

微生物对⁹⁹Tc 在土壤/矿物介质中 还原-固定作用的影响

龚俊源^{1,2}, 李成金¹, 李 慧¹, 郭豫齐¹, 李飞泽¹, 杨远友¹, 刘 宁¹, 廖家莉^{1,*}

1. 四川大学 原子核科学技术研究所, 辐射物理及技术教育部重点实验室, 四川 成都 610064;
2. 西南科技大学 环境与资源学院, 核废物与环境安全国防重点学科实验室, 四川 绵阳 621010

摘要: 锝-99(⁹⁹Tc)是核燃料循环中典型长寿命裂变产物, 因以高溶解性和迁移性的 TcO_4^- (Tc(VII))形式存在而难以在天然介质中固定, 是高放废物处置库长期安全性评估中的关键控制核素。微生物能够通过代谢活动将 Tc(VII)还原为难溶的 Tc(IV)沉淀, 从而影响 Tc 的环境归趋。本研究选取本土的革兰氏阴性菌 *Klebsiella variicola* X-21(以下简称 *K. variicola* X-21)和革兰氏阳性菌 *Bacillus cereus* X-68(以下简称 *B. cereus* X-68), 系统考察其在土壤、塔木素黏土及北山花岗岩三种典型环境介质中的 Tc(VII)还原-固定作用及产物稳定性。静态实验结果显示: 三种介质本身对 Tc(VII)的吸附能力极弱, 而细菌接种可显著促进 Tc(VII)向 Tc(IV)的转化沉积, 还原效率随接种量增加而提高; 其中, 土壤体系因 NO_3^- 的存在, 还原-固定作用受到了明显抑制。动态柱实验表明, 微生物作用可有效延缓 Tc 的突破与流出, 预还原产物在 450 h 连续冲刷后仍保持较高滞留率(最高可达 98%), 不同体系中对还原 Tc 固滞能力的顺序为土壤>塔木素黏土>北山花岗岩。在有氧条件下, 部分还原产物发生再氧化并重新迁移, 其中 *K. variicola* X-21 生成的还原产物稳定性强于 *B. cereus* X-68。研究表明, Tc 的固定高度依赖于微生物诱导的还原过程, 且受环境介质成分及氧化条件的显著影响, 不同微生物控制的 Tc 稳定性存在差异。本研究为放射性 Tc 污染的环境治理及高放废物处置库长期安全性评估提供了实验依据与理论支撑。

关键词: 锝-99; 微生物还原; 土壤/矿物体系; 阻滞

中图分类号: TL942.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-9950(2025)06-0666-11

doi: 10.7538/hhx.2025.47.06.0666

Microbial Reduction and Immobilization of ⁹⁹Tc in Soil/Mineral Systems

GONG Jun-yuan^{1,2}, LI Cheng-jin¹, LI Hui¹, GUO Yu-qi¹, LI Fei-ze¹,
YANG Yuan-you¹, LIU Ning¹, LIAO Jia-li^{1,*}

1. Key Laboratory of Radiation Physics and Technology of the Ministry of Education, Institute of Nuclear Science and Technology, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. National Defense Key Discipline Laboratory of Nuclear Waste and Environmental Security, School of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China

Abstract: Technetium-99(⁹⁹Tc) is a long-lived fission product in the nuclear fuel cycle. Predominantly existing as the highly soluble and mobile pertechnetate anion(TcO_4^- , Tc(VII)), it poses significant challenges

收稿日期: 2025-09-10; 修订日期: 2025-11-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21876123); 四川省科技计划项目(2024YFCY0006)

* 通信联系人: 廖家莉

for immobilization in natural environments and is considered a key radionuclide in the long-term safety assessment of high-level radioactive waste repositories. Microbial processes can reduce Tc(VII) to insoluble Tc(IV) precipitates, altering its environmental mobility. In this study, two indigenous microbial strains—*Klebsiella variicola* X-21(Gram-negative) and *Bacillus cereus* X-68(Gram-positive)—were systematically investigated for their capacity to reduce and immobilize Tc(VII) in three representative natural media: soil, Tamusu clay, and Beishan granite. Batch experiments revealed that abiotic media exhibited negligible sorption capacity, while microbial activity significantly enhanced Tc(VII) reduction, with efficiency positively correlated with inoculum concentration. However, NO₃⁻ strongly inhibited Tc reduction in the soil system. Dynamic column tests show that microbial processes effectively delay Tc breakthrough and effluent release, with pre-reduced Tc products exhibiting high retention(up to 98%) over 450 h of continuous leaching. Under oxic conditions, partial reoxidation and remobilization are observed; nevertheless, Tc(IV) products generate by *Klebsiella variicola* X-21 displayed greater redox stability than those formed by *Bacillus cereus* X-68. Overall, the findings highlight that Tc immobilization in complex natural matrices is governed by microbially mediated reduction processes, strongly influenced by the composition of the matrix and prevailing redox conditions. This study provides new experimental insights into the biogeochemical mechanisms controlling Tc behavior in natural environments and offers a scientific basis for *in situ* bioremediation strategies, engineered barrier design, and safety assessment of geological repositories in China.

Key words: technetium-99; microbial reduction; soil/mineral system; inhibition

锝-99(⁹⁹Tc)是²³⁵U和²³⁹Pu热中子裂变的重要产物,累积裂变产额分别高达6.1%和5.9%,是乏燃料中典型的长寿命($T_{1/2}=2.1\times 10^5$ a)β放射性核素之一,在核燃料循环过程中不可避免地会流出到环境中^[1-3]。由于其环境迁移性强且具有潜在生物累积效应,⁹⁹Tc被认为是核燃料循环及高放废物地质处置长期安全性评估中的关键放射性核素^[4]。

在氧化条件下,Tc主要以高锝酸根阴离子TcO₄⁻(Tc(VII))形式存在,具有高溶解性和迁移性,难以在土壤和矿物等天然环境介质中被固定;而在还原条件下,Tc(VII)可转化为难溶的Tc(IV)氧化物或硫化物,显著降低其迁移能力^[5-6]。因此,Tc的氧化还原转化被认为是控制其环境归趋的核心环节。

自然环境中广泛存在的微生物群落在这一过程中发挥着关键调控作用。微生物可通过代谢活动形成局部还原微环境,进而诱导Tc(VII)还原为难溶的Tc(IV)。一方面,微生物可通过电子传递系统将代谢产生的电子转移至Tc(VII),直接实现酶促还原;另一方面,微生物在异化还原过程中可代谢生成Fe(II)、S(II)等还原性中间体,这些物质能够进一步与Tc(VII)发生界面反应,间接促成其还原与沉积^[7]。因此,微生物诱

导的Tc(VII)还原包括了酶促电子传递与代谢产物介导的协同过程。已有研究表明,该过程受电子供体、电子传递介质(核黄素、醌类化合物)、共存阴离子(NO₃⁻、SO₄²⁻)及溶解性有机质等多种环境因素调控^[8-9]。不同还原途径生成的Tc(IV)在晶体结构、沉积形态及抗氧化稳定性方面存在差异,进而影响其长期环境行为和再迁移风险。

