актинидных частиц, образование экзополисахаридных метаболитов в жидкости может их стабилизировать (эмульгировать), образование биогенных железистых частиц может привести к появлению новых видов биогенных коллоидных фаз.

Ранее для верхних и нижних горизонтов Сибирского химического комбината были проведены микробиологические исследования (Safonov, 2019, Nazina 2010). В пробах из верхнего горизонта выявлены бактерии филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и *Parcubacteria*. Среди них присутствовали организмы как с аэробным, так и с анаэробным типом дыхания, например, бактерии родов *Thermomonas*, *Pseudomonas*. Последние известны способностью восстанавливать широкий ряд окислителей, включая нитрат-, арсенат-, ванадат- и хромат-ионы, уран, плутоний. Выявлены гены бактерий, способных восстанавливать железо (+3) и сульфат-ионы— *Shewanella*, *Sulfuricurvum*, *Thiobacillus*, *Acidiferrobacter*, *Sulfuritalea*, *Simplicispira*, *Sulfuricella*, *Sulfuriferula*.

Целью третьего этапа работы стало исследование окислительных форм актинидов в подземных водах разного генезиса и оценка роли биогенных факторов в сорбции актинидов на твердых фазах, а также образовании и устойчивости псевдоколлоидов.

1-2. Оценка сорбционной емкости (Nr, U, Pu) биогенных фаз железа (после их идентификации), и биогенных сульфидов полученных в процессе культивирования микрофлоры в пробах подземных вод. Оценка состояния окисления актинидов.

Для удобства сопоставления полученных данных по пп. 1 и 2 плана работ будут изложены в одном разделе.

Эксперимент проходил в два этапа. На первом были использовали образцы воды, отобранные из верхнего и нижнего горизонтов сотрудниками АО «СХК», в которых проведено стимулирование микробных процессов путем добавления глюкозы. Пробы культивировались при комнатной температуре в течении двух месяцев до появления соответствующих осадков. Для появления сульфидных осадков в пробы было добавлено 1,5 г/л сульфата натрия, для появления железистых осадков были добавлены растворимые формы железа, в первом случае 500 мг/л хлорида железа (III), во втором нитрат железа (II). Пробы с окисленным и восстановленным железом были продуты аргоном для анаэробной атмосферы. После появления осадков биогенного окисленного (Fe_3) и восстановленного

(Fe²⁺) железа и сульфидного осадка (S), их отделяли путем центрифугирования, сушили в анаэробной атмосфере и проводили сорбционные эксперименты.

Полученные осадки были рентгеноаморфны, по данным ДСК осадок Fe²⁺ содержал смесь аморфных оксигидроксидов железа с доминированием, осадок Fe²⁺ был более кристалличен, На основе данных порошковой дифрактометрии, в нем наблюдались фазы, которые можно отнести к гетиту и ферригидриту. В сульфидном осадке на фоне рентгеноаморфного гало наблюдались кристаллические фазы, которые можно отнести к пирротину и троиллиту. Во всех случаях в составе осадка содержалось 10-20% органического вещества полисахаридной бактериальной биопленки.

В качестве водных для фаз для сорбционного эксперимента, были использованы пробы пластовой воды верхнего (верх) и нижнего горизонта (низ), профильтрованные через фильтр 0,22 мкм. Состав водных фаз представлен в Таблице 1.

Табл. 1. Состав водных фаз.

элемент	Ед.изм	верх	низ
Al	Мг/л	0,03	<0.008
Ca		83,0	151,5
Fe		<0.01	<0.01
K		2,93	15,4
Mg		26,9	76,8
Na		229	411
P		<0.01	<0.01
S		11,8	89,5
Si		6,19	8,78
Mn		Мкг/л	250
Ba	158		229
Sr	7595		435
U	126		0,4

На втором этапе эксперимента были использованы породы песчано-суглинистые породы верхнего и нижнего горизонтов, которые подвергались биогенному преобразованию путем их двухмесячного культивирования с глюкозой в качестве источника углерода в водной фазе соответствующего горизонта. После преобразования они содержали биогенные сульфиды и различные железистые формы, полученные в процессе культивирования. Подробное описание микробных преобразований пород методом ДСК было приведено в отчете за прошлый год (отчет 2 п.п. 5 и 6). Отмечалось частичное

разрушение глинистой фазы, уменьшение количества гетита и сидерита и увеличение содержания аморфной фазы железа, кремния и алюминия.

В обоих случаях при проведении сорбционных экспериментов двухфазные системы помещали в пенициллиновые флаконы, предварительно закрытые и продутые аргоном. Раствор с радионуклидами ^{233}U , ^{237}Np и ^{239}Pu вводили инсулиновым шприцом. Концентрации всех радионуклидов были около 10^{-7}M . Равновесие с ураном и плутонием установилось за 2 недели, с нептунием за месяц. Значения pH водных фаз представлены в Табл. 2.

Таблица 2. Величины pH водной фазы после сорбции.

1	2	3	4	5	6	7	8
низ бб	верх бб	Fe2 низ	Fe2 вер	Fe3 низ	Fe3 вер	S низ	S верх
6,5	6,6	7,0	7,3	7,1	7,0	6,9	6,9

Результаты сорбционного эксперимента представлены на Рис. 1.

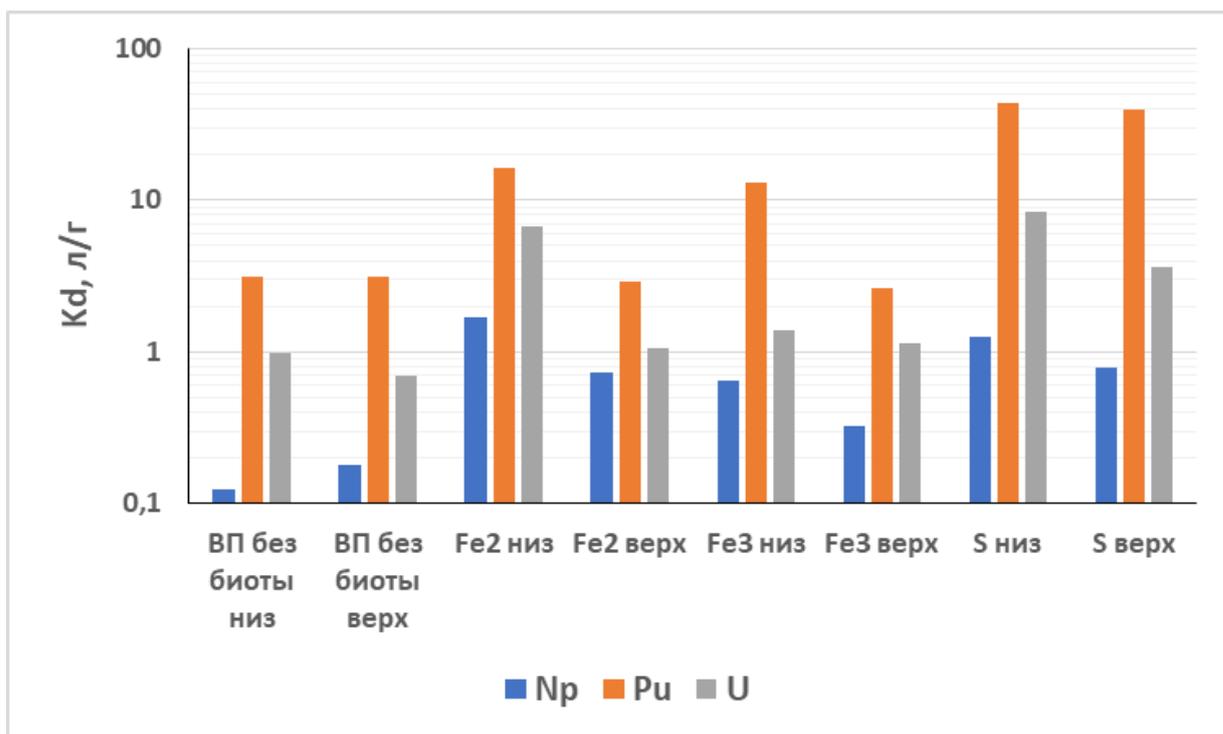


Рис 1. Равновесные коэффициенты распределения, л/г

Значения коэффициентов сорбции актинидов на всех биогенных твердых фазах были выше, чем на абиогенных. Плутоний из трех актинидов сорбировался значительно сильнее, чем уран и нептуний. Степень сорбции урана из вод верхнего горизонта во всех случаях ниже, чем из нижнего. Это объясняется, по-видимому, более высокой концентрацией урана в водной фазе (Табл. 1). Коэффициенты сорбции всех актинидов были максимальны на

биогенных сульфидах. Нептуний хорошо сорбируется также и на двухвалентном железе. Полученные сорбционные закономерности можно объяснить данными по степеням окисления десорбированных 1 н HCl актинидов. Методики определения степеней окисления актинидов методами люминесценции на активированных ими кристаллофосфорах и мембранно-экстракционным приведены в Отчете 2.

В водной фазе после сорбции нептуний был пятивалентный. Содержание плутония и урана в водной фазе после сорбции слишком мало для определения состояния окисления. После десорбции 1 н HCl уран и плутоний в шести и четырехвалентных состояниях, соответственно. Уран, возможно был в смеси с U(IV), однако мог окислиться на кристаллофосфоре при прокаливании.

По экстракционным данным U(IV) и Np(IV) в заметных количествах до 50% обнаружен только в системах с биогенными двухвалентным железом и биогенными сульфидами.

Для получения дополнительной информации по формам нахождения радионуклидов в биогенных твердых фазах и прочности их связи были проведены эксперименты по последовательному выщелачиванию. Использовали наиболее часто применяемую схему (Tessier, A., Campbell, P.G.C., Bisson, M.// Anal. Chem. 1979. 51, P. 844-851). В соответствии с этой схемой выделяют следующие фракции Табл. 3.

Табл. 3. Фракции десорбции по методу Tessier

Форма	Реагенты	Время контакта фаз, ч, T°
1. Обменная	1М NH ₄ COOH (pH=7,0)	16, 20 ⁰ C
2. Карбонаты	1М CH ₃ COOH (pH=7,0)	16, 20 ⁰ C
3. Fe/Mn оксиды	0,4М NH ₂ OH.HCl в 25% CH ₃ COOH (pH=1,0)	4, 80 ⁰ C
4. Органические вещества	30% H ₂ O ₂ , затем NH ₄ COOH в 20% HNO ₃ (pH=2,0)	16, 20 ⁰ C
5. Остаток	HF, 1:10 (pH=0)	3, 105 ⁰

В табл. 4-6 представлены полученные данные.

Таблица 4. Степени выделения плутония, %

проба	1(обмен)	2 (карб_)	3 (оксид)	4 (орг)	5 (остаток)
Fe ²⁺ н	5	3	10	23	59
Fe ³⁺ н	1	4	12	17	66
Sn	3	3	13	20	61
Sв	6	3	12	16	63

Табл. 5. Степени выделения урана, %

проба	1(обмен)	2 (карб_)	3 (оксид)	4 (орг)	5 (остаток)
Fe ²⁺ н	4	8	32	17	39
Fe ³⁺ н	2	10	34	17	37
Sn	4	6	36	21	33
Sв	6	7	34	22	31

Табл. 6. Степени выделения нептуния, %

проба	1(обмен)	2 (карб_)	3 (оксид)	4 (орг)	5 (остаток)
Fe ²⁺ н	2	4	11	32	51
Fe ³⁺ н	1	17	35	27	20
Sn	2	5	15	30	48
Sв	2	6	15	31	46

Все полученные биогенные фазы лучше удерживают актиниды, чем почвы - серая лесная и чернозем выщелоченный (Novikov A.P., 2010). Плутоний в наибольшей степени обнаружен в органической фракции. Уран – во фракции оксидов. Нептуний ведет себя подобно плутонию, что косвенно подтверждает его восстановительную сорбцию на биогенных фазах. Однако для фазы с окислительными свойствами (Fe³⁺) в остатке обнаруживается значительно меньше нептуния (всего 20%) и почти столько же в подвижной карбонатной фракции. В этой фракции обнаруживается и значительное количество урана. Для сульфидов железа история получения сорбционного материала не имеет значения, препараты после сорбции из разных горизонтов не отличаются по прочности связи актинидов с сорбентом. Уран менее прочно связан, чем плутоний – до 10-13% находятся в подвижных фракциях. Для плутония только 5-9%. В труднорастворимых фракциях уран находится в основном во фракции оксидов, плутоний – в органическом веществе. В остатке находится 31-39% урана и 59-66 % плутония.

При работе с обработанными суглинками водоносных горизонтов сорбция радионуклидов проводилась в анаэробных условиях в модельных растворах отличающихся содержанием нитрата натрия. Первый раствор его не содержал, во втором его концентрация достигала 10000 мг/л. Объем водной фазы был 10 мл, вес твердого образца - 1 г. Все эксперименты проводили на обработанных микроорганизмами породах, (системы 1-5) и необработанных (система 6-10).

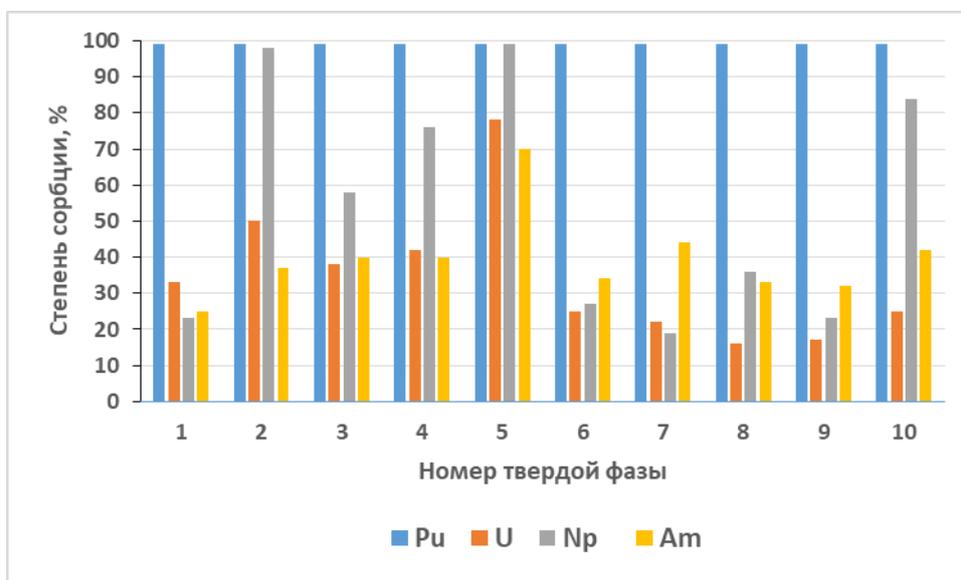


Рис. 2а. Степени сорбции радионуклидов из раствора 1, %.

