

РОССИЙСКИЙ ОПЫТ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПОДЗЕМНЫХ ВОД В ЗОНЕ ГЛУБИННОГО ЗАХОРОНЕНИЯ ЖИДКИХ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ

А. В. Сафонов¹, Е. В. Захарова¹, Т. Н. Назина², А. В. Позин³, А. А. Зубков⁴

¹Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН, Москва

²Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

³ФБУ «Научно-технический центр по ядерной и радиационной безопасности», Москва

⁴АО «Сибирский химический комбинат», г. Северск Томской обл.

Статья поступила в редакцию 23 мая 2018 г.

В статье приведен обзор результатов исследований микроорганизмов подземных вод из пунктов глубинного захоронения жидких радиоактивных отходов (РАО) ФГУП «ГХК» и АО «СХК», выполненных в 1998–2016 годах. В подземных водах обнаружено физиологически разнообразное, но геохимически низкоактивное микробное сообщество, включающее аэробных органотрофных и анаэробных бродильных, денитрифицирующих, сульфатредуцирующих и метаногенных микроорганизмов. Показано, что поступление РАО в эксплуатационные горизонты приводит к увеличению численности микроорганизмов и скоростей анаэробных микробных процессов, что вызвано присутствием органических и минеральных компонентов в отходах. Из подземных вод выделены бактерии, способные восстанавливать нитрат-ионы и радионуклиды, сорбировать радионуклиды, изменять редокс-потенциал среды. Сделан вывод о необходимости проведения микробиологического мониторинга подземных вод для прогнозирования долговременной экологической безопасности объектов глубинного захоронения жидких РАО.

Ключевые слова: микробная экология, пункты глубинного захоронения жидких радиоактивных отходов, денитрификация, восстановление радионуклидов.

Введение

Использование геологической среды для захоронения РАО приводит к изменению условий существования природного микробного сообщества подземных водоносных горизонтов. Поступление компонентов РАО в горизонты приводит к стимулированию ряда микробных процессов, которые необходимо учитывать при оценке долговременной безопасности пунктов глубинного захоронения жидких РАО (ПГЗ ЖРО). При закачке растворов происходит непосредственный контакт макрокомпонентов отходов с естественной подземной микрофлорой, которая способна их использовать в качестве доноров или акцепторов

электронов в процессах дыхания и в качестве источника углерода для роста клеток.

В подземные водоносные горизонты направляются жидкие технологические и нетехнологические отходы разные по составу и уровню активности: щелочные и кислые среднеактивные (САО), слабощелочные и нейтральные низкоактивные (НАО). В отходах присутствуют хлориды, бикарбонаты, фосфаты, сульфаты, ацетаты и оксалаты натрия, кальция, железа и аммония, общая минерализация в них может достигать 200–300 г/дм³ [1, 2]. Одним из основных макрокомпонентов отходов является нитрат-ион, что

связано с использованием азотной кислоты в применяемых технологических процессах.

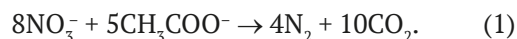
Микробные популяции могут влиять на функционирование ПГЗ ЖРО в результате их воздействия на геохимические параметры подземного местообитания. Это воздействие многообразно и включает: 1) влияние микроорганизмов на степень окисления и миграцию радионуклидов (биосорбция, биоаккумуляция и диссимиляционное восстановление металлов и металлоидов, например, U(VI), Se(VI), Cr(VI), Hg(II), Tc(VII), V(V) и др.) [3–6]; 2) ускорение миграции радионуклидов совместно с микроорганизмами или концентрирование радионуклидов биопленками [7, 8]; 3) биогенное газообразование (N_2 , H_2S , CH_4 , CO_2), обусловленное жизнедеятельностью денитрифицирующих, сульфатредуцирующих и метанобразующих микроорганизмов [8–10]; 4) формирование доминирующих типов радионуклидов и минеральных фаз, в том числе новых минеральных образований; 5) продуцирование комплексобразующих агентов [11]; 6) изменение величин pH и Eh и другие процессы.

С 80-х годов прошлого века в мире все больше внимания стало уделяться микробиологическим исследованиям территорий, загрязненных радионуклидами. Известны работы английских, шведских и канадских ученых, проведенные при выполнении национальных программ захоронения РАО, и работы американских исследователей, выполненные в хранилищах Хэнфорда, Саванна-Ривер и Ок-Риджа [7, 12–15]. Исследования посвящены анализу биоразнообразия микроорганизмов, выделению и изучению физиологии представителей доминирующих групп, а также оценке их возможного воздействия на компоненты отходов.

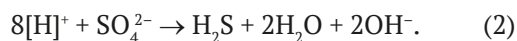
В рамках ряда геомикробиологических программ исследованы микроорганизмы геологических формаций, рассматриваемых в качестве вмещающих пород для проектируемых хранилищ РАО. С этой целью были исследованы гранитные формации в Канаде, Японии, Швеции, Финляндии, Швейцарии и Великобритании, осадочные породы в Бельгии, Германии, Италии и Японии, гипсовые и соляные отложения в Швейцарии и Германии и вулканические туфы в США. Во всех пробах выявлены микроорганизмы, их численность составляла 10^2 – 10^5 кл/см³ [16–20].

При проведении микробиологических исследований подземных вод из ближней зоны хранилища высокоактивных отходов в Хэнфорде (США), загрязненных щелочью, нитратами, алюминатами, хроматами, Cs-137 и Tc-99, были выявлены аэробные гетеротрофные бактерии в 11 из 16 образцов, но численность их была низкой (10^4 кл/г). Микробиологические исследования, проводившиеся в Саванна-Ривер, позволили выявить разнообразную микрофлору, в том числе сульфатредуцирующие бактерии [14, 21].

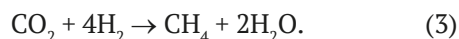
Большое внимание уделяется изучению сульфатредуцирующих, метанобразующих и денитрифицирующих микроорганизмов, способных восстанавливать макрокомпоненты РАО (сульфат, бикарбонат, нитрат) с образованием газов (сероводорода, метана, азота, углекислоты). Например, в ходе реакции восстановления нитратов денитрифицирующими бактериями, растущими в среде с ацетатом, наряду с молекулярным азотом (или другими газообразными оксидами азота) образуется диоксид углерода:



Сульфатредуцирующие прокариоты осуществляют процесс восстановления сульфат-ионов до сероводорода в присутствии молекулярного водорода или органических субстратов по реакции:



Метаногены способны образовывать метан из водорода и углекислого газа по реакции (3), а также из простейших органических субстратов (ацетата, метанола и др.):



Бактерии, восстанавливающие железо и радионуклиды с переменной степенью окисления, влияют на геохимические условия среды, приводя к образованию новых нерастворимых или малорастворимых фаз или образуя коллоиды, что в некоторых случаях приводит к увеличению мобильности радионуклидов.

Микробиологические исследования ПГЗ ЖРО в России были начаты в 1998 году на ПГЗ ЖРО «Полигон «Северный», где производится захоронение жидких РАО, образующихся на ФГУП «Горно-химический комбинат», в связи с необходимостью объяснения ряда процессов, связанных с экологической безопасностью ПГЗ ЖРО, в первую очередь повышенного газообразования и неравномерной, не всегда прогнозируемой миграции нитрат-ионов. В 2003 году исследования были продолжены на ПГЗ ЖРО «Северский», на котором захораниваются жидкие РАО, образующиеся на АО «СХК».

