

Биогенные факторы иммобилизации радионуклидов на песчаных породах верхних водоносных горизонтов

© А. В. Сафонов^{*а}, Н. Д. Андрищенко^а, П. В. Иванов^з, К. А. Болдырев^б, Т. Л. Бабич^б,
К. Э. Герман^а, Е. В. Захарова^а

^а Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН,
119071, Москва, Ленинский пр., д. 31, корп. 4; * e-mail: alexeysafonof@gmail.com

^б Институт проблем безопасного развития атомной энергетики, 115191, Москва, Б. Тульская ул., д. 52

^б Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН,
117312, Москва, пр. 60-летия Октября, д. 7, корп. 2

^з Институт наук о Земле Йенского университета им. Ф. Шиллера, Йена, Германия

Получена 07.12.2017, после доработки 06.06.2018, принята к публикации 14.06.2018

УДК 550.47.502.55 621.039.73; 665.7

Изучено влияние микроорганизмов на иммобилизацию Cs, Sr, U и Tc на песчаных породах из верхних водоносных горизонтов. Выполнены лабораторные исследования проб пластовой воды, отобранных из наблюдательных скважин в районе законсервированного хранилища жидких радиоактивных отходов (ЖРО) водоема Б-2 СХК, и компьютерное геохимическое моделирование, позволяющее оценить разнообразие форм радионуклидов с учетом физико-химических условий в верхних водоносных горизонтах. Показано, что в этой зоне под влиянием микроорганизмов могут формироваться восстановительные условия, способствующие иммобилизации радионуклидов с переменной степенью окисления. Согласно данным геохимического моделирования, в результате микробных процессов можно ожидать образование осадков U(IV) и Tc(IV) в смеси с биогенным сульфидом. При этом обрастание поверхности частиц водоносных пород микробными биопленками полисахаридной природы приводит к ухудшению сорбции Cs и Sr и повышению эффективности иммобилизации U.

Ключевые слова: цезий, стронций, уран, технеций, миграция, микроорганизмы, биопленки, пески водоносных горизонтов, сорбция, биовосстановление, биогеохимическое моделирование, PHREEQC.

DOI: 10.1134/S0033831119010106

Попадание высокотоксичных соединений и радиоактивных элементов в подземные водоносные горизонты вследствие их выхода из источника загрязнения, например при эксплуатации шламохранилищ [1] или горных отвалов при добыче урансодержащих руд [2], может приводить к переносу компонентов жидких радиоактивных отходов (ЖРО) с током подземных вод на значительные расстояния к областям разгрузки – открытым водоемам. В настоящее время особое внимание уделяется изучению загрязнения верхних водоносных горизонтов – зон аэрации с повышенным содержанием органического вещества и потенциальной возможностью реализации коллоидного и псевдоколлоидного переноса радионуклидов. Загрязненные радионуклидами верхние водоносные горизонты встречаются на территории разных стран: в Российской Федерации на СХК, ГХК, НЗХК и других заводах, в США – на заводах Хэнфорд, Саванна-Ривер, в Англии – на заводе Селлафилд, в Германии – в районе рудника Ассе-2 [3], а также на предприятиях Канады, Казахстана [4], Кыргызстана [5] и других стран.

Существующие модели, позволяющие прогнозировать миграцию радионуклидов в пластовых водах, основываются преимущественно на термодинамических расчетах возможного образования минеральных фаз в рассматриваемых условиях, показателях сорб-

ции элементов на вмещающих породах и гидродинамических параметрах переноса. Однако в таких расчетах, как правило, не учитываются микробиологические факторы, роль которых по мере изучения микробных процессов оказывается все более значимой.

Первые сведения о важной роли микробного сообщества подземных вод в миграции радионуклидов появились более 30 лет назад [6–8]. Проводимые в этой области исследования указывают на большое значение биологических процессов, влияющих прямо или косвенно на миграцию радионуклидов в грунтовых водах. В ряде случаев жизнедеятельность микроорганизмов может приводить к иммобилизации переменновалентного радионуклида вследствие его восстановления с образованием малорастворимых соединений, а также накопления внутри микробных клеток или сорбции полисахаридным матриксом биопленок. Суть процесса биовосстановления – использование клеткой элемента в высшей степени окисления в качестве окислителя (акцептора электронов) при клеточном дыхании [9]. Известны работы по восстановлению Pu(VI) [10], U(VI) [11, 12], а также ионов TcO₄⁻ [13] и NpO₂⁺ [14].

Опосредованная роль микроорганизмов в иммобилизации радиоактивных элементов заключается в осаждении радионуклидов с биогенными минеральными фазами и микробными метаболитами [15], на-

пример фосфатами, сульфидами, карбонатами и оксалатами, сероводородом [16] и/или полисахаридными биопленками [17]. Оксигидроксиды Fe(III), которые могут продуцироваться в процессе жизнедеятельности аэробных и анаэробных денитрифицирующих Fe(II)-окисляющих бактерий, также являются мощными сорбентами широкого ряда радионуклидов. Оценка потенциального значения микроорганизмов в иммобилизации радионуклидов на песчаных породах в водоносных горизонтах в зависимости от дозы их излучения проведена в работе [18]. Микробные процессы были успешно использованы в биотехнологиях *in situ* ремедиации водоносных горизонтов, загрязненных компонентами ЖРО [19–21].

Необходимо также отметить возможную роль микроорганизмов в увеличении подвижности радионуклидов, например в результате образования растворимых комплексов уранил-иона с карбонат-ионами биогенного происхождения или с продуктами микробного метаболизма [22] или переноса урана в виде биогенных коллоидов [23].

Таким образом, комплексное изучение биогеохимических процессов, протекающих в загрязненных компонентами ЖРО подземных водах, для оценки миграционных параметров радионуклидов является новой и важной задачей для радиоэкологии.

Целью работы являлась оценка влияния микробного сообщества подземных вод в районе законсервированного хранилища ЖРО бассейна Б-2 СХК на сорбционную емкость вмещающих пород для U, Sr, Cs и Tc и биогеохимическое моделирование процессов восстановления уранил- и пертехнетат-ионов.

Экспериментальная часть

В работе исследовали микробное сообщество пластовой воды, отобранной на территории СХК из наблюдательных скважин по контуру законсервированного хранилища ЖРО – бассейна Б-2. Постоянная температура пласта (глубина залегания 10 м), составляющая $\sim 10^\circ\text{C}$, и близкие к нейтральным значения pH являются подходящими условиями для роста микроорганизмов в круглогодичном режиме. Значения окислительно-восстановительного потенциала, с одной стороны, не препятствуют протеканию микроаэрофильных микробных процессов, а с другой – способствуют миграции металлов в высших степенях окисления.

