

Metodika a technické řešení korozního experimentu

Dobrev a kolektiv

Praha, 2022

NÁZEV ZPRÁVY: Metodika a technické řešení korozního experimentu

NÁZEV PROJEKTU: Pilotní korozní experiment v PVP Bukov

IDENTIFIKACE V RÁMCI PROJEKTU:

Průběžná zpráva

ČÍSLO SMLOUVY: SO 2020–086

Dobrev D., Hofmanová E., Mendoza Miranda A. N., Kašpar V., Kouřil M., Pusztai M., Steinová J., Stoužil J., Zelinková T., Zuna M. (2022) Metodika a technické řešení korozního experimentu, SÚRAO TZ 576/2022

ŘEŠITELÉ:

ÚJV Řež, a. s.¹, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze², Technická univerzita v Liberci³, Česká geologická služba⁴

AUTORSKÝ KOLEKTIV: Dobrev D.¹, Hofmanová E.¹, Mendoza Miranda A. N.¹, Kašpar V.¹, Kouřil M.², Pusztai M.³, Steinová J.³, Stoužil J.², Zelinková T.⁴, Zuna M.¹

Jméno Příjmení

Markéta Dohnálková (SÚRAO)

4. 2. 2022

Jméno Příjmení

David Dobrev (ÚJV Řež, a. s.)

4. 2. 2022

Obsah

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Úvod | 10 |
| 2 | Koncept provádění korozních experimentů v prostředí PVP Bukov | 11 |
| 2.1 | Charakterizace rozrážky v PVP Bukov a výběr míst pro vrtý | 11 |
| 2.1.1 | Lokace a orientace experimentálních vrtů | 11 |
| 2.1.2 | Realizace experimentálních vrtů | 12 |
| 2.2 | Charakterizace vrtů | 13 |
| 2.2.1 | Geologická charakterizace | 13 |
| 2.2.2 | Zhodnocení podmínek ve vrtech | 13 |
| 2.2.3 | Charakterizace podzemní vody před instalací experimentu | 14 |
| 2.3 | Obecný popis provedení korozní zkoušky | 15 |
| 3 | Podrobná projektová dokumentace | 17 |
| 3.1 | Návrh modulů | 17 |
| 3.2 | Návrh vzorkovače | 18 |
| 3.3 | Ostatní části systému | 19 |
| 4 | Technické řešení experimentu | 20 |
| 4.1 | Příprava kovových vzorků | 20 |
| 4.2 | Příprava bentonitu | 20 |
| 4.3 | Plán vstupní charakterizace testovaných materiálů | 21 |
| 4.3.1 | Charakterizace kovových vzorků | 21 |
| 4.3.2 | Charakterizace bentonitu | 22 |
| 4.4 | Příprava modulů | 23 |
| 4.5 | Transport modulů do PVP Bukov | 24 |
| 4.6 | Plán instalace modulů do vrtů | 24 |
| 4.7 | Zahájení experimentu | 25 |
| 4.8 | Plán provozu a údržby experimentu | 25 |
| 4.9 | Monitoring experimentu | 26 |
| 4.10 | Monitorování podzemních vod | 26 |
| 4.11 | Plán vyjmutí korozních sestav | 27 |
| 4.12 | Transport modulů do laboratoře | 28 |
| 4.13 | Demontáž modulů v rukavicovém boxu | 28 |
| 4.14 | Příprava vzorků pro analýzy | 28 |
| 4.15 | Plán analýz testovaných materiálů | 29 |
| 4.15.1 | Analýzy kovových vzorků | 29 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.15.2 | Analýzy bentonitu | 30 |
| 4.15.3 | Analýzy podzemních vod | 32 |
| 5 | Předpokládané výsledky korozního experimentu | 35 |
| 5.1 | Předpokládané výsledky v oblasti koroze | 35 |
| 5.2 | Předpokládané výsledky v oblasti bentonitu | 35 |
| 5.3 | Předpokládané výsledky v oblasti podzemních vod | 37 |
| 6 | Nejistoty řešení | 39 |
| 6.1 | Nejistoty koroze | 39 |
| 6.2 | Nejistoty bentonit | 40 |
| 6.3 | Nejistoty podzemní vody | 41 |
| 6.4 | Nejistoty technického řešení a umístění vrtů | 41 |
| 7 | Reference | 43 |
| 8 | Elektronické přílohy | 46 |

Seznam použitých zkratk:

| | |
|---------------------|--|
| ASV | unikátní sekvenční varianta (amplicon sequence variant) |
| ATP | adenosin trifosfát (adenosine triphosphate) |
| BCV | bentonit z ložiska Černý vrch |
| CEC | kationtová výměnná kapacita |
| DNA | kyselina deoxyribonukleová (deoxyribonucleic acid) |
| EDU | Jaderná elektrárna Dukovany |
| EGME | ethylenglykol-monomethylether |
| Eh | redoxní potenciál, vztažený ke srovnávací (vodíkové) elektrodě |
| ETE | Jaderná elektrárna Temelín |
| HMTA | hexamethylentetramin |
| HÚ | hlubinné úložiště |
| ICP-MS | hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem |
| IRB | železo redukující bakterie (iron-reducing bacteria) |
| JE | jaderná elektrárna |
| NGS | sekvenování nové generace (next generation sequencing) |
| NRB | dusičnan redukující bakterie (nitrate reducing bacteria) |
| OES | optická emisní spektrometrie |
| OTU | operační taxonomická jednotka (operational taxonomic unit) |
| ORP | oxidačně-redukční potenciál |
| PCR | polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction) |
| PTFE | polytetrafluorethylen |
| qPCR | kvantitativní PCR (quantitative PCR) |
| SEM/EDS prvkovou | rastrovací elektronová mikroskopie s energiově disperzní analýzou |
| SAED HR-TEM | transmisní elektronová mikroskopie |
| SI | swell index |
| SRB | síran redukující bakterie (sulfate-reducing bacteria) |
| SSA | specifický měrný povrch |
| TA-EGA | termická analýza s analýzou vyvinutých plynů |
| TC | celkový uhlík |
| TIC | celkový anorganický uhlík |
| TOC | celkový organický uhlík |
| TS | celková síra |
| UOS | ukládací obalový soubor |
| VJP | vyhořelé jaderné palivo |
| XRD | rentgenová difrakční analýza |
| XRF | rentgenová fluorescenční spektroskopie |
| 16S rRNA | gen/marker pro ribozomální RNA |

Vysvětlení pojmů:

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

Abstrakt

Cílem předložené zprávy bylo metodicky popsat přípravu a provedení in-situ korozní zkoušky v PVP Bukov s materiály navrženými pro ukládací obalový soubor. Zpráva obsahuje popis aparatury, postupu charakterizace rozrážky, postup charakterizace vstupních materiálů, přípravu a instalaci experimentu, návrh plánovaných analýz vzorků a zhodnocení nejistot.

Klíčová slova

Metodika, PVP Bukov, in-situ korozní zkouška, koroze, materiály UOS, bentonit

Abstract

The aim of the report was to methodically describe the preparation and implementation of an in-situ corrosion experiment with materials of Czech canister concept at the Bukov URF. The report contains a description of the apparatus, the characterization procedure of tunnel, the materials characterization procedure, description of preparation and installation of the experiment, description of the planned analyzes and the uncertainties of the experiment.

Keywords

Methodology, Bukov URF, in-situ corrosion experiment, corrosion, canister materials, bentonite

1 Úvod

Koncept ukládacích obalových souborů (UOS) pro vyhořelé jaderné palivo v ČR je založen na použití ocelí s akceptovatelnou korozní rychlostí, které zaručí požadovanou životnost. UOS je navržen s vnějším obalem z uhlíkové oceli o definovaném chemickém složení, pevnosti a s jemnozrnnou strukturou (těmto požadavkům vyhovuje např. ocel S355J2H+N). Vnitřní pouzdra jsou navržena pro jednotlivé palivové kazety z korozivzdorné oceli 316L. Tedy pro VJP z EDU bude sedm vnitřních pouzder a pro ETE tři vnitřní pouzdra. Alternativně je stále zvažována varianta s jedním vnitřním pouzdrům z korozivzdorné oceli.

Pro ověření navrženého konceptu je potřeba provedení širokého spektra experimentálních prací s navrženými kovovými materiály, ale zároveň i ověření vlastností navrženého bentonitu. V rámci předcházejících výzkumných prací již byla ověřena řada vlastností navržených materiálů, ale obdržené výsledky je třeba doplnit i o výsledky in-situ korozních zkoušek, které nelze zcela nahradit pouze laboratorním výzkumem.

V rámci projektu *Pilotní korozní experiment v PVP Bukov* bude proto provedena dlouhodobá korozní zkouška s materiálem navrženým pro konstrukci vnějšího obalu UOS v PVP Bukov a zároveň pro srovnání s mědí Cu-OF. Předložený dokument shrnuje metodický postup, který bude v rámci tohoto projektu uplatněn pro provedení korozní zkoušky.

2 Koncept provádění korozních experimentů v prostředí PVP Bukov

2.1 Charakterizace rozrážky v PVP Bukov a výběr míst pro vrty

Na vybrané lokalitě v PVP Bukov proběhnou geologické charakterizační práce zkušební komory ZK-3J a blízkého okolí. Dokumentace bude zaměřena na strukturní popis rozrážky – výskyt, rozsah a vztah poruch a jednotlivých puklinových systémů, dále na petrografický popis – zastoupení jednotlivých horninových typů a jejich popis. Na základě těchto terénních dat bude sestaven 3D geologický model rozrážky v softwaru MOVE verze 2020.1 (Petroleum Experts) na podkladu fotogrammetrického modelu sestaveného v programu Agisoft Metashape (Agisoft LLC). V 3D modelu budou vyneseny jednotlivé dokumentované průběhy puklin, zlomů a foliací, jejich zakončení, dále rozsah jednotlivých horninových typů. Jednotlivé pukliny budou extrapolovány za rozsah komory tak, aby poskytly představu o porušení horninového masivu v jeho nejbližším okolí pro plánování vrtných prací. Na základě tohoto modelu bude ve spolupráci s ostatními řešiteli plánováno rozložení vrtných prací s vizualizací jejich průběhu.

Pro petrografický popis zkušební komory budou zhotoveny výbrusy (několik s ohledem na počet zastížených horninových typů), které budou popsány metodami optické mikroskopie a v případě, že to bude nezbytné, také pomocí elektronové mikroskopie.

2.1.1 Lokace a orientace experimentálních vrtů

S ohledem na nedostupnost dat z počvy a rohů rozrážky, bude realizován úzkoprofilový charakterizační vrt, zejména pro upřesnění průběhů poruch směrem do hloubky horninového masivu. Umístění charakterizačního vrtu bude realizováno tak, aby bylo možné validovat data získaná ze stěn zkušební komory (ověření průběhu poruch), minimalizace ovlivnění následných experimentálních vrtů a určení vhodné hloubky vrtání. Vrt bude o průměru 76 mm (jádrové vrtání), aby bylo možné provádět karotážní měření. Navržená hloubka bude určena na základě 3D strukturního modelu a nutnosti ověření strukturních prvků (navržená hloubka cca 12 m).

Pro zjištění orientace jednotlivých poruch budou provedena vybraná karotážní měření (např. televizní kamera, ABI, OBI, inklinometrie, kavernometrie). Po vyhodnocení dat z ABI/OBI budou naměřené orientace poruch vyneseny do 3D strukturně geologického modelu a validovány s daty získanými ze stěn v komoře ZK-3J.

Dalším cílem charakterizačního vrtu bude ověření metodiky čištění vrtu, čerpání a minimalizace mikrobiální kontaminace (sterilizace vrtu a instrumentace). Po odvrtání charakterizačního vrtu bude provedena geologická dokumentace vrtného jádra, důkladné vyčištění (sterilizace vrtu) a zajištěna přirozená obnova podzemní vody (opakované čerpání, obnova podzemní vody, ustálení podmínek).

Po vyčištění vrtu a dosažení přirozené obnovy podzemní vody bude provedeno hydrochemické profilování pro sledování podmínek ve vrtu a určení možných přítoků do vrtu (vodivé struktury). Měření bude dále zaměřeno na rychlost ustalování podmínek, především pak měření obsahu kyslíku (O_2) a oxidačně – redukčního potenciálu (ORP). Elektrochemické

sondy budou instalovány do vybrané hloubky a bude proveden dlouhodobý záznam měřených parametrů.

Po provedené charakterizaci a zhodnocení podmínek prostředí bude lokace vrtů stanovena na základě vybraných kritérií. Současně bude hodnocena váha jednotlivých kritérií s ohledem na cíle projektu. Nutno podotknout, že některá kritéria a požadavky jdou proti sobě. Vzdálenost a geometrie mezi vrty bude volena tak, aby byly zajištěny podobné podmínky v experimentálních vrtech (možnost srovnání) a současně nebyly vzorky navzájem ovlivněny. V úvodní části proto bude proveden základní tepelný model šíření tepla a rešerše zaměřená na vzájemné ovlivnění/ovlivnění studovaných modulů. Vhodné řešení je pak nezbytné určit na základě určení priorit dle požadavků zadavatele.

Hlavní posuzovaná kritéria:

- I. Mikrobiologie
- I. Geochemie - hydrochemie
- II. Geologie - strukturní geologie
- III. Vliv teploty
- IV. Technické / technologické kritérium

Výsledkem bude určení vhodné lokalizace, geometrie a stanovení hloubek pro provedení 11 vrtů. Návrh na provedení vrtů bude předán na SÚRAO k odsouhlasení.

2.1.2 Realizace experimentálních vrtů

Na základě charakterizace zkušební komory a okolí, výsledků měření v charakterizačním vrtu a zhodnocení dalších kritérií (technologické, mikrobiologie, geochemie, vliv teploty) budou navrženy a předloženy varianty vhodných pozic pro umístění experimentálních vrtů. Pro experimenty bude odvrtno 11 vrtů o průměru 90–250 mm v závislosti na finální podobě korozních modulů (po odsouhlasení zadavatelem). Průměr bude volen s ohledem na bezpečné zapouštění, současně s ohledem na požadovaný objem vody v okolí modulů a následný dismantling.

Hloubka vrtů bude záviset na geologických (strukturních) a na hydrochemických podmínkách ve vrtech. Po realizaci charakterizačního vrtu 76 mm bude provedeno vyčištění vrtu, přirozená obnova podzemní vody a vrt bude utěsněn (obturátorem). Následně bude provedeno opakované hydrochemické profilování a odběr mikrobiologických vzorků pro sledování vývoje ustalování přirozených podmínek ve vrtu. Plánována hloubka experimentálních vrtů bude vycházet z výsledků monitoringu hydrochemických parametrů ve vrtu S-18 (z rozrážky ZK-3S), z měření v charakterizačním vrtu (hydrochemie, karotáž, apod.) a geologické charakterizace komory. Podmínky budou následně validovány s hydrochemickým měřením v charakterizačním vrtu (76 mm).