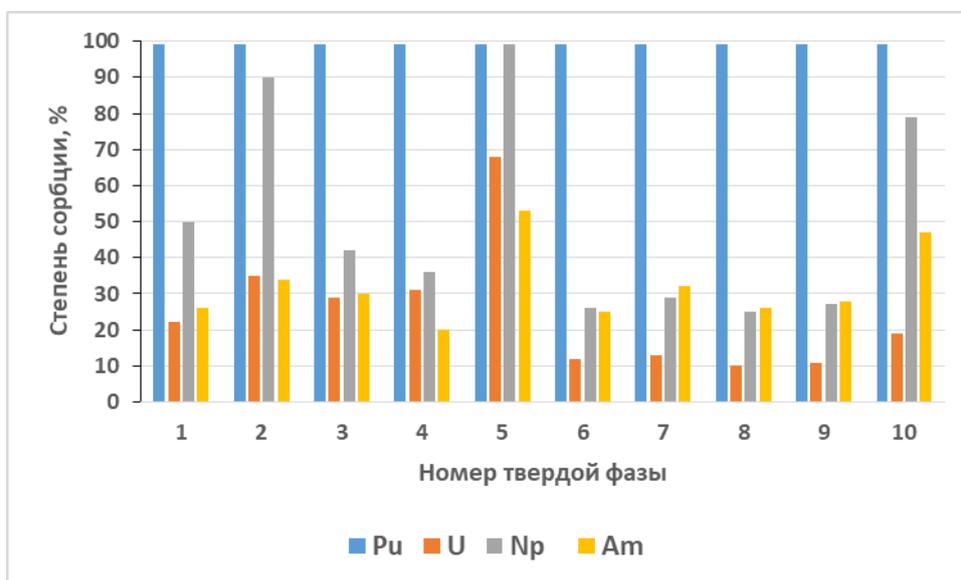


Рис. 2б. Степени сорбции радионуклидов из раствора 2, %.

Квазиравновесие установилось для плутония за 5 дней, америция - 10 дней, урана – 15 дней, нептуния 50 дней. На рис. 2а приведены степени сорбции радионуклидов из слабо минерализованного раствора 1. На Рис 2б – из сильно минерализованного раствора 2.

Плутоний количественно сорбировался из обоих растворов на всех образцах, как подвергшихся микробному росту, так и без микробиоты. Сорбция урана была выше из раствора 1, причем на образцах 1-5 существенно выше, чем на образцах 6-10 (не подверженных биопреобразованию). На образцах 2 и 5 уран сорбировался количественно, что может указывать на редокс-преобразование форм окисления урана. Сорбционное поведение нептуния сходно с ураном, но неожиданно степени сорбции нептуния оказались выше, чем урана. Так как $Np(V)$ является самой слабо сорбируемой формой, это также указывает на возможное восстановление нептуния до $Np(IV)$. Америций сорбируется не полностью и в одинаковой степени на биогенных и абиогенных образцах. Проведенное определение форм окисления актинидов в солянокислом растворе после десорбции из биогенных фаз показало, что в растворе - смесь $U(IV)$, $U(VI)$, $Np(IV)$ и $Np(V)$. Содержание актинидов в низких состояниях окисления наибольшее в образцах 2 и 5, что позволяет объяснить сорбционные данные. Плутоний и америций находятся в самых устойчивых формах $Pu(IV)$ и $Am(III)$.

Таким образом проведенные исследования, как и эксперименты по пп.1-2, показывают высокую сорбционную эффективность биогенных минеральных новообразований.

3. Оценка микробного преобразования железистых (пирит, сидерит, гематит) и глинистых минералов, выщелачивание железа, образование вторичных минеральных фаз и изучение их сорбционной емкости после преобразования. Оценка состояния окисления актинидов.

Анализ генов 16S рРНК в пробах подземных вод верхнего и нижнего водоносных горизонтов позволил выявить высокое разнообразие микроорганизмов цикла железа. Так, около 3,3% от общего числа микроорганизмов в пробах нижнего водоносного горизонта составляли бактерии рода *Gallionella* и *Thiobacillus* известные своей способностью к железному дыханию, в первую очередь окисления железа. В пробах верхнего горизонта 30% от общего числа бактерии представлены бактериями рода *Pseudomonas* и *Acidovorax*, *восстанавливающих железо*. В табл. 7 приведены данные численности железовосстанавливающих бактерий. Из проб подземных вод вблизи водоема Б2 в чистую культуру была выделена *Shewanella xiamenensis*, известная способностью восстанавливать железо [] уран, технеций.

Таблица 7 Численность бактерий цикла железа в пробах из скважин кл./мл

Глубинный горизонт пл 18					Верхний горизонт Б2	
Г-2	Р-21	С-37	А-44	С-49	Б2-37	Б2-32
10	10	10	$\geq 10^2$	н/о	10	$\geq 10^2$

В данном пункте работ были проведены эксперименты микробного преобразования пирита, сидерита и гематита, для чего навески минералов были помещены в пластиковую воду верхнего и нижнего горизонта и проведено культивирование в течении 40 дней при комнатной температуре в герметично закрытых флаконах. В аликвотах, отобранных в разные временные интервалы было определено содержание железа. Результаты приведены на рис 3-5.

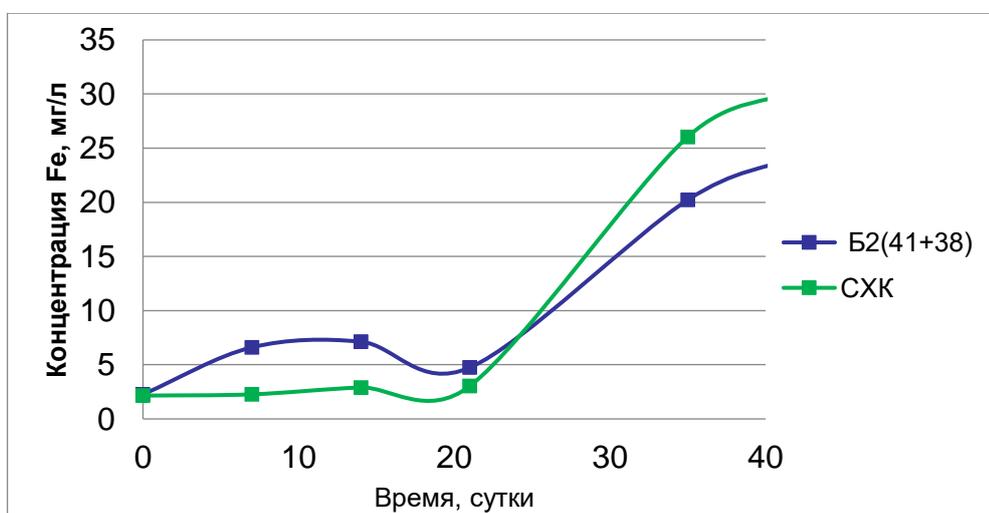


Рис.3. Выщелачивание железа из **пирита** микробными сообществами

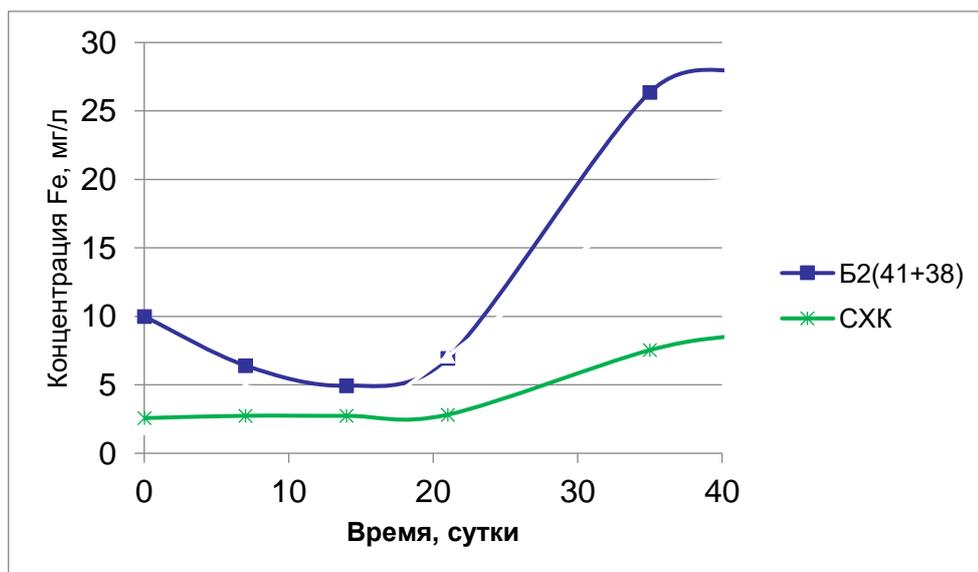


Рис.4 Выщелачивание железа из **биотита** микробными сообществами.

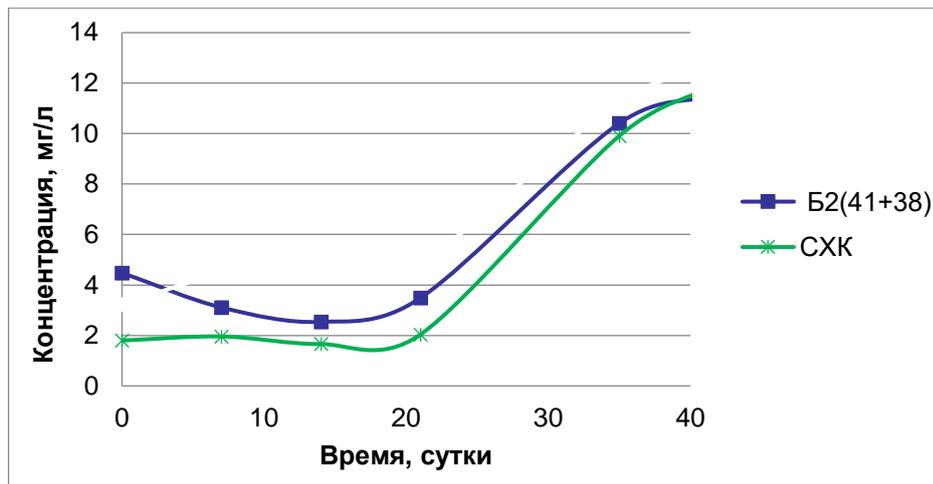


Рис.5. Выщелачивание железа из **сидерита** микробными сообществами.

Наибольшая интенсивность выщелачивания железа наблюдается при микробных процессах при добавлении пирита и гематита, наименьшая при окислении сидерита. Это можно объяснить большим количеством железовосстанавливающих микроорганизмов в пластовой воде.

При этом железо, которое вышло в раствор из минерала будет преобразовываться, откладываясь в виде вторичных минеральных фаз, поскольку соединения железа +3 имеют меньшую растворимость, чем двухвалентного.

Следующим этапом работы был модельный эксперимент по оценке кинетики окисления и восстановления железа, когда в пробу пластовой воды верхнего и глубинного горизонта добавляли двух и трёхвалентное железо рис 6-9. Процесс окисления железа проходил в аэробных условиях. На основании полученных данных составлена таблица.

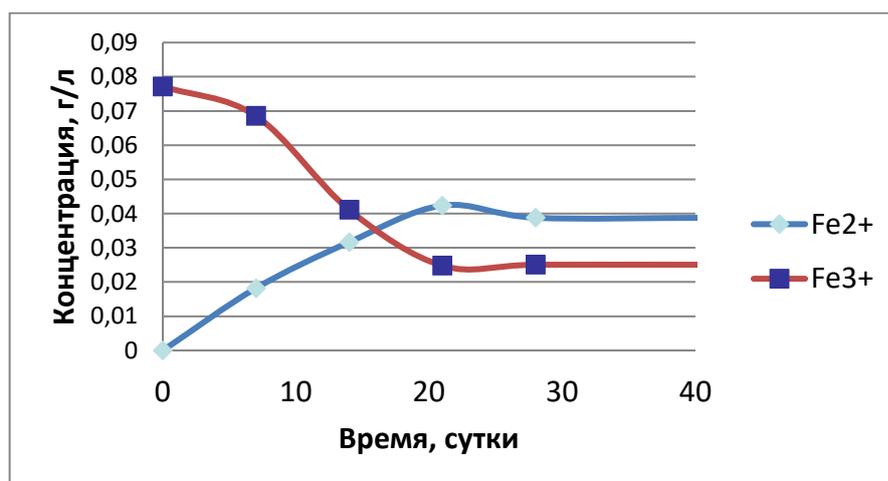


Рис.6. восстановление железа в пробе из верхнего горизонта

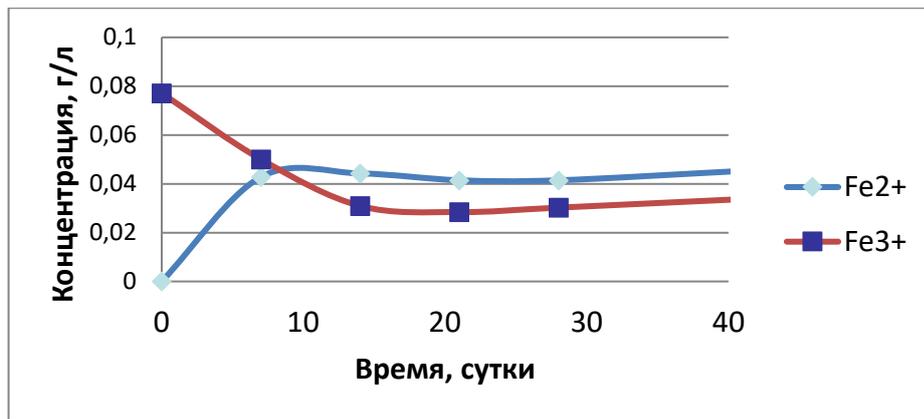


Рис.7 восстановление железа в пробе из глубинного горизонта

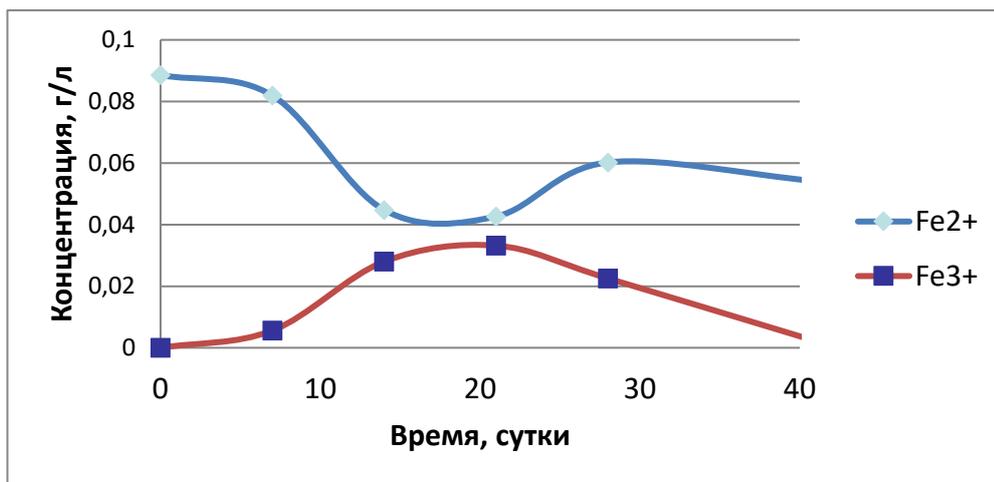


Рис.8. окисление железа в пробе из верхнего горизонта

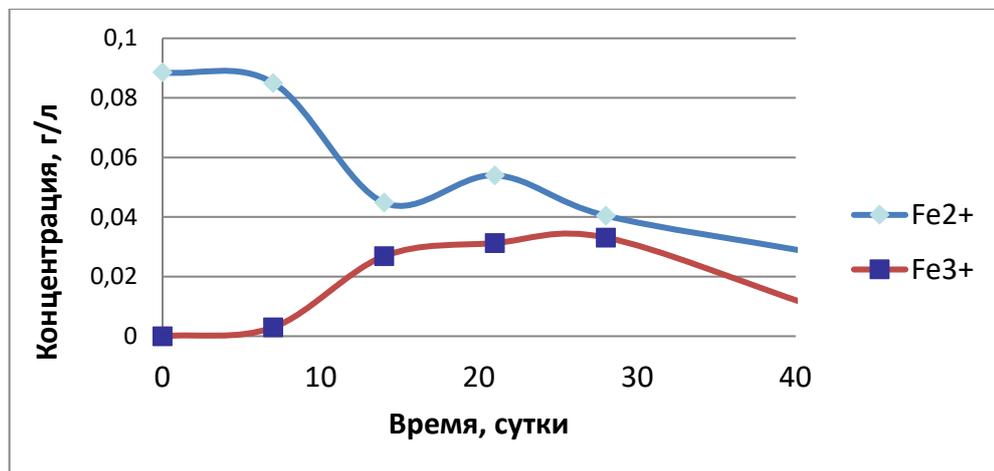


Рис.9 окисление железа в пробе из глубинного горизонта

Таблица 8.Скорость окисления и восстановления железа, мг/л/сут.

