

بکارگیری تلفیقی آنالیزهای PIXE-RBS برای ارزیابی نقش تبادل یون در جذب زیستی

اورانیوم توسط جاذب زیستی ترکیبی *Pseudomonas putida @ Chitosan*

صحبت زاده، هژبر - کشتکار، علیرضا* - صفدری، سید جابر - فاطمی، فائزه - قاسمی ترک آباد، مرتضی

سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده چرخه سوخت هسته‌ای

چکیده:

در این پژوهش، آنالیزهای PIXE و RBS برای محاسبه میزان اورانیوم جذب شده با مکانیسم تبادل یون مورد استفاده قرار گرفت. طیف‌های PIXE بدست آمده از جاذب زیستی ترکیبی *Pseudomonas putida @ Chitosan* بعد از فرآیند جذب زیستی، جذب اورانیوم درون جاذب را تایید نمود. همچنین مشخص شد که غلظت فلزات سبک (شامل Na^+ ، Mg^{2+} و K^+ و Ca^{2+}) درون جاذب پس از جذب زیستی دچار افت شدید شد که ناشی از جایگزینی آنها با یون‌های اورانیوم از طریق مکانیسم تبادل یون بوده است. محاسبات مربوط به تغییرات هم‌ارزی فلزات سبک نشئت کرده از جاذب و اورانیوم جذب شده توسط جاذب نشان داد که ۵۱/۳۱٪ از کل اورانیوم از طریق تبادل یون جذب شده است.

کلمات کلیدی: جاذب زیستی ترکیبی، جذب زیستی اورانیوم (VI)، آنالیزهای PIXE و RBS، تبادل یون

مقدمه:

در سال‌های اخیر توجه زیادی به مقوله‌ی عاری‌سازی محیط زیست از آلودگی‌های ناشی از پساب‌های صنعتی حاوی فلزات سنگین معطوف شده است. در این راستا، فناوری‌های جدیدی مانند استخراج، تبادل یون، رسوب‌دهی شیمیایی و فرآیندهای جداسازی غشایی برای خارج کردن این فلزات از پساب‌های صنعتی پیشنهاد شده است. در زمره‌ی این فناوری‌ها، جذب زیستی (Biosorption) بدلیل سادگی، راندمان مناسب، حداقل نمودن آلودگی‌های ثانویه و هزینه پایین مورد توجه قرار گرفته است [۱].

مکانیسم‌های مختلفی مانند تبادل یون (ion-exchange)، جذب فیزیکی (adsorption)، تشکیل کمپلکس (complexation)، کیلیت شدن (chelation) و میکرو رسوب‌دهی (microprecipitation) می‌توانند در فرآیند جذب زیستی حضور داشته باشند. اگرچه مشخصه‌یابی جامع جاذب همراه با تعیین پارامترهای عملیاتی موثر برای صنعتی‌سازی فرآیند لازم می‌باشد، اما شناسایی مکانیسم‌های غالب فرآیند نیز از جمله اطلاعات بنیادی مورد نیاز می‌باشد. چنین دانش مهمی امکان بهینه‌سازی فرآیند جذب زیستی در سطح مولکولی، توسعه‌ی همراه با صرفه اقتصادی، تهیه ارزان‌تر جاذب زیستی و آنالیز ساده‌تر سیستم را فراهم می‌نماید [۲]. فهم بهتر

مکانیسم واقعی جذب زیستی برای بهبود ظرفیت‌های اتصال فلزی، نیازمند استفاده از روش‌های آنالیزی غیرمخرب با دقت و قابلیت اطمینان بالا می‌باشد [۱].

از میان تکنیک‌های مختلف، تکنیک PIXE (Particle Induced X-ray Emission) ابزار آنالیزی عالی برای اندازه‌گیری بسیار دقیق غلظت‌های پایین عناصر هم در نمونه‌های مایع و هم در نمونه‌های جامد می‌باشد. با توجه به اثبات بقای هم‌ارزی (equivalent) کل کاتیون‌های مهم، تحلیل و تفسیر داده‌های فرآیند جذب در هر دو فاز مایع و جامد به صورت هم‌ارزی مولی (mequiv.) قابل انجام می‌باشد. لذا با استفاده از تغییرات مهم در محتوای هم‌ارزی هر یک از کاتیون‌های آنالیز شده در هر دو فاز قبل و بعد از آزمایش‌ها، مهم‌ترین عناصری که دچار تغییر شده‌اند تعیین می‌گردد. [۲]. نظر به این که PIXE قادر به اندازه‌گیری عناصر سبک ($Z < 12$) نمی‌باشد، لذا باید از داده‌های آنالیزهای PIXE و RBS (Rutherford Backscattering Spectrometry) جهت در اختیار داشتن درک بهتری از ترکیب درصد تمامی عناصر موجود در نمونه‌ها استفاده نمود [۳].