Vrtné práce budou probíhat na základě vypracované projektové dokumentace "Realizace zkušebních vrtů v rozrážce ZK-3J". Dokumentace bude zahrnovat popis lokality, postup a požadavky vrtných prací, technologický postup vrtání, výběr použité technologie, systém značení a orientace vrtných jader, povinnosti dodavatelů aj.

Vrtné práce budou prováděny jádrovým vrtáním s vodním výplachem pomocí diamantových korunek (standardními průměry). Před vrtáním bude instrumentace důkladně očištěna a dezinfikována. Pro chlazení a výplach bude využívána anaerobní podzemní voda z vrtu

S-1, která svým složením reflektuje složení podzemní vody v oblasti PVP Bukov a je k dispozici v dostatečném množství. Voda bude načerpávána do připravené nádrže a přes průtočný filtr využívána pro chlazení vrtné korunky. Před zahájením vrtných prací bude provedeno čištění vrtných korunek/trubek pomocí tlakové vody s obsahem sterilizačního přípravku. Během vrtných prací bude kladen důraz na čistotu a přesnost prací s ohledem na minimalizaci případné kontaminace vrtů.

V průběhu vrtných prací bude prováděn vrtný dohled a veden vrtný deník dle šablony SÚRAO. Vrtná jádra budou s maximální přesností umístěna do jádrovnic, formátována a následně detailně zdokumentována (viz kapitola 2.2.1)

Po odvrtání budou vrty důkladně vyčištěny, stěny vrtu dezinfikovány, vrty opakovaně vyčerpány a následně ponechány přirozenému zaplnění a ustálení podmínek.

2.2 Charakterizace vrtů

2.2.1 Geologická charakterizace

Po odvrtání vrtných jader budou všechna jádra detailně zdokumentována a pro každé jádro bude zhotovena vrtná kolonka. Pokud to bude možné, budou jádra naskenována skenerem vrtných jader (DMT Core Scan 3). Vrtná kolonka bude sestavena v jednom ze specializovaných softwarů (LogPlot, CoreScan nebo WellCAD). Každá vrtná kolonka bude obsahovat obraz celého vrtného jádra, dokumentované poruchy (pukliny, zlomy, včetně charakteru jejich výplně), zastoupené horninové typy. Pro popis horninových typů budou odebrány vzorky z vrtných jader pro jejich detailnější charakteristiku pomocí petrologických výbrusů, které budou popsány metodami optické mikroskopie a v případě, že to bude nezbytné, také pomocí elektronové mikroskopie. Získaná data budou zaměřena na zhodnocení geologických fenoménů zastižených vrtů, podrobný popis zastižených horninových typů a charakteristiku zastižených poruch.

Po odvrtání charakterizačního vrtu (76 mm) bude provedena karotáž vrtu (ABI/OBI televize) pro určení hlavních poruch ve vrtu. Na základě výsledků bude validován 3D geologický model a navržena lokace a hloubka experimentálních vrtů (11 vrtů).

2.2.2 Zhodnocení podmínek ve vrtech

Po odvrtání a vyčištění experimentálních vrtů (1–10) bude provedeno stanovení hladiny podzemní vody ve vrtech, přítoků vody do vrtů a měření teploty vody ve vrtech. Na základě hydrochemického profilování (multiparametrickou sondou) budou stanoveny podmínky a vertikální složení podzemní vody (Eh, O₂, pH, konduktivita). Na základě hydrochemického profilování budou z vybraných hloubek např. poruchové zóny, odebrány vzorky podzemní vody pro hydrochemické analýzy.

Součástí charakterizace bude i odběr mikrobiologických vzorků pro sledování případné kontaminace a studium vývoje mikrobiologických komunit. Vzorky budou odebrány za sterilních podmínek z vybraných hloubek pomocí podtlakové filtrace (viz kapitola 4.10)

Po provedení základních odběrů budou vrty uzavřeny mechanickými obturátory (pakry), ponechány k ustálení hydrochemických podmínek a bude sledován vývoj obsahu O₂ a Eh

podmínek. V průběhu ustalování budou odebírány vzorky vody a sledovány základní hydrochemické parametry ve studovaném intervalu. Další pozornost bude zaměřena na testování vlivu odběrů vzorků vody z uzavřených intervalů na změny hydrogeologických, hydrochemických podmínek a reakce mikrobiologických komunit. Na základě těchto testů bude optimalizováno odběrové schéma s cílem minimalizování vlivu odběrů na ustálené podmínky a jejich zachování.

Na základě výsledků analýz podzemních vod a provedených měření bude hodnocen stav ve vrtech a případně budou opakována měření. Hodnocení bude prováděno na základě fyzikálně-chemických parametrů a zároveň s ohledem na vývoj mikrobiálního osídlení ve studovaných vrtech. Časový vývoj bude průběžně konzultován se SÚRAO, aby bylo případně možné adekvátně reagovat na vývoj situace. Cílem je dosažení ustáleného stavu systému. Pokud by se situace vyvíjela tak, že budou stále ještě významné změny v systému a zároveň bude hrozit překročení termínů harmonogramu, bude další postup řešen se SÚRAO.

V případě, že v ustáleném stavu bude dle smlouvy SO2020-086 koncentrace kyslíku v podzemní vodě jednotlivých vrtů více než 1 % a v čase nebude koncentrace kyslíku dále klesat, tak bude experiment ukončen.

Výstupem bude zpráva Charakterizace rozrážky v PVP Bukov.

2.2.3 Charakterizace podzemní vody před instalací experimentu

Charakterizace podzemní vody před samotnou instalací bude prováděna za účelem zjištění elektrochemických parametrů pH, oxidačně redukčního potenciálu, vodivosti a zbytkového kyslíku, jehož hodnota musí být před samotnou instalací pod 1 %. Dále budou odebírány vzorky podzemních vod pro hydrochemické analýzy a mikrobiologické analýzy pro určení počátečního stavu systému. Odběry podzemních vod pro následné analýzy budou provedeny v hloubce předpokládaného umístění korozních sestav tak, aby byl minimalizován vliv na sledovaný systém, tedy odebrané množství bude minimalizováno na objemy nutné pro analýzy. Příprava aparatury pro odběr podzemních vod bude v souladu s mikrobiologickými požadavky viz níže. V rámci mikrobiologických analýz bude využito mikrobiologické hloubkové profilování v charakterizačním vrtu a doplňující odběry pro mikrobiologickou charakterizaci okolí rozrážky. Celkem bude vyhodnoceno 10 vzorků, z toho 7 vzorků z charakterizačního vrtu a 3 vzorky z okolních zdrojů podzemní vody. V případě charakterizačního vrtu bude první vzorek odebrán bezprostředně po vyčištění, vyčerpání a opětovném přirozeném nastoupení hladiny vody ve vrtu. Při vrtání i čištění charakterizačního vrtu bude z důvodů minimalizace problematických mikrobiálních kontaminací využita voda z vrtu S1 a zároveň veškeré odběry proběhnou s důkladně sterilizovanou instrumentací (chemicky - FreeBact, Xinix či autoklávováním), což je z hlediska návazných mikrobiologických analýz nezbytné. Následně bude probíhat ustalování podmínek ve vrtu. Jakmile budou podmínky ustálené, dojde k odebrání trojice vzorků z hloubek 2, 4 a 6 m. Poté bude vrt zapakrován a poslední odběr (ze stejných hloubek) proběhne v době, kdy ve vrtu poklesne hladina kyslíku pod měřitelnou úroveň. Postup odběru vzorků viz kapitola 4.10. Postup zpracování vzorků viz kapitola 4.15.3.

2.3 Obecný popis provedení korozní zkoušky

Korozní zkouška v PVP Bukov je ideově myšlena k ověření vlastností vybraných materiálů pro český koncept ukládacího obalového souboru (UOS), který je založen na vnějším obalu z uhlíkové oceli a vnitřních pouzdech z korozivzdorné oceli pro jednotlivé palivové kazety. Vnitřní pouzdra z korozivzdorné oceli budou tři pro palivo z reaktorů typu VVER1000 a sedm pro palivo z reaktorů VVER440. Jde tedy o koncept, kdy uhlíková ocel tvoří vnější kovový obal ukládacího obalového souboru a je ochrannou bariérou pro období, kdy zvýšená povrchová teplota UOS zvyšuje riziko lokalizované koroze vnitřních pouzder z korozivzdorné oceli. Podmínky, za kterých bude korozní zkouška provedena, jsou voleny tak, aby byly na straně konzervativního řešení tedy: korozní zkouška bude probíhat při zvýšené teplotě za anaerobních podmínek. Prostředí je voleno tak, aby simulovalo předpokládané podmínky v hlubinném úložišti (HÚ) po cca 100 letech od uložení UOS. Korozní vzorky budou umístěny do kompaktovaného bentonitu českého původu a pro srovnání výsledků i do bentonitu typu Wyoming. Český kandidátní bentonitový materiál je z ložiska Černý vrch, označovaný jako BCV 2017 zkráceně BCV (materiálový list viz Příloha 1). Jako referenční bentonitový materiál byl zvolen BARA KADE® 200 mesh (materiálový list viz Příloha 2), označovaný dále jako BARA KADE. Kromě ocelí navržených pro český koncept UOS bude použita pro srovnání v experimentu i měď Cu-OF, která je akcentována v jiných konceptech, a bude tak ověřována za stejných podmínek jako uhlíková ocel.

Příprava experimentu bude probíhat v laboratorních podmínkách s finální fází v rukavicových boxech, kde bude za anaerobních podmínek provedeno předsycení vzorků pro minimalizaci intruze kyslíku do modulů se vzorky v průběhu instalace do vrtů. Transport modulů se vzorky do PVP Bukov bude probíhat pod argonovou atmosférou, aby se zamezilo přístupu kyslíku k modulům.

Vrty, do kterých budou instalovány moduly se vzorky, budou po odvrtání utěsněny mechanickými obturátory a bude prováděno monitorování podzemních vod ve vrtech. Po ustálení podmínek chemických i mikrobiologických bude provedena instalace modulů. Při instalaci modulů bude minimalizován čas, kdy budou moduly vystaveny vzdušnému kyslíku. Moduly budou umístěny pod vzorkovačem podzemních vod a vrty budou utěsněny opět mechanickým obturátorem. Skrz obturátory budou vyvedeny kabely a kapiláry od vzorkovače. Po instalaci sestav do vrtů bude provedeno zapojení čidel teploty a topných patron do rozvaděčů vytápění. Topení bude regulováno na 70 °C v pozici umístění vzorků. Tato teplota je volena s ohledem na pokles teploty v čase po období, kdy nejsou dávkové příkony na povrchu UOS zanedbatelné (cca 100 let od uložení UOS). Zároveň má korozní zkouška simulovat anaerobní fázi vývoje úložiště při zvýšené teplotě, tedy neuvažujeme teploty k hraničním 95 °C na rozhraní UOS bentonit po uložení UOS, neboť předpokládáme v tomto období aerobní podmínky s vlivem ionizujícího záření na systém.

Regulace teploty bude vzdáleně monitorována a bude jistěna bezpečnostními prvky proti nekontrolovatelnému ohřevu. Kromě toho budou monitorovány i výpadky elektrické sítě, aby bylo možné v dostatečně krátké době reagovat na tyto události.

V průběhu celého experimentu bude prováděno monitorování podzemních vod s periodou, která bude záviset na vývoji podmínek ve vrtech. Předpokládáme, že po zahájení experimentu bude perioda 3krát do roka a následně se bude snižovat, aby se minimalizovaly zásahy do systému (za předpokladu ustálených podmínek).

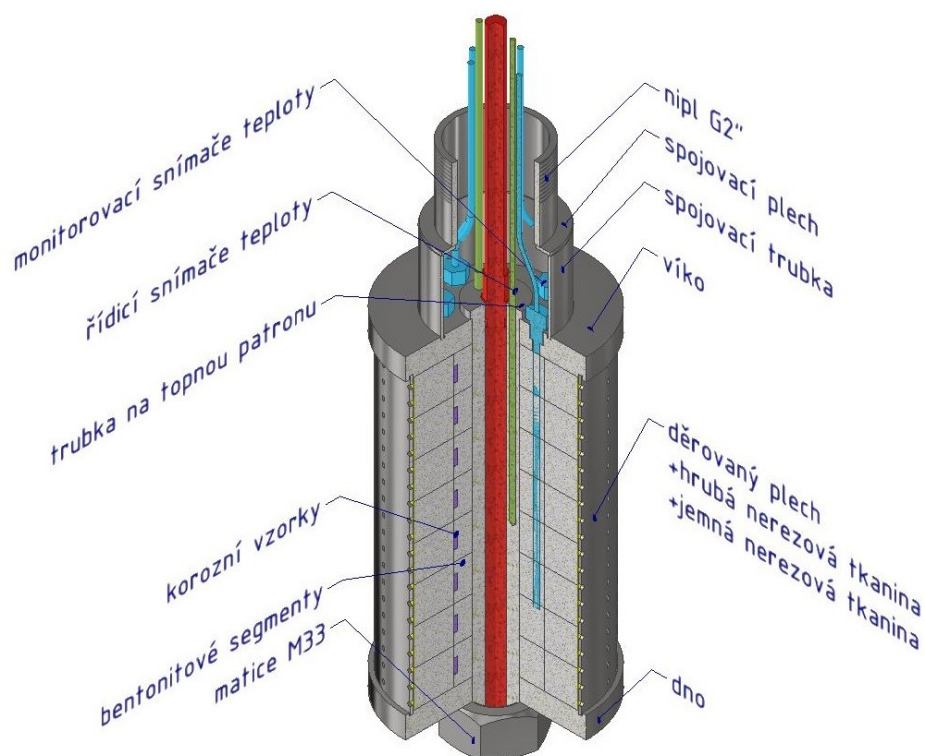
Korozní zkoušky budou po jejich zahájení probíhat po dobu 1, 3, 5, 7 a 10 let. Po jejich ukončení budou moduly převezeny pod argonovou atmosférou do rukavicových boxů, kde bude provedena jejich demontáž. Kovové vzorky včetně vzorků bentonitů budou v rukavicových boxech připraveny pro následné analýzy.

Po provedení analýz bude provedeno jejich vyhodnocení a zpracování ve formě technických zpráv.

3 Podrobná projektová dokumentace

3.1 Návrh modulů

Schéma modulu je zobrazeno na Obr. 1.



