شناسایی کمّی سهم مکانیسم‌های مختلف در جذب‌زیستی اورانیوم توسط جاذب ترکیبی *Pseudomonas putida @ Chitosan*

صحبت‌زاده، هژبر- کشتکار، علیرضا* - صفدری، سیدجابر – فاطمی، فائزه- قاسمی ترک‌آباد، مرتضی
سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده چرخه سوخت هسته‌ای

چکیده:

در این پژوهش، میزان مشارکت مکانیسم‌های مختلف در جذب‌زیستی اورانیوم از محلول‌ها آبی بررسی شد. نتایج نشان داد که بخش کمی از اورانیوم بصورت جذب فیزیکی به جاذب متصل شده است. مکانیسم‌های تبادل یون و تشکیل کمپلکس به ترتیب بیشترین سهم را در تمامی آزمایش‌ها داشتند که ثابت می‌کند یون‌های اورانیوم قویا به جاذب‌ها پیوند خورده‌اند. همچنین مشخص شد که افزایش pH اولیه محلول از ۲ تا ۵، علی‌رغم اینکه موجب افزایش میزان اورانیوم جذب‌شده گردید، اما تغییری جدی در سهم مکانیسم‌های ایجاد ننمود. علاه بر این، تثبیت سلول‌های باکتریایی موجب افزایش ظرفیت جذب جاذب ترکیبی (۱۸۱/۸۳ mg/g) در مقایسه با کیتوزان (۱٤۱/۸۹ mg/g) شد.

کلمات کلیدی: *جاذب ترکیبی، جذب‌زیستی، اورانیم (VI)، باکتری Pseudomonas putida، pH محلول*

مقدمه:

در سال‌های اخیر، به‌کارگیری بیوتکنولوژی برای کنترل و حذف آلودگی‌های ناشی از فلزات مورد توجه قرار گرفته است و به‌تدریج به مبحثی داغ در زمینه کنترل آلودگی تبدیل شده است که ناشی از قابلیت‌های کاربردی آن می‌باشد [۱]. در میان روش‌های بیولوژیکی، ثابت شده است که جذب‌زیستی (Biosorption) از پتانسیل مناسبی جهت جایگزینی روش‌های متداول شیمیایی در حذف آلودگی‌ها برخوردار می‌باشند [۲].

اگرچه مشخصه‌یابی جاذب‌زیستی به اندازه‌ی تعیین پارامترهای جذب‌زیستی برای توسعه کاربردهای صنعتی آن لازم می‌باشد، اما شناسایی مکانیسم(های) اصلی دخیل در فرآیند نیز به‌دلیل این‌که موجب بهبود دانش در سطح و تراز مولکولی می‌شود، ضرورت دارد [۳]. درک محدود از مکانیسم جذب‌زیستی، موجب محدودیت در به‌کارگیری این فرآیند به‌ویژه در مقیاس صنعتی می‌شود. لذا تحقیق و پژوهش در زمینه شناسایی مکانیسم جذب‌زیستی فلزات یک چالش واقعی در مسیر بهینه‌سازی و صنعتی‌سازی این فرآیند می‌باشد [۱].

طبقه‌بندی‌های مختلفی برای مکانیسم‌ها ارائه شده است که در یکی از متداول‌ترین تقسیم‌بندی‌ها، مکانیسم فرآیند شامل چهار دسته‌ی جذب فیزیکی (Physical adsorption)، تشکیل کمپلکس (Complexation)، تبادل یون (Ion-exchange) و میکرو رسوب‌دهی (Micro-precipitation) در نظر گرفته شده است [٤].

در برخی مراجع، برای تعیین سهم کمّی مشارکت هر یک از مکانیسم‌ها در جذب‌زیستی یون‌های فلزی بر روی جاذب‌های زیستی، از معرف‌هایی مناسب در فرآیند واجذب استفاده شده است. برای این منظور از آب جهت واجذب یون‌هایی که از طریق بدام‌اندازی فیزیکی جذب شده‌اند، استفاده شده است. کسر دوم یون‌های جذب‌شده که ناشی از مجموع جذب فیزیکی و جذب حاصل از تبادل با یون‌های K^+، Ca^{2+}، Na^+ و Mg^{2+} موجود در جاذب بوده است، با استفاده از NH_4NO_3 واجذب شده‌اند. کسر سوم نیز که به دو طریق قبلی بعلاوه‌ی تشکیل کمپلکس با گروه‌های عاملی روی دیواره‌ی جاذب جذب شده‌اند، با استفاده از EDTA قابل واجذب بوده است در حالی‌که با استفاده از آب و NH_4NO_3 این امکان وجود ندارد [۵].