Проба	Средняя скорость	Пиковая скорость	Средняя скорость	Пиковая скорость

	восстановление		окисление	
пов	1,4	2,2	0,5	2
глуб	1,1	3,2	0,8	2

В результате этих экспериментов установлено, что железо, выщелоченное из минералов, будет подвергаться дальнейшим преобразованиям. Наиболее интенсивно протекают процессы восстановления железа, которые приводят к образованию новых минеральных фаз, которые по большей степени рентгеноаморфны и трудно поддаются инструментальным методам анализа. Ниже приведены данные спектрального ^{57}Fe мессбауэрского анализа (таблица 9). Показано, что в образце присутствовала фаза трех и двухвалентного железа.

Table 9. ^{57}Fe hyperfine parameters of **sample #3** at $T = 295$ K.

Spectrum	Phase	δ , mm/s	ε^* , mm/s	H_{hf} , kOe	I , %
Fe(1)	Fe^{3+}	0.35(2)	-0.11(2)	509(6)	9(1)
Fe(2)	Fe^{3+}	0.37(1)	0.30(1)	-	57(4)
Fe(3)	Fe^{3+}	0.37(1)	0.98(1)	-	8(4)
Fe(4)	Fe^{2+}	1.11(1)	1.32(1)	-	20(3)
Fe(5)	Fe^{2+}	1.00(4)	1.10(5)	-	6(4)

* quadrupole shift $\varepsilon = [e^2qQ^*(3\cos^2\theta-1)]/8$ for magneto-ordered phase Fe(1) and $\varepsilon = 4/2$ for paramagnetic components.

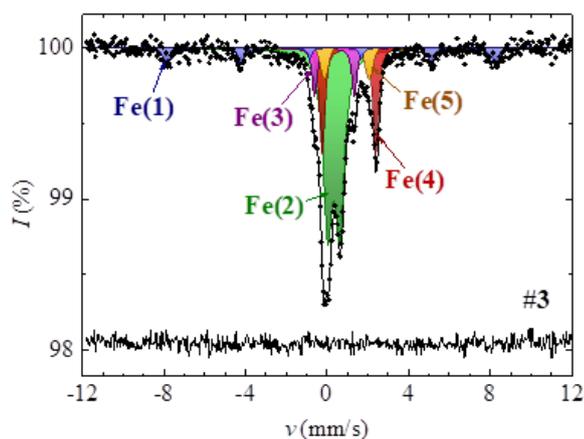


Рис.10 Спектр образца железистого осадка после восстановления ^{57}Fe

Расчет новообразованных фаз проводили с помощью программного кода PREEQC (табл). В основе расчета лежали данные изменения еН полученные в эксперименте выщелачивания минералов (рис 10).

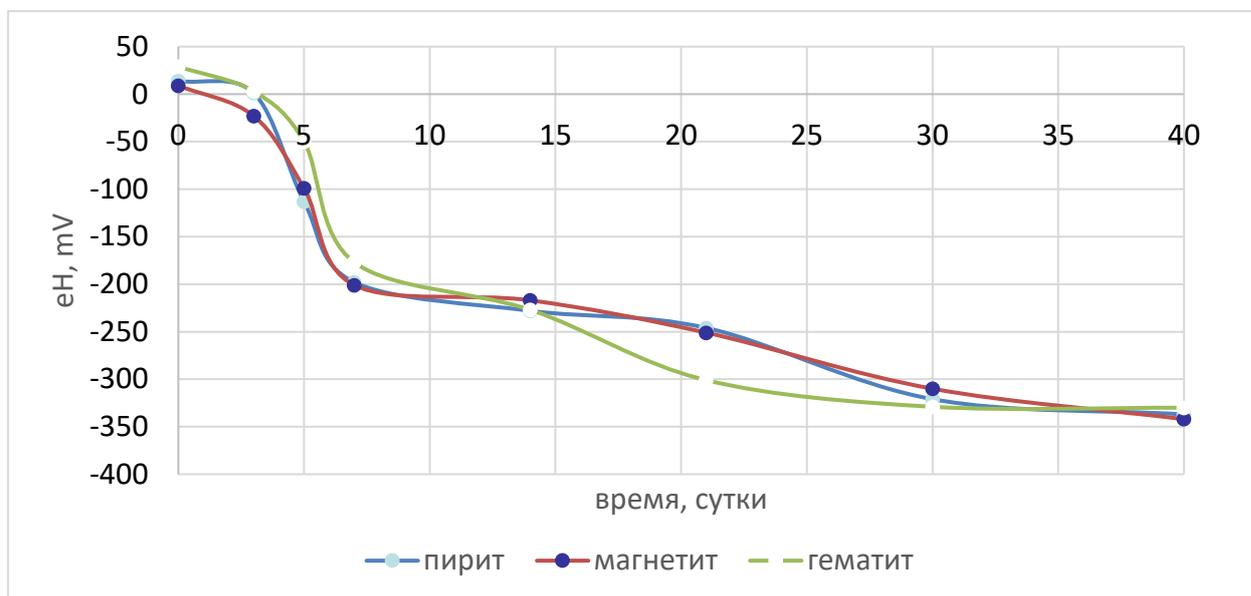


Рис.11. Изменение редокс-потенциала при микробном разрушении пирита, гематита и сидерита.

Табл 10. Значения индекса насыщения ($SI \geq 0$ фаза образуется) биогенных форм железа для глубинного горизонта

Eh, мВ	$Fe(OH)_3$	Hematite	Pyrite	Pyrrhotite	Siderite	Troilite
-50	<u>0,83</u>	<u>13,24</u>	-48,31	-30,18	<u>1,78</u>	-30,07
-200	-1,81	<u>7,94</u>	-10,92	-8,81	<u>1,80</u>	-8,71
-300	-3,12	<u>5,32</u>	<u>13,41</u>	<u>5,37</u>	-3,55	<u>5,48</u>
-400	-4,90	<u>1,77</u>	<u>10,16</u>	<u>5,52</u>	-16,00	<u>5,64</u>

Табл. 11. Значения индекса насыщения ($SI \geq 0$ фаза образуется) биогенных форм железа для верхнего горизонта

Eh, мВ	$Fe(OH)_2$	$Fe(OH)_3$	Hematite,	Pyrite	Pyrrhotite,	Troilite,
100	<u>2,18</u>	<u>15,94</u>	<u>0,20</u>	<u>2,52</u>	-4,04	<u>11,38</u>
0	<u>2,10</u>	<u>15,78</u>	-1,14	<u>2,96</u>	-6,74	<u>11,81</u>
-50	<u>1,77</u>	<u>15,11</u>	-2,03	<u>2,97</u>	-8,50	<u>11,82</u>

-200	-0,67	<u>10,21</u>	-4,71	<u>2,97</u>	-13,8	<u>11,82</u>
-300	-1,70	<u>8,16</u>	-8,37	<u>2,97</u>	-17,4	<u>11,82</u>
-400	-3,45	<u>4,67</u>	-22,60	<u>2,97</u>	-20,95	<u>11,82</u>

Таким образом, в результате микробного растворения железосодержащих минералов со временем могут образовываться новые минеральные биогенные фазы, типа пирита, пиротина и троиллита, характерные для нижнего горизонта и $Fe(OH)_3$ пирита, пиротина и троиллита для верхнего. В результате сорбционных экспериментов установлено, что образцы, подвергшиеся микробному воздействию по разному изменяют сорбционные параметры, по сравнению с необработанными (табл).

Таблица12 Коэффициенты распределения радионуклидов на минералах до и после микробного выщелачивания

минерал	Pu		Np		U	
	до	после	до	после	до	после
сидерит	5452	1015	62	44	53	332
пирит	1020	4082	104	163	17	199
биотит	1142	2046	28	39,4	19,1	374

Сорбционная емкость сидерита падает в 5 раз для плутония, для нептуния остается без изменения, а для урана значительно возрастает (в 66 раз). Для пирита наблюдается четырехкратное увеличение сорбции плутония, нептуний также значительно не изменяет характер взаимодействия, для урана наблюдается 10 кратное увеличение сорбции. Для биотита происходит значительное увеличение сорбции по урану, и двухкратное по плутонию, для нептуния коэффициент распределения также вырастает, но не столь значительно.

Для установления механизмов связывания было проведено последовательное выщелачивание по методике Тесье. Схема приведена в табл. 13.

Таблица 13. Схема последовательного выщелачивания актианидов с форм железа.

Стадия	Геохимическая форма нахождения радионуклидов	Реагенты	Время контакта фаз, ч, Т°С

I	Водорастворимая	Модельная вода	1, 20 ⁰ С
II	Обменная	1М NH ₄ ацетат; рН=4.5	2, 20 ⁰ С
III	Гидроксиды железа и гидроксид сульфаты низкой кристалличности	0,2М NH ₄ оксалат; рН=3.0, постоянное перемешивание	0.75, 20 ⁰ С
IV	Гидроксиды железа и гидроксид сульфаты высокой кристалличности	0,2М NH ₄ оксалат; рН=3.0, регулярное перемешивание	2, 80 ⁰ С
V	Органическая фракция и вторичные сульфиды	35% H ₂ O ₂	1, 80 ⁰ С
VI	Первичные сульфиды	6М HCl	3, 20 ⁰ С
VII	Остаточная	*	*

*Рассчитывается как разность количества сорбированного радионуклида и радионуклида, выщелоченного в процессе всех стадий последовательного выщелачивания.

В случае пирита изменения в распределении форм нахождения сорбированного радионуклида по фракциям последовательного выщелачивания практически не наблюдалось. Вследствие высокого содержания пирита объем реагентов, необходимых для V фракции был увеличен, также было увеличено время контакта, обработка на V стадии последовательного выщелачивания проводилась до прекращения реакции, которая бурно протекала практически до полного растворения исследуемых образцов как необработанного пирита, так и пирита после микробной обработки. Наибольшее количество сорбированного радионуклида на всех образцах выщелачивалось в ходе второй и третьей стадии обработки. Согласно литературным данным это соответствует поверхностной сорбции или обменному механизму сорбции и аморфным фазам железа соответственно.

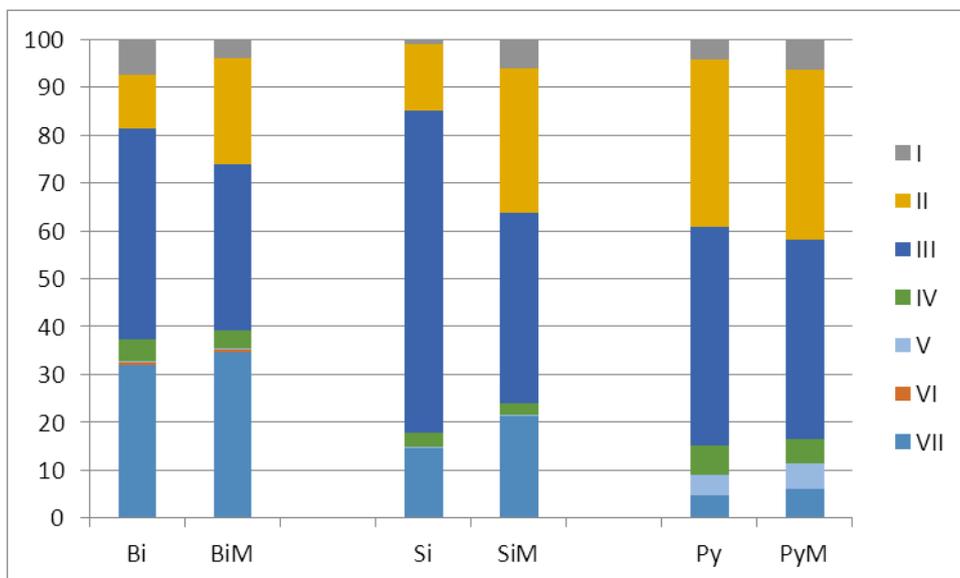


Рисунок 12. Распределение сорбированного плутония по формам нахождения на образцах минералов без обработки и после микробной обработки образцов.

Микробиологическая обработка образцов биотита и сидерита приводит к заметному перераспределению форм нахождения сорбированного плутония, при этом наблюдается значительное увеличение доли радионуклида, выщелачиваемой на второй стадии, а доля третьей фракции уменьшается.

В случае нептуния степень сорбции на всех образцах была ниже соответствующих значений для плутония. Наибольшая степень сорбции наблюдалась на пирите. При этом микробиологическая обработка незначительно снижала долю сорбированного радионуклида, а доля более подвижных форм нептуния увеличивалась. В случае сидерита также можно отметить снижение доли сорбированного радионуклида для образцов после микробиологической обработки. При этом доля сорбированного радионуклида, находящегося в более подвижных формах увеличивается. Биотит обладает более низкой сорбционной активностью по отношению к нептуню сравнительно с остальными исследованными материалами. При этом после микробиологической обработки коэффициент распределения несколько увеличивается, а доля радионуклида, находящегося в подвижной форме, также увеличивается, как и во всех исследованных образцах минералов.

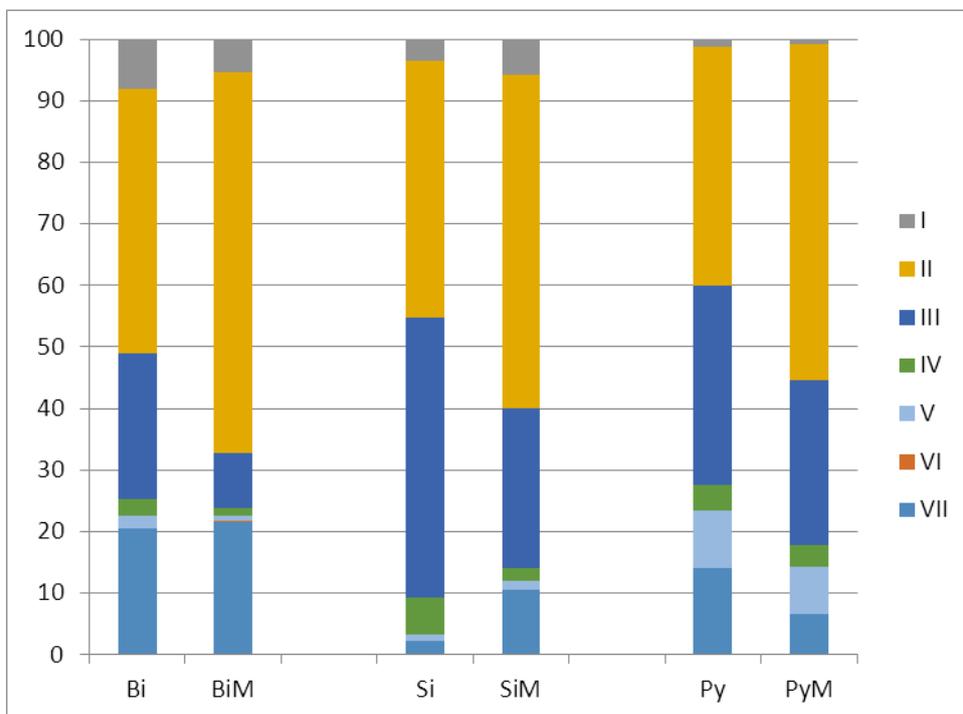


Рисунок 13. Распределение сорбированного нептуния по формам нахождения на образцах минералов без обработки и после микробной обработки образцов.