Obr. 1 Návrh modulů pro korozní zkoušku v PVP Bukov

Všechny díly modulu budou vyrobeny z korozivzdorné oceli. Základ jednotlivých modulů tvoří trubka na topnou patronu o vnějším průměru 33 mm, na kterou bude navlečeno víko o tloušťce 15 mm a vnějším průměru 125 mm. Na trubku budou postupně navlékány šestiúhelníkové bentonitové segmenty o výšce 25 mm, které budou předem nalisovány pomocí vyvinutého lisovacího přípravku. Nejdříve budou navlečeny vnitřní šestiúhelníky (šířka 58 mm), do kterých budou předem vyfrézovány otvory a do nich vsazeny korozní vzorky o průměru 10 mm a tloušťce cca 2,5 mm. V každém "patře" tedy může být umístěno až 6 vzorků. Hloubka frézování bude upravena podle skutečných rozměrů jednotlivých korozních vzorků. Na vnitřní šestiúhelníky budou poté nasazeny šestiúhelníky vnější (vnější průměr 113 mm). Rozměry bentonitových segmentů jsou voleny tak, aby vnitřní líc korozního vzorku byl umístěn ve vzdálenosti 10 mm od povrchu trubky na topnou patronu. Po vyskládání všech pater modulu budou bentonitové segmenty obaleny jemnou filtrační tkaninou z korozivzdorné oceli (mesh 322 × 1900), která zafixuje bentonit uvnitř modulu, a poté hrubou tkaninou (mesh 24 × 110), která bude napomáhat rozvodu vody po obvodu modulu. Vnější povrch modulu bude poté uzavřen pláštěm z ohýbaného děrovaného plechu (vnější průměr 119 mm). Na středovou trubku bude navlečeno dno o tloušťce 15 mm a vnějším průměru 125 mm, pomocí matice M33 bude dno utaženo a tím bude celý modul uzavřen. Příruba trubky na topnou patronu bude pomocí TIG svařování nebo stříbrné pájky utěsněna oproti víku. Modul bude následně po obvodu stažen nerezovými sponami W4 se šířkou pásky 12 mm, aby bylo jisté, že nedojde k deformaci pláště vlivem vybobtnání bentonitu.

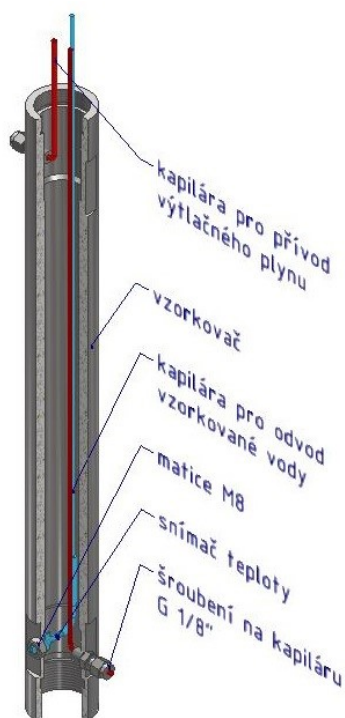
Po smontování modulu budou skrz díry ve víku vyvrtány otvory, do kterých budou vsazeny monitorovací snímače teploty se senzorem Pt100/Pt1000. Budou použity dvě délky snímačů (délka měřicí části 60 mm a 160 mm) tak, aby vždy jeden snímač monitoroval teplotu v horní třetině modulu a jeden v dolní třetině modulu. Osově symetricky budou umístěny snímače záložní, které budou použity v případě výpadku snímačů hlavních. Radiální umístění snímačů je voleno na roztečné kružnici shodné s korozními vzorky. Závity snímačů budou utěsněny stříbrnou pájkou.

Do těla trubky na topnou patronu budou poté vsazeny řídicí snímače teploty (stejně jako v případě monitorovacích snímačů dvojice hlavní + záložní) se senzorem Pt100/Pt1000 o délce 140 mm a topná patrona (průměr 14,5 mm, délka 247 mm, výkon cca. 300 W). Pro lepší přenos tepla bude použita teplovodivá pasta.

Po osazení čidel bude do drážky ve víku vsazen spojovací svařenec nipl-spojovací plech-spojovací trubka, který bude pomocí TIG svařování spojen s víkem.

3.2 Návrh vzorkovače

Schéma vzorkovače vody je zobrazeno na Obr. 2.



Obr. 2 Návrh vzorkovače pro odběr podzemních vod

Základ vzorkovače tvoří trubka z korozivzdorné oceli o vnitřním průměru 56 mm, vnějším průměru 70 mm a délce 400 - 500 mm. Délka byla zvolena tak, aby bylo dosaženo optimálního poměru odebíraného vzorku vůči objemu vody v zapakrovaném intervalu. Trubka bude na obou koncích opatřena vnitřními závity G 2" pro připojení k pakru a ke koroznímu modulu. Těsnění obou závitů bude z důvodu rozebíratelnosti a eliminaci použití plastů provedeno pomocí olověné fólie. Ve stěně trubky budou připraveny závitové průchodky G 1/8" pro připojení šroubení na kapiláry. Šroubení budou po dotažení k vzorkovači zatěsněna stříbrnou pájkou. Šroubením budou následně provlečeny kapiláry, které budou pomocí ferulek utěsněny.

Horní kapilára bude sloužit pro přívod výtlačného plynu, spodní kapilára bude sloužit pro odvod vzorkované vody. Obě kapiláry budou opatřeny ventily, které zaručí těsnost v době mezi vzorkováními. Ve stěně vzorkovače bude dále připraven otvor pro vsazení pravoúhlého snímače teploty se senzorem Pt100/Pt1000 a přípojovacím závitem M8, který bude zevnějšku vzorkovače upevněn pomocí matice. Matice bude poté zajištěna pomocí stříbrné pájky.

3.3 Ostatní části systému

Pro regulaci ohřevu systému bude vyroben rozvaděč vytápění, který bude splňovat vyhlášku ČBÚ č.22/1989 Sb. v platném znění, vyhlášku ČBÚ č.75/2002 Sb. v platném znění a platné ČSN, zákon č. 22/1997, nařízení vlády č. 17/2003, bude provedena výchozí revize. Bude vypracována projektová dokumentace elektro projektantem potvrzeným báňským úřadem. Stupeň krytí rozvaděče vytápění bude minimálně IP 44.

Rozvaděč vytápění bude osazen deseti regulátory teploty s polovodičovými relé. Pomocí nich bude udržovaná stabilní teplota v trubce s topnou patronou, která bude nastavena na takovou hodnotu, aby na vzorcích bylo 70 °C. Kontrola teploty na vzorcích bude prováděna nezávislými čidly teploty. Spouštění topných patron bude řešeno přes polovodičová relé, která budou spínána pomocí regulátorů teploty. Celý systém topení bude jistěn proti nekontrolovanému ohřevu a v případě poruch bude topení automaticky vypnuto a bude nutné ho manuálně znovu spustit.

Dále bude mít rozvaděč vytápění zabudovaný systém pro kontrolu výpadků el. proudu, aby bylo možné tyto výpadky včas detekovat a minimalizovat čas, kdy systém nebude topit. Součástí rozvaděče bude i datová ústředna pro záznam teplot od firmy Comet, která umožní vzdálený monitoring teplot.

4 Technické řešení experimentu

4.1 Příprava kovových vzorků

Kovové vzorky budou vyrobeny z materiálu S355J2H+N, který dodala Škoda JS. Materiál byl dodán ve tvaru desky se svarem. Svar provedla Škoda JS v rámci projektu *Výzkum a vývoj ukládacího obalového souboru do stádia realizace vzorku*. Vzorky budou ve tvaru disku o průměru 1 cm a tloušťce 2,5 mm. Vzorky budou broušeny brusným papírem zrnitosti P80. Poté budou očištěny pod vodou pomocí kartáče, omyty lihem a okamžitě usušeny. Vzorky budou před expozicí zváženy na analytických vahách s přesností 1 μg . Značení vzorků bude provedeno pomocí gravírování. Před vážením a před expozicí budou vzorky uloženy v exsikátoru při relativní vlhkosti nižší než 25 %. Pro každou kombinaci typ bentonitu a doba expozice bude připraveno 12 ks vzorků základního materiálu a do českého bentonitu i 12 ks vzorků svaru, celkem tedy 120 ks vzorků základního materiálu a 60 ks vzorků svaru.

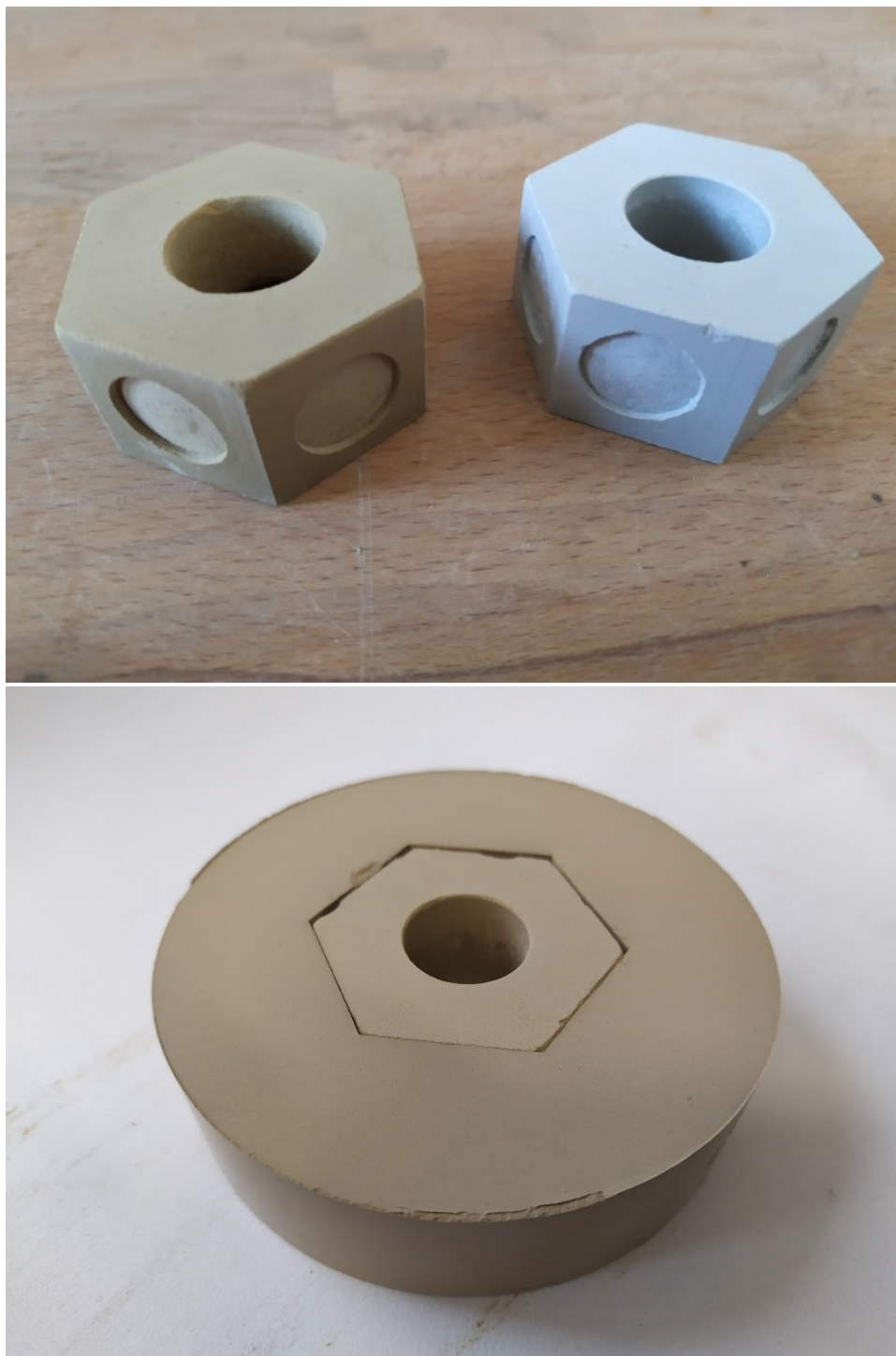
Kromě oceli S355J2H+N budou pro srovnání do bentonitu BARA KADE umístěny i vzorky mědi, konkrétně se bude jednat o měď Cu-OF (EN1652/1997) testovanou ve výše uvedeném projektu. Vzorky budou vyrobeny z plechu dodaného Škodou JS a opět se bude jednat o disky o průměru 1 cm, ale tloušťky 1 mm (tloušťka plechu). Příprava vzorků před experimentem proběhne stejně jako v případě oceli. Pro bentonit BARA KADE a konkrétní dobu expozice bude připraveno 12 vzorků, tedy pro pět modulů celkem 60 ks vzorků.

4.2 Příprava bentonitu

Bentonity BCV a BARA KADE budou nejprve homogenizovány a poté bude stanovena jejich přirozená vlhkost. Na základě stanovených hodnot vlhkostí budou provedeny korekce na navážky pro lisování jednotlivých segmentů. Požadovaná suchá objemová hmotnost segmentů je po nabobtnání do rozměrů modulů 1600 kg m^{-3} . Tato hodnota byla zvolena z důvodu navázání na předchozí experimentální práce. Lisování bude prováděno jednoose v hydraulickém lise bez použití lubrikačních prostředků.

Pro sestavení modulů bude nutné provést lisování bentonitu tak, aby byly vůle pro sestavení modulů. Proto bude při lisování navážka bentonitu pro skutečné rozměry modulů lisována do menších objemů, takže reálná hodnota suché objemové hmotnosti výlisků bude větší než požadovaných 1600 kg m^{-3} . Požadované hodnoty bude dosaženo až po nabobtnání bentonitu do rozměrů modulů.

Bentonity se budou lisovat do segmentů tvaru vnějšího a vnitřního šestiúhelníku, viz Obr. 3. Do stran šestiúhelníků budou poté frézovány drážky pro umístění vzorků. Jednotlivé segmenty budou tedy obsahovat 6 ks vzorků na 2,5 cm výšky bentonitu. Všech 12 ks vzorků stejného typu bude tedy ve dvou patrech těsně nad sebou. Mezi jednotlivými typy vzorků budou umístěny dva segmenty daného typu bentonitu bez vzorků, tedy celková distanční vzdálenost mezi jednotlivými vzorky bude 6,5 cm.



Obr. 3 Ilustrační obrázek lisovaných šestiúhelníků. Nahoře vnější šestiúhelníky (vlevo BCV, vpravo BARA KADE) a dole vnější šestiúhelník ve vnitřním šestiúhelníku

4.3 Plán vstupní charakterizace testovaných materiálů

4.3.1 Charakterizace kovových vzorků

V rámci charakterizace kovových vzorků bude připraveno i několik vzorků materiálu pro stanovení mikrostrukturního stavu uhlíkové oceli S355J2H+N a mědi. Vzorky budou odebrány

ve všech 3 navzájem kolmých rovinách za účelem stanovení izotropie mikrostruktury. Vzorky budou zality do akrylátové pryskyřice, broušeny až na brusný papír zrnitosti P1200 a následně leštěny pomocí diamantové pasty o zrnitosti 3 μm . Po omytí budou vzorky oceli naleptány 2% Nitalem (roztok kyseliny dusičné v ethanolu) a vzorky mědi roztokem chloridu železitého (5 g chloridu železitého, 50 ml kyseliny chlorovodíkové a 100 ml vody) a mikrostruktura pozorována pomocí metalografického monokulárního mikroskopu.

Prvkové složení materiálů bude ověřeno pomocí rentgenové fluorescenční spektroskopie (XRF) a optické emisní spektrometrie (OES). Vzorky budou také doplňkově analyzovány pomocí rentgenové difrakce (XRD) a rastrovací elektronové mikroskopie s energiově disperzní prvkovou analýzou (SEM/EDS). Drobné karbidické částice budou případně identifikovány pomocí fázové difrakční analýzy metodou transmisní elektronové mikroskopie (SAED HR-TEM).