Пробы отбирали в июне 2016 г. в стерильные герметичные пластиковые бутылки объемом 0.5 л без газовой фазы. Для исследования отбирали пробы пластовой жидкости и песка из трех наблюдательных скважин, расположенных вне контура загрязнения (скважина 1), и из зон с разными уровнями загрязнения (скважины 2 и 3).

Состав сред, условия культивирования и методы учета микроорганизмов. Численность бактерий ряда физиологических групп определяли методом посева предельных разведений проб пластовой воды в жидкие селективные питательные среды в двух повторностях. Посевы инкубировали не более 30 сут при $20\text{--}28^\circ\text{C}$. Результаты оценивали методом наиболее вероятного числа по таблице Мак Креди [24]. Аэробные органотрофные бактерии учитывали в жидкой среде (ТЕГ), содержащей (г/л): бакто-триптон 5.0, дрожжевой экстракт 2.5, глюкозу 1.0, NaCl 1.0 и раствор микроэлементов (1.0 мл/л), pH 7.0–7.2. Денитрифицирующие бактерии обнаруживали по появлению молекулярного азота в среде Адкинса [25], дополненной ацетатом натрия (2.5 г/л) в качестве источника энергии и углерода и нитратом натрия (0.85 г/л) в качестве акцептора электронов. Среда содержала (г/л): KH_2PO_4 0.6, K_2HPO_4 1.0, NaNO_3 1.0, NaCl 0.8, Na_2SO_4 0.1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1, KCl 0.1, раствор микроэлементов (1.0 мл/л), pH 7.0–7.2. В качестве газовой фазы использовали аргон, очищенный от кислорода. Численность сульфатредуцирующих бактерий определяли по образованию сероводорода в конечных разведениях в среде Постгейта [26] с лактатом натрия (3.5 г/л), восстановленной 200 мг/л $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, содержащей (г/л водопроводной воды): KH_2PO_4 0.5, NH_4Cl 1.0, CaSO_4 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.0, NaCl 5.0, FeSO_4 0.5, $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0.1, дрожжевой экстракт 0.5. Железоредацирующие бактерии определяли по накоплению Fe(II) в среде с ацетатом натрия (2.0 г/л) в качестве донора электронов и цитратом Fe(III) (16.2 г/л) в качестве акцептора электронов [27]. В состав среды входили (г/л): $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.6, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1, KCl 0.1, NH_4Cl 1.5, NaCl 1, KH_2PO_4 0.75, K_2HPO_4 1.5, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.005, Na_2MoO_4 0.001, NaHCO_3 2.5, дрожжевой экстракт 0.5 и раствор микроэлементов 1.0 мл/л; pH 7.0. В качестве газовой фазы использовали очищенный от кислорода аргон.

Создание библиотек фрагментов генов 16S рРНК микроорганизмов методом высокопроизводительного секвенирования. Биомассу микроорганизмов получали путем фильтрации 1.5 л подземной жидкости через нитроцеллюлозные фильтры фирмы Millipore (type GS 0.22 мкм, Германия) с использованием прибора для вакуумного фильтрования ПВФ-35 (ГОСТ 18963–73). Выделение ДНК проводили в Балтийском федеральном университете (БФУ им. И. Канта) с использованием набора реактивов ZymoBIOMICSTM DNA Miniprep Kit (Zymo Research, США) согласно инструкции производителя. При подготовке библиотек амплифицировали переменные участки региона V3–V4 гена 16S рРНК. Амплификацию проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе CFX96 Touch (Bio-Rad, США) с использовани-

ем реакционной смеси qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия). Далее осуществляли высокопроизводительное секвенирование с помощью системы MiSeq (Illumina, США) с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Kit v2 (500cycle) (Illumina, США).

Анализ биопленок. Лабораторное моделирование роста биопленок проводили путем инкубации кварцевого песка в присутствии подземной жидкости с добавлением глюкозы (0.5 г/л) и/или ацетата натрия (0.5 г/л) в качестве доноров электронов и источников углерода в флаконах емкостью 50 мл, герметично закрывающихся резиновыми пробками. Кинетические параметры роста биопленок оценивали по содержанию общего углерода методом мокрого сжигания по Тюрину (ГОСТ 26213–91). Рост микроорганизмов, образующих биопленки, определяли с помощью МТТ-теста [28], основанного на уменьшении в среде концентрации растворимого бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) за счет его восстановления до малорастворимого синего формазана NAD(P)H-зависимыми оксидоредуктазами – дыхательными ферментами активно растущих и делящихся клеток. Таким образом, интенсивность окраски формазана в среде отражает жизнеспособность клеток и напрямую зависит от интенсивности микробного дыхания. После инкубации отделяли планктонную культуру от песка с биопленкой и в оба варианта добавляли раствор МТТ в среде LB (триптон 10 г, дрожжевой экстракт 5 г, NaCl 5 г на 1 л дистиллированной воды) до конечной концентрации 0.1%. Дополнительно планктонную культуру и биопленки инкубировали в течение 1 ч для восстановления МТТ при микробном дыхании. Далее в варианте с биопленкой удаляли среду и добавляли 3 мл диметилсульфоксида (ДМСО) для растворения образовавшихся кристаллов формазана и образования окрашенного комплекса с восстановленным МТТ. Планктонную культуру центрифугировали (10 мин, 7000 об/мин), сливали супернатант и добавляли в осадок 3 мл ДМСО. Оптическую плотность определяли спектрофотометрически при 540 нм на приборе Ultrospec 2100 pro (Amersham Biosciences, Великобритания) за вычетом измеренного фонового поглощения.

Визуализацию микробных биопленок проводили на сканирующем электронном микроскопе TESCAN VEGA-II XMU (Япония) в Палеонтологическом институте им. А. А. Борисяка РАН.

Эксперименты по восстановлению металлов проводили в пенициллиновых флаконах в 10 мл питательной среды, содержащей ^{238}U и ^{99}Tc в концентрациях 10^{-3} и $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л соответственно. Количественный анализ восстановленного Tc проводили методом спектрофотометрии окрашенных комплексов с дифенилкарбазидом по разности между начальным

и остаточным содержанием семивалентной формы в растворе. Восстановленный уран определяли методом жидкостной экстракции U(IV) 2-теноилтрифторацетоном (ТТА) [29] с последующим анализом водной и органической фаз с использованием арсеназо III.