近年来,英国、美国等国家围绕Sellafield、Hanford等典型核设施场址开展了大量研究,揭示了*Geobactersulfurreducens*、*Shewanella oneidensis*、*Desulfovibrio*属等典型菌株诱导Tc(VII)还原的行为规律及部分分子机制,并在现场试验中通过外源电子供体刺激微生物群落,验证了生物还原作用在Tc污染场地修复中的有效性^[10-12]。然而,目前国内关于Tc的微生物地球化学研究尚处于起步阶段,缺乏基于我国典型环境介质和本土菌群的系统实验数据,现有国外研究成果难以直接应用于我国核设施周边环境风险分析及高放废物处置的长期安全性评价。

基于此,本研究选取我国西南某核设施周边土壤分离获得的两株代表性本土菌株——革兰氏阴性菌*Klebsiella variicola* X-21(以下简称*K.*

variicola X-21)和革兰氏阳性菌 *Bacillus cereus* X-68 (以下简称 *B. cereus* X-68), 构建微生物-土壤/矿物复合体系, 采用静态及动态柱实验系统考察其在土壤、塔木素黏土及北山花岗岩中的 Tc(VII)还原-固定行为, 并进一步评估还原产物在氧化环境下的再氧化风险。研究旨在: (1) 阐明复杂土壤/矿物体系对微生物诱导 Tc(VII)还原的影响及关键控制因子; (2) 比较不同菌株诱导的还原产物在氧化条件下的抗再氧化稳定性差异; (3) 评估典型环境介质对 Tc 迁移性的阻滞作用及长期稳定性。研究结果可为放射性 Tc 污染的环境治理及高放废物处置库长期安全性评估提供理论依据和实验数据支持。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

NH_4TcO_4 , ^{99}Tc 核纯度 > 99%, 成都钮瑞特医疗科技有限公司; Na_2CO_3 、 MgSO_4 、 CaCl_2 、 Na_2SO_4 、 NaHCO_3 、 Ph_4PCl 、 CHCl_3 , 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司。除特殊说明外, 所有试剂均未经过处理。

FH-463A 定标器、FT-603 井型 γ 探测器, 中核(北京)核仪器有限公司; DX-2700BH X 射线衍射

仪(XRD), 丹东浩元仪器有限公司; RIGAKU ZSX Primus X 射线荧光光谱仪(XRF), 日本理学株式会社; LHZW002XT 多头多通道蠕动泵, 惠州市联合众为科技有限公司; UV-2450 紫外/可见分光光度计, 日本岛津公司; Optima 8000 电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES), PerkinElmer 股份有限公司; Dionex AQUION RFIC 离子色谱仪(IC), Thermo Fisher Scientific 公司; Vario TOC SELECT 总有机碳分析仪, 德国 Elementar 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 土壤/矿物的前处理 将从我国西南地区某地采集的土壤风干, 筛选出大颗粒, 均质化并筛分为 0.1~0.5 mm 的颗粒, 密封并于 4 °C 保存备用。分别将塔木素黏土岩岩心、北山花岗岩岩心破碎, 并用玛瑙研钵研磨为 0.1~0.5 mm 的小颗粒, 密封并于 4 °C 保存备用。

1.2.2 工作液的准备 实验使用地表水或模拟地下水作为对应体系的工作液体环境。其中, 模拟北山地下水^[13]和塔木素地下水^[14]分别按文献中报道的成分配制, 具体配方列于表 1。北山地下水的 pH 调节至 8.0, 塔木素地下水的 pH 调节至 7.8, 地表水的 pH 经测试为 8.1。所有工作液均经过滤(孔径 < 0.22 μm)灭菌并除溶解氧后备用。

表 1 地表水/模拟地下水主要成分

Table 1 Major components of surface water/simulated groundwater

对应体系	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	CO_3^{2-}	NO_3^-	SO_4^{2-}
北山地下水(北山花岗岩)	27.50	1.20	1.80	3.90	18.10	3.30		5.90
塔木素地下水(塔木素黏土)	402.44	0.92	79.11	19.21	375.18	4.26		31.17
地表水(土壤) ¹⁾	0.05	0.06	1.48	2.25	0.47		0.04	2.17

注: 1) 地表水为直接取回的水样, 其离子浓度数据通过 ICP-OES 或 IC 直接测试所得

1.2.3 土壤/矿物对 Tc(VII)还原影响的静态实验 等量称取预处理后的土壤/矿物样品, 分别装入 50.0 mL 顶空瓶中, 并用透气封口膜(孔径 < 0.22 μm)封口灭菌。随后加入相应的灭菌工作液(固液比 100 g/L), 并加入 Tc(VII)储备液, 使最终 Tc 质量浓度达到 10 mg/L, 最后加入新鲜菌液(*K. variicola* X-21 或 *B. cereus* X-68)。操作均在乏氧手套箱(N_2 气氛, O_2 质量分数控制在 0.5×10^{-6} 以下)中完成, 并用丁基橡胶塞密封顶空瓶后, 于 35 °C、120 r/min 摇床中孵育。分别在第 1、2、4、6、8 天采样分析。

1.2.4 微生物对土壤/矿物固滞 Tc(VII)的动态柱实验 实验柱为内径 10 mm、外径 12 mm 的 PC 管, 两端以玻璃棉固定, 出水端装有尼龙滤网和 PE 筛板, 动态柱实验装置示于图 1。还原柱实验: 将灭菌处理的土壤/矿物与新鲜菌体混合后装柱, 注入不含 Tc 的工作液稳定 24 h; 以 Br 作示踪剂确定有效孔隙体积^[11, 15]后, 连续泵入含 Tc(10 mg/L)工作液, 随后切换为不含 Tc 的工作液; 在乏氧和有氧条件下, 监测流出液中 Tc 浓度; 实验结束后将柱体分段切割(每段 1 cm), 分析 Tc 滞留分布。预还原柱实验: 按上述静态实验方法完成 Tc(VII)