4.3.2 Charakterizace bentonitu

Vybrané testované bentonitové materiály je žádoucí zcharakterizovat před jejich instalací do in-situ experimentu. Srovnáním s analýzami provedených na bentonitových materiálech v plánovaných časových intervalech in-situ experimentu bude poté možné vyvozovat výsledky o případných změnách, které proběhly v bentonitu. Tento oddíl shrnuje vybrané metodiky, které budou použity k úvodní charakterizaci bentonitů, kapitola 4.15.2 pak nastiňuje plán analýz na bentonitových vzorcích odebraných z in-situ experimentu. Předpokládané výsledky z oblasti chování bentonitu aplikovaných v in-situ podmínkách řeší kapitola 5.2.

Mezi plánované analýzy k úvodní charakterizaci bentonitů byly vybrány následující metodiky, které jsou popsány detailněji z důvodů např. lišící se přístup v postupu od jiných autorů, existence alternativní metody poskytující stejný výsledek apod.:

- Rentgenová fluorescenční spektroskopie (XRF)

Prášková rentgenová fluorescenční spektroskopie je jednoduchá a rychlá metoda stanovení prvkového složení studovaného materiálu. Chemické složení lze vyjádřit jako hmotnostní obsah jednotlivých prvků nebo ve formě ideálních oxidů.

- Stanovení obsahu specií uhlíku a síry (TOC, TIC a TS)

Z pohledu koroze je zájmovou specií organický uhlík, který může sloužit jako živina pro mikrobiálně indukovanou korozi, dále pak sulfid nebo sulfid metabolicky zpracovaný mikrobiální činností ze síranu způsobující tzv. sulfidickou korozi. Stanovení obsahu specií uhlíku bude provedeno pomocí spalování vzorku za vysokých teplot s monitoringem na příslušném analyzátoru.

- Termická analýza s analýzou vyvinutých plynů (TA-EGA)

Termická analýza s analýzou vyvinutých plynů je nadstavbová metoda ke stanovení obsahu specií uhlíku a síry. Poskytuje komplexnější informace, avšak bez kvantifikace jednotlivých složek. Při zahřívání studovaného prášku v Al_2O_3 kelímku až do 1000 $^\circ\text{C}$ v běžné nebo argonové atmosféře se sledují změny hmotnosti (výstupy jsou TG nebo dTG křivky), změny teplot mezi vzorkem a standardem při ohřevu (výstupem je DTA křivka) a vznik vyvinutých plynů (např. H_2O , CO_2 , SO_3 apod.) pomocí přidružené hmotnostní spektrometrie.

- Prášková difrakční rentgenová analýza (XRD)

Prášková difrakční rentgenová analýza bude provedena s cílem získání pouze semikvantitativního složení. Podrobnější analýza s cílem detailního stanovení expandabilních struktur bude provedena až ve fázi analýz reálných vzorků z in-situ experimentu.

- Analýza vyluhovatelných iontů

V úvodní charakterizaci bude provedena analýza vyluhovatelných iontů v aerobních podmínkách. Přirozeně vlhký prášek bentonitu o známé vlhkosti bude smíchán v různém poměru fází s deionizovanou vodou (od min. 20 do max. 400 g/l). Suspenze budou třepány po dobu 28 dní. Po centrifugaci suspenzí budou odebrány supernatanty, které budou následně zfiltrány přes membránový filtr 0,22 μm a poté podrobeny stanovením koncentrací základních iontů a elektrochemických parametrů (pH, elektrická vodivost).

- Kationtová výměnná kapacita (CEC)

Kationtová výměnná kapacita (CEC) je vhodným indikátorem obsahu montmorillonitu (pokud v materiálu není přítomen další kationtový měnič). CEC bude stanovena pomocí certifikované metodiky (Červinka 2014) s využitím Cu(II)-triethyltetraminu. Výstupem jsou jednak hodnoty CEC odvozené z úbytku mědi (s indexem metody stanovení, CEC_VIS s využitím spektrofotometrie a CEC_AAS s využitím atomové absorpční spektrometrie) a ze sumy vytěsněných kationtů (tzv. CEC_sum), ale i zastoupení jednotlivých kationtů na výměnných pozicích montmorillonitu. Důležité při vyhodnocení je i sledování rozdílů mezi jednotlivými hodnotami CEC. Vyšší hodnoty CEC_sum oproti CEC_VIS či CEC_AAS mohou značit přítomnost rozpustných minerálních fází. Množství a složení rozpustných minerálních fází se získá pomocí analýzy vyluhovatelných iontů (viz níže).

Jak zmiňuje Svensson et al. (2019), opakovatelnost metody CEC s využitím Cu-trienu byla dobrá, ale měla méně dobrou reprodukovatelnost (měření při různých příležitostech). Doporučuje analyzovat všechny vzorky, které mají být porovnávány, najednou v jedné sadě. Protože toto stanovení není náročné, bude tento přístup zvolen i v tomto projektu. Vstupní materiál bude měřen vždy i při měření vzorků z in-situ experimentu v případě stanovení:

- Specifický měrný povrch (SSA)
- Swell index (SI)

Tato stanovení budou podobně jako stanovení CEC prováděna v sadě s reálnými vzorky z in-situ experimentů. Detailnější postup obou stanovení je popsán v kap. 4.15.2.

- Mikrobiologická charakterizace

Bentonity vstupující do experimentu budou předem mikrobiologicky charakterizovány za využití molekulárně-genetické analýzy DNA, a to stejným způsobem, jaký bude popsán v kapitole 4.15.2. Kromě přímé izolace DNA z dodaného práškového bentonitu se v případě nedostatečnosti této metody (příliš nízký výtěžek DNA) provede screening přirozeného oživení bentonitu s využitím krátkodobé kultivace v suspendovaném stavu tak, aby bylo možno toto oživení detekovat.

4.4 Příprava modulů

Montáž a kompletace modulů proběhne za aerobních podmínek v laboratoři. V prvním kroku budou kovové spoje modulů, které budou navazovat na vzorkovače, svařeny/pájeny pro zajištění jejich těsnosti. Na střední část bude poté postupně instalován kompaktní bentonit

se vzorky, který bude obalen filtrační tkaninou (jemnou a hrubou). Poté budou na moduly instalovány vnější pláště a systém bude fixován víkem a maticí. Do uzavřených modulů s bentonitem budou provedeny vývrty pro umístění čidel teploty. Spoje mezi čidly teploty a víky modulů budou pájeny, aby byla zajištěna jejich těsnost.

Kompletované moduly budou přeneseny do rukavicových boxů, kde budou ponechány po dobu minimálně 7 dnů pro odstranění zbytkového kyslíku a poté budou po dobu minimálně 14 dnů syceny v odkysličené demineralizované vodě. Vzhledem k nízké salinitě podzemních vod v PVP Bukov je volba demineralizované vody vhodnou a snadnou náhradou. Z výsledků systematického výzkumu zaměřeného na transport specií v nasyceném kompaktním bentonitu vyplynulo, že složení bentonitové pórové vody není výrazně ovlivněno roztokem použitým k nasycení bentonitového vzorku (Hofmanová et al. 2019). Po zvolené době sycení budou moduly zabaleny do pytlíků uzavřených zatavením a budou vyjmuty z rukavicových boxů do transportních pouzder naplněných argonem.

Takto bude připraveno 5 modulů s bentonitem BCV se vzorky uhlíkové oceli a jejího svaru. Bude také připraveno 5 modulů s bentonitem BARA KADE se vzorky uhlíkové oceli a mědi. Každý modul bude obsahovat 12 ks vzorků daného typu tedy celkem 24 ks vzorků v jednom modulu.

4.5 Transport modulů do PVP Bukov

Transport modulů bude proveden v uzavřených transportních pouzdrech naplněných argonem s mírným přetlakem. Transport bude naplánován v souladu s plánovanou instalací modulů do vrtů a časově sladěn s plánovaným předsycením modulů.

4.6 Plán instalace modulů do vrtů

Pro instalaci modulů do vrtů bude nutné splnit podmínku maximálního obsahu kyslíku ve vrtech, která činí dle smlouvy SO2020-086 1 %. Dále bude sledováno ustálení podzemní vody ve vrtech z hlediska chemického složení, elektrochemických parametrů a mikrobiální komunity. Instalace by měla proběhnout za relativně ustálených podmínek systému. V případě, že by docházelo v systému k výrazným změnám v časovém horizontu blízkém se konci dílčího plnění dle harmonogramu, bude situace řešena se SÚRAO a s ohledem na stav systému bude po odborné diskuzi navrženo, zda instalaci posunout nebo provést v termínu dílčího plnění.

Před samotnou instalací modulů do vrtů bude provedena instalace rozvaděčů vytápění a bude provedeno jejich zprovoznění. Poté bude postupně do jednotlivých vrtů provedena instalace modulů se vzorky. V prvním kroku bude provedeno vzorkování podzemních vod, následovat bude postupné vyjmutí mechanických obturátorů se vzorkovači. Ke vzorkovačům bude namontován modul se vzorky. Při instalaci modulů na vzorkovače budou moduly vystaveny vzdušnému kyslíku a cílem bude tuto dobu minimalizovat.

Kabely budou vyvedeny skrz mechanický obturátor ven a budou umístěny v ochranném opletu, aby nedošlo k jejich poškození během instalace sestavy do vrtu. V daný časový interval bude otevřen vždy pouze jeden vrt a po jeho uzavření bude následovat instalace do dalšího vrtu. Při instalaci kompletních sestav zpět do vrtů bude po celou dobu prováděno jištění systému proti pádu pomocí samosvorných kleští s řetězem.

Po instalaci do vrtu bude provedeno napuštění systému argonem pro ověření těsnosti mechanického obturátoru. V případě zjištění netěsností bude mechanický obturátor utažen. Nakonec bude systém přes vzorkovač propláchnut argonem a bude v něm ponechán mírný přetlak argonu (do 0,5 bar). Ústí pakrového systému bude zatištěno pomocí tlakové průchodky a bude tak možné vnitřní část pakru napustit argonem pro zamezení průniku O₂.

Čidla teploty a topné patrony budou zapojeny do rozvaděčů vytápění a ověří se funkčnost celého systému.

4.7 Zahájení experimentu

Dlouhodobý korozní experiment je plánován na 1, 3, 5, 7 a 10 let. K jeho zahájení bude přistoupeno až po instalaci všech modulů do vrtů. V prvním kroku bude zahájeno topení na nižší teplotu (cca 40 °C) pro ověření celého systému. Tato teplota bude ponechána do ustálení na pozici umístění vzorků v bentonitu pravděpodobně do druhého dne. Poté bude postupně teplota navyšována až na cílových 70 °C na pozici vzorků (teplota regulovaná ve středu u topidla bude vyšší v závislosti na chování systému). Jakmile budou systémy ustáleny na teplotě 70 °C, bude experiment prohlášen za zahájený. Lze předpokládat, že v průběhu pár dní od zahájení experimentu nastane mírný posun teploty na pozici vzorků s ohledem na probíhající stabilizaci celého systému (snížení saturace bentonitu u topidla, ohřev teploty okolo modulů, změna teploty horniny v blízkosti modulů) a bude nutné teplotu doregulovat. Celkové ustálení celého systému může být i v řádu několika měsíců.

Po zapuštění modulů bude spuštěno monitorování teplot pro vzdálenou kontrolu experimentu.

4.8 Plán provozu a údržby experimentu

Experiment bude probíhat ve vlhkém prostředí PVP Bukov a bude pravidelně vizuálně kontrolován při odběru podzemních vod. Kontrolován bude stav aparatury s ohledem na korozi jednotlivých částí, bude měřen tlak v systému pro ověření těsnosti mechanických obturátorů, bude prováděna kontrola rozvaděče vytápění s ohledem na jeho možnou korozi. Zároveň bude kontrolován stav elektrosoučástek aparatury a případně budou vyměněny.

Všechna relé v aparatuře budou polovodičová z důvodu lepší životnosti oproti mechanickým relé. S ohledem na zkušenosti z projektu MaCoTe, kde začalo docházet k problémům s mechanickými relé cca po třech letech experimentu, bude po pěti letech experimentu zvážena výměna některých elektrosoučástek za nové.

Systém bude vybaven monitoringem výpadků elektrické sítě, který umožní kontrolu i mimo areál PVP Bukov. V případě výpadků elektrické sítě bude systém topení nastaven tak, že po obnově dodávek elektřiny nebude topit a bude nutné opět manuálně zahájit topení. Tento způsob je zvolen z důvodu dřívějších zaznamenaných poruch regulátorů teploty po výpadcích sítě, které vedly k neregulovanému topení systémů. Vzhledem k tomu, že vznik takovéto poruchy není zcela predikovatelný, je z hlediska ovlivnění systému lepší netopení systému než nekontrolovaný ohřev, který by vedl ke ztrátě experimentu. Proti nekontrolovatelnému ohřevu bude navíc systém vybaven jištěním, které vypne topení systému při překročení limitních teplot.

4.9 Monitoring experimentu

Monitorování experimentu bude prováděno kontrolou teplot na pozicích vzorků přes vzdálený přístup. Toto monitorování bude probíhat průběžně po celou dobu experimentu. Zároveň bude fyzicky prováděna kontrola při odběru podzemních vod. V případě zaznamenání problémů budou tyto operativně řešeny.

4.10 Monitorování podzemních vod

Monitoring podzemních vod bude prováděn ve všech 11 vrtech po dobu 12 let od provedení vrtných prací. Počet odběrů je dle smlouvy SO2020-086 stanoven na tři ročně s možností jejich snížení na dva a jeden v případě obdobných výsledků třikrát, resp. pětkrát, po sobě. Kromě podmínek pro snížení počtu vzorkování definovaných smlouvou bude nutné brát v potaz i ovlivnění systému samotným odběrem podzemních vod. Pokud by v některém vrtu po odběru podzemních vod docházelo k nárůstu kyslíku vlivem transportu okysličené vody puklinovým systémem, bude potřeba zvážit případné snížení počtu odběrů ve specifickém vrtu, který by byl takto ovlivněn.

V první fázi po odvrtání vrtů budou odběry prováděny pomocí standardních vzorkovacích zařízení určených pro podzemní práce. Následovat bude poté osazení vrtů vzorkovači vyrobenými dle technického návrhu. Pomocí vzorkovačů bude probíhat monitorování podzemních vod až do konce projektu.

Odběr vzorků podzemních vod pomocí vzorkovačů je řešen přes vytlačování vody z vrtu pomocí argonu a systému dvou kapilár (přívodní kapilára pro argon, odběrová kapilára pro podzemní vodu). Měření elektrochemických parametrů při odběru podzemní vody je řešeno pomocí speciální modulární cely, která umožňuje proplach argonem a následné napuštění podzemní vodou. Cela může být modifikována podle požadavku na počet elektrod a je odzkoušena v rámci projektu MaCoTe (Dobrev et al. 2021). Vzorky podzemních vod pro chemické analýzy budou odebírány do speciálních plastových vzorkovnic poskytovaných certifikovanou laboratoří. Budou odebírány i vzorky podzemních vod pro stanovení přítomnosti koloidních částic.