Сорбционные эксперименты проводили в полипропиленовых флаконах, в которые вносили по 20 мл модельной воды, содержащей радионуклид в концентрации моль/л (Бк/л): ^{137}Cs $2.6 \cdot 10^{-10}$ ($1.2 \cdot 10^5$), ^{90}Sr $1.4 \cdot 10^{-10}$ ($6.5 \cdot 10^4$), ^{99}Tc (TcO_4^-) $1.2 \cdot 10^{-6}$ ($7.5 \cdot 10^4$), ^{233}U (UO_2^{2+}) $4.8 \cdot 10^{-7}$ ($4.0 \cdot 10^4$). При проведении сорбционных экспериментов использовали раствор, моделирующий подземную воду из приповерхностного горизонта в районе г. Томска, содержащий ионы (мг/л): Ca^{2+} 94.0, Mg^{2+} 21.6, Na^+ 45.4, $\sum(\text{CO}_3^{2-} + \text{HCO}_3^-)$ 465.4, SO_4^{2-} 30.0, Cl 10.0, pH 7.3–7.5.

Через 28 сут из раствора отбирали аликвоты жидкой фазы, в которой анализировали содержание радионуклидов жидкосцинтилляционным методом с применением радиометра Tri-Carb-3180 TR/SL (Perkin Elmer, США). Содержание Cs определяли по активности счетных образцов на лабораторном цифровом γ -спектрометрическом комплексе (ORTEC, США).

По уменьшению активности в растворе оценивали степень сорбции радионуклида (S , %) и соответствующий коэффициент распределения (K_d) по формуле

$$K_d = (C_{\text{тв}}/C_{\text{ж}})/(V/m), \quad (1)$$

где $C_{\text{тв}}$ – концентрация радионуклида на твердой фазе; $C_{\text{ж}}$ – концентрация радионуклида в жидкой фазе; V – объем жидкой фазы, см^3 ; m – масса твердой фазы, г.

Аналитические методы. Прирост биомассы в жидкой среде оценивали спектрофотометрически по оптической плотности при длине волны 660 нм на приборе Ultrospec 2100 pro. Значения pH и Eh растворов и концентрацию нитрат-анионов определяли с помощью pH-метра-иономера «Анион-4100» (Россия), снабженного комбинированными электродами. Концентрацию нитрит-аниона определяли колориметрически с помощью реактива Грисса на спектрофотометре Ultrospec 2100 pro при длине волны 540 нм.

ИК спектры записывали в диапазоне волновых чисел 4000–550 см^{-1} с использованием спектрометра Thermo Nicolet Nexus 4700 FT-IR (США) с ячейкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).

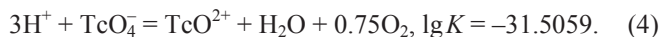
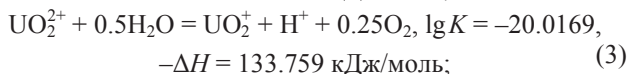
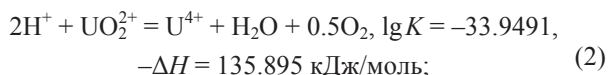
В моделировании применяли расчетный код геохимического моделирования Phreeqc 2.18 [30]. Расчеты при использовании данного кода проводили в рамках разработки методологии расчета эволюции каскада инженерных барьеров DESTRUCT [31]. Для расчета форм урана использовали термодинамическую базу данных llnl.dat, учитывающую следующее

Таблица 1. Характеристика химического и радиохимического состава проб пластовой жидкости из скважин в районе бассейна Б-2 (июнь 2016 г.)

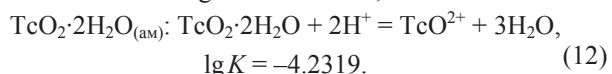
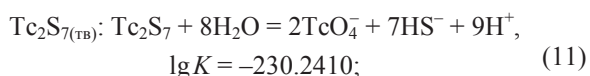
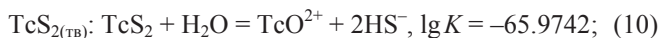
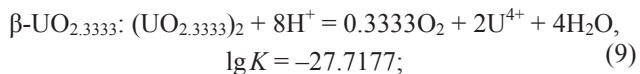
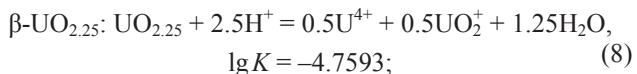
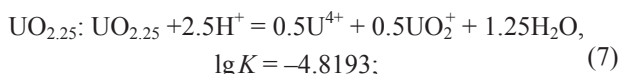
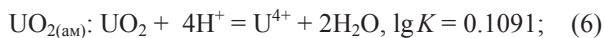
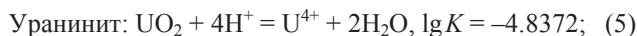
Скважина	рН	Окислители, мг О ₂ /л	Fe _{общ}	Na ⁺	K ⁺	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	U (Σ)
1	6.06	2.19	4.33	245.0	6.01	1.78	1500	152.0	<0.01	1363.9	0.066
2	6.56	12.0	0.17	639.0	4.89	6.2	2680	79.3	<0.01	993.1	0.72
3	6.73	4.15	0.09	506.0	4.79	1.4	1426	40.5	<0.01	396.5	1.78

распределение форм: U(IV) – U(OH)₄, U(CO₃)₄⁴⁻, UOH³⁺, U(CO₃)₅⁶⁻, U(SO₄)₂, USO₄²⁺, U⁴⁺, UCl³⁺, UNO₃³⁺, U(NO₃)₂²⁺; U(V) – UO₂⁺, UO₂(CO₃)₃⁵⁻; U(VI) – UO₂·(CO₃)₂²⁻, UO₂(CO₃)₃⁴⁻, UO₂CO₃, UO₂(OH)₂, UO₂OH⁺, UO₂(OH)₃⁻, UO₂SO₄, UO₂²⁺, (UO₂)₃(CO₃)₆⁶⁻, UO₂(SO₄)₂²⁻, (UO₂)₃(OH)₅⁺, (UO₂)₂(OH)₂²⁺, UO₂Cl⁺, UO₂NO₃⁺, (UO₂)₃(OH)₇, (UO₂)₄(OH)₇⁺, (UO₂)₃(OH)₄²⁺, UO₂Cl₂, (UO₂)₃(OH)₅CO₃⁺, (UO₂)₂OH³⁺, (UO₂)₃(OH)₂(HCO₃)⁺, UO₂·(OH)₄²⁻, UO₂SO₃, (UO₂)₁₁(CO₃)₆(OH)₁₂²⁻; для расчета форм Tc использовали следующее распределение форм: Tc(IV) – (TcO(OH))₂, TcO(OH)₂, TcOOH⁺, TcO²⁺; Tc(VI) – HTcO₄, H₂TcO₄; Tc(VII) – TcO₄⁻. Базы данных были актуализированы в рамках проекта NEA-TDB [32, 33].

Переход между окислительно-восстановительными состояниями U и Tc описывается в примененной базе термодинамических данных следующими уравнениями:



Индексы насыщения превышались при восстановлении урана для следующих минеральных фаз – уранинита, аморфного оксида U(IV) и смешанных оксидов урана:



Значения индексов насыщения (SI) рассчитывали по формуле $\text{SI} = \lg(\text{IAP}) - \lg K_s$ (образование

рассматриваемой фазы прогнозируется при $\text{SI} > 0$).

