



ساخت زیست صافی به منظور جذب و جداسازی نیکل پایدار و امکان‌سنجی برای جداسازی نیکل رادیوآکتیو به وسیله ریزسازواره‌ها

حسین غفوریان^{۱*}، محمد ربانی^۲، یاسمن ناظری^۲، سرور صادقی^۲
۱- مرکز تحقیقات هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۳۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران - ایران
۲- دانشکده شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران - ایران

چکیده: در این کار پژوهشی، جذب بیولوژیکی نیکل توسط ۱۶ سویه باکتریایی مختلف جدا شده از چشمه‌های آب گرم رامسر مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش‌های اولیه مشخص شد که یک سویه باکتری کوکوباسیل گرم منفی دارای قابلیت جذب بالایی در مورد نیکل است. با مطالعات بعدی معین شد که بیشترین مقدار جذب در pH حدود ۶ صورت می‌گیرد. نقش غلظت اولیه محلول فلزی در محدوده ۲۰ تا ۲۰۰ (ppm) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که ظرفیت جذب کنندگی باکتری در غلظتهای کمتر از ۱۵۰ ppm نیکل، بسیار بالا و تقریباً ثابت است، ولی در غلظت‌های بالاتر از ۱۵۰ ppm کاهش یافته و در حدود ۲۰۰ ppm نیکل، باکتری را مسموم کرده قابلیت جذب آن به صفر می‌رسد. با آزمایش‌های سینتیکی معلوم شد که پس از ۶۰ دقیقه مجاورت، میزان جذب نیکل از محلول اولیه به غلظت ۱۵۰ ppm، حداکثر به ۵۳٪ می‌رسد. در بررسی ساز و کار جذب مشخص شد که جذب سطحی نیکل توسط باکتری بسیار اندک و جذب بیولوژیکی آن وابسته به سوخت و ساز (متابولیسم) است. با مطالعات بعدی مشخص شد که حضور یونهای فلزی دیگر بر جذب نیکل چندان مؤثر نیست. فلز جذب شده توسط باکتری، به وسیله شستشو با محلول ۰/۱ M اسید نیتریک قابل بازیافت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: جذب بیولوژیکی، نیکل، باکتری، ریزسازواره، رامسر، جداسازی ایزوتوپ، چشمه‌های آب گرم

Producing Bio-Filter for Absorbing and Separating Stable Nickel and Feasibility Study to Separate Radioactive Nickel by Microorganisms

H. Ghafourian^{*1}, M. Rabbani², Y. Nazeri², S. Sadeghi²

1- Nuclear Research Center, AEOI, P.O. Box: 11365 -3486, Tehran - Iran

2- Chemical Department, North of Tehran, Islamic Azad University, Tehran - Iran

Abstract: In this research work, bio absorption of nickel has been investigated by new 16 various bacterial strains isolated from Ramsar warm springs. As the obtained results show a strain of gram negative cocobacilluse bacteria is highly capable to take up nickel in optimum pH about 6. The effect of nickel solution concentrations in 20-200 ppm have been studied. Uptake capacity of bacterial biomass regarding to concentrations below 150ppm is most highly and nearly constant, but it will be decreased over 150 ppm, and in 200 ppm absorption of nickel reaches to near zero. No nickel was taken up by bacterial biomass. Further studies showed that after 60 minutes of contact time, nickel uptake reaches maximum by 53%. Considering the uptake mechanism revealed that biosorption was very limited and the uptake mainly occurs through accumulation dependent on metabolic activities. Also the results show that the presence of the other cations such as Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} is ineffective to biological uptake of nickel. Nickel taken up by biomass can be easily recovered by HNO_3 with the concentration of 0.1M.