در این پژوهش، با استفاده از واجذب‌کننده‌های شیمیایی، ضمن شناسایی مکانیسم‌های مختلف جذب‌زیستی اورانیوم توسط ژل‌دانه‌های جاذب ترکیبی (همراه با تغییر مقدار pH اولیه محلول از ۲ تا ۵) و کیتوزان (در pH=۵)، سهم کمّی هر یک از آنها نیز در فرآیند تعیین شده است.

روش کار:

میکروارگانیسم و مواد

باکتری *P.Putida* بشکل لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران (PTCC) و پودر کیتوزان از محصولات شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد. محلول‌های آبی حاوی اورانیوم نیز از انحلال نمک نیترات اورانیل $UO_2(NO_3)_2.6H_2O$ (شرکت مرک) در آب بدون یون تهیه شد. مقادیر pH محلول‌ها با استفاده از HNO_3 و NaOH یک مولار و به وسیله یک pH متر (مدل ٦٩١، شرکت Metrohm) تنظیم شد.

محیط کشت

برای احیای باکتری لیوفیلیزه شده و کشت آن تا رسیدن جمعیت میکروبی درون محیط کشت به فاز ساکن، از محیط کشت نوترینت براث (Nutrient broth) شامل: ۵ گرم در لیتر پپتون؛ ۳ گرم در لیتر بیف اکسترکت؛ و ۱ لیتر آب مقطر؛ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و دور همزن ۱۵۰ rpm به مدت ٢٤ ساعت استفاده شد. سپس برای جداسازی سلول‌های باکتریایی، ٤٠ میلی‌لیتر از محیط کشت در دمای ٤ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۷۰۰۰ rpm سانتریفوژ و سلول‌های جداشده دو بار با آب مقطر شستشو داده شد. برای بدست آوردن باکتری غیرفعال شده، باکتری با محلول C_2H_5OH ٦٠٪ به مدت یک ساعت و در دمای اتاق آمایش شد. سپس سلول‌ها برای نگهداری با بافر فسفات شستشو داده شد. به منظور اضافه کردن باکتری به محلول کیتوزان، ٤٠ میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی جرم مشخصی از سلول‌های باکتریایی درون آب مقطر تهیه شد [٦].

آماده‌سازی جاذب‌ها

برای تهیه جاذب ترکیبی، ۲ گرم پودر کیتوزان درون ٦٠ میلی‌لیتر محلول ۵٪ حجمی اسید استیک اضافه شده و با اعمال اختلاط، اجازه داده شد تا کل کیتوزان درون محلول اسیدی حل شود. بمنظور انحلال کامل کیتوزان، عمل اختلاط به مدت یک شب اعمال گردید. پس از انحلال کامل کیتوزان، ٤٠ میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی سلول‌ها به محلول اضافه و تا دستیابی به یک محلول کاملا همگن اختلاط ادامه پیدا کرد. سپس محلول با یک سرنگ بصورت قطره‌ای درون محلول ۰/۵ مولار NaOH چکانده شد. برای جلوگیری از چسبیدن ژل‌دانه‌ها، درون محلول اختلاط اعمال گردید. همچنین برای استحکام مکانیکی ژل‌دانه‌ها اجازه داده شد تا آن‌ها حداقل نیم‌ساعت درون محلول بازی باقی بمانند. ژل‌دانه‌ها سپس از محلول بازی خارج و با آب مقطر شستشو داده شد تا تمام هیدروکسیدسدیم آن حذف گردد. سپس ژل‌دانه‌ها در دمای اتاق خشک شدند. برای تهیه ژل‌دانه کیتوزان فاقد باکتری (کیتوزان خالص)، به جای سوسپانسیون باکتری، ٤٠ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول کیتوزان اضافه گردید [۷].

ارزیابی عملکرد جذب‌زیستی و واجذب شیمیایی

در این مرحله، آزمایش‌های جذب‌زیستی و واجذب شیمیایی در حالت ناپیوسته و در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری با حجم محلول اورانیوم‌دار و واجذب‌کننده ۱۰۰ میلی‌لیتر به‌صورت جدول (۱) انجام شد. پس از پایان آزمایش‌های جذب‌زیستی، جاذب‌های زیستی با استفاده از کاغذ صافی از محلول اورانیوم‌دار جدا شده و درون یکی از سه محلول واجذب‌کننده‌ی آب مقطر، محلول NH_4NO_3 1.0 mol/L و محلول Na_2-EDTA 0.1 mol/L ریخته شد تا فرآیند واجذب انجام شود. تمامی آزمایش‌ها دو بار تکرار و مقدار متوسط آن‌ها گزارش شد. لازم بذکر است که آزمایش‌های جذب و واجذب