Статистический анализ результатов осуществляли с использованием программ, реализованных в Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Физико-химические условия и биоразнообразие микроорганизмов в пластовых водах в районе бассейна Б-2

В исследованных пробах жидкости из скважин 1, 2 и 3, расположенных в районе хранилища жидких РАО бассейна Б-2 СХК на участках с разным уровнем загрязнения, отмечено повышенное содержание нитрат-ионов по сравнению с фоновой подземной водой (табл. 1). Наибольшее загрязнение техногенными компонентами – нитрат-ионами, U и Sr – обнаружено в пробах из скважин 2, 3 и 1 соответственно. В отобранных пробах не наблюдалось превышения уровней вмешательства по Cs и Tc, однако в водном горизонте присутствуют локальные зоны с заметным увеличением концентрации обоих радионуклидов.

Состав микробного сообщества пластовой жидкости, отобранной из этих скважин, был проанализирован методом высокопроизводительного секвенирования генов 16S рПНК (табл. 2). В полученных библиотеках генов 16S рПНК на уровне высших таксонов домена *Bacteria* численно преобладали последовательности бактерий филума *Proteobacteria* (97%), были обнаружены также последовательности бактерий филумов *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и *Parcubacteria*. В филуме *Proteobacteria* 77% последовательностей принадлежало бактериям класса *Betaproteobacteria*, представленным бактериями родов *Simplicispira* (41%), *Alicyclophilus* (30%), *Herminimonas* (15%) и *Variovorax* (3%), встречающимся в пресных подземных водах. Последовательности *Gammaproteobacteria* (13%) принадлежали бактериям родов *Thermomonas* (8%) и *Pseudomonas* (5%), содержащих денитрифицирующих представителей, а последовательности *Alphaproteobacteria* (6%) – аэробным органотрофным бактериям рода *Devosia*, широко распространенным в почвах и водных экосистемах. В составе выявленных таксонов встречаются бактерии аэробного и анаэробного типов дыхания. Многие из них способны использовать нитраты и металлы в высших степенях окисления в качестве акцепторов электронов.

Таблица 2. Возможная геохимическая функция органотрофных бактерий, доминирующих в составе микробного сообщества пластовой жидкости

Филум	Класс	Род	Возможные процессы
Proteobacteria (97%)	Betaproteobacteria (77%)	<i>Herminiimonas</i>	Восстановление нитрата, Mn(IV), Fe(III), арсената
		<i>Alicyclophilus</i>	Восстановление нитрата, хлоратов
	Gammaproteobacteria (13%)	<i>Thermomonas</i>	Восстановление нитрата, хлоратов, перхлоратов
		<i>Pseudomonas</i>	Восстановление нитрата, Mn(IV), Fe(III), U(VI), арсената
Alphaproteobacteria (6%)	<i>Devosia</i>	Восстановление нитрата до нитрита	

На рис. 1 приведены результаты определения численности аэробных органотрофных и анаэробных железо-, нитрат- и сульфатредуцирующих бактерий. Максимальная численность аэробных органотрофных (до 10^6 кл/мл), а также факультативно анаэробных денитрифицирующих бактерий (10^5 кл/мл) была отмечена в пробах с высоким уровнем загрязнения. Во всех пробах численность сульфатредуцирующих и железоредуцирующих бактерий была низка, вероятно, вследствие высокого окислительно-восстановительного потенциала среды обусловленного высоким содержанием нитратов в воде.

Результаты образования биопленок на песке в модельных экспериментах

В ходе эксперимента по выращиванию микробного сообщества пластовой жидкости в виде пленок на твердом субстрате было установлено, что на песке, отобранном из водоносного горизонта в районе бассейна Б-2 СХК, развивалась бактериальная микрофлора, формируя на поверхности кварцевых частиц биогенный полисахаридный матрикс. Максимум накопления органического вещества приходился на период 15–25 сут, при этом максимальная метаболическая активность прикрепленных форм бактерий (биопленок) наблюдалась на 7–20-е сутки (рис. 2). По мере роста биопленок происходило «старение» полисахаридного матрикса и его частичная деградация. При этом повышенное содержание органического вещества на породе по сравнению с исходным состоянием наблюдалось и через полгода



Рис. 1. Численность N анаэробных сульфат- (1), железо- (2) и нитратредуцирующих (3) бактерий и аэробных органотрофных бактерий (4) в пластовой воде, отобранной из трех наблюдательных скважин по контуру законсервированного хранилища Б-2 на территории СХК.

после начала эксперимента.

Результаты сканирующей электронной микроскопии поверхности кварцевых частиц песка (рис. 3) через 20 сут после начала эксперимента подтверждают наличие поверхностной биопленки. На микрофотографиях видны биогенные разрастания между частицами и обильное обрастание поверхности.

Известно, что бактериальные биопленки на 90–95% представлены полисахаридным матриксом [34], основу которого составляет β -глюкуроновая кислота. При этом его макроструктура, обусловлен-

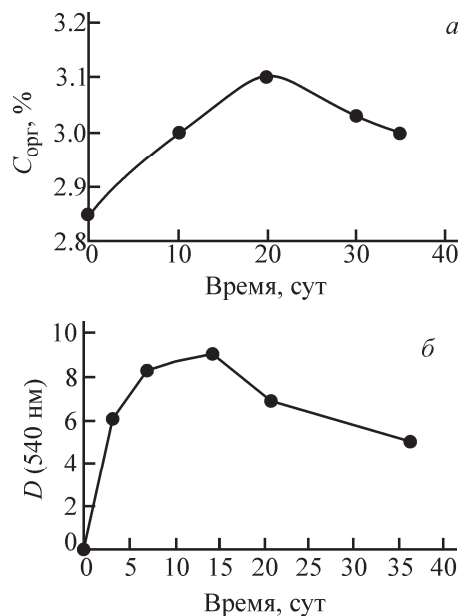


Рис. 2. Кинетика роста микробного сообщества в виде биопленок на песке: а – по накоплению органического вещества на песке, б – по интенсивности метаболизма.

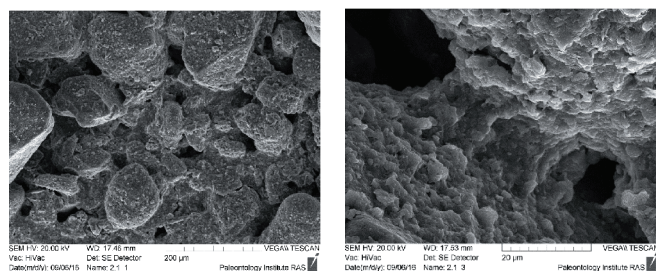


Рис. 3. Фотографии биопленок на поверхности кварцевых частиц песка, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа TESCAN VEGA-II XMU.