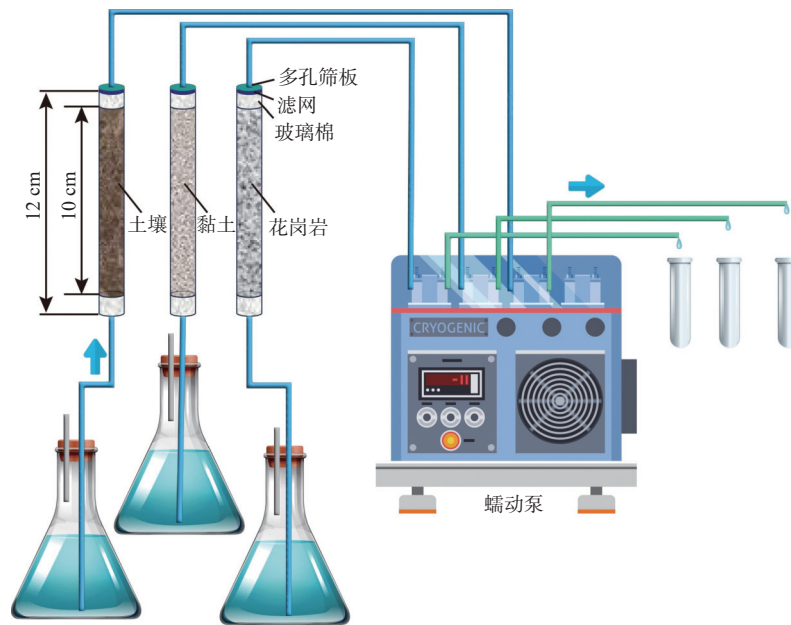


图1 动态柱实验示意图

Fig. 1 Schematic illustration of dynamic column experiment

的预还原,生物还原4d后,将反应体系于5000 r/min离心10 min分离出沉淀;所得沉淀按上述方法装填实验柱,并泵入相应体系不含Tc工作液,浸润填料,35 °C静置48 h以稳定柱内环境;分别在有氧和乏氧条件下,以约0.2 mL/h流速连续泵入90.0 mL相应体系的不含Tc工作液,收集流出液并分析放射性计数(流出的Tc含量),最后切分填料柱(每段1 cm),分析滞留在填料中Tc的放射性计数。预还原柱中Tc的滞留率=流水冲刷后每1 cm柱填料的净计数/每1 cm柱填料的初始净计数。

1.2.5 Tc(VII)还原率的测试和计算 每次取样1.0 mL,经12 000 r/min离心10 min分离沉淀与可溶性组分。利用溶剂萃取法分离可溶性组分中的Tc(VII)。其中,Ph₄PCl为萃取剂时,先将上述可溶性组分用去离子水(DW)稀释至2.0 mL,加入2.0 mL 50.0 mmol/L Ph₄PCl-CHCl₃溶液,混匀,萃取10 min,5 000 r/min离心5 min分离有机相和水相。⁹⁹Tc衰变时会产生γ射线(分支比0.000 65%),因此样品的Tc含量可通过井型探测器测量的γ计数反映,每组样品的放射性计数均为井型γ探测器的10 min净计数。分别测试有机相、水相以及重悬沉淀中Tc的放射性计数。利用测得的放射性计数计算Tc(VII)还原率,计算方法如下:

$$R(\text{Tc(VII)}) = \frac{C_{\text{Total}} - C(\text{Tc(VII)})}{C_{\text{Total}}} \times 100\% \quad (1)$$

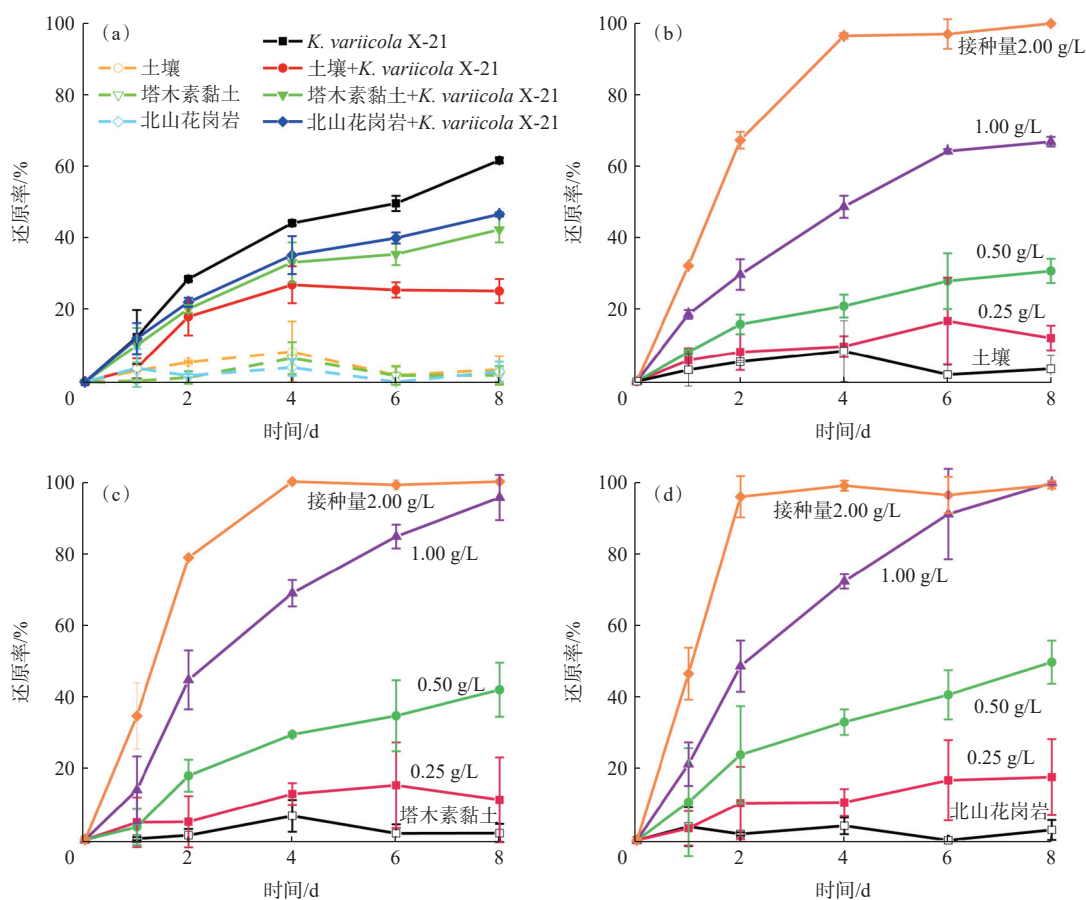
式中: $R(\text{Tc(VII)})$ 为细菌对Tc(VII)的还原率; C_{Total} 为总净计数; $C(\text{Tc(VII)})$ 为体系中剩余Tc(VII)的净计数。

2 结果与讨论

2.1 微生物-土壤/矿物体系对Tc的静态还原-固定

图2(a)为*K. variicola* X-21在不同环境介质体系中对Tc的还原-固定。如图2(a)所示,土壤、塔木素黏土和北山花岗岩均对溶液中的Tc(VII)吸附作用较弱。然而,在体系中接种*K. variicola* X-21后,溶液中Tc(VII)被逐渐还原并固定。值得注意的是,纯细菌体系的Tc(VII)还原率更高,表明环境介质的存在均在一定程度上降低了Tc(VII)还原率。其中,塔木素黏土和北山花岗岩体系的还原率相近,而土壤体系的还原率最低。上述结果表明,在*K. variicola* X-21-土壤/矿物复合体系中,对Tc(VII)主要发挥作用的为接种的微生物*K. variicola* X-21。

为进一步探究微生物接种量对Tc(VII)在环境介质中的还原-固定行为的影响,评估了不同接种量下各体系的还原率(图2(b, c, d))。图2(b, c, d)结果显示,Tc(VII)还原率均随*K. variicola* X-21接种量的增加而升高,且在各细菌接种浓度梯度中,土壤体系的还原率始终低于其他两种环境介质体系。



$\rho_0(\text{Tc})=10.0 \text{ mg/L}$, 35°C , 氧气质量分数 $<0.5 \times 10^{-6}$, 固液比 100 g/L ; $n=3$