4. Определение кинетики образования биокolloидов в растворе, оценка их размера и, изучение взаимодействия с железом, нептунием, ураном и плутонием. Оценка состояния окисления актинилов.

Сорбционные эксперименты, представленные в разделах 1-3, были проведены на вмещающих породах в том числе подверженных биогенному воздействию. Однако важным элементом подземной миграции радионуклидов является коллоидный перенос. Причем последний в зависимости от геохимических условий может быть, как механизмом ускоренного транспорта, так и геохимическим барьером. Поэтому данный раздел содержит полученные результаты по сорбции на коллоидном материале.

Оценка форм нахождения радионуклидов в реальных водах была проведена на пробах из поверхностного горизонта около бассейна Б-2 (Б2/32 и Б2/38), и глубинного горизонта (А-3, С-37 и Р-21). Отбор образцов осуществляли на комбинате, пропуская воду с помощью насоса через стеклянный фильтр 0,45 мкм. Сосуд с отобранными образцами (5 литров) находился в атмосфере азота.

Химический анализ и ультрафильтрацию проводили сразу после пробоотбора. В работе использовали ядерные фильтры и стандартные фильтрационные модули при постоянном давлении (N_2) около 300 кПа (Novikov et al., 1988).

Состав природной воды приведен в Таблице 7.

Таблица 14. Химический состав проб жидкости, мг/л

Скважина	Б-2/38	Б-2/32	А-3	С-37	Р-21
Место	Б-2	Б-2	Пл.18	Пл.18а	Пл.18
Горизонт	VI (в)	VI (в)	III (ср)	II(н)	III (ср)
Солесодержание	3952.0	109.0	553.0	2155.0	1219.0
рН	6.58	6.41	7.80	7.03	6.47
Окисляемость	13.10	5.11	1.27	1.18	0.13
Fe(общ)	0.25	2.38	0.10	0.74	13.08
Na ⁺	604.0	3.41	59.38	256.50	65.90
K ⁺	3.09	0.59	7.59	10.82	7.85
Ca ²⁺	316.60	15.39	40.86	134.70	110.30
Mg ²⁺	63.20	2.76	13.95	75.56	52.0
NH ₄ ⁺	7.64	<0.5	<0.5	<0.5	0.69
NO ₃ ⁻	2517.0	0.77	84.11	1082.0	<0.1
SO ₄ ²⁻	72.40	0.84	47.72	27.00	451.30
Cl ⁻	4.52	2.26	6.85	5.03	7.58
HCO ₃ ⁻	331.0	67.10	210.50	387.40	229.00
NO ₂ ⁻	<0.2	<0.2	1.26	0.61	<0.2
CO ₂	60.80	19.40	5.0	32.10	71.70
β- активность Бк/л	460.0	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9

Для оценки прочности связи актинидов с различными фракциями коллоидов был использован метод селективного выщелачивания, причем параметром, характеризующим прочность связи, по аналогии с методом комплексообразовательной ультрафильтрации, можно принять степень удерживания, рассчитываемую по уравнению:

$K_d = (A_s/A_v) \times a_i$, где A_s – начальная активность нуклида на единицу площади фильтра, A_v – концентрация нуклида в промывном растворе после промывки, a_i – удельная поверхность промываемой мембраны равная отношению площади мембраны и объема промывного раствора S/V .

Диаметр лавсановых мембран для фильтрации подземных вод составлял от 4 до 8 дюймов, эксперименты по выщелачиванию проводили на стандартных фильтрационных ячейках с диаметром мембраны 1 дюйм.

Селективные растворы для выделения различных фракций соответствует схеме, предложенной в работе (Tessier, A., 1979) Таблица 3.

В модельных экспериментах (таблица 8) были использованы актиниды (^{233}U , ^{237}Np , ^{239}Pu) в концентрациях 10^{-9} – 10^{-8} М. Эксперименты проводили как на природной воде Б-2/38, так и на модельном низкоминерализованном растворе, составом (мг/л) NaHCO_3 -25,2,, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 36,6 $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 233,8 MgCO_3 -3,2 в запечатанных пенициллиновых флаконах. Объем жидкой фазы составлял 10 мл. Газовой фазой служил аргон.

Для стимулирования микробного комплекса использовали органические добавки, содержащие по 1 г/л ацетат натрия и глюкозы. В ряд проб с модельной водой были добавлены 100 мг/л глины (месторождения 10 хутор Хакассия (Belousov 2019) и 100 мг/л FeCl_3 . в модельную воду было добавлено 0,5 мл природной воды с микробным сообществом подземных вод верхнего водоносного горизонта (Б2-38).

Таблица 15. Параметры модельного эксперимента

Образец	маркировка
Вода модельная	М
Вода модельная + органическая добавка	МО
Вода модельная + глина	МГ
Вода модельная + глина + органическая добавка	МГО -
Вода модельная+ FeCl_3	МЖ
Вода модельная + FeCl_3 +органическая добавка	МЖО
Вода природная (Б2-38)	ВП
Вода природная (Б2-38) +органическая добавка	ВПО

Содержание ^{233}U и ^{239}Pu определяли альфа-спектрометрически, содержание ^{237}Np – люминесцентным методом (Novikov, 2016).

Для определения размеров клеток и коллоидов использовался метод *динамического светорассеяния и дзета-потенциала* (Анализатор размеров частиц и дзета-потенциала Photocor Compact-Z). Данный метод основан на измерении временных флуктуаций интенсивности рассеянного света.

Содержание белка в пробе определялось по методу Лоури. Метод основан на биуретовой реакции белков с солями меди в щелочной среде и восстановлении вольфрамата, входящего в состав реактива Фолина, с образованием окрашенных продуктов. 2,5 мл раствора С + 0,5 мл исследуемого раствора выдерживаются в темноте 10 мин. Затем

добавляется 0,25 мл реактива Фолина, выдерживается 30 мин. Измерение оптической плотности проводилось при длине волны 750 нм.

Определение углеводов проводили фенолсернокислым методом Дюбуа. Измерение оптической плотности проводится при длине волны 480 нм.

Подсчет клеток в пробах проводили методом оптической микроскопии при увеличении в 1000 раз с использованием камеры Горяева.

Определение значений pH и Eh проводилась с использованием соответствующих электродов производства ООО «Эконикс эксперт», с использованием иономера «Анион».

Определение органического вещества в жидкости проводилось на элементном анализаторе «Elementar Vario EL III» (почвенный факультет МГУ).

Для оценки размеров коллоидных частиц использовали метод каскадной фильтрации с фильтрами производства «Владипор», вставленными в шприцевые насадки. Использованы фильтры с диаметрами пор 2,4; 1,2; 0,8; 0,4; 0,22; 0,1; 0,05; 0,01 мкм.

Как показали фильтрационные исследования (каскадная фильтрация, Рис. 3) самое низкое содержание органического вещества было в исходной глубинной пробе, около 100 мг/л. Более половины из него относилось к частицам крупнее 1200 нм. Это могут быть клетки бактерий, и другие крупные частицы. В исходной приповерхностной пробе содержание органического вещества достигало 200 мг/л, при этом количество крупных фракций было сопоставимо с глубинной пробой, а основное отличие было в содержании органических частиц размером 220-100 нм, к которым могут относиться гуматные и фульватные комплексы.

Микробные процессы в пробе пластовой жидкости через 14 суток привели к уменьшению содержания крупных частиц 100-2400 нм (глинистых и железистых взвесей) за счет их агрегирования и соосаждения и увеличению содержания частиц менее 100 нм, относящихся к биогенным коллоидам и псевдоколлоидам. Особенно увеличивается содержание частиц менее 10 нм (биогенные поли- и олигомеры).

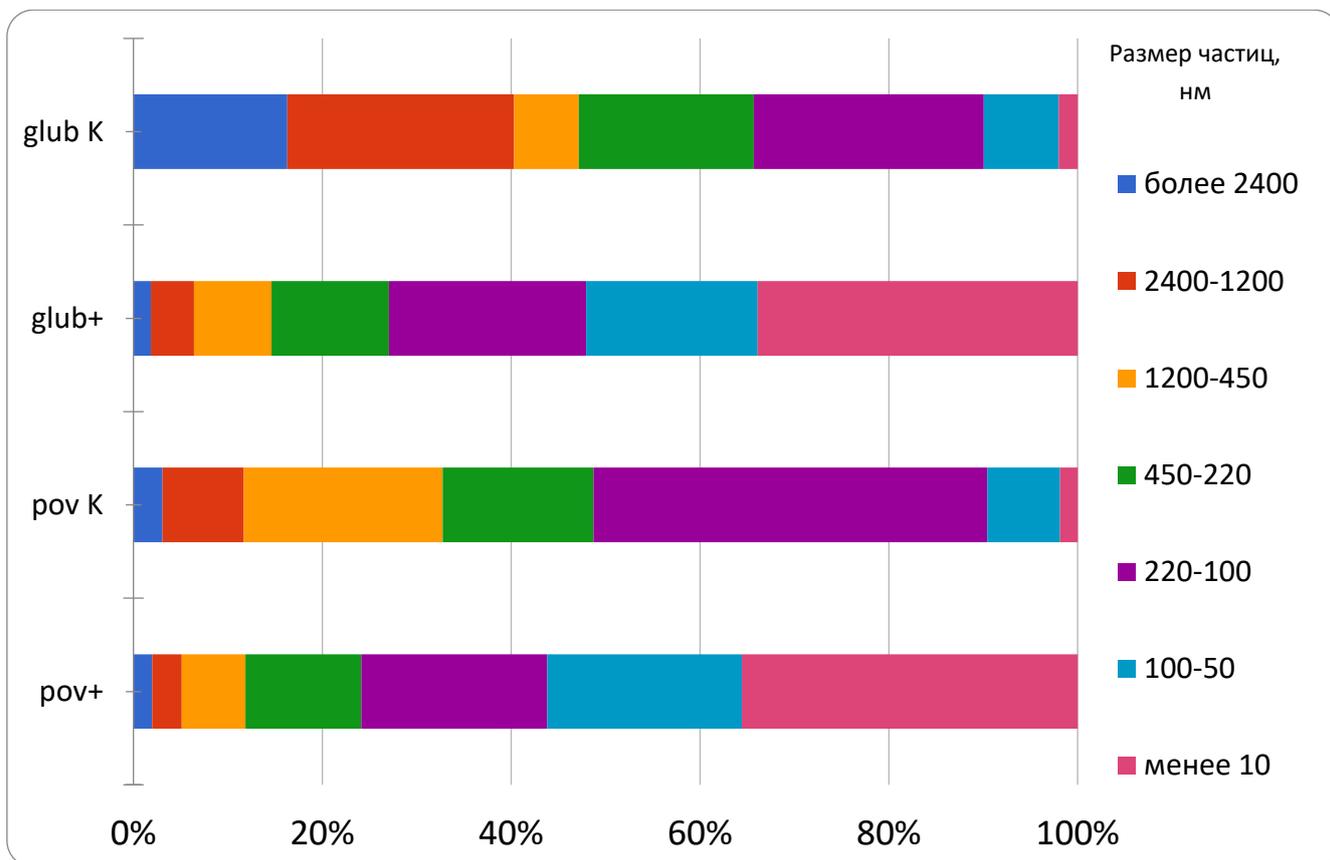


Рис. 14. Нормированное распределение органического вещества по размеру частиц (нм) в глубинной Р-21 (glub) и приповерхностной Б2/32(pov) после микробной активации (+) и без нее (К)

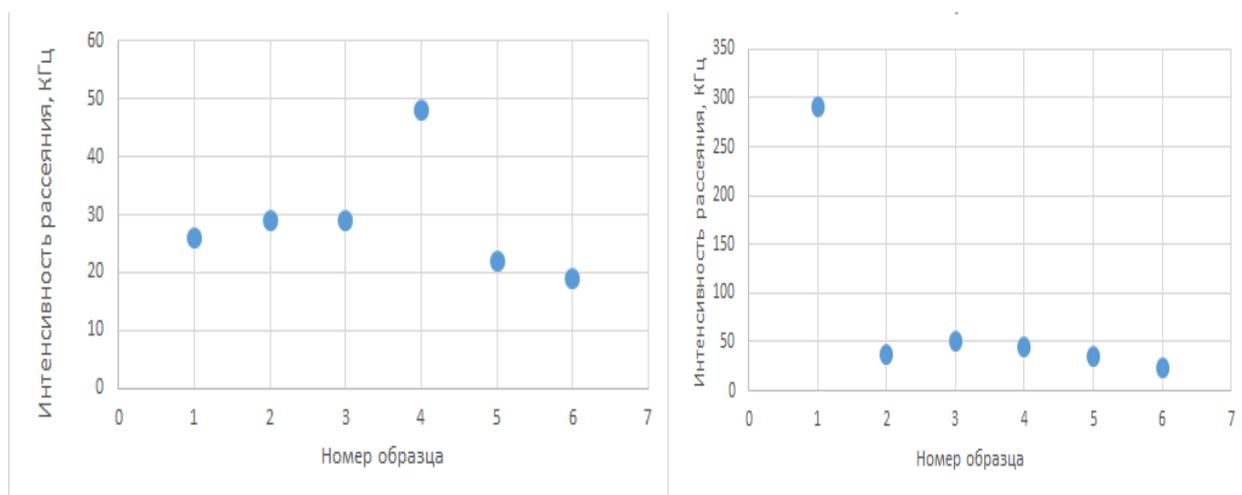
Нормирование полученных при фильтровании данных позволяет детально сравнить вклад каждой из фракций до и после биологического процесса.

Для глубинной пробы после микробной активации увеличился вклад частиц с диапазоном размеров 100-50 нм и 450-220 нм, в эти диапазоны попадают истинные биокolloидные частицы. При этом значительно уменьшается вклад крупных органических частиц (псевдокolloидов и клеток) за счет их частичного микробного потребления или за счет увеличения в размерах и дестабилизации, или налипания на клетках.

Для пробы из приповерхностного горизонта также отмечается увеличение вклада истинных органических коллоидных частиц (размером 100-50 нм), при этом доля частиц 220-100 нм (возможно гуматно-фульватного комплекса) заметно уменьшается, возможно по причине их потребления или по причине агрегирования в более крупные фракции. При этом, доля всех крупных фракций уменьшилась.

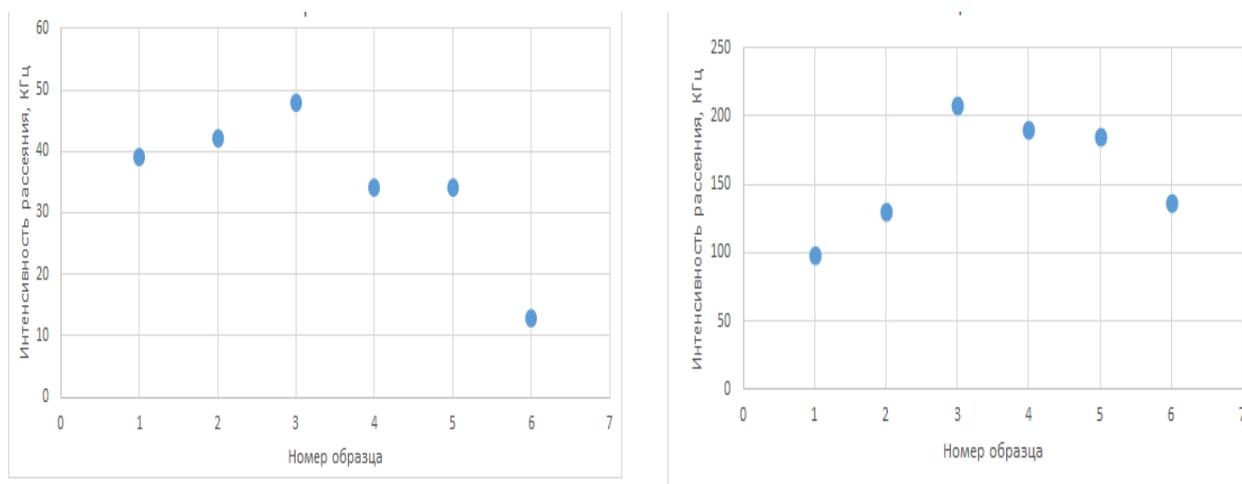
Стоит отметить, что в исходных пробах фракция частиц размером 100-220 нм может включать и так называемые нано- или ультрамикробактерии – клетки особо мелких форм,

которые могут увеличиваться в размерах при поступлении органических веществ или так же оставаться мелкими.