Микробиологические исследования подземных вод ПГЗ ЖРО «Полигон «Северный», г. Железнодорожск

Микробиологические исследования проб пластовой жидкости, отобранных из наблюдательных скважин I и II эксплуатационных горизонтов ПГЗ ЖРО «Полигон «Северный» были проведены в период с 1998 по 2006 г. [8–10, 22–24]. Определена численность микроорганизмов основных физиологических групп и скорости процессов сульфатредукции и метаногенеза, выделены накопительные и чистые культуры денитрифицирующих бактерий для лабораторного

моделирования биогенного газообразования. Основное внимание было уделено микробиологическим исследованиям II эксплуатационного горизонта, используемого для удаления отходов низкого уровня активности с содержанием до 10 г нитрат-ионов в 1 дм³.

Показано, что вне зоны загрязнения подземные горизонты представляют собой пресноводную экосистему, лимитированную по наличию органического вещества и биогенных элементов (азота и фосфора), поэтому численность микроорганизмов основных физиологических групп (аэробных органотрофных и анаэробных бродильных, денитрифицирующих, сульфат- и железо-редуцирующих и метаногенов) (табл. 1), а также скорости процессов сульфатредукции и метаногенеза (табл. 2) были невысоки.

Таблица 1. Численность микроорганизмов (кл/см³) в пластовых водах I и II горизонтов ПГЗ ЖРО «Полигон «Северный» в 2005 г.

Скважина	Аэробные органотрофы	Денитрифицирующие	Бродильные	Сульфатредуцирующие	Метаногены	
					H ₂ + CO ₂	Ацетат
I горизонт						
A-5	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁴	10	0
A-19	10 ⁸	10 ⁵	10 ⁸	10 ³	10	<10
A-22	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁸	10 ³	0	0
A-26	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ²	<10	<10
П-2	10 ⁸	<10	10 ⁵	10	0	0
С-15	10 ³	10 ²	10 ⁷	10 ²	0	0
Р-6	10 ⁷	10 ²	10 ⁷	<10	0	0
II горизонт						
D-4	10 ⁷	10 ⁵	10 ⁸	10	0	0
A-36	10 ⁷	10	10 ⁴	10	0	0
A-38	10 ⁸	<10	10 ⁸	10 ²	0	0
A-39	10 ⁸	10 ²	10 ⁴	10 ²	0	0
АН-34	10 ⁶	0	10 ⁸	<10	<10	0

Таблица 2. Скорости сульфатредукции и метаногенеза в пластовых водах I и II эксплуатационных горизонтов ПГЗ ЖРО «Полигон «Северный» в 2004 г.

Проба	SO ₄ ²⁻ , мг/дм ³	HCO ₃ ⁻ , мг/дм ³	Ацетат, мг/дм ³	Скорость сульфатредукции, мкг S ²⁻ /(дм ³ ·сут)	Скорость метаногенеза, мкг CH ₄ /(дм ³ ·сут)
I горизонт					
A-3	45,2	277,5	3,1	0,171	0,023
A-19	30,8	330,0	4,3	0,09	0,19
A-26	79,8	236,9	6,5	0,026	0,034
II горизонт					
A-38	8,5	253,1	3,9	0,06	0,006
A-39	6,4	349,3	10,7	0,052	0,637
Д-1	10,1	261,9	6,8	0,034	0,032
Д-2	11,8	378,2	8,6	0,122	0,0512

Жидкие РАО, локализованные в этих горизонтах, содержат органическое вещество, которое может быть использовано в качестве субстрата и донора электронов для микроорганизмов, что было продемонстрировано на примере проб, отобранных из II эксплуатационного горизонта. В зоне локализации отходов на расстоянии 40–60 м от нагнетательных скважин и в зоне дисперсии отходов (200–300 м) численность денитрифицирующих, сульфатредуцирующих и аэробных микроорганизмов была выше по сравнению с аналогичными параметрами на незагрязненных участках эксплуатационного горизонта. Анализ результатов восьмилетнего мониторинга, проведенный в 2006 году, позволил выявить корреляцию численности денитрифицирующих бактерий и концентрации нитрат-ионов в пластовой жидкости (рис. 1). Таким образом, численность денитрифицирующих микроорганизмов в пластовой жидкости может быть использована в качестве дополнительного параметра для уточнения контура распространения отходов [9, 10, 23, 24].

При поступлении нитрат-ионов и органического вещества с отходами в эксплуатационный горизонт происходит активизация денитрифицирующих бактерий, что сопровождается образованием газов. Это подтверждено также результатами лабораторного моделирования биогенного образования газов с использованием проб подземной жидкости, обогащенных нитратом и ацетатом, отобранных из скважин I и II эксплуатационных горизонтов (рис. 2). Обогащение подземной воды ацетатом и нитратом стимулировало образование газов. Газохроматографическим методом показано, что в присутствии до 4 г NaNO₃/дм³ в составе газовой фазы преобладал молекулярный азот, а при более высоких концентрациях нитрата и ацетата

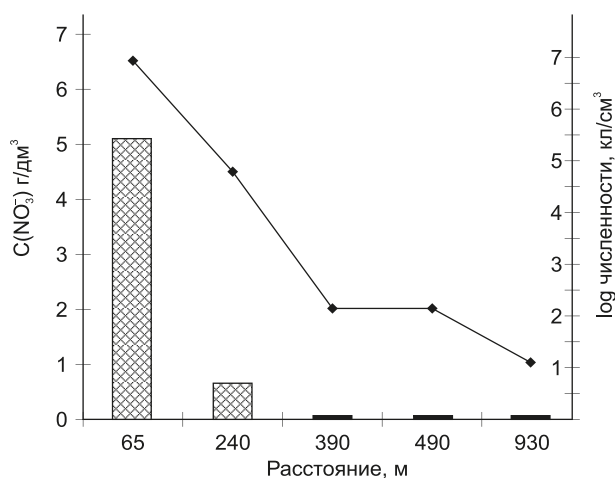


Рис. 1. Концентрация нитрат-ионов (диаграмма) и численность денитрифицирующих бактерий (кривая 2) в пробах, отобранных на разном расстоянии от нагнетательного контура (2004 г.)

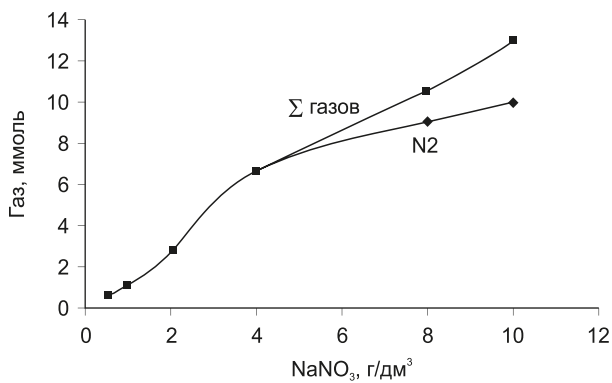


Рис. 2. Образование биогенных газов микроорганизмами пластовой жидкости из скважины А-38, обогащенной нитратом и ацетатом натрия (1:2 вес/вес) в разной концентрации

отмечено появление CO_2 . Процесс денитрификации наблюдали в средах, содержащих до 10 г нитрата натрия в 1 дм³, то есть в средах, практически соответствующих по содержанию нитратов натрия отходам низкого уровня активности [23, 24].