Keywords: biological uptake, Nickel, bacteria, microorganism, Ramsar, isotope separation, warm springs

* e-mail: ghafourian@aeoi.org.ir

۱- مقدمه

از جمله عواقب نامطلوب ناشی از فرایندهای صنعتی ورود انواع زائده‌های فلزی سنگین و سمی به محیط زیست است. منابع تولید این زائده‌ها بسیار متنوعند، از جمله: آبکاری فلزات، استخراج معادن، باطری‌سازی، نیروگاه‌های هسته‌ای و حرارتی که همه باعث ایجاد اینگونه آلودگی می‌شوند. عمده این آلوده‌کننده‌ها به صورت محلول و ذرات آئروسول هستند که به سهولت وارد خاک و آب می‌شوند [۱]. افزایش روزمره مقدار این فلزات در محیط زیست و نیاز به روش‌های جداسازی مناسب آنها، و در مواردی بازیافت فلزات، سبب شده است تا فرایندهای میکروبی به عنوان راه حل مناسب در تصفیه پساب‌های صنعتی مورد توجه قرار گیرند [۲ و ۳]. این روش‌ها در مقایسه با سایر روش‌های شیمیایی مانند: اکسیداسیون و احیا، تصفیه مکانیکی، مبادله یون و جداسازی به وسیله غشا، بسیار ارزان بوده و تصفیه مورد نیاز در حد کفایت انجام می‌شود، بعلاوه بازده عمل تصفیه در این روش‌ها زیاد و بازیافت فلز به آسانی انجام‌پذیر است [۴ و ۵]. سه فرایند برای جذب فلزات توسط ریزسازواره‌ها عبارتند از: جذب سطحی، ته‌نشین کردن و تشکیل رسوب به طریق زیستی، جذب کردن به وسیله پلیمرهای خالص و مولکول‌های ویژه‌ای که از یاخته‌های میکروبی حاصل می‌شوند. ساز و کار جذب به وسیله دو فاز انجام می‌شود: فاز غیروابسته به سوخت و ساز (متابولیسم) که سریع است و فاز وابسته به سوخت و ساز که به آرامی صورت می‌گیرد [۶ و ۷]. تحقیقاتی که تاکنون درباره جذب نیکل توسط باکتری‌ها انجام شده است توان جذب بالای زیست‌صافی‌های مختلف را در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ ppm نشان می‌دهد [۸ و ۹]. در این کار تحقیقی، جذب نیکل به عنوان یک فلز سنگین و سمی توسط یک سویه باکتریایی که از چشمه‌های آب گرم رامسر بدست آمده مورد بررسی قرار گرفته است. زیست‌صافی مورد بررسی در این تحقیق در شرایطی متفاوت با تحقیقات پیشین عمل می‌کند. هدف این پژوهش در مرحله نخست بررسی روند جذب زیست‌شناختی نیکل و تعیین شرایط بهینه به منظور جداسازی آن بوده و در مراحل بعدی ساخت یک زیست‌صافی بر پایه این باکتری به منظور حذف نیکل پایدار و رادیوآکتیو از پساب‌های صنعتی و پسمانهای آلوده به مواد رادیوآکتیو است. در این پژوهش بر روی نیکل رادیوآکتیو کار نشده، و صرفاً امکان جذب زیست‌شناختی نیکل بررسی شده است.

۲- مواد و روشها

از میان ۱۶ سویه جدا شده از چشمه‌های آب گرم رامسر، پس از آزمایش‌های اولیه باکتری کوکوباسیل گرم منفی به عنوان بهترین سویه برای جداسازی نیکل انتخاب شد. بدین ترتیب که پس از جداسازی و خالص‌سازی سویه‌ها، مقداری از هر سویه در محیط کشت مغذی تلقیح شد و پس از ۷۲ ساعت هوادهی، "زی‌توده" باکتری به وسیله سانتریفوژ با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد جدا شده، سپس معادل ۱۰ برابر وزن "زی‌توده" به آن آب مقطر افزوده شد تا از آن محلول سوسپانسیون تهیه شود. مجاورت محلول فلزی با "زی‌توده" به این ترتیب انجام می‌شود که ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل به محلول ۱۵۰ ppm نیکل تهیه شده از نترات نیکل دارای ۶ مولکول آب، افزوده می‌شود. مخلوط حاصل پس از تنظیم، روی بهمزن با ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. پس از پایان مدت مجاورت، محلول رویی به وسیله سانتریفوژ از زی‌توده حاوی نیکل جدا شده و برای تعیین غلظت نهایی مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد. تجزیه و تحلیل نمونه‌ها به وسیله دستگاه جذب اتمی با شعله (هوا-استیلن) در طول موج ۲۳۲ نانومتر انجام گرفته است.