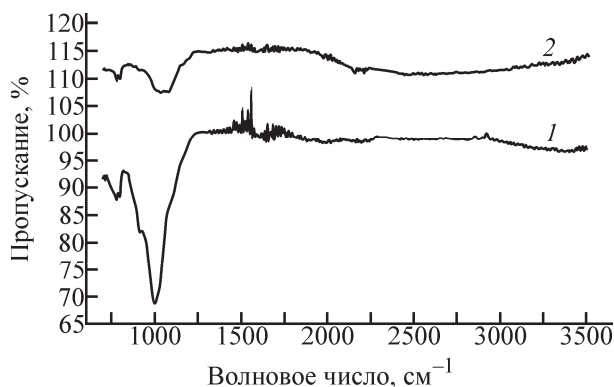


Рис. 4. ИК спектры образцов: 1 – исходный песок, 2 – песок после роста биопленки (спектр сдвинут вверх).

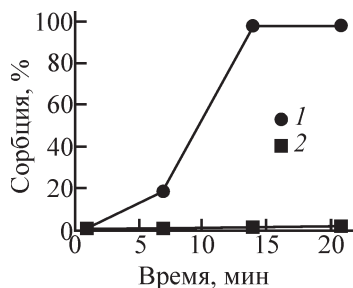


Рис. 5. Кинетика сорбции Tc в присутствии микробного сообщества пластовой жидкости (1) и в контроле (2) в анаэробных условиях при добавлении глюкозы.

ная связями с дополнительными моно-, олиго- и полисахаридами, пептидами и липидами, как правило, является уникальной для каждого вида бактерий. Тем не менее влияние биогенного обрастания поверхности вмещающих пород можно оценивать на примере полисахаридов, содержащих в составе свободные гидроксильные группы, гликозидные связи и в ряде случаев карбонильные группы.

ИК спектр песка с биопленочным обрастанием (рис. 4) заметно отличается от спектра исходного образца, где регистрировались в основном полосы (см^{-1}), относящиеся к колебаниям SiO_2 : 1002 с, 796 и 778 ср, 695 сл.

Анализ появившихся новых полос на песке позволяет предположить присутствие адсорбированных полисахаридов на его поверхности. Об этом свидетельствуют широкая полоса с рядом подмаксимумов в области 3700–2000 см^{-1} , обусловленная поглощением гидроксильных групп, в разной степени связанных водородными связями, и группа сложных полос в интервале 1200–1030 см^{-1} , обычно от-

Таблица 3. Коэффициенты распределения радионуклидов (K_d , $\text{см}^3/\text{г}$) на песке и керамзите в исходном образце и после формирования на нем биопленок

Материал	^{137}Cs	^{90}Sr	^{233}U	^{99}Tc
Исходный песок	1851	20	518	0.15
Песок после роста биопленок	1848	13	644	0.22
Исходный керамзит	42.5	2.9	34.9	0.1
Керамзит после роста биопленок	10.2	61.6	271	0.07

носящихся к валентным колебаниям $\nu(\text{CO})$ эфирной и гидроксильной групп. При этом две интенсивные полосы при 1081 и 1034 см^{-1} на фоне полосы $\nu(\text{SiO})$ 1002 см^{-1} можно отнести к колебаниям скелета колец полисахаридов. Так, например, для структуры, присущей β -глюкану, в ИК спектрах характерны интенсивные полосы в области 1078 и 1034 см^{-1} . Полоса при 1324 см^{-1} описывает, по всей видимости, деформационные колебания $\delta(\text{CONH})$.

Сорбционные характеристики песка до и после роста на нем биопленок

В табл. 3 приведены значения коэффициента распределения (K_d) ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{233}U и ^{99}Tc на песке в исходном образце и после роста на нем микробного сообщества пластовой жидкости в виде биопленок. Значения K_d ^{137}Cs были высокими, что можно объяснить наличием глинистой фракции (до 10% от общего объема) песка, после образования биопленки значительных изменений сорбционной емкости не обнаружено. В результате роста биопленок сорбция ^{90}Sr снижается на 35%. Вероятно, это связано с перекрытием сорбционных центров на поверхности глинистых частиц. Сорбция ^{99}Tc была незначительной.

Полученные высокие значения K_d ^{233}U можно также объяснить высоким содержанием в песке глинистой фракции с примесью Fe(II), в результате чего происходит окислительно-восстановительное осаждение урана. При этом после роста биопленок сорбционная емкость песка по урану выросла еще на 20%, что может быть обусловлено новыми типами взаимодействий урана с полисахаридными комплексами, в первую очередь с гидроксильными и карбоксильными функциональными группами. Для подтверждения этого предположения был исследован рост микробных биопленок на керамзите, характеризующемся сравнительно невысокими исходными значениями K_d по радионуклидам вследствие сильно развитой, но химически инертной поверхности. В аналогичном режиме выращивания биопленок, как и для песка, после роста биопленок на керамзите коэффициент распределения ^{233}U вырос в 8 раз, ^{90}Sr – более чем в 21 раз. При этом сорбция ^{137}Cs уменьшилась в 4 раза, а сорбция ^{99}Tc до и после роста микробной биопленки была незначительна.

Эксперимент по сорбции Tc в присутствии биопленок был повторен в динамике в анаэробных условиях. Как видно из рис. 5, за 21 сут эксперимента сорбция Tc на песке в присутствии микроорганизмов практически достигла 100%, что можно объяснить снижением его растворимости в результате восстановления Tc(VII) до Tc(IV) вследствие жизнедеятельности микроорганизмов.

Результаты определения окисленных и восстановленных форм U и Tc на песке в аэробных и анаэробных условиях в присутствии микробного сообщества