Молекулярный азот является химически инертным газом, он растворяется в подземной воде, а в зоне максимальной активности денитрифицирующих бактерий локально формирует газовую фазу. В то же время распространение углекислого газа с водными растворами может приводить к снижению рН среды и растворению карбонатных солей кальция, магния, железа и т. п. [24].

Микробиологические исследования подземных вод ПГЗ ЖРО «Северский», г. Северск

Микробиологические исследования на ПГЗ ЖРО «Северский» проводили в 2003–2006 и 2016 годах с использованием тех же методических подходов, что и при исследовании проб из ПГЗ ЖРО «Полигон «Северный». В природных подземных водах выявлено малочисленное микробное сообщество, включающее аэробные органотрофные бактерии и анаэробные бродильные, денитрифицирующие, железо- и сульфатредуцирующие и метанобразующие микроорганизмы. Численность микроорганизмов и скорости сульфатредукции и метаногенеза возрастали в зоне дисперсии отходов и были сравнимы с таковыми в подземных водах ПГЗ ЖРО «Полигон «Северный» [25–28].

Денитрифицирующие бактерии подземных горизонтов ПГЗ ЖРО «Северский». Высокое содержание нитратов в жидких отходах обусловило особое внимание к группе денитрифицирующих бактерий. Это связано с тем, что в жидкостях, отобранных из поверхностных хранилищ и III эксплуатационного горизонта ПГЗ ЖРО (используемого для захоронения нетехнологических НАО), численность

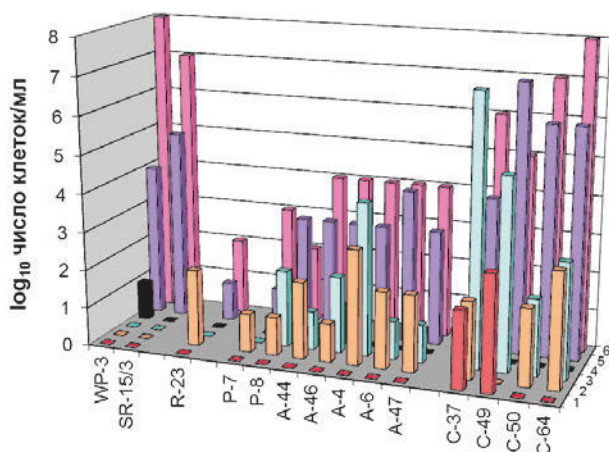


Рис. 3. Численность микроорганизмов в жидкостях из поверхностных хранилищ (водохранилище и пульпохранилище), в природных пластовых водах (скв. Р-23) и в жидкостях из участков захоронения низкоактивных (II и III горизонты, скважины Р-7–А-47) и среднеактивных (II горизонт, скважины С-37–С-64) отходов ПГЗ ЖРО «Северский».

Обозначения: метаногены, растущие в среде с ацетатом (1) или с H_2/CO_2 (2), денитрифицирующие (3), сульфатредуцирующие (4) и бродильные (5) бактерии и аэробные органотрофные бактерии (6) [26]

денитрифицирующих бактерий не превышала 10^3 кл/см³; во II эксплуатационном горизонте численность была на порядок выше (10^4 кл/см³) (рис. 3). В подземных водах II эксплуатационного горизонта, куда поступают технологические отходы с высоким содержанием нитрат-ионов, численность денитрифицирующих бактерий достигала 10^5 – 10^7 кл/см³.

Оценена потенциальная скорость денитрификации в изолированных пробах подземных вод горизонтов, используемых для захоронения НАО, а также влияние внесения в пробы NaNO_3 (0,85 г/дм³), ацетата натрия (2 г/дм³) и молекулярного водорода на образование молекулярного азота. Пробы подземной воды инкубировали при 18–20 °С и газохроматографически определяли содержание молекулярного азота в газовой фазе в динамике. Содержание других газообразных продуктов денитрификации (NO и NO_2) не анализировали, поэтому величина скорости денитрификации, полученная в этих экспериментах, вероятно, занижена.

В отсутствие стимулирующих соединений в пробах жидкостей из поверхностных хранилищ скорость денитрификации была в интервале от 0 до 0,08 мг N_2 /дм³·сут, в водах из эксплуатационных горизонтов — в интервале от 0 до 0,1 мг N_2 /дм³·сут, (табл. 3) [26]. Добавление в изолированные пробы подземных вод молекулярного водорода или ацетата в сочетании с нитратом стимулировало образование молекулярного азота в десяти из одиннадцати исследованных проб подземных вод. Полученные результаты свидетельствуют о том, что

Таблица 3. Скорость денитрификации в изолированных пробах вод, отобранных вблизи поверхностных хранилищ и из эксплуатационных горизонтов ПГЗ ЖРО «Северский», используемых для захоронения НАО

Номер скважины, проба	NO ₃ ⁻ , мг/дм ³	NH ₄ ⁺ , мг/дм ³	SO ₄ ²⁻ , мг/дм ³	Скорость денитрификации, мг N ₂ /(дм ³ ·сут)		
				Без добавок	В присутствии	
					H ₂ +NO ₃ ⁻	Ацетат+NO ₃ ⁻
П-15/3	21000	750	160	0	0	0
П-15/8	3960	21	51	0,06	1,93	0,09
П-15/10	0,2	4,4	42,4	0,08	2,93	0,32
П-7	2157	0,53	392,5	0,05	2,0	0,22
П-8	135,9	0,2	96,8	0	0,32	2,62
Р-23	0,25	0,9	7,5	0	2,25	0,35
А-44	1348	0,1	246	0,05	0,56	2,68
А-46	0,25	0,55	60,7	0,1	0,87	0,2
А-4	856,9	1,26	94,8	0	4,5	0,3
А-6	0,25	1,69	20,9	0	4,0	0,8
А-47	39,4	6,79	63,7	0,05	3,37	3,5

денитрифицирующие микроскопы подземных вод способны осуществлять восстановление нитрата, но эта скорость невелика из-за отсутствия источников углерода и энергии.

Результаты лабораторной оценки скорости денитрификации в пробах подземных вод были использованы на ПГЗ ЖРО «Северский» при составлении баланса нитрат-ионов, захороненных в III эксплуатационный горизонт НАО с отходами с начала эксплуатации ПГЗ ЖРО, и их современного содержания и распределения в подземных водах с учетом распространения по эксплуатационному горизонту.

