

کاربرد ایزوتوپ های پایدار در مطالعات زیست محیطی

آزمایشگاه مرکزی دانشگاه اراک، آزمایشگاه تحقیقاتی ایزوتوپ های پایدار

چکیده

شناسایی، ردیابی و حذف آلاینده های زیست محیطی بخصوص آلاینده های آب های سطحی و زیرزمینی، رسوبات و خاک از اهمیت بسیاری برخوردار است. امروزه، طیف سنجی جرمی نسبت ایزوتوپی¹ (IRMS)، امکان اندازه گیری نسبت ایزوتوپ های پایدار را در انواع آلاینده های زیست محیطی فراهم کرده است. به طوریکه اخیرا روش های آنالیز ایزوتوپی بطور گسترده ای به منظور تشخیص و تعیین فرایندهای تخریب² طبیعی آلاینده های آلی مانند انواع حشره کش ها، آفت کش ها، پسماندهای دارویی، نفت، ترکیبات و حلال های آلی فرار و همینطور ترکیبات معدنی مانند نیترات، پرکلرات، کرومات و سلنات مورد استفاده قرار می گیرند. در واقع، ترکیب ایزوتوپی آلاینده ها را می توان به عنوان یک "امضا"³ یا "اثر انگشت"⁴ نامرئی برای تعیین منابع آلودگی بکار گرفت. علاوه بر این، نتایج حاصل از آنالیز ایزوتوپی، اطلاعات مفیدی درباره سینتیک و مکانیسم فرایندهای تخریبی آلاینده های محیطی فراهم می کند.

واژگان کلیدی: ایزوتوپ های پایدار، انگشت نگاری ایزوتوپی، آلاینده ها

مقدمه

آب های زیرزمینی به طور گسترده ای به عنوان منابع آب آشامیدنی مورد استفاده قرار می گیرند، ولی متأسفانه این منابع ارزشمند گاهی توسط مواد شیمیایی مضر حاصل از فعالیت های صنعتی و کشاورزی آلوده می شوند. بنابراین بررسی سرنوشت⁵ این آلاینده ها پس از ورود به آبهای زیرزمینی اهمیت بسیاری دارد [1].

¹ Isotope ratio mass spectrometry

² Degradation

³ Signature

⁴ Fingerprint

⁵ Fate

اخیراً آنالیز نسبت ایزوتوپی بطور فزاینده ای برای تشخیص و تعیین منبع و منشأ آلاینده های آلی و معدنی و نیز بررسی سرنوشت این آلاینده ها در آب های زیر زمینی و خاک استفاده می شود. با استفاده از روش های آنالیز ایزوتوپی می توان تلفات¹ تخریبی آلاینده ها را از فرایندهای غیر تخریبی مانند رقیق شدن، پخش و جذب آلاینده ها تشخیص داد [2].

استفاده از ایزوتوپ های پایدار برای ارزیابی فرایند تخریب آلاینده ها بر این اساس استوار است که پیوندهای شیمیایی حاصل از ایزوتوپ های سنگین یک عنصر، قوی تر از پیوندهای شیمیایی حاصل از ایزوتوپ های سبک همان عنصر در ترکیب مورد نظر هستند. بنابراین هنگام شکستن پیوندی خاص در یک ترکیب، مولکول های دارای ایزوتوپ های سنگین کندتر از مولکول های دارای ایزوتوپ های سبک در واکنش شرکت می کنند، در نتیجه، ایزوتوپ های سنگین معمولاً در ترکیب واکنش دهنده باقی مانده، غنی شده و در ترکیب محصول کاهش می یابند. این فرایند به عنوان جزء به جزء شدن² ایزوتوپی شناخته می شود. در این فرایند در سیستم های ساده این اثرات توسط معادله رایلی³ شرح داده می شوند [2].

روش های آنالیز ایزوتوپی برای بررسی سرنوشت آلاینده های آلی در خاک و آب های زیر زمینی به سه طریق انجام می شوند [3-5]:

(1) تعیین تغییر در فراوانی طبیعی ایزوتوپ های پایدار با استفاده از روش آنالیز ایزوتوپی یک جزء یا ترکیب خاص در نمونه مورد نظر⁴ (CSIA)

(2) شناسایی مشارکت ایزوتوپ پایدار موجود در یک ترکیب نشان دار ایزوتوپی در محصولات تخریب

(3) شناسایی پیوستن ایزوتوپ پایدار به بیومارکرها⁵ با استفاده از پراب ایزوتوپ پایدار⁶