Таблица 4. Доминирующие формы урана и технеция в зависимости от Eh системы

Eh, мВ	U, моль/л	Tc, моль/л
100	U(IV) $3.839 \cdot 10^{-11}$; U(OH) ₄ $3.839 \cdot 10^{-11}$ U(V) $2.772 \cdot 10^{-12}$; UO ₂ ⁺ $2.772 \cdot 10^{-12}$ U(VI) $2.478 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₂ ²⁻ $1.719 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁴⁻ $6.460 \cdot 10^{-8}$, UO ₂ CO ₃ $8.362 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ (OH) ₂ $2.739 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ OH ⁺ $1.236 \cdot 10^{-10}$	Tc(IV) $1.035 \cdot 10^{-8}$; TcO(OH) ₂ $9.729 \cdot 10^{-9}$, (TcO(OH) ₂) ₂ $3.114 \cdot 10^{-10}$; TcOOH ⁺ $5.284 \cdot 10^{-13}$ Tc(VII) $1.010 \cdot 10^{-6}$; TcO ₄ ⁻ $1.010 \cdot 10^{-6}$
70	U(IV) $4.479 \cdot 10^{-10}$; U(OH) ₄ $4.479 \cdot 10^{-10}$ U(V) $9.459 \cdot 10^{-12}$; UO ₂ ⁺ $9.459 \cdot 10^{-12}$ U(VI) $2.474 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₂ ²⁻ $1.716 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁴⁻ $6.450 \cdot 10^{-8}$, UO ₂ CO ₃ $8.348 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ (OH) ₂ $2.734 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ OH ⁺ $1.234 \cdot 10^{-10}$	Tc(IV) $4.851 \cdot 10^{-7}$; TcO(OH) ₂ $2.060 \cdot 10^{-7}$, (TcO(OH) ₂) ₂ $1.395 \cdot 10^{-7}$ Tc(VII) $5.354 \cdot 10^{-7}$; TcO ₄ ⁻ $5.354 \cdot 10^{-7}$
50	U(IV) $2.289 \cdot 10^{-9}$; U(OH) ₄ $2.289 \cdot 10^{-9}$ U(V) $2.130 \cdot 10^{-11}$; UO ₂ ⁺ $2.130 \cdot 10^{-11}$ U(VI) $2.456 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₂ ²⁻ $1.703 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁴⁻ $6.401 \cdot 10^{-8}$, UO ₂ CO ₃ $8.286 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ (OH) ₂ $2.714 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ OH ⁺ $1.225 \cdot 10^{-10}$	Tc(IV) $9.511 \cdot 10^{-7}$; (TcO(OH) ₂) ₂ $3.197 \cdot 10^{-7}$, TcO(OH) ₂ $3.117 \cdot 10^{-7}$; TcOOH ⁺ $1.693 \cdot 10^{-11}$ Tc(VII) $6.935 \cdot 10^{-8}$; TcO ₄ ⁻ $6.935 \cdot 10^{-8}$
30	U(IV) $1.135 \cdot 10^{-8}$; U(OH) ₄ $1.135 \cdot 10^{-8}$ U(V) $4.655 \cdot 10^{-11}$; UO ₂ ⁺ $4.655 \cdot 10^{-11}$ U(VI) $2.365 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₂ ²⁻ $1.640 \cdot 10^{-7}$; UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁴⁻ $6.165 \cdot 10^{-8}$, UO ₂ CO ₃ $7.979 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ (OH) ₂ $2.614 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ OH ⁺ $1.180 \cdot 10^{-10}$	Tc(IV) $1.014 \cdot 10^{-6}$; (TcO(OH) ₂) ₂ $3.451 \cdot 10^{-7}$, TcO(OH) ₂ $3.239 \cdot 10^{-7}$ Tc(VII) $6.167 \cdot 10^{-9}$; TcO ₄ ⁻ $6.167 \cdot 10^{-9}$
-70	U(IV) $2.464 \cdot 10^{-7}$; U(OH) ₄ $2.464 \cdot 10^{-7}$ U(V) $1.680 \cdot 10^{-11}$; UO ₂ ⁺ $1.680 \cdot 10^{-11}$ U(VI) $1.418 \cdot 10^{-9}$; UO ₂ (CO ₃) ₂ ²⁻ $9.837 \cdot 10^{-10}$; UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁴⁻ $3.698 \cdot 10^{-10}$, UO ₂ CO ₃ $4.786 \cdot 10^{-11}$; UO ₂ (OH) ₂ $1.567 \cdot 10^{-11}$	Tc(IV) $1.020 \cdot 10^{-6}$; (TcO(OH) ₂) ₂ $3.476 \cdot 10^{-7}$, TcO(OH) ₂ $3.251 \cdot 10^{-7}$; TcOOH ⁺ $1.766 \cdot 10^{-11}$, TcO ²⁺ $1.385 \cdot 10^{-16}$ Tc(VII) $2.842 \cdot 10^{-14}$; TcO ₄ ⁻ $2.842 \cdot 10^{-14}$
-120	U(IV) $2.478 \cdot 10^{-7}$; U(OH) ₄ $2.478 \cdot 10^{-7}$ U(V) $2.178 \cdot 10^{-12}$; UO ₂ ⁺ $2.178 \cdot 10^{-12}$ U(VI) $2.370 \cdot 10^{-11}$; UO ₂ (CO ₃) ₂ ²⁻ $1.644 \cdot 10^{-11}$; UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁴⁻ $6.182 \cdot 10^{-12}$, UO ₂ CO ₃ $8.000 \cdot 10^{-13}$; UO ₂ (OH) ₂ $2.620 \cdot 10^{-13}$; UO ₂ OH ⁺ $1.183 \cdot 10^{-14}$	Tc(IV) $1.020 \cdot 10^{-6}$; (TcO(OH) ₂) ₂ $3.476 \cdot 10^{-7}$, TcO(OH) ₂ $3.251 \cdot 10^{-7}$; TcOOH ⁺ $1.766 \cdot 10^{-11}$ Tc(VII) $6.089 \cdot 10^{-17}$; TcO ₄ ⁻ $6.089 \cdot 10^{-17}$
-150	U(IV) $2.479 \cdot 10^{-7}$; U(OH) ₄ $2.479 \cdot 10^{-7}$ U(V) $6.366 \cdot 10^{-13}$; UO ₂ ⁺ $6.366 \cdot 10^{-13}$ U(VI) $3.658 \cdot 10^{-14}$; UO ₂ (OH) ₂ $2.243 \cdot 10^{-14}$; UO ₂ (CO ₃) ₂ ²⁻ $7.636 \cdot 10^{-15}$, UO ₂ CO ₃ $5.053 \cdot 10^{-15}$; UO ₂ OH ⁺ $1.011 \cdot 10^{-15}$; UO ₂ (CO ₃) ₃ ⁴⁻ $2.094 \cdot 10^{-16}$, UO ₂ (OH) ₃ ⁻ $1.287 \cdot 10^{-16}$	Tc(IV) $1.020 \cdot 10^{-6}$; (TcO(OH) ₂) ₂ $3.476 \cdot 10^{-7}$, TcO(OH) ₂ $3.251 \cdot 10^{-7}$; TcOOH ⁺ $1.764 \cdot 10^{-11}$ Tc(VII) $1.523 \cdot 10^{-18}$; TcO ₄ ⁻ $1.523 \cdot 10^{-18}$
-200	U(IV) $2.479 \cdot 10^{-7}$; U(OH) ₄ $2.479 \cdot 10^{-7}$ U(V) $8.202 \cdot 10^{-14}$; UO ₂ ⁺ $8.202 \cdot 10^{-14}$ U(VI) $3.933 \cdot 10^{-16}$; UO ₂ (OH) ₂ $3.727 \cdot 10^{-16}$; UO ₂ OH ⁺ $1.680 \cdot 10^{-17}$, UO ₂ (OH) ₃ ⁻ $2.138 \cdot 10^{-18}$; UO ₂ ²⁺ $1.551 \cdot 10^{-18}$	Tc(IV) $1.020 \cdot 10^{-6}$; (TcO(OH) ₂) ₂ $3.476 \cdot 10^{-7}$, TcO(OH) ₂ $3.251 \cdot 10^{-7}$ Tc(VII) $3.261 \cdot 10^{-21}$; TcO ₄ ⁻ $3.261 \cdot 10^{-21}$
-250	U(IV) $2.479 \cdot 10^{-7}$; U(OH) ₄ $2.479 \cdot 10^{-7}$ U(V) $1.057 \cdot 10^{-14}$; UO ₂ ⁺ $1.057 \cdot 10^{-14}$ U(VI) $6.536 \cdot 10^{-18}$; UO ₂ (OH) ₂ $6.195 \cdot 10^{-18}$; UO ₂ OH ⁺ $2.792 \cdot 10^{-19}$, UO ₂ (OH) ₃ ⁻ $3.554 \cdot 10^{-20}$; UO ₂ ²⁺ $2.578 \cdot 10^{-20}$	Tc(IV) $1.020 \cdot 10^{-6}$; (TcO(OH) ₂) ₂ $3.476 \cdot 10^{-7}$, TcO(OH) ₂ $3.251 \cdot 10^{-7}$ Tc(VII) $6.988 \cdot 10^{-24}$; TcO ₄ ⁻ $6.988 \cdot 10^{-24}$

