

## تأثیر pH محلول بر میزان جذب زیستی اورانیم از محلول آبی با استفاده از بیوجاذب ترکیبی

### *Pseudomonas putida* تثبیت شده

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، تاثیر حضور سلول‌های باکتریایی درون کیتوزان بر جذب زیستی اورانیم از محلول آبی به صورت تابعی از تغییرات pH بررسی شد. نتایج نشان داد که بیوجاذب *Pseudomonas putida* تثبیت شده درون کیتوزان (بیوجاذب ترکیبی) دارای ظرفیت جذب بیشتری نسبت به کیتوزان خالص بوده و در pH های ۲ و ۵ به ترتیب کمترین و بیشترین ظرفیت جذب به دست آمده است. تغییرات گونه شیمیایی اورانیم درون محلول، غلظت یون رقیب  $H^+$  و بار روی بیوجاذب، مهمترین عوامل تاثیرپذیر از تغییرات pH در فرآیند جذب زیستی شناسایی شدند. همچنین مشخص شد هر چقدر تعداد مولکول‌های اورانیم به ازای واحد بار کمپلکس اورانیمی بیشتر باشد، جذب بهتری رخ می‌دهد.

**کلمات کلیدی:** بیوجاذب ترکیبی، جذب زیستی، اورانیم (VI)، باکتری *Pseudomonas putida*، pH محلول

#### مقدمه:

بصورت اجتناب ناپذیری، مقادیر زیادی از اورانیوم بدلیل فعالیت‌های هسته‌ای همه ساله به محیط زیست وارد می‌شود. در بالای زنجیره غذایی، انسان ممکن است در نهایت اورانیم را جذب نماید که می‌تواند موجب مشکلاتی مانند صدمه جدی کبد یا کلیه و در نهایت مرگ بویژه در غلظت‌های بالای اورانیوم شود. لذا لازم است پیش از تخلیه پسماندها، اورانیوم و سایر فلزات سنگین آن حذف گردد [۱]

در روش جذب زیستی، باکتری‌ها به دلیل برخورداری از برخی ویژگی‌های ممتاز مانند نسبت‌های بالای سطح به حجم و دانسیته بالای سایت‌های فعال روی دیواره غشا، دارای پتانسیل بسیار بالایی برای جذب یون‌های فلزی می‌باشند [۲]. جداسازی و بازیابی فلز بعد از فرآیند جذب، استفاده مجدد از جاذب و امکان بکارگیری جاذب درون ستون‌های بستر ثابت در مقیاس صنعتی برای سوسپانسیون‌های ترکیبی بسیار دشوار و گاهی غیرممکن می‌باشد که این موضوع از مهمترین چالش‌ها در تجاری‌سازی هر جاذب می‌باشد. تثبیت میکروارگانیسم‌ها درون یک ماتریس مناسب به عنوان حامل، راه حلی مناسب برای حل این مشکل می‌باشد [۳].

از میان پلیمرهای طبیعی مختلف، کیتوزان به دلیل خواصی نظیر در دسترس بودن، بدلیل طبیعت آب‌دوستی گروه‌های هیدروکسیلی، تعداد زیاد و سهولت واکنش‌پذیری گروه‌های عاملی و سهولت اصلاح شیمیایی و در نهایت عملکرد مناسب آن در جذب، به عنوان یکی از زیست‌حامل‌های مطلوب در تثبیت میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود [۴].

از میان پارامترهای موثر بر جذب‌زیستی، مقدار pH محلول هم از طریق تاثیر بر شیمی محلول و هم از طریق تاثیر بر میزان اکتیویته گروه‌های عاملی روی سطح جاذب، نقشی اساسی در فرآیند ایفا می‌کند [۵-۷]. ثابت شده است که در محدوده مشخصی از pH، با افزایش مقدار آن، میزان جذب تا یک مقدار مشخصی افزایش و سپس کاهش می‌یابد. بنابراین، یک محدوده مطلوب pH برای جذب یک یون فلزی از یک محلول مشخص وجود دارد که باید شناسایی گردد [۸].