Зная динамику удаления нитратсодержащих отходов на ПГЗ ЖРО «Северский» и скорость денитрификации, можно оценить изменение концентрации нитратов за счет процесса денитрификации. По оценкам на 2007 год, в песках эксплуатационных горизонтов обнаруживалось 49% от удаленных нитратов (рис. 4). За счет

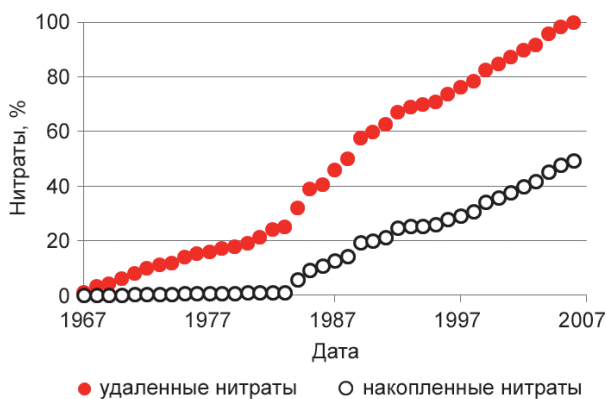


Рис. 4. Содержание нитратов, удаленных с отходами и находящихся в настоящее время в песках эксплуатационных горизонтов ПГЗ ЖРО «Северский»

только процессов денитрификации следовало ожидать 62% накопленных нитратов. С учетом денитрификации дисбаланс по нитратам составил 13%, из них около 5% составляют нитраты, депонированные в глинистых слоях эксплуатационных горизонтов и не попадающие в пробы подземных вод при откачках из контрольных скважин. Восьмипроцентный дисбаланс вполне объясним, учитывая масштабы удаленных отходов, неоднородность минералогического состава пород по глубине и протяженности вмещающего горизонта. Расчеты показывают, что если объемы загрязненных вод в эксплуатационном горизонте останутся неизменными (прекратится нагнетание отходов), то за счет процессов разбавления и денитрификации через 26 лет находящиеся в горизонте нитраты будут полностью восстановлены в молекулярный азот.

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что денитрифицирующие бактерии способны осуществлять восстановление нитрат-ионов в условиях ПГЗ ЖРО «Северский». Пассивная денитрификация в эксплуатационных горизонтах может быть стимулирована нагнетанием дешевых органических субстратов.

Участие бактерий в преобразовании радионуклидов. Восстановление и биосорбцию радионуклидов исследовали с использованием более 50 штаммов бактерий, выделенных из подземных вод [25, 26]. Ряд выделенных аэробных бактерий сорбировал (аккумулировал) актиниды и другие трансурановые элементы, входящие в состав отходов (²³⁸Pu(IV), ²³⁷Np(V), ²³⁵U(VI), ²⁴¹Am(III) и ⁹⁰Sr(II)), и не сорбировал ¹³⁷Cs и ⁹⁹Tc (рис. 5) [25–27]. В подземных водах эксплуатационных горизонтов с низкой плотностью микробной популяции биосорбция радионуклидов вряд ли будет значительной, но в зоне дисперсии отходов, содержащих радионуклиды

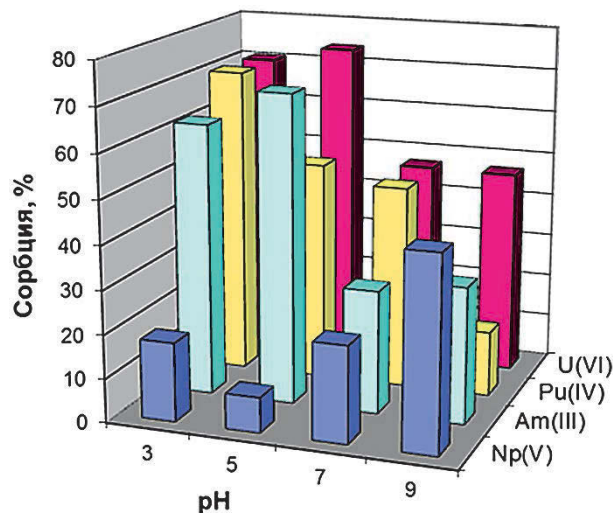


Рис. 5. Сорбция радионуклидов ²³⁷Np(V), ²⁴¹Am(III), ²³⁸Pu(IV) и ²³⁵U(VI) биомассой бактерии *Pseudomonas fluorescens* С64-1 при разных значениях pH раствора [26]

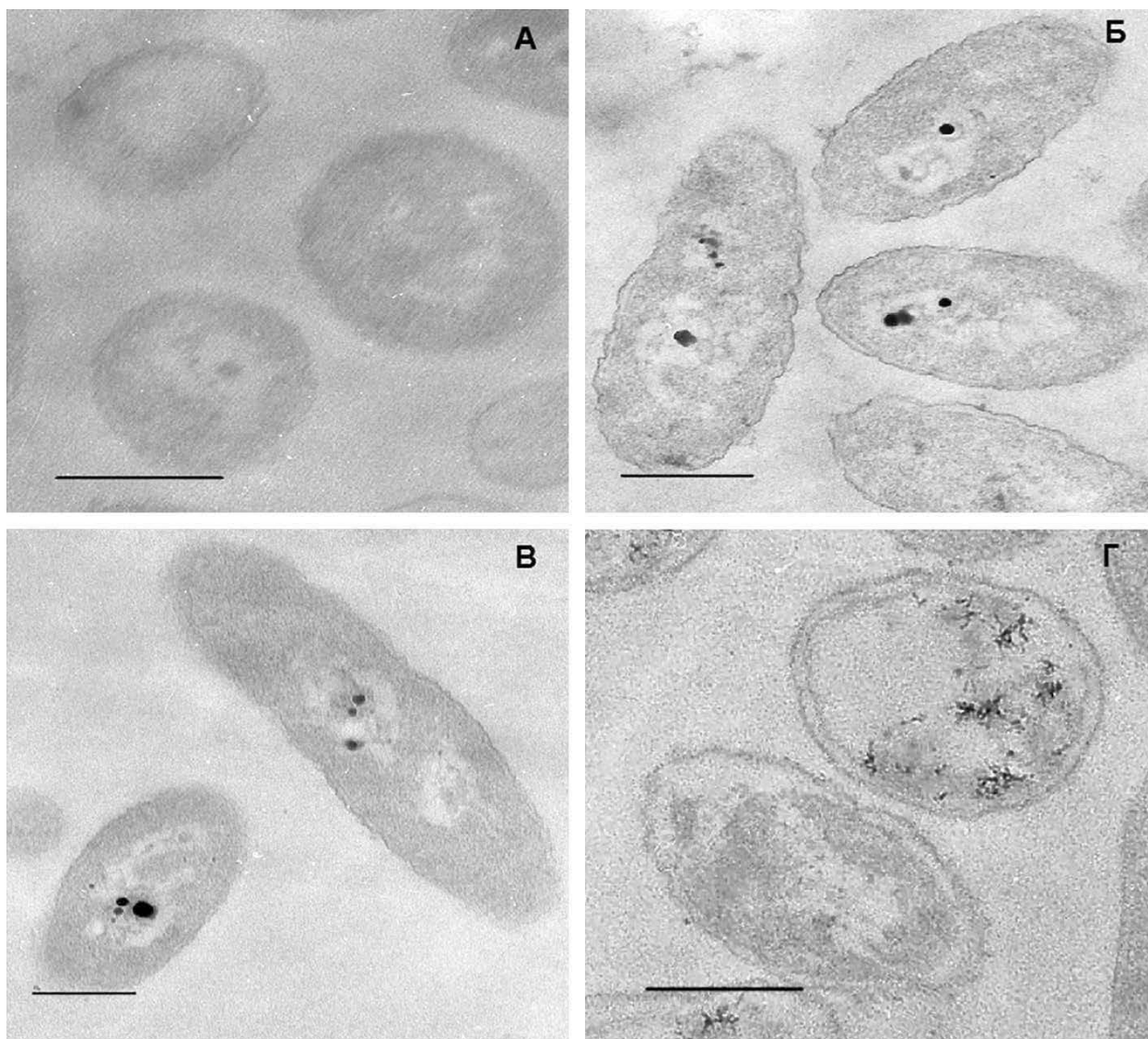


Рис. 6. Субмикроскопическая организация клеток *Pseudomonas grimontii* С-61-1 без радионуклида (А) и в присутствии $^{233}\text{U(VI)}$ (Б), $^{241}\text{Am(III)}$ (В) и $^{237}\text{Np(V)}$ (Г). Размер линейки соответствует 1 мкм

и органическое вещество, численность микроорганизмов возрастает, достигая 10^7 кл/см³, что может способствовать биосорбции металлов (рис. 5, 6).