Po ukončení vzorkování bude ponechán ve vrtu argon o mírném přetlaku. Výsledky monitoringu podzemních vod budou zpracovány formou technické zprávy dle harmonogramu projektu a každá další technická zpráva bude revizí zprávy předcházející.

V charakterizačním vrtu (76 mm) bude pravidelně prováděn monitoring hydrochemických parametrů pomocí hydrochemického profilování multiparametrickou sondou MS5.

Abychom vůbec mohli získat mikrobiologicky relevantní data, je naprosto zásadní odebírat vzorky podzemních vod ze zapakrovaných anaerobních zavodněných vrtů. Vzhledem k všudypřítomnému riziku mikrobiálních kontaminací je nutno mít tuto problematiku na paměti již před vyhotovováním vrtů. Případná rizika kontaminací je vhodné minimalizovat dodržením základních doporučení – jednak využitím vody z okolních blízkých vrtů k samotnému vrtání, důkladným vyčištěním vrtu před zapakrováním a konečně používáním pouze sterilizované instrumentace k monitoringu a odběrům vzorků.

Předpokládá se odběr přibližně 0,3–1,5 l vody z každého vrtu do sterilní skleněné odběrové láhve (1 l). Získané vzorky podzemní vody budou ihned po odebrání přímo na místě filtrovány

za pomoci sterilní jednorázové 50ml stříkačky Omnifix (BBraun, Švýcarsko) s nasazeným sterilním filtrem Sterivex (0,22 μm , Millipore, Německo). Tato metodika je již odzkoušena a rutinně využívána v rámci projektu MaCoTe (Dobrev et al. 2021). Použití Sterivex filtrů je pro dané objemy vod optimální (Brazelton et al. 2012; Casar et al. 2021; Miettinen et al. 2015; Nyysönen et al. 2014; Robador et al. 2016). Pro každý vzorek dojde k zaznamenání přesného přefiltrovaného objemu, neboť je tato znalost důležitá pro další zpracování dat (qPCR).

Na filtru Sterivex dojde během filtrace k zachycení buněk nativního druhového spektra mikroorganismů přítomných v odebraném vzorku vody. Využití filtru tak následně umožní výraznou redukci objemu materiálu odváženého pro mikrobiologické analýzy, obecně zjednoduší manipulaci při přepravě i následné izolaci DNA. Důležitým faktorem je ale zejména omezení možné kontaminace nežádoucími mikroorganismy, což je při odběru vod s malou koncentrací mikroorganismů (typicky podzemní vody) velice důležité. Filtr Sterivex se zachycenými mikroorganismy bude vždy bezprostředně po přefiltrování vzorku uložen do uzavíratelného sterilního PE sáčku, popsán a uchován v přenosném chladicím boxu mezi chladicími bločky při teplotě do 10 °C. Takto budou filtry uchovávány, přičemž budou převezeny ještě téhož dne, kdy proběhne odběr, a přeloženy do mrazáku s teplotou -80 °C. V tomto stavu budou uchovávány až do doby izolace DNA.

4.11 Plán vyjmutí korozních sestav

Vyjmutí modulů bude provedeno po 1, 3, 5, 7 a 10 letech od zahájení experimentu. V daný časový interval bude odebrán vždy jeden modul s bentonitem BCV a jeden modul s bentonitem BARA KADE. Výběr místa odběrů modulů bude záviset na podmínkách ve vrtech po jejich ustálení a snahou minimalizovat ovlivnění vrtů s odebranými moduly ostatními vrty, kde bude ještě experiment probíhat.

V současné době existuje předpoklad, že do vrtů, které budou nejméně ovlivněny odběry podzemních vod, se stabilními podmínkami budou umístěny moduly s nejdouhodobějšími časy odběrů. A do vrtů, které by mohly být náchylné ke změnám jejich podmínek vlivem odběrů podzemních vod, by byly umístěny roční experimenty. Toto hledisko je však nutné zvážit až bude dokončena první fáze monitorování podzemních vod před instalací modulů i s ohledem na případné rozšíření projektu, které může SÚRAO dle smlouvy realizovat. Pokud by totiž k rozšíření projektu došlo, byly by pro nejdouhodobější korozní zkoušky k dispozici volné vrty, které byly hodnoceny jako "nejhorší".

Za předpokládaného vývoje podmínek v jednotlivých vrtech a zahájení experimentu v roce 2022 by odběry modulů měly proběhnout v letech 2023, 2025, 2027, 2029 a 2032.

Před samotným zahájením vyjímání modulů budou provedeny odběry podzemních vod a stanovení elektrochemických parametrů. Při vytahování celé sestavy z vrtu bude po celou dobu prováděno jištění proti opětovnému pádu do vrtu. Po vyjmutí sestavy z vrtu bude pak od sestavy oddělen modul s korozními vzorky, vzorkovač bude ponechán pro monitoring vod a jeho koncová část bude zaslepena pro zamezení průniku kyslíku do systému. Moduly budou ihned po vyjmutí umístěny do přepravních pouzder naplněných argonem. Do vrtů bude pak opětovně instalován zbytek aparatury. Nakonec bude vzorkovač propláchnut argonem s ponecháním mírného přetlaku v systému, dle lokálních podmínek.

4.12 Transport modulů do laboratoře

Transport modulů do laboratoře bude probíhat v hermeticky uzavřených pouzdrech s přetlakem argonu. Pouzdra budou před umístěním modulů do nich promývána argonem. Po vložení modulů budou pouzdra uzavřena a pomocí ventilů opět promývána argonem. Nakonec bude v pouzdrech ponechán přetlak a moduly budou převezeny do laboratoře k demontáži v rukavicových boxech.

4.13 Demontáž modulů v rukavicovém boxu

Prvním krokem před demontáží modulů v rukavicovém boxu je jeho příprava pro mikrobiální vzorkování, kdy je opět zcela zásadní minimalizovat rizika možné kontaminace. Tato příprava bude spočívat ve sterilizaci pracovních nástrojů a boxu, a to pomocí germicidní lampy a důkladného ořetí všech povrchů (detergent a ethanol). Dalším krokem je umístění modulů do rukavicového boxu přes přechodovou komoru. Při tomto kroku budou moduly vystaveny po určitou dobu vzdušnému kyslíku. Odstranění kyslíku v přechodové komoře lze v zásadě provést dvěma způsoby: evakuací přechodové komory a jejím opětovným naplněním argonem, tento cyklus by byl několikrát opakován při podtlaku 0,6 (vyšší podtlak by zvýšil výrazně odpar vody). Druhou možností je proplachování komory argonem po určitou dobu, při tomto kroku předpokládáme menší odpar vody z modulů, ale i zároveň horší odstranění zbytkového kyslíku. Z obecného pohledu předpokládáme, že v přechodové komoře dojde k částečnému odparu vody z modulů z oblasti filtračních tkanin, nicméně nelze vyloučit snížení vlhkosti povrchové vrstvy bentonitu. Vzhledem k tomu, že v rukavicovém boxu je minimální vlhkost a po umístění modulů do nich bude okamžitě docházet k jejich vysoušení, je ovlivnění vlhkosti bentonitu vlivem transportu přes přechodovou komoru zanedbatelné vůči změnám v rukavicovém boxu. Z tohoto důvodu bude preferována cesta s evakuací přechodové komory s cílem minimalizovat kyslík v systému.

Po umístění modulů do rukavicového boxu (v daný okamžik se bude vždy pracovat pouze s jedním modulem v rukavicovém boxu) bude bez zbytečných odkladů zahájena jejich demontáž. Pokud to bude technicky možné a nedojde k neočekávaným komplikacím, měl by být v relativně krátkém čase odstraněn z modulu vnější plášť a filtrační tkaniny, což by umožnilo odběr bentonitu do uzavřených vzorkovnic pro stanovení jeho vlhkosti. Nicméně je nutné zdůraznit, že ačkoliv by odstranění vnějšího pláště, resp. filtračních tkanin, bylo rychlé, bude přesto docházet k sušení vzorků bentonitu v rukavicovém boxu a stanovení vlhkosti bude tímto ovlivněno.

Demontáž modulů bude dále pokračovat odebíráním kovových vzorků a jejich identifikací, odebíráním vzorků bentonitů pro chemické a mikrobiální analýzy z vnější části, z oblasti vzorků a topidla. Vzorky budou v průběhu vzorkování řádně označeny identifikátory a bude provedena fotodokumentace.

4.14 Příprava vzorků pro analýzy

Kovové vzorky budou omyty lihem a ponechány v rukavicovém boxu do odstranění zbytkové vlhkosti z povrchových rozhraní (čas sušení bude minimálně 1 týden). Tento způsob je volen

proto, aby byla minimalizována oxidace korozních produktů po kontaktu se vzdušnou atmosférou mimo rukavicový box. Vzorky budou předávány v uzavřených vzorkovnicích pro následné analýzy. Další úprava vzorků pro chemické analýzy není potřeba. Velikost vzorků je uzpůsobena přímému provedení analýz.

Vzorky bentonitů pro chemické analýzy budou také ponechány v rukavicovém boxu pro jejich vysušení s tím, že doba sušení bude operativně volena podle velikosti vzorků a bude proveden odborný odhad doby nutné k jejich sušení v závislosti na konkrétním stavu vzorků. Variantně lze vzorky sušit v integrované sušárně rukavicového boxu. Ačkoliv budou vzorky poté umístěny do těsných vzorkovnic budou po kontaktu s atmosférou opět pohlcovat vzdušnou vlhkost a může dojít k částečným změnám vlivem oxidace. Měl by tedy být minimalizován čas vystavení vzorků atmosféře před zahájením analýz.

Vzorky bentonitů pro mikrobiální analýzy budou ve sterilních sáčcích ihned po odběru zamrazeny a poté předány k analýzám. Vzhledem k zesílené tloušťce bentonitových prstenců v experimentu, umožňující studium prostorové stratifikace mikrobiálních komunit, budou zvlášť odebrány a vyhodnoceny vzorky bentonitu (optimálně 5 g na vzorek) z povrchové vrstvy z oblasti C (periferní a centrální části segmentů), a dále z bezprostřední blízkosti topidla (oblast B) a kovových vzorků (oblast A). Obdobně je prostorová stratifikace mikrobiálních komunit studována i v rámci projektu MaCoTe (Dobrev et al. 2021). Postup následného zpracování vzorků viz kapitola 4.15.2.

4.15 Plán analýz testovaných materiálů

4.15.1 Analýzy kovových vzorků

Všechny cely budou rozebrány v anaerobním boxu a vzorky budou v boxu omyty lihem a usušeny, aby se při transportu předešlo oxidaci korozních produktů do vyšších oxidačních stavů. Ze 12 exponovaných vzorků pro každou kombinaci bentonit/doba expozice je určeno 10 k omoření a 2 k analýzám korozních produktů, a to jak z povrchu, tak po oškrabu a na příčném řezu.

Vzorky určené pro stanovení korozní rychlosti hmotnostním úbytkem budou mořeny dle normy ČSN EN ISO 8407. Ocel bude mořena ve směsi kyseliny chlorovodíkové s vodou a přísadkou inhibitoru hexametylentetraminu (roztok 3,5 g hexametylentetraminu (HMTA) v 500 ml 35% koncentrované kyseliny chlorovodíkové, poté doplněno destilovanou vodou na 1000 ml) a měď v roztoku kyseliny sírové (100 ml kyseliny sírové a 900 ml destilované vody). Na každém vzorku bude moření prováděno v minimálně pěti krocích, případně až do dosažení konstantních hmotnostních úbytků v čase. Omořené vzorky pak poslouží pro stanovení lokalizace rovnoměrné koroze. Dva vzorky budou analyzovány pomocí optické profilometrie pro stanovení plošného rozložení lokalizovaného napadení a následně budou zality do akrylátové pryskyřice a pozorovány na kolmém řezu za účelem určení maximální hloubky napadení.

Dva vzorky určené pro analýzy korozních produktů mořeny nebudou. Vrstva korozních produktů na povrchu bude nejprve analyzována pomocí rentgenové difrakce (XRD) a Ramanovy spektroskopie, za účelem stanovení fázového složení korozních produktů. Z části povrchu budou korozní produkty seškrábány a rentgenovou difrakcí budou analyzovány korozní produkty vzdálenější od povrchu. Následně budou oba vzorky zality v evakuovaném

exsikátoru do epoxidové pryskyřice ve směru kolmém na plochu podstavy vzorku. Epoxidová pryskyřice umožňuje lepší zatečení a následnou konsolidaci korozních produktů pro výbrus. Vzorky budou pouze broušeny až na jemný papír zrnitosti P4000. Leštění diamantovou pastou nebude prováděno, aby pasta v pórech korozních produktů neovlivňovala výsledky analýz. Stejně tak nebude prováděno leptání, aby nedošlo k odleptání minoritních složek korozních produktů. Na kolmém řezu bude sledováno prvkové složení metodou SEM/EDS, případně doplněné o lokální fázovou analýzu metodou rentgenové mikrodifrakce (μ XRD).

4.15.2 Analýzy bentonitu

V porovnání se vstupními bentonitovými materiály (viz kap. 4.3.2) je z hlediska studia bentonitu v plánovaném in-situ experimentu žádoucí sledovat:

- oblast A: bentonit v bezprostřední blízkosti kovových vzorků,
- oblast B: bentonit v bezprostřední blízkosti topidla,
- oblast C: bentonit z centrální i periferní části bentonitových segmentů.

Plánované analýzy jsou shodné jako pro úvodní charakterizaci bentonitových materiálů (viz kap. 4.3.2), tedy rentgenová fluorescenční spektroskopie (XRF), stanovení obsahu specií uhlíku a síry (TOC, TIC a TS), termická analýza (TA-EGA), prášková difrakční rentgenová analýza (XRD), stanovení specifického měrného povrchu (SSA), swell indexu (SI) a kationtové výměnné kapacity (CEC), analýza vyluhovatelných iontů. Jak bylo zmíněno v kap. 4.3.2, kvůli sledování reprodukovatelnosti výsledků nebo nízké náročnosti provedení stanovení budou stanovení CEC, SSA a SI prováděna v sadě s reálnými vzorky z in-situ experimentů. V tomto oddíle jsou proto popsány postupy stanovení SSA a SI. Dále je pro analýzu vyluhovatelných iontů a stanovení CEC nastíněna možnost jejich provedení a přínosů i v anaerobních podmínkách.