با توجه به نتایج قبلی بدست آمده توسط گروه نویسندگان [۴] درخصوص موفقیت تثبیت سلول‌های باکتریایی درون ژل‌دانه‌های کیتوزان و عملکرد مناسب جاذب‌زیستی ترکیبی حاصله در جذب زیستی اورانیوم از محلول‌های آبی، هدف اصلی در این پژوهش، بکارگیری تلفیقی آنالیزهای PIXE-RBS برای تعیین دقیق غلظت‌های عناصر موجود در جاذب‌زیستی ترکیبی قبل و بعد از جذب زیستی اورانیوم و ارزیابی نقش مکانیسم تبادل یون در میزان اورانیوم جذب‌شده توسط این جاذب طی فرآیند می‌باشد.

روش کار:

میکروارگانسیم و مواد

باکتری *P. Putida* بشکل لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروارگانسیم‌های صنعتی ایران (PTCC) و پودر کیتوزان از محصولات شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد. محلول‌های آبی حاوی اورانیوم نیز از انحلال نمک نترات اورانیل $UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (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 ۶۹۱، شرکت Metrohm) تنظیم شد. نحوه کشت باکتری و آماده‌سازی جاذب‌زیستی ترکیبی مطابق روش‌های اشاره شده

محیط کشت

برای احیای باکتری از حالت لیوفیلیزه و کشت آن از محیط کشت نوترینت براث (Nutrient broth): پیتون، ۵ گرم در لیتر؛ بیف اکسترکت، ۳ گرم در لیتر؛ و آب مقطر، ۱ لیتر؛ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، دور همزن rpm ۱۵۰ بمدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به فاز ساکن استفاده شد. ۴۰ میلی‌لیتر از محیط کشت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بمدت ۱۵ دقیقه و دور rpm ۷۰۰۰ ساتریفوژ و دو بار با آب مقطر شستشو شد. برای بدست

آوردن باکتری غیرفعال شده، باکتری با محلول C_2H_5OH ۶۰٪ به مدت یک ساعت و در دمای اتاق آمایش شد. سپس سلول‌ها با بافر فسفات شستشو و در نهایت ۴۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون ترکیبی درون آب مقطر به منظور اضافه کردن به محلول کیتوزان تهیه شد [۵].

آماده‌سازی جاذب

برای تهیه جاذب زیستی ترکیبی، ۲ گرم پودر کیتوزان درون ۶۰ میلی‌لیتر محلول ۰.۵٪ 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، ۴۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی سلول‌ها به محلول اضافه و تا دستیابی به یک محلول کاملاً 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 باقی بمانند. ژل‌دانه‌ها سپس از محلول بازی خارج و با آب مقطر شستشو داده شد تا هیدروکسید سدیم آن حذف گردد. سپس ژل‌دانه‌ها در دمای اتاق خشک شدند [۶].

ارزیابی عملکرد جاذب زیستی ترکیبی

در این مرحله، آزمایش‌های جذب زیستی در حالت ناپیوسته و در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری با حجم محلول اورانیوم‌دار ۱۰۰ میلی‌لیتر در غلظت اولیه اورانیوم ۲۰۰ mg/L، pH=۵ و مقدار جاذب ۱ g/L انجام شد. پس از پایان فرآیند، جاذب‌های زیستی با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۰ از محلول اورانیوم‌دار جدا شده و با مقدار بسیار کمی آب مقطر شسته و در آون خشک شد. در مرحله بعد، جاذب زیستی ترکیبی قبل و بعد از جذب زیستی به صورت پودر در آورده شد تا جهت ساخت قرص برای آنالیزهای PIXE و RBS ارسال شوند. اندازه‌گیری غلظت اورانیوم در فاز جامد (جاذب زیستی ترکیبی) با استفاده از آنالیزهای PIXE با زاویه بیم 135° و RBS با زاویه بیم 165° در شتابدهنده و اندوگراف 3MV با انرژی پروتون 2MeV صورت گرفت. تحلیل نتایج نیز به ترتیب با استفاده از نرم‌افزارهای GUPIX و SIMNRA انجام گرفت. مقدار یون‌های فلزی جذب شده توسط جاذب یا همان ظرفیت جذب (q_e) از رابطه‌ی (۱) محاسبه گردید:

$$q_e = \frac{V(C_0 - C_e)}{S} \quad (1)$$

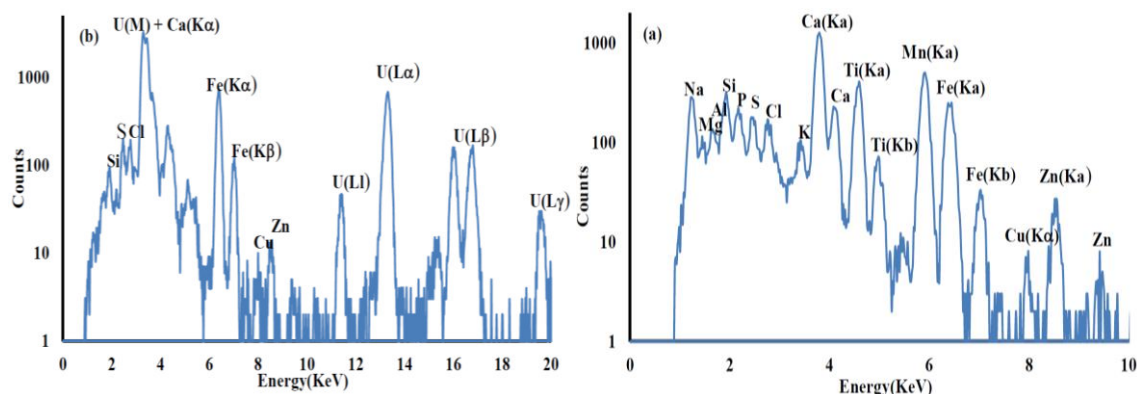
که در رابطه‌ی (۱)، پارامترهای C_0 و C_e به ترتیب غلظت اولیه و نهایی اورانیوم درون محلول (میلی‌گرم بر لیتر)، V حجم محلول (لیتر)، S جرم جاذب خشک (گرم) در فرآیند جذب زیستی می‌باشد. اندازه‌گیری غلظت اورانیوم درون محلول به کمک یک دستگاه طیف‌سنج نوری اتمی-پلاسمای جفت شده‌ی القایی (مدل Liberty 150 AX Turbo، شرکت Varian) صورت گرفت.

نتایج:

در شکل (۱) طیف‌های آنالیز PIXE جاذب‌زیستی ترکیبی قبل و بعد از جذب‌زیستی اورانیوم نشان داده شده است. همچنین مقادیر مربوط به غلظت‌های و محاسبات مربوط به هم‌ارزی‌های مولی عناصر روی جاذب‌زیستی ترکیبی قبل و بعد از فرآیند جذب‌زیستی در جدول (۱) ارائه شده است.

بحث و نتیجه‌گیری:

طیف‌های PIXE جاذب‌زیستی ترکیبی قبل و بعد از جذب‌زیستی اورانیوم در شکل (۱) و به ترتیب در قسمت‌های (a) و (b) نشان داده شده است. مقایسه طیف‌های PIXE قبل و بعد از جذب نشان می‌دهد که پیک‌های جدیدی برای اورانیوم در طیف‌های PIXE بعد از جذب‌زیستی ظاهر شده در عین حالی که پیک‌های مربوط به فلزات سبک مانند سدیم، پتاسیم و منیزیم ناپدید شده‌اند. لذا آنالیزهای هسته‌ای، جذب‌زیستی اورانیوم توسط جاذب‌زیستی را تایید نمودند.



شکل (۱): طیف‌های PIXE جاذب‌زیستی ترکیبی: (a) قبل از جذب اورانیوم؛ (b) بعد از جذب اورانیوم

ترکیب درصد عنصری جاذب‌زیستی ترکیبی قبل و بعد از جذب‌زیستی اورانیوم با استفاده از طیف‌های آنالیزهای PIXE و RBS محاسبه و در جدول (۱) ارائه شده است. داده‌های کمی نشان داد که کل مقدار Na^+ ، Mg^{2+} و K^+ و بخش عمده‌ی Ca^{2+} در حین فرآیند جذب، از جاذب حذف و به درون محلول آبی نشت کرده است. این افت غلظت فلزات سبک در جاذب می‌تواند ناشی از جایگزین شدن اورانیوم به جای آن‌ها درون جاذب در اثر مکانیسم تبادل یونی باشد [۱-۳، ۷، ۸].