مقدار یون‌های فلزی جذب شده توسط جاذب یا همان ظرفیت جذب (qe) از رابطه‌ی (۱) و درصد واجذب شیمیایی (Desorption%) از رابطه‌ی (۲) محاسبه گردید:

$$q_e = \frac{V(C_0 - C_e)}{S} \quad (۱)$$

$$\text{Desorption\%} = \frac{C_{e,ellution}}{(C_0 - C_e)} \quad (۲)$$

که در رابطه‌ی (۱)، پارامترهای C_0 و C_e به ترتیب غلظت اولیه و نهایی اورانیوم درون محلول (میلی‌گرم بر لیتر)، V حجم محلول (لیتر)، S جرم جاذب خشک (گرم) در فرآیند جذب‌زیستی می‌باشد. و در رابطه‌ی (۲)، $C_{e,ellution}$ غلظت نهایی اورانیوم درون محلول واجذب‌کننده (میلی‌گرم بر لیتر) است. اندازه‌گیری غلظت

اورانیوم درون محلول‌ها به‌کمک یک دستگاه طیف‌سنج نشری اتمی-پلاسمای جفت شده‌ی القایی (مدل Liberty 150 AX Turbo، شرکت Varian) صورت گرفت.

نتایج:

مقادیر پارامترهای عملیاتی و نوع جاذب به‌کار رفته در جذب‌زیستی اورانیوم، نوع واجذب‌کننده استفاده شده به‌همراه میزان اورانیوم جذب‌شده، غلظت اورانیوم در محلول واجذب و درصد واجذب به دست آمده در جدول (۱) ارائه شده است. همچنین سهم کمّی هر یک از مکانیسم‌ها در جذب‌زیستی اورانیوم توسط جاذب ترکیبی و کیتوزان در شکل (۱) نشان داده است.

بحث و نتیجه‌گیری:

نتایج جدول (۱) نشان داد که افزایش pH محلول از ۲ تا ۵، موجب افزایش میزان اورانیوم جذب‌شده توسط جاذب ترکیبی شده است. ثابت شده است که مقدار pH محلول به صورت همزمان از طریق تاثیر بر میزان پروتونه شدن گروه‌های عاملی روی سطح جاذب و گونه‌های شیمیایی فلز درون محلول بر جذب‌زیستی تاثیرگذار می‌باشد. بنابراین در محیط بشدت اسیدی ($pH \approx 2$)، بدلیل غلظت و تحرک بالای یون‌های (H^+) و (H_3O^+) موجود درون محلول و جذب راحت‌تر آنها نسبت به یون‌های فلزی، حداقل میزان جذب‌زیستی کاتیون‌های فلزی رخ می‌دهد [۸]. به عبارت دیگر در این pH، یک دافعه الکتروستاتیکی بین کاتیون‌های فلزی که عمدتا بصورت کمپلکس UO_2^{+2} هستند و گروه‌های عاملی پروتونه شده (دارای بار مثبت) روی جاذب وجود دارد که مانع جذب موثر یون‌های فلزی می‌شود. اما در مقادیر بالاتر pH، از طرفی پدیده پروتون‌زدایی گروه‌های عاملی و کاهش میزان بار مثبت روی سطح جاذب رخ می‌دهد [۸] و از طرف دیگر از میزان غلظت یون‌های رقیب ((H^+) و (H_3O^+)) درون محلول کاسته می‌شود که منجر به افزایش تمایل به اتصال کاتیون‌های فلزی بر روی سطح جاذب و افزایش شدید ظرفیت جذب می‌شود.

نتایج مربوط به واجذب شیمیایی در جدول (۱) نشان می‌دهد که بیشینه درصد واجذب به‌دست آمده با استفاده از آب مقطر کمتر از ۱۰٪ بوده است. این نتایج نشان داد که یون‌های فلزی متصل‌شده به آسانی آزاد نشده و لذا سهم جذب فیزیکی کم می‌باشد [۹]. کسر بسیار مهمی از اورانیوم در محدوده ۵۰/۶۳٪ تا ۶۵/۰۹٪ توسط محلول NH_4NO_3 واجذب شد. یون‌های فلزی آزاد شده توسط NH_4NO_3 می‌تواند مربوط به کسر جذب صورت گرفته به‌وسیله تبادل یون باشد [۹]. فرآیند تبادل یون در اثر جایگزین شدن یون‌های اورانیوم به‌جای یون‌های فلزات سبک مانند Na^+، Mg^{2+}، K^+ و Ca^{2+} درون جاذب و نشت فلزات سبک به‌درون محلول، رخ می‌دهد [۱۰]. در تمامی آزمایش‌های انجام شده، بیش از ۹۰٪ اورانیوم توسط محلول EDTA واجذب شد. در این حالت، بخشی از اورانیوم که با محلول NH_4NO_3 نیز قابل واجذب نبود با کمک محلول

