

In-situ korozní zkoušky – řešení

Autoři: Dobrev a kolektiv

Praha, rok 2021

NÁZEV ZPRÁVY: In-situ korozní zkoušky – rešerše

NÁZEV PROJEKTU: Pilotní korozní experiment v PVP Bukov

IDENTIFIKACE V RÁMCI PROJEKTU:

Průběžná zpráva

ČÍSLO SMLOUVY: SO 2020–086

Bibliografický zápis: Dobrev D., Mendoza Miranda A. N., Kouřil M., Pusztai M., Stoužil J., Zuna M. (2021): In-situ korozní zkoušky – rešerše. SURAO TZ 555/2021, Praha.

ŘEŠITELÉ:

ÚJV Řež, a. s.¹, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze², Technická univerzita v Liberci³

AUTORSKÝ KOLEKTIV:

Dobrev D.¹, Mendoza Miranda A. N.¹, Zuna M.¹, Kouřil M.², Pusztai M.³, Stoužil J.²

Jméno Příjmení

Markéta Dohnálková (SÚRAO)

18. 10. 2021

Jméno Příjmení

David Dobrev (ÚJV Řež, a. s.)

18. 10. 2021

Obsah

Abstrakt	9
Klíčová slova	9
Abstract	9
Keywords.....	9
1 Úvod.....	10
2 In-situ korozní experimenty	12
2.1 Geological disposal of conditioned high-level and long lived radioactive waste – Belgie 12	
2.1.1 Materiály	12
2.1.2 Experimentální aparatury	15
2.2 Korozní experiment Minican – Švédsko.....	23
2.2.1 Popis miniaturního obalového souboru	24
2.2.2 Materiály	26
2.2.3 Montáž experimentální aparatury	28
2.2.4 Instalace experimentální aparatury v podzemní laboratoři Aspö.....	30
2.2.5 Korozní experimenty	33
2.2.6 Odebrání experimentální aparatury z vrtů po ukončení testů.....	35
2.3 Long term test of buffer materials (LOT) – Švédsko	37
2.3.1 Materiály	37
2.3.2 Experimentální modul.....	38
2.3.3 Instalace experimentálních modulů	41
2.3.4 Vyjmutí experimentální aparatury z vrtů po ukončení testů (dismantling)	42
2.4 In-situ korozní zkouška v podzemní laboratoři Mont Terri – Švýcarsko	43
2.5 Full-scale Emplacement Experiment at Mont Terri – Švýcarsko	45
2.6 Mezinárodní in-situ korozní zkouška v podzemní laboratoři Mont Terri.....	46
2.7 The Material corrosion test MaCoTe – Švýcarsko	48
2.8 In-situ korozní zkouška v podzemní laboratoři Meuse/Haute-Marne – Francie	49
2.9 Podzemní laboratoř v Rusku	51
3 Mikrobiologické metody	59
3.1 Obecný úvod.....	59
3.2 Stručný přehled mikrobiologických metod využívaných při studiu mikroorganismů ve vztahu k HÚ	60
3.2.1 Detekce a kvantifikace přítomných mikroorganismů.....	60
3.2.2 Určení detailní struktury (kvalitativního složení) mikrobiálních společenstev ...	61

3.2.3	Detekce aktivní frakce mikrobiálního společenstva	62
3.3	Metodika odběru vzorků in-situ.....	63
3.3.1	Vzorkování podzemní vody	63
3.3.2	Vzorkování pevných látek (hornina, bentonit).....	64
3.4	Konkrétní mikrobiologické metodiky využívané v in-situ experimentech	64
3.4.1	Grimsel Test Site.....	64
3.4.2	Mont Terri Rock Laboratory.....	65
3.4.3	Äspö Hard Rock Laboratory	65
3.4.4	Exploratory Studies Facility	66
3.4.5	ONKALO Underground Characterization and Research Facility	66
3.4.6	HADES Underground Research Facility	66
3.4.7	KAERI Underground Research Tunnel (KURT).....	66
3.4.8	AECL's Underground Research Laboratory (URL)	67
3.4.9	Tournemire Underground Research Laboratory (URL).....	67
3.4.10	Nezařazený experiment	67
4	Shrnutí poznatků.....	68
5	Závěr	71
6	Reference.....	72

Seznam použitých zkratk:

ATP	Adenosin trifosfát (adenosine triphosphate)
Bt	Biotit
CARD-FISH	Catalyzed reporter deposition fluorescence in-situ hybridization
ddPCR	Droplet digital PCR
DNA	Kyselina deoxyribonukleová (deoxyribonucleic acid)
FISH	Fluorescenční in-situ hybridizace
HÚ	Hlubinné úložiště (radioaktivního odpadu)
HADES	High Activity Disposal Experimental Site
HLW	Vysoce aktivní odpady
HRL	Hard Rock Laboratory
IDW	Investigation derived waste – odpady vzniklé při průzkumech
J	Jih
JJV	Jihojihovýchod
JJZ	Jihojihozápad
JV	Jihovýchod
JZ	Jihozápad
KTJ	Kolonie tvořící jednotky
MaCoTe	The Material Corrosion Test
MPN	Kultivační metoda využívaná ke kvantifikaci metabolických skupin mikroorganismů (most probable number)
NGS	Sekvenování nové generace (next generation sequencing)
NKM	Nížnekanský masiv
PCR	Polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
PCR-DGGE	PCR v kombinaci s elektroforézou v gradientovém denaturačním gelu (denaturing gradient gel electrophoresis)
PLFA	Fosfolipidová mastná kyselina (phospholipid fatty acid)
PI	Plagioklas
PMA	Propidium monoazid
PVP	Podzemní výzkumné pracoviště
qPCR	Kvantitativní PCR (quantitative PCR)
Qtz	Křemen
RAO	Radioaktivní odpady
RNA	Kyselina ribonukleová (ribonucleic acid)
S	Sever
SIP	Značení pomocí stabilních izotopů (stable isotope probing)
SSV	Severoseverovýchod
SSZ	Severoseverozápad
SV	Severovýchod
SZ	Severozápad
16S rRNA	gen/marker pro ribozomální RNA, která je součástí malé podjednotky prokaryotického (bakterie, archea) ribozomu, oblast genu 16S rRNA je konzervovaná a pomalu mutuje, proto se tento gen standardně využívá ve fylogenetice
18S rRNA	gen/marker pro ribozomální RNA, která je součástí malé podjednotky eukaryotického ribozomu, oblast genu 18S rRNA je

TIG	konzervovaná a pomalu mutuje, proto se tento gen standardně využívá ve fylogenetice Svařování netavící se elektrodou v ochranné atmosféře inertního plynu
UOS	Ukládací obalový soubor
VJV	Východojihovýchod
ZJZ	Západojihozápad
ZSZ	Západoseverozápad

Vysvětlení pojmů:

acetát	sůl kyseliny octové
in vitro	v laboratorních (umělých) podmínkách
oligotrofní	na živiny chudý

Abstrakt

Cílem předložené rešerše bylo zhodnotit in-situ korozní zkoušky v podzemních laboratořích, které probíhají a proběhly s materiály navrženými pro ukládací obalové soubory. In-situ korozní zkoušky jsou prezentovány z hlediska technického provedení, které je vztaženo k účelům experimentů, které nejsou vždy zaměřené pouze na stanovení korozních rychlostí, ale i na ověření technického řešení obalových souborů.

Kromě in-situ korozních experimentů jsou prezentovány i mikrobiologické metody používané při in-situ studiích s přehledem jednotlivých metod používaných v podzemních laboratořích.

Uvedená technická řešení mohou přinést důležité podněty k návrhu aparatury pro korozní experiment na PVP Bukov.

Klíčová slova

Koroze, PVP Bukov, ukládací obalový soubor, in-situ experiment

Abstract

The main aim of the report is to evaluate in-situ corrosion experiments with materials of waste disposal packages in underground laboratories. The report is focused on technical design of in-situ corrosion experiments, which are not always focused only on the determination of corrosion rates, but also on the verification of the canister technical solutions.

In addition to in-situ corrosion experiments, microbiological methods used in in-situ experiments are presented in the report with an overview of individual methods used in underground laboratories.

Presented technical solutions can provide useful information for design of apparatus, which will be used in the Bukov URF.

Keywords

Corrosion, Bukov URF, Waste disposal package, in-situ experiment

1 Úvod

In-situ korozní zkoušky představují další krok ve výzkumu materiálů pro ukládací obalové soubory (UOS). Provedení korozních zkoušek v podzemních laboratořích umožňuje dosáhnout podmínek, které nelze vždy v laboratořích simulovat a přispívá tak k lepší predikci odhadu životnosti ukládacích obalových souborů.

Příprava a návrh in-situ korozních zkoušek musí brát v potaz technické možnosti v podzemních laboratořích, jejich specifické podmínky a zároveň i vlastnosti jednotlivých komponent použitelných v technických návrzích. Nedílnou součástí experimentu je i dobrá koordinace a návaznost prací. Zároveň musí technické návrhy zahrnovat i záložní řešení pro případ ztráty funkčnosti některých komponent, aby bylo možné experimenty dokončit.

U dlouhodobých korozních zkoušek jako představuje projekt „Pilotní korozní experiment v PVP Bukov“ by měly být aktualizovány v průběhu experimentu i použité metody pro analýzu vzorků, neboť vývoj v oblasti analytických metod a přístrojového vybavení stále směřuje kupředu.

Předložená zpráva má čtenáře seznámit hlavně s technickým řešením zahraničních in-situ korozních zkoušek a stavem mikrobiálních metodik. Pro návrh aparatury do PVP Bukov jsou důležitá hlavně ideová řešení a jejich výhody/nevýhody, které by mohly být aplikovány v projektu.

Předložená zpráva je členěna do dvou hlavních oblastí: přehledu in-situ korozních zkoušek, mikrobiologických postupů a metod používaných v podzemních laboratořích. Uvedené in-situ korozní zkoušky zahrnují experimenty jak v normálním, tak i středním a velkém měřítku. Cílem bylo volit takové experimenty, které se od sebe liší v technických řešeních a i v cílech projektů, aby bylo možné zhodnotit různé přístupy k řešení dané problematiky. V následující části jsou uvedené jednotlivé in-situ experimenty, jejichž přehled je v Tab. 1-1. Mikrobiologická část zahrnuje přehled používaných metod, přehled metodik odběru vzorků in-situ a využití těchto metod v jednotlivých podzemních laboratořích. V závěru zprávy jsou zhodnoceny poznatky z in-situ experimentů s ohledem na jejich využití pro návrh aparatury do PVP Bukov.

Tab. 1-1 Přehled in-situ korozních zkoušek uvedených v této zprávě

Stát	Projekt	Laboratoř	Zdroj informací
Belgie	Geological disposal of conditioned high-level and long lived radioactive waste	High Activity Disposal Expérimental Site (HADES)	SCK-CEN
Švédsko	MiniCan experiment	The Äspö Hard Rock Laboratory	SKB
Švédsko	Long term test of buffer materials (LOT)	The Äspö Hard Rock Laboratory	SKB
Švýcarsko	Iron corrosion of bentonite	Mont Terri Rock Laboratory	Nagra Swisstopo
Švýcarsko	Full-scale Emplacement Experiment	Mont Terri Rock Laboratory	Nagra Swisstopo
Švýcarsko	Iron corrosion	Mont Terri Rock Laboratory	ANDRA
Švýcarsko	The Material Corrosion Test MaCoTe	The Grimsel Test Site	Nagra
Francie	MCO experiment	Meuse/Haute-Marne Underground Laboratory	ANDRA
Rusko	Laboratoř ve výstavbě	Mining and Chemical Complex (MCC)	NORWM
	Mikrobiologické metody v in-situ experimentech	The Grimsel Test Site Mont Terri Rock Laboratory The Äspö Hard Rock Laboratory ONKALO Underground Characterization and Research Facility High Activity Disposal Expérimental Site (HADES) KAERI Underground Research Tunnel (KURT) AECL's Underground Research Laboratory (URL) Tournemire Underground Research Laboratory (URL)	Nagra Swisstopo SKB POSIVA SCK-CEN KAERI AECL IRSN

2 In-situ korozní experimenty

2.1 Geological disposal of conditioned high-level and long lived radioactive waste – Belgie

Při geologickém ukládání radioaktivních odpadů je v Belgii plánován vícebariérový systém. Belgický návrh uvažuje pro ukládání takzvaný superkontejner, který obsahuje ukládací obalový soubor s vnitřním pouzdem s vyhořelým jaderným palivem nebo vysoce aktivními odpady, vnější obal z uhlíkové oceli (prostor mezi obaly je vyplněn borosilikátovým sklem). Okolo obalového souboru je betonová výplň v přebalu z korozivzdorné oceli. Vlastnosti vnitřního pouzdra závisí na úpravě radioaktivního odpadu a požadavky na vnitřní pouzdro jsou kladeny na odolnost vůči tepelnému namáhání, dobrou svařitelnost a manipulovatelnost. Požadavky na vnější obal jsou mechanická odolnost a izolace radioaktivního odpadu (korozní odolnost). V rámci tohoto projektu byl v dané době požadavek na životnost materiálu vnějšího obalu alespoň 300–500 let a bylo zvažováno více materiálů včetně korozivzdorných ocelí (Kursten et al., 1996)

V tomto projektu byly hodnoceny pro vnější obal materiály: korozivzdorné (korozivzdorné oceli, niklové a titanové slitiny) a materiály s dobrou predikovatelností korozní rychlosti (nizkouhliková ocel). Materiálům pro vnitřní pouzdro byla v tomto programu věnována menší pozornost. In-situ experimenty byly provedeny v podzemní laboratoři HADES (High Activity Disposal Expérimental Site), která se nachází v hloubce 225 m a je v provozu od roku 1983.

Korozní program zahrnoval v letech 1985 až 1994 instalaci dvanácti modulů v podzemní laboratoři. Při korozních testech byly vzorky kovů a radioaktivního odpadu (vzorky skel) umístěny buď v "přímém kontaktu s jílem" (moduly typ I) nebo ve „vlhké atmosféře" (moduly typ II) nebo v "podzemní vodě ovlivněné cementem" (moduly typ III) při teplotách 16 °C (přirozená teplota jílu v hloubce 225 m), 90 °C a 170 °C po dobu 7,5 let.

2.1.1 Materiály

V korozních experimentech bylo zkoumáno korozní chování jedenácti kovových materiálů, z nich tři byly materiály pro vnitřní pouzdro (korozivzdorná ocel: AISI 309, AISI 430 a DIN 1-4571) a osm pro vnější obal (EEG Usinor, Hastelloy C4, Ti/0,2Pd, IMI 115, UHB 904L, Inconel 625, 1803 MoT a AISI 316). Složení materiálů je vidět v Tab. 2-1.

Tvar kovových vzorků se měnil podle typu korozního modulu. Vzorky umístěné na korozních modulech typu I byly svařované kroužky o průměru přibližně 100 mm, šířce 30 mm a tloušťce 2 až 4 mm. Byly nasunuty na vnější nosné trubky z korozivzdorné oceli a izolovány teflonovými vložkami.

Vzorky zavěšené uvnitř teflonových vložek korozních modulů typu II a typu III jsou čtvercové kupony o rozměrech 30 × 30 mm (detailnější popis v kap. 2.1.2.2). Kovové vzorky byly testovány v pěti různých počátečních podmínkách:

1. ve stavu, jak byly obdrženy: nejrealističtější případ,

2. vyleštěné: stav, který neodpovídá žádné reálné situaci, ale který by měl umožňovat snadnější srovnání s výsledky budoucích experimentů in-situ nebo laboratorních experimentů a literatury,
3. tepelně zpracované: pod argonem, aby bylo možné simulovat tepelný účinek odlévání,
4. svařované pro zkoumání vlivu svařovací techniky, svařování netavící se elektrodou v ochranné atmosféře inertního plynu (TIG),
5. svařované pro zkoumání náchylnosti ke štěrbinové korozi.

Před začátkem experimentu byly všechny vzorky odmaštěny po dobu 5 minut acetonem v ultrazvukové lázni (Branson 5200), omyty pod tekoucí vodou z vodovodu, vysušeny pomocí stlačeného vzduchu, změřeny a zváženy.

Tab. 2-1 Chemická složení kovových materiálů in-situ experimentů (Kursten et al., 1996)

Materiál		Chemické složení									
Označení	Popis	Fe	Cr	Ni	Mn	Mo	Si	Ti	C	N	Jiné
Vnitřní pouzdro											
AISI 309 (Cogéma)	Austenitická Cr-Ni nerezová ocel	Bal	23	13	2		1		0,2		
AISI 430 (Eurobitum)	Feritická Cr nerezová ocel	Bal	16,50		<2	2–3	0,37		0,045	0,026	
DIN 1-4571 (Pamela)	Austenitická Cr-Ni nerezová ocel, stabilizovaná Ti	Bal	16–18	10–14			<1	>5x% C	<0,08		
Vnější obal											
EEG Usinor	Nízkouhlíková ocel	Bal	0,02	0,04	0,67	<0,01	0,27	<0,01	0,11		P:0,02; S: <0,01; Al:0,04; Cu:0,015; Sn <0,01
Hastelloy C4	Ni-slitina	0,50	15,6	68,0	0,22	15,4	0,03	0,11			Co: <0,1
Ti/0,2Pd	Ti-slitina	0,06						Bal	0,01		Pd: 0,16; V: <0,03; Al: 0,008; Sn: 0,07
IMI 115	Čistý Ti	Bal									
UHB 904L	Austenitická Cr-Ni nerezová ocel	3,57	18,65	26,34	1,12	4,49	0,44		0,014	0,0497	Cu: 0,12
Inconel 625	Ni-slitina	Bal	12,20	Bal	0,10	8,85	0,2	<0,02	0,0207	0,023	Nb: 2,7; Ca: 0,005; Mg: 0,02; Al: 0,01; Co <0,05; Cu: 0,02
1803 MoT	Feritická Cr nerezová ocel	Bal	18,07	0,28	0,28	2,07	0,27	0,36		0,009	
AISI 316	Austenitická Cr-Ni nerezová ocel		17,80	10,80	1,63	2,13	0,56		0,030	0,032	

Bal= podíl složky pro dosažení 100% složení.

Kromě kovových vzorků byly testovány různé formy odpadů, které byly považovány za důležité pro belgický koncept. V první fázi projektu (1985–1989) byly testy zaměřeny na vitrifikované formy odpadu: skla SWK/Pamela (SM513, SM527, SM58 a SAN60) a skla Cogema R7T7 (SON68, SON58 a SON64). V další etapě programu byly zvažovány některé formy cementové matrice a bitumenu.

Vzorky forem odpadu měly čtvercový nebo obdélníkový tvar. Všechny vzorky vitrifikátu byly před instalací do korozního modulu vyleštěny. Vzorky cementových a bitumenových matric byly použity ve stavu, jak byly obdrženy.

2.1.2 Experimentální aparatury

Tři druhy testů byly provedeny, aby simulovaly podmínky předpokládané v belgickém konceptu hlubinného uložení. Během období 1985–1994 bylo instalováno dvanáct korozních modulů, čtyři byly moduly typu I, šest typu II a dva byly typ III. V první experimentální etapě bylo instalováno osm trubek v následujících polohách, první polovina v horizontální poloze (trubky č. 1, 2, 3, 4), druhá polovina ve svislé poloze (trubky č. 5, 6, 7 a 8). Korozní test s modulem č. 2 byl ukončen po 2 letech.

Na konci druhé etapy pokračoval experiment jen se třemi moduly (trubky č. 5b, 8b a 10). Všechny moduly v horizontální poloze byly vyjmuty z podzemní laboratoře pro další analýzy. Provoz musel být předčasně přerušeno u třech modulů ve svislé poloze kvůli technickým problémům (moduly č. 5, 6, 7).

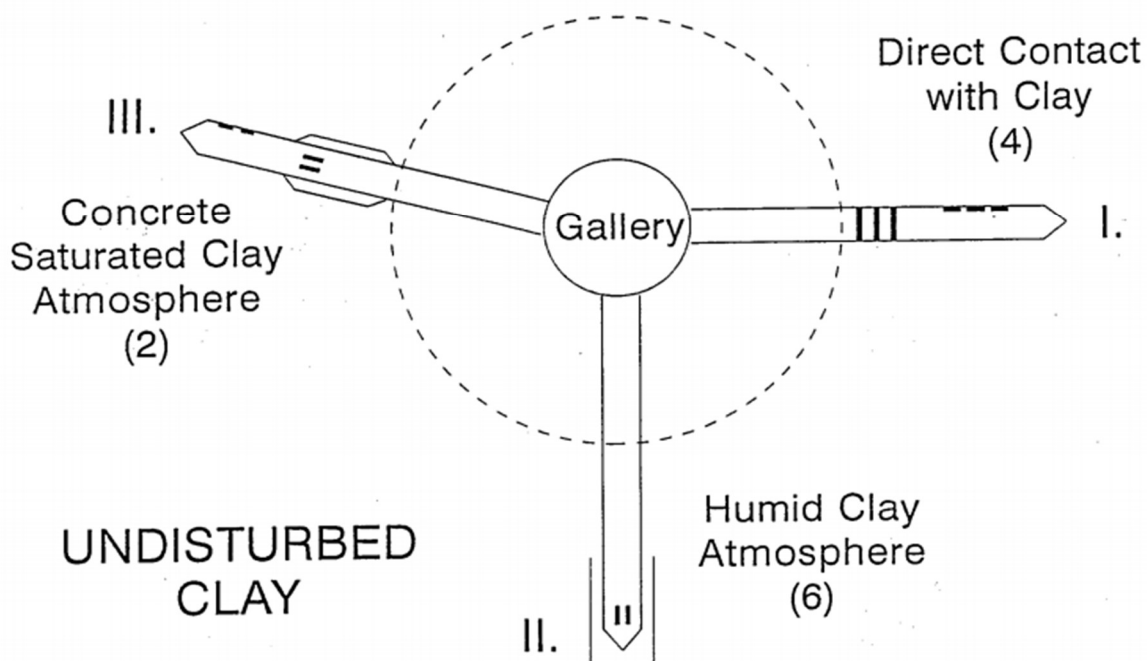
Moduly, u kterých se objevily technické problémy, byly nahrazeny moduly s novým automatickým drenážním systémem a novým způsobem umístění vzorků (č. 5b a 8b)

2.1.2.1 Experimentální aparatura typu I

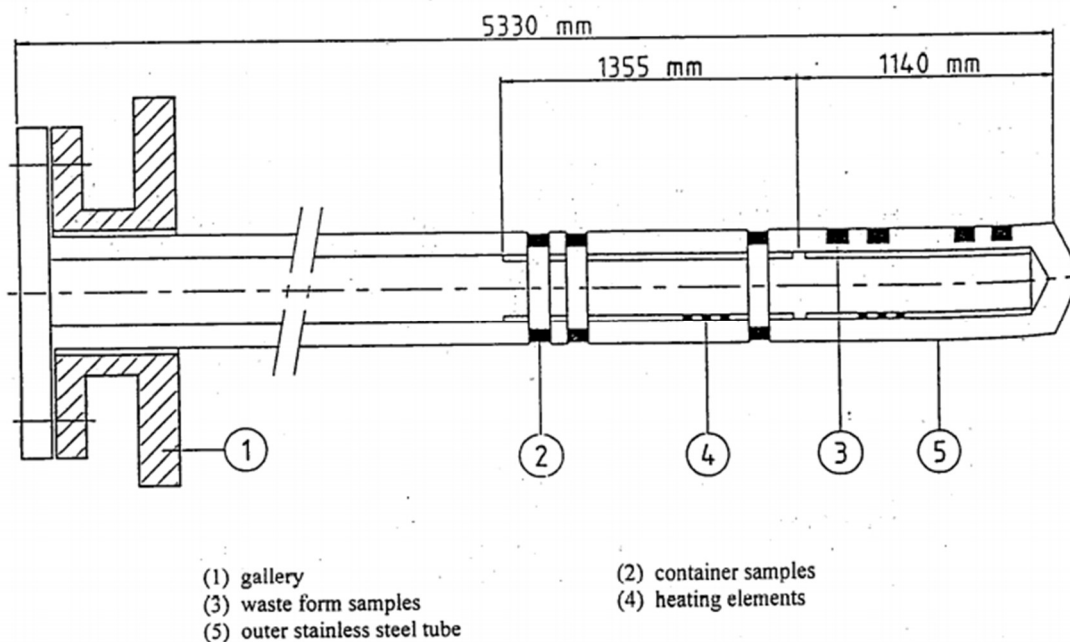
První zkušební moduly (typu I) měly simulovat dlouhodobé normální podmínky vývoje, kdy kovové vzorky a vzorky odpadů byly vystaveny přímo jílu/jílovité hornině. Tyto moduly byly vloženy horizontálně do jílu v podzemní laboratoři (Obr. 1). Uvnitř modulů bylo umístěno výsuvné topidlo, které je zahřívalo. Topidlo se skládalo z topných drátů spirálovitě navinutých kolem nosné trubky z korozivzdorné oceli. Vzorky kovů a forem odpadů byly upevněny na vnější straně modulu. Rovnoměrný kontakt mezi modulem a jílem byl pravděpodobně dosažen za čtyři měsíce. Potom byly moduly postupně zahřívány na cílovou teplotu.

Moduly prvního typu byly označeny číslicemi: 1, 2, 3 a 4. Na Obr. 2 a Obr. 3 jsou vidět schematická znázornění modulů typu I a další součásti experimentální aparatury v podzemní laboratoři.

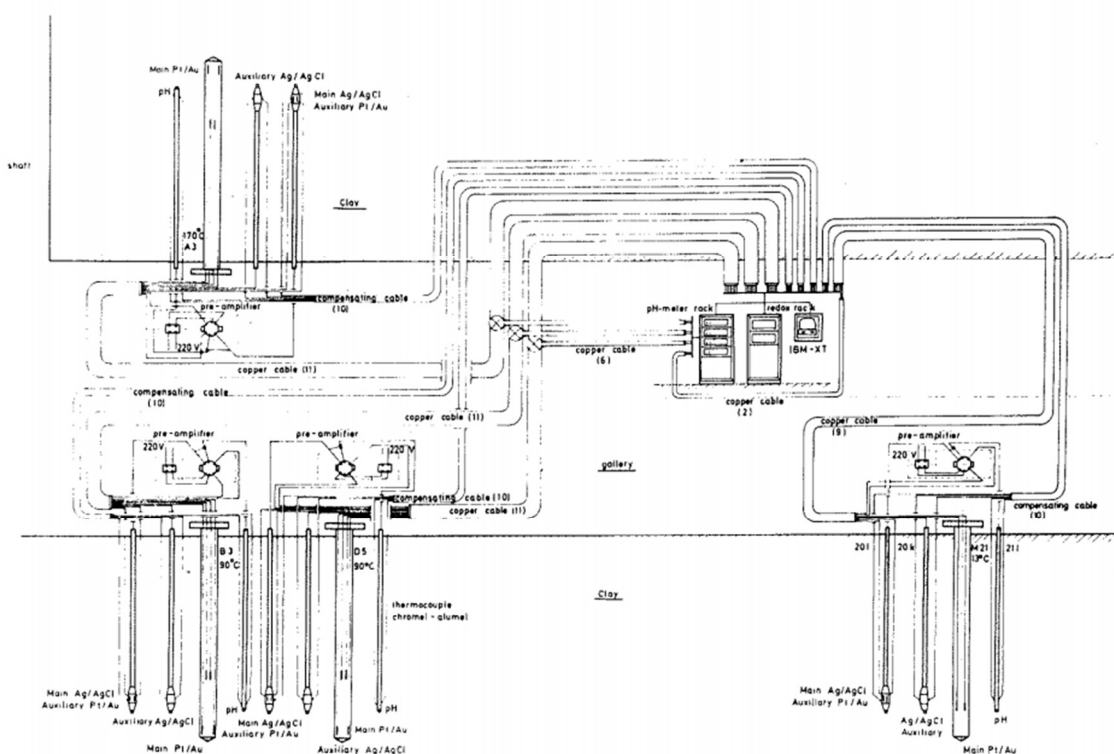
Po ukončení testů bylo konstatováno, že provoz modulů byl víceméně bezproblémový. Teplota byla konstantní u experimentu při teplotě 16 °C, u teplot 90 °C a 170 °C byla teplota o 20 °C nižší na konci modulů. Tento problém byl důsledkem nedostatečné délky namontovaných topidel. U modulu č. 4 teplota rostla během experimentu z 14 °C na 18 °C, pravděpodobně kvůli přítomnosti ostatních zdrojů tepla v podzemní laboratoři (Kursten et al., 1996).