Важным с точки зрения экологической безопасности захоронения РАО является обнаружение в подземных водах микроорганизмов, способных восстанавливать металлы, а также сульфаты до сульфидов [25, 26, 28]. В результате их жизнедеятельности может происходить образование новых малорастворимых минеральных фаз, приводящих к изменению геохимических характеристик среды и способных менять ее иммобилизирующие свойства по отношению к радионуклидам. Ряд штаммов сульфатредуцирующих и железа(III)-редуцирующих (рода *Shewanella*) бактерий, выделенных из эксплуатационных горизонтов [26], восстанавливали Fe(III), U(VI) и Np(V) в присутствии разных органических субстратов. В экспериментах, проведенных на накопительных культурах, показана

более высокая эффективность восстановления радионуклидов.

В 2016 году был проведен второй этап исследований проб из II и III эксплуатационных горизонтов ПГЗ ЖРО «Северский». По сравнению с результатами предыдущего мониторинга в ряде проб отмечено увеличение численности денитрифицирующих и аэробных органотрофных бактерий, вероятно, связанное с продвижением фронта нитрат-ионов и других компонентов отходов на большее расстояние от нагнетательных скважин. Показано, что в подземных водах существует возможность сопряжения циклов азота и серы вследствие функционирования автотрофных бактерий, окисляющих восстановленные соединения серы до сульфата с одновременным восстановлением нитрат-ионов до нитрита. Впервые, помимо исследуемых ранее групп бактерий, были выявлены тионовые, нитрифицирующие и АНАММОКС-бактерии. Последние способны анаэробно восстанавливать

нитрит-ионы до молекулярного азота, используя аммоний в качестве донора электронов.

Обнаружено присутствие жизнеспособных, но геохимически низкоактивных сульфатредуцирующих и метаногенных микроорганизмов в подземных водах. Низкое содержание сульфатов, органического вещества и высокий окислительно-восстановительный потенциал подземных вод в зоне поступления нитрат-ионов препятствуют росту сульфатредуцирующих бактерий и метанобразующих архей. Нагнетание органических субстратов, в первую очередь стимулирующих рост денитрифицирующих бактерий, может привести к снижению содержания нитрат-ионов и окислительно-восстановительного потенциала подземных вод и созданию восстановленной обстановки, способствующей росту сульфатредуцирующих бактерий. Эта группа бактерий наиболее перспективна для использования при формировании локального биогеохимического барьера по отношению к радионуклидам, поскольку образуемый ими сероводород будет способствовать переводу окисленных радионуклидов в восстановленную форму и их осаждению на породах в виде малорастворимых сульфидов.

Впервые при исследовании пунктов глубинного захоронения РАО в России на примере ПГЗ ЖРО «Северский» определен состав микробного сообщества загрязненных подземных вод методом высокопроизводительного секвенирования генов 16S рРНК. Метод позволяет установить биоразнообразие микроорганизмов в пробах, включая и некультивируемые формы, численность которых может на порядки превышать таковую культивируемых прокариот. В результате этой работы были обнаружены гены 16S рРНК аэробных нитрифицирующих бактерий 1 фазы, окисляющих аммоний до нитрита. Гены нитрификаторов 2 фазы, окисляющих нитриты до нитратов, принадлежали бактериям родов *Candidatus Nitrotoga*, *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrospira* и некультивируемым бактериям семейства *Nitrospiraceae*. Гены 16S рРНК денитрифицирующих бактерий принадлежали представителям родов *Pseudomonas*, *Denitratisoma* и др., способным участвовать также в восстановлении урана и технеция. В лабораторных экспериментах был исследован процесс изменения редокс-потенциала сред денитрифицирующими микроорганизмами (рис. 7). Показано, что при температуре 150 °С добавление ацетата и молочной сыворотки к подземной воде приводило к снижению значений Eh из окислительной области +200...+250 в восстановительную –100...–150 мВ за счет восстановления нитратов до N₂. Потребление окислителей в системе способствует созданию условий для перевода редокс-чувствительных металлов – урана, плутония, нептуния, в низковалентные менее подвижные формы. Такой подход может быть использован

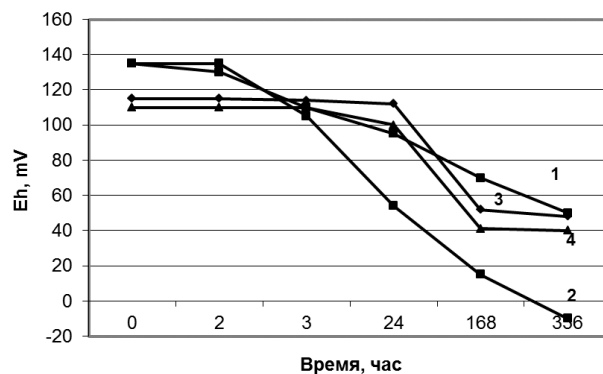


Рис. 7. Снижение Eh (mV) среды с ацетатом и нитратом в процессе роста денитрифицирующих бактерий *Thermomonas fusca* SHC-3-19 (1), *Microbacterium oxydans* SHC 3-5 (2), *Pseudomonas veronii* SHC-8-1 (3) и *Ensifer adhaerens* SHC-2-14 (4), выделенных из эксплуатационных горизонтов ПГЗ ЖРО «Северский»

при создании геохимического барьера для радионуклидов в загрязненных горизонтах при закрытии ПГЗ ЖРО.

Заключение

Обобщение результатов микробиологических исследований ПГЗ ЖРО свидетельствует о том, что подземная микробиота исследованных незагрязненных участков эксплуатационных горизонтов малочисленна, но разнообразна по своим физиологическим параметрам и способна активизироваться при поступлении компонентов отходов в пласт, а следовательно, необходимо учитывать:

- значимость процессов денитрификации при миграции нитрат-ионов. Без учета их роли данные моделирования распределения нитратов не соответствуют реальным ореолам их распространения. Нитрат-ион – один из основных компонентов отходов и один из наиболее токсичных макрокомпонентов;
- возможность участия микроорганизмов в миграции радионуклидов. В результате биогеохимических процессов может происходить восстановление мобильных радионуклидов – технеция ($Tc^{7+} \rightarrow Tc^{4+}$), нептуния ($Np^{5+} \rightarrow Np^{4+}$) и урана ($U^{6+} \rightarrow U^{4+}$), что ограничивает их распространение. Необходимо подтвердить и оценить возможность их биовосстановления в эксплуатационных горизонтах, и прежде всего на фронте распространения отходов, где создаются благоприятные pH-Eh-условия для протекания таких реакций;
- возможность участия микроорганизмов в транспорте радионуклидов (Am, Pu, U) в составе биокolloидов. Такие данные необходимы для достоверности прогноза последствий захоронения жидких РАО.