روش اول (CSIA) بطور گسترده ای در آنالیزهای ایزوتوپی به منظور تشخیص تخریب طبیعی آلاینده های آلی مورد استفاده قرار گرفته است. این روش بر اساس بررسی تغییرات ترکیب ایزوتوپی یک ماده خاص ضمن انجام تبدیلات

¹ Degradative losses

² Fractionation

³ Rayleigh

⁴ Compound-specific isotope analysis (CSIA)

⁵ Biomarkers

⁶ Stable isotope probing

شیمیایی استوار است. برخی از کاربردهای موفقیت آمیز آنالیز ایزوتوپی به روش CSIA در علوم زیست‌محیطی، تا به امروز شامل مواردی از جمله تخصیص منابع آلودگی در سطح محلی، منطقه ای و جهانی؛ شناسایی واکنش های مربوط به فرایندهای تبدیل (زیستی) آلاینده ها در مقیاس های مختلف و تعیین مکانیسم واکنش هایی که در تشکیل محصولات حاصل از تخریب دخیل هستند، می باشد. ترکیبات مورد مطالعه به طور عمده شامل n-آلکان ها، بنزن و تولوئن، متیل t- بوتیل اتر، هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای ¹ (PAHs) و هیدروکربن های کلردار مانند تتراکلرومتان، تری کلرو اتیلن و پلی کلرو بی فنیل ها و همچنین انواع حشره کش ها، آفت کش ها و پسماندهای دارویی می باشند [3].

- ایزوتوپ های پایدار

متداول ترین ایزوتوپ های پایدار مربوط به عناصر هیدروژن (H)، کربن (C)، نیتروژن (N)، اکسیژن (O) و سولفور (S) می باشد. جدول ۱ میانگین فراوانی برخی از ایزوتوپ های پایدار را نشان می دهد.

جدول ۱: فراوانی طبیعی متداول ترین ایزوتوپهای پایدار

سولفور	اکسیژن	نیتروژن	کربن	هیدروژن
³² S : 95.02%	¹⁶ O : 99.763%	¹⁴ N : 99.64%	¹² C : 98.89%	¹ H : ۹۹.984%
³⁴ S : 4.21%	¹⁸ O : 0.1995%	¹⁵ N : 0.36%	¹³ C : 1.11%	² H : 0.0156%

نسبت ایزوتوپی یک نمونه (R) بصورت نسبت تعداد اتم های یک ایزوتوپ (سنگین تر) به تعداد اتم های ایزوتوپ دیگر (سبک تر) همان عنصر شیمیایی (مثلا ¹³C/¹²C) تعریف می شود [6]. نسبت این ایزوتوپ ها از زمان پیدایش زمین تاکنون تغییر نکرده است ولی تغییرات محلی به دلیل بسیاری از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی ایجاد می شود. برای ثبت یک اثر انگشت ایزوتوپی نیاز به اندازه گیری بسیار دقیق نسبت ایزوتوپی (مثلا ¹³C/¹²C) در نمونه مورد نظر می باشد. نسبت های ایزوتوپ های پایدار (R) (²H/¹H, ¹³C/¹²C, ¹⁵N/¹⁴N, ³⁴S/³²S, ¹⁸O/¹⁶O) بطور دقیق

¹ Polycyclic aromatic hydrocarbons

و صحیحی توسط تکنیک های اختصاصی مانند IRMS قابل اندازه گیری هستند . شکل پذیرفته شده برای گزارش ترکیب ایزوتوپی یک نمونه، نماد دلتا (δ) می باشد. در واقع تفاوت در نسبت های ایزوتوپی اغلب با نماد دلتا نشان داده شده و نسبت به یک استاندارد بین المللی محاسبه می شود. برای مثال، مقدار دلتا (δ) برای ترکیب ایزوتوپی کربن در یک نمونه بصورت زیر نشان داده می شود [7]:

$$\delta^{13}C (\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{نمونه}} - R_{\text{استاندارد}}}{R_{\text{استاندارد}}} \right) \times 1000$$

تغییرات فراوانی ایزوتوپها (نسبت های ایزوتوپی) برای اغلب عناصر مورد مطالعه معمولا کوچک هستند و مقادیر به صورت قسمت درصد (percent %) ، قسمت در هزار (per mil ‰) یا قسمت در میلیون (ppm) گزارش شده است.