Obr. 1 Polohy různých typů modulů v podzemní laboratoři (Kursten et al., 1996)



Obr. 2 Schematické znázornění korozního modulu v přímém kontaktu s jílem – Typ I. 1 Galerie, 2 Kovové vzorky, 3 Vzorky odpadů, 4 Topidla, 5 Vnější korozivzdorná trubka (Kursten et al. 1996)



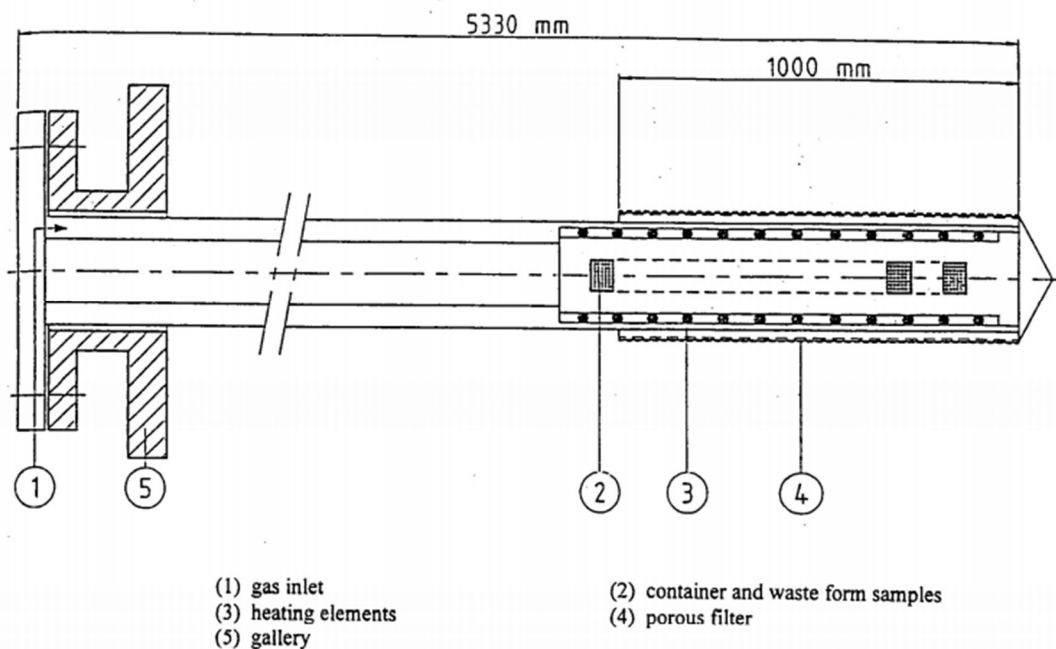
Obr. 3 Schematické znázornění celkové experimentální aparatury v podzemní laboratoři pro korozní testy typu I (Debruyen et al. 1991)

2.1.2.2 Experimentální aparatura typu II

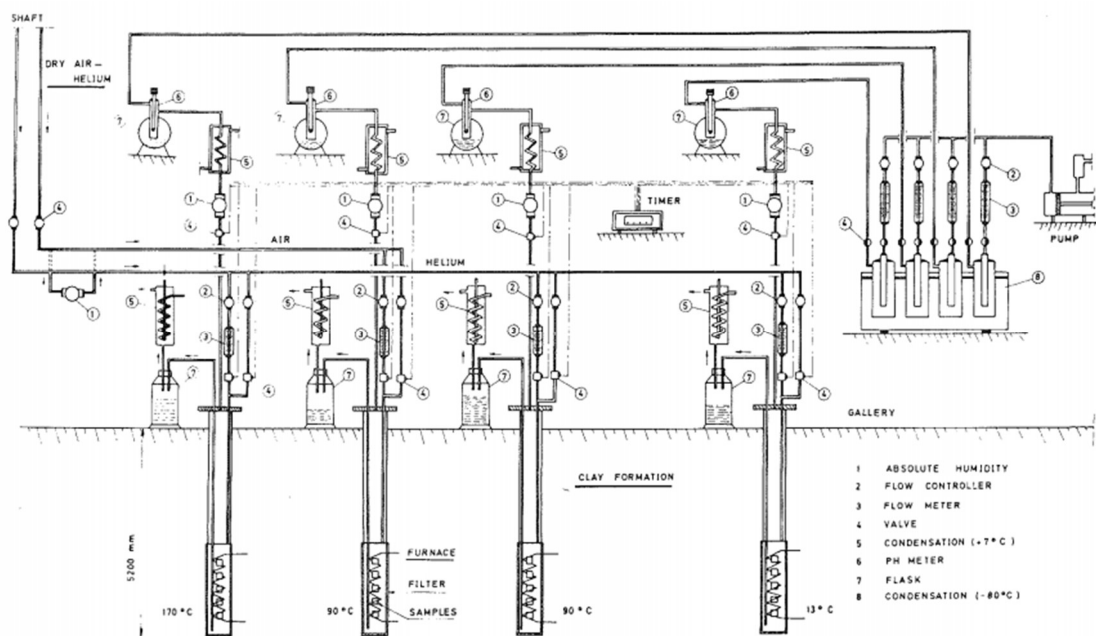
Podle Kurstena et al. (1996), další dva typy modulů (typ II a III) měly simulovat náhodné podmínky při ukládání, kdy by mohla proniknout vzdušná vlhkost přes kapiláry v jiných technických bariérách a dostat se k obalovému souboru.

Moduly typu II rovněž simulovaly dočasné uložení obalových souborů v hlubinném uložišti, kde ventilace a nerovnoměrné topení vedly k místní kondenzaci a odpařování podzemní vody. Při těchto experimentech byly vzorky kovů a odpadů v kontaktu s atmosférou s ustálenou relativní vlhkostí.

Moduly byly instalovány svisle do jílového prostředí (Obr. 1). Na konci modulů byly na vnějším obvodu porézní filtry (velikost pórů 5 μm). Přes porézní filtr (ocelový filtr) do trubky pronikala vlhkost, která byla zachycena nosným plynem (He) a poté vedena do topné části modulu obsahující vzorky kovů a forem odpadů. Z bezpečnostních důvodů bylo používáno helium jako nosný plyn místo argonu. Kovové vzorky a vzorky odpadů byly umístěny v teflonovém držáku, který byl zahříván na stanovenou teplotu pomocí topné spirály. Moduly byly označeny číslicemi 5, 6, 7 a 8. Na Obr. 4 a Obr. 5 je vidět modul typu II a ostatní součásti experimentální aparatury.



Obr. 4 Schematické znázornění korozního modulu v kontaktu se vzdušnou vlhkostí – Typ II. 1 Vstup plynu, 2 Vzorky kovu a odpadu, 3 Topidlo, 4 Porézní filtr, 5 Galerie (Kursten et al., 1996)



Obr. 5 Schematické znázornění celkové experimentální aparatury v podzemní laboratoři pro experimenty s korozními moduly typu II. 1 Absolutní vlhkost, 2 Regulátor průtoku, 3 Průtokoměr, 4 Ventil, 5 Kondenzace (7 °C), 6 pH metr, 7 Baňka, 8 Kondenzace (80 °C). (Debruyn et al., 1991)

Kursten et al. (1996) uvádí, že od zahájení korozních testů v původních modulech typu II se vyskytlo několik problémů např: kondenzace vody za porézní fritou kvůli poruše čerpacího systému, což vedlo k nárůstu množství vody na konci modulů a poškození topidla. Přenos dat mezi podzemní laboratoří a povrchovou úrovní nebyl okamžitý, což bránilo rychlému operativnímu zásahu (tento problém je dán technologickými možnostmi v dané době pozn. autorů).

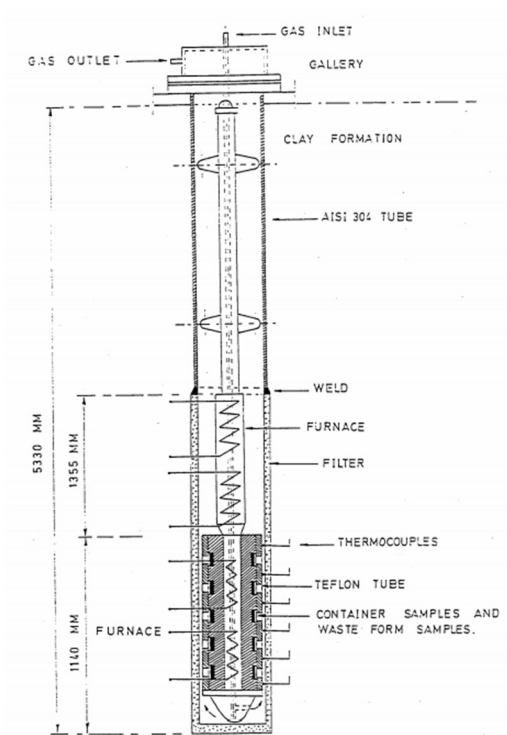
Čtyři moduly byly nejprve spuštěny od konce roku 1986 do poloviny roku 1988, kdy byl jejich provoz přerušen kvůli instalaci lepšího čerpacího systému (Obr. 8). Následující dva roky testy běžely při teplotách 90 °C a 170 °C. Podle autorů, jediné použitelné výsledky byly z testu provedeného v modulu při 170 °C po dobu 6 měsíců.

V roce 1990 bylo rozhodnuto o úpravě experimentální aparatury s novým automatickým čerpacím systémem a novým způsobem uchycení vzorků. Nová konstrukce korozních modulů typu II je znázorněna na Obr. 6, jak je na uvedeném obrázku patrné, topidlo je umístěno v ocelovém obalu a vzorky jsou na vnější straně teflonové vložky.

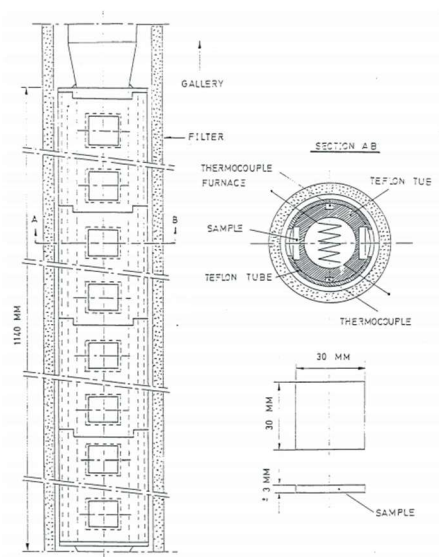
Nový automatický čerpací systém je znázorněn na Obr. 8. Senzor, připojený k elektrickému obvodu, aktivoval časovač, pokud voda nahromaděná v modulu dosáhla předem stanovené úrovně. Poté bylo do modulu přiváděno helium, které vytlačovalo vodu do sběrné nádoby naplněné argonem. Tento proces probíhal až do okamžiku, kdy množství vody pokleslo na požadovanou úroveň a celý systém se vrátil do normálních provozních podmínek.

Původní teflonová vložka vzorků byla upravena tak, aby se snížilo riziko kondenzace vody mezi ní a vzorky. Místa určená pro vzorky byla prohloubena o 3 mm a drážky byly vyvrtány skrz vnější a vnitřní strany vložky, aby každý vzorek byl zavěšen na šroub z teflonu a vycentrován mezi podpěry s distančními teflonovými podložkami. Upravená vložka je znázorněna na Obr. 7.

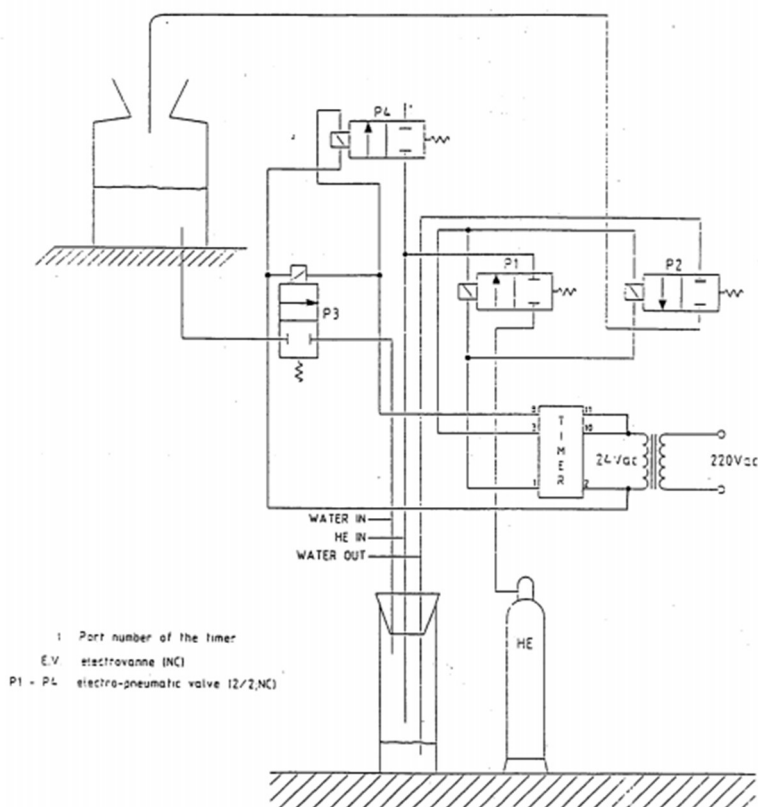
Následně bylo rozhodnuto provozovat jednu novou sestavu při 16 °C a jednu při 90 °C (moduly č. 5b a 8b). Žádná nová korozní zkouška se již neprováděla při teplotě 170 °C a 90 °C za aerobních podmínek, protože tyto podmínky byly považovány za méně reprezentativní.



Obr. 6 Schematické znázornění druhé verze korozního modulu Typ II. (Kursten et al., 1996)



Obr. 7 Schematické znázornění teflonové vložky pro vzorky v novém modulu Typ II. (Kursten et al., 1996)



Obr. 8 Schematické znázornění nového čerpacího systému pro korozní moduly Typ II. (Kursten et al., 1996)

2.1.2.3 Experimentální aparatura typu III

Experimenty prováděny v modulech typu III měly za cíl zkoumat korozi kovových vzorků a vzorků odpadů v prostředí s jílem a betonem, aby byl stanoven vliv betonu, který byl v tehdejší době zvažován v novější koncepci UOS (současná koncepce pozn. autorů).

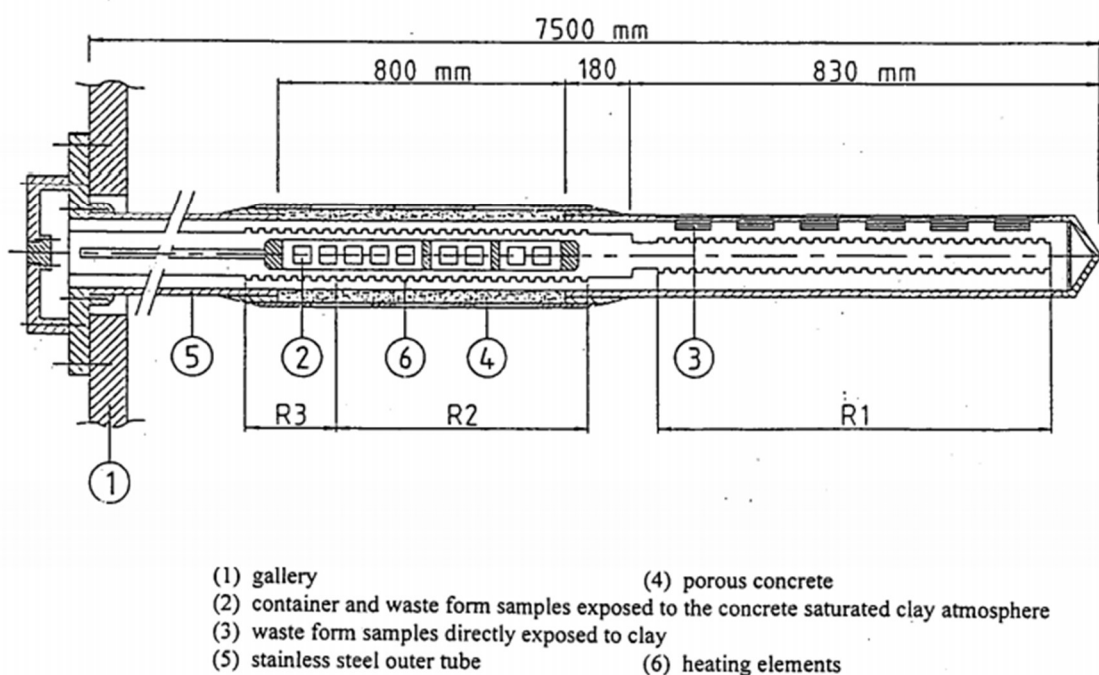
Moduly byly instalovány do šikmých vrtů. Tímto způsobem bylo možné zachytit pórovou vodu během experimentu. Moduly se skládaly ze dvou částí: koncová část modulu, kde vzorky kovů a forem odpadů byly v kontaktu s jílem podobně jako u modulů typu I. V druhé části byly vzorky vystaveny prostředí ovlivněnému alkalickou frontou. Vnější část druhé části se skládala z pórovité betonové vrstvy obklopující trubku z korozivzdorné oceli (Obr. 9). Betonová vrstva umožňovala průnik podzemní vody ke vzorkům, které byly umístěny uvnitř. Při experimentech nebyl používán nosný plyn, aby prostředí uvnitř modulů odpovídalo aerobní fázi ukládání.

Moduly byly označeny č. 9 a 10. Korozní experiment s modulem č. 9 byl ukončen dříve, než bylo plánováno, kvůli technickým problémům topidel u obou částí modulu. Podle Kurstena et al. (1996) problém nastal kvůli nedostatečné izolaci topidla, nahromadění velkého množství vody v koncové části modulu a nefunkčním regulátorům teploty. Navzdory snahám o opravu a výměnu elektrických součástí docházelo k technickým problémům. Z tohoto důvodu bylo rozhodnuto o změně regulačního systému.

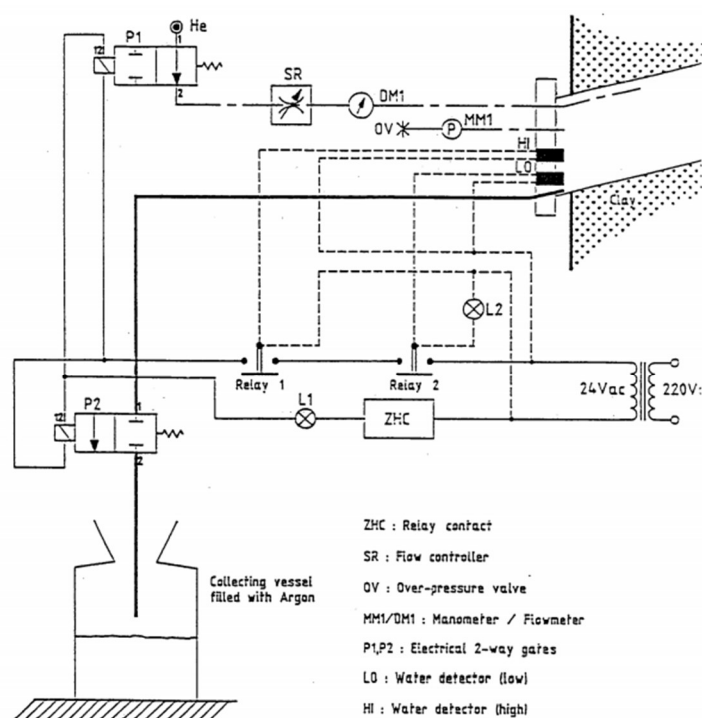
Další doporučení pro lepší provoz topného systému spočívalo ve větším sklonu vrtů s experimentálními moduly. Ideální sklon byl navržen 15° místo původního 1,5°. Funkce topného systému mohla být dále vylepšena použitím obalu topidla s lepší tepelnou vodivostí a korozní odolností.

Poslední modul č. 10 byl instalován v laboratoři v únoru 1993. Na začátku se objevily problémy během vrtání kvůli přítomnosti chladicí trubky v hloubce 4,7 m za stěnou galerie. Druhý pokus byl prováděn proto s větším sklonem. Vrt byl vyvrtán ve dvou fázích. V první fázi byl vyvrtán otvor o délce 7,6 m a průměru 112 mm; ve druhé fázi o délce 6,7 m a průměru 185 mm.

Modul č. 10 byl osazen větším počtem vzorků než modul č. 9 a automatickým čerpacím systémem, který umožnil experiment v inertní atmosféře (Obr. 9). Dva elektrické detektory vody byly upevněny v různých úrovních za přírubou vrtu. Tyto detektory kontrolovaly hladinu vody v modulu. Pokud hladina dosáhla horního detektoru, průtok helia do modulu byl přerušen, aby voda mohla odtéct do baňky naplněné argonem. Potom se systém vrátil do normálních provozních podmínek.



Obr. 9 Schematické znázornění korozního modulu – typ III (Kursten et al., 1996)



Obr. 10 Schematické znázornění čerpacího systému pro korozní modul Typ III. ZMC kontakt relé, SR regulátor průtoku, OV přetlakový ventil, MM1/DM1 manometr/průtokoměr, P1 a P2 elektrické dvoucestné manometry, LO dolní detektory hladiny vody, HI horní detektor hladiny vody. (Kursten et al., 1996)

Z celkového hlediska měl tento experimentální systém relativně komplikovaný návrh, který trpěl radou problémů, které způsobily nefunkčnost jednotlivých modulů. Návrh topného systému byl nejprve proveden velmi jednoduše a pak byl dodatečně vylepšován. Pro návrh experimentálního systému v PVP Bukov bude potřeba minimalizovat teplotní rozdíly na modulech (lepším rozvedením tepla, homogennějším zdrojem tepla), aby nedocházelo k rozdílům v řádu desítek stupňů.

2.2 Korozní experiment Minican – Švédsko

V průběhu let byly ve Švédsku prováděny výzkumné práce, jejichž cílem bylo prozkoumat řadu nejistot spojených s korozí obalového souboru, včetně možnosti expanze vnějšího měděného obalu v důsledku anaerobní koroze vnitřní litinové vložky. Ačkoliv provedené experimentální práce s velkým množstvím měděných a železných vzorků neprokázaly žádné důkazy o expanzi obalového souboru způsobené korozí, byl navržen experimentální program ve švédské podzemní laboratoři Äspö Hard Rock, jehož cílem bylo prozkoumat vývoj koroze vnitřní litinové trubky a vliv korozních produktů, pokud dojde k průniku vody přes vnější měděný obal. V rámci těchto testů byla použita miniaturní verze obalového souboru (Minican).

Instalace „Minicanů“ v podzemní laboratoři probíhaly od září 2006 do února 2007. Podle Smart a Rance (2008) byla instalace dokončena na jaře 2007 po testování sensorů a měření řady parametrů okolního prostředí. Dodatečná modernizace elektrické instalace pro snadnější přístup ke konektorům byla provedena v červnu 2007.

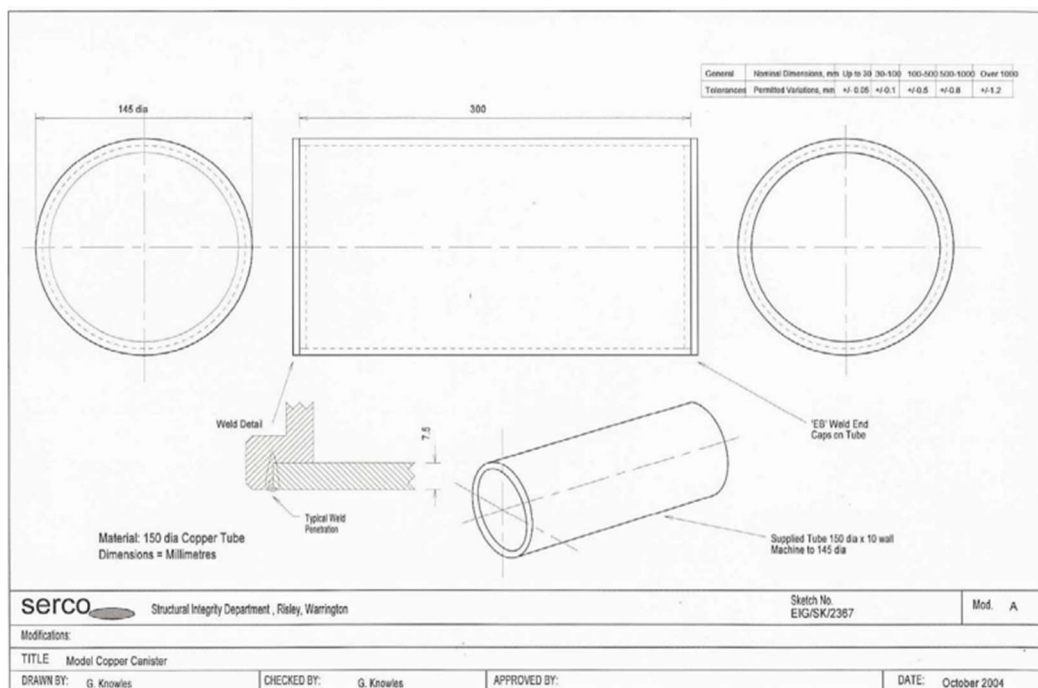
2.2.1 Popis miniaturního obalového souboru

Obalový soubor používán v těchto experimentech byl vytvořen na základě návrhu reálného obalového souboru. Rozdíl oproti reálnému UOS spočíval v nepřítomnosti drobných konstrukčních detailů.

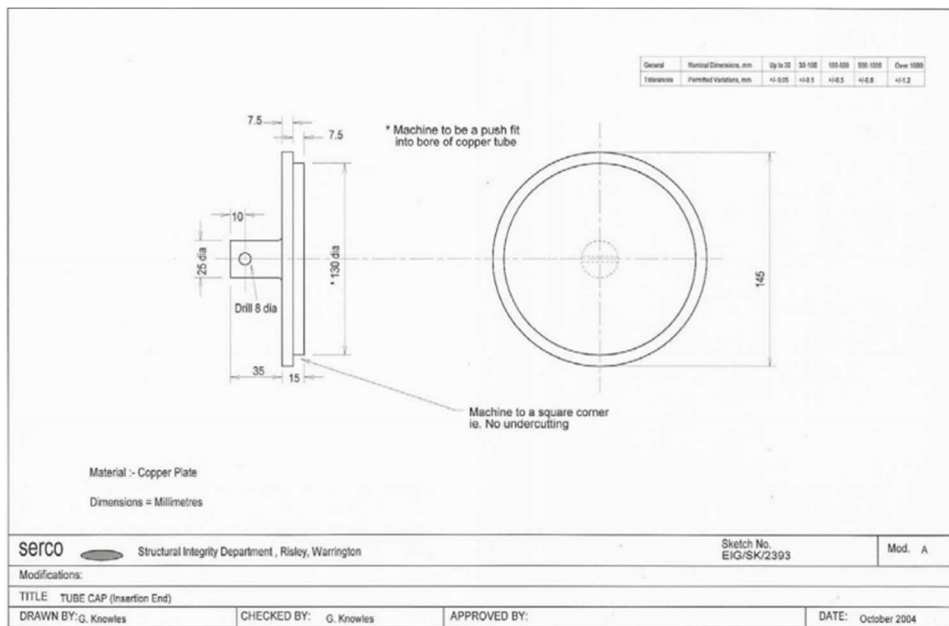
Miniaturní obalový soubor Minican se skládal z vnějšího měděného obalu a vnitřního litinového pouzdra. U měděné trubky byla přivařena dolní a horní víka a v povrchu byly vyrobeny defekty (vyvrtané otvory) o průměru 1 mm těsně pod horním víkem. Ve většině experimentů byl vyroben jeden defekt, ale ve dvou případech byly vyrobeny defekty dva. Orientace defektů byla v každém experimentu uspořádána mírně odlišně, protože jejich poloha by mohla ovlivnit pronikání vody do měděné trubky. Podle autorů je rychlost pronikání vody ovlivněna řadou faktorů např.: velikost a umístění defektu, korozní rychlosti litiny, tvorba vodíku a propustností bentonitu okolo Minicanu. Defekty byly vrtány do měděné trubky před přivařováním víka. Horní část litinového válce byla zakryta víkem (Obr. 13, Obr. 15). Ve vnitřní části válce byly čtyři menší válcové otvory simulující kanály pro palivové kazety.

Rozměry Minicanů byly určeny podle standardních průměrů vrtů v Äspö HRL tj. 300 mm. Na výrobu externího měděného obalu byla použita měděná trubka o průměru 150 mm, což umožnilo instalaci bentonitu v jejím okolí. Výsledkem úpravy byl obal o rozměrech: vnější průměr 145 mm, vnitřní průměr 130 mm a tloušťka stěny 7,5 mm. Celková délka trubky byla 315 mm. Tato délka zahrnuje i manipulační úchyt horního víka trubky (Obr. 11, Obr. 12, Obr. 14).

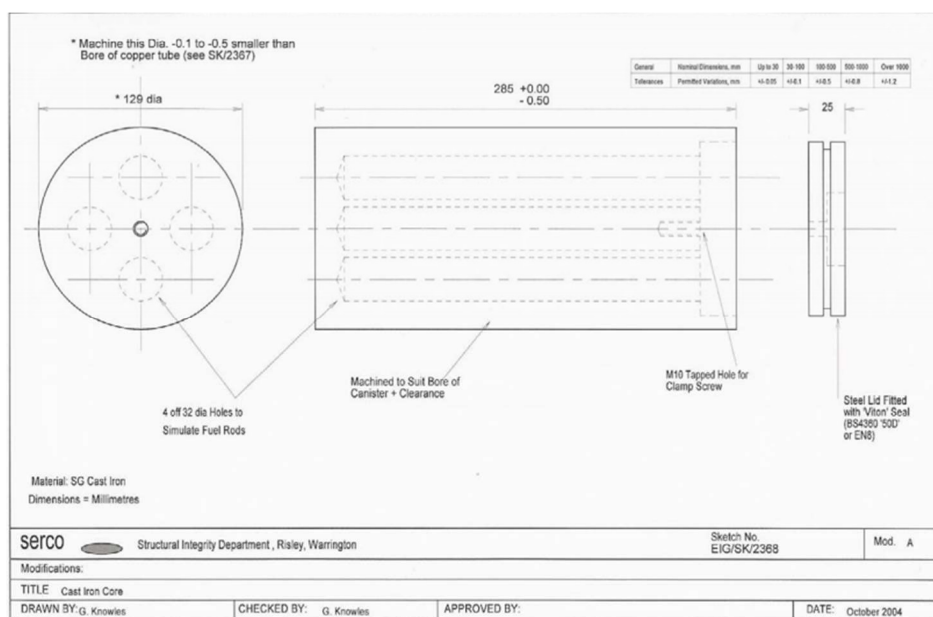
Průměr vnitřního litinového obalu byl 129 mm, aby zůstal prostor (10–30 μm) mezi ním a externím obalem, který by umožnil vstup vody a případnou kumulaci korozních produktů v reálném čase.