Таким образом, очевидно, что микроорганизмы в условиях глубинных горизонтов, используемых для захоронения РАО, принимают

участие в процессах, связанных как с преобразованием макрокомпонентов отходов, так и с миграцией радионуклидов. Имеющийся в настоящее время объем экспериментальных данных недостаточен для определения значимости влияния микробных процессов на радиоэкологическую безопасность ПГЗ ЖРО и возможности их использования в перспективе при закрытии ПГЗ ЖРО (создание биогеохимических барьеров). Недостаточность экспериментальных данных связана с отсутствием долговременного комплексного исследования (микробиологического мониторинга) во всем объеме ПГЗ ЖРО. Получить численные параметры для выполнения прогнозных расчетов возможно только при системном подходе к комплексному исследованию биогеохимических процессов.

Благодарности

Авторы благодарны Т. Л. Бабич (ФИЦ Биотехнологии РАН) за помощь в подготовке статьи. Обобщение результатов выполнено при поддержке Федерального агентства научных организаций (ФАНО России) (темы № АААА-А16-11611091001 и № 01201350928).

Литература

1. Рыбальченко А. И., Пименов М. К., Костин П. П. и др. Глубинное захоронение жидких радиоактивных отходов. — М.: ИздАТ, 1994. — 256 с.
2. Wall J. D., Krumholz L. R. Uranium reduction // *Annu. Rev. Microbiol.* 2006. V. 60. P. 149–166. doi: 10.1146/annurev.micro.59.030804.121357.
3. Lovley D. R. Dissimilatory metal reduction // *Annu. Rev. Microbiol.* 1993. V. 47. P. 263–290.
4. Banaszak J. E., Rittmann B. E., Reed D. T. Subsurface interactions of actinide species and microorganisms: Implications for the bioremediation of actinide-organic mixtures // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1999. V. 241. P. 385–435.
5. Newsome L., Morris K., Lloyd J. R. The biogeochemistry and bioremediation of uranium and other priority radionuclides // *Chem. Geol.* 2014. V. 363. P. 164–184. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2013.10.034>
6. Francis A. J., Gillow J. B., Dodge C. J., Dunn M., Mantione K., Strietelmeier B. A., Pansoy-Hjelvik M. E., Papenguth H. W. Role of bacteria as biocolloids in the transport of actinides from a deep underground radioactive waste repository // *Radiochim. Acta.* 1998. V. 82. P. 347–354.
7. Pedersen K. Microorganisms and their influence on radionuclide migration in igneous rock environments // *J. Nucl. Radiochem. Sci.* 2005. V. 6. No. 1. P. 11–15.
8. Nazina T., Kosareva I., Petrunyaka V., Savushkina M., Kudriavtsev E., Lebedev V., Ahunov V., Revenko Y., Khafizov R., Osipov G., Belyaev S., Ivanov M. Microbiology of formation waters from the deep repository of liquid radioactive wastes Severnyi // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2004. V. 49. P. 97–107.
9. Косарева И. М., Сафонов А. В., Савушкина М. К., Ершов Б. Г., Кабакчи С. А., Ревенко Ю. А., Хафизов Р. Р., Бондин В. В., Назина Т. Н. Физико-химический и микробиологический контроль полигонов глубинного удаления жидких радиоактивных отходов // *Атомная энергия.* 2007. Т. 103. Вып. 2. С. 106–112.
10. Косарева И. М., Сафонов А. В., Ершов Б. Г., Назина Т. Н. Вопросы оценки биогенного преобразования состава РАО, инкорпорированных в глубинный пласт-коллектор // *Вопросы радиационной безопасности.* 2007. № 3. С. 50–57.
11. Neu M. P. Siderophore-mediated chemistry and microbial uptake of Plutonium // *Los Alamos Sci.* 2000. No. 26. P. 416–417.
12. North N., Dollhopf S. L., Petrie L., Istok J. D., Balkwill D. L., Kostka J. E. Change in bacterial community structure during in situ biostimulation of subsurface sediment cocontaminated with uranium and nitrate // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. V. 70. P. 4911–4920.
13. Green S. J., Prakash O., Jasrotia P., Overholt W. A., Cardenas E., Hubbard D., Tiedje J. M., Watson D. B., Schadt C. W., Brooks S. C., Kostka J. E. Denitrifying bacteria from the genus *Rhodanobacter* dominate bacterial communities in the highly contaminated subsurface of a nuclear legacy waste site // *Appl. Environ. Microbiol.* 2012. V. 78. P. 1039–1047.
14. Fredrickson J., Zachara J., Balkwill D., Kennedy D., Li S.-M., Kostandarithes H., Daly M., Romine M., Brockman F. Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington State // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. V. 70. P. 4230–4241.
15. Zachara J. M., Long P. E., Bargar J., Davis J. A., Fox P., Fredrickson J. K., Freshley M. D., Konopka A. E., Liu C., McKinley J. P., Rockhold M. L., Williams K. H., Yabusaki S. B. Persistence of uranium groundwater plumes: contrasting mechanisms at two DOE sites in the groundwater–river interaction zone // *J. Contam. Hydrol.* 2013. V. 147. P. 45–72.
16. Pedersen K. Investigation of subterranean bacteria in deep crystalline bedrock and their importance for the disposal of nuclear waste // *Can. J. Microbiol.* 1996. V. 42. P. 382–391.
17. McKinley I. G., Hagenlocher I., Alexander W. R., Schwyn B. Microbiology in nuclear waste disposal: interfaces and reaction fronts // *FEMS Microbiol. Rev.* 1997. V. 20. No. 3/4. P. 545–556.
18. Stroes-Gascoyne S., West J. M. Microbial studies in the Canadian nuclear fuel waste management program // *FEMS Microbiol. Rev.* 1997. V. 20. No. 3/4. P. 573–590.
19. West J. M., Christofi N., McKinley I. G. An overview of recent microbiological research relevant to the geological disposal of nuclear waste // *Rad. Waste Management Nuclear Fuel Cycle.* 1986. V. 6. P. 79.
20. Farkas G., Gazso L. Characterization of subterranean bacteria in the Hungarian Upper Permian