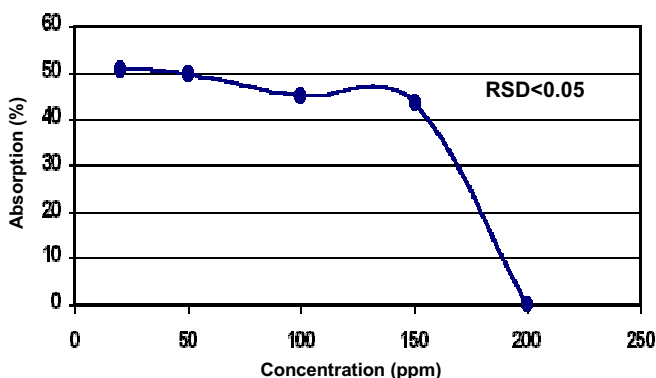
برای مطالعه اثر غلظت اولیه نیکل بر جذب باکتری، محدوده غلظت ۲۰ تا ۲۰۰ ppm در نظر گرفته شده و مجاورسازی به مدت ۶۰ دقیقه و با pH=۵ انجام شده است. بررسی زمان تماس نیز در محدوده زمانی ۵ تا ۶۵ دقیقه صورت گرفته است، در این هنگام غلظت محلول نیکل ۱۵۰ ppm و pH آن ۵ تنظیم شده بود. برای بررسی اثر pH بر جذب باکتری، با توجه به ثابت حلالیت هیدروکسید نیکل که نشان‌دهنده رسوب در pH حدود ۷ می‌باشد، pH در محدوده ۱ تا ۶ مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش غلظت اولیه محلول نیکل ۱۵۰ ppm و زمان مجاورت ۶۰ دقیقه تنظیم شد.

برای بررسی اثر پرتوگاما بر قابلیت جذب نیکل، زی‌توده بدست آمده در فاصله ۲۰ سانتی‌متری منبع "کبالت-۶۰" به مدت تقریباً ۱۸ دقیقه قرار داده شد تا دز جذبی آن ۶ Gy شود. سپس، بر طبق مراحل قبل، محلول سوسپانسیون آن تهیه شد و مجاورسازی با محلول نیکل، با غلظت ۱۵۰ ppm و pH=۵ به مدت ۶۰ دقیقه انجام گرفت. تأثیر یونهای سرب، روی و مس بر