А-глуб.К

Б-глуб +



В – пов К

Г-глуб+

Рис 15. Интенсивность рассеяния света образцами фильтрата глубинной и поверхностной жидкости (К-без микроорганизмов) + после микробных процессов (2 недели)

Номера образцов нм,: 1-крупнее 2400, 2- 2400-1200, 3-1200-450; 4- 450-220; 5- 220-100, 6- 100-50; 7- менее 10

Поскольку в эксперименте могли образовываться частицы сложной природы, например органоминеральные комплексы железа, содержащегося в природной воде, глинистых частиц (особенно это актуально для вод верхних водоносных горизонтов), был проведен анализ размера частиц с использованием метода динамического рассеивания света. В данном эксперименте наиболее информативным оказалось изменение интенсивности рассеяния света (Рис. 4). В пробе из глубинного горизонта максимальную интенсивность давали частицы размера 450-220 нм (возможно глинистые агрегаты или

железистые коллоидные частицы). После микробной обработки доля остальных частиц возросла, максимальный вклад в светорассеяние стали давать частицы самого крупного размера – возможно клетки или агломерировавшие глинистые частицы. Данные ДРС образцов фильтрата из приповерхностного горизонта позволяют предположить, что до микробной активации доминировали частицы размером 1200-450 нм (возможно глинистые и железоглинистые агрегаты), после наблюдалось увеличение интенсивности коллоидных частиц всех размеров, доминировали опять же частицы размером 1200-450 нм, значительный вклад в увеличение которых дали микробные клетки средних размеров. Данные по изменению средних гидродинамических радиусов представлены в табл 13.

Табл. 16. Изменение гидродинамических радиусов, нм

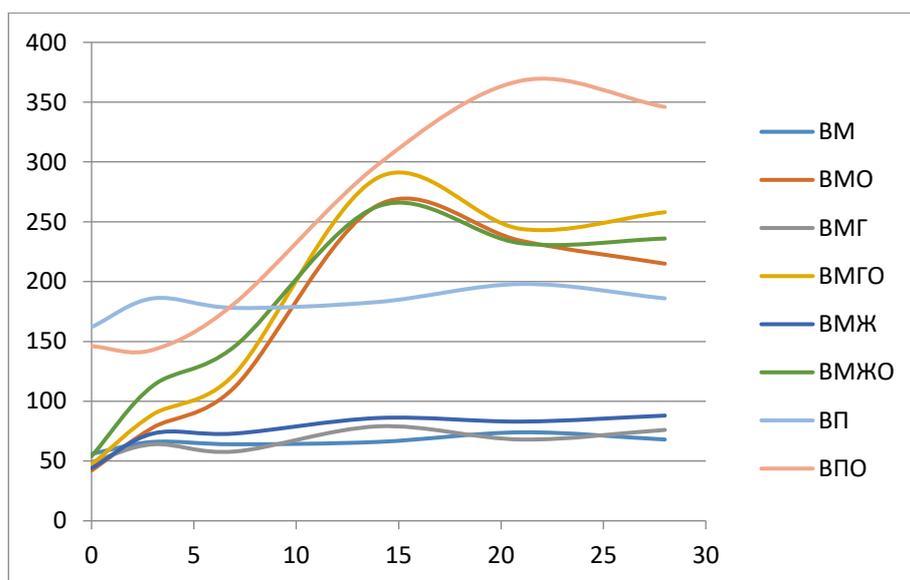
образец	сутки				
	3	7	14	21	28
ВМ	-	-	-	-	23
ВМО	92	123	72	38+169	113
ВМГ	132	83	92	94	160
ВМГО	128+25	125	95	98	110
ВМЖ	128	125	95	98	110
ВМЖО	104	150	160	92	-
ВП	75	97	122	121	140
ВПО	50	74	87	169	395

В модельной воде без добавления органики не происходило образования коллоидных частиц, только к концу эксперимента наблюдали образование частиц, возможно связанных с преобразованием коллоидного вещества, попавшего из аликвоты природной воды, добавленной для внесения микроорганизмов. При добавлении глюкозы к модельной воде уже на третьи сутки наблюдали образование коллоидной фазы и постепенное укрупнение частиц. Средние стабильные гидродинамические радиусы частиц были в районе 100 нм. При добавлении глины к модельной воде произошло образование стабильных коллоидов со средними гидродинамическими радиусами 80-90 нм, укрупнение частиц на последнем этапе возможно связано с медленно протекающими из-за нехватки донора электронов биологических процессов. В результате стимулирования глюкозой микробных процессов произошло укрупнение частиц и возможно их седиментация.

Добавление железа к модельной воде привело к образованию частиц с гидродинамическими радиусами в районе 100 нм, стимулирование биологических процессов приводило к укрупнению частиц и образованию новых (к 21 суткам) к 28 суткам произошла полная седиментация частиц.

В пробах природной воды без добавления органики наблюдали разнообразие размеров частиц и их постепенное равномерное укрупнение. При микробных процессах укрупнение частиц происходило неравномерно и к концу эксперимента наблюдали достаточно крупные стабильные частицы (395 нм).

Таким образом протекание микробных процессов может существенно сказаться на образовании и стабильности частиц. Со временем эксперимента, роль органического биогенного вещества возрастает: увеличивается содержание белка и клеток в растворах, в конце эксперимента количество органического вещества изменяется за счет его дополнительного выхода при гибели клеток (Рис. 5 и 6).



концентрация клеток ед/мл

Рис 16. белок и численность клеток

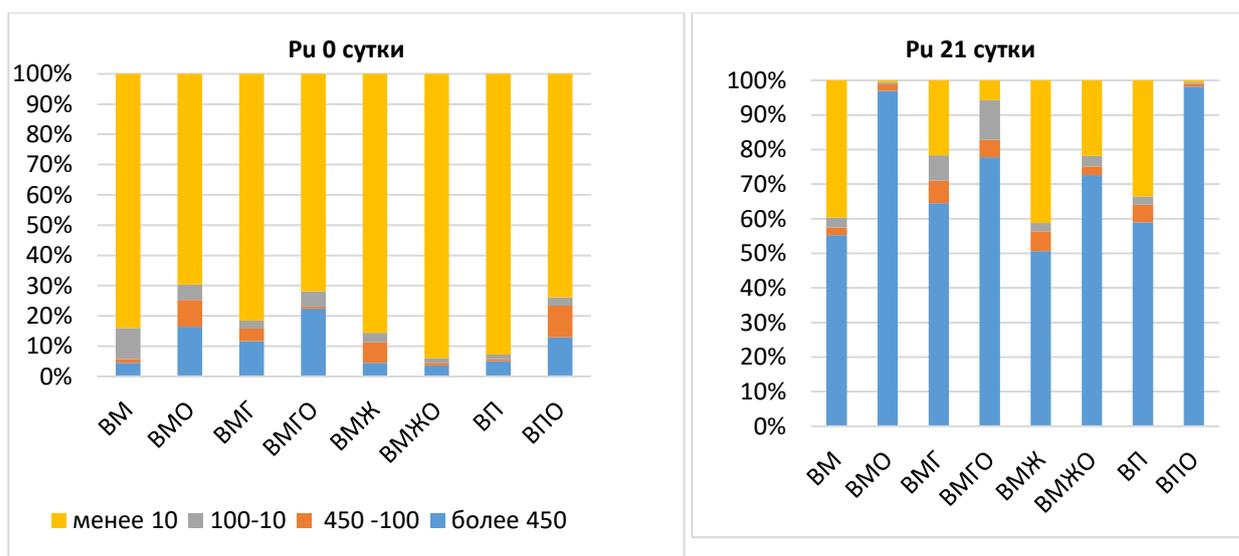
Кинетика развития биомассы в пробах позволяет прогнозировать два временных пика образования органического вещества: на этапе интенсивного развития 10-15 сутки и на этапе интенсивного отмирания клеток - 20-30 сутки.

Появление органического вещества клеток и их метаболитов может сказаться на стабильности за счет увеличения заряда, однако не в одном из случаев не происходит снижения до -30 мВ – характеризующее как высокоустойчивые системы.

Табл. 17. Значения дзета-потенциалов систем, мВ

образец	время		
	0	15	28
ВМО	-10,09	-7,508	-10,398
ВМГ	-6,486	-6,486	-6,486
ВМГО	-10,027	-10,027	-10,027
ВМЖО	-1,121	-1,121	-1,121
ВПО	-0,493	-11,79	-5,166

На рис. 17 представлены диаграммы распределения актинидов по размеру коллоидных частиц в растворах различной природы в зависимости от времени выдержки модельных растворов.



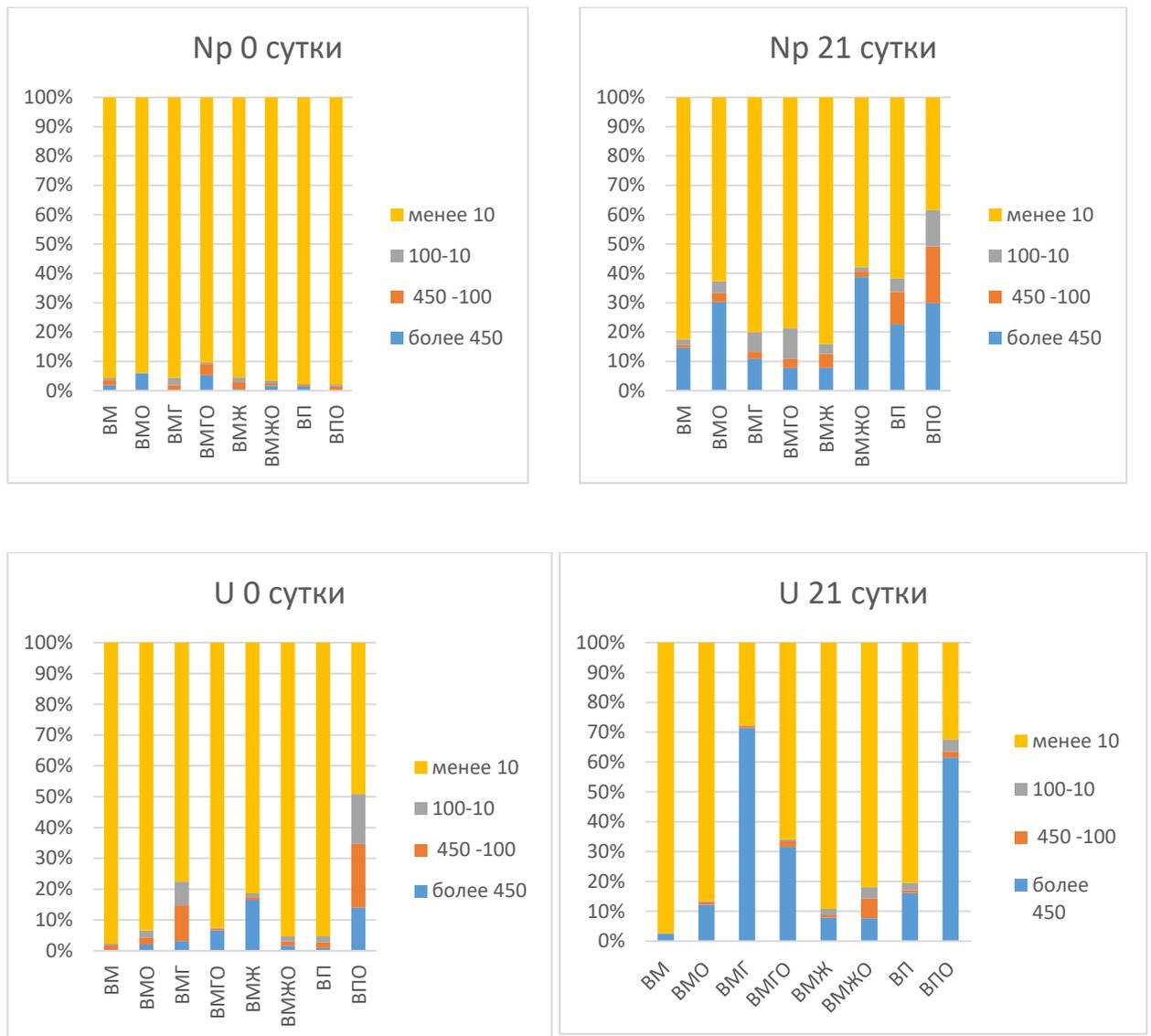


Рис. 17. Распределение актинидов по размеру коллоидных частиц в растворах различной природы в зависимости от времени выдержки модельных растворов.

По полученным результатам можно сделать следующие выводы:

1. В модельной воде плутоний(IV) в результате глубокой гидролитической полимеризации образует истинные коллоидные ассоциаты (до 50%). Нептуний(V) за счет небольшого диспропорционирования (на 10%) также частично адсорбирован. Уран(VI) стабильно находится в составе растворимых карбонатных комплексов.

2. В составе модельной воды с микробиотой в результате роста значения pH и уменьшения значения Eh в составе крупных коллоидных частиц находится 99% плутония, 30% нептуния и 10% урана. К сожалению ультрафильтрация не дает возможность оценить вклады возможного восстановления актинидов и биосорбции в процесс коллоидообразования.

3. Микробиота и глина способствуют стабилизации плутония и урана, но не нептуния, в крупных коллоидных частицах. Добавка железа не повлияли на коллоидообразование актинидов, но железо вместе с микробиотой существенно увеличили коллоидообразование нептуния.

4. В природной воде все актиниды заметно выше, чем в модельной воде находятся в составе коллоидных частиц различного размера. Это объясняется прочной связью с коллоидным веществом (Табл. 7). В природной воде с микробиотой наблюдается самая высокая степень включения актинидов в коллоидное вещество.

В табл. 18 представлены данные по изменению величин рН и Eh в процессе коллоидообразования и включения актинидов в состав ассоциативных и возможно, истинных коллоидных частиц.

Наиболее сильно значения рН и Eh изменяются при присутствии в модельном растворе микробиоты. Величина рН несколько возрастает, а величина Eh переходит в отрицательные значения, что потенциально создает условия для смещения форм окисления актинидов в низшие состояния окисления. Учитывая, что Ac(IV) - наиболее сорбируемая форма актинидов, это может способствовать их ассоциации с коллоидным веществом различной природы.

Табл. 18. Величины рН и Eh в зависимости от времени выдержки модельных растворов.

Тип модельного раствора	рН			Eh		
	0 дней	7 дней	21 день	0 дней	7 дней	21 день
ВМ	7,86	7,92	7,89	125	103	105
ВМО	7,75	8,34	8,32	106	-30	-102
ВМГ	8,03	8,08	8,11	75	35	31
ВМГО	7,86	8,86	8,46	76	-22	-83
ВМЖ	8,1	8,15	8,21	25	2	13
ВМЖО	7,94	8,54	8,3	109	-20	-128
ВП	8,88	8,62	8,7	141	39	0
ВПО	8,65	8,68	8,58	146	-43	-136

Изменение значений рН и Eh объясняется ростом численности клеток бактерий.