Obr. 11 Návrh vnějšího měděného obalu (Smart a Rance, 2009)



Obr. 12 Návrh víka vnějšího měděného obalu (Smart a Rance, 2009)



Obr. 13 Návrh vnitřního litinového obalu (Smart a Rance, 2009)



Obr. 14 Měděný obal a víko (Smart a Rance, 2009)



Obr. 15 Miniaturní obalový soubor Minican: Litinový obal a víko (Smart a Rance, 2009)

2.2.2 Materiály

2.2.2.1 Měděné komponenty

Společnost Outokumpu (Finsko) dodala měděné trubky (EN 13600-CuOFE-R290-RND 150 × 10, Cu-OFE EN 1876:1988, UNS C10100 Ref. KTS001). Složení je uvedeno v Tab. 1.

Vnější průměr trubky byl 150 mm o tloušťce stěny 10 mm. Víka trubky miniaturního obalového souboru byla vyrobena z materiálu reálného obalového souboru.

Tab. 1 Chemické složení měděné trubky u dvou různých místech (údaje z Outokumpu) (Smart a Rance, 2009)

Prvek		Požadované složení	Dolní víko 105 2-3/1	Horní víko 105 2-3/1
Cu	% min	99,99	99,993	99,993
Ag	ppm max	25	14,4	14,3
As	ppm max	5	1,3	1,3
Bi	ppm max	1	< 0,2	< 0,5
Cd	ppm max	1	< 0,4	< 0,4
Fe	ppm max	10	0,5	0,7
H	ppm max	< 0,6	0,46	0,39
Hg	ppm max	1	< 0,5	< 0,5
Mn	ppm max	0,5	< 0,1	0,1
Ni	ppm max	10	0,7	0,7
O	ppm max	<5	1,7	2
P	ppm	30–70	32	38
Pb	ppm max	5	< 0,6	0,7
S	ppm max	< 8	7	6,9
Sb	ppm max	4	2	2
Se	ppm max	3	1	1,1
Sn	ppm max	2	< 0,7	< 0,7
Te	ppm max	2	< 1	< 1
Zn	ppm max	1	< 1	< 1

2.2.2.2 Litinové a ocelové části

Vnitřní trubka obalového souboru byla vyrobena z litiny. Trubka měla čtyři kanály pro „palivové kazety“, které byly obloženy materiálem EN 10015 S355 J2H.

Litinová trubka byla opatřena ocelovým víkem (BS4360 '50D') k utěsnění otvorů pro „palivové tyče“ (použité těsnění bylo Viton). V externí části víka byl manipulační chyt vyroben z materiálu S355JR. Funkce těchto komponentů byla zabránit vniknutí vody do litinové trubky. Složení materiálů je uvedeno v Tab. 2.

Povrch litinového válce byl okolo 0,14 m². Podle Smart a Rance (2009) by anaerobní koroze vyprodukovala 1,4 l vodíku (při korozní rychlosti 2 l m⁻² rok⁻¹) což při podmínkách v podzemní

laboratoři (hydrostatický tlak 40 barů v hloubce 400 metrů) činilo 35 cm³. Objem prostoru mezi interním válcem a externí trubkou obalového souboru byl 1,16 cm³.

Tab. 2 Složení litinové trubky (hm. %) (Smart a Rance, 2009)

Prvek	Litinová trubka	Ocelové koncovky (BS4360 '50D')	Materiál EN 10015 S355 J2H
C	3,52	0,16	0,10
Si	2,66	0,18	0,17
Mn	0,092	1,47	0,46
S	0,006	0,007	0,006
P	0,037	0,016	0,011
Mg	0,067		
Cu	0,006		

2.2.3 Montáž experimentální aparatury

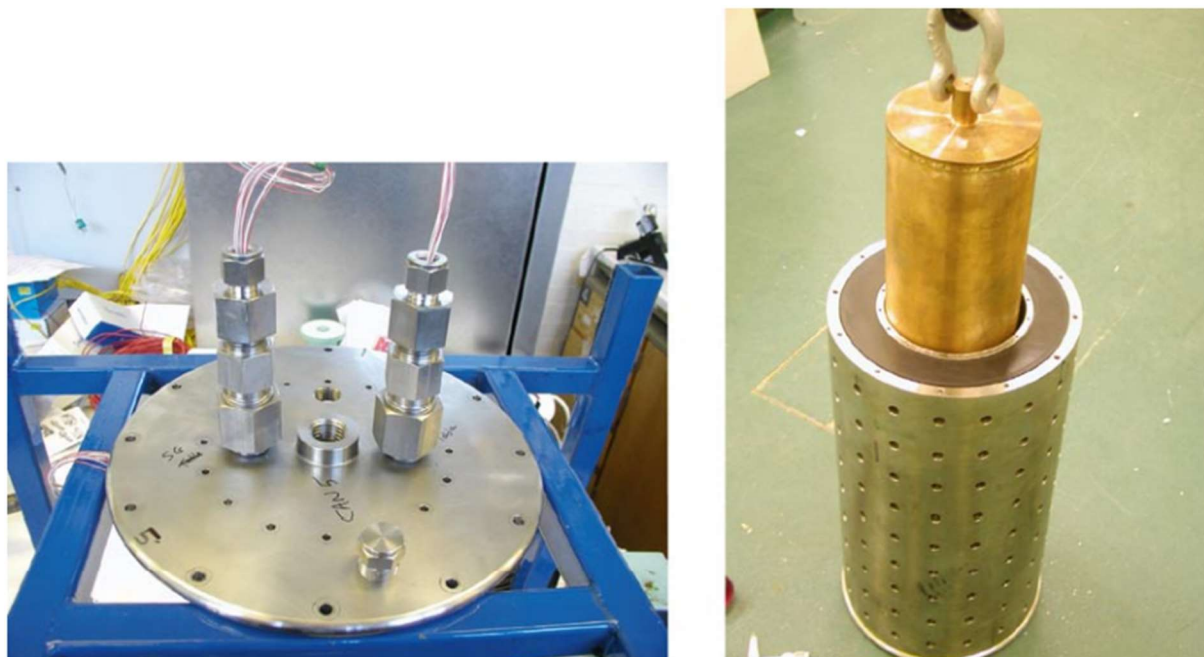
Měděné součásti byly čištěny v roztoku kyseliny citronové. Litinové součásti byly odmořené v roztoku kyseliny chlorovodíkové a poté omyty demineralizovanou vodou. Čisté komponenty Minicanu byly poté přes noc uloženy ve vakuové komoře. Svařování proběhlo elektronovým paprskem ve firmě TWI (Velká Británie). Rychlost svaru byla 500 mm min⁻¹. Po svařování proběhla kontrola svarů a vyrobené defekty měděné trubky byly zakryty gumovou „zátkou“, aby bylo minimalizováno pronikání vzduchu do prostoru mezi měděnou a litinovou trubkou. Zátka byla následně odstraněna po zapuštění Minicanu do vrtu v podzemní laboratoři.

Minicany byly umístěny do perforované vložky z korozivzdorné oceli 316L. Vložka se skládala ze dvou perforovaných koncentrických trubek, mezi nimiž byl umístěn bentonit o nízké objemové hmotnosti (experiment 1: 1160 kg m⁻³, experiment 2: 1165 kg m⁻³, experiment 3: 1361 kg m⁻³). Bentonit byl obklopen filtry z korozivzdorné oceli (Tridelta Siper GmbH, Německo) o tloušťce 5 mm a velikost pórů 10 μm.

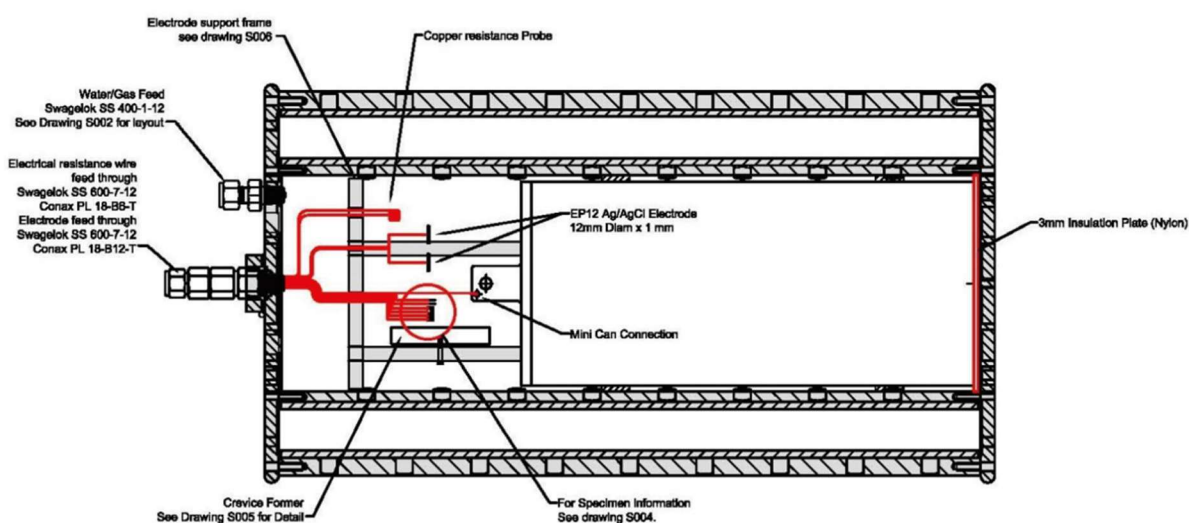
Víka byla připevněna na každém konci ocelové vložky pomocí šroubů. Válcové filtry byly utěsněny plochými těsněními (Viton) na obou koncích ocelové vložky. Elektrické přípojky byly vedeny do vnitřního prostoru vložky přes tlakové fittingy Conax. Přívody byly vyvedeny z vrtu ocelovými trubičkami, tímto způsobem se zabránilo kontaktu s podzemní vodou.

Desky z materiálu PEEK a kroužky izolačního materiálu byly položeny v dolní části a okolo měděné trubky, aby bylo zabráněno přímému elektrickému kontaktu s ocelovou vložkou. Jednotlivé postupy sestavení experimentální aparatury jsou zobrazeny na Obr. 16 až Obr. 19.

Kompletace celého systému proběhla v laboratořích společnosti Serco v Culhamu (Velká Británie), následně byly aparatury odeslány do podzemní laboratoře Äspö k instalaci.



Obr. 18 Nalevo: horní víko ocelové nosné vložky. Napravo: instalace Minicanu do ocelové nosné vložky



Obr. 19 Schematické znázornění obalového souboru a senzorů v ocelové vložce (Smart a Rance, 2009)

2.2.4 Instalace experimentální aparatury v podzemní laboratoři Aspö

Experimentální aparatura skládající se z vnějšího obalu z ocelové trubky Minicanu a dalších elektrických komponent byla umístěna do pěti vrtů. Realizované vrty byly o průměru 300 mm, délce 5 m a byly vrtány v nasycené zóně pod sklonem 10 stupňů úpadně. Vrty byly dostatečně hluboké, aby se nacházely mimo zónu ovlivněnou vrtnými pracemi v tunelu (narušená zóna, EDZ).

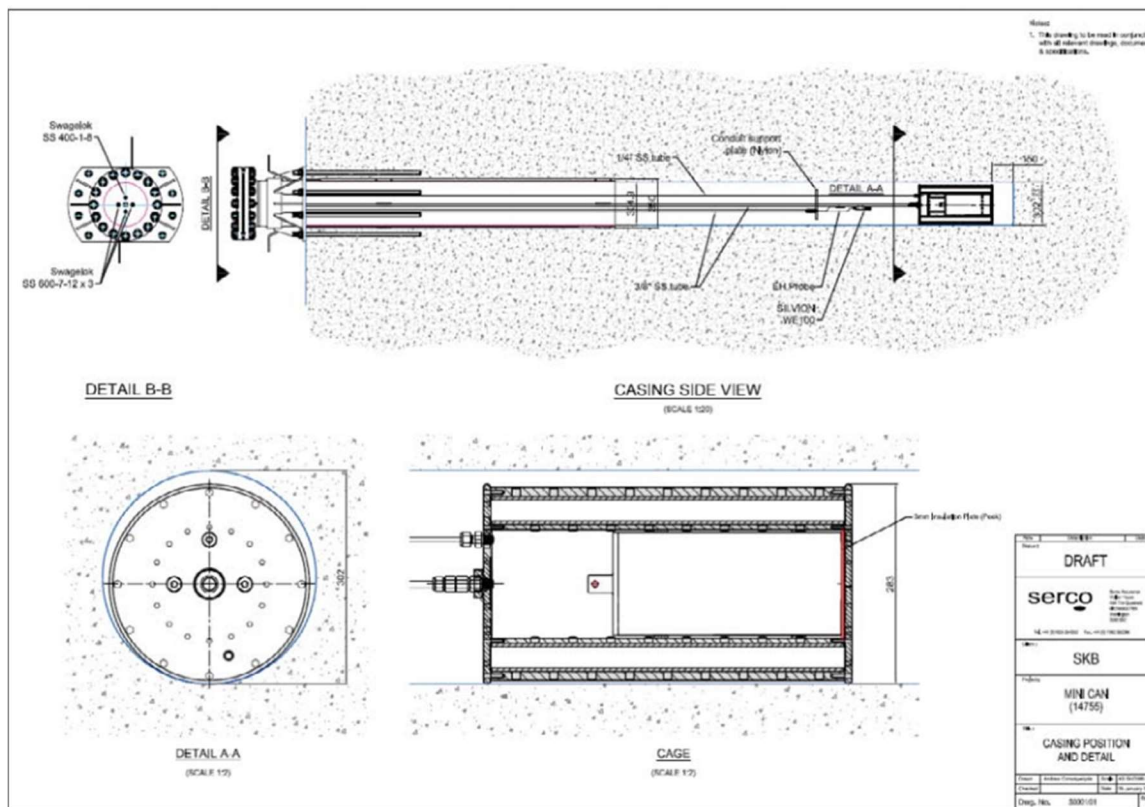
Vrty byly utěsněny pomocí přírub z korozivzdorné oceli, které byly do vrtů upevněny epoxidovou pryskyřicí. Elektrické přípojky pak byly vyvedeny přes příruby. Všechny průchodky byly z korozivzdorné oceli.

Experimentální aparatury byly zavedeny do vrtů pomocí zvedacího zařízení připevněného ke stěnám tunelu nad ústím vrtů a tyče/táhla z korozivzdorné oceli připevněné k víku ocelové vložky (Obr. 20). Manipulační tyče/táhla byly ponechány na místě, aby bylo možné vyjmout experimentální aparatury po ukončení testů. Po instalaci experimentů se vrty rychle zaplnily vodou. Instalace experimentální aparatury ve vrtu je schematicky znázorněna na Obr. 21.

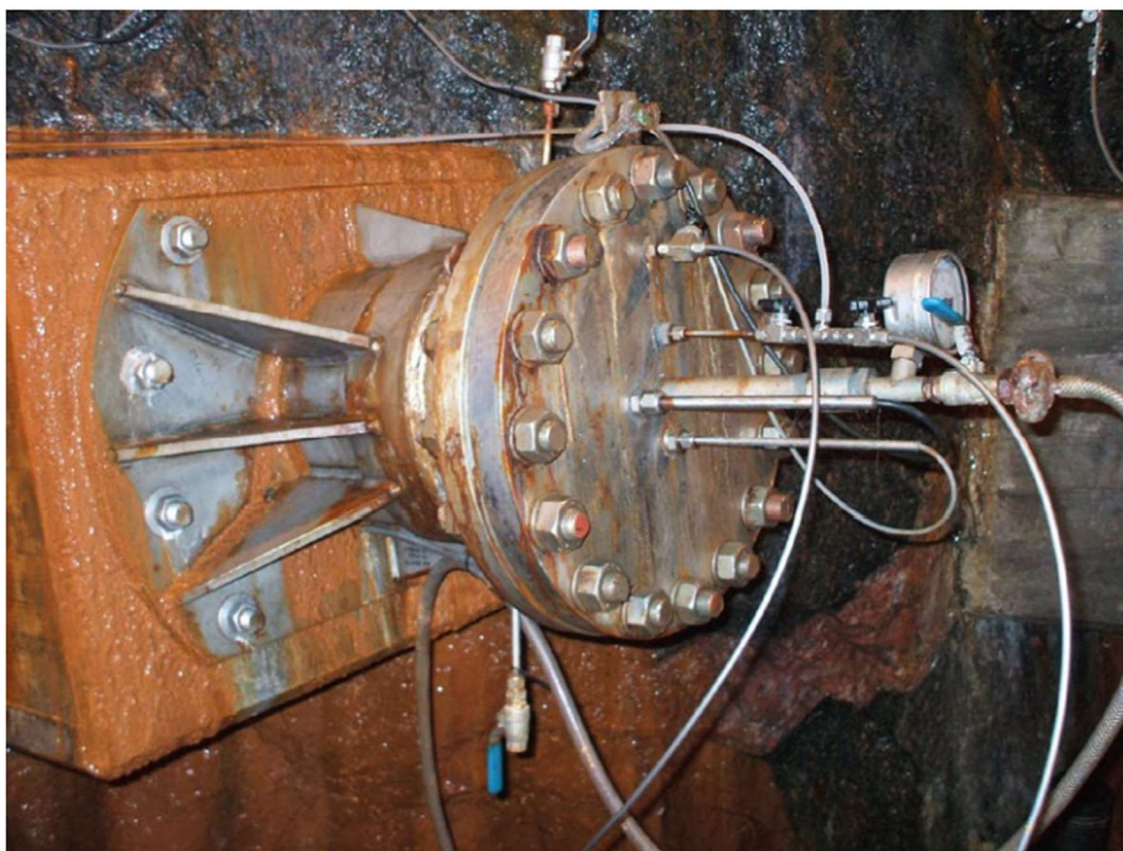
Na všech přírubách vrtů byl ponechán otevřený odzdušňovací ventil pro únik plynu ze systému. Na víku uzavírající vrt byl v průběhu experimentu pozorován hnědý povlak (biofilm) značící mikrobiální aktivitu na stěnách tunelu v podzemní laboratoři (Obr. 22).



Obr. 20 Instalace experimentální aparatury do vrtů (Smart a Rance, 2009)



Obr. 21 Schematické znázornění experimentální aparatury ve vrtu (Smart a Rance, 2009)



Obr. 22 Hnědý povlak biofilmu na stěně kolem vrtu (Smart a Rance, 2009)

2.2.5 Korozní experimenty

Celkem bylo provedeno pět korozních testů. U prvních třech experimentů byla ocelová vložka vyplněna směsí bentonitových pelet a bentonitového prášku. Směs byla lisována/zhutněna na objemovou hmotnost umožňující vysokou propustnost a nízký bobtnací tlak. Tímto způsobem se mohla podzemní voda dostat do mezikruží/prostoru mezi měděnou trubkou a litinou.

Cílem čtvrtého experimentu bylo co nejlépe simulovat předpokládané expoziční podmínky v úložišti. Z toho důvodu nebylo potřeba používat vnitřní ocelovou trubku vnějšího pláště (Obr. 17) a měděná trubka obalového souboru byla v přímém kontaktu s okružími kompaktovaného bentonitu o nízké propustnosti. V kompaktovaném bentonitu byly vyvrtány otvory pro vývod kabelů od elektrod a tenzometrů umístěných na povrchu měděné trubky. Vnější trubka a filtr ocelové vložky měly odolnost až na bobtnací tlak bentonitu do 7 MPa.

U pátého experimentu neobsahovala ocelová vložka žádný bentonit a měděná trubka byla přímo vystavena podzemní vodě. Hlavním cílem bylo sledovat tvorbu biofilmu na povrchu měděné trubky a jeho účinek na korozní proces.

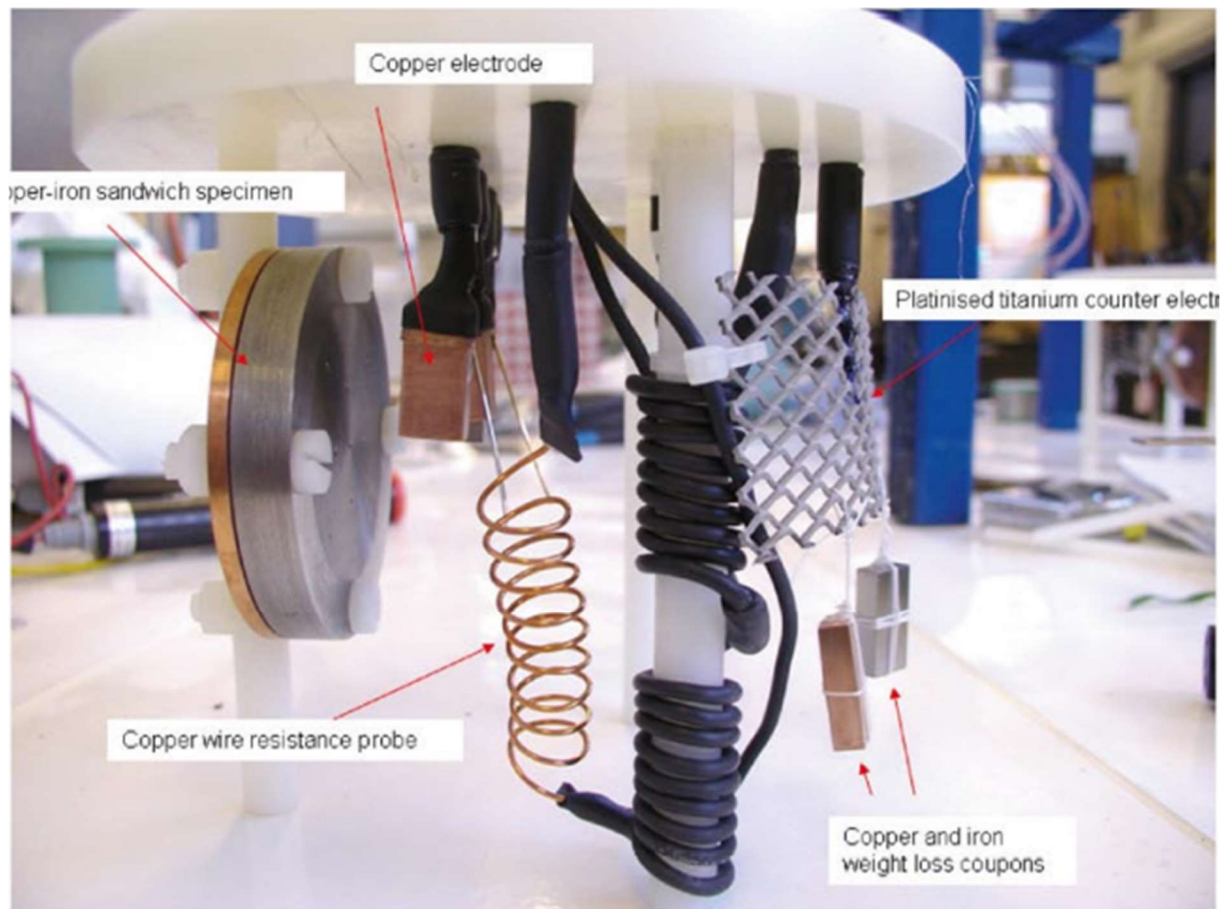
V experimentu byly také měřeny následující parametry:

- Redoxní potenciál pomocí jednoho zlatého drátku a jednoho platinového drátku umístěných u měděné trubky obalového souboru uvnitř ocelové vložky. Redoxní elektrodou umístěnou mimo ocelové vložky (sonda Pt/Ir společnosti Cumberland Electrochemical Ltd.). S využitím dvou malých diskových argento-chloridových referenčních elektrod uvnitř ocelové vložky, spolu s velkou referenční elektrodou Silverion mimo vložku jako záloha v případě selhání výše zmíněných elektrod.
- Tlak byl zpočátku měřen pomocí analogového tlakoměru, který byl připevněn k přírubám na každém vrtu. Později bylo na výstupní potrubí připojeno tlakové čidlo se záznamem dat.
- Tenzometry byly použity k měření změn deformace vnějšího povrchu dvou měděných trubek obalového souboru (experimenty č. 1 a č. 4). Cílem těchto měření bylo zjistit, zda koroze litiny ovlivnila rozměry měděné trubky. Deformace byla měřena pomocí biaxiálních tenzometrů, které byly lepeny na povrchu měděné trubky použitím kyanoakrylátového lepidla a chráněny vodotěsnými nátěry (Obr. 23).



Obr. 23 Tenzometry na povrchu měděné trubky Minicanu (Smart a Rance, 2009)

Vedle zmíněných čidel, obsahovaly sestavy různé druhy měděných a litinových vzorků. Vzorky byly umístěny v ocelové vložce obsahující Minican. V experimentech č. 2 a č. 5 byla umístěna rezistometrická měděná sonda pro měření korozní rychlosti. Tyto součásti experimentální aparatury byly zavěšeny na nylonovém disku (Obr. 24).



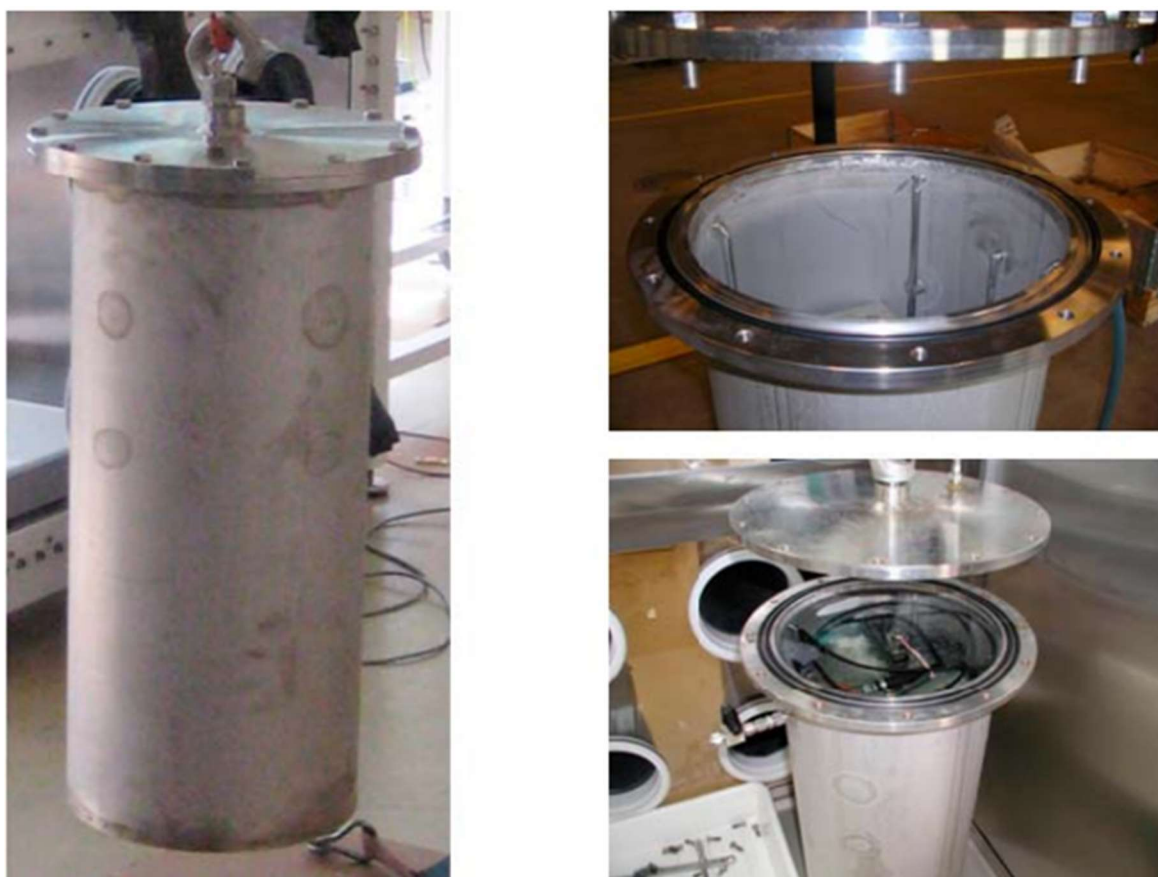
Obr. 24 Nylonový nosný disk pro elektrody a kovové vzorky (Smart a Rance, 2009)

2.2.6 Odebrání experimentální aparatury z vrtů po ukončení testů

Při vyjímání sestavy byla k přírubě vrtu připevněna a utěsněna nádrž z korozivzdorné oceli (Obr. 25). Nádrž byla naplněna podzemní vodou do takové výšky, aby příruba vrtu byla zcela ponořena. Koncentrace kyslíku ve vodě byla snížena probubláváním dusíkem a následující den bylo zahájeno vyjmutí sestavy z vrtu. V prvním kroku byly odstraněny šrouby příruby vrtu a byly odříznuty kabely vedoucí do experimentu. Následně byla experimentální aparatura z vrtu vytažena pomocí manipulační tyče/táhla připevněné do víka ocelové vložky aparatury. Pomocí jeřábu byla sestava v nádrži umístěna do přepravního pouzdra (Obr. 26), které bylo předem umístěno pod vodou v nádrži. Přepravní nádoba byla naplněna vodou z vrtu a poté byla otočena do svislé polohy a její víko bylo pozvolna přišroubováno za současného proplachování dusíkem po dobu deseti minut, než bylo zcela uzavřeno. Nádoba byla dále proplachována dusíkem po dobu dvou hodin, poté nádoba byla transportována do Velké Británie, kde byla rozebrána v rukavicovém boxu.