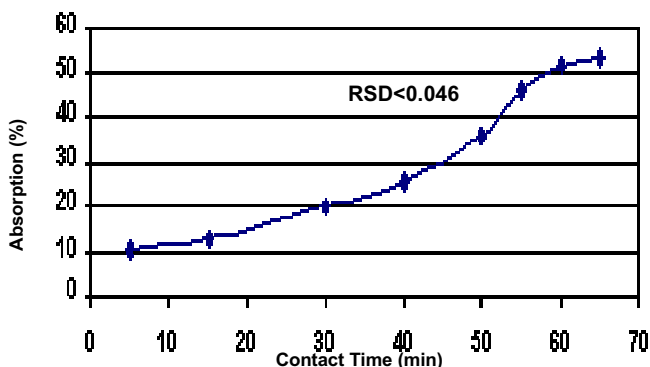


۰/۰۲۱ ± ۰/۳۵/۶۵۰، ۰/۰۱۶ ± ۰/۴۵/۷۸۷، ۰/۰۱۳ ± ۰/۵۱/۸۰۰،
 ۰/۰۱۶ ± ۰/۵۳/۴۵۰، این نتایج نشان می‌دهند که در ۵ دقیقه اول
 میزان جذب بسیار کم است و با افزایش مدت تماس، مقدار
 جذب نیز افزایش می‌یابد، با توجه به نمودار ۲ مشخص می‌شود
 که قابلیت باکتری مورد نظر برای جذب سطحی بسیار کم است
 و جداسازی بیشتر از طریق جذب وابسته به سوخت و ساز انجام
 می‌گیرد، زیرا چنان که بیان شد، جذب غیروابسته به سوخت و
 ساز در نخستین دقایق تماس صورت می‌گیرد و بسیار سریع
 است.

نمودار ۳، نتایج آزمایشهای حاصل از تغییر pH را نشان
 می‌دهد: در pHهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ و مدت مجاورت ۶۰
 دقیقه برای غلظت اولیه ۱۵۰ ppm، درصدهای جذب به ترتیب
 ۰/۰۴۱ ± ۰/۱۴/۴۷۹، ۰/۰۳۲ ± ۰/۶/۹۴۴، ۰/۰۲۵ ± ۰/۱۸/۲۴۵،
 ۰/۰۱۳ ± ۰/۱۸/۹۴۰، ۰/۰۲۱ ± ۰/۱۹/۶۵۰، ۰/۰۳۴ ± ۰/۴۳/۸۶۴ است.
 مشاهده می‌شود که با افزایش جذب نیز رو به افزایش است و
 بیشترین مقدار جذب در pH=۶ صورت می‌گیرد یعنی بیشترین
 جذب دقیقاً قبل از رسوب کردن هیدروکسید نیکل اتفاق می‌افتد.



نمودار ۱- اثر غلظت اولیه بر بازده جذب نیکل توسط زی توده (زمان ثابت ۶۰ دقیقه و pH ثابت ۵)



نمودار ۲- اثر مدت مجاورت بر بازده جذب نیکل توسط زی توده (غلظت ثابت ۱۵۰ ppm و pH ثابت ۵)

جذب نیکل توسط ریزسازواره نیز مورد بررسی قرار گرفت. برای
 این منظور محلولهایی به غلظت ۱۵۰ ppm از نیکل و هریک از
 این یونها جداگانه تهیه و ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به هر
 یک از این محلولها اضافه و pH آنها به مقدار ۵ تنظیم شد. پس
 از ۶۰ دقیقه تماس، محلول رویی برای تجزیه و تحلیل آماده شده
 بود.

به منظور بررسی جذب نیکل توسط ریزسازواره مرده،
 "زی توده" به مدت ۱ ساعت در حمام ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار
 گرفته سپس سوسپانسیون آن تهیه شد. ۵ میلی‌لیتر از آن در
 مجاورت محلول ۲۰ ppm نیکل قرار گرفته، به مدت ۶۰ دقیقه
 هوادهی شد. به منظور بازیافت فلز جذب شده توسط باکتری، از
 محلول ۰/۱ مولار اسید نیتریک استفاده شد. پس از جذب فلز
 توسط زی توده و جداسازی محلول رویی، زی توده حاوی نیکل به
 درون ارلن هوادهی منتقل و ۵۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۰/۱ مولار
 به آن اضافه شد و پس از گذشتن ۶۰ دقیقه مجاورت، محلول
 رویی برای تجزیه و تحلیل آماده شد. همه آزمایشها ۳ بار تکرار
 شدند.