Выводы:

1. Микробные процессы могут приводить коагуляции природных коллоидов и их за счет образования отрицательного заряда поверхности. Добавление двухвалентных катионов (например, Ca, Mg) при биоремедиации должно усиливать этот процесс и служить эффективным механизмом уменьшения риска коллоидообразования.
2. При добавлении актинидов в растворах, по завершении биогенных процессов, отмечается образование крупных частиц с ураном, плутонием и нептунием, связанных с клетками и крупными биополимерами (белково-полисахаридными биопленками), что способствует уменьшению миграционной активности металлов.
3. Образование мелких частиц от 10 до 100 нм в ряде случаев может приводить к увеличению миграции связанных с ними актинидов, однако, значения их дзета-потенциалов характеризуют их как малостабильные частицы, способные к слипанию и дальнейшей дестабилизации.

5 Изучение морфо-физиологических и физиолого-биохимических характеристик ультрамикробактерий, обитающих в водоносных горизонтах. Будет определена биосорбция и восстановление радионуклидов плутония, нептуния и урана выделенными штаммами для оценки возможности их участие в транспорте радионуклидов.

При молекулярно-биологическом исследовании этих загрязненных радионуклидами и нитратами подземных вод, нами было отмечено присутствие большого количества последовательностей генов 16S рРНК некультивируемых бактерий филума-кандидата *Parcubacteria* (OD1) в библиотеках клонов двух исследованных проб подземных вод [Nazina et al., 2016 in press]. Последовательности *Betaproteobacteria*, в составе которых преобладали гены бактерии *Polynucleobacter necessarius* subsp. *asymbiomaticus* порядка *Burkholderiales*, составляли более 20% от общего количества последовательностей в одной из библиотек. Известно, что эта аэробная хемоорганотрофная несимбиотическая бактерия растет на минеральной среде с витамином B₁₂, используя узкий круг субстратов (ацетат, пируват, малат и др.) в аэробных условиях или как факультативный анаэроб [Hahn et al., 2009]. Методом FISH показано, что представители этой филогенетической группы составляют от 1 до 60% от общей численности бактерий в водной толще разных пресноводных местообитаний [Hahn et al., 2005].

Среди клонированных последовательностей микроорганизмов подземных вод нами были выявлены также гены экстремально олиготрофной морской ультрамикробактерии, принадлежащей к таксону-кандидату “*Candidatus Pelagibacter ubique*” [Nazina et al., 2015 in press]. Гены представителей этой группы (SAR11 clade of α -proteobacteria) составляют до 26% от общего числа последовательностей в библиотеках клонов морского бактериопланктона [Rappé et al., 2002].

. Большинство штаммов, приведенных в таблице 3, были выделены в результате фильтрации проб подземных вод через мембранные фильтры с размером пор 0.22 мкм, и посева полученного фильтрата на питательные среды с разными органическими субстратами

Большинство выделенных штаммов отличалось приспособленностью к условиям местообитания. Штаммы росли при низкой температуре (4-13°C), в широком интервале солености среды. 10 из 12 выделенных штаммов росли аэробно на ацетате, который наряду с оксалатом и ЭДТА является одним из загрязнителей подземных вод. При анаэробном росте в среде с ацетатом натрия бактерии не восстанавливали Fe(III), три штамма восстанавливали нитраты до стадии нитритов и один штамм – *Arthrobacter sulfureus* JR1/1–8в восстанавливал нитраты до молекулярного азота.

Чистые культуры бактерий рода *Pusillimonas*, штаммы JR1/69-2-13 и JR1/69-3-13, были выделены из пробы подземных вод из наблюдательной скважины 1/69, что свидетельствует о распространении и приспособленности этих бактерий к условиям местообитания. Для обоих штаммов филогенетически близким видом был *Pusillimonas harenae* (98% сходства генов 16S рРНК). Бактерии на плотных средах формировали светло-розовые колонии. Клетки были представлены мелкими палочками, которые у штамма JR1/69-3-13 передвигались за счет жгутика (рис. h). Штамм JR1/69-2-13 образовывал слизь и накапливал внутриклеточные запасные вещества по структуре напоминающие полигидроксиалканоаты (рис. 2б). Оба штамма росли аэробно на ацетате, концентрация которого в пробах из скважин 14/68 и 2/68 составляла 795 и 921 мг/л соответственно [Nazina et al., 2016 in press]. Штаммы JR1/69-2-13 и JR1/69-3-13 росли в широком интервале температуры (от 5 до 35°C) и солености среды (от 0 до 3 и от 0 до 5% NaCl соответственно) с оптимумом при 3% NaCl. Несмотря на высокое содержание нитратов в подземных водах оба штамма не восстанавливали нитраты до нитритов или молекулярного азота в среде с ацетатом. Не росли они также анаэробно на ацетате за счет восстановления Fe(III).

Ацетат был основным используемым субстратом как выделенных нами, так и ранее описанных штаммов рода *Pusillimonas*, который в настоящее время включает 4 вида –

Pusillimonas noertemanni, *Pusillimonas ginsengisoli*, *Pusillimonas soli* и *Pusillimonas harenae* [Stolz et al., 2005; Park et al., 2011]. Отмечаются экстраординарные деградативные способности этих бактерий и способность расти при пониженной температуре [Stolz et al., 2005]. Бактерия *Chryseobacterium haifense* J1-13Тb была выделена из бинарной культуры, содержащей также *Stenotrophomanas maltophilia* J3/2-2-1. Бинарная культура была получена высевом подземной воды на среду для аэробных бактерий с бакто-триптоном, дрожжевым экстрактом и глюкозой, минуя стадию ультрафильтрации. На тотальных препаратах клетки бактерии *Chryseobacterium haifense* J1-13Тb имеют сферическую, овальную, бобовидную или палочковидную форму. Их размер составляет 0.6–0.9х1.3–2.5 мкм у среднего размера палочковидных клеток и 0.1–0.2 × 0.4–0.9– у ультрамелких форм. На клетках видны отдельные почковидные образования и цепочки из нескольких кокковидных форм. Размножение штамма J1-13Тb происходит несколькими путями, аналогично тому, как это было описано Сузиной и соавторами [] для других штаммов *Chryseobacterium*. Отмечено почкование кокковидных и палочковидных клеток, отделение мелких кокковидных клеток на полюсах палочковидных клеток, септация палочковидных клеток по всей длине с образованием множества мелких кокковидных клеток, иногда – бинарное деление. При делении палочковидных форм дочерние и материнские клетки располагаются под углом друг к другу, что характерно для коринеформных бактерий. Бактерии психротолерантны и растут при температуре 6°C. Тотальные препараты клеток *Chryseobacterium* sp. штамм J1-13Тb и других выделенных штаммов приведены на рисунке 18.

Таблица 19 Таксономическое положение, морфология и физиолого-биохимические признаки фильтрующихся бактерий, выделенных из подземных вод,

Characteristic	штаммы						
	JR43/78–4–13	JR2/1–6	JR3/2–13	J1–13Тb	JR1/69–2–13 ^T	JR1/69–3–13 ^T	JR1/69–1–13
Closest bacterium or new taxon	<i>Janibacter limosus</i>	<i>Salinibacterium amurskyense</i>	<i>Microbacterium oxydans</i>	<i>Chryseobacterium haifense</i>	' <i>Pusillimonas nitritireducens</i> '	' <i>Pusillimonas subterraneus</i> '	<i>Roseomonas aestuarii</i>
Окраска по Граму	+	+	+	–	–	–	–
Cells morphology	Coccus, rods	Rods	Rods	Rods, coccobacilli, coccus	Rods	Rods	Coccobacilli
Cell size, μm	Coccus 0.3–1.2 or	0.3 × 1.3–2.0	0.1–0.2 × 0.4–0.9	0.4–0.9 × 1.3–2.5; 0.3	0.8–1.2 × 1.5–2.1	0.7–1.3 × 0.9–2.1	0.8–1.5 × 1.6–2.4

	rods 0.9×1.3						
Motility	V (есть подвижные)	–	+	–	+	+	+
Субстраты для аэробного роста:							
Acetate	+/-	+	+		+	+	–
Оксалат		+	–		–	–	–
Glucose	–	+	++	+	++	++	++
Fructose	–	+	++	+	+/-	+/-	+
Sucrose	–	+	++	+	+/-	+/-	++
Этанол		–	+/-		–	–	–
Аланин		+	+/-		+	–	–
Лактат		+	+	+	+	+/-	++
Брожение	–		–		–	–	
Fe(III)→Fe(II)	–	–	–		–	–	+
NO ₃ ⁻ →NO ₂ ⁻	+	–	–	–	+	+	+
NO ₃ ⁻ →N ₂	–	–	–	–	+	–	–
Temperature range/opt, °C	4–50/28	5–37 /25–28	5–42/30	5–40/30-32	5–35/30	5–35/30	13–42/30
NaCl range/optimum (% , w/v)	0–4	0–10/1–2	0–7 /0.5–3	0–2 /0–1.5	0–3 /0.5–1	0–5 /0.5–3	0–3 /0.5–1

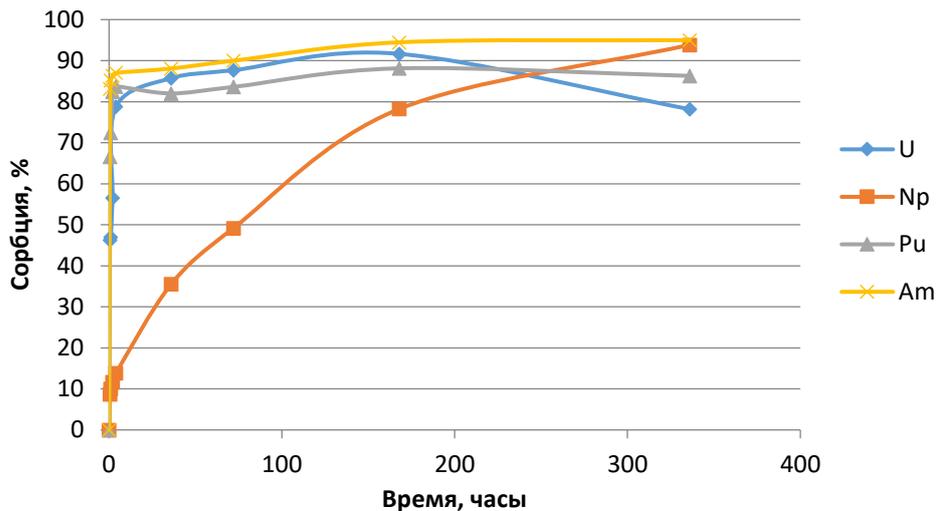
Определена биосорбция радионуклидов на биомассе бактерий с ультрамелкими клетками

Табл. 20. Биосорбция актининов

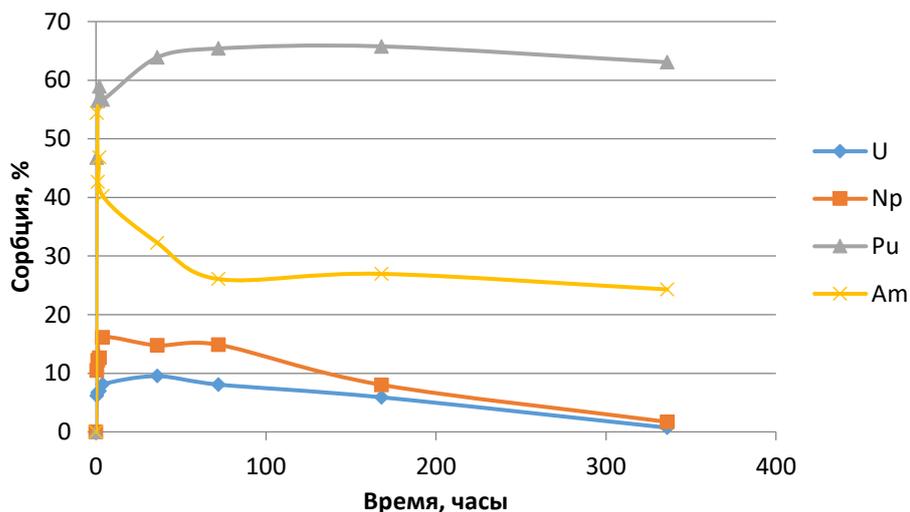
№	Род, вид, штамм	kd см ³ /г			
		²³³ U(VI)	²³⁷ Np(V)	²³⁸ Pu(IV)	²⁴¹ Am(III)
1	<i>Salinibacterium amurskyense</i> JR2/1–6	11013	15270	4931	19093
2	<i>Chryseobacterium haifense</i> J1-13Тб	301	551	5497	2514
3	<i>Mycobacterium iranicum</i> JR-2/2-1	299	511	6484	8313
4	<i>Microbacterium oxydans</i> JR3/2-13	3771	804	2240	3845

Сорбция в контроле без бактерий: 15% – для ²³⁸Pu(IV), 0% – для ²³⁷Np(V), 20% – для ²³³U(VI).

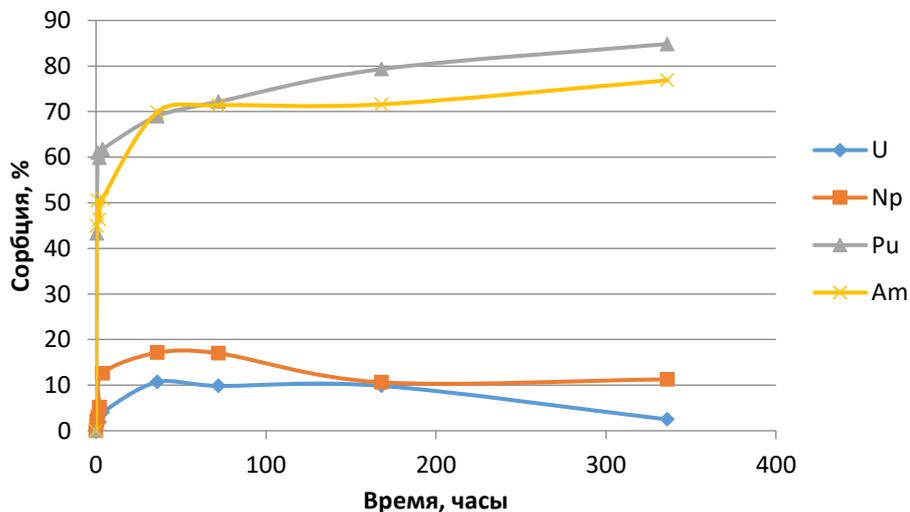
Сорбция радионуклидов на культуре 1



Сорбция радионуклидов на культуре 2



Сорбция радионуклидов на культуре 3



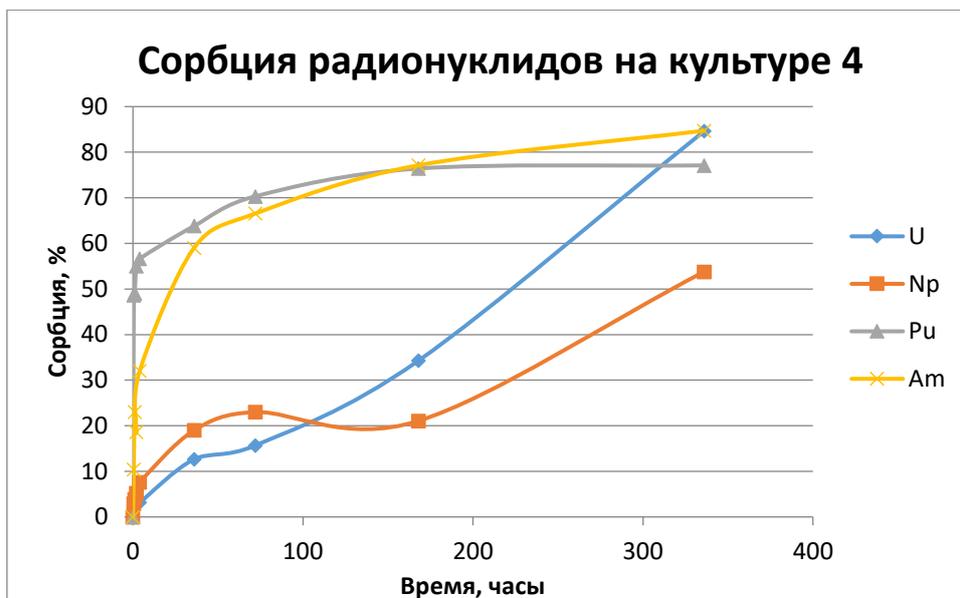


Рис.18. Биосорбция актинидных элементов

Уровень биосорбции $^{233}\text{U}(\text{VI})$ был также высок - от 44 до 77%. Уровень сорбции $^{237}\text{Np}(\text{V})$ был несколько ниже -19-46%. В отличие от перечисленных выше радионуклидов, уровень сорбции ^{90}Sr не превышал 5-9%, одна культура не сорбировала этот радионуклид. Наибольшей сорбционной способностью обладала биомасса бактерии *Shewanella putrefaciens* J1-6-2-2.