از آنجایی که بار کلی روی جاذب باید ثابت باشد [۹]، لذا هرگونه اتصال یک کاتیون یا باید با نشت استوکیومتری یک کاتیون دیگر و یا اتصال آنیون همراه باشد. بر این اساس و با محاسبه میزان تغییر در هم‌ارزی‌های فلزات سبک و اورانیوم، امکان محاسبه سهم مکانیسم تبادل یون با استفاده از داده‌های بسیار دقیق PIXE و RBS فراهم می‌باشد.

جدول (۱): تغییرات هم ارزی مهم عناصر قبل و بعد از جذب زیستی اورانیوم توسط جاذب زیستی ترکیبی

$\Delta mequiv.$	هم ارزی روی سطح جاذب زیستی (mequiv.)		غلظت روی سطح جاذب زیستی (mg/g)		جرم اتمی (g/mol)	ظرفیت تبادل	عناصر آتایز شده
	بعد از جذب	قبل از جذب	بعد از جذب	قبل از جذب			
-۰/۰۷۰۷	۰/۰۰۰۰	۰/۰۷۰۷	۰/۰۰۰۰	۱۶/۲۵۸۳	۲۲/۹۹	۱	Na
-۰/۰۲۵۸	۰/۰۰۰۰	۰/۰۲۵۸	۰/۰۰۰۰	۳/۱۳۶۳	۲۴/۳۰	۲	Mg
-۰/۰۳۸۱	۰/۰۰۰۰	۰/۰۳۸۱	۰/۰۰۰۰	۳/۴۲۹۲	۲۶/۹۸	۳	Al
-۰/۰۸۱۲	۰/۰۳۹۹	۰/۱۲۱۱	۱/۸۹۷۶	۸/۵۰۲۵	۲۸/۰۸	۴	Si
-۰/۰۷۷۵	۰/۰۰۰۰	۰/۰۷۷۵	۰/۰۰۰۰	۵/۹۹۸۶	۳۰/۹۷	۴	P
-۰/۰۰۰۹	۰/۰۸۸۵	۰/۰۸۹۴	۳/۲۰۶۶	۴/۷۷۷۰	۳۲/۰۶	۶	S
-۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۹۱	۰/۰۰۹۸	۲/۱۸۴۷	۳/۴۸۳۷	۳۵/۴۵	۱	Cl
-۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۰۰	۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۰۰	۰/۶۶۳۸	۳۹/۱۰	۱	K
-۰/۰۳۳۵	۰/۰۱۳۶	۰/۰۴۷۲	۱/۸۵۳۸	۹/۴۵۵۷	۴۰/۰۸	۲	Ca
-۰/۰۲۲۱	۰/۰۰۰۰	۰/۰۲۲۱	۰/۰۰۰۰	۲/۶۴۰۳	۴۷/۸۷	۴	Ti
-۰/۰۱۴۱	۰/۰۰۰۰	۰/۰۱۴۱	۰/۰۰۰۰	۳/۸۶۷۴	۵۴/۹۴	۲	Mn
۰/۰۳۰۵	۰/۰۳۶۹	۰/۰۰۶۴	۶/۹۸۶۰	۱/۷۸۳۴	۵۵/۸۵	۲	Fe
۰/۰۰۰۰	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۵۷۷	۰/۰۷۶۵	۶۳/۵۵	۲	Cu
-۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۱۳	۰/۱۷۴۳	۰/۴۳۱۷	۶۵/۳۸	۲	Zn
-۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰	۰/۵۰۸۰	۲۰۷/۲۰	۲	Pb
۰/۲۵۶۸	۰/۲۵۶۸	۰/۰۰۰۰	۱۲۶/۵۱۴۹	۰/۰۰۰۰	۲۳۸/۰۲۸	۰/۴۰۸۴	U
۰/۱۰۰۰	جرم جاذب قبل از جذب (mg)						
۰/۱۴۷۵	جرم جاذب بعد از جذب (mg)						
۰/۱۳۱۸	کل فلزات سبک نشسته کرده به محلول (mequiv.)						
۰/۲۵۰۲	کل اورانیوم حذف شده از محلول (mequiv.)						
۰/۲۵۶۸	کل اورانیوم جذب شده توسط جاذب (mequiv.)						
%۵۱/۳۱	سهم مکانیسم تبادل یونی در فرآیند جذب زیستی						