(a)——不同环境介质体系; (b)——土壤, (c)——塔木素黏土, (d)——北山花岗岩

图2 *K. variicola* X-21 在不同环境介质体系(a)及不同接种量(b, c, d)时对 Tc(VII) 的还原-固定

Fig. 2 Tc(VII) reduction of *K. variicola* X-21 under different environmental medium systems(a) and varying inoculum levels(b, c, d)

为验证上述趋势的普适性,采用 *B. cereus* X-68 进行相同实验,结果示于图3。如图3所示, *B. cereus* X-68 接种后,溶液中的 Tc(VII) 逐渐被还原并固定,同样是纯细菌体系的还原率最高,且土壤体系的还原率最低。还原率也与 *B. cereus* X-68 接种量成正相关。

上述结果表明,无论接种何种微生物,微生物-土壤/矿物体系中对 Tc 还原-固定起主导作用的均为所接种微生物,而复杂环境介质成分可能对微生物还原能力产生一定的抑制作用。

上述实验中,土壤对 Tc 的生物还原-固定影响最大。为揭示其潜在影响机制,通过 XRD 分析了三种环境介质的主要矿物组成,结果示于图4。如图4所示,土壤中主要矿物为石英和板磷铝矿,塔木素黏土中主要矿物为白云石和铁白云石,而北山花岗岩则以钠长石和金云母为主。

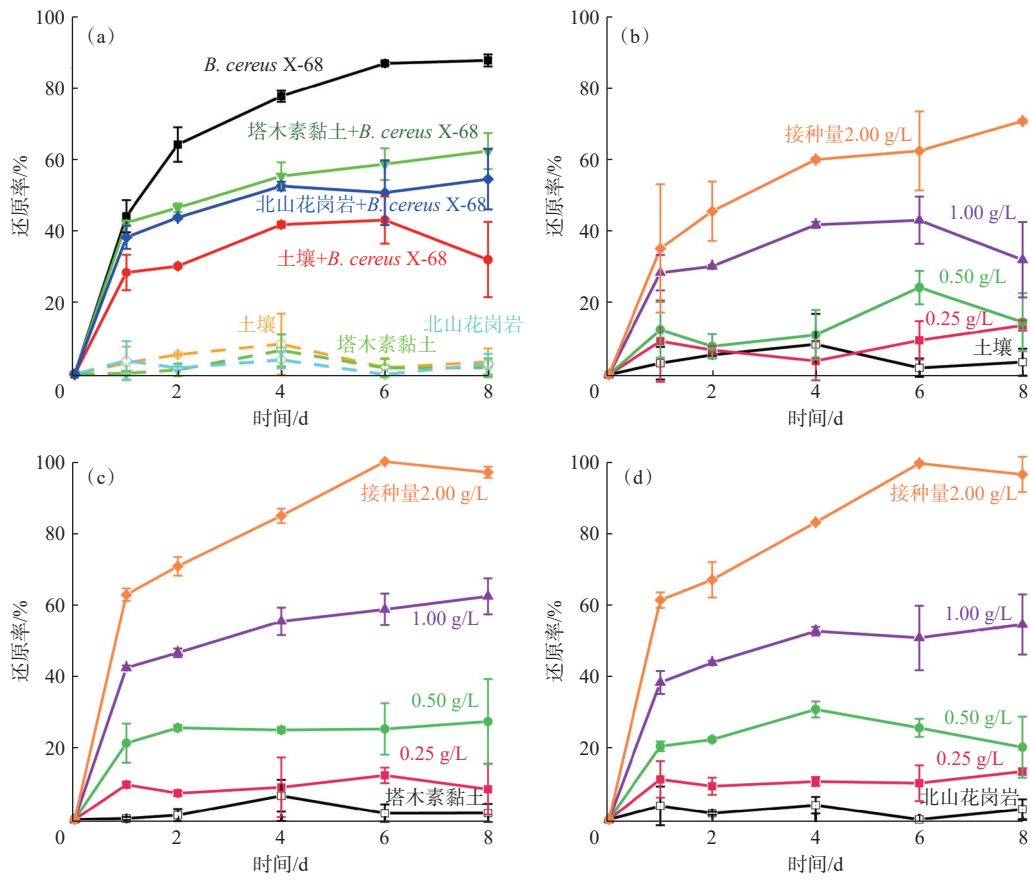
进一步采用 XRF 分析了样品的主要元素组

成,结果列于表2。如表2所示,三种环境介质以 Si 为主要元素,说明它们均以硅酸盐类矿物为主。

此外,还测定了各样品的关键组分含量,包括 Fe 含量、有机质含量、总有机碳(TOC)、溶解有机碳(DOC)、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮,结果列于表3。由表3数据可知,土壤和塔木素黏土中的 TOC 处于同一数量级,远高于北山花岗岩。而值得注意的是,土壤中的 DOC 含量最高,塔木素黏土的 DOC 仅和北山花岗岩相当。此外,土壤中的硝酸盐氮含量远高于其它样品,而北山花岗岩中几乎不含硝酸盐和亚硝酸盐。

结合上述实验中,土壤体系中 Tc(VII) 还原率始终最低的结果,说明实际环境中的 DOC 以及 NO_3^- 可能是影响 Tc(VII) 生物还原-固定的主要控制因素。

DOC 主要来源于天然有机质的溶解,其组成复杂,不同组分对 Tc 的迁移与转化行为具有显著



$\rho_0(\text{Tc})=10.0 \text{ mg/L}$, 35°C , 氧气质量分数 $<0.5 \times 10^{-6}$, 固液比 100 g/L; $n=3$

(a)——不同环境介质体系; (b)——土壤, (c)——塔木素黏土, (d)——北山花岗岩

图3 *B. cereus* X-68在不同环境介质体系(a)及不同接种量(b, c, d)时对Tc(VII)的还原-固定

Fig. 3 Tc(VII) reduction of *B. cereus* X-68 under different environmental medium systems(a) and varying inoculum levels(b, c, d)

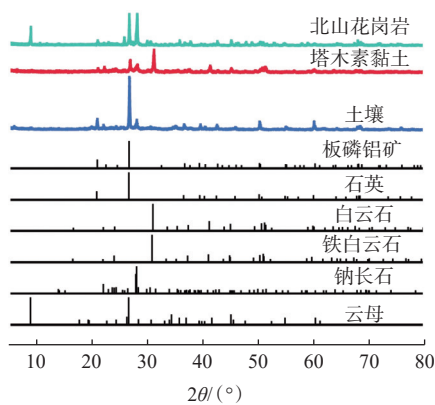


图4 土壤、塔木素黏土和北山花岗岩的XRD图

Fig. 4 XRD patterns of soil, Tamsus clay, and Beishan granite

影响, 这种影响主要取决于其主要成分的化学特性与反应活性。其中的多种小分子有机物(如甲酸盐、乙酸盐和乳酸盐等)可作为微生物的碳源和电子供体, 促进局部还原性微环境的形成, 从而为Tc(VII)的生物还原提供能量驱动力^[18-19]; 部