Коэффициент концентрирования радионуклида в пересчете на сухую биомассу был максимальным также для америция и составлял 1047-3723 мкг $^{241}\text{Am}(\text{III})^*/\text{г}$ сухой биомассы (табл. 4). Следующими радионуклидами, эффективно сорбируемыми микробной биомассой, были $^{237}\text{Np}(\text{V})$ и $^{233}\text{U}(\text{VI})$, для которых коэффициенты концентрирования были в интервалах 1324–2872 и 147–619 мкг радионуклида/г сухой биомассы соответственно. Коэффициенты концентрирования $^{238}\text{Pu}(\text{IV})$ и $^{90}\text{Sr}(\text{II})$ были очень низки: 0,3–1,8 и 0–0,02 мкг/г сухой биомассы соответственно.

Таким образом, все исследованные штаммы продемонстрировали высокую сорбирующую способность по отношению к радионуклидам $^{241}\text{Am}(\text{III})$, $^{233}\text{U}(\text{VI})$ и $^{237}\text{Np}(\text{V})$, но отличались друг от друга спектром преимущественно сорбируемых радионуклидов.

Результаты моделирования растворенных и нерастворимых форм железа, плутония

6. Моделирование процесса миграции актинидов с учетом биогеохимических процессов, характерных для нижних и верхних горизонтов с использованием программных пакетов PREEQC.

На основании данных, полученных на предыдущих этапах работы установлено, что, влияние микробных процессов на миграцию актинидов это **многофакторный процесс и бол.**

Табл. 21. Бактериальное

Мобилизация	Иммобилизация
Разрушение глинистых минералов и уменьшение площади сорбционной поверхности породы	Разрушение глинистых минералов и образование аморфных алюмосиликатных сорбционных фаз
Диссимиляционное восстановление марганца, железа и образование псевдоколлоидов	Потребление окислителей (нитрат, кислород, сульфат) и снижение значений Eh
Выделение CO ₂ и образование карбонатных комплексов актинидов	Диссимиляционное восстановление актинидов
образование растворимых органических комплексов с актинидами	Диссимиляционное восстановление марганца, железа - образование новых сорбционных фаз и восстановительных центров
Образование органических биокolloидов и коллоидный транспорт	Образование органических биокolloидов и коагуляция глинистых и железистых коллоидов
Образование биопленок на поверхности пород и перекрывание эффективных сайтов сорбции	Образование биопленок на поверхности пород образование новых органических сорбционных центров
	Увеличение значений pH

	Образование сульфидов железа, восстановительные условия, противоокислительный буфер
--	---

В данном разделе на первом этапе проведен расчет с использованием программного пакета PREEQC одного из наиболее важных процесса удаления нитрат-ионов, восстановления железа и сульфатов на примере реального состава проб из скважин верхнего и нижнего горизонта. Данные приведены в табл. На втором этапе проведена попытка моделирования миграции актинидов с учетом комплекса биогенных процессов.

Таблица 22. Основные формы актинидов и железа для проб верхнего горизонта с нитратным загрязнением до микробного процесса

	U	Np	Pu	Fe
Растворенные формы:	$U(OH)_4$ 1.6e-008	$Np(OH)_4$ 1.9e-006	$PuSO_4^+$ 2.09e-007	$FeHCO_3^+$ 2.1e-006
	UO_2^+ 1.07e-010	$Np(OH)_3^+$ 2.7e-009	$Pu(SO_4)_2^-$ 4.2e-008	$FeSO_4$ 4.1e-008
	$UO_2(CO_3)_2^{-2}$ 1.13e-006	NpO_2^+ 2.0e-007	$PuOH^{+2}$ 8.1e-009	$FeCO_3$ 3.1e-008
	$UO_2(CO_3)_3^{-4}$ 7.8e-007	$NpO_2CO_3^-$ 9.8e-010	$Pu(OH)_4$ 1.3e-007	$FeOH^+$ 1.5e-009
	UO_2CO_3 9.4e-008	NpO_2OH 3.5e-010		
	$UO_2(OH)_2$ 3.8e-008			
	$(UO_2)_2CO_3(OH)_3^-$ 1.4e-008			
Индексы насыщения фаз	$UO_{2.25}(\text{beta})$ 1.39	$Np(OH)_4$ 2.63	$Pu(OH)_4$ 2.19	Goethite 0.59
	$UO_{2.3333}(\text{beta})$ 2.36	NpO_2 11.48	PuO_2 10.48	Hematite 2.11
	Uraninite UO_2 1.57			

Таблица 23. Основные формы актинидов и железа для проб верхнего горизонта для **незагрязненных** нитратом проб до микробного процесса

	U	Np	Pu	Fe
--	---	----	----	----

Растворенные формы:	$U(OH)_4$ 2.1e-006	$Np(OH)_4$ 2.10e-006	$PuSO_4^+$ 2.4e-008	$FeHCO_3^+$ 9.7e-006
	UO_2^+ 2.4e-010	$Np(OH)_3^+$ 3.8e-009	$PuOH^{+2}$ 1.4e-008	$FeCO_3$ 1.1e-007
	$UO_2(OH)_2$ 9.5e-010	NpO_2^+ 3.8e-009	$Pu(SO_4)_2^-$ 1.5e-010	$FeSO_4$ 3.05e-008
	UO_2CO_3 7.2e-010		$Pu(OH)_4$ 2.6e-009	$FeOH^+$ 2.3e-008
	$UO_2(CO_3)_2^{-2}$ 6.4e-010		$PuSO_4^+$ 2.4e-008	
Индексы насыщения фаз	$UO_{2.25}$ 2.66	$Np(OH)_4$ 2.67	PuO_2 8.79	Hematite 0.52
	$UO_{2.25}(\text{beta})$ 2.58	NpO_2 11.52		
	$UO_{2.333}(\text{beta})$ 4.10			
	Uraninite UO_2 3.68			

Таким образом, выявлено заметное влияние нитрат-ионов на содержание растворимых и нерастворимых фаз. В незагрязненном нитратом растворах доминируют нерастворимые формы железа - оксиды и гидроксиды типа гетита и гематита (скорее его недоморфизированной формы ферригидрита). Из растворимых форм железа в нитратсодержащих водах доминирует комплексный катион $FeHCO_3^+$.

Табл. 24. Основные формы актинидов и железа для проб нижнего горизонта с нитратным загрязнением С-37

	U	Np	Pu	Fe
Растворенные формы:	$UO_2(CO_3)_3^{-4}$ 1.6e-006	$Np(OH)_4$ 2.2e-007	$Pu(OH)_4$ 2.0e-006	$FeHCO_3^+$ 2.8e-006
	$UO_2(CO_3)_2^{-2}$ 3.8e-007	NpO_2^+ 1.8e-006	$Pu(OH)_3^+$ 3.7e-009	$FeCO_3$ 1.4e-007
	$UO_2(OH)_2$ 9.4e-009	$NpO_2CO_3^-$ 3.4e-008		$FeSO_4$ 6.5e-008
	UO_2CO_3 7.1e-009	NpO_2OH 1.1e-008		$FeOH^+$ 7.07e-009
	$(UO_2)_2CO_3(OH)_3^-$ 9.5e-010	$NpO_2SO_4^-$ 1.0e-009		$Fe(OH)_3$ 1.9e-007
				$Fe(OH)_2^+$ 3.9e-008

Индексы насыщения фаз	-	Np(OH) ₄ 1.70	Pu(OH) ₄ 3.38	Goethite 4.19
		NpO ₂ 10.56	PuO ₂ 11.67	Hematite 9.31

Табл. 25. Основные формы актинидов и железа для проб нижнего горизонта без загрязнения (Р 21)

U	Np	Pu	Fe
UO₂(CO₃)₃⁻⁴ 1.2e-006	Np(OH)₄ 2.1e-006	PuSO₄⁺ 1.2e-008	FeHCO₃⁺ 8.4e-007
UO₂(CO₃)₂⁻² 7.6e-007	NpO ₂ ⁺ 7.8e-010	PuOH ⁺² 4.4e-009	FeCO₃ 2.3e-007
UO ₂ CO ₃ 1.8e-008		Pu(SO ₄) ₂ ⁻ 3.1e-009	FeSO ₄ 2.3e-008
UO ₂ (OH) ₂ 1.4e-008		Pu(OH)₄ 1.9e-006	FeOH ⁺ 1.05e-008
(UO ₂) ₂ CO ₃ (OH) ₃ ⁻ 2.7e-009			
UO ₂ (am) 0.77	Np(OH) ₄ 2.67	Pu(OH) ₄ 3.37	Goethite 1.50
UO ₂ (OH) ₂ 2.76	NpO ₂ 11.52	PuO ₂ 11.66	Hematite 3.92
UO _{2.25} (beta) 2.68			
UO _{2.25} 4.53			
Uraninite 3.44			

Вывод по результатам:.

В нитратсодержащих растворах основные формы урана в виде карбонатных комплексов четырех и шестивалентном виде типа **UO₂(CO₃)₂⁻²**, **UO₂(CO₃)₃⁻⁴**, тогда как незагрязненных приповерхностных водах он присутствует в основном U(OH)₄ а в подземных также в карбонатных комплексах. Формы нептуния в поверхностных и глубинных загрязненных и незагрязнённых водах меняются незначительно, он в основном в четырёхвалентной форме

Табл. 26. Формы (растворенные и индексы насыщения фаз) 500 мкг U, Pu, Np в растворе Б-2/38 после микробных процессов

Б-2/38			
Fe	Np	U	Pu
FeHCO₃⁺ 1.9e-06	Np(OH)₄ 2.1e-06	U(OH) ₄ 3.0e-08	PuOH ⁺² 6.0e-10
FeCO₃ 1.6e-06	Np(CO ₃) ₅ ⁻⁶ 1.8e-10	UO₂(CO₃)₃⁻⁴ 2.0e-06	Pu(OH)₄ 2.1e-06
FeOH ⁺ 3.6e-08	NpO ₂ ⁺ 2.4e-10	UO ₂ (CO ₃) ₂ ⁻² 3.4e-08	Pu(OH) ₃ ⁺ 2.2e-10
Fe(OH) ₃ 3.9e-09	NpO ₂ CO ₃ ⁻ 1.4e-10		
Fe(OH) ₄ ⁻ 2.4e-10			

Табл. 27. Твердая фаза

название	SI
Calcite CaCO ₃	1.66
Aragonite CaCO ₃	1.52
Dolomite CaMg(CO ₃) ₂	3.97
Huntite CaMg ₃ (CO ₃) ₄	1.73
Magnesite MgCO ₃	0.58
Monohydrocalcite CaCO ₃ :H ₂ O	0.86
Np(OH) ₄	2.67
NpO ₂	11.53
Pu(OH) ₄	3.38
PuO ₂	11.67
UO ₂ .25	1.14
UO ₂ .25(beta)	1.06
UO ₂ .3333(beta)	1.30
Uraninite	1.84

Таблица 28. Формы (растворенные и индексы насыщения фаз) 500 мкг U, Pu, Np в растворе С-37 после микробных процессов

Fe	Np	U	Pu
FeHCO₃⁺ 1.0e-04	Np(OH)₄ 2.1e-06	PuOH ⁺² 3.3e-08	U(OH)₄ 2.0e-06
FeCO₃ 5.5e-05		Pu(OH)₄ 1.8e-06	UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁻⁴ 9.4e-09
FeOH⁺ 2.0e-06		Pu(OH) ₃ ⁺ 3.2e-10	UO ₂ (CO ₃) ₂ ⁻² 8.8e-10
Fe(OH) ₃ 5.1e-09			
Fe(OH) ₄ ⁻ 1.8e-10			

Таблица 29. Твердая фаза

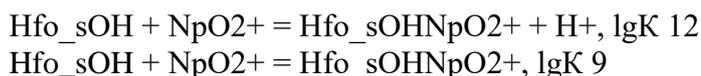
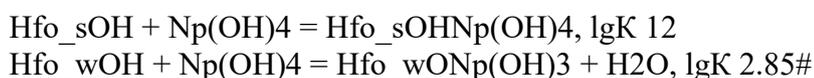
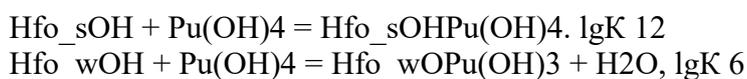
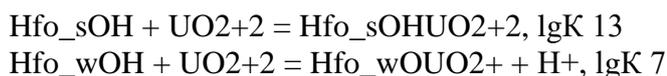
название	SI
Aragonite CaCO ₃	0.70
Calcite CaCO ₃	0.85
Dolomite CaMg(CO ₃) ₂	3.97
Goethite FeOOH	2.60
Pyrrhotite FeS	3.57
Siderite FeCO ₃	1.26
Troilite FeS	3.68
Hematite Fe ₂ O ₃	6.14
Magnesite MgCO ₃	0.13
Magnetite Fe ₃ O ₄	6.84
Np(OH) ₄	2.67
NpO ₂	11.52
Pu(OH) ₄	3.34
PuO ₂	11.63

UO ₂ .25	2.26
UO ₂ .25(beta)	2.18
UO ₂ .3333(beta)	3.06
Uraninite	3.68

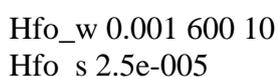
После микробных процессов наблюдаем образование карбонатов и гидрокарбонатов двухвалентного железа и выпадение минеральных фаз гетита, пирротита сидерита троилита, ферригидрита. Это новые сорбционные фазы которые могут приводить к дополнительному выходу актинидов из растворов.

Пакет геохимического моделирования PhreeqC 2.18 обладает возможностью моделирования химических равновесий в растворе и твердой фазе, расчета параметров ионного обмена и адсорбции на поверхностях минеральных фаз, а так же - решения обратных, одномерных транспортных (при соответствующем варьировании размера ячеек одного объема можно моделировать упрощенный двумерный транспорт) и кинетических задач.

В модели применялось предположение о сорбции радионуклидов на оксигидроксидах железа (3) в рамках модели Дзомбака и Мореля (модели с 2 типами сорбционных центров – с сильным и слабым сродством [D.A. Dzombak, F.M.M. Morel Surface complexation modeling--Hydrous ferric oxide: New York, John Wiley, 393 с., 1990.]). Реакции сорбции в модели:



Модель включает в себя колонку длиной 10 м. Колонка разбита на ячейки по 1 м. В 5 ячейке находится биогенный ферригидрит, 600 м²/г. Число сорбционных центров:



Результаты моделирования представлены на рисунке 19.