- Specifický měrný povrch (SSA)

Specifický měrný povrch práškových materiálů se stanovuje pomocí absorpce plynu (nejčastěji dusík). V případě bentonitu nedochází k absorpci plynu na všech plochách vzorku; molekuly plynu nejsou schopné vstoupit do mezivrstev montmorillonitu. Proto bude použit postup využívající polární kapalinu (ethylenglykol-monomethylether, tzv. EGME), která ve formě monovrstvy molekul vstupuje i do mezivrstev montmorillonitu. Práškové vzorky se ekvilibrují v exsikátoru se solvátém CaCl_2 -EGME. Přebytek EGME se odstraňuje evakuací. Povrch vzorku je pokryt monovrstvou molekul EGME, když je dosaženo rovnováhy mezi parami EGME a EGME adsorbovaným na vzorku. Ze změn hmotnosti vzorku se určuje množství adsorbovaného EGME a tedy specifického měrného povrchu. Postup stanovení je detailně popsán např. v Brázda a Červinka (2016). Z naší zkušenosti s tímto stanovením je vhodné do sady vzorků přidat vzorek o známém měrném povrchu. Proto toto stanovení budou podobně jako stanovení CEC prováděna v sadě, kde budou jednak reálné vzorky z in-situ experimentů a vstupní vzorek bentonitu. Na výsledcích dosažených na vzorcích vstupních materiálů bude možné sledovat reprodukovatelnost stanovení a díky tomu spolehlivě vyvodit závěry o změnách ve specifickém měrném povrchu.

- Swell index (SI)

Stanovení swell indexu je vhodným indikátorem bobtnacích a erozních vlastností studovaného bentonitu. Stanovení SI je jednoduché a názorně ilustruje změny v bobtnacích a erozních

vlastnostech změnou vyměnitelného kationtu či obsahu montmorillonitu. Proto toto stanovení bude provedeno vždy v sadě obsahující reálné vzorky z in-situ experimentů a jako reference vstupní vzorek bentonitu. Zvolená navážky bentonitu je ponechána v kontaktu v odměrném válci naplněném destilovanou vodou o zvoleném objemu (nejčastěji 2 g a 100 ml). Ze stupnice na odměrném válci se odečítá objem vybobtnalého bentonitu za zvolený časový interval. Tento test podává informaci i o erozním chování bentonitu. Zaznamenává se rovněž případná přítomnost koloidních částic, které vedou k erozi bentonitu.

- Analýza vyluhovatelných iontů

Reálné vzorky bentonitu z oblasti C a B budou podrobeny analýze vyluhovatelných iontů. Princip a postup stanovení byl popsán v kap. 4.3.2. Jedinou modifikací v postupu je možnost provést stanovení i za anaerobních podmínek, a to podle požadovaného cíle stanovení. Stanovení v aerobních podmínkách umožní srovnání s výsledky úvodní charakterizace bentonitů, zejména změnu v obsahu vyluhovatelných iontů v čase in-situ experimentu. Toto stanovení je přesnější (ve smyslu kontroly poměru fází) a snáze proveditelné. Při stanovení v anaerobních podmínkách je nutno počítat s nižší přesností (hmotnost je zde stanovena na digitálních předvážkách), avšak nedojde k posunu rovnováhy karbonátových fází (absence CO₂ v anaerobním boxu oproti aerobním podmínkám) a změně oxidačního čísla železa. S cílem získat maximum informací bude proto volena kombinace obou přístupů.

- CEC

Reálné vzorky bentonitu z všech oblastí (A, B i C) budou podrobeny stanovení kationtové výměnné kapacity. Princip a postup stanovení byl popsán v kap. 4.3.2. Bude zvolen přístup analyzovat všechny vzorky najednou v jedné sadě včetně vstupního materiálu. Na vzorcích vstupních materiálů bude možné sledovat reprodukovatelnost stanovení a díky tomu spolehlivě vyvodit závěry o změnách CEC. Podobně jako u analýzy vyluhovatelných iontů lze postup stanovení modifikovat i o kroky v anaerobním prostředí. Vytěsnění vyměnitelných kationtů v anaerobním prostředí a použití metod pro rozlišení oxidačního stavu železa umožní sledovat osud železa, zejména v oblasti A. Tento postup však zatím není rutinně používán. Principiálně není obtížné kvalitativně určit oxidační stav železa. Kvantitativní stanovení koncentrace Fe²⁺ a Fe³⁺ by vyžadovalo optimalizaci metod a validaci stanovení.

- Mikrobiologické analýzy

Zpracování vzorků kompaktovaného bentonitu (dělení, krájení, aj.) pro mikrobiologické analýzy na CxI TUL bude probíhat za sterilních podmínek, se vzorky bude pracováno zásadně v anaerobních rukavicových boxech, které budou předem důkladně sterilizovány ořivením veškerých povrchů (detergent a ethanol) a zároveň pomocí germicidní lampy. Opět budou tepelně sterilizovány veškeré nástroje, které přijdou do kontaktu se vzorky bentonitu. Dalším krokem předcházejícím samotné analýze je izolace DNA ze vzorku bentonitu. Před začátkem izolace DNA bude bentonit nejprve za sterilních podmínek zhomogenizován. Každý vzorek bentonitu bude postupně rozpouštěn za mírného protřepávání ve sterilní vodě, a to až do úplného rozpuštění (po dobu několika hodin). DNA ze vzorků bentonitů bude poté izolována pomocí kitu určeného pro izolaci nukleových kyselin z půd DNeasy PowerMax® Soil DNA Isolation Kit (Qiagen) a samotný proces izolace bude probíhat dle instrukcí uvedených v protokolu výrobce kitu. Mikrobiální diverzita ve vzorcích bentonitů bude studována za využití molekulárně-genetických metod analýzy DNA. Koncentrace izolované DNA bude následně změřena fluorimetricky pomocí přístroje Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen, Life technologies,

USA), opět dle protokolu výrobce. Je však třeba předem počítat s extrémně nízkými výtěžky DNA ze vzorků bentonitů, kdy hodnoty koncentrace izolované DNA zcela obvykle zůstávají pod detekčním limitem měření. Z tohoto důvodu bude jako měřítko přítomnosti amplifikovatelné DNA využita kvantifikace kopií 16S rRNA genu pomocí qPCR a určení hodnoty C_q (amplifikační cyklus, kde během PCR dojde k namnožení a fluorescenční detekci DNA kopií do míry překračující pozadí) pro jednotlivé vzorky. Pokud bude hodnota C_q podobná, jako u no-template control (NTC), izolace DNA bude prohlášena za neúspěšnou a vzorek nebude dále geneticky analyzován. Pro toto zhodnocení budou využity univerzální 16S rRNA primery 16SqPCR-F a 16SqPCR-R (Nadkarni et al. 2002).

Vzorky, jež projdou kontrolou kvality izolace DNA pomocí qPCR popsanou výše, budou dále sekvenovány pomocí ampliconového sekvenování 16S rRNA genu. Tato metoda umožňuje zjistit detailní kvalitativní složení a strukturu celého společenstva. Tato metoda byla již podrobněji popsána v průběžné technické zprávě Černík et al. (2015) či v publikacích (Černoušek et al. 2020; Shrestha et al. 2022). Využita bude platforma IonTorrent (Life Technologies, USA). Konkrétním molekulárním markerem pak bude variabilní V4 oblast genu 16S rRNA s využitím primerů 530F (Dowd et al. 2008) a 802R (Claesson et al. 2009).

Pro zpracování hrubých mikrobiologických molekulárně-genetických NGS dat (sekvencí) bude využit software QIIME 2 verze 2021.8 (Bolyen et al. 2019). Ze souboru NGS dat budou odstraněny sekvence s nízkou kvalitou, chimérické sekvence a příliš krátké sekvence, které nebyly dočteny do konce požadovaného úseku, a to s využitím filtrování na základě kvality pomocí zásuvkových modulů q2-demux a q2-dada2 (Callahan et al. 2016). Finální sekvence tak budou zbaveny nežádoucího šumu. Z výsledných očištěných sekvencí dojde k vytvoření unikátních sekvenčních variant (tzv. ASVs, z anglického amplicon sequence variant), pomocí q2-feature-classifier pluginu (Bokulich et al. 2018) za pomoci "classify-sklearn naive Bayes" algoritmu proti databázi SILVA verze 138 (Quast et al. 2012). ASV začínají v odborných studiích nahrazovat dříve standardně využívané OTU (Callahan et al. 2016). Sekvence, které se v datasetu vyskytly pouze jednou, nebudou dále vyhodnocovány, neboť se velmi pravděpodobně jedná o artefakt (sekvenační chybu) metody. Reprezentativní sekvence (ASV) se na závěr porovnají s veřejnými databázemi – Ganbank a Silva (taxonomické zařazení), případně se ručně dohledají v literatuře (metabolická charakterizace mikroorganismů). Výstupy QIIME 2 budou zpracovány v jazyce R pomocí balíku Phyloseq (McMurdie and Holmes 2013). Pro finální vizualizaci výsledků se využijí klasické jednorozměrné (sloupcové, boxploty aj.), nově používané „bublínkové“ (FAPROTAX) i ordinační (mnohorozměrné) diagramy, coby obrazové výstupy proběhlých analýz.

4.15.3 Analýzy podzemních vod

- Stanovení chemického složení podzemních vod

Stanovení kationtů v podzemní vodě bude provedeno metodou AAS a ICP-MS dle normy ČSN EN ISO 17294-2. Stanovení aniontů bude provedeno dle ČSN EN ISO 10304-1 metodou iontové chromatografie a stanovení celkové alkalinity potenciometrickou titrací dle norem ČSN EN ISO 9963-1 a ČSN 75 7373.

- Stanovení elektrochemických parametrů podzemních vod

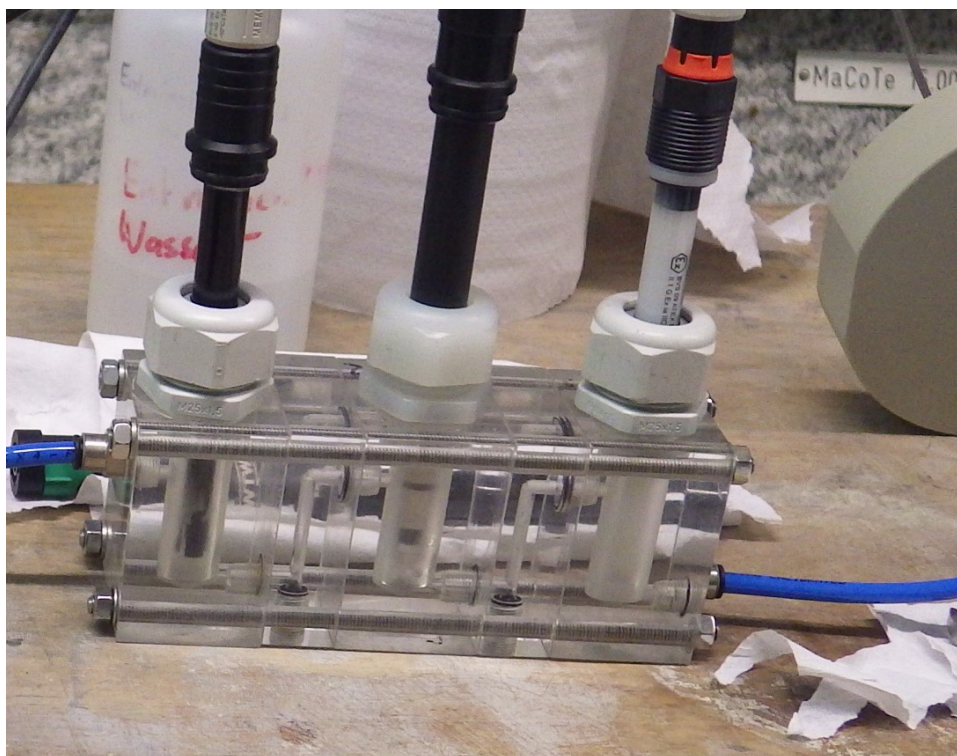
Měření elektrochemických parametrů pH, oxidačně redukčního potenciálu, vodivosti a zbytkového kyslíku bude prováděno přímo na pracovišti PVP Bukov ve speciální průtočné

cele (Obr. 4) přístrojem WTW Multi 3630 IDS (WTW, Německo). Elektrody budou před měřeními kalibrovány a v průběhu řešení experimentu nahrazovány za nové dle potřeby.

Cela pro měření elektrochemických parametrů bude v prvním kroku promývána argonem a poté bude do cely pomocí argonu přes vzorkovač vytlačena podzemní voda, filtrována a následně budou změřeny příslušné parametry za "anaerobních podmínek" (proplachováním argonem nedocílíme úplného odstranění kyslíku ze systému).

- Stanovení koloidních částic v podzemních vodách

Koloidní částice budou stanovovány v laboratoři pomocí přístroje Nanophox (Sympatec GmbH, Německo). Vzhledem ke změně teploty podzemní vody a transportu bude měření koloidů zaměřeno pouze na potvrzení jejich přítomnosti v systému, neboť distribuční křivka velikosti částic může být zkreslena vlivem koagulace vůči stavu, který je ve vrtech v průběhu experimentu.



Obr. 4 Ilustrační obrázek elektrochemické cely

- Mikrobiologické analýzy podzemních vod

Postup zpracování vzorků podzemních vod pro mikrobiologické molekulárně-genetické analýzy je velice podobný analýzám bentonitů, viz kapitola 4.15.2. Prvním krokem každé takovéto analýzy bude vždy izolace (extrakce) DNA z odebraných vzorků podzemní vody přefiltrovaných a zachycených na filtrech Sterivex. Samotný filtr bude z plastové kapsule vyjmut s využitím sterilního "pipe cutteru". K izolaci DNA bude využíván kit PowerWater DNA Isolation Kit (Qiagen/MoBio, USA) a samotný proces izolace bude probíhat dle instrukcí uvedených v protokolu výrobce kitu. Koncentrace izolované DNA bude následně změřena fluorimetricky pomocí přístroje Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen, Life technologies, USA), opět dle protokolu výrobce. Izolovaná DNA bude využita pro amplikonové sekvenování (dle postupu popsaného v kapitole 4.15.2) a kvantifikaci konkrétních skupin mikroorganismů pomocí qPCR.

NGS analýzu doprovodí za účelem detekce a hlavně (relativní i absolutní) kvantifikace konkrétních funkčních skupin mikroorganismů, síran-redukujících bakterií (SRB), denitrifikační bakterií (např. NRB), železo-redukujících bakterií (IRB) a celkové bakteriální biomasy, dnes již zcela rutinně používaná metoda kvantitativní PCR (qPCR nebo též Real-time PCR). Analýzy budou provedeny na přístroji LightCycler® 480 Instrument (Roche Biochemicals, USA). Jistou nevýhodou qPCR 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, ne-li přímo nemožné (Dhanasekaran et al. 2010), a v publikovaných studiích se tento problém bohužel obvykle nijak více neřeší. Plánováno je tedy využití relativní kvantifikace, tedy srovnání s prvním odběrem v jednotlivých vrtech, které nestanovuje přesný počet buněk, ale pouze změny v čase.

Pro stanovení výskytu konkrétních funkčních skupin mikroorganismů ve vzorcích budou použity molekulární markery specifické pro tyto organismy, konkrétně primery RH1-dsr-F a RH3-dsr-R (Ben-Dov et al. 2007) pro síran-redukující bakterie, gen kódující disimilační N₂O reductázu pro denitrifikační bakterie, konkrétně primery nosZ-F a nosZ 1622R (Geets et al. 2007) či specifické 16S primery cílící na Geobacteraceae, mezi které se řadí velké množství železo-redukujících bakterií (IRB), konkrétně primery Geo494F a Geo825R (Anderson et al. 1998, Holmes et al. 2002). Pro zhodnocení celkové bakteriální biomasy budou využity univerzální 16S rRNA primery 16SqPCR-F a 16SqPCR-R (Nadkarni et al. 2002).