– کاربرد ایزوتوپ های پایدار در فرایندهای تخریب آلاینده ها

امروزه، روش CSIA به یک ابزار موثر برای ارزیابی زیست تخریب پذیری¹ آلاینده های آلی مانند انواع حشره کش ها، آفت کش ها، پسماندهای دارویی، نفت، ترکیبات و حلال های آلی فرار در مکان های آلوده تبدیل شده است . زیست تخریب پذیری فرایندی است که طی آن یک ماده شیمیایی بوسیله ارگانیسم ها، به خصوص باکتری ها تجزیه می شود.

یکی از متداول ترین آلاینده ها آترازین می باشد که به طور گسترده ای به عنوان آفت کش مورد استفاده قرار گرفته است. این ترکیب و متابولیت های آن ، به دلیل تحرک نسبتا بالا در خاک و حلالیت در آب ، اغلب در آبهای سطحی و زیرزمینی یافت می شوند. گاهی اوقات غلظت این علف کش در آب بیش از حد مجاز می باشد ، بنابر این بررسی سرنوشت آترازین پس از ورود به محیط زیست از اهمیت بسیاری برخوردار است. اغلب دو فرایند ممکن است در حذف آترازین از محیط زیست دخالت داشته باشند : فرایند تبدیل زیستی² که توسط میکروارگانیسم ها انجام می شود و فرآیندهای غیر زیستی مانند واکنش های شیمیایی و فتوشیمیایی . به هر حال، به طور کلی تخریب میکروبی به عنوان مسیر غالب حذف آترازین پذیرفته شده است و تا کنون باکتری های متعددی برای حذف این آفت کش از خاک و آب

¹ Biodegradation

² Biotic transformation

آلوده استفاده شده اند. بدیهی است که ضمن فرایند تخریب، غلظت آترازین کاهش می یابد، ولی با توجه به اینکه شناسایی همه محصولات متابولیک حاصل از تخریب دشوار است، کاهش غلظت آترازین به تنهایی نمی تواند برای تمایز فرایند تخریب واقعی از فرایندهای غیر تخریبی مانند جذب یا رقیق شدن به کار گرفته شود. روش CSIA، حتی در شرایطی که هیچ متابولیتی قابل تشخیص نیست، اطلاعات ارزشمندی به منظور شناسایی و تعیین مقدار تخریب آلاینده ها در اختیار می گذارد. با توجه به اینکه فرایندهای فیزیکی مانند رقیق شدن و جذب، سبب جزء به جزء شدن ایزوتوپی قابل ملاحظه ای نمی شوند، بنابراین تغییر نسبتهای ایزوتوپی (مانند $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) و در واقع جزء به جزء شدن ایزوتوپی در آترازین نشان دهنده تخریب زیستی آن می باشد. بدین ترتیب، معادله رایلی، کاهش غلظت آلاینده ناشی از فرایند تخریب را به طور مستقیم به تغییرات نسبت های ایزوتوپی آلاینده مرتبط نموده و میزان حذف طبیعی آلاینده ها را با اندازه گیری نسبت ایزوتوپی نمونه ها مشخص می کند [8].

در مطالعات مشابهی، از تغییرات نسبت ایزوتوپی کربن برای بررسی سرنوشت آفت کش های ارگانوفسفر¹ مانند dimethoate و omethoate، dichlorvos استفاده شد و تخریب این آلاینده ها ضمن فرایندهای هیدرولیز و فتولیز مورد مطالعه قرار گرفت [9].

نمونه ای از پسماندهای دارویی که مورد مطالعه ایزوتوپی قرار گرفته، دیکلوفناک می باشد. طیف سنج جرمی نسبت ایزوتوپی - کروماتوگرافی گازی² (GC-IRMS) به منظور آنالیز ایزوتوپیهای کربن و نیتروژن موجود در دیکلوفناک، به کار گرفته شده است [10].

ترکیبات آلی فراری که اغلب باعث آلودگی آب های زیرزمینی می شوند، شامل بنزن، تولوئن، اتیل بنزن، ایزومرهای زایلن (BTEX) و هیدروکربن های کلردار می باشند. بنابراین بررسی فرایند تخریب این ترکیبات در محیط زیست و نیز سرنوشت آن ها مورد توجه بسیاری از محققین می باشد. به عنوان مثال، تخریب زیستی تولوئن در چندین محیط کشت میکروبی خالص و مخلوط با روش CSIA مورد بررسی قرار گرفته است. با استفاده از مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ و $\delta^2\text{H}$ ، مسیرهای تخریب هوازی و بی هوازی تولوئن تعیین شده اند [11].