и без него приведены на рис. 6, а, б. Отметим, что только в присутствии микроорганизмов происходило полное восстановление U и Tc на песке.

На основании полученных результатов было проведено компьютерное моделирование состояния U и Tc в геохимических условиях, имитирующих такие верхнего водоносного горизонта. В расчетах использовали данные по изменению окислительно-восстановительного потенциала среды во время роста микробного сообщества пластовой жидкости (рис. 7). При лабораторном моделировании биологических процессов в системе происходило восстановление сульфат-ионов до сульфид-ионов, выпадающих в виде черного осадка сульфида железа, который также может способствовать иммобилизации ряда металлов в восстановленной форме, например Tc [35, 36].

Для расчета форм U и Tc в зависимости от окислительно-восстановительного потенциала среды был взят раствор, аналогичный по ионному составу одной из исследованных проб (мг/л): Cl⁻ 6.3, HCO₃⁻ 305,

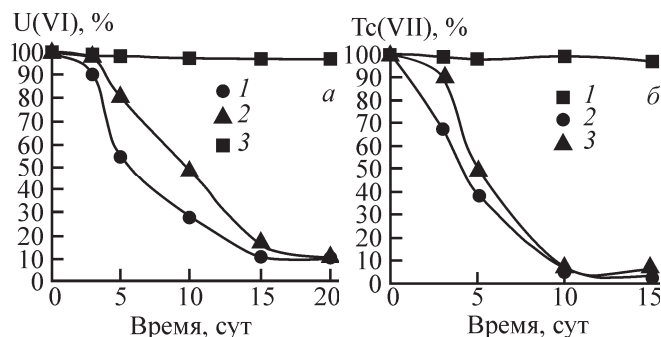


Рис. 6. Содержание U(VI) (а) и Tc(VII) (б) на песке в анаэробных (1) и аэробных (2) условиях в присутствии микробного сообщества пластовой жидкости и без него (3).

Таблица 5. Значения индексов насыщения SI для твердых фаз U и Tc в низших состояниях окисления для системы раствора 1 в зависимости от окислительно-восстановительных условий среды

Eh , мВ	Уранинит	$UO_{2(am)}$	$UO_{2.25}$	$\beta-UO_{2.25}$	$\beta-UO_{2.33}$	Tc_2S_7	$TcO_2 \cdot 2H_2O_{(am)}$	TcS_2
70	0.03	-4.92	0.15	0.07	-0.16	-141.90	-0.46	-37.80
50	0.73	-4.21	0.68	0.60	0.78	-112.55	0.87	-27.94
30	1.43	-3.51	1.19	1.12	1.70	-94.40	1.05	-22.06
0	2.32	-2.62	1.82	1.74	2.78	-49.88	1.07	-7.81
-70	2.77	-2.18	1.64	1.56	2.00	12.40	1.07	12.12
-120	2.77	-2.17	1.20	1.12	0.82	56.88	1.07	26.35
-150	2.77	-2.17	0.93	0.86	10.11	83.56	1.07	34.89

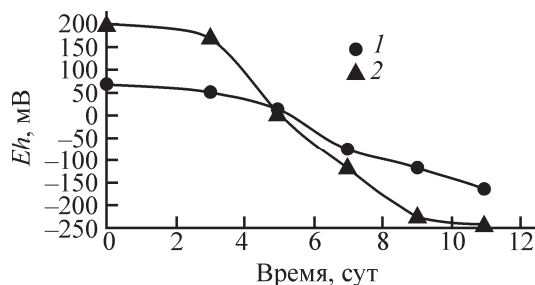


Рис. 7. Изменение окислительно-восстановительного потенциала в среде в ходе роста микробного сообщества пластовой жидкости в анаэробных (1) и аэробных (2) условиях.

NO_3^- 3849, SO_4^{2-} 167, Ca^{2+} 762, Mg^{2+} 140, K^+ 8.9, Na^+ 647; в расчете была использована концентрация Tc 0.1, U – 0.059 мг/л. На основании проведенных расчетов (табл. 4) потребление кислорода в системе и соответственно снижение окислительно-восстановительного потенциала до –250 мВ за счет микробных процессов должно привести к полному восстановлению уранил- и пертехнетат-ионов. В табл. 5 приведены индексы насыщения доминирующих минеральных фаз. Исходя из расчетов основная биогенная фаза урана в заданных геохимических условиях, близких к условиям исследованного подземного песчаного водоносного горизонта, будет представлена уранинитом и смешанными оксидными формами, для Tc будут доминировать восстановленные сульфидные минералы, что совпадает с результатами других исследований [36–38].

Таким образом, при изучении миграции радионуклидов в водоносных горизонтах помимо абиотических процессов необходимо учитывать и влияние микроорганизмов. Образование полисахаридных биопленок может приводить к ухудшению сорбционной емкости пород по отношению к Cs и Sr за счет перекрытия химических сорбционных центров вмещающей породы. При этом можно ожидать увеличения иммобилизации U и Tc за счет формирования дополнительных сорбционных центров для U и биогенного восстановления Tc за счет изменения окислительно-восстановительных условий среды и его прямого энзиматического восстановления. По данным геохимического моделирования можно ожидать иммобилизацию Tc в виде новой минеральной фазы – оксида Tc(IV) с биогенным сульфидом.