Obr. 25 Vlevo: nádrž u vrtu. Vpravo: nádrž vyplněná podzemní vodou (Smart et al., 2012)



Obr. 26 Přepravní nádoba pro anaerobní transport experimentální aparatury. Vpravo nahoře: Pohled dovnitř nádoby. Vpravo dole: Otevřená nádoba obsahující sestavu s Minicanem (Smart et al., 2012)

Ačkoliv je tento experiment specifický jednak svým účelem, ale i rozměry, je pro účely prací v PVP Bukov zajímavý postup vyjímání sestav z vrtů, neboť je otázkou, zda je přínosné vyjmát sestavu do vody probublávané dusíkem, která v daném objemu nádrže, zcela jistě nebyla anaerobní a zda tak operace v nádrži z celkového pohledu nebyla časově delší než přímé vyjmutí do přepravního pouzdra. Zároveň je otázka, do jaké míry můžeme takto systém kontaminovat z hlediska mikrobiálního.

Experiment ve středním měřítku, jako je tento, již vyžaduje manipulační prostředky jako jeřáb a speciální rukavicové boxy. Obecně je přínos takového experimentu hlavně z hlediska celkového ověření technického návrhu obalového souboru než určení jeho korozní rychlosti.

Drobnou nejistotu z našeho hlediska představuje zavedení kabelů přímo do korozního prostředí, protože přes vnitřek kabelů může relativně snadno do systému difundovat kyslík. Např. u rukavicových boxů je tento problém vyřešen speciálními průchodkami, kde je kabel zalit do pryskyřice pro snížení rychlosti difúze. V případě tohoto experimentu, však není v tomto ohledu kabeláž blíže specifikována.

2.3 Long term test of buffer materials (LOT) – Švédsko

Tento projekt byl zahájen před více než dvaceti lety a byl zaměřen na studium chování bentonitu MX-80 při dlouhodobém tepelném zatěžování. Primárně se tedy účelem nejedná o korozní experiment. V devadesátých letech bylo instalováno sedm experimentálních modulů ve švédské laboratoři Äspö Hard Rock Laboratory (HRL) a od té doby bylo odebráno několik modulů pro analýzu bentonitu. Kromě toho jsou však v modulech přítomny vzorky mědi, které byly po vyjmutí modulů analyzovány.

Experimentální moduly byly umístěny ve vrtech o průměru 300 mm a hloubce okolo 4 m. Tři testy probíhaly při podobných podmínkách, jaké se předpokládají v hlubinném úložišti. Ostatní experimenty probíhaly při kontrolovaných nepříznivých podmínkách. Nepříznivé podmínky v tomto kontextu znamenaly: vysoké teploty, vysoké teplotní gradienty, přítomnost dalších minerálů, které vedou k vysokému pH a vysoké koncentraci draslíku v jílové pórové vodě.

2.3.1 Materiály

2.3.1.1 Bentonit

Bentonit Wyoming prodáváný pod obchodním názvem MX-80 by dodán společností Askania AB a byl vyráběn firmou Volclay LTD (Mersyside, Spojené království).

Bentonit byl připraven pro experimenty v různých provedeních:

- standardní kroužky o průměru 281 mm a výšce 100 mm,
- kroužky s modifikacemi pro měděné vzorky, termočlánky, tlakoměry a přístroje na měření relativní vlhkosti,
- kroužky ze směsí bentonitu a různých přísad (např. 10% hm. KCl, 7,5% hm. NaCl). Tyto kroužky byly lisovány jen pro některé experimentální moduly,
- bentonitové zátky o průměru 20 mm s přísadami nebo bez nich, určené pro mikrobiální analýzy a další testy.

Podle Karlanda et al. (2000) byl bentonit lisován na přijatelnou objemovou hmotnost švédského hlubinného uložště, tj. okolo 2000 kg m⁻³. Celkem bylo lisováno 38 kroužků pro jeden experimentální modul. Každý kroužek je označen podle definovaného místa v experimentálním modulu, například kroužek položený v třetím místě (03) od dolního konce modulu S1 je označen č. S103.

2.3.1.2 Kovové vzorky

Projekt LOT je zaměřen především na studium bentonitu a primárně není určen na korozní testy mědi. Až po zahájení projektu bylo rozhodnuto sledovat i korozní chování mědi. Byly použity měděné kupony dodané společností OUTOKUMPU Poricopper OY (Finsko) o

rozměrech 50 × 23 × 1 mm. Čistota mědi byla 99,9992% Cu s malým přídavkem fosforu. Chemické složení je uvedeno v Tab. 3.

Kupony byly nejprve zváženy pomocí analytických vah a poté byly umístěny do připravených bentonitových kroužků. Kromě toho, čtyři referenční vzorky byly sledovány za laboratorních podmínek (20 °C, 50 % relativní vlhkost).

Tab. 3 Chemické složení mědi (Karland et al., 2000)

Prvek	Obsah ppm	Prvek	Obsah ppm	Prvek	Obsah ppm
Ag	15	Mg	< 0,5	Si	< 1
Al	< 1	Mn	< 1	Sn	< 3
As	< 2	Ni	< 3	Te	< 2
Bi	< 1	P	50	Zn	< 1
Cd	< 1	Pb	< 1	Zr	< 2
Co	< 3	S	8		
Cr	< 1	Sb	3	O ₂	1,6
Fe	< 2	Se	< 1	H ₂	0,42

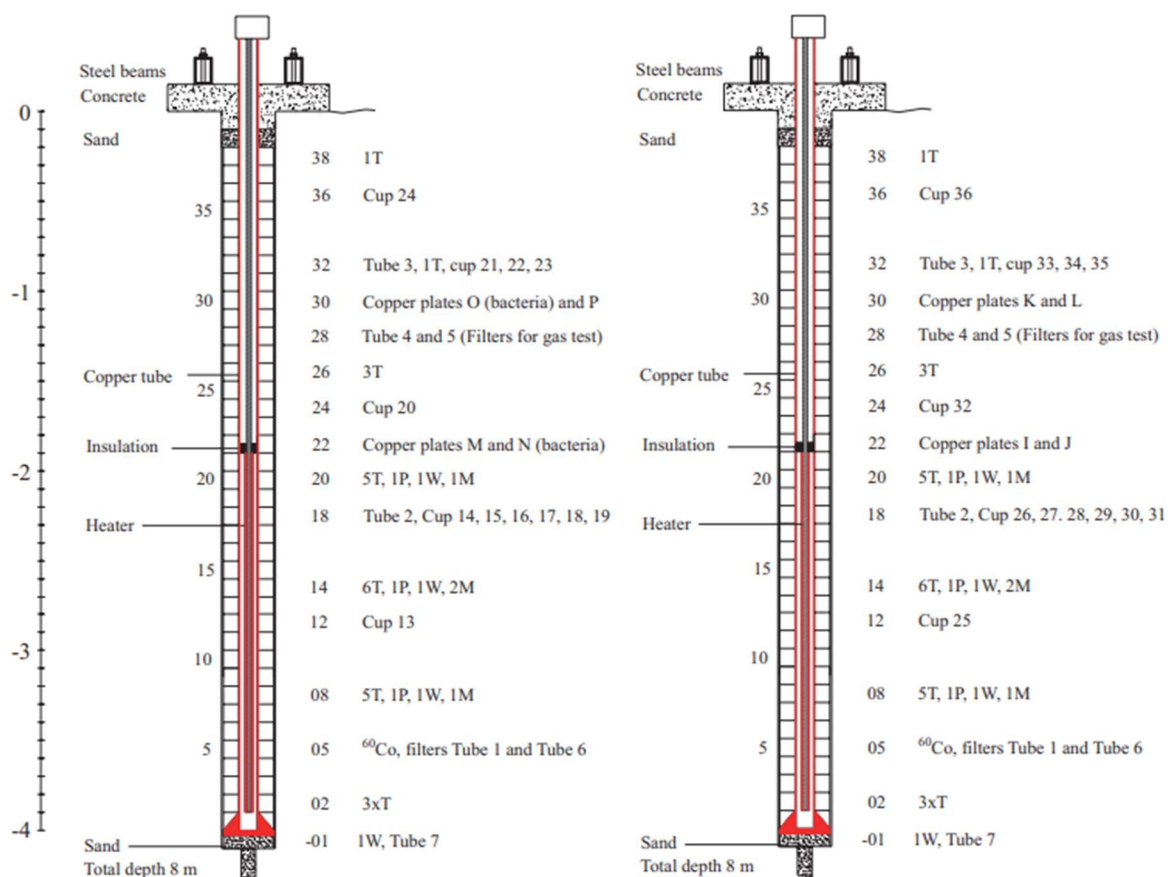
2.3.2 Experimentální modul

Každý modul se skládal z 38 bentonitových kroužků umístěných kolem měděné trubky o průměru 108 mm a délce 4,7 m, která byla vybavena topným tělesem (Obr. 27). Zpočátku byla mezi měděnou trubkou a bentonitovými kroužky technologická mezera, která zmizela po nasycení a nabobtnání bentonitu. V rámci projektu bylo připraveno sedm modulů, které se lišily především maximální teplotou. Přehled všech modulů a teplot je uveden v Tab. 4.

Jelikož rozsah koroze velkého povrchu měděné trubky bylo obtížné kvantifikovat, každý modul obsahoval čtyři měděné kupony s přesně určenou počáteční hmotností, což umožnilo stanovení hmotnostních úbytků a vyhodnocení průměrné hloubky koroze.

Tab. 4 Přehled modulů a maximální teploty testů projektu LOT (Johansson et al., 2020)

Označení modulu	Maximální teplota (°C)
A1	130
A0	150
A2	120–150
A3	120–150
S1	90
S2	90
S3	90



Obr. 27 Schéma hlavní konstrukce experimentálních modulů LOT S2 a LOT A3. Červená čára ukazuje polohu vnitřní měděné trubky. Měděné kupy byly umístěny v bentonitových kroužcích č. 22 a č. 30. (Sandén a Nilsson, 2020)

2.3.2.1 Měděná trubka s topidlem

Rozměry měděné trubky byly: délka 4,7 m, vnitřní průměr 100 mm a tloušťka stěny 4 mm. Na spodní části trubky byl připájen měděný disk a čtyři měděné výztuže. Ocelová trubka (SS1650) byla vsunuta do měděné trubky jako podpurný element při pájení a proti mechanickému poškození v případě neočekávaného prohnutí měděné trubky. Těsnost měděné trubky byla testována po pájení pomocí helia, aby byla zajištěna správná funkce topidla a trubky.

Kelímky na odběr vzorků vody

Speciálně vyrobené titanové kelímky ($d = 22$ mm, $v = 20$ mm) s titanovým filtrem byly umístěny v několika bentonitových kroužcích každého modulu (1 kelímek v kroužku 12, 6 kelímků v kroužku 18, 1 kelímek v kroužku 24, 3 kelímky v kroužku 32 a 1 kelímek v kroužku 36), tj. celkem dvanáct kelímků na každém modulu. Tyto kelímky byly instalovány na odběr vody k analýzám po ukončení experimentů.

Topidlo

Základním požadavkem na konstrukci modulů bylo udržení definované maximální teploty ve střední části sloupce bentonitových kroužků během experimentů. Z tohoto důvodu bylo zvoleno centrální topné těleso uvnitř otevřené trubky, což umožňuje vyměnit topidlo v případě poruchy.

Tři články topidla z korozivzdorné oceli (SS2348) o průměru 14 mm byly připájeny k přírubě umístěné v horní části měděné trubky. Maximální výkon každého článku byl 667 W ($0,7 \text{ W cm}^{-2}$), to znamená, že maximální výkon topidla byl okolo 2 kW.

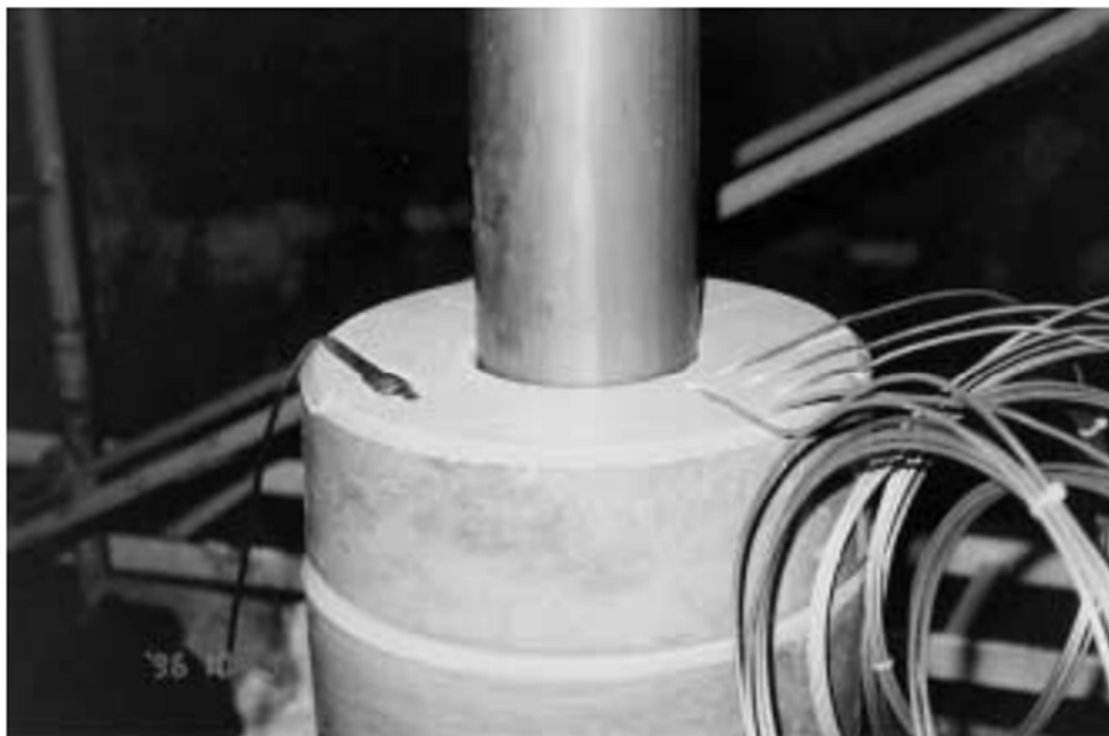
Termočlánky

Termočlánky typu K (Hereaus Electro-Nite AB, Švédsko) byly položeny v bentonitových kroužcích kolem topidla modulů A1 a S1, aby bylo možné podrobně sledovat teplotní gradient. Z tohoto důvodu bylo instalováno pět termočlánků v různých polohách v kroužcích č. 08, 14, 20. Tři termočlánky byly umístěny v kroužcích č. 26 a 32 a další dva termočlánky byly umístěny v kroužku 02.

V ostatních modulech byly používány termočlánky typu J podle normy IEC584 (BICC Thermoheat Limited, Anglie). Pět termočlánků bylo umístěno v kroužcích č. 08, 14 a 20. V bloku 14 byl termočlánek umístěn na povrchu mědi. Tři termočlánky byly umístěny v kroužku č. 02 a č. 26. Jeden termočlánek byl umístěn v kroužku 32, resp. 38. Další informace o teplotě poskytovaly snímače vlhkosti, které měly vestavěná čidla Pt-100.

Měřicí části termočlánků byly izolovány slitinou niklu (Inconel), která rovněž pokrývala vodiče v bentonitu. Termočlánky byly umístěny do předvrtaných otvorů hloubky 35 mm od vnějšího povrchu bentonitu (Obr. 28).

Kalibrace termočlánků nebyla provedena, nicméně kontrola funkce byla provedena tak, že všechny termočlánky byly připojeny k vlastnímu systému sběru dat a měřicí části byly nejprve vystaveny pokojové teplotě a následně ledové vodě a naměřené teploty byly zaznamenány.



Obr. 28 Termočlánky a další měřicí přístroje v bentonitovém kroužku (Karland et al., 2000)

Tlakoměry (manometry)

V případě modulů A1 a S1 byly používány tlakoměry označené HKM-86-375MT-100BAR-SG (Kulite Benelux BV). Tyto přístroje byly připojeny k dataloggeru teflonovými kabely (20 m),

kteřé byly vybaveny vysokotlakými těsněními (10 MPa). Rozsah měření byl 0–10 MPa s automatickou teplotní kompenzací v rozsahu 0–120 °C. Pouzdro tlakoměru bylo vyrobeno z titanu a také bylo vybaveno titanovým filtrem před membránou pro měření tlaku vody. Tlakoměry byly individuálně kalibrovány.

Další dva typy snímačů tlaku byly použity v ostatních modulech. Optické snímače model FOP (Roctest Ltd., Kanada) byly v kroužcích č. 08 a 20 a snímače 4500TI-1500 (Geokon Inc., USA) v kroužcích č. 14. Tlak vody byl rovněž měřen v titanových trubkách s externími snímači (Druck Limited, Anglie) umístěnými mimo vrt. Pro všechny tři typy snímačů tlaku byly použity teplotní kompenzace (Sandén a Nilsson, 2020).

Čidla pro měření relativní vlhkosti

Relativní vlhkost byla měřena čidly IH-3602-L (BFI-IBEXA Nordic AB) v modulech A1 a S1. Čidla byla ochráněna válcovým pouzdrům z titanu. Měření vlhkosti probíhalo přes kruhové titanové filtry umístěné na konci pouzdra. Čidla byla individuálně kalibrována. Karland et al. (2000) zaznamenal výrazné rozdíly mezi tovární kalibrací a kalibrací laboratoře Clay Technology, a to jak s ohledem na relativní vlhkost, tak na teplotu. Maximální rozdíl byl přibližně 5 % relativní vlhkosti.

V ostatních modulech byla použita čidla vyrobena firmou Vaisala Oyj (Finsko). Tyto přístroje byly také kalibrovány individuálně. V tomto případě nebyly pozorovány žádné významné rozdíly mezi tovární kalibrací a laboratorní kalibrací v Clay Technology (Sandén a Nilsson, 2020).

2.3.3 Instalace experimentálních modulů

Komponenty experimentální aparatury byly zkontrolovány v laboratořích a poté byly převezeny do podzemní laboratoře Äspö HRL. Z vrtů byla vyčerpána voda a jejich spodní části byly vyplněny pískem do výšky okolo 10 cm. Potom okolo měděné trubky byly postupně položeny kroužky bentonitu (Obr. 29). Spodní část sloupce bentonitových kroužků byla pokryta směsí bentonitu a vody, tímto způsobem se zabránilo rychlému průniku vody přes mezery mezi kroužky. Každý modul byl vložen do vrtu pomocí jeřábu, tento proces trval 10–15 min.

Mezera mezi bentonitem a horninou na vstupu do vrtu byla utěsněna pomocí minerální izolace (Rockwool). Na horní část sloupce bentonitových kroužků byla položena vrstva písku (10 cm) a kabely byly svázány a uloženy do PVC trubek. Betonová zátka byla odlita na horních 10 cm vrtu. V době mezi instalací a zahájením experimentů přitékala podzemní voda do vrtů.

Několik dní po umístění modulu A1 ve vrtu vytékal bentonitový gel přes plastové trubky na betonové zátce. Karland et al. (2000) předpokládal, že příčinou byl poměrně velký přítok vody do vrtu a počáteční bobtnání bentonitu. Vrt byl pravděpodobně částečně utěsněn bobtnajícím bentonitem, což umožnilo nárůst tlaku vody a bentonit byl vytlačen přes plastové trubky. Nebyla přijata žádná opatření, protože se předpokládalo, že průtok se zastaví postupným bobtnáním bentonitu. Množství protékajícího bentonitu se postupně snižovalo a v dalších dnech se zcela zastavilo. Celková ztráta bentonitu byla přibližně 1,5 kg, což bylo považováno za zanedbatelné, protože celková počáteční hmotnost bentonitových kroužků modulu byla 361 kg.



Obr. 29 Skládání kroužků bentonitu okolo měděné trubky experimentálního modulu (Karland et al., 2000)

2.3.4 Vyjmutí experimentální aparatury z vrtů po ukončení testů (dismantling)

Před odebráním experimentální aparatury z vrtů byl postupně snižován výkon topidel, tímto způsobem se usnadnilo vyzdvižení modulů.

Moduly A1 a S1 byly odebrány s využitím jádrového vrtání (obvrtání). Ostatní moduly byly vyjmuty využitím s jádrového a nárazového vrtání. Podle Sandéna a Nilssona (2020) druhá varianta vrtání byla zvolena z ekonomických důvodů a také z toho důvodu, že nebylo nutné používat chladicí vodu (Obr. 30). Důležité bylo, aby chladicí voda nekontaminovala bentonit. Potom byly moduly vyzvednuty jeřábem a převezeny do laboratoře v Äspö.

Odběr vzorků byl zahájen po odebrání modulů z vrtů. Vrstva horniny okolo modulu byla odstraněna postupně. Kroužky pro mikrobiální analýzy byly přemístěny do anaerobního boxu v podzemní laboratoři.

Po odebrání modulu A1 bylo zjištěno, že kroužky střední části modulu zmizely. Podle Karlanda et al. (2000) mohlo dojít ke ztrátě bentonitu během vrtání okolo modulu, ale na základě

dostupné dokumentace ani z osobní práce na místě během vrtání není zřejmý podrobný scénář. Další problém, který byl pozorován, byla koroze termočlánků.

Měření vlhkosti bylo podle Sandéna a Nilssona (2020) dlouhodobě obtížné provádět, neboť čidla fungovala jen podobu, než došlo ke kontaktu s vodou.

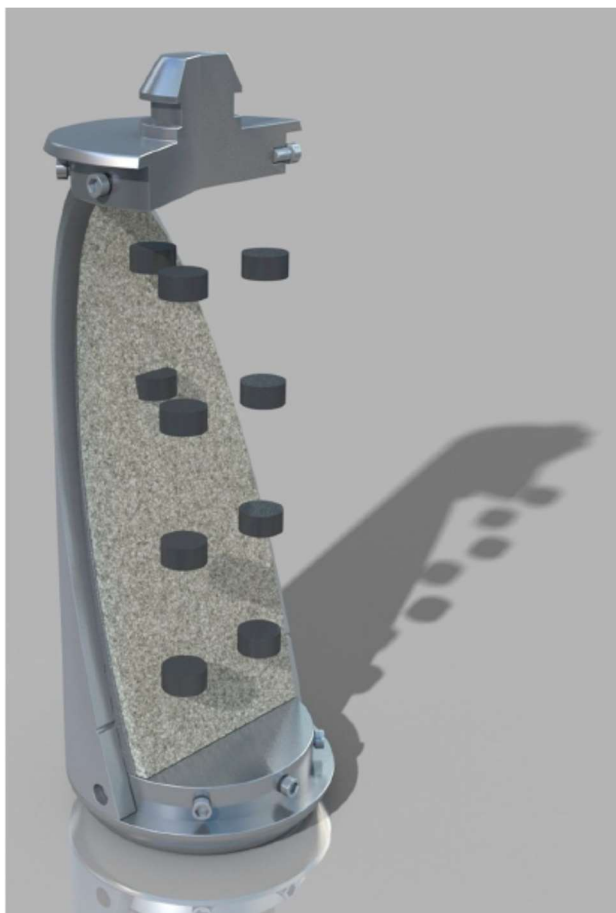


Obr. 30 Velké otvory vyvrtané jádrovým vrtáním, obklopené malými otvory vyvrtanými nárazovým vrtáním (Sandén a Nilsson, 2020)

Přestože tento experiment není primárně korozní, poskytuje další informace ke způsobu provedení in-situ experimentů, které je nutné i v případě experimentu v PVP Bukov brát v potaz. Například koroze čidel teploty, celkové utěsnění systému, ochrana kabelů, konstrukce umožňující výměnu topné části.

2.4 In-situ korozní zkouška v podzemní laboratoři Mont Terri – Švýcarsko

Tento in-situ experiment je popsán např. ve člancích Smart et al., 2017 a Reddy et al., 2020. Experiment probíhal v podzemní laboratoři Mont Terri, ve vertikálním vrtu o hloubce 15 m. Průměrná teplota se dlouhodobě pohybovala na úrovni 14 °C. Vrt byl udržován v anoxických podmínkách pomocí argonu. Do vrtu bylo umístěno 12 experimentálních modulů. Náčrtek modulu z korozivzdorné oceli je uveden na Obr. 31. Rozměry modulu jsou 250 mm výška a 126 mm vnější průměr. Každý modul obsahoval 12 vzorků z uhlíkové oceli. Modul umožňoval sycení pomocí frit ve tvaru trubky z korozivzdorné oceli.



Obr. 31 Modul použitý v podzemní laboratoři Mont Terri

Byly použity dva typy uhlíkové oceli: ASTM A694-08 F65 a 516 Gr 70. Oba materiály obsahovaly velmi nízké množství nečistot. Obě oceli byly použity v kovaném stavu i jako svar (provedený elektronovým paprskem s následným žíháním na 600 °C/4h). Rovněž byly exponovány vzorky galvanicky vyloučené mědi a mědi ve formě cold-spray nástřiku. Před expozicí byla na kovových vzorcích provedena povrchová úprava brusným papírem P120 (finální hrubost R_a 0,5). Vzorky byly umístěny v bentonitu MX-80, který byl použit ve 3 variantách kompaktizace:

- kompaktizace na 1250 kg m⁻³
- kompaktizace na 1550 kg m⁻³
- směs pelet a prášku o průměrné kompaktizaci 1450 kg m⁻³ (homogenita kompaktizace výsledné směsi nemusí být dokonalá)

Saturace před experimentem probíhala v anoxickém syntetickém roztoku Opalinus Clay po dobu 10 dní. Důvod předsycení modulů spočíval v omezení difúze kyslíku do modulů při vkládání do vrtu. Pro transport byly moduly umístěny do 3 vrstev polymerní fólie Mylar s hliníkovou vložkou. Po instalaci byl pro utěsnění použit pakr 2,5 m. Expozice je plánována až na 10 let. V současnosti jsou publikovány výsledky zatím přibližně z tříletých expozic.

Po skončení expozice jsou vybrané moduly vyjmuty, v Mylarových fóliích opět transportovány zpět do laboratoře, kde jsou rozebrány v anaerobním boxu. Následně byly provedeny analýzy korozních produktů (SEM, Raman), bentonitu (XRD) a mikrobiologické analýzy. Kovové vzorky pro stanovení hmotnostních úbytků byly mořeny v Clarkově roztoku. Vzorky bentonitu pro mikrobiální analýzu byly odebrány pomocí sterilních nožů do Mylarových pytlíků a udržovány

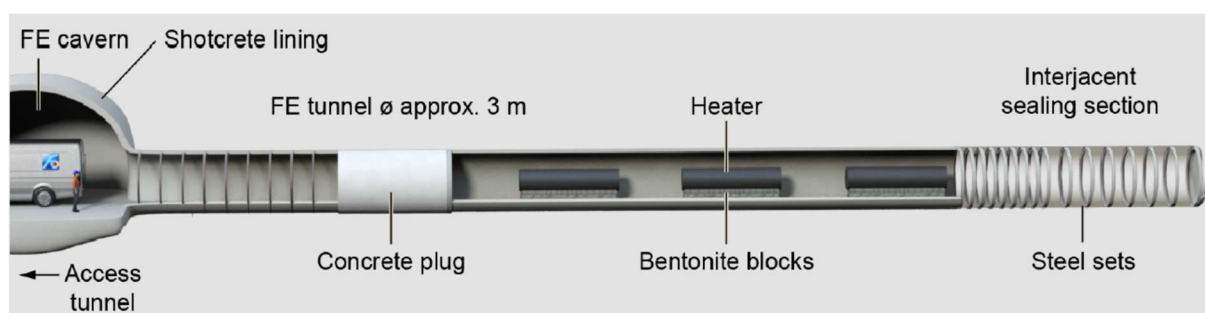
po dobu transportu při teplotě 4 °C. Poté byly provedeny kultivační testy a qPCR analýzy. Pro kultivace byly vzorky ředěny ve fosfátovém roztoku (PBS) v poměru 100 až 10⁻³. Heterotrofní mikroorganismy byly kultivovány s pomocí média R2A (anaerobní při 30 °C po dobu 3 dní; anaerobní při 30 °C/28 dní). SRB byly kultivovány s pomocí média Postgate B při 30 °C/71 dní.

Toto experimentální uspořádání je „relativně“ jednoduché, neboť systém není ohříván a také není nutné vyvádět ven z vrtu žádnou kabeláž. Jak je uvedeno i v textu, pro omezení difúze kyslíku při instalaci do vrtu bylo provedeno předsycení modulů. V rámci přípravy experimentu v PVP Bukov je možné zvážit i použití Mylarových fóliích při transportu.

2.5 Full-scale Emplacement Experiment at Mont Terri – Švýcarsko

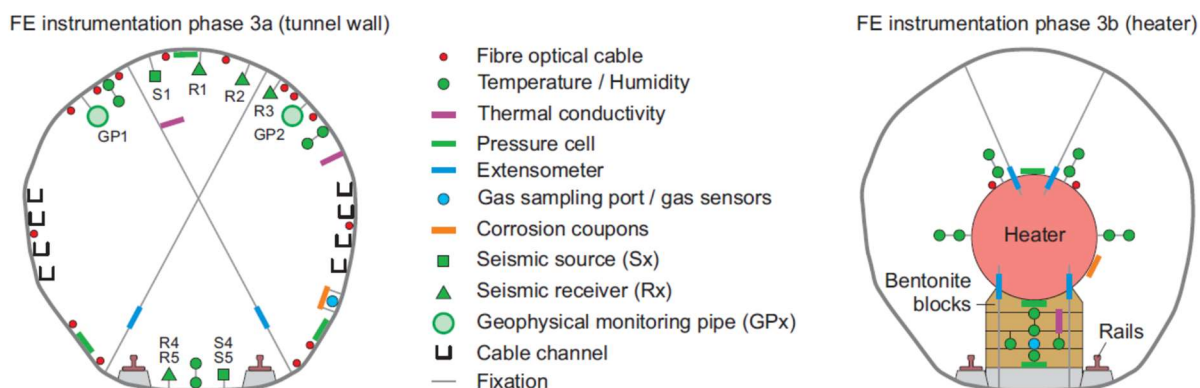
Další z in-situ experimentů zahrnující jako vedlejší i korozní testy, je „full-scale“ experiment v podzemní laboratoři Mont Terri (Nagra 2019). Tento experiment je zaměřen na ověření možností ukládání v reálných rozměrech, ale součástí je rovněž rozsáhlý monitoring vývoje podmínek po uložení.