¹ Organophosphorus pesticides

² Gas chromatography- Isotope ratio mass spectrometry

همچنین، از بررسی جزء به جزء شدن ایزوتوپی کربن برای تشخیص تخریب زیستی هیدروکربن های نفتی استفاده شده است. بدین منظور، در دانمارک برای ارزیابی سرنوشت ۱۳ ترکیب آلی فرار (VOCs) یک آزمایش میدانی انجام شد. نتایج حاصل از روش CSIA فرایند تخریب زیستی این ترکیبات را تایید کرد [12].

6,2 - دی کلرو بنزآمید (BAM) و متابولیت حاصل از آن، 6,۲ - دی کلرو بنزو نیتریل، از جمله آلاینده های مهم آبهای زیر زمینی هستند که بررسی تغییر نسبت ایزوتوپی C و N در این ترکیبات، تخریب زیستی این آلاینده ها را نشان داده است [13].

در بسیاری از مطالعات، آنالیز نسبت ایزوتوپی چند عنصری ترکیبات واکنش دهنده اولیه برای تشخیص مسیر واکنشهای تخریبی مورد استفاده قرار گرفته است. داده های ایزوتوپی چند عنصری حاصل از این آزمایش ها، بینش ارزشمندی درباره مکانیسم فرایندهای تخریبی آلاینده ها فراهم می کند. به عنوان مثال، از آنالیز ایزوتوپ های کربن و هیدروژن، برای ارزیابی سرنوشت متیل t- بوتیل اتر (MTBE) - ماده افزودنی بنزین- و محصول اصلی تخریب آن، t- بوتیل الکل (TBA)، در آبهای زیرزمینی استفاده شده است. همینطور، نتایج حاصل از اندازه گیری نسبت های ایزوتوپی به منظور تشخیص مسیر واکنش ها و تعیین میزان تخریب زیستی این آلاینده ها بکار گرفته شده است. علاوه بر این، اثرات ایزوتوپی سینتیکی کمک بسیاری به بررسی فرایندهای مربوطه می کند [14].

برای بررسی منشا و سرنوشت هیدروکربنهای پلی آروماتیک (PAHs) استخراج شده از رسوبات رودخانه ایی از نسبت ایزوتوپی کربن استفاده شده است. با توجه به خواص آبگریزی و چربی دوستی PAHs، این ترکیبات بر سطح ذرات جامد جذب شده و در نهایت در رسوبات یا خاک تجمع پیدا کرده و سبب آلودگی آن می شوند [15].

نیترات نیز یکی از شایع ترین آلوده کننده های آبهای زیرزمینی است. نیترات اغلب در آبهای آشامیدنی وجود داشته و دلیل آن فعالیت های بشری مانند استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی مانند نیترات پتاسیم و نیترات آمونیوم و دفع نامناسب زباله های صنعتی، انسانی و حیوانی می باشد. موارد مذکور، منبع اصلی تولید نیتروژن بوده که در خاک به نیترات تبدیل می شود و از آنجا که نیترات در آب به صورت محلول است از طریق باران وارد آب های زیر زمینی و در نهایت آب های آشامیدنی می گردد. بنابراین شناسایی منابع نیترات در حفظ کیفیت آب و دستیابی به منابع آب سالم

اهمیت زیادی دارد. منابع نیترات می توانند بر اساس بررسی ترکیب ایزوتوپی نیتروژن ($\delta^{15}\text{N}$) و اکسیژن ($\delta^{18}\text{O}$) تعیین شوند [16].

نتیجه گیری

ارزیابی خاستگاه و سرنوشت انواع مواد شیمیایی مضر در محیط زیست نیاز به دانش و اطلاعات کافی درباره سینتیک و مکانیسم تخریب این آلاینده ها دارد. طیف سنجی جرمی نسبت ایزوتوپی (IRMS) امکان آنالیز ایزوتوپ های پایدار ($^2\text{H}/^1\text{H}$ ، $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ، $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) را در ساختار انواع آلاینده های آلی و معدنی موجود در نمونه های محیطی شامل آب های سطحی و زیرزمینی، خاک و رسوبات فراهم کرده است. ترکیب ایزوتوپی آلاینده ها می تواند به عنوان اثر انگشت برای تعیین منابع آلودگی استفاده شود. همچنین با بررسی جزء به جزء شدن ایزوتوپی طی فرایندهای تخریبی، می توان اطلاعات مفیدی درباره مکانیسم واکنش های تخریبی آلاینده ها و سینتیک آن ها به دست آورد. لازم به ذکر است که تخصیص آلاینده ها به یک منبع خاص این امکان را فراهم می آورد تا روش های مناسب به منظور کاهش خطر ناشی از ورود آلاینده ها به محیط زیست به کار گرفته شوند.