分天然有机质中的电子传递介质(如醌类和黄素类化合物)能够有效提高体系内电子传递效率, 加速Tc(VII)的还原过程^[8, 20]。此外, 天然有机质中的某些组分(如典型配体乙二胺四乙酸(EDTA)以及腐殖酸、黄腐酸等腐殖质)可显著提高Tc(IV)氧化物的溶解度, 使其由约 10^{-8} mol/L 升高至 10^{-7} mol/L , 从而改变其存在形态并增强其迁移能力^[21]。该过程可能增加Tc(IV)的再氧化风险, 对其在环境中的归趋及长期地球化学稳定性产生重要影响。因此, DOC可通过多种机制共同作用, 从电子供体、反应介质及配位溶解等多个维度影响Tc的迁移、转化及其在环境中的最终归趋, 其在特定环境条件下的作用机制仍需在后续研究中进一步阐明。

另一方面, NO_3^- 对Tc(VII)生物还原的作用则已较为明确。本课题组前期研究结果以及相关文献^[22-23]均表明, NO_3^- 具有较强的氧化性和竞争性电子受体特征, 从而削弱了微生物对Tc(VII)的

表2 土壤/矿物的元素构成(XRF)

Table 2 Elements in soil/mineral(XRF)

%

样品	w(Na)	w(Mg)	w(Al)	w(Si)	w(P)	w(S)	w(Cl)	w(K)	w(Ca)	w(Ti)
土壤	1.01	1.26	8.65	29.97	0.31	0.15	0.02	2.82	2.79	0.49
塔木素黏土	1.86	5.64	6.86	20.14	0.038	1.25	0.06	3.69	12.48	0.60
北山花岗岩	3.12	1.48	8.76	27.63	0.31	0.34	0.03	3.67	3.64	0.45

注: 仅列出除氧外, 含量最高的10种元素

表3 土壤/矿物的关键组分含量

Table 3 Key component contents of soil/minerals

样品	w(Fe)/(mg·g ⁻¹)	w(有机质)/(mg·g ⁻¹)	w(TOC)/(mg·g ⁻¹)	w(DOC)/(μg·g ⁻¹)	w(NO ₃ -N)/(μg·g ⁻¹)	w(NO ₂ -N)/(μg·g ⁻¹)
土壤	32.64	88.44	51.30	190.11	27.01	0.35
塔木素黏土	28.77	65.68	38.10	88.68	5.83	0.00
北山花岗岩	45.96	8.26	4.79	45.79	0.00	0.07

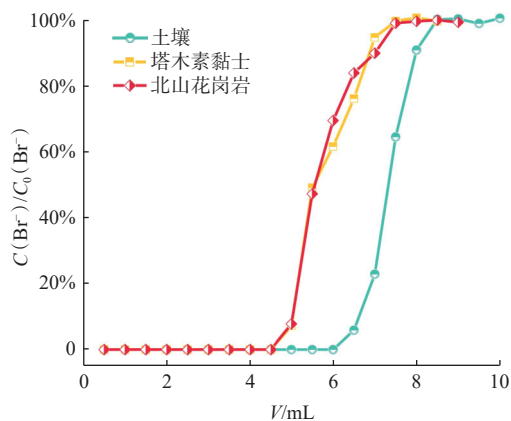
注: TOC通过熏蒸-TOC仪分析法测试; DOC通过水浸提-TOC仪分析法测试; 分别通过邻菲罗啉比色法^[16]、重铬酸钾法和砷钼酸法^[17]测试样品溶解后的Fe、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮含量

还原能力。因此, 土壤中较高的NO₃含量是抑制Tc(VII)生物还原的主要原因。

2.2 动态柱中Tc的还原与固定

2.2.1 还原柱中Tc的流出与滞留 在实际自然环境中, Tc通常随水体在环境介质孔隙中迁移。因此, 有必要在流动条件下考察微生物-土壤/矿物体系对Tc的还原-固定能力。如表1、图1所示, 实验构建了微生物-土壤/矿物柱体系, 并通过Br⁻示踪法测定了各柱的初始有效孔隙体积, 结果示于图5。如图5所示, 根据Br⁻的穿透体积确定该柱的初始有效孔隙体积^[11], 其中土壤柱为7.5 mL, 塔木素黏土柱和北山花岗岩柱均为8.5 mL。

在接种与不接种微生物体系中, 分别测定Tc



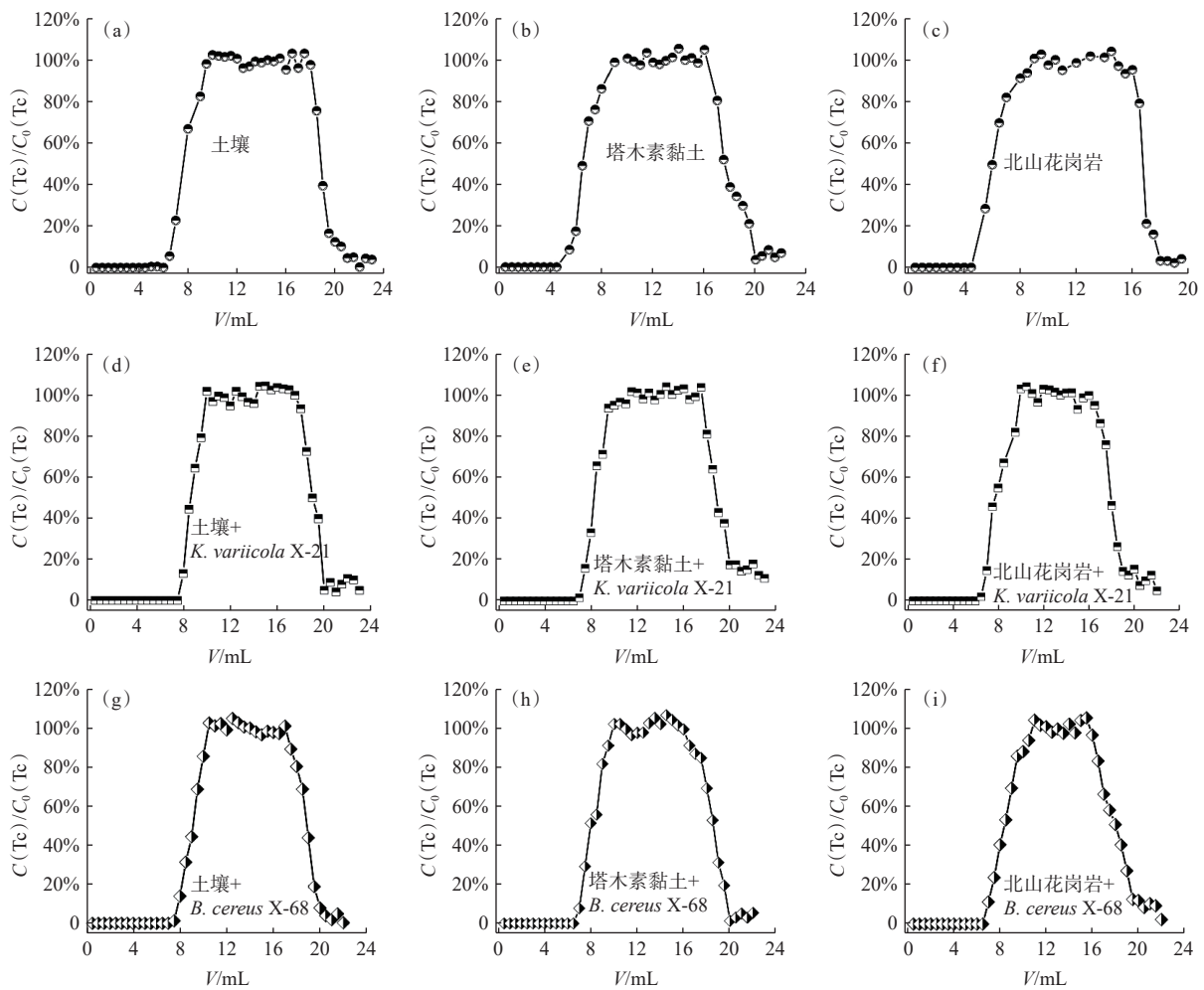
$\rho_0(\text{Br}^-) = 20.0 \text{ mg/L}$, 流速 0.2 mL/h