در این پژوهش، تاثیر تغییرات pH اولیه محلول آبی بر میزان ظرفیت جذب‌زیستی بیوجاذب ترکیبی *Pseudomonas putida* تثبیت‌شده درون کیتوزان (بیوجاذب ترکیبی) و مقایسه آن با کیتوزان خالص مورد بررسی قرار گرفته است.

## روش کار:

### میکروارگانیسم و مواد

باکتری *Pseudomonas Putida* بشکل لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران (PTCC) و پودر کیتوزان از محصولات شرکت سیگما آلدریج تهیه شد. محلول‌های آبی حاوی اورانیم 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  $H_2SO_4$  و NaOH یک مولار و به وسیله یک pH متر (مدل ۶۹۱، شرکت Metrohm) تنظیم شد.

### محیط کشت

برای احیای باکتری از حالت لیوفیلیزه و کشت آن از محیط کشت نوترینت براث: پپتون، 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 سانتریفوژ 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 [۷].

### آماده‌سازی جاذب

برای تهیه بیوجاذب ترکیبی، ۲ گرم پودر کیتوزان درون ۶۰ 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، 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 ژل‌بیدها، درون محلول اختلاط اعمال گردید. همچنین برای استحکام مکانیکی ژل‌بیدها اجازه داده شد تا آن‌ها حداقل نیم ساعت درون محلول بازی باقی بمانند. ژل‌بیدها سپس از محلول بازی خارج و با آب مقطر شستشو داده شد تا تمام هیدروکسید سدیم آن حذف گردد. سپس ژل‌بیدها در دمای اتاق خشک شدند. برای تهیه ژل‌بید کیتوزان فاقد باکتری (کیتوزان خالص)، به جای سوسپانسیون باکتری، ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول کیتوزان اضافه گردید [۹]. قطر ژل‌بیدهای بدست آمده حدود ۱ میلی‌متر بوده و برای خردایش ژل‌بیدها و رسیدن به اندازه ۲۰۰ میکرومتر از یک آسیاب گلوله‌ای و الک استفاده شد.

### ارزیابی عملکرد جذب زیستی

توانایی جذب زیستی بیوجاذب به وسیله آزمایش‌های حالت ناپیوسته مورد بررسی قرار گرفت. تمامی آزمایش‌ها درون ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اورانیم‌دار انجام شد. مخلوط تا رسیدن به تعادل، درون شیکری-انکوباتور با دور همزن ۱۵۰ rpm و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مقدار یون‌های فلزی جذب شده توسط جاذب یا همان ظرفیت جذب ( $q_e$ ) از رابطه (۱) محاسبه گردید:

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

که در این رابطه، پارامترهای  $C_0$  و  $C_e$  به ترتیب غلظت اولیه و نهایی اورانیم درون محلول (میلی‌گرم بر لیتر)،  $V$  حجم محلول،  $S$  جرم جاذب خشک می‌باشد. اندازه‌گیری غلظت اورانیم درون محلول به کمک یک دستگاه طیف سنج نشری اتمی-پلاسمای جفت شده‌ی القایی (مدل Liberty 150 AX Turbo، شرکت Varian) صورت گرفت.