- Siltstone Formation // Can. J. Microbiol. 2000. V. 46. P. 559–564.
21. Domingo J. W. S., Berry C. J. Microbial biofilm growth on irradiated, spent nuclear fuel cladding // J. Nucl. Mater. 2009. V. 384. Iss. 2. P. 140–145.
22. Назина Т. Н., Косарева И. М., Давыдов А. С., Турова Т. П., Новикова Е. В., Хафизов Р. Р., Полтараус А. Б. Физико-химическая и микробиологическая характеристика подземных вод из наблюдательных скважин глубинного хранилища жидких радиоактивных отходов // Микробиология. 2000. Т. 69. № 1. С. 105–112.
23. Назина Т. Н., Сафонов А. В., Косарева И. М., Ивойлов В. С., Полтараус А. Б., Ершов Б. Г. Микробиологические процессы в глубинном хранилище жидких радиоактивных отходов «Северный» // Микробиология. 2010. Т. 79. № 4. С. 551–561.
24. Сафонов А. В., Косарева И. М., Ершов Б. Г., Ревенко Ю. А., Понизов А. В., Леконцева А. А. Экологические аспекты локализации жидких радиоактивных отходов в глубинном хранилище «Северный» // Атомная энергия. 2011. Т. 111. № 2. С. 100–104.
25. Назина Т. Н., Лукьянова Е. А., Захарова Е. В., Ивойлов В. С., Полтараус А. Б., Калмыков С. Н., Беляев С. С., Зубков А. А. Распространение и активность микроорганизмов в глубинном хранилище жидких радиоактивных отходов Сибирского химического комбината // Микробиология. 2006. Т. 75. № 6. С. 836–848.
26. Nazina T. N., Luk'yanova E. A., Zakharova E. V., Konstantinova L. I., Kalmykov S. N., Poltaraus A. B., Zubkov A. A. Microorganisms in a disposal site for liquid radioactive wastes and their influence on radionuclides // Geomicrobiol J. 2010. V. 27. Iss. 5. P. 473–486. DOI: 10.1080/01490451003719044.
27. Лукьянова Е. А., Захарова Е. В., Константинова Л. И., Назина Т. Н. Сорбция радионуклидов микроорганизмами из глубинного хранилища жидких низкоактивных отходов // Радиохимия. 2008. Т. 50. Вып. 1. С. 75–80.
28. Захарова Е. В., Михайлина А. В., Константинова Л. И., Прошин И. М., Лукьянова Е. А., Назина Т. Н. Влияние биогеохимических факторов на подвижность Np(V) в условиях дальней зоны глубинных хранилищ жидких радиоактивных отходов // Радиохимия. 2011. Т. 53. Вып. 4. С. 364–369.

Информация об авторах

Сафонов Алексей Владимирович, кандидат химических наук, руководитель группы, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (119071, Москва, Ленинский пр-т, 31, корп. 5), e-mail: alexeysafonof@gmail.com.

Захарова Елена Васильевна, кандидат химических наук, зав. лабораторией, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (119071, Москва, Ленинский пр-т, 31, корп. 5), e-mail: zakharova@ipc.rssi.ru.

Назина Тамара Николаевна, доктор биологических наук, зав. лабораторией, Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН (117312, Москва, пр-т 60-летия Октября, 7, корп. 2), e-mail: nazina@inmi.ru.

Понизов Антон Владимирович, начальник отдела, ФБУ «Научно-технический центр по ядерной и радиационной безопасности» (107140, Москва, ул. Малая Красносельская, 2/8, корп. 5), e-mail: ponizov@secnrs.ru.

Зубков Александр Александрович, кандидат технических наук, начальник лаборатории геотехнологического мониторинга, Акционерное общество «Сибирский химический комбинат» (636039, г. Северск Томской области, ул. Курчатова, 1), e-mail: SHK@seversk.tomsknet.ru.

Библиографическое описание данной статьи

Сафонов А. В., Захарова Е. В., Назина Т. Н., Понизов А. В., Зубков А. А. Российский опыт микробиологических исследований подземных вод в зоне глубинного захоронения жидких радиоактивных отходов // Радиоактивные отходы. — 2018. — № 3 (4). — С. 39–49.

RUSSIAN EXPERIENCE ON MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION OF GROUNDWATER FROM THE ZONE OF LIQUID RADIOACTIVE WASTE DEEP BURIAL

Safonov A. V.¹, Zakharova E. V.¹, Nazina T. N.², Ponizov A. V.³, Zubkov A. A.⁴

¹Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³Federal State-Funded Institution Scientific and Engineering Center of Nuclear and Radiation Safety, Moscow, Russia

⁴Joint stock company «Siberian Chemical Combine», Seversk, Russia

Article received 23 May 2018

The article presents the results of investigation of groundwater microorganisms from deep disposal facilities for liquid radioactive waste (RW) in Zheleznogorsk and Seversk carried out in 1998–2016. The microbial community investigated in groundwater is physiologically diverse, but is low geochemical active. It includes aerobic organotrophs and anaerobes (fermenting, denitrifying, sulfate-reducing, and methanogenic microorganisms). Paper shows that that injection of RW into aquifers increases population of microorganisms and rates of anaerobic microbial processes resulting from the use of organic and mineral components of the waste. Bacteria isolated from groundwater were found to be capable of nitrate and radionuclide recovery, radionuclide sorption, and affecting the ambient redox potential. Microbiological monitoring of groundwater is required for evaluation of long-term environmental safety of the deep disposal facilities for liquid RW.

Keywords: *microbial ecology, deep disposal sites for liquid radioactive wastes, denitrification, radionuclides reduction.*

Acknowledgements

The authors are grateful to T. L. Babich (Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology RAS) for assistance in the preparation of the article. A generalization of the results was carried out with the support of the Federal Agency of Scientific Organizations (FANO Russia) (themes No AAAA-A16-11611091001 and No. 01201350928).

References

- Rybalchenko A. I., Pimenov M. K., Kostin P. P. et al. *Glubinnoye zakhoroneniye zhidkikh radioaktivnykh otkhodov*. Moscow, Izdat Publ., 1994, 256 p.
- Wall J. D., Krumholz L. R. Uranium reduction. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2006, v. 60, pp. 149–166. doi: 10.1146/annurev.micro.59.030804.121357.
- Lovley D. R. Dissimilatory metal reduction. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1993, v. 47, pp. 263–290.
- Banaszak J. E., Rittmann B. E., Reed D. T. Sub-surface interactions of actinide species and microorganisms: Implications for the bioremediation of actinide-organic mixtures. *J. Radioanalyt. Nucl. Chem.*, 1999, v. 241, pp. 385–435.
- Newsome L., Morris K., Lloyd J. R. The biogeochemistry and bioremediation of uranium and other priority radionuclides. *Chem. Geol.*, 2014, v. 363, pp. 164–184. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2013.10.034>
- Francis A. J., Gillow J. B., Dodge C. J., Dunn M., Mantione K., Strietelmeier B. A., Pansoy-Hjelvik M. E., Papenguth H. W. Role of bacteria as biocolloids in the transport of actinides from a deep underground radioactive waste repository. *Radiochim. Acta*, 1998, v. 82, pp. 347–354.
- Pedersen K. Microorganisms and their influence on radionuclide migration in igneous rock environments. *J. Nucl. Radiochem. Sci.*, 2005, v. 6, no. 1, pp. 11–15.
- Nazina T., Kosareva I., Petrunyaka V., Savushkina M., Kudriavtsev E., Lebedev V., Ahunov V., Revenko Y., Khafizov R., Osipov G., Belyaev S., Ivanov M. Microbiology of formation waters from the deep repository of liquid radioactive wastes Severnyi. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2004, v. 49, pp. 97–107.
- Kosareva I. M., Safonov A. V., Savushkina M. K., Ershov B. G., Kabakchi S. A., Revenko YU. A., Khafizov R. R., Bondin V. V., Nazina T. N. Physicochemical and Biological Monitoring of Deep Repositories for Liquid Radioactive Wastes. *Atomic Energy*, 2007, vol. 103, no. 2, pp. 615–622. doi: 10.1007/s10512-007-0098-8.
- Kosareva I. M., Safonov A. V., Ershov B. G., Nazina T. N. Voprosy otsenki biogennogo preobrazovaniya sostava RAO, inkorporirovannykh v glubinnyy plast-kollektor. *Voprosy radiatsionnoy bezopasnosti*. 2007, no. 3. pp. 50–57.
- Neu M. P. Siderophore-mediated chemistry and microbial uptake of Plutonium. *Los Alamos Sci.*, 2000, no. 26, pp. 416–417.
- North N., Dollhopf S. L., Petrie L., Istok J. D., Balkwill D. L., Kostka J. E. Change in bacterial community structure during in situ biostimulation of subsurface sediment cocontaminated with uranium and nitrate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, v. 70, pp. v4911–4920.
- Green S. J., Prakash O., Jasrotia P., Overholt W. A., Cardenas E., Hubbard D., Tiedje J. M., Watson D. B., Schadt C. W., Brooks S. C., Kostka J. E. Denitrifying bacteria from the genus *Rhodanobacter* dominate bacterial communities in the highly contaminated subsurface of a nuclear legacy waste site. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, v. 78, pp. 1039–1047.