图5 Br⁻的流出曲线Fig. 5 Efflux curve of Br⁻

的流出曲线, 结果示于图6。如图6所示, 未接种微生物时, Tc在土壤柱中的穿透体积约为10.0 mL, 而在塔木素黏土柱和花岗岩柱中约为9.0 mL, 比各柱初始孔隙体积稍大。花岗岩柱中的Tc在约18.0 mL时就几乎完全流出, 快于土壤柱和塔木素黏土柱。接种*K. variicola* X-21后, 三种环境介质柱中Tc的穿透体积均约为10.0 mL, 在20.0 mL时各体系中仍有少量Tc流出; 而接种*B. cereus* X-68后, Tc在土壤、塔木素黏土和花岗岩柱中的穿透体积分别约为10.5、10.0、11.0 mL, 在20.0 mL时各体系中的Tc也未完全流出。上述结果表明, 微生物的引入不同程度增加了Tc的穿透体积, 同时也延缓了Tc在柱中的完全流出。

为进一步揭示Tc在动态柱中的滞留特征, 在排空柱中液体后, 将其按1 cm间距切分(图7(a))。分析其中Tc的含量, 结果示于图7(b—d)。如图7(b—d)所示, 未接种细菌的土壤、塔木素黏土和花岗岩中均未发现Tc滞留, 与静态实验的结果一致。接种细菌的动态柱中, 发现了明显的Tc滞留, 且其空间分布与菌体分布一致, 表明*K. variicola* X-21和*B. cereus* X-68均可在流动条件下还原并固定Tc。

2.2.2 预还原柱中Tc的流出与滞留 为评估被还原-固定的Tc的稳定性, 在有氧与乏氧条件下对微生物预还原的Tc进行连续流水冲刷, 监测Tc的流出情况, 并分析柱内滞留比例。*K. variicola* X-21预还原体系的结果示于图8。如图8所



Tc 溶液 15.0 mL, $\rho_0(\text{Tc})=10.0 \text{ mg/L}$, 35 °C, 流速 0.2 mL/h, 氧气质量分数 $<0.5 \times 10^{-6}$

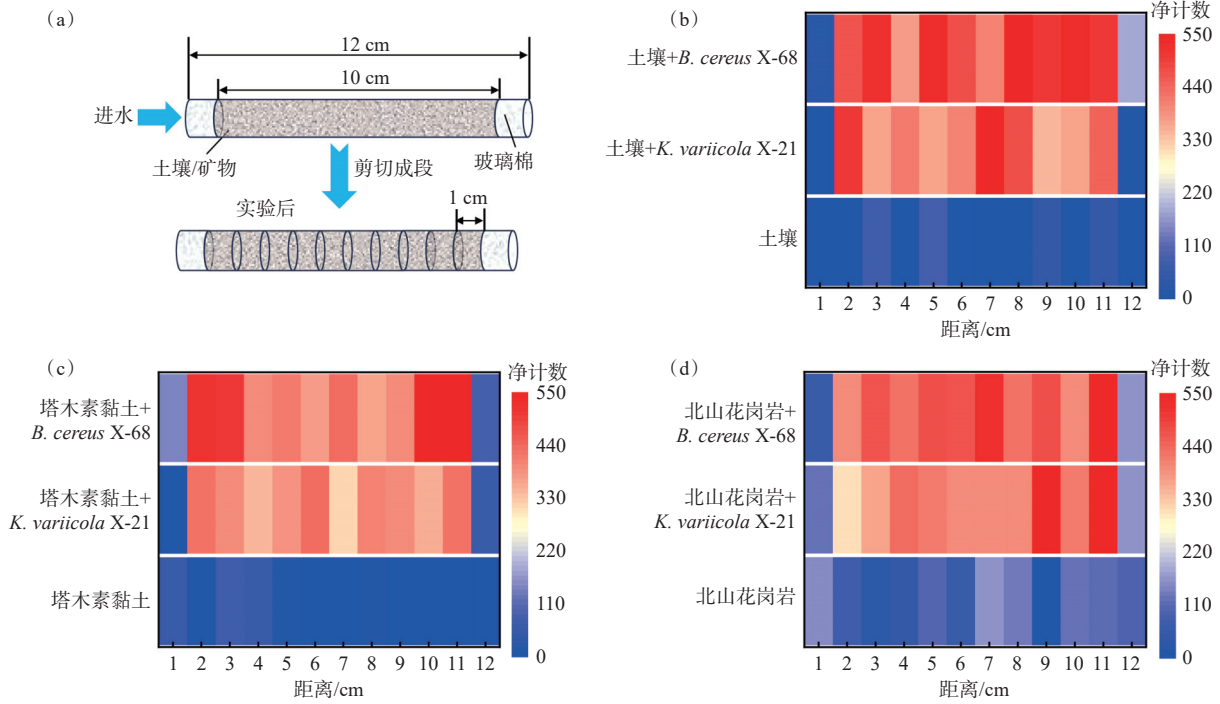
图 6 Tc 的流出曲线

Fig. 6 Efflux curves of Tc

示,流出液的放射性计数随时间递减,前 72 h 流出液中 Tc 含量较高,后续流出液中 Tc 含量较低且趋于稳定。前期的 Tc 流出可归因于溶解 Tc 或含 Tc 菌体的随水迁移,整体上有氧条件下流出液的放射性计数更高,提示 Tc 被再氧化溶出。不同介质中,土壤柱最初流出的 Tc 最少,塔木素黏土柱次之,显示其对 Tc 具有较强的滞留能力。450 h 后,厌氧条件下 Tc 滞留率分别为:土壤体系 89%~98%,塔木素黏土体系 74%~87%,北山花岗岩体系 29%~86%;而有氧条件下 Tc 的滞留率分别为:土壤体系 87%~97%、塔木素黏土体系 57%~84%、北山花岗岩体系 43%~67%。总体上,Tc 的滞留率沿进水端至出水端呈递增趋势,且在厌氧条件下 Tc 的滞留率相对更高,说明有氧环境会增强 Tc 在环境中的迁移能力。在土壤体系中 Tc 的滞留率最高,其次为塔木素黏土体系,最低的为