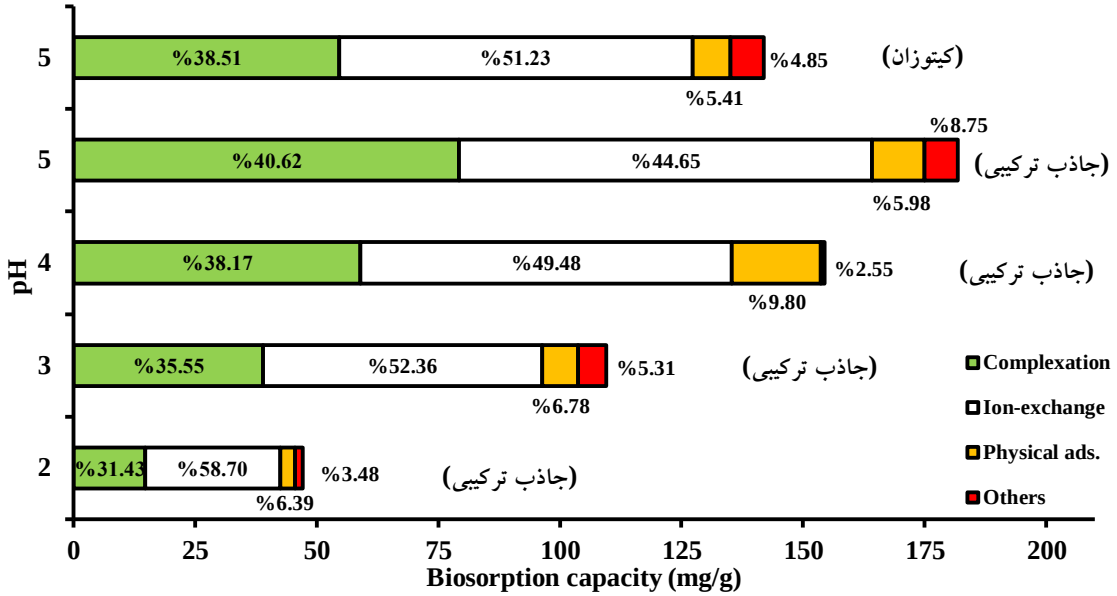
EDTA واجذب شد. این بخش مربوط به مکانیسم تشکیل کمپلکس در حین فرآیند جذب می‌باشد [۹]. بخشی از اورانیوم که توسط EDTA واجذب نشد توسط مکانیسم‌هایی دیگر جذب شده‌اند.

جدول (۱): نتایج واجذب شیمیایی اورانیوم از جاذب ترکیبی و کیتوزان

آزمایش	آزمایش‌های جذب‌زیستی						آزمایش‌های واجذب شیمیایی		
	جاذب‌زیستی	غلظت اولیه	pH	مقدار جاذب	مقدار اورانیوم جذب‌شده	واجذب‌کننده	غلظت اورانیوم در محلول واجذب	درصد واجذب
		mg/L	–	g/L	mg/g		mg/L	%
۱	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۲	۱	۴۷/۱۸±۱/۷۸	آب مقطر	۳/۰۱	۶/۳۹
۲	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۲	۱		1.0 mol/L NH_4NO_3	۳۰/۷۱	۶۵/۰۹
۳	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۲	۱		0.1 mol/L EDTA-Na_2	۴۵/۵۴	۹۶/۵۲
۴	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۳	۱	۱۰۹/۵۶±۳/۲۵	آب مقطر	۷/۴۳	۶/۷۸
۵	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۳	۱		1.0 mol/L NH_4NO_3	۶۴/۷۹	۵۹/۱۴
۶	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۳	۱		0.1 mol/L EDTA-Na_2	۱۰۳/۷۴	۹۴/۶۹
۷	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۴	۱	۱۵۴/۴۴±۱/۳۶	آب مقطر	۱۵/۱۳	۹/۷۹
۸	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۴	۱		1.0 mol/L NH_4NO_3	۹۱/۵۴	۵۹/۲۸
۹	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۴	۱		0.1 mol/L EDTA-Na_2	۱۵۰/۴۹	۹۷/۴۵
۱۰	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۵	۱	۱۸۱/۸۳±۲/۸۱	آب مقطر	۱۰/۸۷	۵/۹۸
۱۱	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۵	۱		1.0 mol/L NH_4NO_3	۹۲/۰۶	۵۰/۶۳
۱۲	جاذب ترکیبی	۲۰۰	۵	۱		0.1 mol/L EDTA-Na_2	۱۶۵/۹۲	۹۱/۲۵
۱۳	کیتوزان	۲۰۰	۵	۱	۱۴۱/۸۹±۴/۴۳	آب مقطر	۷/۶۸	۵/۴۱
۱۴	کیتوزان	۲۰۰	۵	۱		1.0 mol/L NH_4NO_3	۸۰/۳۷	۵۶/۶۴
۱۵	کیتوزان	۲۰۰	۵	۱		0.1 mol/L EDTA-Na_2	۱۳۵/۰۱	۹۵/۱۵