14. Fredrickson J., Zachara J., Balkwill D., Kennedy D., Li S.-M., Kostandarithes H., Daly M., Romine M., Brockman F. Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington State. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, v. 70, pp. 4230–4241.
15. Zachara J. M., Long P. E., Bargar J., Davis J. A., Fox P., Fredrickson J. K., Freshley M. D., Konopka A. E., Liu C., McKinley J. P., Rockhold M. L., Williams K. H., Yabusaki S. B. Persistence of uranium groundwater plumes: contrasting mechanisms at two DOE sites in the groundwater–river interaction zone. *J. Contam. Hydrol.*, 2013, v. 147, pp. 45–72.
16. Pedersen K. Investigation of subterranean bacteria in deep crystalline bedrock and their importance for the disposal of nuclear waste. *Can. J. Microbiol.*, 1996, v. 42, pp. 382–391.
17. McKinley I. G., Hagenlocher I., Alexander W. R., Schwyn B. Microbiology in nuclear waste disposal: interfaces and reaction fronts. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1997, v. 20, no. 3/4, pp. 545–556.
18. Stroes-Gascoyne S., West J. M. Microbial studies in the Canadian nuclear fuel waste management program. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1997, v. 20, no. 3/4, pp. 573–590.
19. West J. M., Christofi N., McKinley I. G. An overview of recent microbiological research relevant to the geological disposal of nuclear waste. *Rad. Waste Management Nuclear Fuel Cycle*, 1986, v. 6, p. 79.
20. Farkas G., Gazso L. Characterization of subterranean bacteria in the Hungarian Upper Permian Siltstone Formation. *Can. J. Microbiol.*, 2000, v. 46, pp. 559–564.
21. Domingo J. W. S., Berry C. J. Microbial biofilm growth on irradiated, spent nuclear fuel cladding. *J. Nucl. Mater.*, 2009, v. 384, iss. 2, pp. 140–145.
22. Nazina T. N., Tourova T. P., Novikova E. V., Kosareva I. M., Davidov A. S., Khafizov R. R., Poltarau A. B. Physicochemical and Microbiological Characteristics of Groundwater from Observation Wells of a Deep Radioactive Liquid Waste Repository. *Microbiology*, 2000, vol. 69, no. 1, pp. 89–95.
23. Nazina T. N., Ivoilov V. S., Safonov A. V., Kosareva I. M., Ershov B. G., Poltarau A. B. Microbiological Processes in the Severnyi Deep Disposal Site for Liquid Radioactive Wastes. *Microbiology*, 2010, vol. 79, no. 4, pp. 528–537.
24. Safonov A. V., Kosareva I. M., Ershov B. G., Revenko Y. A., Ponizov A. V., Lekontseva A. A. Ecological Aspects of Liquid Radwaste Confinement in the Severnyi Deep Repository. *Atomic Energy*, 2011, vol. 111, no. 2, pp. 133–139. Doi: 10.1007/s10512-011-9465-6.
25. Nazina T. N., Ivoilov V. S., Belyaev S. S., Luk'yanova E. A., Zakharova E. V., Poltarau A. B., Kalmykov S. N., Zubkov A. A. Distribution and Activity of Microorganisms in the Deep Repository for Liquid Radioactive Waste at the Siberian Chemical Combine. *Microbiology*, 2006, vol. 75, no. 6. C. 727–738. Doi: 10.1134/S0026261706060178.
26. Nazina T. N., Luk'yanova E. A., Zakharova E. V., Konstantinova L. I., Kalmykov S. N., Poltarau A. B., Zubkov A. A. Microorganisms in a disposal site for liquid radioactive wastes and their influence on radionuclides. *Geomicrobiol. J.*, 2010, vol. 27, iss. 5, pp. 473–486. Doi: 10.1080/01490451003719044.
27. Luk'yanova E. A., Zakharova E. V., Konstantinova L. I., Nazina T. N. Sorption of Radionuclides by Microorganisms from a Deep Repository of Liquid Low-Level Waste. *Radiochemistry*, 2008, vol. 50, no. 1, pp. 85–90. Doi: 10.1007/s11137-008-1014-3.
28. Zakharova E. V., Mikhailina A. B., Konstantinova L. I., Proshin I. M., Luk'yanova E. A., Nazina T. N. Effect of Biogeochemical Factors on the Np(V) Mobility under the Conditions of Remote Zone of Deep Liquid Radioactive Waste Repositories. *Radiochemistry*, 2011, vol. 53, no. 4, pp. 430–436. Doi: 10.1134/S1066362211040175.

Information about the authors

Safonov Alexey Vladimirovich, Ph. D., head of the group, Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences (31, Leninsky prosp., Moscow, 119071, Russia), e-mail: alexeysafonof@gmail.com.

Zakharova Elena Vasilievna, Ph.D., head of laboratory, Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences (31, Leninsky prosp., Moscow, 119071, Russia), e-mail: zakharova@ipc.rssi.ru.

Nazina Tamara Nikolaevna, Ph. D., Doctor of Biology, head of laboratory, Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences (7/2, Prosp. 60-Letiya Oktyabrya, Moscow, 117312, Russia), e-mail: nazina@inmi.ru.

Ponizov Anton Vladimirovich, Head of Office, Federal State-Funded Institution Scientific and Engineering Center of Nuclear and Radiation Safety (corp. 5, 2/8, Malaya Krasnoselskaya st., Moscow, 107140, Russia), e-mail: ponizov@secnrs.ru

Zubkov Alexander Alexandrovich, PhD, Head of laboratory, Joint stock company «Siberian Chemical Combine» (1, Kurchatov st., Seversk, Tomsk Region, 636039, Russia), e-mail: SHK@seversk.tomsknet.ru.

Bibliographic description

Safonov A. V., Zakharova E. V., Nazina T. N., Ponizov A. V., Zubkov A. A. Russian Experience on Microbiological Investigation of Groundwater from the Zone of Liquid Radioactive Waste Deep Burial. *Radioactive waste*, 2018, no 3 (4), pp. 39–49. (In Russian).