北山花岗岩体系。因此,三种环境介质体系中,对 *K. variicola* X-21 还原后 Tc 的固定能力强弱顺序为:土壤 > 塔木素黏土 > 北山花岗岩。

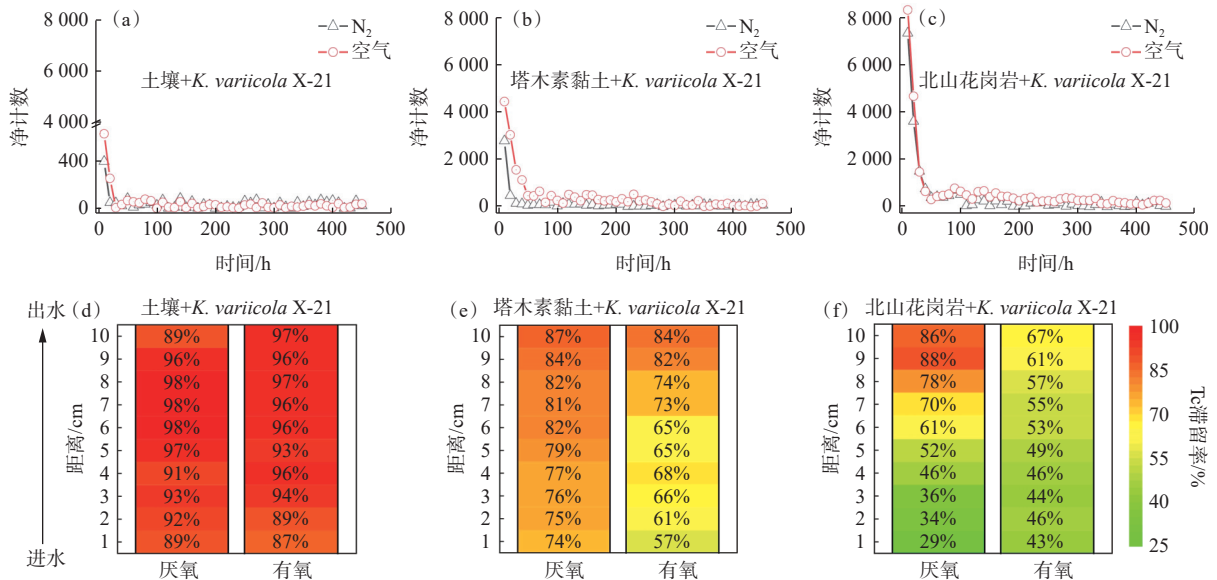
B. cereus X-68 体系呈现类似规律(图 9)。总体上,流出液中 Tc 含量最高为花岗岩柱,其次为塔木素黏土柱,最低为土壤柱。经过 450 h 的流水冲刷,厌氧条件下 Tc 的滞留率分别为:土壤体系 87%~95%,塔木素黏土体系 68%~89%,北山花岗岩体系 21%~70%;有氧条件下 Tc 的滞留率分别为:土壤体系 82%~96%、塔木素黏土体系 47%~85%、北山花岗岩体系 37%~53%。对 Tc 固定能力强弱顺序同样为:土壤 > 塔木素黏土 > 北山花岗岩。这可能归因于土壤在细菌的作用下,更容易形成土壤-细菌团聚体,从而增强了对 Tc 的物理滞留。值得注意的是,虽然两株菌株体系的滞留率总体趋势相同,但 *K. variicola* X-21



(b—d)分图横坐标为从进水端开始的距离,柱实验后将柱体均匀切分为1 cm的小段,分别测试其中的放射性计数

图7 柱体切分的示意图(a)及Tc在不同柱内分布情况(b—d)

Fig. 7 Schematic diagram of column segmentation(a) and distribution of Tc within different columns(b-d)



35 °C, 流速 0.2 mL/h; 厌氧条件: N_2 气氛, O_2 质量分数 $< 0.5 \times 10^{-6}$; 有氧条件: 空气

图8 *K. variicola* X-21 预还原柱 Tc 流出(a—c)及在柱内的滞留(d—f)

Fig. 8 Tc elution(a-c) and retention patterns(d-f) of *K. variicola* X-21 pre-reduction column

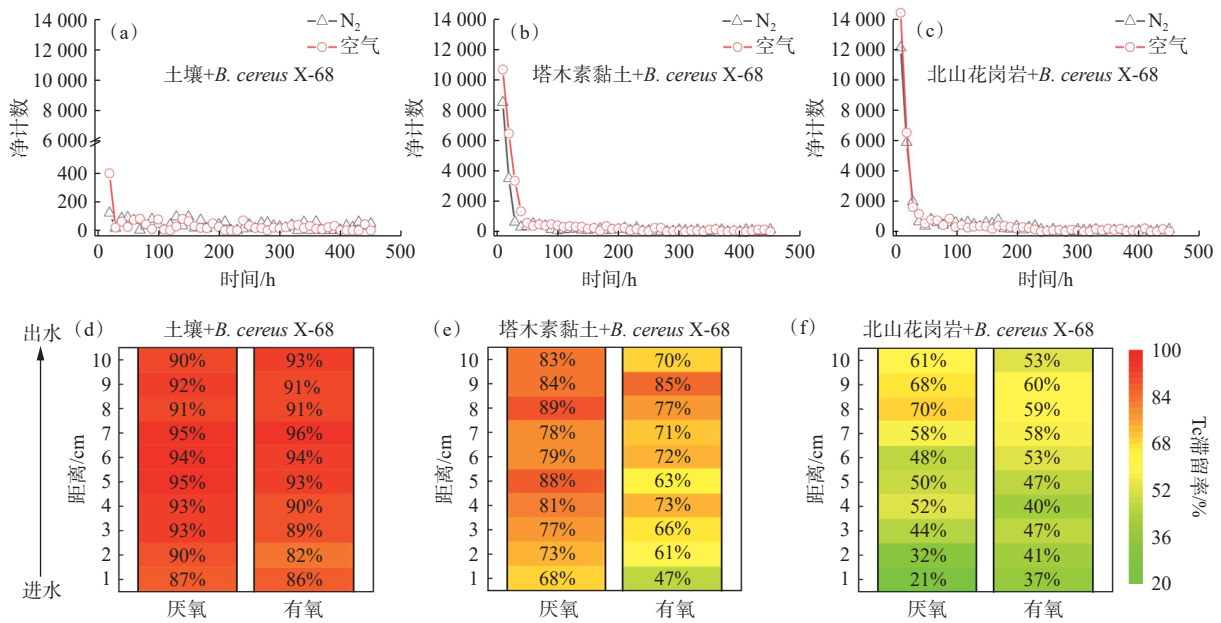
预还原 Tc 的滞留率相对更高。

3 结论

本研究基于从我国本土环境分离获得的两株代表性菌株 *K. variicola* X-21 和 *B. cereus* X-68, 系统

考察了其在土壤、塔木素黏土及北山花岗岩等典型环境介质中的 Tc(VII)还原-固定行为, 并进一步评估了还原产物在氧化环境下的稳定性, 得出以下结论。

(1) 天然介质本身几乎不具备对 Tc 的吸附或



35 ℃, 流速 0.2 mL/h; 厌氧条件: N₂ 气氛, O₂ 质量分数 < 0.5 × 10⁻⁶; 有氧条件: 空气

图 9 *B. cereus* X-68 预还原柱 Tc 流出(a—c)及 Tc 在柱内的滞留(d—f)