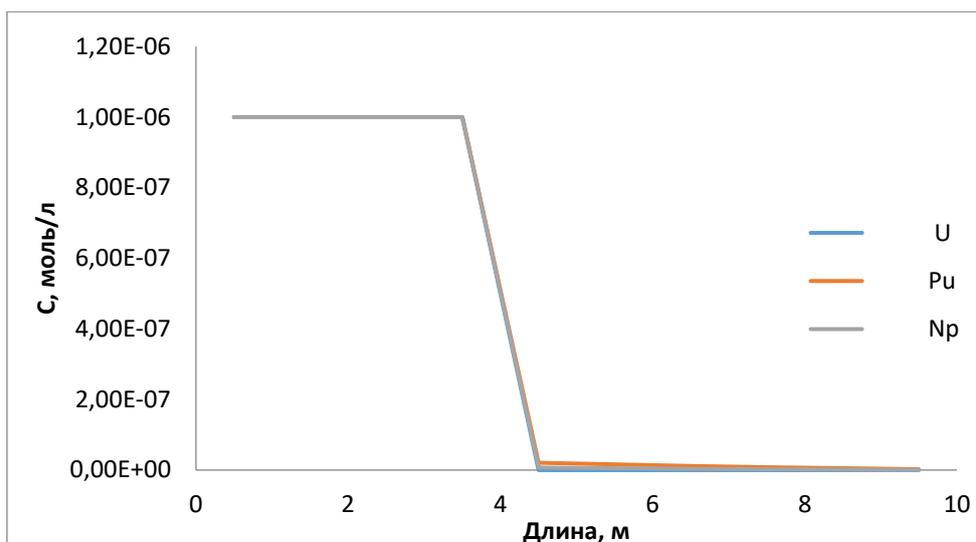


Рисунок 19. Фронты движения U, Pu, Np в моделировании колоночного динамического эксперимента с колонкой, заполненной биогенными железистыми осадками

Таблица 30. Результаты колоночного динамического моделирования фильтрации растворов с плутонием ураном и нептунием через колонку с биогенным наполнителем

Наполнитель колонки	Коэффициент задержки колонкой		
	U	Pu	Np
Биогенный ферригидрит аэр	99,9	99,9	99,9
Троилит (сульфидный осадок) аэр	99,9	99,9	99,9
Преобразованный гематит	89	95	92
Суглинистый песок аэробно	56	81	34
Суглинистый песок с биопленками аэробно	78	56	59
Суглинистый песок анаэробно	94,6	95	97

Наилучшей задерживающей способностью в аэробных обладали: биогенный ферригидрит Троилит (сульфидный осадок) и преобразованный гематит, а анаэробных условиях задерживающая способность повышалась.

7. Разработка основ метода биологического редукционного барьера для актиноидов для верхних горизонтов с учетом данных биогеохимического моделирования. Расчет долговременной стабильности восстановительной емкости барьера.

Биогенная иммобилизация актиноидов возможна в локальных участках, с повышенным содержанием органических веществ или других доноров электронов (водород, Fe (II), S(0)) и биогенных элементов (P, N, S и др.) при этом наиболее важным процессом будет биохимическое снижение редокс-потенциала в системы за счёт аэробного микробного дыхания, после чего в условиях анаэробноза в восстановительных областях Eh можно ожидать редоксзависимое восстановление урана нептуния и плутония. В серии лабораторных экспериментов на микробных микрокосмах проб подземных вод было установлено, что добавление органического вещества в них стимулировало последовательный ряд процессов, начинающийся со снижений концентраций кислорода, нитрата, и заканчивающийся образованием биогенного сульфида с установившимися значениями редокс потенциалов ниже 300 мВ. При этом, значение отрицательной величины eH зависит от исходного содержания сульфатов в пробе. В микробных рентгеноаморфных сульфидных осадках идентифицированы фазы троиллита и пирротина и других разновидностей сульфида железа. Данный процесс протекал в пробах с сульфатным загрязнением, при этом, в пробах, не содержащих техногенный сульфат, начинался только после добавления сульфата натрия. Наиболее дефицитным элементом для развития микробных процессов является фосфор. При добавлении 200-500 мг/л гидрофосфата натрия наблюдалось заметное увеличение интенсивности микробного дыхания.

Таким образом, стимулирование микробного восстановления окислителей, добавлением органических соединений приводит к оптимальным условиям для иммобилизации актиноидов в исследованных пробах из верхнего и нижнего водоносных горизонтов, что может быть использовано на стадии консервации глубинных полигонов закачки и создании восстановительно-сорбционных барьеров в верхних горизонтах в местах активной фильтрации загрязнителей в районе поверхностных шламо- и пульпохранилищ и хранилищ РАО. В табл. 31.приведены результаты подбора оптимальных растворимых органических субстратов для создания редоксбарьера в лабораторных условиях. В качестве жидкой среды была использована природная вода из скважины Б2-38 и С-37. Начальные значение редокс-потенциала составляли для пробы Б2-38 - 117 мВ, для пробы С-37 – 90 мВ. В результате эксперимента было установлено, что сложные субстраты, такие как барда, молочная сыворотка, меласса наиболее эффективно приводили снижению редокс-потенциала. Они

являются отходами пищевого производства, поэтому их использование экономически наиболее выгодно.

Таблица 31. Оптимальные растворимые органические субстраты для создания редоксбарьера в лабораторных условиях

Субстрат	Б2-38		С-37	
	время макс Eh сут	Макс Eh	время макс Eh сут	Макс Eh
H ₂	30	-334	40	-300
Метанол	50	60	60	20
Этанол	25	-70	20	-150
Оксалат	60	-30	60	10
Ацетат	10	-180	15	-250
Лактат	60	-20	60	25
Глюкоза	15	-300	15	-280
Сахароза	15	-370	10	-300
Мол. сыв.	7	-390	10	-410
Дрож. эк.	15	-250	15	-210
Меласса	15	-390	10	-370
Барда	10	-380	10	-420

Наиболее оптимальным субстратом была молочная сыворотка, содержащая витамины, микроэлементы и источник органического фосфора. Простые субстраты, такие как лактат оксалат и метанол не привели к нужным результатам. Для использования простых субстратов, например, ацетата или сахара необходимо добавлять источник фосфора.

Образование сульфидных минералов играет еще одну важную роль, в водоносном горизонте, которая заключается в против окислительных буферных свойствах при попадании новых порций окислителя, за счет чего они будут расходоваться на взаимодействие с ним, а актиниды будут оставаться в восстановленном состоянии. Так, при смене восстановительной обстановки на окислительную в процессе потребления кислорода и нитрат-редукции вначале предпочтительно окисление сульфидов железа и марганца – пирита, FeS₂, макиавита, FeS_{0,9}, алабандита, MnS, чем уранинита (Dullies, 2010). Таким образом, образование сульфидов будет создавать сульфидную восстановительную емкость горизонта (CBE или SRE Sulphide Reducing Capacity), которая может быть описана в пределе как количество моль кислорода, необходимое для окисления

сульфидов металлов (железа Fe(II), Zn, Pb и др.) до сульфата трехвалентного железа на единицу массы вмещающей породы.

Необходимым условием сульфатредукции – образования сульфидного противоокислительного буфера является предварительное удаление другого альтернативного окислителя нитрата. Таким образом, стимулируя развитие микробного сообщества можно существенно усилить иммобилизацию урана и предотвратить неконтролируемое распространение нитратного-, сульфатного и уранового загрязнения.

Работу сульфидного противоокислительного буфера промоделировали в программном коде PREEQS на примере системы, содержащей По 0.005 моль троилита и уранинита (рис 20 а,б,в), которую последовательно обрабатывали нитратом натрия.

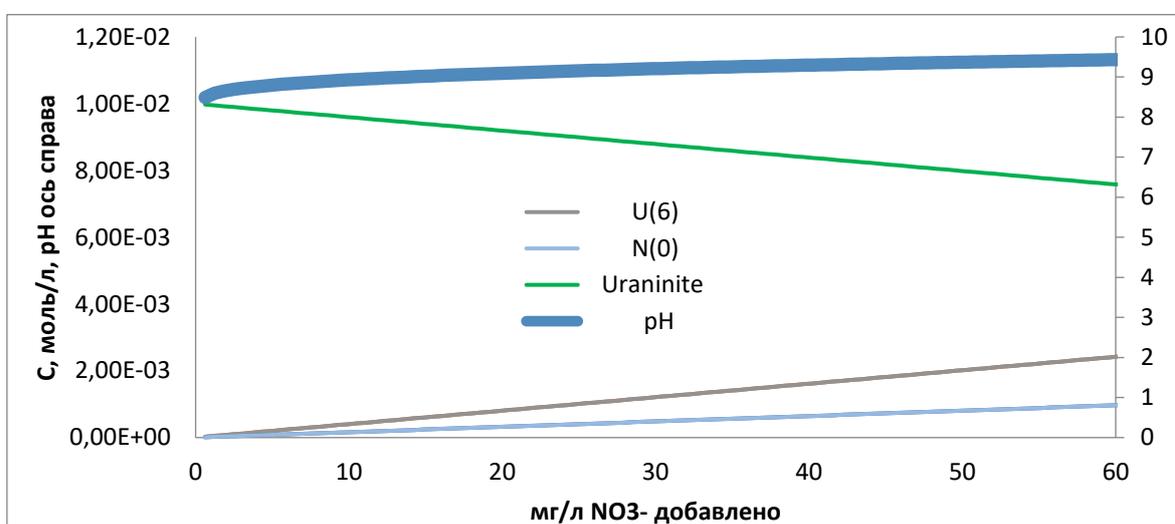


Рис 20 а, Смесь с уранинитом без троилита

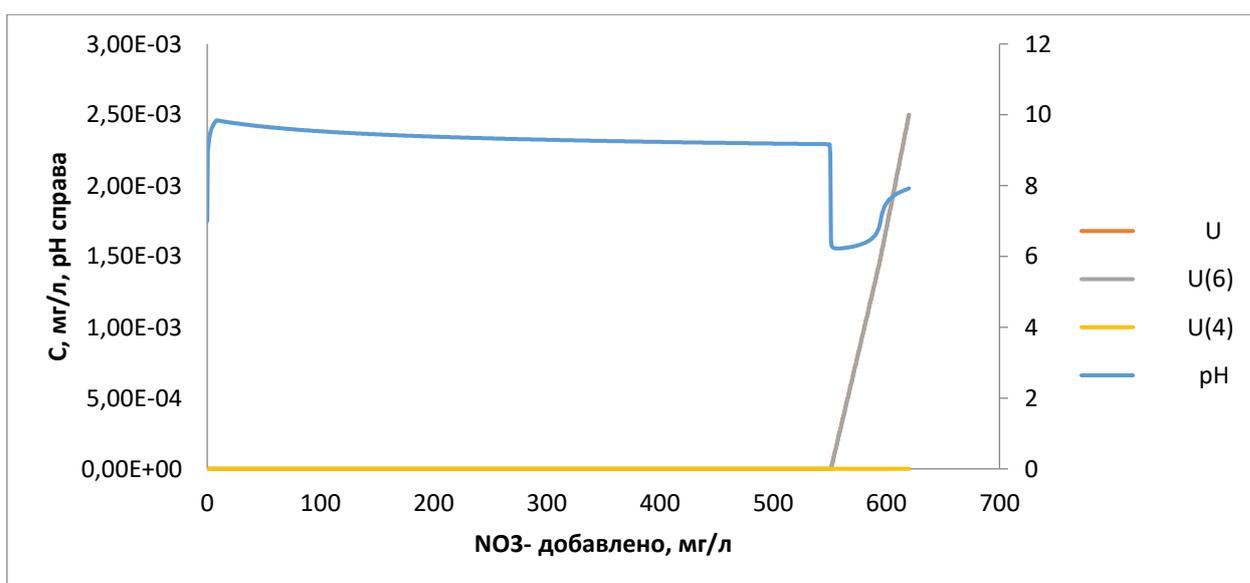


Рис 20 б, Смесь с уранинитом и троилитом

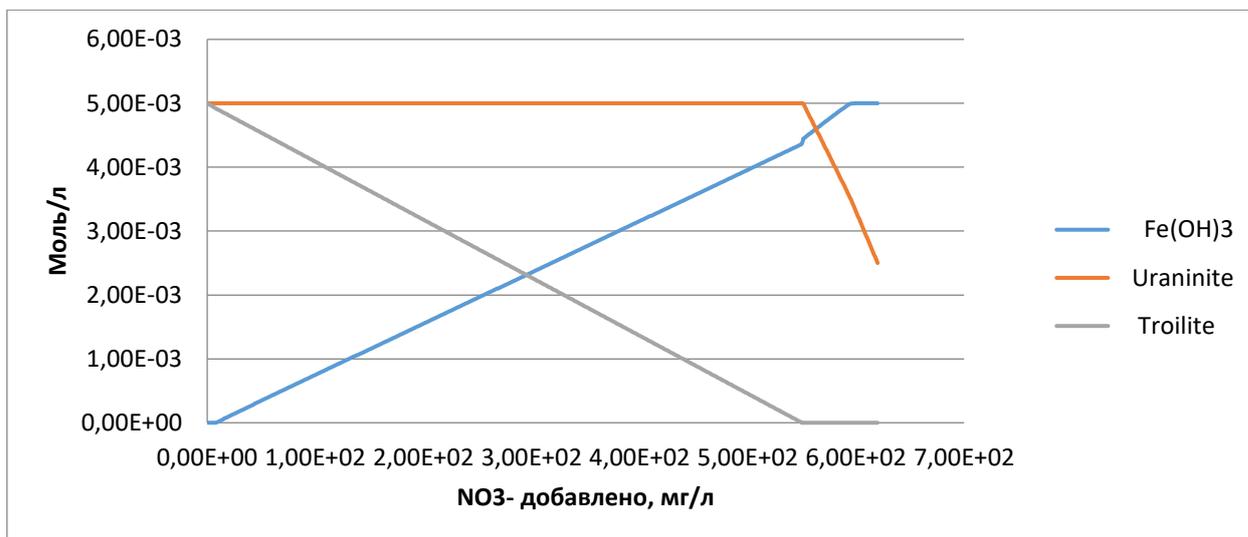


рис 20 б, Изменение твердой фазы с уранинитом, троилитом

Рис 20 а,б, в иллюстрируют процесс устойчивости U (IV) к окислению нитрат-ионом в присутствии сульфида железа и без него. Без троилита окисление урана происходит уже при добавлении 10 мг/л нитрата, тогда как при содержании в той же системе 0.005 моль троилита окисление урана наблюдается при 550 мг/л нитрата. Из 3 грамм сульфат иона может получиться 0.03125 моль троилита = 2.84375 г, которого хватит на окисление 3125 мг NO₃⁻ достаточно высокой концентрации нитрат-ионов для пластовой воды.

Таким образом, полученные в работе данные могут быть использованы в качестве научных основ для разработки биогеохимического барьера для актинидов в пластовых водах верхнего и нижнего горизонта АО «СХК». Показано, что в пластовых водах обитает микробное сообщество, способное активно восстанавливать нитрат и сульфат-ионы, при добавлении органических веществ (простых – сахара или ацетата и сложных – продуктов пищевого производства) можно эффективно снизить редокс-потенциал системы, при достаточном количестве сульфат-ионов. Сульфат натрия можно дополнительно закачивать вместе с питательными растворами для стимулирования микроорганизмов.