Pro zpracování hrubých mikrobiologických molekulárně-genetických NGS dat (sekvencí) bude využit software QIIME 2 verze 2021.8 (Bolyen et al. 2019). Ze souboru NGS dat budou odstraněny sekvence s nízkou kvalitou, chimérické sekvence a příliš krátké sekvence, které nebyly dočteny do konce požadovaného úseku, a to s využitím filtrování na základě kvality pomocí zásuvkových modulů q2-demux a q2-dada2 (Callahan et al. 2016). Finální sekvence tak budou zbaveny nežádoucího šumu. Z výsledných očištěných sekvencí dojde k vytvoření unikátních sekvenčních variant (tzv. ASVs, z anglického amplicon sequence variant), pomocí q2-feature-classifier pluginu (Bokulich et al. 2018), za pomoci "classify-sklearn naive Bayes" algoritmu proti databázi SILVA verze 138 (Quast et al. 2012). ASV začínají v odborných studiích nahrazovat dříve standardně využívané OTU (Callahan et al. 2016). Sekvence, které se v datasetu vyskytly pouze jednou, nebudou dále vyhodnocovány, neboť se velmi pravděpodobně jedná o artefakt (sekvenační chybu) metody. Reprezentativní sekvence (ASV) se na závěr porovnají s veřejnými databázemi – Ganbank a Silva (taxonomické zařazení), případně se ručně dohledají v literatuře (metabolická charakterizace mikroorganismů). Výstupy QIIME 2 budou zpracovány v jazyce R pomocí balíku Phyloseq (McMurdie a Holmes 2013). Pro finální vizualizaci výsledků se využijí klasické jednorozměrné (sloupcové, boxploty aj.), nově používané „bublínkové“ (FAPROTAX) i ordinační (mnohorozměrné) diagramy, coby obrazové výstupy proběhlých analýz.

5 Předpokládané výsledky korozního experimentu

5.1 Předpokládané výsledky v oblasti koroze

Výsledky hmotnostních úbytků poskytnou informace o průměrné korozní rychlosti, optická profilometrie a hodnocení příčných řezů zase informace o lokalizaci korozního napadení (Dobrev et al. 2020). V obou případech budou k dispozici časové řady, které umožní ověření či zpřesnění již dříve vzniklých modelů dlouhodobé životnosti ukládacích obalových souborů. Vývoj lokalizace napadení umožní lépe korigovat korozní přídavek tloušťky stěny UOS.

Znalost složení korozních produktů je nezbytná pro správné nastavení modelů dlouhodobé životnosti, protože hlavním dějem je transport iontů skrze nově vznikající vrstvu korozních produktů. Objem vznikajících korozních produktů a jejich pórovitost jsou hlavními parametry určujícími rychlost korozního napadení (Dobrev et al. 2020, Forman et al. 2021).

Výskyt specifických korozních produktů (Gondolli et al. 2018) může ve spojení s mikrobiologickou analýzou pomoci při stanovení vlivu mikroorganismů na rychlost a lokalizaci korozního napadení (např. mackinavit FeS vzniká při působení sulfát-redukujících bakterií, trojmočné korozní produkty goethit a lepidokrokrit FeOOH zase za přispění denitrifikujících bakterií). Vznik křemičitanových korozních produktů je důkazem hydrolyzy vody v omezeném objemu elektrolytu u povrchu oceli a lokálního poklesu pH. Tento jev vede k lokalizaci napadení, nicméně je dočasný, a právě vznik křemičitanů (greenalit, croenstedtit, berthierin) lokální napadení významně zpomalují (Forman et al. 2021).

5.2 Předpokládané výsledky v oblasti bentonitu

Výsledky v oblasti bentonitu shrnuje Tab. 1. Z důvodu rozdílného obsahu montmorillonitu a jiného dominantního vyměnitelného kationtu použitých bentonitů očekáváme v některých aspektech rozdílné výsledky. Celkově lze předpokládat malé změny v monitorovaných parametrech na rozhraní kovový vzorek/bentonit a topidlo/bentonit. Odhadujeme, že tyto malé změny na rozhraních budou zanedbatelné v celkové masě bentonitu (oblast C).

Tab. 1 Odhad pravděpodobností výskytu předpokládaných výsledků pro oba typy použitých bentonitů

| Ložisko bentonitu | BCV | BARA KADE |
|----------------------------|--|--|
| eroze bentonitu | nepravděpodobné | pravděpodobné vlivem odplavení erodovaných částic bentonitu dojde se snížení objemové hmotnosti bentonitu |
| snížení objemové hmotnosti | pravděpodobné v případě technologických spár a netěsnosti aparatury lze očekávat vybobtnání a tím zmenšení objemové | pravděpodobné v případě technologických spár a netěsnosti aparatury lze očekávat vybobtnání a tím zmenšení objemové |

| Ložisko bentonitu | BCV | BARA KADE |
|---|--|--|
| | hmotnosti bentonitu (a příslušných odvozených parametrů – vlhkost, porozita apod.) | hmotnosti bentonitu (a příslušných odvozených parametrů – vlhkost, porozita apod.) |
| změna chemického složení | málo pravděpodobná Lze očekávat velmi malé změny, které budou na hranici stanovitelnosti. V případě významnější změny zastoupení vyměnitelných kationtů se to projeví v chemickém složení. V případě významné mikrobiální aktivity lze očekávat změny ve fázích obsahující uhlík a síru. | málo pravděpodobná Lze očekávat velmi malé změny, které budou na hranici stanovitelnosti. V případě významnější změny zastoupení vyměnitelných kationtů se to projeví v chemickém složení. V případě významné mikrobiální aktivity lze očekávat změny ve fázích obsahující uhlík a síru. |
| změna mineralogického složení | málo pravděpodobná Lze očekávat velmi malé změny, které budou na hranici stanovitelnosti. Na styku s topidlem a i korozními vzorky lze očekávat mineralogické změny. Za hydrotermálních podmínek lze očekávat odplavení rozpustných minerálních fází a mírné navýšení obsahu montmorillonitu (a příslušných odvozených parametrů – CEC, SSA_EGME) | málo pravděpodobná Lze očekávat velmi malé změny, které budou na hranici stanovitelnosti. Na styku s topidlem a i korozními vzorky lze očekávat mineralogické změny. Za hydrotermálních podmínek lze očekávat odplavení rozpustných minerálních fází a mírné navýšení obsahu montmorillonitu (a příslušných odvozených parametrů – CEC, SSA_EGME) |
| změna koncentrací vyluhovatelných iontů | pravděpodobná Za hydrotermálních podmínek lze očekávat odplavení rozpustných minerálních fází, a tedy snížení množství vyluhovatelných iontů. | pravděpodobná Za hydrotermálních podmínek lze očekávat odplavení rozpustných minerálních fází, a tedy snížení množství vyluhovatelných iontů. |

| Ložisko bentonitu | BCV | BARA KADE |
|---|--|--|
| změna zastoupení vyměnitelných kationtů | pravděpodobná Ustalování rovnováhy mezi bentonitem a podzemní vodou povede ke kationto-výměnným reakcím vedoucím ke změnám zastoupení vyměnitelných kationtů. | pravděpodobná Ustalování rovnováhy mezi bentonitem a podzemní vodou povede ke kationto-výměnným reakcím vedoucím ke změnám zastoupení vyměnitelných kationtů. |

- Výsledky mikrobiologie

Předpokládaným výsledkem v oblasti mikrobiologie bentonitu bude stanovení kvalitativního složení mikrobiálního konsorcia se zaměřením jak na taxonomickou strukturu, tak funkční strukturu, kdy k dominantním taxonům budou dohledávány jejich funkční profily. Důraz zde bude kladen na mikroorganismy, které mají potenciál ovlivnit (zrychlit) korozi obalového souboru a dále především na mikroorganismy, které teoreticky mohou ovlivnit strukturu bentonitu (např. IRB). Díky využití metody qPCR bude možno sledovat změny abundance všech mikroorganismů v čase a zároveň změny jednotlivých funkčních skupin v čase. Množství mikrobiální DNA a hodnoty Cq genu 16S rDNA získané z qPCR analýzy budou indikátorem množství mikrobiální biomasy.

5.3 Předpokládané výsledky v oblasti podzemních vod

U elektrochemických parametrů předpokládáme, že se pH bude pohybovat nad hodnotou 7 vlivem rozpouštění uhličitánů z bentonitu, které zvýší i vodivost podzemní vody (Dobrev et al. 2021). Oxidačně redukční potenciál by po přepočtu vůči standardní vodíkové elektrodě měl být v záporných hodnotách a zbytkový kyslík na hranici detekce. V dlouhodobém horizontu by pak mělo docházet k poklesu vodivosti vlivem snížení koncentrace rozpuštěných uhličitánů. Dlouhodobý vývoj pH bude do značné míry záviset na metabolických produktech mikroorganismů, např. při produkci acetátů by mohlo pH mírně klesat pod hodnotu 7.

U chemických rozborů podzemních vod očekáváme hlavně nárůst koncentrace sodíku a hydrogenuhličitánů v důsledku jejich rozpouštění z bentonitu. Jejich koncentrace by pak v dlouhodobém horizontu měla pravděpodobně klesat.

U vrtů s bentonitem BARA KADE předpokládáme více koloidních částic v podzemní vodě než v případě českého bentonitu BCV.

Případné trendy v chování podzemních vod by mohly v kombinaci s výsledky z analýz bentonitu pomoci s predikcí dlouhodobého chování bentonitu.

Předpokládaným výsledkem v oblasti mikrobiologie podzemních vod bude stanovení kvalitativního složení mikrobiálního konsorcia se zaměřením jak na taxonomickou strukturu, tak funkční strukturu, kdy k dominantním taxonům budou dohledávány jejich funkční profily. Důraz zde bude kladen na mikroorganismy, které mají potenciál ovlivnit (zrychlit) korozi

obalového souboru. Díky využití metody qPCR bude možno sledovat změny abundance všech mikroorganismů v čase a zároveň změny jednotlivých funkčních skupin v čase. Množství mikrobiální DNA a hodnoty C_q genu 16S rDNA získané z qPCR analýzy budou indikátory množství mikrobiální biomasy.

6 Nejistoty řešení

6.1 Nejistoty koroze

Nejistoty ve stanovení rychlosti korozního napadení jsou dvojího druhu. Za prvé se jedná o faktory ovlivňující celkové korozní napadení. Do této kategorie patří zejména transport rozpuštěných korozních produktů, který ovlivňuje zejména úroveň zhutnění bentonitu a fázové složení korozních produktů. Za druhé, je lokalizace korozního napadení ovlivňována velmi širokou škálou faktorů. Mezi nejdůležitější patří nerovnoměrná saturace, přítomnost zbytkového kyslíku, nehomogenní mikrostruktura oceli, přítomnost preferenčních cest a působení mikroorganismů.

Použití velmi čisté oceli bez karbidotvorných prvků výrazně omezuje vliv mikrostruktury. Provedení experimentu pak v podstatě vylučuje vliv zbytkového kyslíku a nerovnoměrné saturace, protože cely budou odvdušněny v anaerobním boxu a tamtéž i syceny demineralizovanou vodou.

1) Lokální objemová hmotnost bentonitu

Plánovaná konečná objemová hmotnost po nabobtnání bentonitu by měla odpovídat 1600 kg m^{-3} . To je však průměrná objemová hmotnost a je možné, že v okolí vzorků, kde jsou technologické mezery na úrovni 0,1 mm, může být lokálně objemová hmotnost nižší. Tento fakt ale odpovídá realitě, kdy při uložení rovněž bude mezi UOS a bentonitem technologická mezera. Navíc nižší lokální objemová hmotnost poskytuje konzervativní data, protože korozní rychlost klesá s rostoucí objemovou hmotností (Forman et al. 2021; Smart et al. 2017; Marsh a Taylor 1988).

2) Složení korozních produktů

Fázové složení korozních produktů je klíčové pro stanovení dlouhodobé životnosti UOS. Verifikace krátkodobého modelu může úspěšně proběhnout se znalostí složení krátkodobých metastabilních korozních produktů. Je však možné, že desetiletá expozice bude krátká pro dosažení termodynamicky stabilních korozních produktů. Stejně jako v předchozím případě se však při použití modelu založeného na krátkodobých datech jedná o konzervativní řešení, protože dlouhodobé stabilní korozní produkty mají větší objem, více omezují transport a více snižují korozní rychlost.

3) „Scale effect“ a absence preferenční cesty

Malé rozměry experimentu téměř vylučují nerovnoměrnou saturaci a možnost vzniku preferenčních cest (trhlin v bentonitu), které by v experimentu o větších rozměrech vzniknout mohly. Tento fakt je dvousečný. Na jednu stranu se v experimentu dostáváme do více utěsněného systému, který odpovídá situaci při pozdějších periodách uložení. Na druhou stranu nebudou k dispozici kompletní data o vlivu lokalizace korozního napadení na počátku uložení.

4) Mikrobiální koroze

Lokalizaci korozního napadení nejvíce ovlivňují mikroorganismy. Přestože budou k dispozici po každém časovém úseku detailní mikrobiologické rozboru bentonitu a v průběhu experimentu i rozboru okolní vody, je potřeba vzít do úvahy, že vývoj mikrobiálního konsorcia

je velmi dynamický jev. I nepatrné rozdíly v podmínkách jednotlivých vrtů mohou vést k rozvoji odlišných konsorcií. Významné korozní napadení pak mohou způsobovat kmeny bakterií, které mohou v tomto experimentu působit pouze krátkodobě. Z hlediska korozního napadení je pak 5 časových bodů v průběhu 10 let příliš málo ke stanovení kinetiky lokálního napadení způsobeného mikroorganismy.

Tento faktor považujeme za klíčový. Přestože v experimentu je maximální snaha o důkladnou kontinuální analýzu a popis mikrobiálních dějů, je potřeba vzít tuto nejistotu v potaz. Řešením by bylo použití kontinuální techniky monitorující korozní napadení nepřetržitě (rezistometrie, elektrochemický polarizační odpor), ale tyto metody jsou v současném experimentálním uspořádání technicky velmi obtížně realizovatelné, protože potřebují elektrické kontakty vyvedené mimo vrt a ze stejného důvodu jsou navíc i dlouhodobě nespolehlivé, protože jsou kontakty náchylné k mechanickému porušení.

6.2 Nejistoty bentonit

Jako hlavní nejistotu v rámci analýz bentonitů po experimentu se jeví získání dostatečného množství vzorků pro provedení všech plánovaných analýz. Tato nejistota je nejméně významnější při odebrání bentonitů z oblasti kovových vzorků. Je také potřeba upozornit, že bude snaha získat dostatečné množství vzorku bez ohledu na orientaci v modulu (v dané oblasti A, B a C), tedy nebude patrně možné ověřit případnou prostorovou nehomogenitu v dané zájmové oblasti.