براساس درصد واجذب صورت گرفته توسط واجذب‌کننده‌های مختلف، سهم هر یک از مکانیسم‌ها در فرآیند جذب‌زیستی اورانیوم محاسبه و در شکل (۱) نمایش داده شده است. ثابت شد که به‌ترتیب تبادل یون و تشکیل کمپلکس در تمامی آزمایش‌ها سهم عمده‌ی مکانیسم فرآیند را به‌عهده داشته‌اند و درصد بالایی از اورانیوم قویا به جاذب‌های زیستی پیوند خورده‌است. علاوه بر این، مشخص شد که تغییر pH محلول علی‌رغم تاثیر شدید بر میزان اورانیوم جذب‌شده، در سهم مکانیسم‌ها تغییری جدی ایجاد نمی‌کند. همچنین همان‌طور که در شکل (۱) نشان داده شده است، تثبیت و حضور میکروارگانیسم‌ها موجب افزایش ظرفیت جذب‌زیستی جاذب ترکیبی (۱۸۱/۸۳ mg/g) در مقایسه با کیتوزان (۱۴۱/۸۹ mg/g) در pH=۵ شده است.

در نهایت و با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، امکان ارائه تصویری روشن‌تر و عمیق‌تر از فرآیند جذب‌زیستی فراهم شد تا اصلاح و بهینه‌سازی جاذب‌ها و فرآیند جذب‌زیستی بشکلی موثرتر قابل انجام باشد.



شکل (۱): سهم مکانیسم‌ها در جذب‌زیستی اورانیوم توسط جاذب ترکیبی و کیتوزان

مراجع:

1. Wang, J. and C. Chen, Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology Advances, 27: 195-226 (2009).
2. Vijayaraghavan, K. and Y.-S. Yun, Bacterial biosorbents and biosorption. Biotechnology Advances, 26: 266-291 (2008).
3. Módenes, A.N., et al., Assessment of metal sorption mechanisms by aquatic macrophytes using PIXE analysis. Journal of Hazardous Materials, 261: 148-154 (2013).
4. Robalds, A., G.M. Naja, and M. Klavins, Highlighting inconsistencies regarding metal biosorption. Journal of Hazardous Materials, 304: 553-556 (2016).
5. Bai, J., et al., Biosorption mechanisms involved in immobilization of soil Pb by Bacillus subtilis DBM in a multi-metal-contaminated soil. journal of environmental sciences, 26(10): 2056-2064 (2014)
6. Choi, J., J.Y. Lee, and J.-S. Yang, Biosorption of heavy metals and uranium by starfish and Pseudomonas putida. Journal of Hazardous Materials, 161: 157-162 (2009).
7. Wan Ngah, W.S., M.A.K.M. Hanafiah, and S.S. Yong, Adsorption of humic acid from aqueous solutions on crosslinked chitosan–epichlorohydrin beads: Kinetics and isotherm studies. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 65: 18-24 (2008).
8. Abdel-Ghani, N.T. and G.A. El-Chaghaby, biosorption for metal ions removal from aqueous solutions: a review of recent studies. International Journal of Latest Research in Science and Technology, 3(1): 24-42 (2014).

9. Fang, L., et al., Binding characteristics of copper and cadmium by cyanobacterium Spirulina platensis. Journal of Hazardous Materials, 190: 810-815 (2011).
10. Li, X., et al., Bioaccumulation characterization of uranium by a novel Streptomyces sporoverrucosus dwc-3. journal of environmental sciences 41: 162-171 (2016).