بر خلاف برخی از کاتیون‌های فلزات سنگین مانند مس [۱]، روی و کادمیوم [۲] و سرب [۱۰] که در pHهای اسیدی به ترتیب به صورت Cu^{2+} ، Zn^{2+} ، Cd^{2+} و Pb^{2+} باقی می‌مانند و کم‌تر هیدرولیز می‌شوند، اورانیوم دارای گونه‌های شیمیایی بسیار متنوعی می‌باشد که سهم آن‌ها درون محلول با تغییر pH به شدت تغییر می‌نماید. برای محاسبه ظرفیت تبادل یون‌های اورانیوم درون محلول، لازم است تا گونه‌های شیمیایی، ترکیب درصد گونه‌ها، تعداد اتم‌های اورانیوم در هر گونه و ظرفیت تبادل هر گونه مشخص باشد. با استفاده از نرم‌افزار MINTEQA2 داده‌های فوق‌الذکر در $pH=5$ محاسبه شده است.

بر اساس این داده‌ها (در این جا آورده نشده است)، متوسط اتم‌های اورانیوم و متوسط ظرفیت تبادل در کمپلکس‌ها به ترتیب $2/8365$ و $1/1583$ محاسبه شد. بنابراین، ظرفیت تبادل یون‌های اورانیوم در جذب زیستی معادل $0/4084$ به دست آمد. این عدد به این معناست که برای جذب یک میلی‌مول اورانیوم با مکانیسم تبادل یون، باید $0/4084$ میلی‌مول از فلز سبک تک‌ظرفیتی (مانند Na^+) با اورانیوم جایگزین شود.

با آنالیز تغییرات مثبت و منفی در هم‌ارزی‌های کاتیون‌های درگیر مشخص شد که، بر اساس نتایج بدست آمده از فاز محلول توسط آنالیز ICP، میزان $0/2502$ mequiv از اورانیوم از محلول آبی حذف و تقریباً معادل همین مقدار از آن ($0/2568$ mequiv) به سطح جاذب متصل شده است (بر اساس آنالیزهای PIXE-RBS). این نتایج نشان داد که کل اورانیوم حذف شده از محلول آبی روی سطح جاذب جذب شده است. همچنین، کل نشتی فلزات سبک (شامل Na^+ ، Mg^{2+} ، K^+ و Ca^{2+}) معادل $0/1318$ mequiv بوده است.

از آن جایی که مقدار هم‌ارزی فلزات سبک نشت کرده کم‌تر از مقدار هم‌ارزی اورانیوم جذب شده روی جاذب بوده، لذا ثابت شد که اورانیوم با مکانیسم‌هایی غیر از تبادل یون نیز جذب جذب شده است. با این حال، سهم مکانیسم تبادل یون در جذب زیستی اورانیوم توسط جاذب زیستی ترکیبی مقدار $51/31\%$ محاسبه شد.

مراجع:

1. Espinoza-Quñones, F.R., et al., Thin and thick target PIXE analyses to assess the mechanism of Cu^{2+} removal by *Egeria densa*. Applied Radiation and Isotopes, 82: 1-6 (2013).
2. Módenes, A.N., et al., Assessment of metal sorption mechanisms by aquatic macrophytes using PIXE analysis. Journal of Hazardous Materials, 261: 148-154 (2013).
3. Li, X., et al., Biosorption of uranium on *Bacillus* sp. dwc-2: preliminary investigation on mechanism. Journal of Environmental Radioactivity, 135: 6-12 (2014).
4. Sohbatzadeh, h., et al., U(VI) biosorption by bi-functionalized *Pseudomonas putida* @ chitosan bead: Modeling and optimization using RSM. International Journal of Biological Macromolecules, 89: 647-658 (2016).
5. 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).
6. 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).
7. Lan, T., et al., Biosorption behavior and mechanism of cesium-137 on *Rhodospiridium fluviale* strain UA2 isolated from cesium solution. Journal of Environmental Radioactivity, 134: 6-13 (2014).
8. Ding, C., et al., Biosorption behavior and mechanism of thorium on *Streptomyces sporoverrucosus* dwc-3. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 301: 237-245 (2014).
9. Li, X., et al., Bioaccumulation characterization of uranium by a novel *Streptomyces sporoverrucosus* dwc-3. journal of environmental sciences, 41: 162-171 (2016).
10. Lu, H., et al., Relative distribution of Pb^{2+} sorption mechanisms by sludge-derived biochar. water research, 46: 854-862 (2012).