Rozměry jsou patrné z Obr. 32. Délka tunelu je 50 m, vnější šířka 3 m a vnitřní šířka (s betonovou podporou) 2,5 m. Podpora i zátka o délce 5 m jsou z nízkoalkalického betonu. Místo kovových ukládacích obalových souborů (UOS) byly ukládány „pouze“ zavažené ocelové trubky s vnitřním topením. Ty mají nižší hmotnost (5000 kg) ve srovnání s reálným UOS (cca 20000 kg). Tyto topící elementy jsou uloženy na bentonitových blocích a zasypany peletami se suchou objemovou hmotností 1450 kg m⁻³ odpovídající po nabobtnání přibližně původní suché objemové hmotnosti 1350 kg m⁻³.



Obr. 32 Ilustrační obrázek experimentu Full-scale Emplacement Experiment at Mont Terri

Monitorovací systémy jsou souhrnně uvedeny na Obr. 33. Mimo jiné, jsou umístěny i korozní kupony na dvou místech: na povrchu UOS a u stěny tunelu. Na každé pozici je umístěno 5 kuponů každého kovu. Použitými materiály jsou uhlíková ocel, tvářená měď, galvanicky vyloučená a cold-spray stříkaná měď.

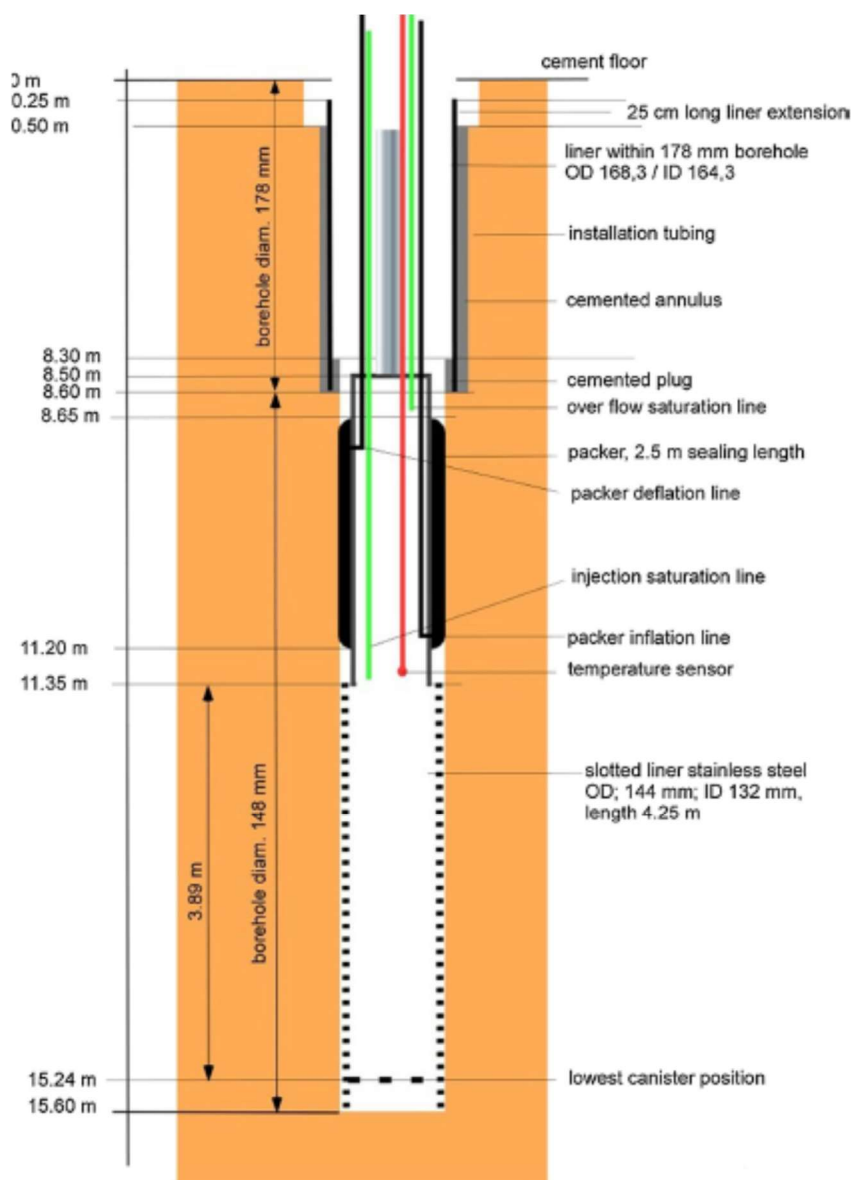


Obr. 33 Monitorovací systémy

V současné době neuplatníme poznatky z tohoto experimentu pro návrh aparatury do PVP Bukov, nicméně technické řešení instrumentace a případné dlouhodobé chování měřících systému může být uplatnitelné, pokud budou k dispozici nějaké poznatky v čase případné opce na další moduly v PVP Bukov.

2.6 Mezinárodní in-situ korozní zkouška v podzemní laboratoři Mont Terri

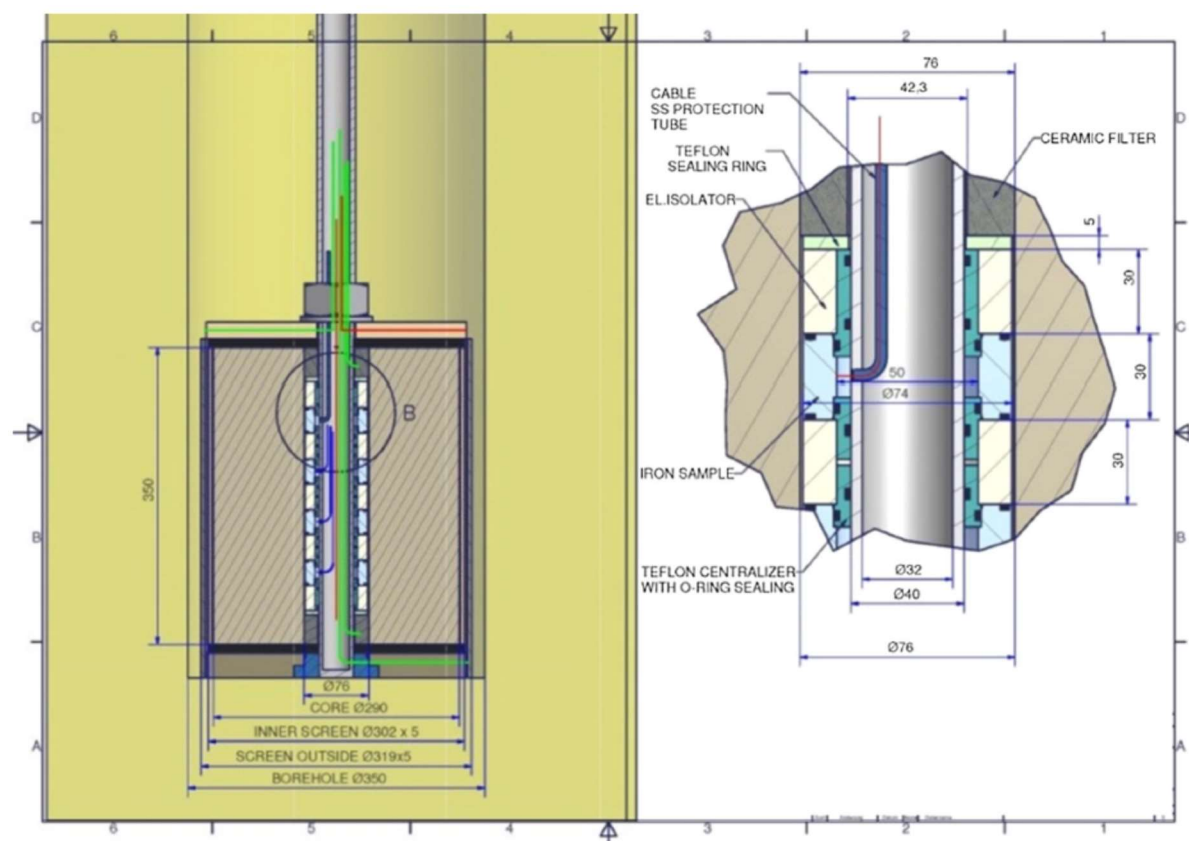
Tento in-situ experiment se překrývá s experimentem popsáním v kapitole 2.4 a probíhal rovněž v podzemní laboratoři Mont-Terri (Necib et al., 2017). Podmínky, experimentální uspořádání i metody hodnocení jsou u první varianty experimentu shodné se švýcarskými experimenty (tento experiment je francouzský). Za zmínku stojí některé experimentální detaily, které se ve švýcarských publikacích neobjevily. Jednou je uspořádání experimentu ve vrtu, viz Obr. 34.



Obr. 34 Uspořádání experimentu ve vrtu

Rozdílem oproti švýcarským experimentům je rovněž neúplné nasycení bentonitu před transportem pomocí anoxického syntetického roztoku Opalinus Clay. Bentonit v celách byl v anaerobním boxu nasycen pouze na 90 % a poté transportován v Mylarových foliích. Vrt byl poté kvůli nízkému přítoku podzemní vody (44 ml/den) doplněn anoxickým syntetickým roztokem Opalinus Clay o objemu 10 l.

Druhá varianta experimentů je odlišná. Jednalo se o moduly se vzorky (výška 200 mm a průměr 76 mm), které byly umístěny ve vrtných jádrech horniny Opalinus Clay (válec o výšce 350 mm a průměru 290 mm). Na modulech byly umístěny jednotlivé vzorky (elektrody) z testovaných materiálů: uhlíková ocel (2 typy – E24 a S235), korozivzdorná ocel (AISI 316 = EN 1.4401) a niklové slitiny Inconel 690. Nákres modulu je na Obr. 35.



Obr. 35 Ilustrační obrázek druhého typu experimentu v Opalinus Clay

Cely z korozivzdorné oceli obsahující moduly s vrtným jádrem byly umístěny na dno vrtů do hloubky 8 m. Cely umožňovaly komunikaci s okolním prostředím skrze trubkový nástavec ve víku cely, ve kterém procházely kabely i trubičky pro rozvod a sběr roztoku. Cirkulaci pórového roztoku bylo umožněno vytápění a analýzy roztoku (pH, $E_{RED/OX}$, vodivost). Cely byly ponechány po dobu 2 let na okolní teplotě a následně byly 5 let zahřívány. Cirkulující roztok byl zahříván na 90 °C, což znamenalo 85 °C ve středu trubky v cele a 70 °C na stěně cely. Korozní rychlost byla kontinuálně sledována pomocí EIS (± 10 mV/ E_{KOR} ; 1 kHz až 10 uHz; 10 bodů na dekádu). Po ukončení a rozebrání v anaerobním boxu byly elektrody hodnoceny pomocí SEM, Raman a XRD. Mikrobiální analýza vody i stěrů z kovových vzorků zahrnovala oproti dříve zmíněným kultivačním metodám i kultivaci termofilních kmenů SRB při teplotě 60 °C.

Z hlediska přípravy experimentu v PVP Bukov je tento experiment (druhá část) příliš specifický, resp. zaměřený na elektrochemické metody. Otázkou je, do jaké míry je zajištěna těsnost systému (vůči difúzi kyslíku) při cirkulaci podzemní vody a zda nedochází k ovlivnění mikrobiální komunity.

2.7 The Material corrosion test MaCoTe – Švýcarsko

The Material Corrosion Test (MaCoTe) je mezinárodní experiment ve švýcarské podzemní laboratoři Grimsel Test Site, která je umístěna v granitoidním prostředí. Partnerem projektu je i SÚRAO, které zajišťuje topící korozní zkoušku ve spolupráci s ÚJV Řež, a. s.

Projekt MaCoTe je rozdělen na dvě hlavní oblasti. V první oblasti je prováděna korozní zkouška stejným způsobem jako v podzemní laboratoři Mont Terri viz. Kapitola 2.4, tedy bez topení, kdy jsou moduly se vzorky (Obr. 31) umístěny v jednom vrtu. Poznatky přenositelné pro přípravu v PVP Bukov jsou obdobné jako v případě experimentu v Mont Terri. Druhá oblast, kterou představuje korozní zkouška při zvýšené teplotě (70 °C na vzorcích) je detailně popsána ve zprávě Dobrev et al. 2020. Vzhledem k tomu, že tuto část zaštiťuje SÚRAO, odkazujeme čtenáře na zmíněnou zprávu a zde budou uvedeny jenom aktuální poznatky k technickému řešení, které je nutné brát v potaz pro přípravu korozní zkoušky v PVP Bukov.

Na základě získaných zkušeností s celým systémem můžeme konstatovat následující:

V případě použití mechanických pakrů je potřeba, aby koncová vnitřní trubka byla dostatečně dlouhá (i závit), aby bylo snadné nasadit utahovací matici, a dále, aby závit umožňoval dostatečné utažení bez nutnosti přidání dodatečných distančních segmentů.

Je potřeba v rámci rozrážky předpřipravit kotvící segmenty nad vrty pro připevnění manipulačních prostředků (vrátek).

Topný systém musí být navržen tak, aby bylo možné ho vyměnit v případě poruchy.

Regulátory teploty je po definovaném časovém intervalu nutné vyměnit za nové, bez ohledu na aktuální funkčnost, pokud obsahují elektromagnetické relé.

V případě použití elektromagnetických relé v rámci systému topení je nutné tyto prvky opět vyměnit po definované době.

Materiál kabelů by měl být speciálně vybírán pro podmínky v PVP Bukov.

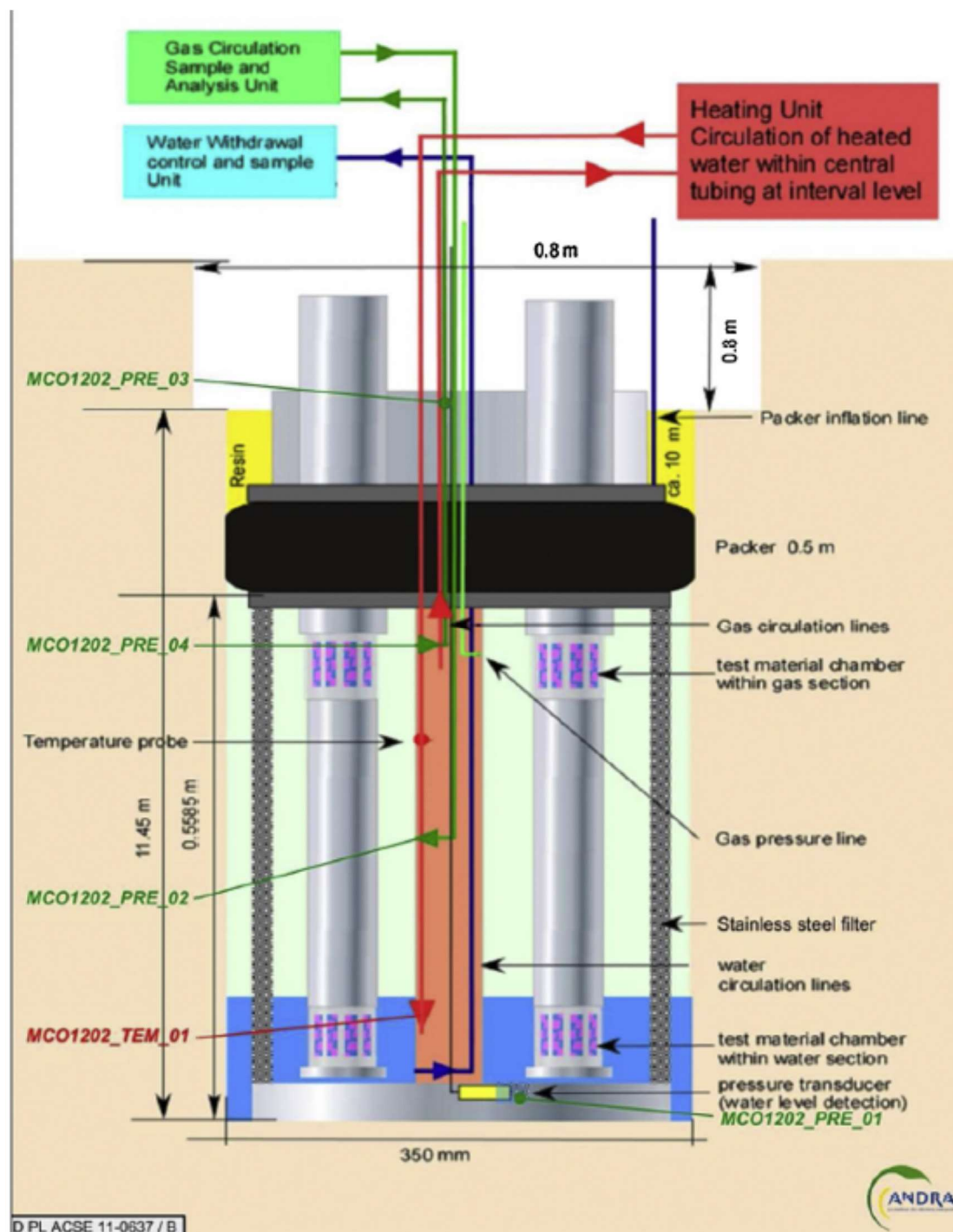
Moduly se vzorky by měly být navrženy tak, aby byly snadno rozebíratelné v rukavicovém boxu.

Konstrukce aparatury ve vrtu by měla minimalizovat použití polymerů, kaučuků a dalších organických látek.

Systém by měl umožňovat kontrolu tlaku pod pakrem.

2.8 In-situ korozní zkouška v podzemní laboratoři Meuse/Haute-Marne – Francie

Tento experiment probíhal v podzemní laboratoři Meuse/Haute-Marne v hornině Calovo-Oxfordian Claystone po dobu 2,5 roku (Necib et al., 2016, 2017). Byly vyvrtány vrty o délce 12 m a šířce 350 mm. V anoxických podmínkách byly vrty udržovány na rozdíl od výše zmíněných experimentů pomocí dusíku. Experimentální uspořádání je naznačeno na Obr. 36.



Obr. 36 Experimentální uspořádání v podzemní laboratoři Meuse/Haute-Marne

Stěny cely tvoří fritra z korozivzdorné oceli. V cele jsou umístěny držáky z PEEK s kovovými vzorky a přívodní trubka pro cirkulaci roztoku a plynu. Roztok byl zahříván na 100 °C, teplota uvnitř cely byla 85 °C. Vzorky byly umístěny ve 2 polohách: pod hladinou roztoku a v plynné fázi. Rovnováha mezi tlakem plynu a zkušebního roztoku umožnila jen částečné naplnění cely. Kovové vzorky byly všechny z uhlíkové oceli. Byly použity 3 typy ocelí: A37, SA516 Grade 60 a P235. Všechny oceli s velmi nízkými obsahy nečistot, pouze s odstupňovaným obsahem Cu.

Kromě metod popsaných u experimentů výše byl u tohoto experimentu stanoven obsah Fe kationtů v roztoku. Společně s měřením pH pak vedly tyto analýzy k vysvětlení poklesu pH na

úroveň 4, vlivem oxidativního rozpouštění pyritu z okolní horniny a zrychlenému rozpouštění železa z oceli v tomto kyselém prostředí, které však trvalo pouze omezený čas expozice. Průběžné analýzy Fe kationtů mají při in-situ experimentech značný význam a vyplatí se o ně doplnit běžná jednoduchá měření pH, Eh a vodivosti.

2.9 Podzemní laboratoř v Rusku

Informací o plánech a strategiích ukládání RAO v Rusku je málo. Rusko se většinou neobjevuje v přehledových zprávách a rešerších. Je to pravděpodobně dáno nižší dostupností informací a jazykovou bariérou. V poslední dekádě se v Rusku evidentně zvýšila aktivita s cílem vybudování hlubinného úložiště.

Už v roce 1995 je zmiňován v článku (Bridges, 1995) problém s bezpečným ukládáním radioaktivních odpadů kvůli omezené kapacitě meziskladů a nedostatku zařízení pro přepracování. Tlak zvyšují také vojenská jaderná zařízení. Ruské námořnictvo tradičně řešilo prakticky všechny své radioaktivní odpady likvidací v moři. Mnoho oblastí Barentsova moře, Koly a Japonského moře je silně kontaminováno. Diskuze o legislativním podchycení jaderné energie začala ve vedení státu až v roce 1993. Radioaktivní odpad přichází také z ostatních bývalých republik SSSR, a to přesto, že to zákon z roku 1991 (revize 1993) zakazuje, což umožnil prezidentský dekret v roce 1993. Tento dekret také zakázal ukládání radioaktivního odpadu do moře (26. 6. 1993). Přesto došlo rozhodnutím Ministerstva životního prostředí v roce 1993 k likvidaci 900 m³ pevného a kapalného radioaktivního odpadu vojenského původu shozením do Japonského moře 105 mil od Vladivostoku.

Hlavními zdroji radioaktivního odpadu v Rusku jsou:

1. Těžba a zpracování rud (U, Th)
2. Jaderné elektrárny
3. Výroba jaderných zbraní a testování
4. Výzkum

Obrovskou zátěží jsou vojenská zařízení. Například jenom na poloostrově Kola bylo 324 jaderných reaktorů. Hlavní zařízení pro výrobu jaderných zbraní byla vybudována nedaleko Tomsku, Krasnojarsku a Čeljabinsku (Mayak). Čtvrtá lokalita Arzamas-16 je méně známá. Každé z těchto zařízení prošlo určitou transformací k civilnímu využití. Továrna Tomsk 7, spouštěná v roce 1958, byla se svými 5 reaktory největším zpracovatelem jaderného paliva v SSSR. Do roku 1990 vyrobila 33 milionů m³ kapalného a 127 000 tun pevného radioaktivního odpadu. Tento odpad byl pravděpodobně uložen do písčitého podloží asi 10 km od řeky Ob (Peterson, 1993).

Zařízení Krasnojarsk-46 na řece Jenisej vyrábělo plutonium od 50. let 20. století. Podle Jablokova byla chladicí voda ze dvou reaktorů odváděna přímo do řeky (Yablokov, 1992). Je známé také zamoření řeky Ob zařízením Mayak (Chelyabinsk-40) (Peterson 1993), které se projevilo až tisíce mil daleko v Severním ledovém oceánu. Řeka byla částečně oplocena a 7000 lidí evakuováno. Odpad byl pak sváděn do jezera Karachaj. V důsledku sucha hladina klesla, vznesl se radioaktivní prach, který zamořil plochu 2000 km². V 90. bylo dokonce zvažováno pokrytí celé plochy jezera betonem.

Zařízení Mayak přijalo přes restriktce za cenu 820 tis. GBP/tunu vysoce aktivní odpad pro vitrifikaci z Maďarska (Mironova, 1994).

Známé je ukládání radioaktivního odpadu vyprodukovaného Ruským námořnictvem do Barentsova a Karského moře (Obr. 37).

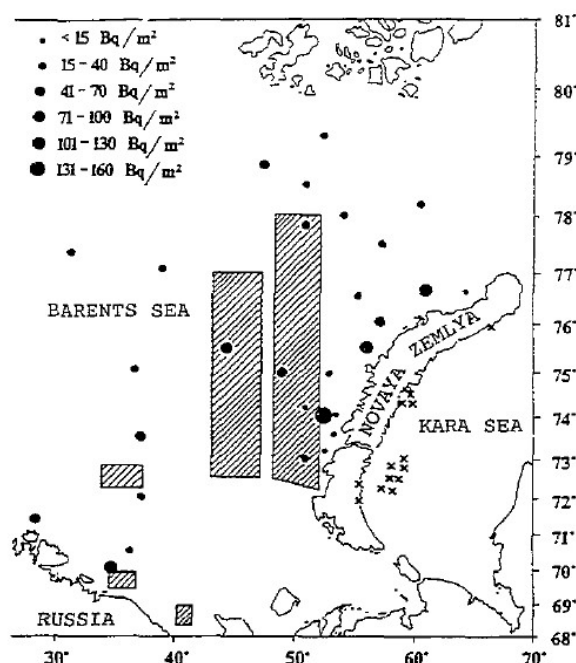
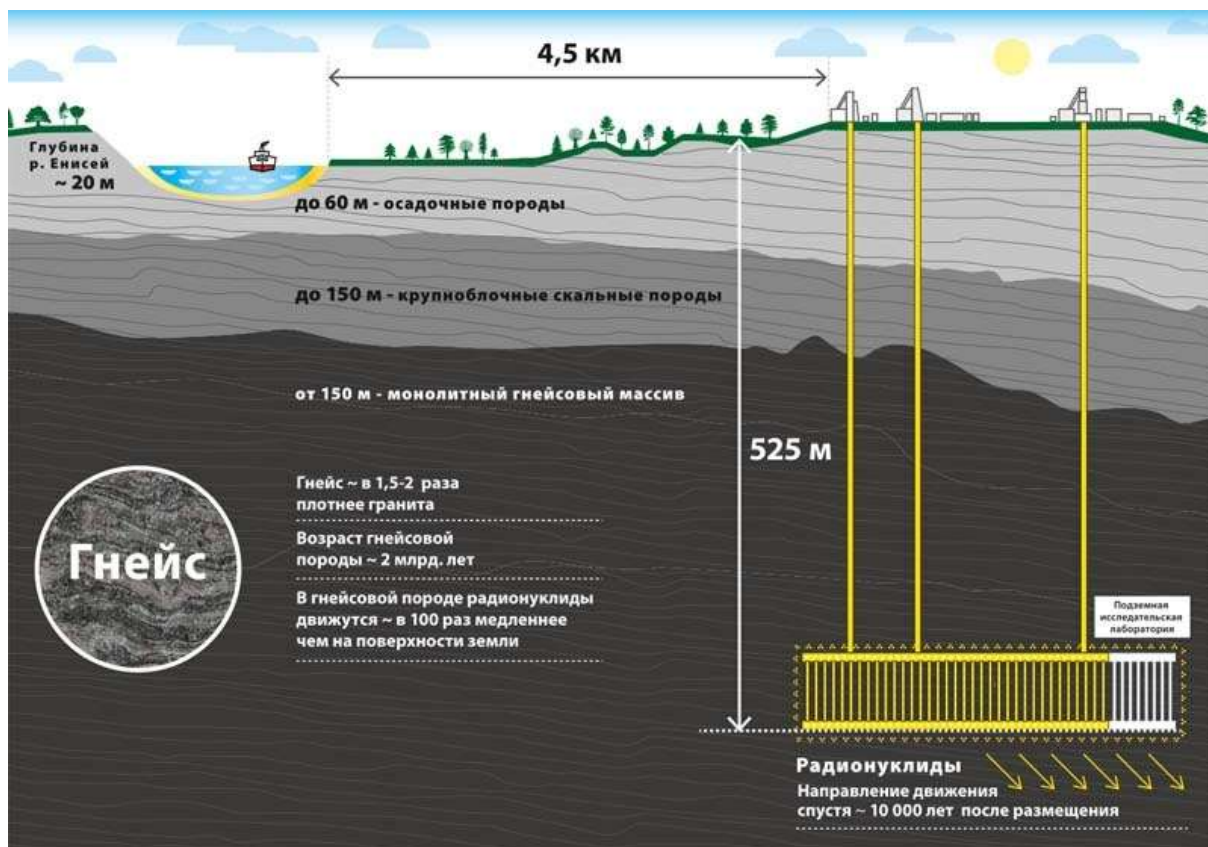


Figure 1. Sites of radioactive waste disposal in Barents and Kara seas. Adapted from Foyt (1994). ●: sediment; x: deposits of solid waste; hatched areas: deposits of liquid waste.

Obr. 37 Odpady v Barentsově a Karském moři

Existují tvrzení, že v letech 1964 až 1990 bývalý Sovětský svaz vyložil 17 000 kontejnerů s jaderným odpadem a 15 reaktorů z jaderných ponorek do vod Barentsova a Karského moře.

V roce 2012 byl založen NO RAO (Национальный оператор по обращению с радиоактивными отходами), dceřinná společnost ROSATOMu a státní organizace pověřená řízením zacházení a konečného uložení radioaktivního odpadu. První úložiště již bylo uvedeno do provozu v Novouralsku, několik dalších zařízení je ve výstavbě poblíž míst pro vytváření a skladování radioaktivních odpadů (v Ozersku, Seversku atd.). Všechna tato úložiště jsou určena pro radioaktivní odpady 3 a 4 třídy – středně a nízkoaktivní odpady. Pro ukládání vysoceaktivního odpadu bylo zvoleno vhodné místo v Nižnekanském masivu (NKM), 6 km od města Zheleznogorsk a 4,5 km od řeky Jenisej (Obr. 38). Vznikl zde komplex, který umožňuje kompletní zpracování radioaktivního odpadu na jednom místě s cílem eliminovat rizika v souvislosti s dopravou na dlouhé vzdálenosti a snížit náklady. Mining and Chemical Complex (MCC) (Горно-химический комбинат, ГХК – Zheleznogorsk) zřejmě nahrazuje zařízení Mayak (RT-1) pro přepracování odpadu. MCC umožňuje skladování kapalného i pevného odpadu, přepracování a výrobu paliva pro lehkovodní a rychlé reaktory a nakonec by v komplexu měla být vybudována podzemní laboratoř pro výzkum ukládání vysoce aktivního odpadu. Komplex by měl být plně funkční do roku 2035 (<https://www.iaea.org/newscenter/news/under-one-roof-russias-integrated-strategy-for-spent-fuel-management>).