Stanovení vlhkosti bentonitů po experimentu bude zatíženo nejistotou danou okamžitým samovolným sušením vzorků v rukavicovém boxu. Stanovené hodnoty tedy budou nižší, než jaký byl skutečný stav v experimentu.

Mineralogické změny v náhodně orientovaných vzorcích bentonitů nemusí být v důsledku detekčního limitu nebo vzniku amorfních fází detekovatelné pomocí XRD (např. Svensson et al. (2011, 2017)). Stanovení vyluhovatelných iontů, stanovení CEC a SSA vyžaduje poměrně velké množství vzorku, je možné, že nebude dostatečné množství vzorku pro všechny plánované analýzy. Obecně může být problém u plánovaných metodik, že jejich mez stanovitelnosti bude větší než případné změny v bentonitu a nebude je tak možné kvantifikovat.

U stanovení CEC v oblasti kovových vzorků může docházet ke zkreslení výsledků vlivem „kontaminace“ měřeného vzorku ze zájmové oblasti okolním bentonitem nebo korozními produkty.

U některých analýz nebude pravděpodobně možné interpretovat výsledek s jednoznačným odůvodněním důvodu vzniku případných změn, zda vzniklé změny jsou vlivem transportních procesů, chemických reakcí nebo vlivem mikrobiální aktivity v systému. Jako příklad lze uvést TOC.

Stejně jako v případě podzemních vod níže, i u bentonitů je z mikrobiologického hlediska relevantní všudypřítomné riziko kontaminací (v případě bentonitů se jedná o extrémně chudé prostředí, co do množství biomasy). Navíc jsou (nejen) molekulárně-genetické analýzy blokovány schopností bentonitu vyvazovat na svém povrchu DNA i různé reagenty. Konečně výsledky sekvenčních analýz bentonitů jsou z hlediska interpretace ve srovnání se vzorky podzemní vody výrazně problematictější. Důvodem jsou extrémně nízké výťažky DNA při její

extrakci ze vzorků bentonitů. Hodnoty koncentrace DNA jsou obvykle pod detekčním limitem měření. Nízké koncentrace vstupní DNA vedou obecně ke zvýšenému zastoupení kontaminací. I proto bude kromě přímé izolace DNA z dodaného vstupního práškového bentonitu (vysoké riziko, že z materiálu nedostaneme dostatek kvalitní DNA) využito screeningu bentonitu v suspendovaném stavu s ponecháním určitého času pro rozvoj přítomných mikroorganismů a následnou vyšší šanci na jejich zachycení.

6.3 Nejistoty podzemní vody

Nejistoty u výsledků chemického složení podzemních vod a jejich elektrochemických parametrů budou dány rozdílností podmínek v jednotlivých vrtech. V případě výraznějších rozdílů mezi jednotlivými vrty bude srovnání dlouhodobého vývoje stanovených hodnot komplikované.

Měření oxidačně redukčního potenciálů může být ovlivněno zbytkovým kyslíkem v cele po promytí argonem. Vzhledem k tomu, že nelze technicky připravit v cele anaerobní podmínky, mohou být stanovené hodnoty zkreslené oproti podmínkám ve vrtu.

Analytické metody mají obecně mez stanovitelnosti, v případě stanovení hodnot pod touto mezí nelze výsledky kvantitativně interpretovat. Pod touto mezí ale není vyloučena přítomnost dané látky, tedy v případě hodnot pod mezí stanovitelnosti nebudeme moci určit, zda je analyt ve vodě přítomen anebo ve vodě není, pokud nám daná laboratoř neposkytne detailnější informace.

U měření koloidních částic jsou nejistoty dány změnou podmínek vůči podmínkám ve vrtech a časovou prodlevou mezi odběrem a analýzou. Dále je vyhodnocení koloidních částic založeno na Rayleighově rozptylu tedy pro kulovité částice, přičemž koloidní částice bentonitu by neměly mít kulovitý tvar.

V případě nejistot týkajících se obecně odběrů a vyhodnocení mikrobiologických vzorků podzemních vod je zde několik aspektů. Monitoring podzemních vod – vzhledem k opravdu nedostatečné časové dotaci mezi odvrtáním 11 experimentálních vrtů a požadavkem smlouvy na předložení výsledků za první rok, budou tyto výsledky muset být dosaženy na základě velmi rychle po sobě jdoucích odběrů, které nebudou moci být rozloženy po celý rok tak, jak tomu již poté bude v následujících letech. Stejně jako v případě bentonitů, i u podzemních vod je relevantní všudypřítomné riziko kontaminací (vzhledem i k obvykle na biomasu velmi chudému prostředí, které se vzorkuje). V případě, že budou ve vodě přítomny koloidy ve větším množství, může objem odebrané a reálně filtrované vody klesnout pod optimálních 300–1000 ml.

6.4 Nejistoty technického řešení a umístění vrtů

V samotném technickém řešení experimentu jsou nejistoty, které mohou ovlivnit jeho výsledek, ale lze je pouze minimalizovat. Konkrétně se jedná o rovnoměrnost teploty po výšce modulu. Je pravděpodobné, že vlivem rozdílného odvodu tepla v horizontálním a vertikálním směru, nebude teplota v jednotlivých patrech se vzorky stejná. Rozdíl by však neměl být výrazný a vliv na rovnoměrnost teploty by neměl být zásadní. Přestože bude provedeno testování sestavy v laboratoři, skutečný rozdíl teplot budeme znát až po instalaci sestav do vrtů.

Vzorkovač pro odběr podzemních vod je řešen tak, že se postupně vytlačuje voda z oblasti pod mechanickým obturátorem směrem k modulům. Je pravděpodobné, že teplota vody pod mechanickým obturátorem bude jiná než v oblasti u modulů, a zároveň mohou být i po výšce vrtu stratifikovány mikrobiální komunity. Navíc by mohlo docházet při odběru podzemní vody k jejímu promíchávání v rámci vrtu a analyzované výsledky budou "průměrným" složením a nebudou zcela odpovídat skutečnému stavu po výšce.

V jednotlivých vrtech by mohly být vlivem puklinového systému rozdílné podmínky, které by mohly ovlivnit mikrobiální komunity, a srovnání dlouhodobého vývoje v jednotlivých vrtech by tak bylo ne zcela korektní.

V případě, že by odběr podzemních vod ovlivňoval podmínky ve vrtech (přítok okysličené vody apod.), budeme mít značnou nejistotu v tom, zda by se systém z mikrobiologického hlediska vyvíjel stejně, pokud by se do něj nezasahovalo.

7 Reference

- ANDERSON R. T., ROONEY-VARGA J., GAW C. V., LOVLEY. D. R. (1998): Anaerobic benzene oxidation in the Fe(III)-reduction zone of petroleum-contaminated aquifers. – *Environ. Sci. Technol.* 32, 1222–1229.
- BEN-DOV E., BRENNER A., KUSHMARO A. (2007): Quantification of sulfate-reducing bacteria in industrial wastewater, by real-time polymerase chain reaction (PCR) Using *dsrA* and *apsA* Genes. – *Microbial Ecology* 54, 439–451.
- BOKULICH N. A., KAEHLER B. D., RIDEOUT J. R., DILLON M., BOLYEN E., KNIGHT R., CAPORASO J. G. (2018): Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. – *Microbiome*, 6, 1–17.
- BOLYEN E., RIDEOUT J. R., DILLON M. R., BOKULICH N. A., ABNET C. C., AL-GHALITH G. A., CAPORASO J. G. (2019): Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology*, 37(8), 852–857.
- 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>
- BRÁZDA L., ČERVINKA R. (2016): Determination of specific surface area of clay minerals by EGME method. Proceedings of the 4th BELBaR Annual Workshop, Berlin, Germany, 15 September 2016.
- CALLAHAN B. J., MCMURDIE P. J., ROSEN M. J., HAN A. W., JOHNSON A. J. A., HOLMES S. P. (2016): DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. – *Nature Methods* 13, 581–583.
- 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>
- CLAESSON M. J., O'SULLIVAN O., WANG Q., NIKKILA J., MARCHESI J. R., SMIDT H., DE VOS W. M., ROSS R. P., O'TOOLE P. W. (2009): Comparative analysis of pyrosequencing and a phylogenetic microarray for exploring microbial community structures in the human distal intestine. – *PLoS One*.
- ČERNÍK M., SHRESTHA R, STEINOVÁ J., STOULIL J., ŠEVCŮ A., ŠPAČEK P. (2015): Mikrobiální koroze za podmínek hlubinného úložiště pro koncepci ocelový UOS – zhutněný bentonit – Rešeršní práce a plán experimentů – Průběžná technická zpráva. Zpráva SÚRAO, 31/2015, 73 str.
- ČERNOUŠEK T., SHRESTHA R., KOVÁŘOVÁ H., ŠPÁNEK R., ŠEVCŮ A., SIHELSKÁ K., STEINOVÁ J. (2020): Microbially influenced corrosion of carbon steel in the presence of anaerobic sulphate-reducing bacteria. *Corrosion Engineering, Science and Technology*, 55(2), 127–137.
- ČERVINKA R. (2014): Stanovení kationtové výměnné kapacity (CEC) a výměnných kationtů pomocí metody s Cu(II)triethylentetraminem. Certifikovaná metodika. Č.j. SÚJB/ONRV/15452/2014.

- ČERVINKA R., VEČERNÍK P., KAŠPAR V., VAŠIČEK R. (2018): Kompletní charakterizace bentonitu BCV 2017 - průběžná zpráva. SÚRAO Technická zpráva 419/2019, Česká republika, 33 s.
- DEBRUYN W., DRESSELAERS J., VERMEIREN PH., KELCHTERMANS G., 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., GONDOLLI J., KOUŘIL M., MENDOZA MIRANDA A.N., STOULIL J. STRAKA M. (2020): Korozní zkoušky s materiály navrženými pro konstrukci ukládacích obalových souborů, SÚRAO TZ 248/2018 rev. č. 1, 956 str., Husinec - Řež
- DOBREV D., MENDOZA MIRANDA A. N., STEINOVÁ J., ZUNA M. (2021): Korozní zkouška v přírodním granitoidním prostředí, SÚRAO TZ 194/2017 rev. č. 4, 466 s, Praha.
- DOWD S. E., CALLAWAY T. R., WOLCOTT R. D., SUN Y., MCKEEHAN T., HAGEVOORT R. G., EDRINGTON T. S. (2008): Evaluation of the bacterial diversity in the feces of cattle using 16S rDNA bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). – *BMC Biol.*, 6.
- FORMAN L., PICEK M., DOBREV D., GONDOLLI J., MENDOZA MIRANDA A.N., STRAKA M., KOUŘIL M., STOULIL J., MATAL O., ČERMÁK J., KRÁL L., ŽALOUDEK J., VÁVRA M., ČUPR M. (2021): ZÁVĚREČNÁ TECHNICKÁ ZPRÁVA VÝZKUMNÁ ČÁST PROJEKTU Výzkum a vývoj ukládacího obalového souboru pro hlubinné ukládání vyhořelého jaderného paliva do stadia realizace vzorku, Zpráva SÚRAO TZ 544/2021, 164 str., Praha
- GEETS J., DE COOMAN M., WITTEBOLLE L., HEYLEN K., VANPARYSUS B., DE VOS P., VERSTAETE W, BOON N. (2007): Real-time PCR assay for the simultaneous quantification of nitrifying and denitrifying bacteria in activated sludge. – *Applied Microbiology and Biotechnology* 75(1), 211–221.
- GONDOLLI J., KLAJMON M. KOUŘIL M. (2018): Korozní produkty – Závěrečná zpráva, Zpráva SÚRAO TZ 329/2018, 123 str., Praha
- HOFMANOVÁ E., ČERVINKA R., VOPÁLKA D., BABOROVÁ L., BRÁZDA L., PECKOVÁ A., VETEŠNÍK A., VIGLAŠOVÁ E., VAŠIČEK R. (2019): Transport radionuklidů z úložiště / vstupní parametry a procesní modely pro hodnocení transportu radionuklidů přes inženýrské bariéry: Závěrečná zpráva. – MS SÚRAO, ZZ 420/2019, Praha.
- HOLMES D. E., FINNERAN K. T., O'NEIL R. A., LOVLEY D. R. (2002): Enrichment of members of the family Geobacteraceae associated with stimulation of dissimilatory metal reduction in Uranium-contaminated aquifer sediments. – *Applied and Environmental Microbiology* 68(5), 2300–2306.
- KARNLAND O. (2010): Chemical and mineralogical characterization of the bentonite buffer for the acceptance control procedure in a KBS-3 repository. SKB report TR-10-60, Švédsko, 29 s.
- MARSH, G. P., TAYLOR, K. J. (1988): An Assesment of Carbon Steel Containers for Radioactive Waste Disposal. *Corrosion Science*, 28, 289-320.
- MCMURDIE P. J., HOLMES S. (2013): phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.

- MIETTINEN H., BOMBERG M., VIKMAN M. (2015): Microbial activation due to addition of electron donors/acceptors in deep groundwaters (No. DELIVERABLE D2.5). MIND.
- NADKARNI M. A., MARTIN F. E., JACQUES N. A., HUNTER N. (2002): Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. – *Microbiology* 148, 257–266.
- 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>
- QUAST C., PRUESSE E., YILMAZ P., GERKEN J., SCHWEER T., YARZA P., GLÖCKNER F. O. (2012): The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. – *Nucleic acids research*, 41(D1), D590-D596.
- 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.
- SHRESTHA R., CERNA K., SPANEK R., BARTAK D., CERNOUSEK T., SEVCU A. (2022): The effect of low-pH concrete on microbial community development in bentonite suspensions as a model for microbial activity prediction in future nuclear waste repository. *Science of The Total Environment*, 808, 151861.
- 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.
- SVENSSON D., DUECK A., NILSSON U., SANDÉN T., LYDMARK S., JÄGERWALL S., PEDERSEN K., HANSEN S. (2011): Alternative buffer material. Status of the ongoing laboratory investigation of reference materials and test package 1. SKB report TR-11-06, Švédsko, 146 s.
- SVENSSON D., LUNDGREN C., JOHANESSON L.-E., NORRFORS K. (2017): Developing strategies for acquisition and control of bentonite for a high level radioactive waste repository. SKB report TR-16-14, Švédsko, 98 s.
- SVENSSON D., ERIKSSON P., JOHANESSON L.-E., LUNDGREN CH., BLADSTRÖM T. (2019): Development and testing of methods suitable for quality control of bentonite as KBS-3 buffer and backfill. SKB report TR-19-25, Švédsko, 165 s.
- 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>

8 Elektronické přílohy

Příloha 1 Materiálový list BENTONIT BCV

Příloha 2 Materiálový list BENTONIT BARA KADE



SÚRAO

SPRÁVA ÚLOŽIŠŤ
RADIOAKTIVNÍCH
ODPADŮ

NAŠE
BEZPEČNÁ
BUDOUCNOST

info@suroao.cz | www.suroao.cz