۳- یافته‌ها و نتایج

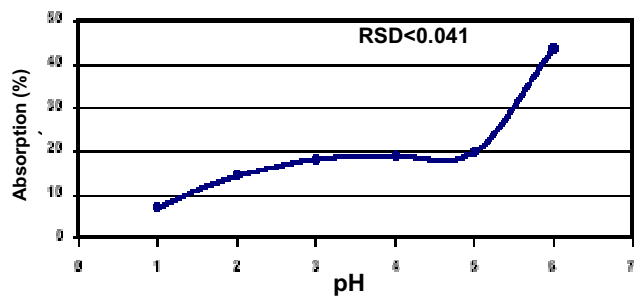
مقادیر درصد جذب حاصل از تغییر غلظتهای اولیه فلزی
 با مقادیر ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ (ppm)، با pH ثابت ۵ و
 در مدت مجاورت ۶۰ دقیقه، به ترتیب ۰/۰۳۹ ± ۰/۵۰/۸۱۵،
 ۰/۰۲۱ ± ۰/۴۹/۶۵۸، ۰/۰۵ ± ۰/۴۵/۰۵۶، ۰/۰۱۶ ± ۰/۴۳/۵۵۳ و
 درصد می‌باشد. با توجه به این مقادیر مشخص می‌شود که جذب
 نیکل در غلظتهای کمتر از ۱۵۰ ppm بالا بوده و در ۲۰ ppm
 بیشترین درصد جذب را داشته، اما در غلظتهای بالاتر از ۱۵۰ ppm
 جذب کاهش یافته و در حدود ۲۰۰ ppm درصد به صفر
 می‌رسد، زیرا غلظتهای بیش از ۱۵۰ ppm نیکل در باکتری ایجاد
 مسمومیت می‌کند. نمودار ۱ نتیجه این مشاهدات را نشان
 می‌دهد. علاوه بر این، نتایج بدست آمده از ۳ بار تکرار آزمایشها
 و درصد خطای محاسبه شده مؤید کیفیت تکرارپذیری این
 آزمایشها می‌باشد.

در بررسی اثر زمان تماس، نتایج بدست آمده در مدت‌های ۵،
 ۱۵، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۵۵، ۶۰، ۶۵ دقیقه، در pH ثابت ۵، برای
 غلظت اولیه ۱۵۰ ppm به ترتیب عبارتند از: ۰/۰۳۵ ± ۰/۱۰/۲۲۱،
 ۰/۰۴۶ ± ۰/۱۲/۷۹۵، ۰/۰۲۸ ± ۰/۱۹/۷۶۸، ۰/۰۳۲ ± ۰/۲۵/۶۵۷

چون این باکتری تقریباً بطور اختصاصی نسبت به نیکل عمل می‌کند و حضور یونهای دیگر بر جذب آن اثر چندانی ندارند، می‌توان آنرا مبنای مطالعات بعدی برای ساخت یک زیست-صافی به منظور جذب نیکل قرار داد. نکته مهم دیگر، توان بازیافت نیکل جذب شده توسط باکتری می‌باشد که به نوبه خود از اهمیت زیادی برخوردار است.

References:

1. Macoskie, "The application of biotechnology to the treatment of wastes produced from the nuclear fuel cycle: biodegradation and bioaccumulation as a means of treating radionuclide-containing streams," *Critical Reviews in Biotechnology*, **11(1)**, 41-112 (1991).
2. A. Esposito, F. Pagnanelli, F. Veglio, "pH-related equilibria models for biosorption in single metal systems," *Chemical Engineering Science*, **73**, 307-313 (2002).
3. K. Tsekova and G. Petrov, "Removal of heavy metals from aqueous solution using *Rhizopus delemar* mycelia in free and polyurethane-bond from," *Bulgarian Academy of Sciences*, **57**, 629-633 (2002).
4. F. Pagnanelli, A. Esposito, L. Toro, F. Veglio, Pergamon, "Metal specification and PH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption on to *sphaezotilusnatanas*," *Longmuir type empirical model : Water Research*, **37**, 627-633 (2003).
5. S.K. Chandra, C.T. Kamala, N.s. Chary, Y. Anjaneyulu, "Removal of heavy metals using a plant biomass with refrence to invironmental control," *Elsevier*, **68**, 37-45 (2003).
6. A.M. Marques, "Removal of uranium by an exopolysaccharide from *pseudomonas*," *SP. Appl. Microbial Biotechnology*, **34**, 429-431 (1990).
7. K.J. Blackwell, I. Sngletn, J.M. Tobin, "Biosorption of uranium by a *spergillus fumigates*," *Biotechnology Techniques*, **13**, 695-699 (1995).
8. J.L. Torresdey, K.J. Tiemann, J.H. Gonzalez, I.C. Aguilera, J.A. Hening, M.S. Townsend, "Ability of medicago sativa (Alfalfa) to remove Nickel ions from aqueous solution," *Departmans of Chemistry University of Texas at El Paso, New Mexico State University, Lascruces, NM 88003*.
9. A. Lopez, N. Lazaro, J.M. Priego, A.M. Marques, "Effect of PH on the biosorption of nickel and other heavy metals by *Pseudomonas fluorcens 4F39*," *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **24**, 146-151 (2000).



نمودار ۳- اثر pH بر بازده جذب نیکل توسط زی توده (در غلظت اولیه ۱۵۰ ppm و مدت مجاورت ۶۰ دقیقه)

در مورد اثر یونهای فلزی مجاور، با توجه به نتایج به دست آمده مشخص می‌شود که در حضور فلز روی با غلظت ۱۵۰ ppm جذب ۴۳/۵۵٪ نیکل به $0.23 \pm 0.34/12$ می‌رسد، در حضور سرب با غلظت ۱۵۰ ppm به $0.31 \pm 0.31/20$ و در حضور مس با غلظت ۱۵۰ ppm به $0.26 \pm 0.32/78$ می‌رسد. این نتایج نشان می‌دهد که حضور سایر یونهای فلزی تأثیر چندانی بر جذب نیکل ندارند و باکتری نسبت به نیکل انتخابی عمل می‌کند.

بررسی جذب باکتری مرده نشان می‌دهد که در غلظت بهینه ۲۰ ppm، جذب این باکتری در حدود $0.32 \pm 0.5/3$ بوده در حالیکه در همین غلظت جذب باکتری زنده $0.28 \pm 0.50/15$ یعنی حدود ۱۰ برابر است و این موضوع مؤید نتایج پیشین بوده و نشان دهنده عدم وجود جذب سطحی قابل توجه در باکتری است.

بازیافت نیکل جذب شده از باکتری به وسیله اسید نیتریک ۰/۱ مولار نشان می‌دهد که با یک بار شستشو حدود ۶۰٪ نیکل جذب شده را می‌توان بازیافت کرد.

مطالعه اثر پرتوگاما نشان می‌دهد که این پرتو سوخت و ساز باکتری را مختل می‌کند؛ چون این باکتری بیشتر جذب وابسته به سوخت و ساز دارد، بنابراین با مردن آن جذب فلز متوقف می‌شود و در اثر تابش پرتو گاما قابلیت جذب باکتری از بین می‌رود. چنانچه باکتری دز ۶ Gy جذب کند، سوخت و ساز آن مختل می‌شود.

۴- بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از آزمایشها بیانگر آن است که باکتری مورد بحث توان بسیار زیادی در جذب نیکل دارد، به علاوه آنچه این باکتری را نسبت به زیست-صافی‌هایی که تاکنون مورد استفاده قرار گرفته‌اند شاخص می‌کند، توان جذب بسیار زیاد وابسته به سوخت و ساز آن است، به این جهت می‌توان آنرا مبنای تحقیقات گسترده‌ای قرار داد و با یافتن عوامل دیگر مؤثر بر توان جذب آن، میزان جذب وابسته به سوخت و ساز را افزایش داد.