### نتایج:

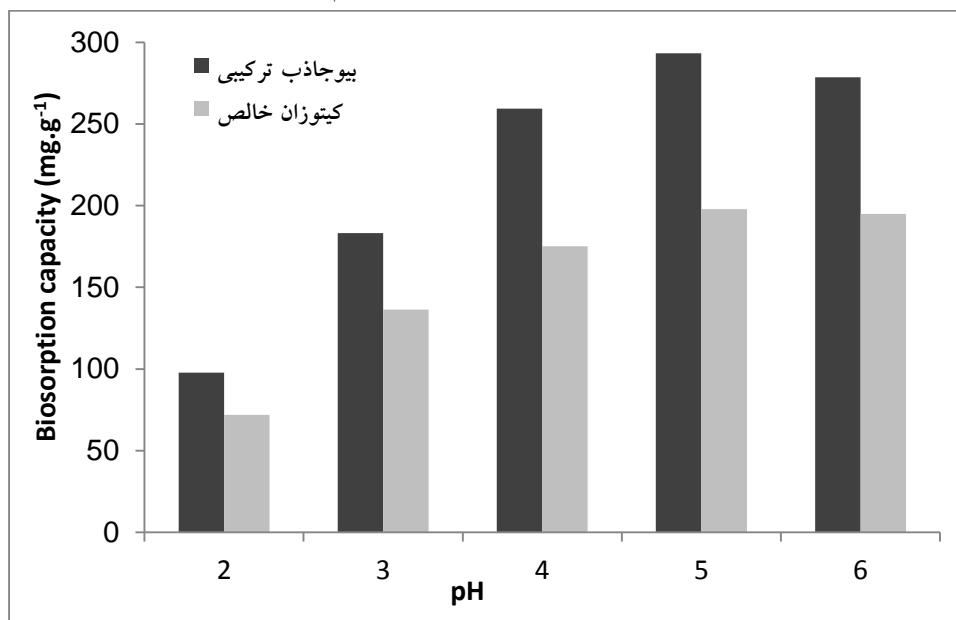
مقادیر pH اولیه محلول آبی با غلظت اولیه اورانیم ۳۰۰ mg/L در محدوده ۲ تا ۶ تنظیم شد. نتایج حاصل از بررسی اثر pH اولیه محلول بر میزان ظرفیت جذب زیستی اورانیم در شکل (۱) برای بیوجاذب ترکیبی و کیتوزان خالص برای pH هایی در محدوده ۲ تا ۶ نشان داده شده است. همچنین به منظور شناسایی گونه‌های شیمیایی اورانیم درون محلول آبی در

۱۶ و ۱۷ شهریور ۱۳۹۴ دانشگاه یزد

pH های مختلف، توزیع درصد مولی کمپلکس‌های اورانیم بصورت تابعی از pH با استفاده از نرم‌افزار Visual MINTEQ در شکل (۲) ارائه شده است.

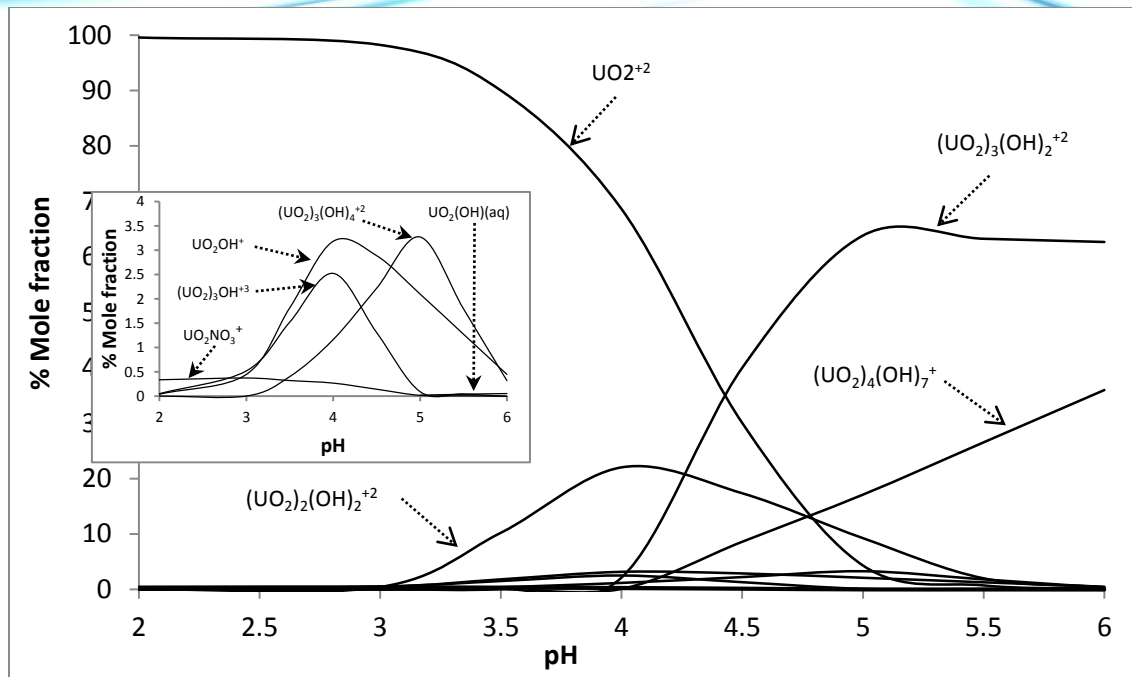
## بحث و نتیجه‌گیری:

همان‌طور که در شکل (۱) مشخص می‌باشد، تغییرات میزان ظرفیت جذب برحسب تغییرات pH برای هر دو بیوجاذب روند مشابهی را نشان می‌دهد. پایین‌ترین میزان ظرفیت جذب در pH=۲ مشاهده شده در حالی که افزایش شدیدی در ظرفیت جذب در اثر تغییر pH از مقدار ۳ تا ۵ رخ داده و پس از آن دچار اندکی کاهش شده است. همچنین قابل ذکر می‌باشد که میزان ظرفیت جذب زیستی اورانیم بر روی بیوجاذب ترکیبی در



شکل شماره (۱): تاثیر pH محلول اولیه بر ظرفیت جذب بیوجاذب ترکیبی و کیتوزان خالص

۱۶ و ۱۷ شهریور ماه ۱۳۹۴ دانشگاه یزد



شکل شماره (۲): توزیع درصد مولی کمپلکس‌های اورانیم درون محلول بصورت تابعی از pH

تمامی pH ها بیشتر از کیتوزان خالص است. 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 روی پدیده جذب‌زیستی تاثیر گذار می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که تغییر در pH می‌تواند ظرفیت جذب را تا سه برابر افزایش دهد که ضرورت بررسی و تعیین pH بهینه در هر فرآیند جذب‌زیستی را کاملاً توجیح می‌نماید.

قبلاً نیز ثابت شده است که به صورت کلی، شرایط بشدت اسیدی برای هیچ کاتیونی مطلوب نمی‌باشد. زیرا در محیط بشدت اسیدی، 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 داده است [۱۰]. به عبارت دیگر در این محدوده از pH، یک دافعه الکتروستاتیکی بین کاتیون‌های فلزی که عمدتاً بصورت کمپلکس  $UO_2^{2+}$  (مطابق شکل (۲)) هستند و گروه‌های عاملی پروتونه شدن دارای بار مثبت وجود دارد که مانع از جذب یون‌های فلزی می‌شود.

در مقادیر بالاتر pH، پدیده پروتون‌زدایی گروه‌های عاملی و منفی شدن بار روی سطح جاذب رخ می‌دهد [۱۰]. به طوری که ثابت شده، در محدوده  $(3 < pH < 6)$ ، گروه عاملی کربوکسیل  $(pK_a=3-5)$  که گروه عاملی موثر در ماتریس

جاذب است، دارای بار منفی می‌باشد [۵]. از طرف دیگر از میزان غلظت یون‌های رقیب ( $H^+$ ) و ( $H_3O^+$ ) درون محلول نیز کاسته می‌شود که منجر به افزایش تمایل به اتصال کاتیون‌های فلزی بر روی سطح جاذب و افزایش شدید ظرفیت جذب می‌شود. بالاترین ظرفیت جذب برای هر دو بیوجاذب در pH برابر ۵ بدست آمده است.

بررسی دلایل متفاوت بودن ظرفیت جذب در pH های مختلف از نقطه نظر مکانیسم‌های عامل در فرآیند جذب نیز می‌تواند به تشریح بهتر دلایل این تفاوت‌ها کمک نماید. مشخص شده است که در اغلب فرآیندهای جذب، مکانیسم غالب تبادل یون می‌باشد که طی آن یون‌های فلزات سنگین با یون‌های فلزات سبک موجود در جاذب تبادل و یون فلز سبک به درون محلول آبی رها می‌گردد [۱۱]. در این مکانیسم با توجه به ثابت ماندن بار کل روی جاذب در حین فرآیند، همواره یک توازن قوی بین عامل اسیدی ( $H^+$ ) و کاتیون‌های فلزی جذب شده بر روی جاذب از یک طرف و یون‌های آزاد شده‌ی فلزات سبک