Obr. 38 Schéma hlubinného úložiště v Nižněkamském masivu (Abramov, 2017)

Autoři deklarují (Abramov, 2017), že práce v Ruské federaci na vytvoření pilotního závodu a studie na podporu bezpečného podzemního ukládání radioaktivního odpadu na tomto místě se provádějí v souladu s mezinárodními doporučeními a pokročilými analogiemi. Lokalita pro podzemní laboratoř byla zvolena na základě průzkumných vrtů do hloubky 700 metrů provedených do roku 2012. V současnosti (2013–2029) probíhají inženýrské a geologické průzkumy, návrh pilotních linek, matematické modelování a terénní studie ke zlepšení implementace dopravních a technologických operací pro nakládání s radioaktivním odpadem v podzemních podmínkách, komplexní studie těžby a geologických a hydrogeologických charakteristik horninového masivu, laboratorní studie vzorků hornin a podzemních vod v interakci s roztoky radionuklidů a matematické modelování k prokázání dlouhodobé bezpečnosti. Licence na umístění a výstavbu podzemní laboratoře byla udělena v roce 2016.

S odkazem na soulad s mezinárodními standardy si ruská podzemní laboratoř klade za cíl provést:

- objasňující studie charakteristik hostitelského horninového masivu, potvrzující jeho vhodnost pro trvalé bezpečné uložení HLW a IDW (investigation derived waste);
- výzkum a doložení izolačních vlastností systému inženýrských bariér;
- vývoj technických řešení a dopravních a technologických systémů pro výstavbu a provoz budoucího zařízení pro trvalé uložení radioaktivních odpadů;
- doložení dlouhodobé bezpečnosti s přihlédnutím k izolačním vlastnostem inženýrských a přírodních bariér.

Řada výsledků k těmto cílům, zejména k tomu prvnímu, už byla publikována (Abramov, 2017). Vyzdvihovány jsou zejména výsledky dlouhodobých studií provedených v rámci mezinárodní smlouvy financované EU, USA a Japonskem. Výsledky tohoto výzkumu jsou prezentovány v

závěrečné zprávě (Gupalo, 2001) a na pracovních setkáních se specialisty z podzemních laboratoří ve Švédsku, Švýcarsku, Japonsku a také na mezinárodních konferencích. Cenné jsou zejména výsledky terénních experimentů, protože podle autorů v žádné jiné podzemní laboratoři na světě neproběhly a patrně nikdy nebudou provedeny studie chování horninových masivů v podmínkách dlouhodobého tepelného působení velkoplošných zdrojů tepla.

Studium korozního chování kovových obalů se v plánech na využití podzemní laboratoře výslovně nezmiňují. Pokud se s nimi počítá, tak jsou obsaženy v cílech formulovaných např. jako optimalizace návrhu systému inženýrských bariér a izolačních vlastností materiálů při vytváření inženýrských bariér pro různé druhy ukládaného radioaktivního odpadu k zajištění dlouhodobé bezpečnosti. Trochu konkrétněji je tento cíl rozveden v novější publikaci Abramova (Abramov, 2020), kde je v rámci chování inženýrských bariér zmíněna i biochemická charakteristika, cit. provádění terénních experimentů za účelem studia chování materiálů a struktur inženýrských bariér v podmínkách co nejbližší skutečným s přihlédnutím ke všem ovlivňujícím faktorům, včetně: tlakového a tepelného zatížení, geochemických a biochemických charakteristik masivu a podzemních vod, změn ve stavu masivu při stavebních a těžebních operacích. Jako dílčí cíl v rámci mikrobiologických a geochemických experimentů je výslovně uvedeno studium vlivu mikrobiologických procesů na korozi kovových inženýrských bariér. Autoři si uvědomují důležitost tohoto aspektu a bude přínosné sledovat výsledky jejich výzkumu v příštích letech.

Náplň výzkumu v podzemní laboratoři je směřována zejména geologickým směrem, probíhají geodynamické výzkumy (Tatarinov, 2019).

Zdá se, že jiné než geologické výzkumy jsou zatím ve fázi plánů, aspoň jak lze soudit z nedávných publikací. Plán biogenních zkoušek vychází z představy, na jakých površích a jaké materiály obalového souboru mohou biogenní procesy ovlivnit (Obr. 39). Budou sledovány tyto procesy:

- vývoj plynů (methan, CO₂)
- zvyšování korozní rychlosti oceli v důsledku tvorby korozních stimulátorů (sulfidů, kyselin, komplexotvorných látek)
- vznik metabolitů tvořících komplexní sloučeniny s radionuklidy
- chemické změny geochemického prostředí (změna makrochemických parametrů vody, pH, Eh)
- změny v mobilitě radionuklidů
- změny vlastností jílových inženýrských bariér

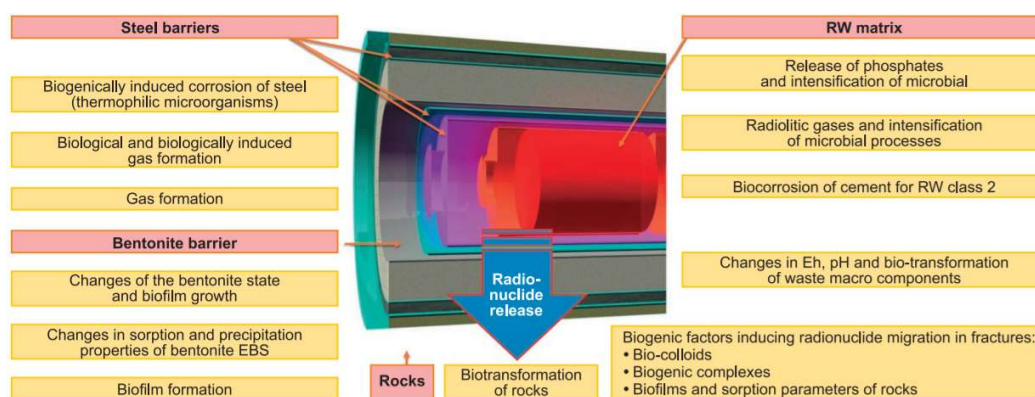


Figure 1. Areas of biogenic processes assumed under super-container design for RW Class 1 disposal in the NKM repository

Obr. 39 Předpokládané oblasti biogenních procesů v rámci superkontejneru uvažovaného pro ukládání vysoceaktivního odpadu v lokalitě Jenisejskij v Nižněkamském masivu (Safonov, 2019)

Experimentální program v podzemní laboratoři v lokalitě Jenisejskij v Nižněkamském masivu lze tedy shrnout do těchto bodů (Safonov, 2019):

- Složení a fyziologická diverzita mikrobiologického osídlení v krystalickém horninovém masivu
- Korozní procesy v přítomnosti a za přispění žijící mikroflory za anaerobních podmínek
- Vlivy spojené s ozářením mikroflory
- Mikrobiální aktivity v materiálu bariéry v podmínkách úložiště se zaměřením na SOB, SRB, FOB a FRB
- Změny v sorpčních a difúzních vlastnostech horniny v případě přítomnosti mikrobiálních filmů
- Procesy vzniku bio-koloidů
- Vliv výluhů z matrice radioaktivního odpadu na biogenní procesy
- Hodnocení dopadu původní mikroflory na systém bariér a přenos radionuklidů
- Hodnocení vlivu zavlečení nepůvodní mikroflory na funkce a vlastnosti inženýrského bariérového systému a přenosu radionuklidů.

Výzkum bude zaměřen na podloží a materiály inženýrských bariér: bentonit, materiály obalového souboru (zřejmě kovové, zřejmě nelegované ocel), matrice použitá pro imobilizaci radioaktivního odpadu (zřejmě borosilikátové sklo).

V roce 2020 byla ve fázi plánování experimentů také oblast výzkumu zaměřené na vlastnosti bentonitu (Krupskaja, 2020). Krupskaja jako jediná popisuje uložení kovových vzorků v in-situ experimentu, nikoliv ale z důvodu primárně sledovat korozní rychlost kovů, ale sledovat ovlivnění bentonitu plynem (vodíkem) uvolňovaným při korozi, jeho stabilitu a erozi. Plánovanými experimenty v této oblasti jsou:

- Studovat chování bentonitové bariéry v kontaktu s kovovým obalovým souborem pod vlivem teploty za přítomnosti modelové pórové vody (parametry bobtnání, tepelná stabilita, transformace v kontaktní zóně)
- Analyzovat transformaci bentonitu vybraného v projektové dokumentaci podle hlavních parametrů (bobtnací tlak, tepelná stabilita, ukazatele fyzikálních, mechanických a filtračních vlastností)
- Studovat vývoj materiálů na rozhraní bentonit – kov, bentonit - výplňový materiál prostoru mezi stěnami vrtu (bentonitové granule, tixotropní skluz atd.)

- Identifikovat potenciální slibné alternativní materiály – bentonity různých ložisek, jílové směsi různých složení, bentonitové granule z materiálu z různých ložisek, materiály na bázi směsi bentonitu a hornin
- Určit korozní rychlost materiálů inženýrských bariér – kovová nádoba, bentonit, beton, tixotropní skluz, alternativní nárazníkové materiály v podmínkách PGZRO
- Identifikovat rysy procesů vyskytujících se na pomezí různých IBB materiálů

In-situ zkoušky budou realizovány pomocí vyhřívaného modulu uloženého v prstencích lisovaného bentonitu (Obr. 40). Plánuje se instalace dvou modulů a dvou systémů bentonitových prstenců různého složení a také potenciálních alternativních tlumivých materiálů (ve 3 až 5 replikátech). Teplota ohřevu by měla být určena na základě výpočtu podle uvolňování tepla z obalových souborů s HLW, stanoveného projektem. Autoři se zřejmě odkazují na projekty Švýcarska a Švédska a uvádějí, že v podobných experimentech byla uvažována teplota 130–150 ° C. Voda je dodávána čerpacím zařízením. Prostor mezi stěnami vrtů a moduly je vyplněn pískem. Do tohoto prostoru je čerpána podzemní nebo modelová voda a má tím být zajištěno rovnoměrné bobtnání bentonitu. Řada čidel bude poskytovat data o vývoji teploty a vlhkosti bentonitu. Experiment potrvá 5–7 let. První výsledky budou k dispozici po 3 letech.

Typ bentonitového pufry a alternativní materiály, parametry vlastností a parametry zhutnění pro získání optimálních vlastností (tlak bobtnání, odolnost proti smyku atd.) zřejmě v době publikování tohoto článku nebyly známy. Bylo konstatováno, že budou vybrány na základě předchozího laboratorního výzkumu.

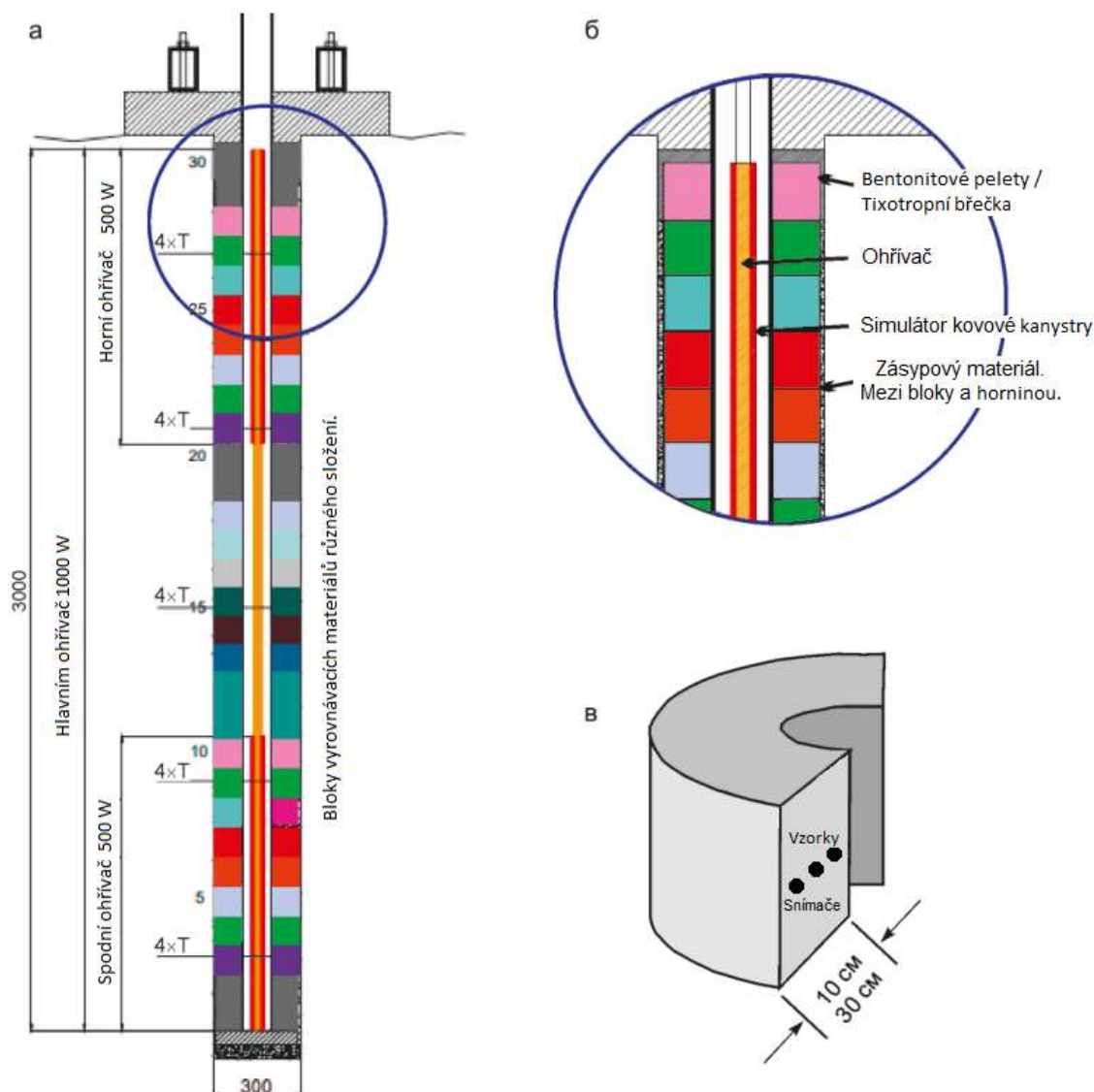


Schéma experimentu v rámci projektu "ThermoEvolution": A – Schéma umístění bloků a ohřivače ve vrtu. B – Zvětšený fragment vzájemného umístění ohřivače a materiálů inženýrských bezpečnostních bariér (IBB). C – Plánované umístění snímačů v blocích ztuhlého bentonitového materiálu.

Obr. 40 Schéma experimentálního uspořádání

Uvolňování plynu, například v důsledku koroze ocelového obalu, mikrobiální aktivity, rozpouštění kalcitu přítomného v bentonitu, nebo zahřívání okolního horninového masivu se považuje za faktor, který může ovlivnit kvalitu bentonitu. K tomu účelu bude exponován modul podobný tomu, který je popsán výše a jehož schéma je na Obr. 41 (pozn. autorů – obrázek představuje švýcarský modul použitý v podzemních laboratořích Mont Terri a Grimsel Test Site). Trvání experimentů je 5–10 let. V modulech a v okolní hornině jsou umístěna čidla teploty a tlaku plynu. Během experimentu by měl být prováděn kontinuální sběr vzorků plynu a složení by mělo být analyzováno. Cílem tohoto experimentu je:

- Odhalení vlivu plynu při korozi kovové nádoby na vlastnosti bentonitového pufru,
- analýza tvorby možných cest migrace plynu v bentonitovém pufru,
- analýza rizik poškození v případě příliš nízké propustnosti plynu pro vyrovnávací paměť,
- analýza důsledků potenciální dehydratace bentonitového pufru během tvorby plynu,

- studium a srovnání mechanismů vlivu tvorby plynu na vlastnosti alternativních tlumivých materiálů.

Jak lze těchto cílů dosáhnout s uvedeným modulem (Obr. 41) autoři neuvádějí.



Рис. 8. Схема лабораторных экспериментов по взаимодействию на границе бентонит – материал металлической канистры с ВАО/ОЯТ

Obr. 41 Modul se vzorky – obrázek převzat z Nagry (<https://www.grimsel.com/gts-phase-vi/macote-the-material-corrosion-test/macote-introduction>)

3 Mikrobiologické metody

3.1 Obecný úvod

Ve světě existuje několik základních přístupů k problematice budoucího úložiště pro vyhořelé jaderné palivo, a to dle zemí, které jako první začaly s potřebným testováním a modelováním pro jeho budoucí úspěšné vybudování (a disponují podzemní laboratoří). Přestože se tyto přístupy ve svých detailech liší (např. typ použitého kovu, typ bentonitu, charakter horninového prostředí), obecný princip, tj. použití obalového souboru a těsnícího materiálu (bentonit, případně betonu/cementu) v rámci celého souboru a jeho uložení hluboko pod zem, jsou shodnou základní charakteristikou všech těchto přístupů. Z toho vyplývá, že přestože se výsledky použitých metod pro zjišťování případné mikrobiologické hrozby budou mezi přístupy nutně lišit, bude zároveň použitá metodická paleta mezi přístupy porovnatelná. Samotné výsledky hodnocení mikrobiální aktivity se nadto mohou lišit i pro zcela shodně nastavené systémy. Ačkoliv jsou hlubinné ekosystémy považovány za stabilní, k dramatické změně mikrobiologických parametrů může postačit změna jediného geochemického parametru (např. Pedersen et al., 2014).

Obecně lze také shrnout, že metody využívané k mikrobiologickému průzkumu v této oblasti podléhají aktuálnímu prudkému rozvoji nových detekčních metod. Novější studie se tak snaží v rámci zpřesňování výsledků optimalizovat a využívat nově etablované metody, a to zejména molekulárně-genetické. Nové metody jsou postupně implementovány nejdříve jejich nasazením a ověřením v laboratorních studiích a až následně se pomalu prosazují v in-situ experimentech. Na tomto místě je třeba zopakovat jeden z výstupů nedávné zprávy TZ 552/2021 (Černá et al., 2021) v podobě doporučení. Tedy, že rozsáhlejším in-situ experimentům, jako je i nový Pilotní korozní experiment v PVP Bukov, by měly vždy předcházet dílčí zakázky zaměřené na otestování a optimalizaci nezbytných metodických postupů tak, aby v reálných dlouhodobých experimentech bylo možné získat skutečně kvalitní data. To platí pro všechny metodické postupy, které nejsou v současnosti rutinně používány, a odpovídá to dobré praxi ze zahraničí, kde je část projektů (i mnohaletých) zaměřena výhradně na optimalizaci těchto postupů. Je to jediný způsob, jak získat kvalitní mikrobiologická data, která mohou být použita při plánování HÚ.

Závěrem je třeba zmínit, že při výběru optimální metodiky pro plánovaný experiment je potřeba vždy zvažovat riziko případných mikrobiálních kontaminací. Ty představují všudypřítomný problém, neboť k nim dochází i při maximální obezřetnosti (např. S. Stroes-Gascoyne et al., 2011) a mohou výsledky experimentu výrazně ovlivnit či dokonce znehodnotit. Z těchto i výše uvedených skutečností tak vyplývá, že při hledání optimální metodiky pro již zahájený dlouholetý korozní experiment bude nutné řešit trade-off situaci, tedy kompromis mezi tím, aby metodika byla co nejpřesnější (včetně nových a pokrokových), zároveň aby byla ale již dostatečně otestovaná a optimalizovaná, a v neposlední řadě minimalizovala riziko kontaminací. Výsledky mikrobiologických metod je optimální dále porovnávat s výsledky dalších nezávislých metod, např. hydrochemických měření. Velmi detailní přehled většiny aktuálně využívaných metod při studiu mikroorganismů ve vztahu k hlubinným úložištím radioaktivního odpadu shrnuje výzkumná zpráva TZ 552/2021 (Černá et al., 2021), a posloužila tak jako cenný podklad pro následující kapitoly, kde jsou proto nejpoužívanější přístupy a metody relevantní pro mikrobiologii HÚ včetně referenčních studií představeny již stručněji.

3.2 Stručný přehled mikrobiologických metod využívaných při studiu mikroorganismů ve vztahu k HÚ

Metody využívané při studiu mikroorganismů ve vztahu k HÚ lze rozdělit do tří základních skupin, přičemž rozdělení do těchto skupin souvisí mimo jiné i s důležitými pojmy „přítomnost“, „aktivita“, „životaschopnost“ a „kultivovatelnost“ zjištěných mikroorganismů. Do první skupiny patří metody sloužící k detekci a kvantifikaci přítomných mikroorganismů. Ty nám stručně řečeno podají informaci zejména o tom, zda jsou mikroorganismy ve vzorku přítomny a v jakém množství, zároveň ale umí také odhalit poměr živých buněk k mrtvé biomase, hrubě oddělit hlavní skupiny (např. archea a bakterie) a odhalit případné kultivovatelné organismy. Do druhé skupiny náleží metody studující kvalitativní složení mikrobiálních společenstev. Tyto metody nám umějí dát jasnou odpověď na otázky o detailním složení a struktuře mikrobiálního společenstva. Do třetí skupiny se řadí metody studia aktivní frakce mikrobiálního společenstva, které nám podají informaci o metabolické aktivitě jednotlivých mikroorganismů. Aktivní mikroorganismy vždy představují pouze malou podmnožinu celého společenstva. Jednotlivé skupiny i samotné metody detekce tak mají své jasné přednosti i limity a každá je vhodná pro zodpovězení různých typů otázek. Metodický postup mikrobiologických analýz se navíc mezi studii vzhledem k výzkumným specifikům ve svých detailech obvykle liší (viz konkrétní in-situ studie zmíněné na závěr).

3.2.1 Detekce a kvantifikace přítomných mikroorganismů

Základními a dnes již zcela tradičními metodami detekce a kvantifikace mikroorganismů jsou zejména fluorescenční mikroskopie, kultivace a metoda MPN (Most probable number). Dále bývá ve studiích využívána průtoková cytometrie a analýza PLFA. Mezi nověji etablované molekulárně-genetické metody pak patří kvantitativní PCR (qPCR) a droplet digital PCR (ddPCR).

Princip fluorescenční mikroskopie je detailně popsán např. v práci (Hallbeck and Pedersen, 2008). Metoda vyžaduje chlazení vzorků a jejich rychlé zpracování v laboratoři, kde jsou nejdříve filtrovány (filtr se musí vejít na podložní sklo), následně barveny a mikroskopovány. Kombinací fluorescenčních barviv lze dosáhnout tzv. live/dead stain barvení (Robertson et al., 2019) umožňující odlišení živých a mrtvých buněk. Z dosavadních zkušeností s aktuálně řešenými projekty MaCoTe a BioBen lze konstatovat, že se přímé počítání buněk hodí pouze pro čisté podzemní vody s malým množstvím koloidů, rozhodně ale nikoliv např. na vzorky bentonitů (zejména českých), kde dochází k nežádoucí interferenci a znemožnění spolehlivé detekce buněk (Černá et al., 2018). U vzorků bentonitů je slibným řešením extrakce buněk před jejich vizualizací, přičemž recentně byl optimalizován extrakční protokol také pro české bentonity (Hlaváčková et al., in preparation).

Kultivací na specifických tekutých či pevných (agarových aj.) půdách lze získat představu o životaschopnosti kultivovatelných buněk. Případně lze pro kvantifikaci využít metodu počítání kolonií (kolonie tvořící jednotky, KTJ). Velkou nevýhodou omezující použití kultivačních metod ve studiu HÚ je ale obecně velmi nízká proporce (nejvýše přibližně 5 %) kultivovatelných mikroorganismů (Eydal and Pedersen, 2007; Hallbeck and Pedersen, 2012; Haveman and Pedersen, 2002; Stroes-Gascoyne et al., 2002). Specifickým a sofistikovaným příkladem využití kultivací pro kvantifikaci je dále metoda MPN (Most probable number) popsaná blíže ve studii (Hallbeck and Pedersen, 2008) a dříve velmi hojně využívaná (dnes spíše jako

metoda záložní). Její velkou nevýhodou je mimo výše zmíněného rovněž značná časová náročnost (8–12 týdnů). Naopak její výhodou je, kromě zahrnutí pouze živých buněk, rovněž získání představ o funkčním složení společenstva při použití kombinací různých specifických médií.

Na kultivaci i genetických přístupech zcela nezávislá je analýza fosfolipidových mastných kyselin (PLFA). U této analýzy se předpokládá, že detekuje pouze životaschopné buňky (White and Ringelberg, 1997). Složení PLFA je specifické pro různé skupiny mikroorganismů, takže je na základě detekovaného fosfolipidového profilu možné usuzovat i na hrubé mikrobiální složení studovaného vzorku (White et al., 1979). Tato metoda byla například využita ve studii životaschopnosti mikroorganismů v kompaktovaném bentonitu (Simcha Stroes-Gascoyne et al., 2011), kdy přinesla zajímavé zjištění. Zatímco se vzrůstající suchou objemovou hmotností kompaktovaného bentonitu se významně snižovala kultivovatelnost přirozených mikroorganismů, jejich životaschopnost se snižovala podstatně méně.

Kvantitativní PCR (qPCR nebo Real-time PCR) je metoda rutinně používaná např. pro kvantifikaci (relativní i absolutní) všech přítomných mikroorganismů ve vzorku (molekulárně-genetický marker 16S rRNA) nebo jen konkrétních skupin mikroorganismů (např. SRB) pomocí specifických markerů. Její nevýhodou je problematická absolutní kvantifikace vyžadující standard (porovnávají se tzv. C_q hodnoty ve standardní křivce), přičemž získání relevantního standardu pro environmentální vzorky obsahující směs různých mikroorganismů o neznámých poměrech je velice obtížné (Dhanasekaran et al., 2010). V publikovaných studiích se tento problém bohužel obvykle nijak více neřeší, využívají se jednoduché standardy (s jedinou sekvenční variantou) a výsledky tak mohou být zatíženy artefaktem z rozdílné efektivity amplifikace při PCR (Gaby and Buckley, 2017). Moderní odpovědí a řešením tohoto problému je droplet digital PCR (ddPCR), která již žádné standardy nepotřebuje a umožňuje absolutní kvantifikaci kopií cílových genů, a tím i přítomných mikroorganismů ve vzorku. (Hindson et al., 2013) porovnal absolutní kvantifikace pomocí qPCR a ddPCR a zjistil, že ddPCR oproti qPCR poskytuje kvalitnější a reprodukovatelnější výsledky při zachování stejné sensitivity. Jedná se o metodu poměrně novou, a to nejen ve studiích s tematikou HÚ, lze však předpokládat, že se velice brzy stane masivně využívaným nástrojem pro kvantifikaci mikrobiálních komunit. Jejím omezením je, že spolehlivě funguje pouze v určitém rozmezí hodnot koncentrací DNA, tzn. že ji nelze využít pro vzorky s extrémně nízkými výtěžky DNA (které jsou v oblasti podzemních vod poměrně časté).

3.2.2 Určení detailní struktury (kvalitativního složení) mikrobiálních společenstev

Do této skupiny patří moderní molekulárně-genetické metody, jednak dnes již zcela standardní a zřejmě nejhojněji používaná metoda – *amplikonové sekvenování markeru/genu 16S rRNA* pro bakterie/archea (případně 18S rRNA pro eukaryota) a dále nové metody tzv. *metaganomiky*. Amplikonové sekvenování je široce využívanou a v současnosti i nejčastější metodou pro studium složení mikrobiálního osídlení patřící mezi tzv. NGS (Next Generation Sequencing) metody. Po porovnání výsledků oproti volně přístupným referenčním databázím (např. GenBank) umožňuje přiřadit jednotlivé zjištěné varianty genu 16S rRNA ke konkrétním liniím mikroorganismů na různých taxonomických úrovních (druhy, rody či vyšší, a tedy taxonomicky méně přesné, úrovně). Bližší informace k problematice metody jsou shrnuté v práci (Mijnendonckx et al., 2021). Zatímco NGS pracuje s jednotlivými geny organismů

přítomných ve vzorku, metagenomika pracuje s celými genomy a umožňuje nám tak velmi přesně odhalit celý funkční potenciál mikrobiální komunity (Bikel et al., 2015).

Obecnou nevýhodou molekulárně-genetických metod využívaných v taxonomii organismů je nekompletnost referenčních databází, ve kterých stále mnoho taxonů chybí (dosud nepopsané či nekultivovatelné druhy apod.). Dalším problémem může být stabilní extracelulární „mrtvá“ DNA (coby kontaminant) či obecně vysoká afinita DNA např. k bentonitu, který ji váže na svém povrchu. Zatímco v oligotrofních, na živiny chudých, systémech podzemních vod je obvykle neživá biomasa v podstatě okamžitě zkonsumována jinými mikroorganismy (Lopez-Fernandez et al., 2018a) a problém s „mrtvou“ DNA reálně nehrozí, ve vzorcích z kompaktovaného bentonitu s obecně nízkou hustotou buněk může kromě komplikované extrakce DNA (Bagnoud et al., 2016c; Lopez-Fernandez et al., 2018b) docházet i k teoretickému zneprášení výsledků vlivem „mrtvé“ DNA (Lopez-Fernandez et al., 2018b).