Fig. 9 Tc elution(a-c) and retention patterns(d-f) of *B. cereus* X-68 pre-reduction column

转化能力, 而微生物则是决定 Tc(VII) 归趋的关键驱动因子。在静态实验中, 两株菌均可显著促进 Tc(VII) 还原, 且还原率随菌株接种量增加而提高, 但土壤体系因 NO₃ 含量较高而表现出最强的抑制效应。

(2) 在动态柱实验中, 微生物有效延缓了 Tc 的突破与流出, 说明在流动条件下生物作用依然能够发挥显著的阻滞效应; 其中土壤体系对 Tc 的滞留能力最强, 其次为塔木素黏土, 而花岗岩体系最低。

(3) 进一步的预还原柱实验表明, 微生物诱导的 Tc 固定产物在乏氧条件下具有较高的稳定性, 长时间冲刷后滞留率仍保持在较高水平; 然而在有氧条件下, 部分还原产物发生再氧化并重新迁移, 表明氧化环境是影响 Tc 固定产物长期行为的关键因素。值得注意的是, *K. variicola* X-21 生成的还原产物抗氧化性优于 *B. cereus* X-68, 显示不同菌株在控制 Tc 还原-固定的稳定性方面存在差异。

本研究揭示了典型微生物在复杂土壤/矿物体系中对 Tc 迁移行为的生物地球化学调控作用, 阐明了环境介质组成及氧化还原条件对该过程的关键影响。研究结果不仅为深入理解 Tc 在自然环境中的长期迁移与归趋提供了实验依据, 也

为放射性 Tc 污染场地的原位生物修复策略设计提供了理论指导。同时, 对高放废物处置场地的安全性评估与选址优化具有重要参考价值, 可为处置库工程屏障体系设计及长期性能预测提供科学支撑。未来研究可在此基础上进一步探索微生物群落演替、电子受体竞争及多场耦合作用对 Tc 迁移固定的长期影响, 为放射性废物地质处置与环境修复工程的可持续安全提供更加完善的科学依据。

参考文献:

[1] Kenna B T, Kuroda P K. Technetium in nature[J]. *J Inorg Nucl Chem*, 1964, 26(4): 493-499.
 [2] Tribalat S, Beydon J. Isolement du technetium[J]. *Anal Chim Acta*, 1953, 8: 22-28.
 [3] Chatterjee S, Holfeltz V E, Hall G B, et al. Identification and quantification of technetium species in Hanford waste tank AN-102[J]. *Anal Chem*, 2020, 92(20): 13961-13970.
 [4] Shi K, Hou X, Roos P, et al. Determination of technetium-99 in environmental samples: a review[J]. *Anal Chim Acta*, 2012, 709: 1-20.
 [5] Lukens W W J, Bucher J I, Edelstein N M, et al. Products of pertechnetate radiolysis in highly alkaline solution: structure of TcO₂·xH₂O[J]. *Environ Sci Technol*, 2002, 36(5): 1124-1129.
 [6] Burke I T, Boothman C, Lloyd J R, et al. Reoxidation

- behavior of technetium, iron, and sulfur in estuarine sediments[J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(11): 3529-3535.
- [7] Michalsen M M, Goodman B A, Kelly S D, et al. Uranium and technetium bio-immobilization in intermediate-scale physical models of an *in situ* bio-barrier[J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(22): 7048-7053.
- [8] Zhang H, Li B, Qian T, et al. Enhanced bio-immobilization of perrhenate by driving microbial extracellular electron transfer: evidence from spectroscopy and DFT calculations[J]. *Chem Eng J*, 2025, 505: 159086.
- [9] Zhang H, Li B, Liu X, et al. Pyrite-stimulated bio-reductive immobilization of perrhenate: insights from integrated biotic and abiotic perspectives[J]. *Water Res*, 2024, 262: 122089.
- [10] Williamson A J, Lloyd J R, Boothman C, et al. Biogeochemical cycling of ^{99}Tc in alkaline sediments[J]. *Environ Sci Technol*, 2021, 55(23): 15862-15872.
- [11] Thorpe C L, Law G T W, Lloyd J R, et al. Quantifying technetium and strontium bioremediation potential in flowing sediment columns[J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(21): 12104-12113.
- [12] Meena A H, Arai Y. Environmental geochemistry of technetium[J]. *Environ Chem Lett*, 2017, 15(2): 241-263.
- [13] Tan Y, Zhou G, Zhang H, et al. Effect of drying cracks on swelling and self-healing of bentonite-sand blocks used as engineered barriers for radioactive waste disposal[J]. *J Rock Mech Geotech Eng*, 2024, 16(5): 1776-1787.
- [14] Zhang H, Dong Y, He H, et al. Sorption of cesium on Tamusu clay in synthetic groundwater with high ionic strength[J]. *Radiochim Acta*, 2020, 108(4): 287-296.
- [15] Thorpe C L, Lloyd J R, Law G T W, et al. Retention of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ at ultra-trace levels in flowing column experiments- insights into bioreduction and biomineralization for remediation at nuclear facilities[J]. *Geomicrobiol J*, 2016, 33(3-4): 199-205.
- [16] 魏冬梅, 蒋娟, 梁艳英, 等. 邻菲罗啉比色法测定葡萄酒中铁含量实验方法改进[J]. *广州化工*, 2021, 49(1): 69-71.
- [17] 刘永华. 测定水生态环境中亚硝酸盐氮三种方法的解析与探讨[J]. *水资源开发与管理*, 2025, 11(6): 32-8.
- [18] Wildung R E, Gorby Y A, Krupka K M, et al. Effect of electron donor and solution chemistry on products of dissimilatory reduction of technetium by *Shewanella putrefaciens*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(6): 2451-2460.
- [19] Lloyd J R, Thomas G H, Finlay J A, et al. Microbial reduction of technetium by *Escherichia coli* and *Desulfovibrio desulfuricans*: enhancement via the use of high-activity strains and effect of process parameters[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1999, 66(2): 122-130.
- [20] Cherkouk A, Law Gareth T W, Rizoulis A, et al. Influence of riboflavin on the reduction of radionuclides by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Dalton Trans*, 2016, 45(12): 5030-5037.
- [21] Gu B, Dong W, Liang L, et al. Dissolution of technetium(IV) oxide by natural and synthetic organic ligands under both reducing and oxidizing conditions[J]. *Environ Sci Technol*, 2011, 45(11): 4771-4777.
- [22] Gong J, Li S, Chen S, et al. New insights into the behavior and biochemical mechanism of microbial Tc(VII) reduction via the investigation of electron transfer[J]. *Chem Eng J*, 2024, 497: 154326.
- [23] Law G T W, Geissler A, Boothman C, et al. Role of nitrate in conditioning aquifer sediments for technetium bioreduction[J]. *Environ Sci Technol*, 2010, 44(1): 150-155.