از روی سطح جاذب بدرون محلول از طرف دیگر وجود دارد [۱۲، ۱۳]. همان‌طور که در شکل (۲) مشخص است، در pH های بالاتر گونه‌های غالب اورانیم بشکل  $(UO_2)_3(OH)_2^{+2}$  و  $(UO_2)_4(OH)_7^{+}$  می‌باشند که به ازای واحد بار فلز سبک تبادل شده، به ترتیب ۱/۵ و ۴ مولکول اورانیم جذب می‌گردد در حالی که در pH برابر ۲ که گونه غالب بشکل  $UO_2^{+2}$  می‌باشد، به ازای واحد بار فلز سبک تبادل شده تنها ۰/۵ مولکول اورانیم جذب می‌گردد. بنابراین، تعداد بالای مولکول‌های اورانیم جذب شده به ازای واحد بار تبادل شده بین سطح جاذب و محلول آبی در pH های بالا یکی دیگر از دلایل افزایش میزان ظرفیت جذب در این محدوده از pH می‌تواند باشد.

در pH های بزرگ‌تر از ۵، اندکی از میزان ظرفیت جذب کاسته می‌شود. در این محدوده از انحلال پذیری کمپلکس‌های اورانیم به میزان جزئی کاسته می‌شود که ظهور رسوب  $UO_2(OH)_2(aq)$  در شکل (۲) تایید کننده آن می‌باشد. تشکیل رسوب موجب پیچیده شدن فرآیند جذب و احتمالاً کاهش توانایی جاذب و تمایل کاتیون فلزی به برقراری اتصال می‌شود.

در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، به نظر می‌رسد که بیوجاذب‌های ترکیبی قابلیت استفاده در حوزه‌های مختلف چرخه سوخت هسته‌ای، به ویژه در زمینه جداسازی یا حذف اورانیم را دارا باشد.

مراجع:

1. Li, X., et al., Biosorption of uranium on *Bacillus* sp. dwc-2: preliminary investigation on mechanism. *Journal of Environmental Radioactivity*, 135: p. 6-12 (2014).



2. Merroun, M.L. and S. Selenska-Pobell, Bacterial interactions with uranium: An environmental perspective. *Journal of Contaminant Hydrology*, 102 p. 285–295 (2008).
3. Yelebe, Z.R., B.Z. Yelebe, and R.J. Samuel, Design of fixed bed column for the removal of metal contaminations from industrial wastewater. *Journal of Engineering and Applied Sciences*, 5(2): p. 68-77 (2013).
4. Wang, J. and C. Chen, Chitosan-based biosorbents: Modification and application for biosorption of heavy metals and radionuclides. *Bioresource Technology*, 160: p. 129-141 (2014).
5. Vijayaraghavan, K. and Y.-S. Yun, Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*, 26: p. 266-291 (2008).
6. Sar, P., S.K. Kazy, and S.F. D'Souza, Radionuclide remediation using a bacterial biosorbent. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54: p. 193-202 (2004).
7. 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: p. 157-162 (2009).
8. Ahmaruzzaman, M., Industrial wastes as low-cost potential adsorbents for the treatment of wastewater laden with heavy metals. *Advances in Colloid and Interface Science*, 166: p. 36-59 (2011).
9. 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: p. 18-24 (2008).
10. 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): p. 24-42 (2014).
11. Markou, G., et al., Biosorption of Cu<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> by *Arthrospira platensis* with different biochemical compositions. *Chemical Engineering Journal*, 259: p. 806-813 (2015).
12. Javanbakht, V., S.A. Alavi, and H. Zilouei, Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent. *Water Science & Technology*, 69(9): p. 1775-1787 (2014).
13. NAJA, G., V. Murphy, and B. Volesky, Biosorption, metals. *Wiley Encyclopedia of Industrial Biotechnology*. p. 48.