3.2.3 Detekce aktivní frakce mikrobiálního společenstva

Konečně k odlišení aktivní části mikrobiálního společenstva se využívají jak tradiční metody *analýzy metabolických produktů* (zejména ATP), tak i novější metody *stable isotope probing* (izotopové značení, SIP), *FISH* (fluorescenční in-situ hybridizace) nebo *CARD-FISH* (catalyzed reporter deposition FISH) a rovněž i nejnovější molekulárně-genetické metody, jako jsou *metaproteomika* (analýza proteinového profilu společenstva) a *metatranskriptomika* (obdobu metagenomiky využívající sekvenaci RNA namísto DNA), či jiné *analýzy transkriptů* (po přepsání RNA do DNA reverzní transkriptázou se již využijí dříve metody NGS včetně amplikonového sekvenování).

RNA je jednořetězcovou molekulou, která je ve srovnání s dvoušroubovicí DNA výrazně méně stabilní (rozkládá se v řádu několika málo hodin). Její přítomnost je tak na jednu stranu jednoznačným důkazem metabolické aktivity, ale na druhou stranu činí nestabilita RNA práci s ní metodicky výrazně náročnější. První významnou transkriptomickou studií související s HÚ je práce (Lopez-Fernandez et al., 2018b), ve které byly studovány vzorky podzemních vod z Äspö HRL. Pro studium vzorků bentonitů zatím metoda použita nebyla, ale velmi by napomohla vyřešení problému „mrtvé“ DNA či DNA z dormantních stádií. K odlišení „mrtvé“ DNA by mohla být využívána rovněž látka PMA (propidium monoazid), která ji pro další molekulárně-genetické analýzy inaktivuje (Lopez-Fernandez et al., 2018a).

Analýzy metabolických produktů nepřímo detekují mikrobiální aktivitu skrze měření důležitých metabolitů jako jsou ATP, acetát, kyslík či sulfan (Bengtsson and Pedersen, 2017; Pedersen, 2017). Metody sice metabolickou aktivitu spolehlivě detekují, ale případná kvantifikace této aktivity je problematická. Stejně jako v případě fluorescenčního značení i ATP detekce silně interferuje s bentonitem (bentonit na svém povrchu ATP efektivně vyvazuje) a tato metoda je proto vhodná pouze pro vzorky podzemních vod bez koloidních částic, popřípadě pro buňky extrahované z bentonitu.

Značení pomocí stabilních izotopů (SIP) je jedním z možných moderních přístupů pro detekci mikrobiální aktivity. SIP založené na využití radioizotopu ³⁵S bývá ve Skandinávii využíváno při sledování mikrobiální produkce sulfanu při detekci aktivity SRB ve vzorcích kompaktovaných bentonitů. Tato metoda tak umožňuje zjistit limitní hodnoty objemových hmotností bentonitů pro aktivitu SRB v různých typech bentonitů (Bengtsson and Pedersen, 2017; Haynes et al., 2019; Taborowski et al., 2019).

Poslední představenou metodou je FISH (fluorescenční in-situ hybridizace), která umožňuje velmi citlivou detekci bakterií včetně jejich klasifikace a stanovení metabolické aktivity. Jedná se o vysoce sofistikovanou hybridní metodu kombinující fluorescenční mikroskopii s genetickými metodami při využití fluorescenčních sond (specificky se váží na konkrétní úseky DNA). Vzhledem k tomu, že buňky v chudých prostředích hluboko pod povrchem trpí nedostatkem živin a jsou proto malé a pomalu rostoucí (Burgess, 1997; Jørgensen and D'Hondt, 2006), což znesnadňuje jejich detekci, byla zavedena modifikace původní metody. CARD-FISH (catalyzed reporter deposition fluorescence in-situ hybridization) umožní navázání velkého množství fluoroforu (barviva) pro zesílení signálu. Metoda již byla úspěšně použita jak pro vzorky hlubokých podzemních vod z podzemní laboratoře v Grimselu v práci (Konno et al., 2013), tak pro vzorky hornin (z vrtných jader) z různých hloubek (Escudero et al., 2018).

3.3 Metodika odběru vzorků in-situ

O relevanci mikrobiologických dat získaných analýzami vzorků podzemních vod, hornin či bentonitů se částečně rozhoduje předem již při samotném designu experimentu a následných vrtných pracích. Je proto velmi důležité zaměřit se na minimalizaci rizika kontaminace, která jsou v podzemí extrémně chudém na biomasu velkou hrozbou. K tomu je možno využít tzv. tracerů (stopovačů), což jsou stopovací látky, které označí místo kontaminace. Lze je využít již v průběhu vrtání (Nyssönen et al., 2014) a nebo až později v průběhu vyjímání jader z vrtu (Breuker et al., 2011; Sahl et al., 2008; Smith et al., 2000). Dále se využívá k oddělení vnitřních částí vzorku vrtného jádra, kde je pravděpodobnost kontaminace nižší (Breuker et al., 2011; Lazar et al., 2019; Smith et al., 2000; Stroes-Gascoyne et al., 2007), případně lze vzorky vrtných jader po odebrání důkladně omýt v syntetické granitické vodě odpovídající místě odběru (Santelli et al., 2010). Dalším možným řešením je pro vrtání použít anaerobní vodu z okolních vrtů (Davidson et al., 2011, 2011; Moser et al., 2005), nebo vodu sterilizovat pomocí UV záření (Hallbeck and Pedersen, 2012). Využitím těchto protikontaminačních opatření lze významně (až stonásobně) snížit množství kontaminujících buněk (Hallbeck and Pedersen, 2012). Ať již jsou ve studiích aktivně využita opatření proti kontaminacím či nikoliv, bývá extrémní zřetel kladen na sterilizaci všech komponent, které se na vrtání podílí. Samotný metodický postup odběru vzorků se mezi studii vzhledem k výzkumným specifikům ve svých detailech obvykle liší (detaily viz konkrétní uvedené in-situ studie). Porovnání postupů a výsledků z 5 nezávislých laboratoří přináší studie (Stroes-Gascoyne et al., 2007), kde autoři odebrané vzorky uchovávali a dopravovali navíc při třech různých teplotních režimech.

3.3.1 Vzorkování podzemní vody

Již obecně známou zásadou je odebírat vzorky ze zapakrovaných anaerobních zavodněných vrtů. Před odběry ze zapakrovaných vrtů je rovněž žádoucí nechat část vody odtéct, aby se eliminoval vliv samotného zásahu do vrtu a pomůcek pro vzorkování (Hernsdorf et al., 2017; Ino et al., 2016). Při samotném odběru mikroorganismů je třeba přefiltrovat větší množství vody, kdy dojde k jejich zachycení na filtrech, které se následně zamrazí a převezou do laboratoře k dalšímu zpracování. Pro malé objemy vod a při absenci infrastruktury v podzemní laboratoři se využívají filtry Sterivex (Brazelton et al., 2012; Casar et al., 2021; Miettinen et al., 2015; Nyssönen et al., 2014; Robador et al., 2016). Filtraci většího objemu vody při současném využití základní infrastruktury umožňují filtrační aparatury s vakuovou filtrací

(Sahl et al., 2008). Metodou umožňující odběr a filtraci výrazně většího objemu vody (desítek tisíc litrů), a tedy i zachycení většího množství biomasy, je umístění vzorkovače k výstupu z vrtu (Lau et al., 2016; Magnabosco et al., 2016). Nevýhodou je, že takovýto odběr trvá dlouho (13 respektive 15 dnů). Je třeba brát v úvahu, že mikroorganismy mohou být adaptovány na omezený prostor či nedostatek živin svou malou velikostí, což může vést k tomu, že nebudou zachyceny v nejčastěji používaných filtrech s porozitou 0,22 μm (Wu et al., 2016). V návaznosti na toto zjištění jsou v některých nových studiích používány filtry s porozitou 0,1 μm (Lau et al., 2016; Lopez-Fernandez et al., 2018b, 2018a).

3.3.2 Vzorkování pevných látek (hornina, bentonit)

Riziko kontaminací při vzorkování hornin je vysoké (Smith et al., 2000) a hrozí i v průběhu následných prací (vyjímání vrtných jader, nevhodné uskladnění, zpracování řezáním). Zatímco u sedimentárních hornin ale kontaminace často nepředstavují tak velký problém (Lever et al., 2006), vyvřelé horniny, s větší mírou puklinových zón, jsou ke kontaminacím výrazně náchylnější (Colwell et al., 1992; Santelli et al., 2010), a proto je i výše zmíněné použití tracerů (stopovačů) detekujících místo kontaminace zcela zásadní. Pro minimalizaci rizika kontaminace hornin i bentonitů je velmi důležité v průběhu dalšího zpracování pracovat ve sterilních podmínkách (např. laminární flow box) a využívat sterilní nástroje k rozdrčení a homogenizaci vzorků (Bengtsson et al., n.d.; Eriksson et al., 2016; Smith et al., 2000; Stroes-Gascoyne et al., 2007). Vhodná standardní metodika odběrů mikrobiologických vzorků pro analýzy DNA z puklin z vrtných jader využívá a porovnává odběr skalpelem a stěr štětičkou a je detailně popsána ve zprávě SKB (Eriksson et al., 2016). Naopak alternativní metoda využívající umělých nosičů biomasy umístěných do vrtů se jeví jako obecně problematická, neboť bylo zjištěno, že mikrobiální komunity vyskytující se na povrchu horniny (v oblasti pukliny) a narostlé na umělém nosiči se mohou výrazně kvalitativně lišit (Jägevall et al., 2011).

3.4 Konkrétní mikrobiologické metodiky využívané v in-situ experimentech

Níže jsou představeny konkrétní mikrobiologické metodiky využívané v hlavních in-situ experimentech. Řazení odpovídá pro přehlednost podzemním laboratořím či úložištím, ve kterých experimenty probíhaly a které z většiny přehledně shrnuje práce (Cho and Kim, 2018). Jsou jimi Grimsel Test Site a Mont Terri Rock Laboratory ve Švýcarsku, Äspö Hard Rock Laboratory ve Švédsku, Exploratory Studies Facility v USA, ONKALO Underground Characterization and Research Facility ve Finsku, HADES Underground Research Facility v Belgii, KAERI Underground Research Tunnel (KURT) v Korei a Tournemire Underground Research Laboratory (URL) ve Francii. Na závěr jsou pro úplnost uvedeny studie mimo tyto podzemní laboratoře.

3.4.1 Grimsel Test Site

Základní údaje: granit, hloubka 450 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Bengtsson et al., 2017) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (ATP), amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, ddPCR, qPCR
- (Engel et al., 2019) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, analýza PLFA
- MaCoTe (Dobrev et al., 2020) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, qPCR

3.4.2 Mont Terri Rock Laboratory

Základní údaje: jíl (Opalinus Clay), hloubka 250–320 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Mauclaire et al., 2007) – analýza PLFA
- (Stroes-Gascoyne et al., 2007) – fluorescenční mikroskopie, FISH a CARD-FISH, kultivace včetně MPN, analýza PLFA, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, q-PCR, PCR-DGGE (dnes již překonaná nepoužívaná metoda)
- (Poulain et al., 2008) – elektronová mikroskopie, kultivace, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (S. Stroes-Gascoyne et al., 2011) – fluorescenční mikroskopie, CARD-FISH, kultivace včetně MPN, analýza PLFA, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, kvantitativní PCR
- (Bagnoud et al., 2016a) – fluorescenční mikroskopie, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, metagenomika, metatranskriptomika (metaproteomika)
- (Bagnoud et al., 2016b) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, metagenomika
- (Jalique et al., 2016) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Bleyen et al., 2017) – kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (ATP), amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Necib et al., 2017) – kultivace včetně MPN
- (Smart et al., 2017) – kultivace včetně MPN, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Bernier-Latmani and Boylan, 2018) – průtoková cytometrie, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Bernier-Latmani and Burzan, 2019) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA

3.4.3 Äspö Hard Rock Laboratory

Základní údaje: granit, hloubka 460 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Pedersen, 1997) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Kotelnikova and Pedersen, 1998) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (pouze in vitro)
- (Karnland et al., 2000) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (ATP, acetát, sulfidy)
- (Pedersen et al., 2000) – kultivace

- (Fru and Athar, 2008) – kultivace, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA a *DsrAB*
- (Hallbeck and Pedersen, 2008) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (ATP)
- (Lydmark and Pedersen, 2011) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (ATP, acetát, sulfidy)
- (Arlinger et al., 2013) – kultivace včetně MPN, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Svemar et al., 2016) – kultivace včetně MPN, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Hallbeck et al., 2017) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (ATP), amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Lopez-Fernandez et al., 2018b) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, metatranskriptomika

3.4.4 Exploratory Studies Facility

Základní údaje: tuf, hloubka 300 m

Relevantní studie a použité metody:

- mikrobiologicky relevantní in-situ studie nejsou známy

3.4.5 ONKALO Underground Characterization and Research Facility

Základní údaje: granit, hloubka 520 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Pedersen et al., 2013) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (ATP), amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Bomberg et al., 2017) – fluorescenční mikroskopie, průtoková cytometrie typu FACS, kultivace, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, analýza transkriptů

3.4.6 HADES Underground Research Facility

Základní údaje: jíł (Boom clay), hloubka 225 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Mijnendonckx et al., 2019) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA, analýza metabolických produktů (ATP)

3.4.7 KAERI Underground Research Tunnel (KURT)

Základní údaje: granit, hloubka 100 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Baik et al., 2006) – kultivace, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA

- (Baik and Lee, 2007) – kultivace, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Roh et al., 2008) – amplikonové sekvenování markerů 16S a 18S rRNA
- (Roh et al., 2009) – amplikonové sekvenování markerů 16S a 18S rRNA
- (Kim et al., 2014) – kultivace, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA
- (Lee et al., 2016) – amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA

3.4.8 AECL's Underground Research Laboratory (URL)

Základní údaje: granit, hloubka 240 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Stroes-Gascoyne et al., 2002) – kultivace včetně MPN, analýza metabolických produktů (sulfidy), analýza PLFA
- (Stroes-Gascoyne, 2010) – kultivace, analýza PLFA

3.4.9 Tournemire Underground Research Laboratory (URL)

Základní údaje: argilit, hloubka 250 m

Relevantní studie a použité metody:

- (Urios et al., 2013) – kultivace, amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA

3.4.10 Nezařazený experiment

Základní údaje: granodiorit, Kamaishi Mine – Japonsko

- (Aoki et al., 2010) – fluorescenční mikroskopie, kultivace včetně MPN

4 Shrnutí poznatků

Uvedené in-situ experimenty představují obecný přehled technických řešení v závislosti na rozdílných cílech projektů. Primární otázka k návrhu aparatury pro in-situ experimenty je tedy cíl projektu, kterého chceme dosáhnout. Bude-li naším cílem stanovení např. korozní rychlosti, tak aparatura bude koncipována způsobem, aby obsahovala dostatečné množství vzorků studovaných materiálů. Oproti tomu, bude-li cílem ověření celkového návrhu obalového souboru, pak návrh aparatury bude specifický jako např. Minican. V případě projektu *Pilotní korozní experiment v PVP Bukov* bude aparatura navržena s cílem ověření korozních vlastností vybraných konstrukčních materiálů pro UOS, tedy aparatura musí obsahovat dostatečné množství vzorků, které lze statisticky vyhodnotit a její rozměry by neměly být středního měřítko, neboť s nárůstem rozměrů resp. hmotnosti, přibývají dodatečné požadavky na manipulační prostředky. Při složitější manipulaci se navíc může i prodlužovat čas vystavení systému kyslíku. Speciální postup vyjímání aparatury, jako byl zvolen v případě Minicanů, přináší do celého procesu další komponentu (nádrž s vodou), kterou je nutné dopravit na místo určení. Příprava „anaerobní vody“ v nádrži zahrnuje i transport tlakových lahví na místo určení a vypouštění nedýchatečných plynů v relativně velkém množství do pracovního prostoru. Aparatura středních rozměrů, která má být rozebírána navíc pod inertní atmosférou vyžaduje i speciální rukavicové boxy, které umožní umístění a manipulaci těžkých břemen. Vzhledem k účelu experimentu proto nedoporučujeme aparaturu větších rozměrů.

Celkový návrh aparatury by měl být spíše jednodušší, aby se omezilo množství komponent v systému, u kterých může dojít ke ztrátě funkčnosti. Aparatura by neměla být koncipována tak, aby bylo cílem stanovit co nejvíce „vedlejší“ parametrů, ale primárně zaměřena na cíle projektu. Z hlediska dlouhodobé funkčnosti aparatury jsou důležité monitorovací prvky např. indikace výpadků topení, výpadek el. sítě apod. Zajištění vzdáleného monitoringu systému je klíčové pro řešení nestandardních situací.

Příprava bentonitu před experimentem závisí na počátečních podmínkách, které chceme mít v systému. Pro anaerobní podmínky se např. volí předsycení bentonitu (i částečné předsycení) pro omezení difúze kyslíku do modulů se vzorky při manipulaci v průběhu instalace do vrtů. Nicméně jsou voleny i varianty, kdy není bentonit předsycen a dochází v systému k vytvoření anaerobních podmínek v průběhu experimentu. Pro předsycené systémy je důležité zajistit transport v uzavřených pouzdrech/obalech, které udrží anaerobní podmínky po dobu transportu. Pokud se používají různé fólie pro transport, pak je nutné omezit riziko jejich protržení při transportu a to jednak minimalizací ostrých hran modulů a dále omezením vzájemného pohybu modulů při transportu.

Monitorovací čidla je nutné řešit z hlediska jejich životnosti v modulech, ale i mimo moduly. Budeme-li mít např. čidla teploty v bentonitu, je nutné zajistit dostatečnou životnost izolace a pláště kabelů mimo moduly a zároveň i samotný materiál čidla musí vydržet v kompaktném bentonitu požadovanou dobu. Obecně je tedy nutné, aby čidla měla mechanickou odolnost (bobtnací tlak bentonitu), korozní odolnost (čidla s kovovým pláštěm), izolace a plášť kabelů musí vydržet vlhké prostředí, degradace v čase by měla být minimální a samotné kabely by neměly být umístěny v bentonitu.

Ohřev systému lze realizovat buď přes topné patrony, nebo oběhem teplotonosné kapaliny. U topných patron platí obdobné požadavky jako pro monitorovací prvky, tedy požadavek na korozní odolnost v případě, že by byla topná patrona v bentonitu a kabeláž s požadovanými

vlastnostmi. Vhodnějším řešením pro topnou patronu je její umístění do přebalu pro zamezení přímého styku s bentonitem a pro lepší homogenizaci tepelného pole. Při použití teplonosné kapaliny (olej, voda apod.) je potřeba, aby trubky pro vedení kapalin byly chráněné proti korozi a byly minimalizovány ztráty tepla na vedení. Zároveň je nutné v případě vzniku netěsnosti zabránit kontaminaci vrtu a to nejen v oblasti samotných modulů, ale i v oblasti mimo experimentální systém (např. nad pakrem), neboť případná kontaminace může být transportována do ostatních vrtů a navíc může představovat problém při vyjímání modulů.

Regulace teploty systému musí být řešena tak, aby odezva systému nebyla dlouhá, resp. systém (čidlo regulátoru – topný segment) nesmí mít velkou tepelnou setrvačnost, která by komplikovala regulaci systému. Pokud by byly v aparatuře použity regulátory teploty s elektromagnetickým relé je nutné tyto prvky po definované době vyměnit. Vhodnější variantou z hlediska dlouhodobé životnosti jsou regulátory teploty s polovodičovým relé (pozn. myšlena životnost z hlediska funkce relé a nikoliv jako celku).

Vzorky kovových materiálů a bentonitu by měly být v samostatných modulech, pokud nechceme sledovat interakci bentonit hornina. Samostatné moduly umožňují lepší manipulaci a vyjímání modulů z vrtů bez nutnosti obvrtávání systému. Zároveň je možné provádět nezávisle s moduly další operace jako převedení systému do anaerobních podmínek v rukavicových boxech, předsycení apod. Umístění vzorků v modulech je pravděpodobně nejvhodnější přímo v kompaktném bentonitu, kdy není nutné řešit pro vzorky držáky, těsnění apod. Plastové držáky s těsnění by mohly do systému vnášet nejistoty ohledně vlivu na mikrobiální společenství a zároveň by mohlo dojít ke vzniku štěrbinové koroze na vzorcích (v případě použití držáků na vzorky). Moduly by měly umožnit rozvedení vody okolo vnějšího povrchu bentonitu pro homogennější sycení systému. Toho lze dosáhnout použitím frit (ve tvaru válce), filtračních tkanin apod.

Pro udržení anaerobních podmínek ve vrtech lze využít pakry nebo betonové zátky. Betonové zátky se jeví vhodnější pro systémy, které jsou bez aktivního topení, zatímco v případě systémů s ohřevem se z hlediska výměny topidla, resp. opravy topného systému jeví vhodnější využití pakrů. Použití pakrů je také praktičtější v případě, že do systému vstupujeme v průběhu experimentu několikrát, jako např. v projektu MaCoTe (netopící experiment).

Pro vzorkování podzemní vody a plynů je lepší jednorázový odběr vzorků bez cirkulace vody resp. plynu. Při cirkulaci můžeme systém ovlivnit z hlediska teploty, koncentračního gradientu, mikrobiologie atd.

O relevanci mikrobiologických dat získaných analýzami vzorků podzemních vod, hornin či bentonitů se částečně rozhoduje předem již při samotném designu experimentu a následných vrtných pracích. Je proto velmi důležité zaměřit se na minimalizaci rizika kontaminace, která jsou v podzemí extrémně chudém na biomasu velkou hrozbou a dochází k nim mnohdy i při maximální obezřetnosti (např. S. Stroes-Gascoyne et al., 2011). Již obecně známou zásadou je v případě podzemních vod odebírat vzorky ze zapakrovaných anaerobních zavodněných vrtů. Před odběry ze zapakrovaných vrtů je rovněž žádoucí nechat část vody odtéct, aby se eliminoval vliv samotného zásahu do vrtu a pomůcek pro vzorkování (Hernsdorf et al., 2017; Ino et al., 2016). Při samotném odběru mikroorganismů je třeba přefiltrovat větší množství vody, kdy dojde k jejich zachycení na filtrech, které se následně zamrazí a převezou do laboratoře k dalšímu zpracování. Vhodná standardní metodika odběrů mikrobiologických vzorků podzemních hornin či bentonitů porovnávající odběr skalpelem a stěr štětičkou je pak detailně popsána ve zprávě SKB (Eriksson et al., 2016). Následné mikrobiologické analýzy

využívané při studiu mikroorganismů ve vztahu k HÚ lze rozdělit do třech skupin, a to na: 1) detekci a hrubou kvantifikaci přítomných mikroorganismů, 2) analýzu struktury mikrobiálních společenstev a 3) analýzu aktivní frakce mikrobiálního společenstva. Aktivní mikroorganismy vždy ale představují pouze malou podmnožinu celého společenstva. Jednotlivé skupiny i samotné metody detekce tak mají své jasné přednosti i limity a každá je vhodná pro zodpovězení různých typů otázek. Z rešerše mikrobiologických metodik využívaných v in-situ experimentech jasně vyplývá aktuální dominance metody „amplikonové sekvenování markeru 16S rRNA“. Tato metoda analyzuje detailní strukturu celého společenstva a bývá podle konkrétních otázek a potřeb experimentu doprovázená některou z výše představených metod hrubé „detekce/kvantifikace“ či analýzou „aktivní frakce“.

5 Závěr

Návrh a provádění korozních zkoušek v podzemních laboratořích představuje komplexní problematiku, která má svoje specifika. Obecně se dá konstatovat, že korozní zkoušky můžeme z hlediska technického návrhu rozdělit na ty, kdy je aparatura uzavřena ve vrtu a na ty, kdy jsou na aparatuře aktivní systémy (topidla, čidla, elektrody apod.). Systémy uzavřené ve vrtech jsou z hlediska přípravy a provedení experimentu samozřejmě „jednodušší“ oproti systémům s aktivními prvky. Obě skupiny mají své výhody a nevýhody a vždy záleží na účelu experimentu, jakou cestou se při návrhu systému do podzemních laboratoří vydat.

Výsledky získané z in-situ korozních zkoušek doplňují laboratorní výzkum a zlepšují predikce chování testovaných materiálů v dlouhodobém horizontu, neboť některé podmínky nelze v laboratorním prostředí zcela nasimulovat. Příkladem může být vývoj mikrobiálního osídlení systému či interakce s okolním prostředím. Získávání dat z podzemních laboratoří tak pomáhá zlepšovat predikce životnosti UOS, lépe specifikovat nejistoty experimentálních programů a definovat okrajové podmínky.

Předložená zpráva měla především za cíl obeznámení se s technickými řešeními různých in-situ experimentů prováděných v zahraničí a možnosti využitelnosti těchto řešení, resp. idejí pro návrh aparatury do PVP Bukov. Samotné výsledky korozních zkoušek zkoumaných materiálů nejsou ve zprávě uvedeny, neboť mají hlavní význam z hlediska výběru materiálů pro ukládací obalové soubory.

Z hlediska použití mikrobiálních metod probíhá jejich optimalizace pro podzemní laboratoře. Obecně jsou kladeny požadavky na co nejlepší přesnost a čistotu (sterilitu). Návrh odběru vzorků v PVP Bukov zahrne požadavky mikrobiologů v míře, která bude realizovatelná z technického hlediska.

Přestože technické návrhy aparatur určené pro podzemní laboratoře kladou nároky na životnost, berou v potaz specifické prostředí, mají zabudovaná záložní čidla/senzory, umožňují výměnu poškozených částí apod., tak není až do ukončení experimentu jisté, zda budou získány výsledky tak, jak bylo původně plánováno při návrhu experimentů. I přes veškerou snahu může dojít ke komplikacím před ukončením experimentu, ke zjištění neočekávaných okolností při demontáži modulů, které znehodnotí měření apod. V dlouhodobém horizontu je vždy nutné počítat s tím, že k takovéto situaci může dojít a lze pouze minimalizovat pravděpodobnost jejího vzniku. Předložená zpráva tak umožňuje využít zkušenosti zahraničních týmů, vyvarovat se stejných chyb a využít nejlepší dostupné prostředky k úspěšnému naplnění cílů projektu.

6 Reference

ABRAMOV, A. A., et al. (2020): Underground Research Laboratory in the Nizhnekanskiy Massif: Evolutionary Design Study, *Radioactive Waste* 10(1), 9-21.

ABRAMOV, A.A., BEYGUL, V.P. (2017): Sozdaniye podzemnoy issledovatel'skoy laboratorii na uchastke «Yeniseyskiy» Nizhnekanskogo massiva: sostoyaniye i dal'neysheye razvitiye rabot (<https://www.atomic-energy.ru/articles/2017/08/22/78690>).

AOKI K., SUGITA Y., CHIJIMATSU M., TAZAKI K., (2010): Impacts of thermo-hydro-mechanical experiments on the microbial activity in compacted bentonite at the Kamaishi Mine, Northeast Japan. *Appl. Clay Sci.* 47, 147–154.

ARLINGER J., BENGTSSON A., EDLUND J., ERIKSSON L., JOHANSSON J., LYDMARK S., RABE L., PEDERSEN K., (2013): Prototype repository–Microbes in the retrieved outer section. (SKB report No. P-13-16). Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co, Stockholm, Sweden.

BAGNOUD A., CHOUREY K., HETTICH R.L., DE BRUIJN I., ANDERSSON A.F., LEUPIN O.X., SCHWYN B., BERNIER-LATMANI R., (2016a): Reconstructing a hydrogen-driven microbial metabolic network in Opalinus Clay rock. *Nat. Commun.* 7, 12770.

BAGNOUD A., DE BRUIJN I., ANDERSSON A.F., DIOMIDIS N., LEUPIN, O.X., SCHWYN, B., BERNIER-LATMANI R., (2016b): A minimalistic microbial food web in an excavated deep subsurface clay rock. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv138>

BAGNOUD A., LEUPIN O., SCHWYN B., BERNIER-LATMANI R., (2016c): Rates of microbial hydrogen oxidation and sulfate reduction in Opalinus Clay rock. *Appl. Geochem.* 72, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2016.06.011>

BAIK M.-H., LEE S.-Y., (2007): Roles of Microbes in the Radioactive Waste Disposal and Identification of Aerobic Microbes in a Groundwater.

BAIK M.H., LEE S.Y., CHO W.J., (2006): Recent Research Status on the Microbes in the Radioactive Waste Disposal and Identification of Aerobic Microbes in a Groundwater Sampled from the KAERI Underground Research Tunnel (KURT).

BENGTSSON A., BLOM A., TABOROWSKI T., SCHIPPERS A., EDLUND J., KALINOWSKI B., PEDERSEN K., (2017): FEBEX-DP: Microbiological report (No. Arbeitsbericht NAB 16-15). Nagra. National Cooperative for the Disposal of Radioactive Waste.

BENGTSSON A., ERIKSSON L., PEDERSEN K., (2013): Methods development for analysis of microbial abundance and distribution of fractures in natural granitic rock aquifers, SKB report P-13-52, 22 str.

BENGTSSON A., PEDERSEN K., (2017): Microbial sulphide-producing activity in water saturated Wyoming MX-80, Asha and Calcigel bentonites at wet densities from 1500 to 2000kgm⁻³. *Appl. Clay Sci.* 137, 203–212. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2016.12.024>

BERNIER-LATMANI R., BOYLAN A., (2018): Methane generation in the Mt Terri URL and the underlying microbial processes (No. DELIVERABLE 1.7). MIND Project.