منابع

- [1] HKV Schurner, C-C Neumann, M P. Maier, Dominik Eckert, C Stumpp, R Brejcha, OA. Cirpka, M Elsner, Compound-Specific Stable Isotope Fractionation of Pesticides and Pharmaceuticals in a Mesoscale Aquifer Model, Environ. Sci. Technol. ۲۰۱۶. DOI: 10.1021/acs.est.5b03828
- [2] PB Hatzinger, JK Bo, NC Sturchio, Application of stable isotope ratio analysis for biodegradation monitoring in groundwater, Current Opinion in Biotechnology, 24 (2013) 542–549.
- [3] M Elsner, Stable isotope fractionation to investigate natural transformation mechanisms of organic contaminants: principles, prospects and limitations. J. Environ. Monit. 12 (2010) (11) 2005-2031.

- [4] A Fischer, M Manefield, P Bombach, Application of stable isotope tools for evaluating natural and stimulated biodegradation of organic pollutants in field studies, *Current Opinion in Biotechnology*, 41(2016) 99–107.
- [5] TC Schmidt, L Zwank, M Elsner, M Berg, R U Meckenstock, S B Haderlein, Compound-specific stable isotope analysis of organic contaminants in natural environments: a critical review of the state of the art, prospects, and future challenges. *Anal. Bioanal. Chem.* 378 (2004) (2) 283-300.
- [6] LA Chesson, BJ Tipple, and JD Howa, GJ Bowen, JE Barnette, TE Cerling, JR Ehleringer, *Stable Isotopes in Forensics Applications*, Elsevier, 2014.
- [7] M Elsner, G Imfeld, Compound-specific isotope analysis (CSIA) of micropollutants in the environment — current developments and future challenges, *Current Opinion in Biotechnology* 41(2016) 60–72
- [8] S Chen, P Yang, J R kumar, Y Liu, L Ma, Inconsistent carbon and nitrogen isotope fractionation in the biotransformation of atrazine by *Ensifer* sp. CX-T and *Sinorhizobium* sp. K, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 125 (2017) 170-176.
- [9] L Wu, J Yao, P Trebse, N Zhang, H H. Richnow, Compound specific isotope analysis of organophosphorus pesticides, *Chemosphere*, 111 (2014) 458-463.
- [10] M P Maier, S D Corte, S Nitsche, T Spaett, N Boon, M Elsner, C & N Isotope Analysis of Diclofenac to Distinguish Oxidative and Reductive Transformation and to Track Commercial Products, *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014) (4) 2312–2320.
- [11] C Vogt, E Cyrus, I Herklotz, D Schlosser, A Bahr, S Herrmann, H-H Richnow, A Fischer, Evaluation of Toluene Degradation Pathways by Two-Dimensional Stable Isotope Fractionation *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008)(21) 7793–7800.
- [12] D Bouchard, D Hunkeler, P Gaganis, R Aravena, P Höhener, M M. Broholm, P Kjeldsen, Carbon Isotope Fractionation during Diffusion and Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in the Unsaturated Zone: Field Experiment at Værløse Airbase, Denmark, and Modeling *Environ. Sci. Technol.* 42(2008) (2) 596–601

- [13] S Reinnicke, A Simonsen, S R. Sørensen, J Aamand, M Elsner, C and N Isotope Fractionation during Biodegradation of the Pesticide Metabolite 2,6-Dichlorobenzamide (BAM): Potential for Environmental Assessments, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) (3) 1447–1454
- [14] L Zwank, M Berg , M Elsner , TC Schmidt , RP Schwarzenbach , SB Haderlein, New evaluation scheme for two-dimensional isotope analysis to decipher biodegradation processes: application to groundwater contamination by MTBE. *Environ Sci Technol.* 15 (2005) 39(18)7344.
- [15] S E Walker, R M Dickhut, C Chisholm-Brause, S Sylva, C M. Reddy, Molecular and isotopic identification of PAH sources in a highly industrialized urban estuary, *Organic Geochemistry*, 36 (2005) 619–632
- [16] C Fenech, L Rock, K Nolan, J Tobin, A Morrissey, The potential for a suite of isotope and chemical markers to differentiate sources of nitrate contamination: A review, *Water Research*, 46 (7) (2012) 2023-2041