Аналитические измерения выполнены на оборудовании ЦКП ФМИ ИФХЭ РАН. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект 17-17-01212).

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Минобрнауки РФ (темы АААА-А16-11611091001 и 01201350928).

Список литературы

- [1] Богуславский А. Е., Гаськова О. Л., Шемелина О. В. // Химия в интересах устойчивого развития. 2012. Т. 20. С. 515–529.
- [2] Мироненко В. А., Румынин В. Г. Проблемы гидрогеоэкологии. М.: Изд-во МГГУ, 1999. Т. 3, кн. 1. 312 с.
- [3] Schwart M. O. // Environ. Earth Sci. 2009. Vol. 59, N 2. P. 277–286.
- [4] Panitskiy A. V., Lukashenko S. N. // J. Environ. Radioact. 2015. Vol. 144. P. 32–40.
- [5] Torgoev I. A., Aleshyn U. G., Havenit H. B. // Uranium in the Aquatic Environment. Berlin; Heidelberg: Springer, 2002. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55668-5_10.
- [6] Taylor G. H. // Biogeochemical Cycling of Mineral-Forming Elements. New York: Elsevier Science, 1979. P. 485–514.
- [7] Pignolet L., Fonsny K., Capot F., Moureau Z. // Health Phys. 1989. Vol. 57. P. 791–800.
- [8] Mohagheghi A., Updegraff D. M., Goldhaber M. B. // Geomicrobiol. J. 1985. Vol. 4. P. 153–173.
- [9] Lloyd J. R. // FEMS Microbiol. Rev. 2003. Vol. 27. P. 411–425.
- [10] Boukhalfa H., Icopini G. A., Reilly S. D., Neu M. P. // Appl. Environ. Microbiol. 2007. Vol. 73, N 18. P. 5897–5903.
- [11] Lovley D. R., Phillips E. J. P., Gorby Y. A., Landa E. R. // Nature. 1991. Vol. 350, N 6317. P. 413–416. DOI: 10.1038/350413a0.
- [12] Wall J. D., Krumholz L. R. // Annu. Rev. Microbiol. 2006. Vol. 60. P. 149–166.
- [13] Lloyd J. R., Sole V. A., Van Praagh C. V. G., Lovley D. R. // Appl. Environ. Microbiol. 2000. Vol. 66, N 9. P. 3743–3749.
- [14] Lloyd J. R., Yong P., Macaskie L. E. // Environ. Sci. Technol. 2000. Vol. 34. P. 1297–1301.
- [15] Brookshaw D. R., Patrick R. A. D., Lloyd J. R., Vaughan D. J. // Mineral. Mag. 2012. Vol. 76. P. 777–806.
- [16] Hua B., Xu H., Terry J., Deng B. // Environ. Sci. Technol. 2006. Vol. 40, N 15. P. 4666–4671.
- [17] El-Wear S., German K. E., Peretrukhin V. F. // J. Radioanal. Nucl. Chem. 1992. Vol. 157. P. 3–14.
- [18] Coombs P., Wagner D., Bateman K. et al. // Q. J. Eng. Geol. Hydrogeol. 2010. Vol. 43, N 2. P. 131–139.
- [19] Michalsen M. M., Peacock A. D., Smithgal A. N. et al. // Environ. Sci. Technol. 2009. Vol. 43, N 6. P. 1952–1961.
- [20] Ortiz-Bernad I., Anderson R. T., Vrionis H. A., Lovley D. R. //

- Appl. Environ. Microbiol. 2004. Vol. 70, N 12. P. 7558–7560.
- [21] *Xu M., Wu W. M., Wu L.* // ISME J. 2010. Vol. 4, N 8. P. 1060–1070.
- [22] *Cumberland S. A., Kliti G. D., Moreau G. J. W.* // Earth-Sci. Rev. 2016. Vol. 159. P. 160–185.
- [23] *Suzuki Y., Kelly S. D., Kemner K. M., Banfield J. F.* // Nature. 2002. Vol. 419, N 6903. P. 134.
- [24] *Koch A. L.* // Methods for General and Molecular Bacteriology. Washington, DC: Am. Soc. for Microbiology, 1994. P. 257–260.
- [25] *Adkins J. P., Cornell L. A., Tanner R. S.* // Geomicrobiol. J. 1992. Vol. 10. P. 87–97.
- [26] *Postgate J. R.* The Sulfate-Reducing Bacteria. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1984. 2nd ed. 1208 p.
- [27] *Lovley D. R., Phillips E. J. P.* // Appl. Environ. Microbiol. 1988. Vol. 54, N 6. P. 1472–1480.
- [28] *Berridge M. V., Tan M. V.* // Arch. Biochem. Biophys. 1993. Vol. 303, N 2. P. 474–482.
- [29] *Onishi H., Sekine K.* // Talanta. 1972. Vol. 19, N 4. P. 473–478.
- [30] *Parkhurst D. L., Appelo C. A. J.* User's Guide to PHREEQC (Version 2), A Computer Program for Speciation, Batch-Reaction, One-Dimensional Transport, and Inverse Geochemical Calculations. Denver, Colorado, 1999. 327 p.
- [31] *Болдырев К. А., Крючков Д. В., Мартынов К. В. и др.* Разработка расчетных методов оценки миграции радионуклидов за пределы ИББ с учетом их эволюции: Препринт ИБРАЭ. М.: ИБРАЭ РАН, 2017. N IBRAE-2017-11. 23 с.
- [32] *Rard J. A., Rand M. H., Anderegg G., Wanner H.* Chemical Thermodynamics 3. Chemical Thermodynamics of Technetium / Eds M. C. A. Sandio, E. Östholms. OECD NEA Data Bank. Elsevier, 1999. 544 p.
- [33] *Guillaumont R., Fanghänel T., Fuger J. et al.* // Chemical Thermodynamics. OECD NEA Data Bank, Issy-les-Moulineaux, France. Elsevier, 2003. Vol. 5. P. 709.
- [34] *Chabalala S., Chirwa E.* // Chem. Eng. Trans. 2012. Vol. 27. P. 265–270.
- [35] *Flemming H. C., Wingender J.* // Nat. Rev. Microbiol. 2010. Vol. 8. P. 623–633.
- [36] *Fan D., Anitori R. P., Tebo B. M., Tratnye P. G.* // Environ. Sci. Technol. 2013. Vol. 47. P. 5302–5310.
- [37] *German K. E., Shiryayev A. A., Safonov A. V. et al.* // Radiochim. Acta. 2015. Vol. 103. P. 199–203.
- [38] *German K. E., Khijniak T. V., Peretrukhin V. F.* // 7th Int. Symp. on Technetium and Rhenium—Science and Utilization. Moscow (Russia), July 4–8, 2011. P. 187–189.