BERNIER-LATMANI R., BURZAN N., (2019): Microbial community associated with the corrosion of steel in a bentonite matrix (No. DELIVERABLE 2.18). MIND Project.

- BIKEL S., VALDEZ-LARA A., CORNEJO-GRANADOS F., RICO K., CANIZALES-QUINTEROS S., SOBERÓN X., DEL POZO-YAUNER L., OCHOA-LEYVA A., (2015): Combining metagenomics, metatranscriptomics and viromics to explore novel microbial interactions: towards a systems-level understanding of human microbiome. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 13, 390–401. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2015.06.001>
- BLEYEN N., SMETS S., SMALL J., MOORS H., LEYS N., ALBRECHT A., DE CANNIÈRE P., SCHWYN B., WITTEBROODT C., VALCKE E., (2017): Impact of the electron donor on in situ microbial nitrate reduction in Opalinus Clay: results from the Mont Terri rock laboratory (Switzerland). *Swiss J. Geosci.* 110, 355–374. <https://doi.org/10.1007/s00015-016-0256-x>
- BOMBERG M., RAULIO M., JYLHÄ S., MUELLER C.W., HÖSCHEN C., RAJALA P., PURKAMO L., KIETÄVÄINEN R., AHONEN L., ITÄVAARA M., BOMBERG M., RAULIO M., JYLHÄ S., MUELLER C.W., HÖSCHEN C., RAJALA P., PURKAMO L., KIETÄVÄINEN R., AHONEN L., ITÄVAARA M., (2017): CO₂ and carbonate as substrate for the activation of the microbial community in 180 m deep bedrock fracture fluid of Outokumpu Deep Drill Hole, Finland. *AIMS Microbiol.* 3, 846–871. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.4.846>
- BRAZELTON W.J., NELSON B., SCHRENK M.O., (2012): Metagenomic Evidence for H₂ Oxidation and H₂ Production by Serpentine-Hosted Subsurface Microbial Communities. *Front. Microbiol.* 0. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00268>
- BREUKER A., KOEWEKER G., BLAZEJAK A., SCHIPPERS A., (2011): The Deep Biosphere in Terrestrial Sediments in the Chesapeake Bay Area, Virginia, USA. *Front. Microbiol.* 0. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00156>
- BRIDGES, O., BRIDGES, J. W. (1995): Radioactive waste problems in Russia, *Journal of Radiological Protection* 15(3), 223–234.
- BURGESS G., (1997): Bacteria in Oligotrophic Environments: Starvation Survival Lifestyle. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14, 305–305. <https://doi.org/10.1023/A:1008823322419>
- CASAR C.P., KRUGER B.R., OSBURN M.R., (2021): Rock-Hosted Subsurface Biofilms: Mineral Selectivity Drives Hotspots for Intraterrestrial Life. *Front. Microbiol.* 0. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.658988>
- ČERNÁ K., HLAVÁČKOVÁ V., STEINOVÁ J., PUSZTAI M., (2021): Mikroorganismy ve vztahu k hlubinným úložištím radioaktivního odpadu. *Technická zpráva TZ 552/2021, SÚRAO*, 126 str.
- ČERNÁ K., ŠEVCŮ A., STEINOVÁ J., POLÍVKA P., (2018): Microbial mobility in saturated bentonites of different density (No. DELIVERABLE 2.10). MIND Project.
- CHO W.-J., KIM G.Y., (2018): Validation of Performance of Engineered Barriers in a Geological Repository: Review of In-Situ Experimental Approach. *J. Nucl. Fuel Cycle Waste Technol.* JNFCWT 16, 137–164.
- COLWELL F.S., STORMBERG G.J., PHELPS T.J., BIRNBAUM S.A., MCKINLEY J., RAWSON S.A., VEVERKA C., GOODWIN S., LONG P.E., RUSSELL B.F., GARLAND T., THOMPSON D., SKINNER P., GROVER S., (1992): Innovative techniques for collection of saturated and unsaturated subsurface basalts and sediments for microbiological characterization. *J. Microbiol. Methods* 15, 279–292. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(92\)90047-8](https://doi.org/10.1016/0167-7012(92)90047-8)

DAVIDSON M.M., SILVER B.J., ONSTOTT T.C., MOSER D.P., GIHRING T.M., PRATT L.M., BOICE E.A., LOLLAR B.S., LIPPMANN-PIPKER J., PFIFFNER S.M., KIEFT T.L., SEYMORE W., RALSTON C., (2011): Capture of Planktonic Microbial Diversity in Fractures by Long-Term Monitoring of Flowing Boreholes, Evander Basin, South Africa. *Geomicrobiol. J.* 28, 275–300. <https://doi.org/10.1080/01490451.2010.499928>

DEBRUYN W., DRESSELAERS J., VERMEIREN PH., KELCHTERMANS G. AND TAS H. (1991): Corrosion of container and infrastructure materials under clay repository conditions. Final report to the CEC for the period 1985–1989. Contract FII W/0033-B, EUR13667EN. Mol, Belgium

DHANASEKARAN S., DOHERTY T.M., KENNETH J., TB TRIALS STUDY GROUP, (2010): Comparison of different standards for real-time PCR-based absolute quantification. *J. Immunol. Methods* 354, 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2010.01.004>

DOBREV D., MENDOZA MIRANDA A.N., STEINOVÁ J., ZUNA M., (2020): Korozní zkouška v přírodním granitoidním prostředí - Technická zpráva číslo 194/2017 rev. č. 3.

ENGEL K., FORD S.E., COYOTZI S., MCKELVIE J., DIOMIDIS N., SLATER G., NEUFELD J.D., (2019): Stability of Microbial Community Profiles Associated with Compacted Bentonite from the Grimsel Underground Research Laboratory. *mSphere* 4. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00601-19>

ERIKSSON L., EDLUND J., JOHANSSON L., RABE L., BENGTSSON A., PEDERSEN K., (2016): Methods for sampling and analysis of attached and planktonic microorganisms in deep granitic rock aquifers (No. R-16-09). Svensk kärnbränslehantering (SKB).

ESCUADERO C., VERA M., OGGERIN M., AMILS R., (2018): Active microbial biofilms in deep poor porous continental subsurface rocks. *Sci. Rep.* 8, 1538. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19903-z>

EYDAL H.S.C., PEDERSEN K., (2007): Use of an ATP assay to determine viable microbial biomass in Fennoscandian Shield groundwater from depths of 3–1000 m. *J. Microbiol. Methods* 70, 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.05.012>

FRU E.C., ATHAR R., (2008): In situ bacterial colonization of compacted bentonite under deep geological high-level radioactive waste repository conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79, 499–510. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1436-z>

GABY J.C., BUCKLEY D.H., (2017): The Use of Degenerate Primers in qPCR Analysis of Functional Genes Can Cause Dramatic Quantification Bias as Revealed by Investigation of *nifH* Primer Performance. *Microb. Ecol.* 74, 701–708. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0968-0>

GUPALO, T.A., BEYGUL, V.P., SELEZNEV, N.I., MILOVIDOV, V.L., KHAFIZOV, R.R. et al.: Razrabotka kolichestvennykh kriteriyev prigodnosti skal'nogo massiva dlya bezopasnogo dlitel'nogo khraneniya otkhodov ot proizvodstva oruzheynogo plutoniya na primere podzemnogo kompleksa Krasnoyarskogo gorno-khimicheskogo kombinata. Projekt MNTTS #307V-97, 1997-2001 gg. Itogovyy otchet. VNIIPromtehnologii, 2001.

HALLBECK L., JOHANSSON L., EDLUND J., PEDERSEN K., (2017): Microbial analyses of groundwater, bentonite and surfaces – post-test analysis of packages 4 (A05) and 5 (A06)

from the MiniCan experiment. (SKB Report No. TR-16-13). Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co, Stockholm, Sweden.

HALLBECK L., PEDERSEN K., (2012): Culture-dependent comparison of microbial diversity in deep granitic groundwater from two sites considered for a Swedish final repository of spent nuclear fuel. *FEMS Microbiol. Ecol.* 81, 66–77. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01281.x>

HALLBECK L., PEDERSEN K., (2008): Characterization of microbial processes in deep aquifers of the Fennoscandian Shield. *Appl. Geochem.*, High-level radioactive waste disposal in Sweden: Hydrogeochemical characterisation and modelling of two potential sites 23, 1796–1819. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2008.02.012>

HAVEMAN S.A., PEDERSEN K., (2002): Distribution of culturable microorganisms in Fennoscandian Shield groundwater. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39, 129–137. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(01\)00210-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(01)00210-0)

HAYNES H.M., NIXON S., LLOYD J.R., (2019): Verification of microbial sulfide-producing activity in calcigel bentonite at wet densities of 1 750 and 1 900 kg m⁻³ (Technical Report No. P-19-07). Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co, Stockholm, Sweden.

HERNSDORF A.W., AMANO Y., MIYAKAWA K., ISE K., SUZUKI Y., ANANTHARAMAN K., PROBST A., BURSTEIN D., THOMAS B.C., BANFIELD J.F., (2017): Potential for microbial H₂ and metal transformations associated with novel bacteria and archaea in deep terrestrial subsurface sediments. *ISME J.* 11, 1915–1929. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.39>

HINDSON C.M., CHEVILLET J.R., BRIGGS H.A., GALLICHOTTE E.N., RUF I.K., HINDSON B.J., VESSELLA R.L., TEWARI M., (2013): Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nat. Methods* 10, 1003–1005. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2633>

HLAVÁČKOVÁ V., ČERNÁ K., SHRESTHA R., BARTAK D., HOFMANOVÁ E., KEJZLAR P., ŠEVCŮ A., in preparation. Affinity binding of bacteria on the bentonite light particles as a tool for detection of viable bacterial community in clay.

HRKALOVÁ ED. (2011): Zhodnocení existujících geologických a dalších informací z území mezi ložisky Rožná a Olší z hlediska vymezení horninového masivu potenciálně vhodného po vybudování hlubinného úložiště. SURAO - Aquatest. 27 str.

INO K., KONNO U., KOUDEKA M., HIROTA A., TOGO Y.S., FUKUDA A., KOMATSU D., TSUNOGAI U., TANABE A.S., YAMAMOTO S., IWATSUKI T., MIZUNO T., ITO K., SUZUKI Y., (2016): Deep microbial life in high-quality granitic groundwater from geochemically and geographically distinct underground boreholes. *Environ. Microbiol. Rep.* 8, 285–294. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12379>

JÄGEVALL S., RABE L., PEDERSEN K., (2011): Abundance and Diversity of Biofilms in Natural and Artificial Aquifers of the Äspö Hard Rock Laboratory, Sweden. *Microb. Ecol.* 61, 410–422. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9761-z>

JALIQUE D.R., STROES-GASCOYNE S., HAMON C.J., PRIYANTO D.G., KOHLE C., EVENDEN W.G., WOLFAARDT G.M., GRIGORYAN A.A., MCKELVIE J., KORBER D.R., (2016): Culturability and diversity of microorganisms recovered from an eight-year old highly-compacted, saturated MX-

80 Wyoming bentonite plug. *Appl. Clay Sci.* 126, 245–250.
<https://doi.org/10.1016/j.clay.2016.03.022>

JOHANSSON A. J., SVENSSON D., GORDON A., PAHVERK H., KARLSSON O., BRASK J., LUNDHOLM M., MALMSTRÖM D., GUSTAVSSON F. (2020): Corrosion of copper after 20 years exposure in the bentonite field test LOT S2 and A3. SKB Technical Report TR-20-14. Svensk Kärnbränslehantering AB, Stockholm, Sweden.

JØRGENSEN B.B., D'HONDT S., (2006): A Starving Majority Deep Beneath the Seafloor. *Science* 314, 932–934. <https://doi.org/10.1126/science.1133796>

KARLAND O., SANDÉN T., JOHANNESSON L.-E., ERIKSEN T.E., JANSSON M., WOLD S., PEDERSEN K., MOTAMEDI M., ROSBORG B., (2000): Long term test of buffer material. Final report on the pilot parcels. Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co.

KARLAND O., TORBJÖRN S., JOHANNESSON L., ERIKSEN T., JANSSON M., WOLD S., PEDERSEN K., MOTAMEDI M., BOSBORG B. (2000): Long term test of buffer material. Final report on the pilot parcels. SKB Technical Report TR-00-22. Svensk Kärnbränslehantering AB, Stockholm, Sweden.

KIM Y., OH J.-M., JUNG H.-Y., LEE S.Y., ROH Y., (2014): Characterization of microbial diversity of metal-reducing bacteria enriched from groundwater and reduction/biomineralization of iron and manganese. *Econ. Environ. Geol.* 47, 431–439.

KONNO U., KOUDUKA M., KOMATSU D.D., ISHII K., FUKUDA A., TSUNOGAI U., ITO K., SUZUKI Y., (2013): Novel Microbial Populations in Deep Granitic Groundwater from Grimsel Test Site, Switzerland. *Microb. Ecol.* 65, 626–637. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0184-5>

KOTELNIKOVA S., PEDERSEN K., (1998): Distribution and activity of methanogens and homoacetogens in deep granitic aquifers at Äspö Hard Rock Laboratory, Sweden. *FEMS Microbiol. Ecol.* 26, 121–134. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(98\)00028-2](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(98)00028-2)

KRUPSKAYA, V. V., et al. (2020): Buffer Properties of Bentonite Barrier Systems for Radioactive Waste Isolation in Geological Repository in the Nizhnekanskiy Massif, *Radioactive Waste* 10(1), 35–55.

KURSTEN B., CORNÉLIS B., LABAT S., VAN ISEGHEM P. (1996): Geological disposal of conditioned high-level and long-lived radioactive waste. In situ corrosion experiments. Final report SCK-CEN Report R-3121. Mol, Belgium.

LAU M.C.Y., KIEFT T.L., KULOYO O., LINAGE-ALVAREZ B., HEERDEN E. VAN, LINDSAY M.R., MAGNABOSCO C., WANG W., WIGGINS J.B., GUO L., PERLMAN D.H., KYIN S., SHWE H.H., HARRIS R.L., OH Y., YI M.J., PURTSCHERT R., SLATER G.F., ONO S., WEI S., LI L., LOLLAR B.S., ONSTOTT T.C., (2016): An oligotrophic deep-subsurface community dependent on syntrophy is dominated by sulfur-driven autotrophic denitrifiers. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, E7927–E7936. <https://doi.org/10.1073/pnas.1612244113>

LAZAR C.S., LEHMANN R., STOLL W., ROSENBERGER J., TOTSCHKE K.U., KÜSEL K., (2019): The endolithic bacterial diversity of shallow bedrock ecosystems. *Sci. Total Environ.* 679, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.281>

LEE S.Y., BAIK M.H., RYU W.C. AND J.-H., (2016): Biogeochemical Activity of Indigenous Bacteria in KURT Deep-Fracture and Subsequent Change of Adsorption Behavior

Characteristics of Radioactive Uranium 452–462.
<https://doi.org/10.12972/ksmer.2016.53.5.452>

LEVER M.A., ALPERIN M., ENGELEN B., INAGAKI F., NAKAGAWA S., STEINSBU B.O., TESKE A., (2006): Trends in Basalt and Sediment Core Contamination During IODP Expedition 301. *Geomicrobiol. J.* 23, 517–530. <https://doi.org/10.1080/01490450600897245>

LOPEZ-FERNANDEZ M., BROMAN E., TURNER S., WU X., BERTILSSON S., DOPSON M., (2018a): Investigation of viable taxa in the deep terrestrial biosphere suggests high rates of nutrient recycling. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy121>

LOPEZ-FERNANDEZ M., SIMONE D., WU X., SOLER L., NILSSON E., HOLMFELDT K., LANTZ H., BERTILSSON S., DOPSON M., (2018b): Metatranscriptomes Reveal That All Three Domains of Life Are Active but Are Dominated by Bacteria in the Fennoscandian Crystalline Granitic Continental Deep Biosphere. *mBio* 9, e01792-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01792-18>

LYDMARK S., PEDERSEN K., (2011): Äspö Hard Rock Laboratory. Canister Retrieval Test. Microorganisms in buffer from the Canister Retrieval Test – numbers and metabolic diversity. (SKB Report No. P-11-06). Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co, Stockholm, Sweden.

MAGNABOSCO C., RYAN K., LAU M.C.Y., KULOYO O., SHERWOOD LOLLAR B., KIEFT T.L., VAN HEERDEN E., ONSTOTT T.C., (2016): A metagenomic window into carbon metabolism at 3 km depth in Precambrian continental crust. *ISME J.* 10, 730–741. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.150>

MAUCLAIRE L., MCKENZIE J.A., SCHWYN B., BOSSART P., (2007): Detection and cultivation of indigenous microorganisms in Mesozoic claystone core samples from the Opalinus Clay Formation (Mont Terri Rock Laboratory). *Phys. Chem. Earth Parts ABC, Clay in natural and engineered barriers for radioactive waste confinement - Part 1* 32, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2005.12.010>

MIETTINEN H., BOMBERG M., VIKMAN M., (2015): Microbial activation due to addition of electron donors/acceptors in deep groundwaters (No. DELIVERABLE D2.5). MIND.

MIJNENDONCKX K., MIROSLAV H., WANG L., JACOBS E., PROVOOST A., MYSARA M., WOUTERS K., DE CRAEN M., LEYS N., (2019): An active microbial community in Boom Clay pore water collected from piezometers impedes validating predictive modelling of ongoing geochemical processes. *Appl. Geochem.* 106, 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.05.009>

MIJNENDONCKX K., MONSIEURS P., ČERNÁ K., HLAVÁČKOVÁ V., STEINOVÁ J., BURZAN N., BERNIER-LATMANI R., BOOTHMAN C., MIETTINEN H., KLUGE S., MATSCHIAVELLI N., CHERKOUK A., JROUNDI F., MERROUN M.L., ENGEL K., NEUFELD J.D., LEYS N., (2021): Chapter 4 - Molecular techniques for understanding microbial abundance and activity in clay barriers used for geodisposal, in: Lloyd, J.R., Cherkouk, A. (Eds.), *The Microbiology of Nuclear Waste Disposal*. Elsevier, pp. 71–96. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818695-4.00004-6>

MIRONOVA, N. (1994): *Anatomia gosudarstvennogo tsininna, Spasenie*, 11(112), 6.

MOSER D.P., GIHRING T.M., BROCKMAN F.J., FREDRICKSON J.K., BALKWILL D.L., DOLLHOPF M.E., LOLLAR B.S., PRATT L.M., BOICE E., SOUTHAM G., WANGER G., BAKER B.J., PFIFFNER S.M., LIN L.-H., ONSTOTT T.C., (2005): *Desulfotomaculum* and *Methanobacterium* spp. dominate a 4- to

5-kilometer-deep fault. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 8773–8783.
<https://doi.org/10.1128/aem.71.12.8773-8783.2005>

NAGRA (2019): Implementation of the Full-scale Emplacement Experiment at Mont Terri: Design, Construction and Preliminary Results. 2019. Nagra Technical Report 15-02.

NECIB S., DIOMIDIS N., KEECH P., NAKAYAMA M. (2017): Corrosion of carbon steel in clay environments relevant to radioactive waste geological disposals, Mont Terri rock laboratory (Switzerland). *Swiss Journal of Geosciences*, 110, 329–342.

NECIB S., LINARD Y., CRUSSET D., MICHAU N., DAUMAS S., BURGER E., ROMAINE A., SCHLEGEL M. L. (2016): Corrosion at the carbon steel–clay borehole water and gas interfaces at 85°C under anoxic and transient acidic conditions. *Corrosion Science*, 111, 242–258.

NECIB S., LINARD Y., CRUSSET D., SCHLEGEL M., DAUMAS S., MICHAU N. (2017): Corrosion processes of C-steel in long-term repository conditions. *Corrosion Engineering, Science and Technology*, 52, 127–130.

NYSSÖNEN M., HULTMAN J., AHONEN L., KUKKONEN I., PAULIN L., LAINE P., ITÄVAARA M., AUVINEN P., (2014): Taxonomically and functionally diverse microbial communities in deep crystalline rocks of the Fennoscandian shield. *ISME J.* 8, 126–138.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2013.125>

PEDERSEN K., (2017): Bacterial activity in compacted bentonites (No. D2.4). MIND.

PEDERSEN K., (1997): Microbial life in deep granitic rock. *FEMS Microbiol. Rev.* 20, 399–414.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00325.x>

PEDERSEN K., ARLINGER J., BENGTTSSON A., EDLUND J., ERIKSSON L., HALLBECK L., JOHANSSON J., PAEAEJAERVI A., RABE L., (2013): Sulphate reduction experiment: SURE-1 (No. POSIVA-WR--13-57). Posiva Oy.

PEDERSEN K., BENGTTSSON A.F., EDLUND J.S., ERIKSSON L.C., (2014): Sulphate-controlled Diversity of Subterranean Microbial Communities over Depth in Deep Groundwater with Opposing Gradients of Sulphate and Methane. *Geomicrobiol. J.* 31, 617–631.
<https://doi.org/10.1080/01490451.2013.879508>

PEDERSEN K., MOTAMEDI M., KARNLAND O., SANDÉN T., (2000): Cultivability of microorganisms introduced into a compacted bentonite clay buffer under high-level radioactive waste repository conditions. *Eng. Geol.* 58, 149–161.

PETERSON D. J. (1993): *Troubled Lands - The Legacy of Soviet Environmental Destruction*, Westview Press, CB-367, p. 144, 147.

POULAIN S., SERGEANT C., SIMONOFF M., MARREC C.L., ALTMANN S., (2008): Microbial Investigations in Opalinus Clay, an Argillaceous Formation under Evaluation as a Potential Host Rock for a Radioactive Waste Repository. *Geomicrobiol. J.* 25, 240–249.
<https://doi.org/10.1080/01490450802153314>

REDDY B., PADOVANI C., SMART N. R., RANCE A. P., COOK A., MILODOWSKI A., FIELD L., KEMP S., DIOMIDIS N. (2020): Further results on the in situ anaerobic corrosion of carbon steel and

copper in compacted bentonite exposed to natural Opalinus Clay porewater containing native microbial populations. *Materials and Corrosion*, 72, 268–281

ROBADOR A., MÜLLER A.L., SAWICKA J.E., BERRY D., HUBERT C.R., LOY A., JØRGENSEN, B.B., BRÜCHERT, V., (2016): Activity and community structures of sulfate-reducing microorganisms in polar, temperate and tropical marine sediments. *ISME J.* 10, 796–809.

ROBERTSON J., MCGOVERIN C., VANHOLSBECK F., SWIFT S., (2019): Optimisation of the Protocol for the LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit for Rapid Determination of Bacterial Load. *Front. Microbiol.* 10, 801. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00801>

ROH Y., OH J.M., RHEE S.K., YONG J.J., (2008): Microbial Diversity and Characteristics in Anaerobic Environments in KURT Groundwater. Korea Atomic Energy Research Institute.

ROH Y., RHEE S.K., OH J.M., PARK B.J., (2009): Microbial Diversity in KURT Groundwater and Biomineralization Characteristics. Korea Atomic Energy Research Institute.

SAFONOV, A. V., K. A. BOLDYREV (2019): Url in the Nizhnekanskiy Massif: Studying Biogenic Processes under Hlw Disposal Project, *Radioactive Waste* 7(2), 92–100.

SAHL J.W., SCHMIDT R., SWANNER E.D., MANDERNACK K.W., TEMPLETON A.S., KIEFT T.L., SMITH R.L., SANFORD W.E., CALLAGHAN R.L., MITTON J.B., SPEAR J.R., (2008): Subsurface Microbial Diversity in Deep-Granitic-Fracture Water in Colorado. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 143–152. <https://doi.org/10.1128/AEM.01133-07>

SANDÉN T., NILSSON U. (2020): Installation, monitoring and dismantling and initial analyses of material from LOT test parcel S2 and S3. Results from field tests. SKB Technical Report TR-20-11. Svensk Kärnbränslehantering AB, Stockholm, Sweden.

SANTELLI, C.M., BANERJEE, N., BACH, W., EDWARDS, K.J., (2010): Tapping the Subsurface Ocean Crust Biosphere: Low Biomass and Drilling-Related Contamination Calls for Improved Quality Controls. *Geomicrobiol. J.* 27, 158–169. <https://doi.org/10.1080/01490450903456780>

SMART N. R., RANCE A. P. (2009): Miniature canister corrosion experiment – results of operations to May 2008. SKB Technical Report TR-09-20. Svensk Kärnbränslehantering AB, Stockholm, Sweden.

SMART N., RANCE A., REDDY B., FENNELL P., AMEC, WINSLEY R., NDA (2012): Analysis of SKB MiniCan Experiment 3. SKB Technical Report TR-12-09. Svensk Kärnbränslehantering AB, Stockholm, Sweden.

SMART N. R., REDDY B., RANCE A. P., NIXON D. J., FRUTSCHI M., BERNIER-LATMANI R., DIOMIDIS, N. (2017): The anaerobic corrosion of carbon steel in compacted bentonite exposed to natural Opalinus Clay porewater containing native microbial populations. *Corrosion Engineering, Science and Technology*, 52, 101–112.

SMITH D.C., SPIVACK A.J., FISK M.R., HAVEMAN S., STAUDIGEL H., (2000): Tracer-Based Estimates of Drilling-Induced Microbial Contamination of Deep Sea Crust. *Geomicrobiol. J.* 17, 207–219. <https://doi.org/10.1080/01490450050121170>

STROES-GASCOYNE S., (2010): Microbial occurrence in bentonite-based buffer, backfill and sealing materials from large-scale experiments at AECL's Underground Research Laboratory.

Appl. Clay Sci., Advanced smectitic clay research 47, 36–42.
<https://doi.org/10.1016/j.clay.2008.07.022>

STROES-GASCOYNE SIMCHA, HAMON C.J., MAAK P., (2011): Limits to the use of highly compacted bentonite as a deterrent for microbiologically influenced corrosion in a nuclear fuel waste repository. Phys. Chem. Earth Parts ABC, Clays in Natural & Engineered Barriers for Radioactive Waste Confinement 36, 1630–1638. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2011.07.085>

STROES-GASCOYNE S., HAMON C.J., VILKS P., GIERSZEWSKI P., (2002): Microbial, redox and organic characteristics of compacted clay-based buffer after 6.5 years of burial at AECL's Underground Research Laboratory. Appl. Geochem. 17, 1287–1303.
[https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(02\)00020-3](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00020-3)

STROES-GASCOYNE, S., SCHIPPERS, A., SCHWYN, B., POULAIN, S., SERGEANT, C., SIMONOFF, M., MARREC, C.L., ALTMANN, S., NAGAOKA, T., MAUCLAIRE, L., MCKENZIE, J., DAUMAS, S., VINSOT, A., BEAUCAIRE, C., MATRAY, J.-M., (2007): Microbial Community Analysis of Opalinus Clay Drill Core Samples from the Mont Terri Underground Research Laboratory, Switzerland. Geomicrobiol. J. 24, 1–17. <https://doi.org/10.1080/01490450601134275>

STROES-GASCOYNE S., SERGEANT C., SCHIPPERS A., HAMON C.J., NÈBLE S., VESVRES M.-H., BARSOTTI V., POULAIN S., LE MARREC C., (2011): Biogeochemical processes in a clay formation in situ experiment: Part D – Microbial analyses – Synthesis of results. Appl. Geochem., The in situ experiment on biogeochemical processes in the Opalinus Clay at the Mont Terri Underground Research Laboratory, Switzerland 26, 980–989.
<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2011.03.007>

SVEMAR C., JOHANNESSON L.-E., GRAHM P., SVENSSON D., KRISTENSSON O., LÖNNQVIST M., NILSSON U., (2016): Prototype Repository – Opening and retrieval of outer section of Prototype Repository at Äspö Hard Rock Laboratory – Summary report (SKB report No. TR-13-22). Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co, Stockholm, Sweden.

TABOROWSKI T., CHUKHARKINA A.B.A., BLOM A., PEDERSEN K., (2019). Bacterial presence and activity in compacted bentonites (No. DELIVERABLE D2.4, v2). MIND.

TATARINOV, V. N., et al. (2019): Underground reserach laboratory: problems of geodynamic research, Radioactive Waste 6(1), 77–89.

URIOS L., MARSAL F., PELLEGRINI D., MAGOT M., (2013): Microbial Diversity at Iron-Clay Interfaces after 10 Years of Interaction Inside a Deep Argillite Geological Formation (Tournemire, France). Geomicrobiol. J. 30, 442–453.
<https://doi.org/10.1080/01490451.2012.705227>

WHITE D.C., DAVIS W.M., NICKELS J.S., KING J.D., BOBBIE R.J., (1979): Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. Oecologia 40, 51–62.
<https://doi.org/10.1007/BF00388810>

WHITE D.C., RINGELBERG D.B., (1997): Utility of the Signature Lipid Biomarker Analysis in Determining the In Situ Viable Biomass, Community Structure, and Nutritional/Physiologic Status of Deep Subsurface Microbiota, in: The Microbiology of the Terrestrial Deep Subsurface. CRC Press.

WU X., HOLMFELDT K., HUBALEK V., LUNDIN D., ÅSTRÖM M., BERTILSSON S., DOPSON M., (2016): Microbial metagenomes from three aquifers in the Fennoscandian shield terrestrial deep biosphere reveal metabolic partitioning among populations. ISME J. 10, 1192–1203. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.185>



SÚRAO

SPRÁVA ÚLOŽIŠŤ
RADIOAKTIVNÍCH
ODPADŮ

NAŠE
BEZPEČNÁ
BUDOUCNOST

info@suraao.cz | www.suraao.cz